



ЧАСТЬ

I

**ОБЩЕСТВО
ФИЗИОЛОГОВ
РАСТЕНИЙ РОССИИ**

**ГОДИЧНОЕ
СОБРАНИЕ**

**СБОРНИК
МАТЕРИАЛОВ
(В ДВУХ ЧАСТЯХ)
ВСЕРОССИЙСКОЙ
НАУЧНОЙ
КОНФЕРЕНЦИИ С
МЕЖДУНАРОДНЫМ
УЧАСТИЕМ И
ШКОЛЫ МОЛОДЫХ
УЧЕНЫХ**

**МЕХАНИЗМЫ
УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ
И МИКРООРГАНИЗМОВ К
НЕБЛАГОПРИЯТНЫМ
УСЛОВИЯМ СРЕДЫ**

Иркутск,
10 - 15 июля 2018 г.



**Federal Agency for Scientific Organizations
Russian Academy of Sciences
Siberian Branch of Russian Academy of Sciences
Russian Society of Plant Physiologists
Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry of SB RAS
K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS**

*Annual Meeting
Society of Plant Physiologists of Russia*

**Mechanisms of resistance of plants and
microorganisms to unfavorable
environmental**

**Book of Proceedings (in two parts)
of the All-Russian Scientific Conference with International
Participation and Schools of Young Scientists
(Irkutsk, July 10–15, 2018)**

PART I

Irkutsk-2018

Федеральное агентство научных организаций
Российская академия наук
Сибирское отделение Российской академии наук
Общество физиологов растений России
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН



*Годичное собрание
Общества физиологов растений России*

**Механизмы устойчивости растений и
микроорганизмов к неблагоприятным
условиям среды**

**Сборник материалов (в двух частях)
Всероссийской научной конференции
с международным участием и школы молодых ученых
(Иркутск, 10–15 июля 2018 г.)**

ЧАСТЬ I

Иркутск-2018

УДК 581.1:581.5: 579.26

ББК 28.58:28.4

М55

Печатается по решению Ученого совета Федерального государственного бюджетного учреждения науки Сибирского института физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук

Механизмы устойчивости растений и микроорганизмов к неблагоприятным условиям среды: Сборник материалов Годичного собрания Общества физиологов растений России, Всероссийской научной конференции с международным участием и школы молодых ученых, Иркутск, 10–15 июля 2018 г. – Иркутск: Изд-во Института географии им. В.Б. Сочавы СО РАН, 2018. – В 2-х частях. Часть I. – 880 с.

ISBN 978-5-94797-324-2

Mechanisms of resistance of plants and microorganisms to unfavorable environmental: Book of Proceedings of the Annual Meeting Society of Plant Physiologists of Russia, All-Russian Scientific Conference with International Participation and Schools of Young Scientists, Irkutsk, July 10–15, 2018. – In 2 parts. Part I. – 880 p.

В сборнике представлены материалы Годичного собрания Общества физиологов растений России, Всероссийской научной конференции с международным участием и школы молодых ученых «Механизмы устойчивости растений и микроорганизмов к неблагоприятным условиям среды», состоявшейся 10–15 июля 2018 г. в г. Иркутске. В данном издании приведены новейшие результаты российских и зарубежных ученых, посвященные современным исследованиям механизмов физиолого-биохимических защитных реакций организмов на воздействие абиотических и биотических факторов, а также изучению этих механизмов на генетическом уровне. Приводятся данные по влиянию техногенного загрязнения на физиологические процессы растений и микроорганизмов. Большое внимание уделяется вопросам биотехнологии с использованием растений и микроорганизмов.

Книга предназначена для специалистов в области физиологии и биохимии стресса, молекулярной биологии, генетики и экологии, а также для студентов и аспирантов биологических специальностей высших учебных заведений.

Издание сборника осуществлено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, проект № 18-04-20032_г.

Ответственный редактор: д.б.н., проф. В.К. Войников

Редакционная коллегия: д.б.н. О.И. Грабельных, к.б.н. Т.В. Копытина, д.б.н. Л.Е. Макарова, д.б.н. Т.П. Побежимова, к.б.н. И.В. Федосеева, к.б.н. М.В. Иванова

Рецензенты: д.б.н., проф. И.Э. Илли

к.б.н. А.А. Батраева

© Коллектив авторов, 2018

© Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, 2018

© Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, 2018

© Издательство Института географии им. В.Б. Сочавы СО РАН, 2018

ISBN 978-5-94797-324-2

ПЛЕНАРНЫЕ ДОКЛАДЫ

ЭНЕРГЕТИЧЕСКАЯ И ИНФОРМАЦИОННАЯ СИСТЕМЫ РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК ПРИ ФЛУКТУАЦИЯХ ТЕМПЕРАТУРЫ

В.К. Войников

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, *VVK@sifibr.irk.ru*

Аннотация. При флуктуациях температуры в клетках растений происходят существенные изменения метаболизма. Они затрагивают прежде всего энергетический метаболизм и экспрессию генов. Происходит взаимодействие энергетической и информационной систем клетки. В рамках механизмов такого взаимодействия, вероятно, работает митохондриальная сигнальная система, которая включает следующие этапы: рецепция сигнала митохондриальными мембранами, изменение состава мембранных липидов, активация фосфолипазы A_2 , увеличение количества свободных жирных кислот, изменение редокс-состояния митохондрий, формирование и передача сигнала в ядро (Ca^{2+}), экспрессия соответствующих генов, синтез стрессовых белков, функционирование этих белков, адаптивные перестройки метаболизма.

Ключевые слова: митохондрии, ядерно-митохондриальные взаимоотношения, стресс

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-6-8

За прошедшие с открытия стрессовых белков растений годы достигнут несомненный прогресс. К настоящему времени точно установлено, что, как ответ растительного организма на низкотемпературный стресс, так и формирование закаленного состояния растения начинается непосредственно с момента начала охлаждения и протекает при участии определенных белков. Кроме значительного числа вовлеченных в эти процессы ферментов, к настоящему времени выделено несколько семейств белков, специфически связанных с этими процессами. Это шапероны и дегидрины, антифризные белки, многофункциональные белки, регулирующие процессы трансляции и транскрипции и белки, разобщающие во время низкотемпературного стресса окисление и фосфорилирование. Синтез этих белков обеспечивается в большинстве случаев ядерными генами, экспрессия которых индуцируется во время температурного стресса и закаливания и определяется его условиями.

Необходимо отметить, что, хотя и имеются отдельные гипотезы о биохимических механизмах участия индуцируемых низкой температурой белков в процессах развития холодоустойчивости растений, о роли конкретных белков, за исключением представителей нескольких семейств белков, таких, как дегидрины, антифризные белки и некоторые другие, в этих процессах мало, что известно.

В последние десятилетия начинают интенсивно изучаться механизмы индукции экспрессии генов при гипотермии и специфичность этих генов и кодируемых ими белков. Исследования в данной области в настоящее время интенсивно проводятся во всем мире. Особенно интенсивно эти исследования проводятся в связи с проводимым полным сиквенсом геномов растений. В то же время необходимо отметить, что исследования экспрессии генов во время низкотемпературного стресса проводятся несистематически, в основном они заключаются в установлении факта индукции экспрессии отдельного гена или семейства генов либо увеличении содержания отдельного стрессового белка. Практически не исследуется взаимосвязь между индукцией отдельных генов или их семейств и в проводимых исследованиях отсутствует комплексный подход к изучаемому явлению. Только в последнее время начинают создаваться «генные сети», связывающие воедино описание

экспрессии различных генов в определенных условиях. Данный подход к исследованиям чрезвычайно перспективен и позволяет надеяться на создание в дальнейшем геной сети, описывающей комплексный ответ генома растения на низкотемпературный стресс.

При температурных стрессах в клетках растений функционирует митохондриальный сигналинг, который включает в себя взаимодействие информационной и энергетической систем клетки. Показано, что флуктуации температуры вызывают изменения в энергетической активности митохондрий растений. Эти изменения связаны с перестройкой в составе липидов митохондриальных мембран, что вероятно, является сигналом о начале действия температурного стресса. Происходит изменение редокс-состояния митохондриальных мембран и формируется сигнал о стрессе. После трансдукции сигнала в ядро изменяется экспрессия генов и происходит синтез стрессовых белков, которые попадают в различные компартменты клетки, изменяя ее метаболизм и устойчивость к стрессу.

В последние годы становится понятно, что у растений существуют такие биохимические механизмы защиты от низкотемпературного стресса, которые, как считалось раньше, имеются только у животных. В частности, такими механизмами являются синтез в ответ на низкотемпературный стресс у злаков антифризных белков, выполняющих функцию сходную с той, которую, как было установлено еще в 60-е годы, эти белки выполняют у антарктических рыб. Установлено также наличие в растениях разобщающих белков, вызывающих термогенез в растительных митохондриях, хотя ранее такой механизм защиты от низкотемпературного стресса считался прерогативой теплокровных животных.

В связи с этим необходимо отметить, что обнаружение у растений белков, разобщающих окисление и фосфорилирование в митохондриях, объясняет ранее установленный факт термогенеза в холодоустойчивых озимых злаках во время низкотемпературного стресса

Наличие у злаков трех термогенных систем, связанных с разобщением окисления и фосфорилирования в митохондриях, в проростках холодоустойчивых озимых злаков, по-видимому, связано с особенностями их жизненного цикла, поскольку они вынуждены переживать осенние и весенние заморозки, когда температура в течение короткого промежутка времени падает до 0°C и даже ниже. Озимые злаки имеют многочисленные защитные системы, которые позволяют им во время холодового шока эффективно выкачивать воду из цитоплазмы в апопласт и, следовательно, избегать образования кристаллов льда внутри их клеток, а также много других защитных систем, связанных с синтезом различных классов стрессовых белков. Тем не менее, для активации всех этих систем во время низкотемпературного стресса необходимо определенное время. В этом случае быстрое разобщение окисления и фосфорилирования в митохондриях и связанный с этим процессом термогенез позволяет растению выиграть время, необходимое для активации этих систем. В связи с этим присутствие трех термогенных систем у озимых злаков является приспособлением к озимому образу жизни и способом защиты от заморозков и переохлаждения.

В рамках механизмов взаимодействия информационной и энергетических систем клетки, вероятно, работает митохондриальная сигнальная система, которая включает следующие этапы:

- 1) рецепция сигнала митохондриальными мембранами;
- 2) изменение состава мембранных липидов;
- 3) активация фосфолипазы A_2 ;
- 4) увеличение количества свободных жирных кислот;
- 5) изменение редокс-состояния митохондрий;
- 6) термогенез;
- 7) формирование и передача сигнала в ядро (Ca^{2+});
- 8) экспрессия

соответствующих генов; 9) синтез стрессовых белков; 10) функционирование этих белков; 11) адаптивные перестройки метаболизма.

Таким образом, можно сделать заключение, что сигнал об изменении экспрессии ядерных генов формируется в цитоплазме и затем передается в ядро.

Известно, что многие признаки устойчивости растений к неблагоприятным условиям внешней среды контролируются цитоплазмой, в том числе митохондриями, и передаются потомкам по материнской линии.

Можно предположить, что интересной и перспективной является задача: получить сельскохозяйственные растения высокопродуктивные и устойчивые к неблагоприятным факторам внешней среды. В клетках таких растений должны быть объединены ядро от продуктивного растения и цитоплазма от высокоустойчивого. Один из подходов в решении такой задачи – использование методов клеточной биологии и биотехнологии.

ENERGETIC AND INFORMATION SYSTEMS OF PLANT CELLS AT TEMPERATURE FLUCTUATIONS

V.K. Voinikov

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, Irkutsk, Russia,
VVK@sifibr.irk.ru

Abstract. Probably within the frames of mechanisms of interaction information and energetic systems of a cell probably a mitochondrial signal system starts working which includes following stages: 1) signal reception by mitochondrial membranes; 2) change of lipid membrane structure; 3) activation of A_2 phosolipase; 4) increase of amount of free fatty acids; 5) change of a redox-condition of mitochondria; 6) thermogenesis; 7) formation and signal transmission to a nucleus (Ca^{2+}); 8) expression of corresponding genes; 9) synthesis of stress proteins; 10) functioning of these proteins; 11) adaptive reorganizations of metabolism.

Keywords: *mitochondria, nuclear-mitochondrial interactions, stress*

БАКТЕРИАЛЬНАЯ ВОДЯНКА ХВОЙНЫХ В БАЙКАЛЬСКИХ ЛЕСАХ: ПРИЧИНЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ И РИСК ЭПИФИТОТИИ

В.И. Воронин

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия, *bioin@sifibr.irk.ru*

Аннотация. Появившиеся недавно повреждения темнохвойных лесов в Прибайкалье, которые ранее в данном регионе не были отмечены, имеют неясную этимологию и не установленные масштабы, и поэтому именуется нами «новыми» болезням. В ослабленных лесных массивах с большой долей вероятности произойдет усиление негативного действия грибов-микромитетов и насекомых-вредителей. Особую опасность представляет существенное снижение уровня атмосферного увлажнения этих лесов, которое может привести к их массовому усыханию.

Ключевые слова: байкальские леса, бактериальные инфекции

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-9-12

Деструкция лесов, под которой понимают утрату жизнеспособности лесных насаждений и их гибель под влиянием тех или иных факторов, становится актуальной проблемой нашего времени. Она проявляется в ухудшении жизненного состояния деревьев и усыхании древостоев, гибели подроста, уменьшении биологической продуктивности, упрощении структуры и сокращении видового разнообразия лесных экологических систем. Проблема ухудшения санитарного состояния лесов в последние годы привлекает все большее внимание ученых и общественности. Усыханию подвержены в большей или меньшей степени практически все виды древесных растений в Евразии, Южной и Северной Америке, Африке, Австралии. На Британских островах уже более 100 лет общепризнанным фактом является гибель широколиственных деревьев [Woodward, 2006]. Усыхание обусловлено воздействием комплекса факторов - климата, особенно засухи, насекомых и патогенов. На юго-западе Австралии резко усилилось усыхание крон у эвкалиптов, так что почти не осталось неповрежденных насаждений [Hopper, Sivasithamparam, 2005]. В последние десятилетия наблюдается резкое развитие процессов гибели дуба в Европе [Donaubauer, 1998; Селочник, 2008]. Первое упоминание об их усыхании появилось в литературе более 200 лет назад. В итоге, за последние 130 лет площадь дубовых лесов России уменьшилась в три раза [Фадеев, 1997].

Быстрая прогрессирующая гибель сосны обыкновенной, а затем и других пород установлена в долине Аоста (Италия), особенно весной, когда отдельные вполне здоровые деревья или разновозрастные куртины сосны одновременно усыхали [Vertui, Tagliaferro, 1998]. Вскоре сосна исчезла из состава смешанных насаждений северных склонов среднегорной части. В качестве предрасполагающей причины называется засуха и недостаточный питательный статус, неправильное ведение лесного хозяйства (отсутствие прочисток), повреждение хвои вредителем *Acantholida posticalis*, поражение озоном, и др. Не менее интенсивное отмирание деревьев в сосновых лесах наблюдается в горных районах Швейцарии [Rigling et al., 1999]. В качестве причин рассматриваются такие факторы как изменение климата, промышленные выбросы, старение лесов. Наиболее сильно действующим отрицательным фактором признаны энтомовредители, особенно сосновый лубоед. Также и среди стрессовых факторов развития нового типа усыхания лесов, затронувшего лесные массивы Чехии, Польши и Германии, загрязнению среды отводится основная роль на начальных стадиях ослабления

насаждений, насекомые-вредители завершают этот процесс [Nuorteva, 1997]. Индивидуально каждый из этих факторов не может быть летальным для здорового лесного насаждения.

Особое внимание исследователей в России было посвящено еловым ценозам [Стороженко, 1994; Василяускас, 1989; Федоров, 2000]. В качестве причин их катастрофической гибели указывается техногенное загрязнение, абиотические и биотические факторы, антропогенное влияние [Селочник, 2008]. В Архангельской области особенно интенсивно усыхание происходит в районе Северной Двины и Пинеги на площади более чем 1,6 млн. га [Чупров, 2008]. В качестве основной причины гибели ельников автор называет предельный возраст их жизни. Указано, что такие факторы, как насекомые и гнили не являются главными первоначальными причинами усыхания ели, а лишь следствием достижения древостоями ели своего предельного естественного возраста, в котором происходит их отпад и замена более молодыми [Чупров, 2008]. В то же время, в ряде других работ по ельникам Архангельской области в качестве факторов, сокращающих продолжительность их жизни, указан комплекс причин: изменение уровня грунтовых вод, изменения климата, в т.ч. климатические аномалии, бедность и глубокое промерзание почв, рекреация, корневые и комлевые гнили, насекомые [Коптев, 1992; Лебедев, 1999].

Всплеск бактериальных болезней хвойных и лиственных пород произошёл в последние десятилетия. На территории европейской части России практически повсеместно встречается бактериальная водянка березы (*Erwinia multivora* Scz.-Parf.), хотя еще полвека назад она отмечалась лишь единично. В Кавказском регионе наблюдается периодическое усыхание пихты, что является следствием фитопатологических (в основном, бактериологических) процессов [Щербин-Парфененко, 1963; Голгофская, Щербин-Парфененко, 1975] и имеет характер эпифитотии, в настоящее время поразившей лесные массивы на обширных территориях. Полученные результаты подтверждаются исследованиями фитопатологов Российского центра защиты леса, проводившими в 2000 – 2001 гг. лесопатологическое обследование 25 тыс. га древостоев в лесах Комитета природных ресурсов Республики Адыгея. Возбудителями болезни, по их данным, являются бактерии рода *Erwinia* и *Pseudomonas*.

Бактериальные болезни лесов, получившие широкое распространение в последние десятилетия с большой долей вероятности вызваны климатическими изменениями. На это прямо указывают наши экспериментальные данные (Краснобаев, Воронин, 2011). И нам следует ожидать расширения географии и масштабов данного грозного явления, которое ранее не изучалось в достаточной степени. Соответственно, не изучены детально ни состав возбудителей патологического процесса, ни начальные условия его возникновения и, наконец, не определены радикальные способы борьбы с этими заболеваниями.

Неблагополучие темнохвойных лесов Прибайкалья возникло не сегодня, а отмечается уже, по крайней мере, последние сорок лет. На первых этапах его связывали исключительно с химическим повреждением от аэровыбросов Байкальского ЦБК [Воронин, Соков, 2005]. По мере накопления материалов исследований ситуация стала выглядеть не такой однозначной. В частности, выяснилось, что в большинстве случаев непосредственная причина пожелтения крон деревьев в данном регионе – не химическое отравление, а массовые грибные эпифитотии и размножение насекомых-дендрофагов [Плешанов, Морозова, 2009]. В последние же годы картина еще более усложнилась в связи с обнаружением в регионе больших очагов бактериозов хвойных [Воронин и др., 2013]. На протяжении нескольких последних лет наблюдается

устойчивое ухудшение санитарного состояния темнохвойных лесов Прибайкалья. Масштабы явления весьма значительны и счет идет на десятки тысяч гектаров.

Картина повреждения древостоев повсюду одна и та же (куртинное ослабление и усыхание деревьев, мозаичное повреждение (дехромация) кроны кедра и пихты, поперечное и продольное растрескивание коры и активное смолотечение, уменьшение размеров шишек и изменение их окраски), а повреждающий фактор до недавних пор не был выявлен.

Скорее всего, выявленные повреждения темнохвойных лесов в Иркутской области и Бурятии первопричиной имеют обострение хронического течения бактериальных болезней хвойных (бактериальной водянки), которые ранее в данном регионе не были отмечены и поэтому именуется нами «новыми» болезням и темнохвойных лесов. На фоне их возможно усиление негативного действия грибов-микромикровицетов и насекомых-вредителей. Особую опасность представляет существенное снижение уровня атмосферного увлажнения этих лесов, которое может привести к их массовому усыханию. Необходимо срочное обследование древостоев с целью определения способов борьбы с бактериальным поражением.

Деструктивные факторы воздействуют на лес комплексно и зачастую связаны между собой (появление ветровалов приводит к возникновению очагов вредных насекомых, атмосферное загрязнение снижает устойчивость лесов к возбудителям болезней и т.п.). Поэтому причины деструкции лесов должны и рассматриваться комплексно, с учетом всех значимых факторов, определяющих этот процесс, и выявление их является актуальной проблемой экологических исследований.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 17-29-05074.

Литература

Василяускас А.П. Корневая губка и устойчивость экосистем хвойных лесов / А.П. Василяускас // Вильнюс: Изд-во «Мокслас», 1989. – 175 с.

Воронин В.И., Соков М.К. Влияние сероорганических компонентов атмосферных выбросов на пихту сибирскую // Лесоведение. – 2005. – №2. – С. 62–64.

Воронин В.И., Морозова Т.И., Ставников Д.Ю., Нечесов И.А., Осколков В.А., Буянтуев В.А., Михайлов Ю.З., Говорин Я.В., Середкин А.Д., Шуварков М.А. Бактериальное повреждение кедровых лесов Прибайкалья // Лесн. хоз-во. – 2013. – №3. – С. 39–41.

Голгофская К.Ю., Щербин-Парфененко А.Л. Усыхание пихты в Кавказском заповеднике // Фитопатогенные бактерии. Киев: Изд-во «Наукова думка», 1975. – С. 302–305.

Коптев С.В. Фаутоность северотаежных ельников // Лесной журнал. – 1992. – №2. С. 20–27.

Краснобаев В.А., Воронин В.И. Аномальные оттепели как одна из причин повреждений кроны молодых хвойных деревьев в южном Прибайкалье // География и природные ресурсы. – 2011. – № 2. – С. 75–78.

Лебедев А.В. Патология деревьев ели при различной рекреационной нагрузке // Лесной журнал. – 1999. – №2-3. – С. 52–57.

Плешанов А.С., Морозова Т.И. Микромикровицеты пихты сибирской и атмосферное загрязнение лесов; Рос. акад. наук, Сиб. отд-ние, Сибирский ин-т физиол. и биохим. растений. Новосибирск : Академическое изд-во «Гео», 2009. – 115 с.

Селочник Н.Н. Факторы деградации лесных экосистем // Лесоведение. – 2008. – №5. – С. 52–60.

Стороженко В.Г. Грибные дереворазрушающие комплексы в генезисе еловых биогеоценозов; автореф. дис... д-ра биол. наук. 06.03.03. М: Институт лесоведения РАН, 1994. – 43 с.

Фадеев А.В. За состояние дубрав ответственны не только лесоводы // Лесное хозяйство. – 1997. – №5. – С. 34–35.

Федоров Н.И. Основные факторы региональных массовых усыханий ели в лесах Восточной Европы // Грибные сообщества лесных экосистем. – М.; Петрозаводск, Карел. НЦ РАН, 2000. – С. 252–291.

Чупров Н.П. К проблеме усыхания ельников в лесах европейского севера России // Лесное хозяйство. – 2008. – №1. – С. 24–26

Щербин-Парфененко А.Л. Бактериальные заболевания лесных пород. М., 1963. – 148 с.

Donaubauer E. Die Bedeutung von Krankheitserregern beim gegenwertigen Eichensterben in Europa-eine Literaturubersicht // Eur. J. Forest Pathol. – 1998. – V. 28, N 2. – P. 91–98.

Hopper R.J., Sivasithamparam K. Characterization of damage and biotic factors associated with the decline of Eucalyptus wandoo in southwest Western Australia // Can. J. Forest Res. – 2005. – V. 35, N 11. – P. 2589–2602.

Nuorteva P. The role of air pollution and climate change in development of forest insect outbreaks - guest editorial : Workshops "Eff. Possible Glob. Warming Insect Diversity and Distrib." and "Role Air and Soil Pollut. Dev. Forest Insect Outbreaks" during 20 Int. Congr. Entomol., Firenze, 25-31 Aug., 1996 // Acta phytopathol. et entomol. hung. – 1997. – V. 32, № 1-2. – P. 127–128.

Rigling A. B., Forster B. Wermelinger P. Cherubini Waldfohrenbestande im Umbruch // Wald und Holz. – 1999. – V. 80, № 13. – P. 8–12.

Vertui F., Tagliaferro F. Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) die-back by unknown causes in the Aosta Valley, Italy // Chemosphere. – 1998. – V. 36, № 4-5. – P. 1061–1065.

Woodward S. Causes of decline in United Kingdom broadleaved stands // Possible Limitation of Decline Phenomena in Broadleaved Stands. – Warsaw, 2006. – P. 21–27.

BACTERIAL INFECTIONS OF THE CONIFEROUS IN THE BAIKAL FORESTS: CAUSES AND RISKS OF EPIPHYTHETICS

V. Voronin

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, Irkutsk, Russia,
bioin@sifibr.irk.ru

Abstract. Recent damage to dark coniferous forests in the Baikal region, which were not previously noted in the region, have an unclear etymology and undefined scales, and are therefore referred to as "new" diseases. In weakened forests, the negative effect of fungi-micromycetes and insect pests is likely to increase. Particular danger is the significant reduction in the level of atmospheric humidification of these forests, which can lead to their mass destruction of forests.

Keywords: *Baikal forests, bacterial infections*

ГЕНЕТИКА АДАПТИВНОСТИ И АРХИТЕКТОНИКА ПШЕНИЦ

Н.П. Гончаров^{1,2}, Е.Я. Кондратенко¹, В.Ю. Вавилова¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия, gonch@bionet.nsc.ru

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск, Россия

Аннотация. Для создания высоко адаптивных, стрессоустойчивых сортов нового поколения необходимо использование ранее не используемых признаков, более широкого генетического разнообразия и диверсификация сортов. Это позволит обеспечить национальную продовольственную безопасность. Однако для его научного обеспечения необходимо получение новых знаний. Особенно это касается архитектоники растений и создания модели сортов будущего.

Ключевые слова: пшеница, адаптация, архитектоника растения, генетический контроль

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-13-16

Природа создала лишь четыре вида диких пшениц двух уровней ploидности (ди- и тетраploидного) – однозернянки и полбы, используя при этом только четыре генома A^u , A^b , B и G из десятка возможных. Дикие гексаploиды в природе не обнаружены, равно как и дикие голозерные тетраploидные пшеницы. Они, если и не являются произведением рук человеческих, то, по крайней мере, есть результат удачного отбора первобытным земледельцем случайно появившихся в природе вариabельных форм.

В настоящее время и генетики, и селекционеры обнаружили, что не включенный в генофонд возделываемых видов пул генетической изменчивости (генов) этих диких предков может быть использован для дальнейшего улучшения наиболее продуктивных современных сортов. Считается, что такая стратегия селекции, основанная на широком использовании ранее неостребованных признаков и свойств, а так же генов, контролирующих их выраженность будет способствовать дальнейшему прогрессу селекции и развитию высокопродуктивного сельскохозяйственного производства. Такой подход создания высоко адаптивных, стрессоустойчивых сортов нового поколения за счет использования более широкого генетического разнообразия и диверсификации сортов - особенно привлекателен для обеспечения продовольственной безопасности. Однако для его научного обеспечения необходимо получение новых знаний. Особенно это касается архитектоники растений будущего и создания их модели.

Известно, что процесс одомашнивания кардинально изменил архитектонику и свойства диких видов. Признаки голозерность, отсутствие ломкоколосости и яровость сыграли ключевую роль в процессе доместикации и обеспечили успешное культивирование пшеницы на огромных пространствах [Dubcovsky, Dvorak, 2007].

Яровые (однолетние) растения проходят весь цикл развития в течение одного лета, в то время как озимые (двулетние) до осени не переходят к генеративному развитию без предварительного воздействия низкой температуры. Яровость-озимость - один из вариантов адаптации пшениц к изменениям условий среды. В природе яровость, по-видимому, возникла как механизм приспособления к определенным

условиям. В культуре она позволила земледельцам кардинально сократить время получения урожая до одного благоприятного для возделывания сезона (урожай однолетних культур собирается раз в год, урожай двулетних культур раз в два года). При этом одним из основных параметров, который определяет адаптивность современных сортов пшениц и по которому ведется селекция с незапамятных времен, является длина вегетационного периода. Наименьшей обладают скороспелые яровые формы. У пшениц скороспелость – сложный признак, контролируемый генами с различными эффектами взаимодействия. Основные различия в его проявлении дают гены системы *vrn*, контролирующие тип развития (яровость – озимость) и скорость индивидуального развития растений пшеницы. Поэтому изучение генетического контроля ярового типа развития и интрогрессия новых аллелей и генов, его обуславливающих, актуально как для увеличения селекционного материала для решения проблемы скороспелости. Яровость (однолетность) – критическая характеристика культивируемых растений. Переход от вегетативного роста к репродуктивному развитию – это критический момент в онтогенезе диких и культивируемых видов пшеницы, который влияет на адаптивность к конкретным условиям произрастания, а именно на оптимальность времени цветения и эффективность развития и распространения семян. Гены системы *vrn* (от англ. Response to vernalization, *vrn-1*, *vrn-2*, *vrn-3*) контролируют развитие признака «яровость—озимость» у пшеницы [Trevaskis et al., 2007]. Центральным геном в системе регуляции времени цветения является ген *vrn-1*. Он относится к семейству *mad3-box*-содержащих генов, кодирующих транскрипционные факторы, и является гомологом *ap1* гена арабидопсиса (*arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.) [Dubcovsky et al., 2006]. Гены данного семейства являются органоспецифичными и играют важную роль в онтогенезе растений в целом. Нарушение функции некоторых из них может приводить к гомеозисным* трансформациям в генеративной сфере растений. Доминантная аллель гена *vrn-1* (*vrn-1*) определяет развитие пшениц по яровому типу, в то время как рецессивная аллель (*vrn-1*) определяет развитие по озимому типу [Dubcovsky et al., 2006]. Различие между доминантным и рецессивным аллелями связано с нарушениями в промоторном районе и/или в области первого интрона данного гена. В случае тетраплоидных (геном *bba^aa^u*) и гексаплоидных (геном *bba^aa^udd*) видов пшениц отличие между аллелями гена *vrn-1* в а геномах определяется делецией и встройкой мобильного генетического элемента в промоторном районе и делецией в первом интроне данного гена. Доминантные аллели гена *vrn-1* в b и d геномах отличаются от рецессивных исключительно наличием делеции в первом интроне. Промоторный район и первый интрон гена *vrn-1* содержат различные сайты связывания с другими регуляторными белками, что позволяет осуществлять тонкую регуляцию экспрессии гена *vrn-1* и формирование признака яровость — озимость [Dubcovsky et al., 2006].

Рецессивная аллель гена *VRN-1* считается более древней, поскольку большинство диких видов пшениц характеризуются озимым типом развития. Нами была выявлена значительная варибельность промоторных районов гена *VRN-1* диких и культивируемых видов пшениц и представителей близкородственного рода *Aegilops* L. У 51 образца пшениц с разным уровнем плоидности и изученным ранее характером наследования типа развития, был определен набор мутаций в регуляторных районах гена *VRN-1*, приводящих к развитию по яровому типу [Golovnina et al., 2010]. Изучение последовательностей гена *VRN-1* у полиплоидных видов пшениц показало наличие сложного эволюционного процесса развития последовательности данного гена, включающего дубликацию промоторного района. У яровых форм полиплоидных видов процессы изменения последовательности гена *VRN-1* (делетирования фрагментов и встройки новых участков), по-видимому, произошли независимо и не были

унаследованы от яровых форм диплоидных видов пшениц. В промоторе гена *VRN-1* из А, В и G геномов яровых образцов тетраплоидных видов были обнаружены специфические встройки мобильного генетического элемента. Встройка мобильного генетического элемента, обнаруженная в промоторе *VRN-1* у возделываемых полиплоидов, по-видимому, не была унаследована от тетраплоидов и произошла у них независимо уже в процессе их возделывания человеком. Детальный анализ переменных областей промоторного района гена *VRN-1* показал наличие сайтов связывания транскрипционных факторов в данных областях и подтвердил предположение о том, что контролирование признака «яровость–озимность» осуществляется на уровне регуляции экспрессии мастер-гена *VRN-1*. Выявлены и описаны новые аллельные варианты генов *VRN-1* [Golovkina et al., 2010], которые позволяют сделать заключение о независимом происхождении яровости (однолетности) у доместифицированных пшениц от яровых форм их диких предков.

Структура колоса – один из важнейших признаков злаков, связанный с такими хозяйственно ценными их качествами, как продуктивность. Колосья разных видов пшениц отличаются по форме, размерам, плотности, остистости, окраске и т.д. Оценка характеристик колоса выполняется экспертом на основании визуального анализа колоса и в настоящее время требует существенных затрат времени. Эффективность фенотипирования колосов можно повысить за счет внедрения компьютерных технологий, организации хранения информации в базах данных, использования алгоритмов машинного обучения для анализа полученной информации [Генаев и др., 2018].

Ген *Q*, как и ген *VRN-1*, является одним из основных генов, вовлеченных в процесс доместикации, и контролирует такие признаки, как ломкость—не ломкость колоса, голозерность—пленчатость, форма колоса (норма—спельтоидность), форма и жесткость чешуи, длина оси колосового стержня, высота растения и некоторые другие хозяйственно важные признаки пшениц [Simons et al., 2006; Konopatskaia et al., 2016].

Нами был проведен молекулярный и генетический анализ гена *q* у 30 диких и культурных форм видов пшеницы с разной морфологией колоса. Дикие образцы характеризовались пленчатым, ломким и спельтоидным колосом, а культивируемые – голозерным, неломким и нормальным или компактным колосом. В результате исследования было установлено и проанализировано 17 нуклеотидных последовательностей гена *q* и подтверждена взаимосвязь между появлением замены аминокислоты валин на изолейцин в позиции 329 и формированием признаков пленчатость — голозерность, ломкоколосость — не ломкоколосость [Sormacheva et al., 2015].

Для поиска возможных гомологов генов *C*, *sc1*, *Sog*, *Sog2*, контролирующих компактную или копрактоидную форму колоса была проанализирована литература и выявлены основные гены, регулирующие форму колоса у ячменя, кукурузы и риса. Для ближайшего к пшеницам представителя подтрибы *Frumentaceae* Dum. трибы *Triticeae* ячменя *Hordeum vulgare* L. было выявлено 8 генов (*INT-C*, *Nud* (WIN1-like), *vrs1*, *Vrs4*, *Btr1*, *Btr2*, *Bkn3* и *HvAP2*), среди генов риса по фенотипическому проявлению был выбран ген *Dep1* (DENSE AND ERECT PANICLE1) [Vavilova et al., 2018]. Полученные результаты будут подробнее рассмотрены в докладе.

К настоящему моменту времени разными авторами описано довольно значительное число генов влияющих на архитектуру растения (см. обзор, Konopatskaia et al. [2016]), адаптивность [Гончаров, 2012; Киселева, Салина, 2018; и др.] и морфологию колоса [Amagai et al., 2017; Kosuge et al., 2008; Simons et al., 2006; и др.].

Работа по адаптивности поддержана бюджетным проектом 0324-2018-0018, работа по архитектонике поддержана грантом РНФ 16-16-10021.

Литература

Генаев М.А., Комышев Е.Г., Фу Хао, Гончаров Н.П., Афонников Д.А. SpikeDroidDB – информационная система для аннотации морфометрических характеристик колоса пшеницы // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2018. – Т.22, №1. – С. 132–140.

Гончаров Н.П. Сравнительная генетика пшениц и их сородичей. Новосибирск, 2012.

Киселева А.А., Салина Е.А. Генетическая регуляция времени цветения мягкой пшеницы // Генетика. – 2018. – Т. 54, № 4. – С. 381–396.

Amagai Y., Burdenyuk-Tarashevych L. A., Goncharov N. P., Kuboyama T., Watanabe N. Microsatellite mapping of the genes for false glume and semi-compact spike in *Triticum* L. // Genet. Resour. Crop Evol. – 2017. – V.64 (8). – P. 2105–2113.

Dubcovsky J., Dvorak J. Genome plasticity a key factor in the success of polyploid wheat under domestication // Science. – 2007. – V. 316. – P. 1862–1866.

Dubcovsky J., Loukoianov A., Fu D. et al. Effect of photoperiod on the regulation of wheat vernalization genes *VRN1* and *VRN2* // Plant Mol. Biol. – 2006. – V. 60. – P. 469–480.

Golovnina K.A., Kondratenko E.Y., Blinov A.G., Goncharov N.P. Molecular characterization of vernalization loci *VRN1* in wild and cultivated wheats // BMC Plant Biol. – 2010. – V.10. – P.168.

Konopatskaia I., Vavilova V., Blinov A., Goncharov N.P. Spike morphology genes in wheat species (*Triticum* L.) // Proc Latv Acad Sci B Nat Exact Appl Sci. – 2016. – V. 70, No. 6 (705). – P. 345–355.

Kosuge K., Watanabe N., Kuboyama T., Goncharov N.P., Melnik V.M., Yanchenko V.I., Rosova M.A. Cytological and microsatellite mapping of the genes for spherical grain, compact spike and awn inhibition in durum wheat // Euphytica. – 2008. – V. 159, N 3. – P. 289–296.

Simons K.J., Fellers J.P., Trick H.N. et al. Molecular characterization of the major wheat domestication gene *Q* // Genetics. – 2006. – V. 172. – P. 547–555.

Sormacheva I., Golovnina K., Kosuge K., Watanabe N., Blinov A., Goncharov N.P. *Q* gene variability in wheat species with the different spike morphology // Genet. Resour. Crop Evol. – 2015. – V. 62, No. 6. – P. 837–852.

Trevaskis B., Hemming M.N., Dennis E.S. et al. The molecular basis of vernalization-induced flowering in cereals // Trends Plant Sci. – 2007. – V. 12. – P. 352–357.

Vavilova V., Konopatskaia I., Kuznetsova A.E., Blinov A., Goncharov N.P. Genomic characterization of *DEP1* gene in wheats with normal and compact spike shape // BMC Genetics. – 2017. – V. 18 (Suppl. 1). – P. 106.

GENETICS OF ADAPTATION AND ARCHITECTONICS OF WHEAT

N.P. Goncharov^{1,2}, E.Ya. Kondratenko¹, V.Yu. Vavilova¹

¹Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia, gonch@bionet.nsc.ru

²Novosibirsk State Agrarian University, Novosibirsk, Russia

Abstract. In order to produce highly adaptive, stress resistant commercial cultivars of the new generation, it is necessary to use previously unused features, wider genetic diversity and diversification. This will ensure national food security. However, for its scientific support it is necessary to obtain new genetic knowledge. Especially it concerns architectonics of plants and creation of their model of the future cultivars.

Key words: wheat, adaptation, plant architectonic, gene control

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИИ ХВОЙНЫХ К ЗАСУХЕ

Вл.В. Кузнецов¹, И.Е. Злобин¹, А.В. Карташов¹, Б.А. Сарвин², А.Р. Ставрианиди²,
П.П. Пашковский¹, Ю.В. Иванов¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия, vlkuzn@mail.ru

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия, borissarvin@gmail.com

Аннотация. Представлен сравнительный анализ способности сеянцев сосны и ели поддерживать водный статус в условиях слабого, среднего и экстремально низкого водного потенциала среды (от -0,15 до -1,5 МПа). Сделан вывод, что сеянцы обоих видов сохраняли высокую интенсивность процессов ассимиляции при водном стрессе. Сеянцы ели поддерживали водный баланс при засухе и проявляли высокую чувствительность к водному дефициту, в основе которой лежит их слабая способность к cell wall adjustment. Сеянцы сосны обнаруживали высокую чувствительность роста главного корня к водному дефициту, что может быть одной из причин их гибели при засухе. В то же самое время сеянцы сосны имели хорошо развитую способность клеток к осмотическому эджастменту. В пользу этого говорит тот факт, что в ответ на водный дефицит в сеянцах сосны, но не ели, наблюдалось увеличение содержания сахаров и сахароспиртов. Несмотря на относительно низкое содержание сахаров и сахароспиртов в органах сеянцев, их вклад в изменение осмотического потенциала цитоплазмы был весьма значителен.

Ключевые слова: адаптация, водный стресс, *Picea abies* (L.) H.Karst., *Pinus sylvestris* L., неструктурные углеводы

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-17-20

Глобальные изменения климата приводят к более частым и более продолжительным засухам [Breshears et al., 2009]. Среди целого ряда неблагоприятных природных и антропогенных факторов засуха представляет собой наибольшую угрозу для древесных растений, особенно хвойных, нарушая процесс возобновления и стабильность фитоценозов, что создает экологические, экономические и социальные риски [Brunner et al., 2015]. Важнейшими лесообразующими видами бореальных лесов Евразии являются сосна (*Pinus sylvestris* L.) и ель (*Picea abies* (L.) H.Karst.). Сосна, являясь достаточно светолюбивым видом, как правило, характеризуется гораздо более высокой устойчивостью к дефициту воды и произрастает в более засушливых местообитаниях, чем ель. Это позволяет исследовать физиологические реакции на засуху контрастных по устойчивости к водному дефициту хвойных видов растений.

Если отвлечься от конкретных механизмов адаптации растений к засухе, то все их разнообразие может быть сведено лишь к двум основным стратегиям: к активной адаптации и адаптации пассивной [Кузнецов, 2009]. Реализация активной стратегии адаптации обеспечивает формирование защитных механизмов, прежде всего, синтез протекторных макромолекул и химических шаперонов, повышающих устойчивость клеточного метаболизма и физиологических процессов к низкому водному потенциалу среды. Пассивная адаптация направлена на уход растения от действующего фактора, в данном случае от низкого водного потенциала, за счет снижения скорости потери воды и повышения водопоглотительной способности корня. Растения, как правило, используют обе стратегии адаптации, но вклад каждой из этих стратегий в повышение адаптационного потенциала может быть видоспецифичен.

Изучению засухоустойчивости хвойных посвящено достаточно много исследований [Brunner et al., 2015]. В частности, установлено, что сосна и ель являются типичными изогидрическими видами, то есть они строго поддерживают свой водный статус при засухе [McDowell, 2011]. Известен широкий спектр механизмов сохранения водного гомеостаза при засухе, таких как закрытие устьиц, изменения в архитектуре растений, торможение роста листьев, их раннее старение и опадание, аккумуляция совместимых осмолитов, активация роста тонких корней для повышения способности корневой системы поглощать воду и другие [Brunner et al., 2015]. Изучать указанные физиологические показатели у сосны и ели в естественных условиях произрастания практически невозможно. Адекватной модельной системой для изучения механизмов ухода хвойных от засухи являются сеянцы, выращенные в строго контролируемых условиях [Ivanov et al., 2016].

В докладе будет представлен сравнительный анализ изменений интегральных физиологических процессов, характеризующих, прежде всего, сохранение водного статуса, у сеянцев сосны и ели при водном стрессе различной интенсивности: от слабого (-0,15 МПа) до экстремального (-1,5 МПа). В качестве критериев использовали ростовые параметры, показатели водного статуса, аккумуляцию неструктурных сахаров и сахароспиртов, физиологическую активность клеток корня, фотосинтетические пигменты и первичные фотосинтетические процессы [Zlobin et al., 2018a].

Анализ доступного материала показывает, что сеянцы ели способны эффективно поддерживать водный статус при засухе, о чем свидетельствует тот факт, что даже при экстремальном водном дефиците (-1,5 МПа) RWC в побегах не опускается ниже 85%. При этом наблюдается существенное снижение осмотического потенциала содержимого клеток корня и хвои (до 0,3-0,4 МПа), которое не связано с потерей воды или накоплением ионов K^+ и Na^+ , а, очевидно, обусловлено аккумуляцией совместимых осмолитов, природу которых предстоит установить. Помимо этого, при водном стрессе усиливается рост корневых волосков, что в свою очередь увеличивает водопоглотительную способность корневой системы и способствует сохранению водного статуса. Наряду с выраженной способностью сеянцев ели поддерживать водный баланс при засухе они характеризуются высокой чувствительностью к водному дефициту, в основе которой лежит слабая способность ели к cell wall adjustment [Zlobin et al., 2018].

В сеянцах сосны даже слабый водный потенциал (-0,15 МПа) ингибирует удлинение главного корня, что может быть одной из причин их гибели при засухе. Хлорофилл также очень чувствителен к водному стрессу, в то время как уровень каротиноидов возрастает в условиях низкого водного потенциала. Интенсивность роста свежей биомассы растений была больше связана с изменениями уровня RWC, чем с изменением содержания воды в тканях или накоплением сухой массы. Рост сеянцев сосны характеризовался высокой устойчивостью к водному дефициту. Растения были способны расти и накапливать сухой вес до водного потенциала среды -0,5 МПа, но при более низких значениях водного потенциала (-1,0 и -1,5 МПа) наблюдалось ингибирование роста, которое, как и у ели, было связано с сильным повреждением клеток корня. В пользу этого свидетельствует потеря клетками корня физиологической активности, которая оценивалась по способности гидролизовать диацетат флуоресцеина и по увеличению в 8-10 раз содержания кальция при сильном водном дефиците. Сеянцы сосны активно накапливают осмолиты при водном стрессе. Одним из важных механизмов поддержания водного статуса у сеянцев сосны является хорошо развитая способность клеток к осмотическому эджастменту.

Значительное внимание в докладе будет уделено анализу совместимых осмолитов, которые в хвойных представлены, прежде всего, простыми углеводами и

сахароспиртами, ответственными за осмотический эджастмент при засухе [Zlobin et al., 2018a]. В органах семян сосны и ели были обнаружены следующие сахара и сахароспирты: глюкоза, фруктоза, сахароза, пинит, инозит, сорбит и секвойит. Глюкозы и фруктозы содержались в хвое сосны в 3 раза выше, чем в хвое ели, тогда как в корнях существенных различий между видами не было. При водном стрессе оба эти сахара имели тенденцию к уменьшению в корнях (1,7-3 раза) и увеличению в надземных частях (1,1-2,4 раза) семян ели. Напротив, в семенах сосны содержание этих сахаров существенно не зависело от водного статуса среды. В целом, общее содержание и динамика глюкозы и фруктозы были характерны для каждого растения для каждого органа растения.

Содержание сахарозы в органах сосны и ели было самым большим среди всех сахаров и сахароспиртов и превышало 35 мг/г DW. Дефицит воды вызывал значительное увеличение концентрации сахарозы в надземных частях сосны, более чем в 1,5 раза при водном дефиците. В то же время содержание сахарозы уменьшилось в 1,7 раза в семенах ели при сильном водном стрессе.

Интересно, что в корнях сосны, которые наиболее сильно обезвоживались при водном дефиците, концентрация секвойита снижалась в 2,5-3,3 раза, а инозит полностью исчезал. Содержание сорбита в корнях сосны при водном дефиците заметно увеличивалось (в 3,3 – 7,8 раза), однако его абсолютные концентрации были намного ниже, чем для секвойита, пинита и инозита. Подобные же, но гораздо менее выраженные изменения концентрации сахароспиртов наблюдались в корнях ели. Концентрация пиннита существенно (в 1,8 раза) увеличивалась в хвое сосны при засухе, но не изменялась в хвое ели. Содержание секвойита не изменялось существенно в хвое сосны, в то время как в хвое ели уменьшилось в 6,1 раза при водном стрессе.

Общее содержание крахмала в семенах ели было заметно выше, чем в семенах сосны, в среднем в 3,9 раза в корнях и в 5,2 раза в хвое. Единственные видимые изменения содержания крахмала при водном дефиците наблюдались в корнях сосны, где его содержание при водном стрессе увеличилось на 30,8 - 83,2%.

Была проведена оценка вклада сахаров и сахароспиртов в изменения осмотического давления корней и надземных частей у обоих видов хвойных. Их вклад в формирование уровня осмотического давления был выше в хвое, чем в корнях, как у сосны, так и у ели. Только в надземных частях сосны осмотический вклад сахаров и сахароспиртов возрастал при водном стрессе, однако в абсолютных единицах это увеличение было относительно небольшим (приблизительно 0,05 МПа). Тем не менее, если учесть, что совместимые осмолиты аккумулируются в цитоплазме, на долю которой приходится около 5% объема клетки, то вклад неструктурных углеводов в осмотическое давление возрастет в 10 – 20 раз. Это позволяет считать, что в семенах сосны, в отличие от ели, при водном стрессе имеет место аккумуляция сахаров и сахароспиртов, которые вовлекаются в осмотический эджастмент – один из важных механизмов поддержания водного статуса растения в условиях засухи.

Заключение

Таким образом, семена сосны и ели сохраняли высокую интенсивность процессов ассимиляции, несмотря на водный стресс, о чем свидетельствуют слабые изменения в абсолютном приросте сухой биомассы и поддержание баланса между ростом и запасанием углеводов. Семена ели характеризовались способностью поддерживать водный баланс при засухе и проявлять высокую чувствительность к водному дефициту, в основе которой лежит слабая способность ели к cell wall adjustment. Семена сосны обнаруживали высокую чувствительность роста главного корня к водному дефициту, что может быть одной из причин их гибели при засухе. С другой стороны, семена сосны имели хорошо развитую способность клеток к осмотическому эджастменту. В пользу

этого говорит тот факт, что водный дефицит индуцировал увеличение содержания простых сахаров и сахароспиртов в надземных органах семян сосны, но не ели. Несмотря на относительно низкое содержание сахаров и сахароспиртов в органах проростков, их вклад в изменение осмотического потенциала значителен.

Данная работа поддержана грантом Российского научного фонда (проект No. 16-14-10224).

Литература

Breshears D.D., Myers O.B., Meyer C.W., Barnes F.J., Zou C.B., Allen D., McDowell N.G., Pockman W.T. Tree die-off in response to global change-type drought: mortality insights from a decade of plant water potential measurement // *Front. Ecol. Environ.* – 2009. – V. 7. – P. 185–189.

Brunner I., Herzog C., Dawes M.A., Arend M., Sperisen C. How tree roots respond to drought // *Front Plant Sci.* – 2015. – V. 29. – P. 1–16.

Ivanov Y.V., Kartashov A.V., Ivanova A.I., Savochkin Y.V., Kuznetsov V.V. Effects of zinc on Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) seedlings grown in hydroculture // *Plant Physiol. Bioch.* – 2016. – V. 102. – P. 1–9.

Кузнецов Вл.В. Физиологические механизмы адаптации и создание стресс-толерантных растений. В кн.: Проблемы экспериментальной биологии. 2009. (Отв. ред Ламан Н.А.). Минск: Технология. – С. 5–78.

McDowell N.G. Mechanisms linking drought, hydraulics, carbon metabolism, and vegetation mortality // *Plant Physiol.* – 2011. – V. 155. – P. 1051–1059.

Zlobin I.E., Ivanov Y.V., Kartashov A.V., Kuznetsov V.V. Impact of drought stress induced by polyethylene glycol on growth, water relations and cell viability of Norway spruce seedlings // *Environ. Sci. Pollut. Res.* – 2018. – V. 25. – P. 8951–8962.

Zlobin I.E., Ivanov Y.V., Kartashov A.V., Sarvin B.A., Stavrianidi A.N., Kreslavski V.D., Kuznetsov V.I. Impact of weak water deficit on growth, photosynthetic primary processes and storage processes in pine and spruce seedlings // *Photosynth Res.* – 2018a. (in press).

PHYSIOLOGICAL ADAPTATION MECHANISMS OF CONIFEROUS PLANTS TO DROUGHT

V.I. Kuznetsov¹, I.E. Zlobin¹, A.V. Kartashov¹, B.A. Sarvin², A.R. Stavrianidi², P.P. Pashkovsky¹, Yu.V. Ivanov¹

¹K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia, vlkuzn@mail.ru

²Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia, ivanovinfo@mail.ru

Abstract. A comparative analysis of the ability of pine and spruce seedlings to maintain water status under conditions of weak, medium and extremely low water potential of the medium (from -0.15 to -1.5 MPa) is presented. It is concluded that seedlings of both species retained a high intensity of assimilation processes under water stress. Norway spruce seedlings maintained a water balance under drought and showed high sensitivity to water deficiency, which is based on their weak ability to cell wall adjustment. Scots pine seedlings showed a high sensitivity of the growth of the main root to the water deficit, which may be one of the reasons for their death during a drought. At the same time, pine seedlings had a well-developed ability of cells to osmotic adjustment. In favor of this is the fact that in response to water deficiency in pine seedlings, but did not spruce, an increase in the content of unstructured carbohydrates (sugar, sugar alcohol, starch) was observed. Despite the relatively low content of sugars and sugar alcohols in the organs of the seedlings, their contribution to the change in the osmotic potential of the cytoplasm was very significant.

Keywords: *adaptation, water stress, Picea abies* L., *Pinus sylvestris* L., *non-structural carbohydrates*

ОПЫТ СОЗДАНИЯ ИННОВАЦИОННЫХ ВАКЦИН ПРОТИВ ОПАСНЫХ ВИРУСНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ НА БАЗЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСПРЕССИОННЫХ СИСТЕМ

Р.К. Саляев¹, Н.И. Рекославская^{1,2}, А.С. Столбиков¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия, salyaev@sifibr.irk.ru

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Иркутский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия

Аннотация. Изложен 17-летний опыт разработки инновационных вакцин, создаваемых на основе растительных экспрессионных систем против опасных вирусных инфекций. Приведены данные о разработке кандидатной вакцины одновременно против ВИЧ и гепатита В, а также против опасных папилломатозов: цервикального рака и аногенитальных папилломавирусных инфекций.

Ключевые слова: ВИЧ/гепатит, папилломавирусы, цервикальный рак, аногенитальные папилломатозы, вакцины на основе растений

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-21-25

Введение

В конце 19 века в мировой науке была разработана концепция новых вакцин, которые тогда назывались "съедобными", потому что создавались на основе трансгенных растений, в которые методами генной инженерии вводились гены, кодирующие синтез антигенных белков возбудителей того или иного заболевания. На основе этой концепции были опробованы различные растительные экспрессионные системы и сейчас уже получены сотни кандидатных и реально действующих вакцин, созданных на базе трансгенных растений.

Растительные экспрессионные системы привлекают тем, что они дают меньше побочных эффектов, вакцинация осуществляется перорально, транспортировка и хранение происходят при обычной температуре. Во многих случаях вакцины более дешевы и не вызывают аллергических реакций организма.

Начиная с 2000 года, авторы проводят исследования по оптимизации получения пероральных вакцин на основе растительных экспрессионных систем против опасных вирусных заболеваний. Так, в 2001-2007 годах в совместной работе с ГНЦ ВБ "Вектор", Институтом химической биологии и экспериментальной медицины СО РАН и Лабораторией Молекулярной патологии растений (Белтсвилл, США) по международному гранту МНТЦ были выполнены исследования по разработке бинарной пероральной вакцины на основе трансгенных растений одновременно против СПИДа и гепатита В. Затем, по инициативе МНТЦ, выполнена аналогичная работа по созданию двух вариантов кандидатной вакцины против гепатита В.

С 2008 года и по настоящее время авторы работают над созданием инновационных профилактических и терапевтических вакцин против опасных папилломатозов: цервикального рака и аногенитальных кондилом.

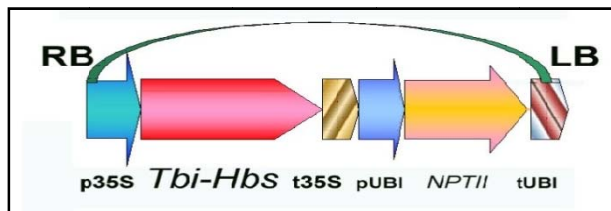
Результаты

1. Кандидатная вакцина против СПИДа и гепатита В.

При разработке генетической конструкции в качестве целевого использовался гибридный ген ТВ1-NBS, кодирующий синтез антигенных белков ВИЧ-1 и гепатита В.

В конструкции также присутствовал ген устойчивости к канамицину (рис. 1).

Рис. 1. Генетическая конструкция с геном TBI-HBS (ВИЧ-1 и гепатит В)

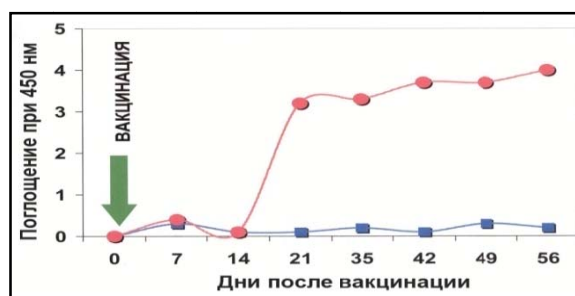


После генетической трансформации растений томат получили в плодах следующие количества антигенных белков:

TBI (по p24) = 0.5 -10 нг/мг ОРБ, HBS (по HBSAg) - 4,8-25,91 нг/мг ОРБ .

Проверку эффективности вакцинации проводили на лабораторных мышах путем перорального введения вакцинного материала по 500 мг на мышшь. В дальнейшем отбирали пробы крови через определенные интервалы времени с последующим иммуноферментным анализом антител. На рис. 2 видна динамика синтеза антител в течение 56 дней. Аналогичные результаты были получены и по синтезу антител против гепатита В.

Рис. 2. Динамика синтеза антител после вакцинации мышей TBI-HBS

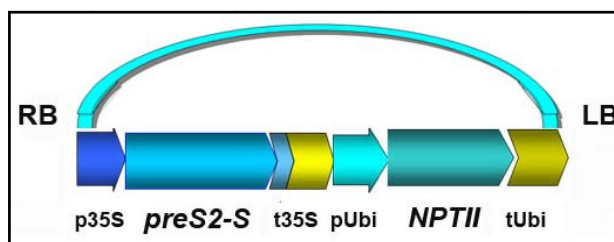


Таким образом, к 2006-2008 годам была впервые разработана кандидатная вакцина против СПИДа и гепатита В в растительной экспрессионной системе [Shchelkunov et al., 2006; Salyaev et al., 2009].

После завершения этой работы от МНТЦ было получено предложение разработать ещё одну вакцину специально для профилактики гепатита В. В качестве целевого гена был выбран ген PreS2-S оболочки вируса гепатита В.

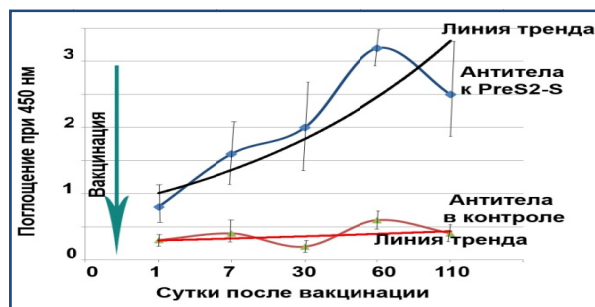
Генетическая конструкция создавалась по тому же принципу, что и ранее (рис. 3).

Рис. 3. Генетическая конструкция с геном preS2-S



После генетической трансформации томата выход антигенного белка PpreS2-S составил 130-270 нг/мг ОРБ. Проверка иммуногенности вакцины на мышах по количеству антител к PreS2-S показала достаточный синтез антител в крови мышей (рис.4). На этом наша работа с МНТЦ была завершена.

Рис. 4. Динамика синтеза антител в сыворотке крови мышей после вакцинации материалом плодов томата с PreS2-S в течение 110 суток

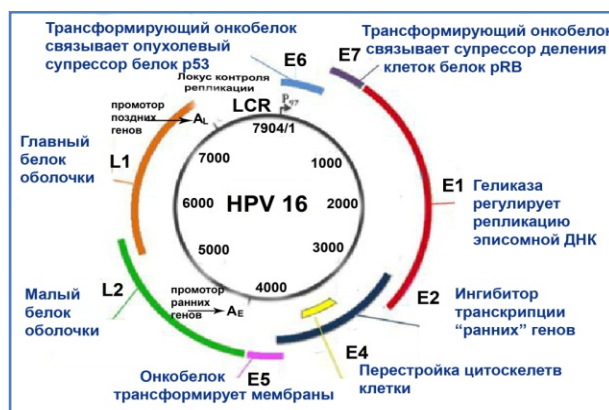


2. Кандидатные вакцины против вирусов папилломы человека

Типов папиллом много: около 200. Среди папилломавирусов есть и очень опасные. Имеется целая группа вирусов папилломы, вызывающих раковые заболевания, в частности, рак шейки матки, рак легочных тканей и носоглотки. Рак шейки матки особенно опасен, так как его встречаемость занимает второе место после рака грудной железы. По данным ВОЗ, инфицировано онкогенными вирусами около 10 % женщин.

Так называемые аногенитальные папилломатозы тоже представляют собой крайне неприятные бородавочные скопления в области промежности. Они тоже вызываются соответствующими типами вируса папилломы человека. Схема онкогенного типа вируса человека показан на рис. 5.

Рис. 5. Физическая карта вируса папилломы человека тип ВПЧ16 с обозначением функций генов



Первая часть нашей работы, проводимой с 2008 года, заключалась в разработке и усовершенствовании кандидатной вакцины против рака шейки матки, вызываемого наиболее онкогенным вирусом ВПЧ16.

Преыдуший опыт работы с ядерной генетической трансформацией томата выявил определенные трудности при создании вакцины, которые выражались в недостаточно интенсивном синтезе антигенных белков. Поэтому значительная часть дальнейшей работы была посвящена использованию различных методов интенсификации синтеза антигенов разными типами энхансеров и вирусных регуляторных элементов. В настоящем докладе я не привожу этих исследований, поскольку они будут изложены в двух докладах нашей конференции: в докладе Н.И. Рекославской и в докладе А.С. Столбикова (см. в секции № 4). Скажу только о том, что в итоге этих исследований удалось многократно увеличить выход антигенных белков при ядерной трансформации (таблица).

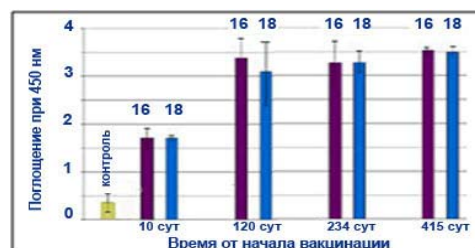
Таблица.

Сравнение эффективности трансформации различными генетическими конструкциями на примере HPV16 L1

№ , Варианты конструкций	Выход антигенного белка, нг/мг ОРБ
1. Стандарт (на примере p35S TBI-HBS)	0,5-10 (по p24), 70-230 (по HBS)
2. p35S HPV16 L1 Ω5'НТО ВТМ	283-2330
3. p35S RdRP (PHK2a,b) TEV 5'НТО HPV16 L1	25000 (экстракт) - 204000 (сок плода)
4. pRB94 5'НТО tRNA f-M rps14 p35S TEV5'НТО prrm16S HPV16L1 psbA 3'НТО (биобаллистика)	1800-5300

В итоге были разработаны две кандидатные вакцины на основе наиболее онкогенных типов папилломы человека ВПЧ16 и ВПЧ18. Иммуногенность вакцин при этом была также достаточно высокой (рис. 6).

Рис. 6. ИФА содержания антител к ВПЧ16 L1 и ВПЧ18 L1 в сыворотке крови вакцинированных мышей.



Контроль - сыворотка крови контрольных мышей,
16 - вариант антител к ВПЧ16 L1,
18 - вариант антител к ВПЧ18 L1
сыворотки крови мышей

Опираясь на эти исследования, был заключен контракт с одной из крупных фармацевтических фирм на создание четырехкомпонентной вакцины против цервикального рака и разработку лабораторного регламента ее получения. Через 3 года вакцина была разработана и фирме передан ряд партий вакцины для доклинических испытаний, а также лабораторный регламент ее получения и заявка на патент.

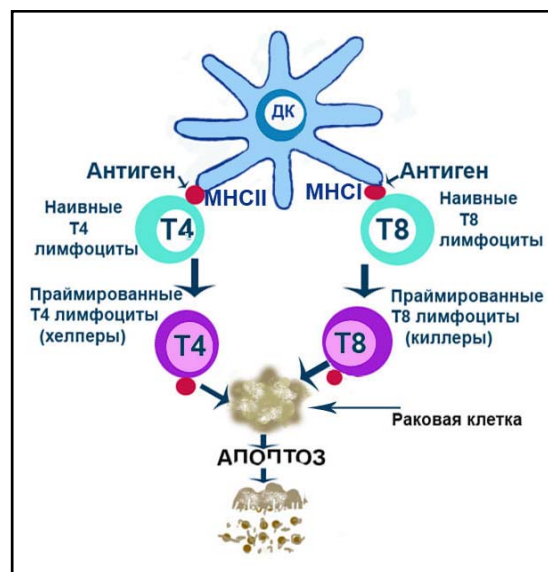
В настоящее время наши исследования ведутся в 2-х направлениях:

1. Исследование возможности создания терапевтической вакцины против цервикального рака на базе растительной экспрессионной системы, используя "ранние" гены ВПЧ16 E2, ВПЧ16 E6 и ВПЧ16 E7 (рис. 5), которые, судя по научной литературе, могут служить основой для разработки такой вакцины [Lin et al., 2010; Burg, 2012]. В этом случае центр исследований будет включать изучение степени активации Т лимфоцитов: киллеров CD8⁺ и хелперов CD4⁺, которые после активации приобретают способность узнавать раковые клетки и вызывать их разрушение путем апоптоза (рис. 7).

Рис. 7. Схема активации Т лимфоцитов Антигенными "ранними" белками ВПЧ.

Обозначения:

ДК - дендритная клетка, Т4 - CD4⁺ лимфоцит,
Т8 - CD8⁺ лимфоцит,
МНС I и МНС II - главные комплексы гистосовместимости классов I и II,
РК - раковая клетка



Эта работа находится на начальных этапах: разрабатывается дизайн генетических конструкций, осуществляется их синтез и составляются программы экспериментов в различных модельных условиях.

2. Разработка профилактической 2-х или 3-х компонентной вакцины, пригодной для пероральной профилактики против опасных аногенитальных папилломатозов и цервикального рака.

Данная вакцина сейчас в работе: синтезированы и проверены на синтез антигенных белков генетические конструкции, в настоящее время нарабатывается вакцинный материал для дальнейших экспериментов и изучения его иммуногенности на лабораторных животных.

Литература

Shchelkunov S.N., Salyaev R.K., Posdnyakov S.G., Rekoslavskaya N.I. et al. Immunogenicity of a novel, bivalent, plant-based oral vaccine against hepatitis B and human immunodeficiency viruses // *Biotechnol. Letters*. – 2006. – V. 28, № 6. – P. 959–967.

Salyaev R.K., Rekoslavskaya N.I., Stolbikov A.S., Hammond R.W., Shchelkunov S.N. Retention of the ability to synthesize HIV-1 and HBV antigens in generations of tomato plants transgenic for the TBI-HBS gene // *Doklady Biochemistry Biophysics*. – 2009. – V. 425, № 1 – P. 120–123.

Lin K., Roosinovich E., Ma B., Hung C.-F., Wu T.-C. Therapeutic HPV DNA vaccines // *Immunol. Res.* – 2010. – V. 47, № 1-3. – P. 8–12.

Burg van der S.H. Immunotherapy of human papilloma virus induced disease // *The Open Virol. J.* – 2012. – V. 6. – P. 257–263.

THE EXPERIENCE OF THE CREATION OF INNOVATIVE VACCINES AGAINST DANGEROUS VIRAL DISEASES ON THE BASE OF PLANT EXPRESSION SYSTEMS

R.K. Salyaev¹, N.I. Rekoslavskaya^{1,2}, A.S. Stolbikov¹

¹Siberian institute of plant physiology and biochemistry of SB RAS, Irkutsk, Russia, salyaev@sifibr.irk.ru

²The Irkutsk Scientific Center, SB RAS, Irkutsk, Russia

Abstract. There are presented the 17th years experiences of the development of innovative vaccines, created on the base of plant expression systems against dangerous viral infections. The data of the development of candidate vaccines simultaneously against HIV-1 and hepatitis B as well as against dangerous papillomatoses: cervical cancer and anogenital papillomaviral infections are considered.

Keywords: *HIV-1/hepatitis B, papillomaviruses, cervical cancer, anogenital papillomatoses, plant based vaccines*

ТРАНСПОРТ РНК ПО ФЛОЭМЕ: РОЛЬ В ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ И ЗАЩИТНОМ ОТВЕТЕ РАСТЕНИЙ

А.Г. Соловьев¹, Е.А. Толстыко², А.А. Лезжов³, А.В. Панкратенко², Е.А. Лазарева², С.Ю. Морозов^{1,2}

¹Научно-исследовательский институт Физико-Химической Биологии имени А.Н. Белозерского Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия, solovyev@belozersky.msu.ru

²Биологический факультет Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования Московского Государственного Университета им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия

³Факультет биоинженерии и биоинформатики Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования Московского Государственного Университета им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Аннотация. Молекулы РНК, детектируемые во флоэме, включают мРНК, транспорт которых по проводящей системе необходим для морфогенеза. Другой тип флоэмных РНК представлен малыми РНК, siRNA и miRNA, участвующими в антивирусном ответе и регуляции генов растений в ответ на воздействие факторов окружающей среды. Данные о мобильных РНК будут представлены с точки зрения современного понимания их функций в обеспечении существования растения как единого организма.

Ключевые слова: стресс, защитный ответ, siRNA, miRNA, флоэма

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-26-28

Транспорт белков и РНК по сосудистой системе является важнейшей частью комплексной системы межклеточной коммуникации, определяющей существование растения как единого организма. В частности, транспорт РНК по сосудам флоэмы необходим для морфогенеза и развития защитного ответа растений на патогены.

В настоящее время достаточно полно охарактеризован репертуар молекул РНК, обнаруживаемых в сосудах проводящей системы растений и способных к транспорту по флоэме [Kehr and Kragler, 2018].

К таким РНК относятся определенные мРНК, несущие, как предполагают, сигналы (специфические последовательности нуклеотидных остатков и/или элементы вторичной структуры), которые обеспечивают транспорт таких молекул по флоэме за счет взаимодействия с белками, способными связывать такого рода последовательности. В последнее время появились данные, что для некоторых мобильных мРНК сигналами транспорта могут служить последовательности тРНК, присутствующие в некодирующих областях этих транскриптов [Thieme et al., 2015].

Также во флоэмном соке обнаруживаются малые некодирующие РНК, которые представлены несколькими классами молекул длиной 21-24 нуклеотида. Они образуются при процессинге дуплексов РНК (дцРНК) с помощью фермента Dicer (DCL), который родственен РНКазе III. У всех эукариот найдены два главных класса малых РНК – микро-РНК (miRNA) и малые интерферирующие РНК (siRNA), которые отличаются по механизмам биогенеза и функционирования [Pumplin and Voinnet, 2013]. Оба класса малых РНК найдены во флоэме, но не в ксилемном соке [Kehr and Kragler, 2018]. Малые РНК могут подавлять экспрессию генов на уровне мРНК, вызывая посттранскрипционный сайленсинг генов (PTGS). Этот процесс, развиваясь в первичной клетке, может передаваться затем в соседние клетки и далее по флоэме в другие органы растения, вызывая специфический сайленсинг генов и там. Это может

приводить к подавлению экспрессии как генов самого растения, так и вирусных геномов.

В частности, транспорт по флоэме молекул siRNA, комплементарных вирусным РНК и являющихся производными дцРНК, которые представляют собой репликативные формы вирусных геномов, играет существенную роль в обеспечении устойчивости растений к вирусной инфекции. Имеются данные, говорящие о том, что такого рода вирус-специфические siRNA распространяются по флоэме существенно быстрее, чем происходит транспорт вирусной инфекции, в результате чего вирус достигает удаленные части растения, уже обладающие определенной степенью устойчивости к данному вирусу [Pumplin and Voinnet, 2013].

Обнаружено, что транспорт miRNA по флоэме может иметь существенную роль в ответе на стрессы и, в общем случае, на изменения условий окружающей среды. Показано, что, в сравнении с прочими тканями растения, флоэмный экссудат обогащен рядом miRNA, таких как miR156, miR168, miR169, miR390, miR395 и miR399 [Marín-González et al., 2012], и для некоторых таких miRNA выявлены физиологические эффекты, вызываемые их транспортом по флоэме. Так, например, miR399 имеет ключевую роль в ответе растений на стресс, вызванный недостатком неорганического фосфата. В условиях такого рода стресса происходит накопление зрелой miR399 в наземных частях растения и ее транспорт в корни, где данная miRNA подавляет экспрессию мРНК гена-мишени, кодирующего белок PHO2, что активирует поглощение неорганического фосфата корнями и его транспорт по растению [Buhtz et al., 2010; Marín-González et al., 2012]. Транспорт в корни в условиях стресса был также показан для miR395, miR827 и miR2111 [Buhtz et al., 2010; Huen et al., 2017].

Другой тип ответа на факторы окружающей среды опосредован miR156. Эта miRNA, способная к транспорту по флоэме, накапливается в столонах в условиях короткого светового дня и индуцирует формирование клубней [Bhogale et al., 2014].

В целом, имеющиеся данные показывают важную роль транспорта по флоэме РНК, и в первую очередь малых РНК, в защитных ответах растений на вирусную инфекцию и условия стресса.

Работа поддержана грантом Российского Научного Фонда 17-14-01032.

Литература

Bhogale S., Mahajan A.S., Natarajan B., Rajabhoj M., Thulasiram H.V., Banerjee A.K. MicroRNA156: a potential graft-transmissible microRNA that modulates plant architecture and tuberization in *Solanum tuberosum* ssp. *andigena* // *Plant Physiology*. – 2014. – V. 164, № 2. – P. 1011–1027.

Buhtz A., Pieritz J., Springer F., Kehr J. Phloem small RNAs, nutrient stress responses, and systemic mobility // *BMC Plant Biology*. – 2010. – V. 10. – P. 64.

Huen A.K., Rodriguez-Medina C., Ho A.Y.Y., Atkins C.A., Smith P.M.C. Long-distance movement of phosphate starvation-responsive microRNAs in *Arabidopsis* // *Plant Biology*. – 2017. – V. 19, № 4. – P. 643–649.

Kehr J., Kragler F. Long distance RNA movement // *New Phytologist*. – 2018. – V. 218, № 1. – P. 29–40.

Marín-González E., Suárez-López P. "And yet it moves": cell-to-cell and long-distance signaling by plant microRNAs. // *Plant Science*. – 2012. – V. 196. – P. 18–30.

Pumplin N., Voinnet O. RNA silencing suppression by plant pathogens: defence, counter-defence and counter-counter-defence. // *Nature Reviews in Microbiology*. – 2013. – V. 11, № 11. – P. 745–760.

Thieme C.J., Rojas-Triana M., Stecyk E., Schudoma C., Zhang W., Yang L., Miñambres M., Walther D., Schulze W.X., Paz-Ares J., Scheible W.R., Kragler F.

Endogenous Arabidopsis messenger RNAs transported to distant tissues // Nature Plants. – 2015. – V. 1, № 4. – P. 15025.

PHLOEM TRANSPORT OF RNA: ROLES IN VIRAL INFECTION AND PLANT DEFENSE RESPONSE

A.G. Solovyev¹, E.A. Tolstyko², A.A. Lezzhov³, A.V. Pankratenko², E.A. Lazareva², S.Y. Morozov¹

¹A.N. Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia, solovyev@belozersky.msu.ru

²Biological Faculty, M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

³Faculty of Bioengineering and Bioinformatics, M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Abstract. RNA molecules detected in the phloem include mRNAs, and their transport via the plant conductive system is essential for the morphogenesis. Another type of phloem RNAs comprises small RNAs, either siRNA or miRNA, involved in antiviral defense and regulation of gene expression in response to stresses and changes in environmental conditions. Current data on mobile RNAs will be discussed in view of their roles in maintenance of the integrity of plant organism.

Keywords: *stress, defense response, siRNA, miRNA, phloem*

ТОНКИЙ ТРАНСЛЯЦИОННЫЙ КОНТРОЛЬ мРНК РАСТЕНИЙ ПРИ ДЕЙСТВИИ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ СРЕДЫ: СЛОЖНАЯ ПАУТИНА МЕХАНИЗМОВ

А.А. Тюрин¹, О.С. Павленко¹, К.В. Кабардаева¹, О.А. Гра¹, В.С. Фадеев¹,
О. Мустафаев², И.В. Голденкова-Павлова¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия, irengold58@gmail.com

²Бакинский государственный университет, Баку, Азербайджан, orkhan@bioset.org

Аннотация. Парадокс несоответствия уровней мРНК и их белковых продуктов в клетках эукариот, включая растения, направляет усилия исследователей на изучение тонких механизмов трансляции. Трансляционный контроль – один из ключевых этапов регуляции экспрессии генов, который способствует пластичности метаболизма растений, что позволяет им выжить в динамичной среде. Современные представления о многочисленных регуляторных элементах мРНК и их вклад в дальнейшую судьбу индивидуальной мРНК в трансляционном процессе в ответе на абиотические факторы среды будут представлены в докладе.

Ключевые слова: трансляция, растения, мРНК, регуляторные коды, абиотические факторы

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-29-30

Трансляция – фундаментальный процесс, который крайне важен для жизнедеятельности, как отдельных клеток, так и растения в целом. Трансляционный контроль способствует пластичности метаболизма и роста растений, что позволяет им выжить в динамичной среде, в частности, при воздействии неблагоприятных абиотических факторов среды. И поскольку белковые продукты имеют критическое значение для жизнедеятельности организма в целом, знание тонкой регуляции эффективности трансляции мРНК является исключительно важным для понимания путей регуляции физиологических процессов и, в дальнейшем, для практического управления ими.

Результаты транскриптомных и протеомных исследований выявили скромную корреляцию между уровнями мРНК и белка у различных организмов, включая растения. Особенно удивительно, что даже изменение уровня мРНК индивидуального гена не обязательно приводит к ожидаемому изменению уровня соответствующего белка. Установлено, что пропорция мРНК индивидуального гена, вовлеченная в трансляцию, т.е. ее трансляционный статус, ранжирована в пределах от 10% до 95% при разных условиях жизнедеятельности. Неполное соответствие между мРНК и уровнем белка определяется в первую очередь вариабельностью трансляционной эффективности индивидуальных мРНК.

Трансляционная эффективность зависит от сложных взаимодействий между молекулярными структурами, которые модулируют трансляцию на ряде «контрольно-пропускных пунктов»: инициации, элонгации, терминации трансляции. Трансляция сложный биологический процесс, в который вовлечено большое число участников, включая мРНК, тРНК, рибосомы и многочисленные белковые факторы. Каждый из них, безусловно, важен для эффективной трансляции. При этом и сами мРНК имеют многочисленные элементы: 5'-нетранслируемые области (5'-НТО), контекст вокруг стартового AUG кодона, кодоновый состав, каждый из которых в отдельности и при их сочетании могут определить дальнейшую судьбу индивидуальной мРНК в трансляционном процессе.

Согласно современным данным, абиотические стрессовые факторы вызывают глобальное перепрограммирование трансляции мРНК: большинство транскриптов демонстрируют различную степень трансляционной репрессии, тогда как подмножество транскриптов напротив выходит из-под контроля таких репрессий и остается или становится активно транслируемыми в условиях стресса. Как осуществляется такой тонкий регуляторный механизм трансляции при действии абиотических факторов? Какие регуляторные коды в последовательностях мРНК опосредуют такой дифференциальный трансляционный контроль? Геномные исследования трансляционного контроля, которые сочетают технологии микрочипов или глубокого секвенирования с фракционированием полисомно-ассоциированной мРНК для оценки состояния трансляции отдельных видов мРНК, предоставили новые возможности для структурно-функционального анализа регуляторных последовательностей мРНК, которые связаны с их дифференциальной трансляцией, в том числе и в условиях действия абиотических факторов среды.

Основываясь на современных экспериментальных данных, в докладе будет обсуждена функциональная роль структурных элементов мРНК в процессе трансляции и их вклада в перепрограммирование трансляции индивидуальных мРНК в условиях действия некоторых абиотических факторов.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда №18-04-00026.

FINE CONTROL OF TRANSLATION FOR PLANT mRNA UNDER ABIOTIC STRESS FACTORS: A COMPLEX WEB OF MECHANISMS

A.A. Turin¹, O.S. Pavlenko¹, K.V. Kabardaeva¹, O.A. Gra¹, V.S. Fadeev¹, O. Mustafaev², I.V. Goldenkova-Pavlova¹

¹Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia, irengold58@gmail.com

²Baku State University, Baku, Azerbaijan, orkhan@bioset.org

Abstract. The paradox of mismatch between mRNA levels and their protein products in eukaryotic cells, including plants, directs researchers' efforts to study fine translation mechanisms. Translational control is one of the key stages in the regulation of gene expression, which promotes the plasticity of plant metabolism, which allows them to survive in a dynamic environment. Modern ideas about the numerous regulatory elements of mRNA and their contribution to the future fate of individual mRNA in the translation process in response to abiotic environmental factors will be presented in the report.

Keywords: translation, plants, mRNA, regulatory codes, abiotic factors

**СЕКЦИЯ 1.
ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ЗАЩИТНЫЕ
РЕАКЦИИ ОРГАНИЗМОВ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ
АБИОТИЧЕСКИХ И БИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ**

ВЛИЯНИЕ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ПИГМЕНТНЫЙ СОСТАВ ЛИСТЬЕВ ПЕРСИКА

Ю.С. Абиьфазова

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт цветоводства и субтропических культур», Сочи, Россия, Citrus_Sochi@mail.ru

Аннотация. В статье представлены исследования растений *Persica vulgaris* (Mill.), выращиваемых в условиях влажных субтропиков Краснодарского края. Даны результаты исследований по содержанию хлорофиллов а, b и каротиноидов в листьях персика, подтверждающие зависимость пигментного состава растений от сортовых особенностей и нарушений погодно-климатических условий на Черноморском побережье субтропической зоны.

Ключевые слова: персик, сорта, хлорофилл, каротиноиды, стресс

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-32-35

Культура *Persica vulgaris* (Mill.) – многолетнее листопадное растение, относится к семейству розоцветных (*Rosaceae* Juss.). Родиной является Восточная Азия [Шайтан и др., 1989]. Выращивается на Северном Кавказе, Черноморском побережье и в других регионах России.

Персик – культура теплолюбивая и светолубивая, деревья относительно быстро растут, имеют высокую способность к побегообразованию, благодаря чему рано вступают в плодоношение, буквально с третьего года жизни, принося более 25 ц/га. Продуктивный период с достаточно стабильным урожаем может продолжаться до 20 лет. Эта культура считается одной из ведущих косточковых растений и наиболее экономически выгодной из-за её высокой скороплодности. Персик занимает одно из первых мест по засухоустойчивости [Ерёмин, 2008; Абиьфазова, 2016]. Именно в этом заключается актуальность сортоизучения и выделения наиболее адаптивных сортов персика к биотическим и абиотическим факторам среды с выходом на получение стабильных урожаев с высокими вкусовыми качествами плодов в условиях влажных субтропиков России [Abilphazova & Belous, 2015].

Полевые и лабораторные исследования растений персика проводятся на базе ФГБНУ ВНИИЦиСК с применением классических методов: коллекционное изучение сортообразцов в соответствии с [Федин, 1985; Седов, Огольцова, 1999]; содержание хлорофиллов а, b и каротиноидов методом А.А. Шлыка с использованием расчетных формул Циглера и Эгле [Шлык, 1971]. Объектами изучения являются физиологически однородно вызревшие листья персика.

В настоящее время в субтропиках Краснодарского края спрос на плоды персика отечественного производства далеко неудовлетворителен и, зная их качественные достоинства, прилагаем все усилия для сохранения существующего генофонда насаждений культуры в субтропиках России. Соблюдаются необходимые агротехнические мероприятия с применением современных систем формирования крон и возможности выделения наиболее перспективных урожайных сортов персика с учётом возраста, сорта, а также устойчивости к биотическим и абиотическим факторам среды [Кошкин, 2010; Петин, 1959]. Казалось бы, погодно-климатические условия влажных субтропиков соответствуют особенностям годичного ритма роста и развития персика, однако лимитирующим фактором для прохождения репродукционных процессов являются: тёплый осенне-зимний период и холодная весна с морозящими дождями и морскими туманами, особенно во время цветения (вторая половина марта –

начало апреля) с низкой температуры 9–11 °С, при которой опыление и оплодотворение персика не может происходить.

Известно, что показатели фотосинтетической активности зависят от факторов внешней среды [Абильфазова, 2017; Тарчевский, 1964] и каждый из них имеет свою закономерность в пределах региона возделывания культуры. В субтропической зоне Краснодарского края одним из основополагающих условий формирования урожая персика является наличие достаточного тепла и влаги [Абильфазова, 2016].

Изучения фотосинтетической активности (хлорофиллов а, b и каротиноидов) проводятся с 2011 года. Результатами наших исследований установлено увеличение фотосинтетических пигментов – хлорофиллов а и b в листьях персика [Абильфазова, 2017]. Накопления хлорофиллов а и b в основном приходилось на конец мая и начало первого летнего месяца. С середины июня наблюдалась тенденция накопления хлорофилла а от 1,70 мг/г до 2,3 мг/г и хлорофилла b от 0,8 мг/г до 1,4 мг/г сырого веса. У сортов Донецкий жёлтый, Эрли блоу, Пламенный, Коллинс, Харбинджер отмечено увеличение суммы хлорофиллов от 3,0 мг/г до 3,7 мг/г сырого веса. Но с появлением плодов (середина июня) содержание пластидных пигментов в листьях персика резко снижалось почти в 1,5 раза, а уже в сентябре концентрация их снова повышалась, что, видимо, связано с опадением листьев и покоем растений.

Важным информативным показателем, характеризующим работу фотосинтетического аппарата, является соотношение хлорофилла а к хлорофиллу b (a/b). Результатами исследований установлено снижение индекса хлорофиллов (a/b) от 2,1 мг/г до 1,40 мг/г сырого веса (снижение светособирающей функции) у всех сортов персика. Выявлено, что у сорта Медин ред данный индекс соответствовал 2,67 мг/г сырого веса, что подтверждает, чем больше показатель соотношения a/b, тем интенсивнее проходит фотосинтез.

Главным составляющим пигментной системы растений являются каротиноиды. Общеизвестно присутствие каротиноидов в мембранах у всех фотосинтезирующих организмов, где они выполняют ряд важнейших функций в процессе фотосинтеза, как защитную (тушители триплетного хлорофилла и синглетного кислорода), так и фотопротекторную, т.е. при неблагоприятных условиях они предохраняют реакционный центр от мощных потоков энергии и стабилизируют липидную фазу тилакоидных мембран, тем самым защищая ее от переокисления [Алехина и др., 2005].

За время исследований, как видно из рисунка, было установлено, что все опытные растения персика отличались высоким накоплением каротиноидов – 0,73 мг/г (Фаворита Мореттини, Эрли ред, Медин ред, Эрли блоу, Пламенный, Лариса, Славутич) и 0,93 мг/г (Донецкий белый, Харбинджер, Память Гришко, Осенний сюрприз, Редхавен, Донецкий жёлтый), характеризующим засухоустойчивость в критический период и снятие стресс-напряжения в организме растений. Этот показатель используют также в качестве диагностического критерия оценки устойчивости к неблагоприятным погодным условиям среды.

При характеристике работы фотосинтетического аппарата немаловажную роль играет соотношение суммы хлорофиллов к каротиноидам (a+b/каротиноиды). Этот показатель очень оперативно реагирует на всевозможные изменения природной среды (рисунок).

Так, по нашим многолетним данным, относительно устойчивыми оказались сорта персика Эрли ред, Осенний сюрприз, Память Гришко, Редхавен, Лариса, Донецкий жёлтый, Донецкий белый, Медин ред, где показатель соотношения суммы хлорофиллов к каротиноидам был близок к норме [Отчеты, 2016; 2017]. Как известно, чем меньше соотношение (a+b/каротиноиды), тем выше устойчивость растений к неблагоприятным температурным условиям.

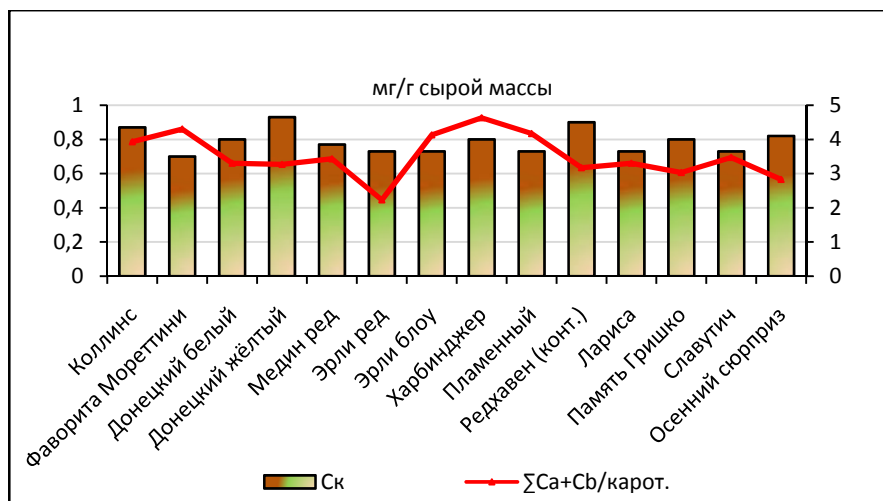


Рисунок. Пигментный состав листьев персика.

Таким образом, полученные данные по содержанию фотосинтетических пигментов в листьях свидетельствуют об относительной устойчивости изучаемых сортов *Persica vulgaris* (Mill.) к абиотическим факторам среды, что во многом определяется их биологическими особенностями.

Литература

Абильфазова Ю.С. Пигментный состав листьев персика в условиях Черноморского побережья Краснодарского края // Факторы устойчивости растений и микроорганизмов в экстремальных природных условиях и техногенной среде : Материалы Всероссийской научной конференции с международным участием и школы молодых ученых (Иркутск, 12–15 сентября 2016 г.). – Иркутск : Изд-во Института географии им. В.Б. Сочавы СО РАН, 2016. – С. 40–41.

Абильфазова Ю.С. Устойчивость персика к стресс-факторам влажных субтропиков России // Вестник РСХН. – 2016. – № 6. – С. 40–42.

Абильфазова Ю.С. Фотосинтетическая активность листьев мандарина в условиях влажных субтропиков Краснодарского края / European Scientific Conference : Сборник статей VI Международной научно-практической конференции (Пенза, 7 сентября 2017 г.). – Пенза : МЦНС «Наука и просвещение», 2017. – С. 46–49.

Алехина Н.Д., Балнокин Ю.В., Гавриленко В.Ф. и др. Физиологии растений (ред. . И.П. Ермаков). – Москва: Академия. – 2005. – 640 с.

Ерёмин Г.В. Помология. Орёл, 2008. – Т. 3. – 315 с.

Кошкин Е.И. Физиология устойчивости сельскохозяйственных культур. – Москва: Дрофа, – 2010. – 638 с.

Федин М.А. (ред.) Методика Госсортоиспытания сельскохозяйственных культур. – Москва, 1985. – 269 с.

Петин Н. С. Физиология орошаемой пшеницы. – Москва: 1959. – 254 с.

Седова Е.Н. и Огольцовой Т.П. (ред.). Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур. – Орёл: ВНИИСПК, 1999. – 608 с.

Тарчевский И. А. Фотосинтез и засуха. – Казань, 1964. – 201 с.

Шайтан И.М., Чуприна Л.М., Анпилогова В.А. Биологические особенности и выращивание персика, абрикоса и алычи. Киев: Наукова Думка, 1989. – С. 6 – 154.

Шлык А.А. Биохимические методы в физиологии растений. – Москва: Наука, 1971. – С. 154–170.

Abilphazova J., Belous O. Adaptability of cultivars and hybrids of tangerine in a subtropical zone of Russia // Potravinarstvo. – 2015. – V. 9, No. 1. – P. 299–303.

THE INFLUENCE OF ABIOTIC FACTORS ON PIGMENT COMPOSITION OF PEACH LEAF

Y.S. Abilfazova

Federal state budgetary scientific institution "All-Russian research Institute of floriculture and subtropical crops", Sochi, *Russia*, *Citrus_Sochi@mail.ru*

Abstract. The article presents the researches of *Persica vulgaris* (Mill.), grown in the humid subtropics of Krasnodar territory. Was shows the results of the study on the content of chlorophylls a, b and carotenoids in peach leaves, confirming the dependence of the internal status and pigment composition of plants against varietal characteristics and the violation of the climatic conditions at Black sea coast in the subtropical zone.

Keywords: *peach, cultivars, chlorophyll, carotenoids, stress*

ФЕНОТИПИЧЕСКОЕ И ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ КОЛЛЕКЦИЙ ДИКИХ СОРОДИЧЕЙ ПШЕНИЦЫ (РОД *AEGILOPS* L.): ВЫЯВЛЕНИЕ ИСТОЧНИКОВ ПРИЗНАКОВ ДЛЯ СБАЛАНСИРОВАННОГО ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ И СОХРАНЕНИЯ «EX SITU»

А.И. Аbugалиева, М.А. Есимбекова, К. Кожаметов, Т.В.Савин

Казахский научно-исследовательский институт земледелия и растениеводства, Алматы, Казахстан, kiz_abugaliyeva@mail.ru

Аннотация. Дикорастущие сородичи являются ценной категорией материала для изучения адаптивности. В статье рассматриваются результаты сбора, интродукции, анализа биоразнообразия местных популяций видов-сородичей пшеницы (род *Aegilops* L.) Казахстана. Выделено по массе 1000 зерен – 25 образцов, по устойчивости к ржавчинным болезням – 45 образцов, по высокому содержанию белка и минеральному составу зерна. Источниками высокого содержания исследованных элементов являются эгилопсы.

Ключевые слова: дикорастущие сородичи, эгилопсы, селекция пшеницы, адаптивность, устойчивость к болезням

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-36-40

Виды-сородичи культурных растений – это виды эволюционно-генетически близкие к культурным растениям, входящие в один род, пригодные для скрещивания с привнесением признаков устойчивости к био- и абиотическим стрессам, дефициту микроэлементов, эффективному фотосинтезу и др. Ряд исследователей полагает, что изучение видов-сородичей и идентификация видов-доноров позволит совершить ресинтез культур и улучшить их генетическое содержание путем интрогрессии их в геномы лучших коммерческих сортов, потерявших широкий полиморфизм в процессе селекции и многовекового возделывания [Есимбекова и др., 2015].

В Казахстане дикорастущие сородичи культурных растений представлены в коллекциях малым объемом, недостаточно изучены с точки зрения генетического биоразнообразия и селекционной полезности. В этой связи исследования популяционного состава видов-сородичей, в частности, пшеницы, на основе нескольких индикаторов и в связи с сохранением *ex situ* коллекций, отражающих видовое разнообразие, являются актуальными.

Цель исследования – формирование местного генофонда дикорастущих злаковых культур (род *Aegilops* L.) путем сбора интродукция и оценки агробиоразнообразия для использования в качестве исходного материала в селекции пшеницы на адаптивность и продуктивность.

Во флоре Казахстана дикорастущие сородичи пшеницы представлены 5 видами рода *Aegilops* L. – *Ae. cylindrica*, *Ae. crassa*, *Ae. tauschii*, *Ae. triuncialis*, *Ae. juvenalis*, в основном в Южных и Юго-Восточных областях Республики [Абдуллина, 1998]. Сельскохозяйственная деятельность человека, процессы урбанизации способствуют генетической эрозии диких сородичей культурных растений. В Казахстане до настоящего времени используются в качестве пастбищных культур *вилы Aegilops* L. (в том числе прямой дикой предок пшеницы – *Ae. tauschii*), что может привести к полному их уничтожению [Ситпаева и др., 2004]. Для целенаправленного сбора семенного материала, получения информации об эколого-географическом распространении дикорастущих видов-сородичей культурных растений местной флоры, их гетерогенности, времени созревания, способе размножения с 2003 по 2014 гг. были проведены экспедиционные сборы местных видов рода *Aegilops* L. по территории Казахстана [Ситпаева и др., 2004; Alimgazinova et. al., 2013]. Стратегия и

маршруты экспедиций были разработаны на анализе гербарного материала Института Ботаники и Фитоинтродукции Растений, МОН РК. Обследованием были охвачены места обитания видов *Aegilops* L. в 4-х областях Республики Казахстан: Алматинской, Восточно-Казахстанской, Жамбылской и Южно-Казахстанской.

Таким образом, в результате проведенных с 2003 по 2011 гг. экспедиционных обследований 5 областей Республики Казахстан впервые была сформирована для длительного хранения семенная коллекция местных популяций видов-сородичей пшеницы, которая составила 169 образцов 4 видов под *Aegilops* L. – *Ae. cylindrica* (111), *Ae. tauschii* (34), *Ae. triuncialis* (16), *Ae. crassa* (8). Наибольшая встречаемость отмечена для видов *Ae. cylindrica*, *Ae. tauschii*. Определены места обитания, сделано картирование.

Дикие и дикорастущие сородичи культурных растений как уникальный генетический ресурс способны решать проблемы устойчивости к болезням, вредителям, холоду, засухе, расширить неизбежно ограниченную генетическую базу современных сортов, переживших модернизацию сельского хозяйства [Храмцова и др., 2005; Чикида и др., 2005]. По фенотипическим признакам изучено 217 образцов (дополнительно к собранному материалу в изучении была включена коллекция ИКАРДА из 48 образцов видов рода *Aegilops* L., собранная по территории РК) местных популяций четырех видов рода *Aegilops* L. – *Ae. cylindrica* (149), *Ae. tauschii* (43), *Ae. crassa* (9), *Ae. triuncialis* (16).

Всего выделено по устойчивости к каждому виду ржавчины 45 образцов. Коллекция видов рода *Aegilops* характеризовалась изменчивостью по натуре зерна от 346 г/л (*Ae. triuncialis*) до 636 г/л (*Ae. ovata*) при среднем 493 г/л.

Натурная масса более 600 г/л отмечена для видов: *Ae. biuncialis* (К-2900); *Ae. kotshyi* (К-2905); *Ae. ovata* (К-51; К-199; WS-195); *Ae. umbelata* (К-3291 и К-3292); по содержанию протеина от 12,4% (WS 944 – *Ae. tauchi*) до 28,9 % (*Ae. heldreichii*, К-641). В группу высокопротеиновых более 25,0% отнесены: *Ae. columnaris* (К-3535); *Ae. biuncialis* (К-2900); *Ae. triuncialis* (К-660); *Ae. aucheri* (К-2366); *Ae. caudata* (К-2709); *Ae. ovata* (К-51; К-52; WS-195; К-440; К-40; К-199; К-392); *Ae. recta* (К-3264); *Ae. scharonensis* (К-444); *Ae.* (WS-946).

Группу относительно низкопротеиновых составляют местные образцы *Ae. ovata* WS 943; WS 853; WS 854 (15,2-16,2%).

Виды рода *Aegilops* оценены также по содержанию крахмала, β-глюкана и минеральному составу зерна. (Безостая 1 x *Ae. triaristata*) x Карлыгаш; 1718 (Безостая 1 x *Ae. cylindrica*); 1825 (Стекловидная 24 x *Ae. cylindrica*) характеризовались урожайностью от 40 до 60 ц/га (231); от 30,0 до 55,5 ц/га (1718) и от 51,1 до 80 ц/га в условиях КИЗа; содержанием протеина от 14,5 до 18,2%; высоким количеством клейковины и качеством клейковины класса «филер»+«ценная» как и по данным фаринографа и хлебопекарной оценки (рисунок).



Рисунок. Хлебопекарный анализ качества муки из зерна генотипов синтетических пшениц относительно сорта-стандарта Алмаля.

Среди 5 образцов рода *Aegilops* два вида *Ae. cylindrica* и *Ae. squarrosa* отличались высоким содержанием Cd в зерне. Содержание К в зерне эгилопсов, в целом, варьировало на более высоком уровне от 4282 мг/кг (*Ae. triaristata*) – 5484 мг/кг (*Ae. triuncialis*) в зависимости от условий года выращивания. Содержание Р в зерне эгилопсов характеризовалось как максимальное: 5647-5835 мг/кг, для *Ae. ovata* и 5241-5749 мг/кг для *Ae. triuncialis*; 5448 мг/кг. Среди эгилопсов, как и по содержанию К, наименьшее количество по Р выявлено для *Ae. squarrosa*. Содержание Mg в зерне эгилопсов варьировало от 1529 мг/кг (*Ae. squarrosa*) до 2142 мг/кг (*Ae. triuncialis*, *Ae. ovata*). По содержанию S, также, как и по другим элементам, максимальное значение характерно для группы эгилопсов (за исключением *Ae. squarrosa* – 1548 мг/кг, со значительным превышением 2000 мг/кг и уровня порога, характерного также для *T. aestivum* (от 2164 мг/кг для *Ae. cylindrica* до 2175 мг/кг *Ae. triuncialis*). По содержанию Ca среди эгилопсов выделяется *Ae. squarrosa* (1808 мг/кг), *Ae. triuncialis* (828-1009 мг/кг) и *Ae. cylindrica* (897 мг/кг). Содержание Mn варьировало от минимального 43-46 мг/кг (*Ae. triaristata*) до 77-78 мг/кг *Ae. triuncialis* (таблица).

Таблица.

Характеристика представителей рода *Aegilops* L. по минеральному составу зерна (мг/кг).

Макро- и микроэлементы	Содержание макро- и микроэлементов в <i>Aegilops</i> :				
	<i>Ae. squarrosa</i>	<i>Ae. cylindrica</i>	<i>Ae. triuncialis</i>	<i>Ae. triaristata</i>	<i>Ae. ovata</i>
К	3064	5274	5484	4453	4519
Р	3169	5411	5749	4885	5835
Mg	1529	1951	2102	1707	1984
S	1548	2164	2673	2565	2513
Ca	1808	897	1009	546	516
Fe	109	126	133	68	96
Mn	57	71	77	46	46
Cu	5	7	8	6	6
Zn	39	52	65	46	55
Al	55	73	57	43	58
Cd	54	30	<20	<20	<20

Наиболее благоприятное соотношение кальция к фосфору характерно для видов *Ae. triuncialis* (1:5,7); *Ae. cylindrica* (1:6,0). По соотношению кальция к магнию наиболее сбалансированы эгилопсы: *Ae. squarrosa* (1:0,8); *Ae. triuncialis* и *Ae. cylindrica* (1:2,1).

Таким образом, изучение минерального состава зерна пшеницы и ее диких сородичей выявило более высокий уровень содержания всех элементов для *Ae. ovata* и *Ae. triuncialis* и общий повышенный фон для сородичей относительно современных сортов *T. aestivum* (стандарты), что отмечено и по другим диким сородичам [Савин и др., 2018].

Источниками высокого содержания исследованных элементов являются эгилопсы в порядке: *Ae. triuncialis*>*Ae. ovata* (K, P, Mg, Fe, Zn)>*Ae. cylindrica* (Fe, Mn)>*Ae. triaristata* (S)>*Ae. squarrosa* (Ca).

В селекционных питомниках изучены гибриды с участием *Ae. cylindrica*, *Ae. triaristata*.

Интрогрессивные формы с участием *Ae. cylindrica* и *Ae. triaristata*, созданные в КазНИИЗиР изучены по урожайности, устойчивости к болезням и качеству зерна, муки и хлеба.

Выводы. 1. Дикие виды и дикорастущие сородичи являются ценной категорией материала генофонда любой сельскохозяйственной культуры. Выделено по массе 1000 зерен – 25 образцов, по устойчивости к ржавчинным болезням – 45 образцов, по высокому содержанию белка и минеральному составу зерна, которые расширяют базу для физиологических исследований. Изучение минерального состава зерна пшеницы и ее диких сородичей выявило более высокий уровень содержания всех элементов для *Ae. ovata* и *Ae. triuncialis*. Источниками высокого содержания исследованных элементов являются эгилопсы в порядке: *Ae. triuncialis* > *Ae. ovata* (K, P, Mg, Fe, Zn) > *Ae. cylindrica* (Fe, Mn) > *Ae. triaristata* (S) > *Ae. squarossa* (Ca). **2.** Интрогрессивные формы озимой пшеницы с включением материала *Ae. cylindrica* и *Ae. triaristata* характеризовались устойчивостью к болезням, конкурентоспособной урожайностью, качеством зерна класса «ценная» для хлебопекарных пшениц и повышенными питательными свойствами (Fe, Zn, Ca/P, Ca/Mg).

Литература

Абдуллина С. А. Список сосудистых растений Казахстана. – Алма-Ата, 1998. – 186 с.

Есимбекова М. А., Булатова К. М., Кушанова Р. Ж., Мукин К. Б. Биоразнообразие дикорастущих видов из рода *Aegilops* L. в Казахстане для селекции пшеницы // Известия ТСХА. – 2015. – № 6. – С. 5–16.

Савин Т. В., Абугалиева А. И., Чакмак И., Кожахметов К. Минеральный состав зерна диких сородичей и интрогрессивных форм в селекции пшеницы // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2018. – № 22. – С. 88–96.

Ситпаева Г. Т., Есимбекова М. Ф., Моргунов А. И., Карабаев М. К. О современном состоянии генетического потенциала диких сородичей злаков на юго-востоке и востоке Казахстана // Межд. конфер. «Развитие ключевых направлений сельскохозяйственных наук в Казахстане: селекция, биотехнология, генетические ресурсы». – Астана, 2004. – С. 246–252.

Храмцова Е. В., Киселева И. С. Эгилопс и дикие виды пшеницы как источники полезных свойств для современных сортов пшеницы // Матер. VI Межд. симп. «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования». – М., 2005. – Т. 2. – С. 402–403.

Чикида Н. Н., Мартынов С. В., Добротворская Т. В., Колесова М. А., Антонов Д. Г., Тырышкин Л. Г. Виды рода *Aegilops* как генетические источники для селекции пшеницы устойчивости к болезням и вредителям // Материалы VI Международного симпозиума «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования». – М., 2005. – Т. 1. – С. 146–148.

Alimgazinoва B. Sh., Yessimbekova M. A. Plant Genetic Resources of Kazakhstan: Status and Prospects // Russian Journal of Genetics: Applied Research. – 2013. – V. 3. – No. 1. – P. 21–25.

**PHENOTYPIC AND GENETIC DIVERSITY OF WILD WHEAT RELATIVES
(GENUS *AEGILOPS* L.) IN COLLECTIONS: – IDENTIFICATION OF FEATURES
ORIGIN FOR BALANCED USE AND CONSERVATION "*EX SITU*"**

A.I. Abugaliyeva, M.A. Yessimbekova, K. Kozhakhmetov, T.V. Savin

Kazakh Research Institute of Agriculture and Plant Growing, Almalybak, Kazakhstan,
kiz_abugaliyeva@mail.ru

Abstract. Wild species and wild relatives are a valuable category of material for studying adaptability. Results of collection, introduction, local populations biodiversity analysis of Kazakhstan's wheat species-relatives (genus *Aegilops* L.) on the phenotype and genotype have been considered. On 1000 grains weight was allocated – 25 samples in resistance to rust diseases – 45 samples, high protein content and mineral composition of grain.

Keywords: *wild relatives, Aegilops, wheat breeding, adaptability, diseases resistance*

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ АНТИОКСИДАНТОВ НА СОДЕРЖАНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ СОРТОВ МЯГКОЙ И ТВЁРДОЙ ПШЕНИЦЫ

Т.Ш. Авезов, А. Эргашев

Институт ботаники, физиологии и генетики растений Академии наук Республики Таджикистан, Душанбе, Таджикистан, ergash42@mail.ru

Аннотация. Замачивание семян сортов мягкой и твёрдой пшениц в растворе антиоксидантов (витамин С, α – токоферол и ферроцитрат цинка) к повышению содержания фотосинтетических пигментов у 5-7 дневных проростков. Это особенно четко наблюдается на фоне почвенной засухи. Степень изменчивости количество пигментов в зависимости от вида антиоксиданта вида пшеницы и пигмента (хлорофилл α и β , каротиноиды) были неоднозначны.

Ключевые слова: пшеница, почвенная засуха, хлорофилл, α – токоферол, ферроцитрат цинка

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-41-42

В природных условиях растения в течение вегетации попадают под воздействие различных стрессоров, таких как температурный, водный солевой и др., в результате чего происходят изменения в ходе многих физиологических процессов.

В течение вегетации растения подвергаются воздействию различных неблагоприятных факторов внешней среды (перепады температуры, влажности, солнечной радиации и т.д.). Известно, что некоторые соединения, являясь вторичными метаболитами, накапливаются в органах в ответ на действие стрессоров и повышают адаптивность растений (фенольные соединения, кумарины, гликозиды, алкалоиды, полимерные углеводы и др.).

Таджикистан имеет резко континентальный климат и часто посевы сельскохозяйственных культур в течение онтогенеза периодически подвергаются воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды, в том числе влиянию температурного, водного и солевого стресса. Все это приводит к активизации образования во внутриклеточной среде активных форм кислорода [Wang et al., 2003], что вызывает окислительный стресс. Это в свою очередь подавляет многие физиолого – биохимические процессы, то есть является мощным ингибирующим фактором. В оптимальных условиях соотношение образования и расходы активных форм кислорода поддерживается за счет многокомпонентной системы защиты, состоящей из более сложных (ферменты, гормоны) и простых метаболитов - антиоксидантов (витамин С, глутатион, фенольные соединения и др.) [Полесская, 2007].

Адаптационные способности сельскохозяйственных растений можно повышать и путем предпосевной обработки семян антиоксидантными препаратами. Это особенно важно для зерновых (колосовых) культур в условиях жаркого климата Таджикистана.

Целью настоящей работы являлось изучение действия природных антиоксидантов (α – токоферол, аскорбиновая кислота) и синтезированного препарата (ферроцитрат цинка) на скорость прорастания семян и содержание фотосинтетических пигментов 5-7 дневных проростков сортов пшеницы и их устойчивость к условиям почвенной засухи.

Обработка семян аскорбиновой кислотой и ферроцитрат цинка способствовала более интенсивному росту проростков (на 16-18% по сравнению с контролем). Однако обработка семян препаратом α – токоферол задерживает прорастание семян и рост проростков на 12-15%.

Полученные результаты показали, что в условиях достаточного водоснабжения и почвенной засухи обработка семян сорта Зафар α – токоферолом, ферроцитратом цинка

и витамином С приводила, по сравнению с замачиванием в воде, к повышению содержания хлорофилла «а». В то же время, в этих же условиях, при поливе, содержание хл «b» во всех вариантах обработки семян остается практически на одинаковом уровне. На фоне почвенной засухи содержание хл «b» на вариантах замачивания семян водой, с α – токоферолом и ферроцитратом цинка заметно снижается, а при обработке семян витамином С содержание хл «а» и хл «b» наоборот повышается. Это наблюдается как в варианте «полив» (хл «b»), так и варианте «засуха» (хл «а» и хл «b»). Такая же закономерность наблюдается по сумме хл «а» и хл «b». Содержание суммы каротиноидов как в условиях полива, так и почвенной засухи при замачивании семян испытанными препаратами увеличивается. Это более заметно происходило на фоне почвенной засухи.

У сорта Президент при замачивании семян в испытанных препаратах на содержание фотосинтетических пигментов оказали неоднозначное воздействие. Так, замачивание семян в α – токофероле незначительно снизило содержание хл «а» и наоборот, повысило содержание хл «b». Замачивание ферроцитратом цинка заметно уменьшило количество хлорофилла «а», а содержание хл «b» оставалось почти на уровне контроля (замоченные водой).

Обработка семян аскорбиновой кислотой практически не изменило содержание зеленых пигментов (хл «а» и хл «b»). Исходя из этого, в контрольном варианте в целом, сумма зеленых и желтых пигментов при предпосевном замачивании семян остаются без существенных изменений. Таким образом, на основании полученных нами данных можно прийти к заключению, что применение антиоксидантов при замочке семян перед посевом приводит к повышению содержания фотосинтетических пигментов у 5-7-дневных проростков сортов мягкой и твердой пшеницы и это особенно четко выражено на фоне применения антиоксидантов (α – токоферол, витамин С) и синтетического физиологически активного вещества (ферроцитрат цинка).

Литература

Полесская О.Г. Растительная клетка и активные фермы кислорода. М.: Университет. Книжный дом. – 2007. – 139с.

Wang W., Winocur B., Altman A. Plants responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance // *Planta*. – 2003. – V. 218. – P. 1–14.

INFLUENCE OF SOME ANTIOXIDANTS ON THE CONTENT OF PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS OF THE VARIETIES OF SOFT AND HARD WHEAT

T.Sh. Avezov, A. Ergashev

Institute of botany, plant physiology and genetics, Academy of Sciences of the Republic of Tajikistan, Dushanbe, Tajikistan, ergash42@mail.ru

Abstract. Soaking seeds of soft and hard wheat varieties in a solution of antioxidants (vitamin C, α -tocopherol and zinc ferrocitrate) to increase the content of photosynthetic pigments in 5-7 day old seedlings. This is especially evident against a background of soil drought. The degree of variability in the number of pigments depending on the type of antioxidant species of wheat and pigment (chlorophyll a and b, carotenoids) were ambiguous.

Keywords: *wheat, soil drought, chlorophyll, α -tocopherol, zinc ferrocitrate*

УСТОЙЧИВОСТЬ РЕКАЛЬЦИТРАНТНЫХ СЕМЯН К НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОМУ СТРЕССУ: РОЛЬ LEA-БЕЛКОВ И ДЕГИДРИНОВ

М.И. Азаркович

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия, *m-azarkovich@ippras.ru*

Аннотация. Рекальцитрантные (неустойчивые к высыханию) семена древесных растений умеренного климата (каштан конский, дуб черешчатый) подвергаются в зимний период сильному холодовому стрессу. Наличие в клетках таких семян большого количества гидрофильных термостабильных белков (LEA-белков и дегидринов) может являться одним из способов адаптации рекальцитрантных семян к повреждающему действию холода.

Ключевые слова: рекальцитрантные семена, LEA-белки, дегидрины

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-43-46

В отличие от ортодоксальных семян, созревание которых сопровождается генетически детерминированным высыханием, рекальцитрантные семена к моменту опадения сохраняют высокую влажность и активный метаболизм. Большинство видов растений, имеющих рекальцитрантные семена, произрастают в тропиках. Немногочисленные виды древесных растений умеренного климата с рекальцитрантными семенами (*Aesculus hippocastanum* L., *Quercus robur* L., виды *Acer*) вынуждены приспосабливаться к сезонному понижению температуры (зимним условиям). Например, семена каштана конского и дуба черешчатого выработали в процессе эволюции состояние глубокого покоя, при котором высокооводненные семена не способны прорасти. Высыхание ортодоксальных семян – тоже способ пережить неблагоприятные условия. Но как семена, имеющие высокую влажность, выживают под снежным покровом в зимний период?

В основе всех адаптивных процессов, происходящих в клетке, лежит синтез необходимых белков [Трунова, 2007]. Исследованиями последних лет установлено, что в ответ на низкотемпературный стресс в растениях синтезируются специфические стрессовые белки [Колесниченко, Войников, 2003]. Среди них – антифризные белки, предохраняющие клетки растений от повреждения кристаллами льда, молекулярные шапероны и дегидрины, предохраняющие макромолекулы при низкотемпературном стрессе, стрессовые белки, разобщающие окисление и фосфорилирование в митохондриях во время холодового шока. Одной из групп белков, гены которых экспрессируются при низкотемпературном стрессе, являются дегидрины, впервые идентифицированные в конце прошлого века в созревающих семенах. Дегидрины представляют собой сложное семейство гидрофильных термоустойчивых белков, относящихся к группе белков позднего эмбриогенеза. Белки позднего эмбриогенеза, или LEA-белки (Late Embryogenesis Abundant) широко исследуются в последнее время, однако их функции все еще до конца не выяснены [Battaglia et al., 2008]. Они индуцируются в ответ на дегидратацию клеток, возникающую при засухе, солевом стрессе, холодовой акклиматизации, при обработке некоторыми фитогормонами (АБК – основной гормон, накапливающийся в периоды наибольшего повышения морозоустойчивости растений) и в процессе созревания ортодоксальных семян, заключительные этапы развития которых происходят на фоне генетически детерминированного обезвоживания. Предполагаемая функция дегидринов состоит в изменении термодинамики взаимодействия макромолекул с водой и обеспечении тем самым стабильности молекул белков и нуклеиновых кислот путем предотвращения их

денатурации при обезвоживании [Аллагулова и др., 2003; Rorat, 2006; Chakrabortee et al., 2007]. LEA-белки и дегидрины широко распространены в растительном мире. Они идентифицированы в тканях голо- и покрытосеменных растений, практически во всех зимующих древесных и травянистых видах, в вегетативных органах и семенах, найдены в последнее время в водорослях, цианобактериях, грибах, микроорганизмах, и даже в клетках животных (простейших, нематод, насекомых), где им также приписывают функции стабилизации белковых макромолекул [Chakrabortee et al., 2007]. Накопление дегидринов в ответ на холодовое воздействие отмечено у растений пшеницы [Шакирова и др., 2009; Репкина и др., 2017; Kosová et al., 2014], ячменя [Kosová et al., 2014], в митохондриях проростков гороха [Кондакова и др., 2013].

Семена представляют особый интерес для исследования свойств и функций этой группы белков. В ортодоксальных семенах дегидрины, как и другие термостабильные LEA-белки, накапливаются при созревании, которое сопровождается высыханием семян без потери их жизнеспособности, и это коррелирует с выработкой устойчивости к дегидратации, а при прорастании дегидрины исчезают, и это совпадает с утратой устойчивости к дегидратации. В отличие от этого, рекальцитрантные семена в зрелом состоянии сохраняют высокую влажность и при искусственном высушивании теряют жизнеспособность. Было высказано предположение, что отсутствие устойчивости к дегидратации у рекальцитрантных семян может быть следствием отсутствия в них дегидринов. Действительно, в одной из первых работ, выполненных на рекальцитрантных семенах, было показано, что в них отсутствуют термостабильные LEA-белки, частью которых являются дегидрины. Однако в дальнейшем дегидрины были идентифицированы в осях и семядолях ряда рекальцитрантных семян древесных растений [Farrant et al., 1996; Гумилевская, Азаркович, 2010; Kalemba, Pukacka, 2012].

Анализ белков семян каштана конского (*Aesculus hippocastanum* L.) позволил выявить ряд уникальных особенностей их белкового комплекса, которые отличают рекальцитрантные семена каштана от большинства ортодоксальных семян и, по-видимому, могут иметь отношение к особенностям физиологического поведения исследуемых семян [Азаркович, Гумилевская, 2006; Гумилевская, Азаркович, 2007]. К этим особенностям можно отнести чрезвычайно низкое содержание глобулинов, преобладание водорастворимых белков, локализованных в цитоплазме и высокий уровень фракции некомпартментализованных термостабильных белков (до 30% от белков цитозоля в зародышевых осях и около 80% в семядолях). Исследование белковых спектров осей и семядолей семян каштана не выявило во фракции клеточных структур мажорных компонентов, которые могли бы претендовать на роль запасных белков. С помощью световой микроскопии и специфического окрашивания белка и фитина также не удалось выявить типичных белковых тел в вакуолях клеток осей и семядолей [Азаркович, Болякина, 2016].

Для еще одного вида средней полосы России, имеющего рекальцитрантные семена – дуба черешчатого (*Quercus robur* L.), были обнаружены сходные особенности ультраструктуры и фракционного состава белков [Азаркович, Назаренко, 2014].

Таким образом, предположение о том, что неустойчивость рекальцитрантных семян к высыханию обусловлена отсутствием в них дегидринов, не нашло подтверждения. Очевидно, что рекальцитрантные семена обладают генами дегидринов и способны продуцировать дегидрины, но при этом остаются чувствительными к потере воды. Однако нельзя исключить возможности того, что отсутствие или недостаточное содержание какого-то одного из дегидринов может повлечь за собой неспособность рекальцитрантных семян противостоять высыханию, поскольку функции отдельных дегидринов пока остаются неизвестными. В связи с этим весьма актуальным становится вопрос о роли дегидринов в рекальцитрантных семенах.

Известно, что низкие температуры и обезвоживание вызывают сходные повреждения в вегетативных тканях растений и индуцируют экспрессию дегидриновых генов. Вполне вероятно, что накопление дегидринов способствует выработке устойчивости или толерантности не только к осмотическому, но и низкотемпературному стрессу [Шакирова и др., 2009; Репкина и др., 2017; Borovskii et al., 2002; Close, 1997; Kosova et al., 2014]. По всей видимости, дегидрины в рекальцитрантных семенах обеспечивают защиту клеточных структур от повреждений, вызванных низкотемпературным стрессом. Известно, что АБК связана с преодолением растением внешних стрессов и индуцирует накопление дегидринов. В исследованных рекальцитрантных семенах с низким содержанием АБК (ниже 50 нг/г) дегидрины отсутствовали, но в семенах с высоким содержанием АБК дегидрины были идентифицированы [Farrant et al., 1996]. Таким образом, имеющиеся в настоящее время весьма ограниченные данные говорят о том, что в рекальцитрантных семенах дегидрины появляются в ответ на низкотемпературный стресс, на повышение содержания АБК и на естественную или искусственную ограниченную дегидратацию [Azarkovich, 2016].

Экспрессия генов LEA-белков показана не только в созревающих семенах, но и во многих других растительных (и животных) тканях, что указывает на их древность, но в то же время необходимость для видов, в которых они поддерживаются на протяжении эволюции. В настоящее время LEA-белкам (и дегидринам) приписывают универсальную осмопротекторную функцию. Дегидрины синтезируются в ответ на дегидратацию клеток, возникающую при засухе, солевом стрессе, холодной акклиматизации, при обработке некоторыми фитогормонами (АБК) и в процессе созревания семян.

Можно предположить, что в рекальцитрантных семенах видов умеренного климата именно гидрофильные термостабильные LEA-белки не только предохраняют клеточные структуры семени от существенной потери влаги (что является для рекальцитрантных семян смертельным), но и обеспечивают устойчивость высокооводненных семян к длительному холодovому стрессу. При этом для приобретения и поддержания устойчивости к высыханию, которая характерна для ортодоксальных семян, только наличия LEA-белков, по-видимому, недостаточно.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ и Программы «Молекулярная и клеточная биология» Президиума РАН.

Литература

Азаркович М.И., Болякина Ю.П. В рекальцитрантных семенах каштана конского нет белковых тел. // Физиология растений. – 2016. – Т. 63. – С. 532–538.

Азаркович М.И., Гумилевская Н.А. Анализ белков семядолей зрелых семян конского каштана // Физиология растений. – 2006. – Т. 53. – С. 711–720.

Азаркович М.И., Назаренко Л.В. Существуют ли алейроновые зерна в рекальцитрантных семенах дуба черешчатого? // Вестник Московского городского педагогического университета. Сер. «Естественные науки». – 2014. – № 4. – С. 39–45.

Аллагулова Ч.Р., Гималов Ф.Р., Шакирова Ф.М., Вахитов В.А. Дегидрины растений: их структура и предполагаемые функции // Биохимия. – 2003. – Т. 68. – С. 1157–1165.

Гумилевская Н.А., Азаркович М.И. Физиолого-биохимическая характеристика рекальцитрантных семян (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. – 2007. – Т. 43, № 3. – С. 366–375.

Гумилевская Н.А., Азаркович М.И. Идентификация и характеристика дегидринов в рекальцитрантных семенах конского каштана // Физиология растений. – 2010. – Т. 57. – С. 918–924.

Колесниченко А.В., Войников В.К. Белки низкотемпературного стресса растений. – Иркутск: СО РАН, 2003. – 196 с.

Кондакова М.А., Уколова И.В., Войников В.К., Боровский Г.Б. Ассоциация дегидринов проростков гороха с суперкомплексами дыхательной цепи митохондрий в период гипотермии // *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*. –2013. –V. 9. –P. 279–288.

Репкина Н.С., Титов А.Ф., Таланова В.В. Влияние низкой температуры и кадмия на экспрессию гена дегидрина WCS120 в листьях пшеницы // *Труды КарНЦ РАН. Сер. Экспериментальная биология*. –2016. –№ 6. –С. 65–73.

Трунова Т.И. Растение и низкотемпературный стресс. – М.: Наука, 2007. – 54 с.

Шакирова Ф.М., Аллагулова Ч.Р., Безрукова М.В., Авальбаев А.М., Гималов Ф.Р. Роль эндогенной АБК в индуцируемой холодом экспрессии *TADHN* гена дегидрина в проростках пшеницы // *Физиология растений*. –2009.– Т. 56, № 5. – С. 796–800.

Azarkovich M.I. Stress-induced proteins in recalcitrant seeds during deep dormancy and early germination. In: *Abiotic and Biotic Stress in Plants – Recent Advances and Future Perspectives* (Eds. Shanker A.K., Shanker Ch.). – INTECH, – 2016. – Chapter 13. – P. 317–336.

Battaglia M., Olvera-Carrillo Y., Garcarrubio A., Campos F., Covarrubias A.A. The enigmatic LEA proteins and other hydrophilins // *Plant Physiol.* – 2008. – V. 148. – P. 6–24.

Borovskii G.B., Stupnikova I.V., Antipina A.I., Vladimirova S.V., Voinikov V.K. Accumulation of dehydrin-like proteins in the mitochondria of cereals in response to cold, freezing, drought and ABA treatment // *BMC Plant Biol.* – 2002. – V. 2. – P. 5–11.

Chakrabortee S., Boschetti C., Walton L.J., Sarkar S., Rubinsztein D.C., Tunnacliffe A. Hydrophilic protein associated with desiccation tolerance exhibits broad protein stabilization function // *PNAS*. – 2007. – V. 104. – P. 18073–18078.

Close T.J. Dehydrins: a commonality in the response of plants to dehydration and low temperature // *Physiol. Plantarum*. – 1997. –V. 100. – P. 291–296.

Farrant J.M., Pammenter N.W., Berjak P., Farnsworth E.J., Vertucci C.W. Presence of dehydrin-like proteins and level of abscisic acid in recalcitrant (desiccation sensitive) seeds may be related to habitat // *Seed Sci. Res.* –1996. – V. 6. – P. 175–182.

Kalemba E.M., Pukacka S. Association of protective proteins with dehydration and desiccation of orthodox and recalcitrant category seeds of three *Acer* genus species.// *J. Plant Growth Regul.* – 2012. – V. 31. – P. 351–362.

Kosová K., Vitámvás P., Prášil I.T. Wheat and barley dehydrins under cold, drought and salinity – what can LEA-II proteins tell us about plant stress response? // *Frontiers in Plant Science*. – 2014. – V. 5. – Article 343:1–6.

Rorat T. Plant dehydrins – tissue location, structure and function. // *Cell Mol. Biol. Lett.* – 2006. – V. 11. – P. 536–556.

COLD STRESS TOLERANCE OF RECALCITRANT SEEDS: THE ROLE OF LEA-PROTEINS AND DEHYDRINS

M.I. Azarkovich

K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia, *m-azarkovich@ippras.ru*

Abstract. Recalcitrant seeds are shed from parent plant at high moisture content; seeds are desiccation intolerant. Seeds from trees of temperate zone have deep dormancy to withstand the forthcoming winter. Proteins in recalcitrant *Aesculus hippocastanum* L. and *Quercus robur* L. seeds contain extremely low content of globulins, and high level of non-compartmentalized heat-stable proteins (LEA-proteins and dehydrins). The presence of a great amount of hydrophilic proteins capable of holding water is related to the recalcitrancy of seeds. It might be as well that these proteins could improve seed tolerance to long-term action of low temperature in spite of their high hydration and thus maintain embryo vitality under conditions of cold stratification or snow in winter.

Keywords: *recalcitrant seeds, LEA-proteins, dehydrins*

ВЛИЯНИЕ *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM* НА ПРО- И АНТИОКСИДАНТНУЮ АКТИВНОСТЬ ПЕРОКСИДАЗЫ КОРНЕЙ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА НА НАЧАЛЬНЫХ ЭТАПАХ ИНФИЦИРОВАНИЯ

Г.П. Акимова, М.Г. Соколова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия, akimova@sifibr.irk.ru; SokolovaMG@sifibr.irk.ru

Аннотация. Изучали влияние инокуляции *Rhizobium leguminosarum* на про- и антиоксидантную активности пероксидазной ферментной системы в клетках корней проростков гороха. Показано, что *Rhizobium* увеличивает ИУК-оксидазную функцию пероксидазы в растворимой и связанной с клеточными стенками фракциях фермента, что, очевидно, связано с регуляцией начальных этапов инфицирования.

Ключевые слова: *Rhizobium leguminosarum*, корни, проростки, *Pisum sativum* L., пероксидаза, ИУК-оксидаза

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-47-49

Отличительной чертой всех пероксидаз (ПО) является их полифункциональность в различных биохимических реакциях, а именно в реакциях оксидазного, пероксидазного и оксигеназного окисления субстратов, что позволяет предполагать активное участие их в контроле процессов роста и механизмов формирования ответных реакций растений на действие абиотических и биотических факторов [Карташова, и др., 2000; Газарян, Хушпульян, 2006]. В частности, при формировании у бобовых растений симбиотических отношений с клубеньковыми бактериями рода *Rhizobium* [Глянько, Акимова и др., 2007; Акимова и др., 2017]. Широкая субстратная специфичность ПО предполагает наличие разных механизмов окисления, реализуемых ферментом [Лебедева, Угарова, 1996].

Цель исследований – изучить влияние инокуляции *Rhizobium leguminosarum* на про- и антиоксидантную активности пероксидазной ферментной системы в клетках корней проростков гороха.

В работе использовались 2-3 сут проростки гороха (*Pisum sativum* L.) сорта Аксайский усатый. Инокуляцию проростков проводили суспензией клубеньковых бактерий *Rhizobium leguminosarum* bv. *vicea* L. (штамм CIAM 1026) в концентрации 10^7 кл/мл. Контролем служили неинокулированные проростки гороха. Выделение разных форм пероксидазы (ПО): растворимой (цитоплазматической), ионно- и ковалентно-связанной с клеточными стенками осуществляли по методу [Юсупов и др., 2006] через 1 и 24 ч после инокуляции. Для эксперимента использовали отрезки 5-15 мм от кончика корня, как наиболее восприимчивые к ризобийной инфекции [Акимова и др, 2004]. Для оценки активности ПО использовали различные субстраты. В качестве субстрата для выявления оксидазной (прооксидантной) функции фермента - ИУК; пероксидазной (антиоксидантной) – орто-дианизидин. Активность ПО регистрировали по увеличению продукта в реакционной смеси по начальной скорости окисления о-дианизидина перекисью водорода [Лебедева и др., 1981], ИУК – по убыли ИУК в реакционной смеси с реактивом Сальковского по методу [Гамбург, 1976]. Активность ИУКО рассчитывали в мкг разрушенной ИУК / г сырой массы в минуту, активность ПО - отн.ед./г сырой массы. Опыты проводили в трех биологических повторностях. Данные статистически обработаны, в таблице приведены средние величины в % к контролю.

Показано, что пероксидазная (антиоксидантная) функция фермента под влиянием *Rh. leguminosarum* снижалась в растворимой фракции, возрастала до уровня контрольных растений во фракции ионно-связанной и увеличивалась в ковалентно-

связанной с клеточными стенками в отрезках корней проростков гороха уже через 1 ч после инокуляции. Через 24 ч после инокуляции во фракции ионно-связанной с клеточными стенками активность фермента еще более возросла. Оксидазная (прооксидантная) функция фермента значительно возросла и в растворимой, и в ионно-связанной с клеточными стенками фракциях и через 1 ч, и, особенно, через 24 ч.. Во фракции ковалентно-связанной с клеточными стенками активность ИУКО была очень низкой.

Таблица.

Влияние *Rh. leguminosarum* на активность ПО и ИУК-оксидазы в клетках корней проростков гороха в % к контролю

Ферменты / Варианты	Фракции ферментов		
	Растворимая	Ионно-связанная с клеточными стенками	Ковалентно-связанная с клеточными стенками
Пероксидаза			
H ₂ O 1 ч	100	100	100
H ₂ O 24 ч	100	100	100
<i>Rh. lg</i> 1 ч	93,5	102,4	140,4
<i>Rh. lg</i> 24 ч	97,0	156,2	128,2
ИУК-оксидаза			
H ₂ O 1 ч	100	100	100
H ₂ O 24 ч	100	100	100
<i>Rh. lg</i> 1 ч	153,8	133,3	100,0
<i>Rh. lg</i> 24 ч	238,5	174,1	105,0

Увеличение пероксидазной функции во фракциях ионно- и ковалентно-связанной может быть связано с участием фермента в модификации оболочек как клеток корней, так и корневых волосков при образовании инфекционных нитей. Предполагается, что H₂O₂, присутствующая в инфекционных нитях, может участвовать в перикисном окислении одного из основных компонентов матрикса инфекционной нити арабиногалактанпротеин-экстензина, повышая плотность матрикса нити [Цыганова и др., 2011].

Значительное увеличение оксидазной функции фермента уже в течение первых суток после инокуляции во фракциях растворимой и ионно-связанной с клеточными стенками свидетельствует о влиянии *Rhizobium* на метаболизм ИУК, приводящий к снижению ее содержания в клетках корней проростков гороха. Это может менять соотношение ИУК:цитокнины в сторону последних, что является необходимым для пролиферации клеток при формировании примордия клубенька [Hirsh et al., 1997]. В отличие от этого низкая активность ИУКО в ковалентно-связанной фракции фермента, очевидно, сохраняет эндогенное содержание ИУК, необходимое для роста инфекционных нитей и модификации оболочек клеток корней и корневых волосков. Именно с ИУК связывают увеличение пластичности клеточных стенок, способность их к растяжению, так как она участвует в регуляции активности ферментов ее синтеза [Шарова, 2004]. Тогда как ИУКО осуществляет окислительное декарбоксилирование ИУК с потерей ауксиновой активности.

Таким образом, результаты исследования показывают, что *Rh. leguminosarum* оказывает влияние на ПО ферментную систему в клетках корней проростков гороха, осуществляя регуляцию прооксидантных и антиоксидантных реакций, очевидно, необходимых на начальных этапах инфицирования корней.

Литература

Акимова Г.П., Верхотуров В.В., Соколова М.Г., Нечаева Л.В., Лузова Г.Б. Изменение активности и каталитических свойств пероксидазы корней гороха на начальных этапах инфицирования *Rhizobium leguminosarum* // Агрехимия. – 2004. – № 1. – С. 86–90.

Акимова Г.П., Верхотуров В.В., Соколова М.Г. Влияние *Azotobacter* на активность пероксидазы и содержание пероксида водорода в корнях проростков гороха, инокулированных *Rhizobium* // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2017. – Т. 7, № 4. – С. 120–125.

Газарян И.Г., Хушпульян Д.М., Тишков В.И. Особенности структуры и механизма действия пероксидаз растений // Успехи биол. химии. – 2006. – Т. 46. – С. 303–322.

Гамбург К.З. Биохимия ауксина и его действие на клетки растений. – Новосибирск: Наука, 1976. – 272 с.

Глянько А.К., Акимова Г.П., Соколова М.Г., Макарова Л.Е., Васильева Г.Г. Защитно-регуляторные механизмы при развитии бобово-ризобиального симбиоза // Прикладная биохимия и микробиология. 2007. – Т. 43, № 3. – С. 289–297.

Карташева Е.Р., Руденская Г.Н., Юрина Е.В. Полифункциональность растительных пероксидаз и их практическое использование // С.-х. биология. – 2000. – № 5. – С. 63–70.

Лебедева О.В., Угарова Н.Н., Березин И.В. Совместное окисление ферроцианида калия и о-дианизидина перекисью водорода, катализируемое пероксидазой из хрена. Субстрат-субстратная активация // Биохимия. – 1981. – Т. 46, № 7. – С. 1202–1209.

Лебедева О.В., Угарова Н.Н. Механизм пероксидазного окисления. Субстрат-субстратная активация в реакциях, катализируемых пероксидазой хрена // Известия Академии наук. Серия химическая. – 1996. – № 1. – С. 25–32.

Цыганова А.В., Китаева А.Б., Бревин Н.Дж., Цыганов В.Е. Клеточные механизмы развития симбиотических клубеньков у бобовых растений // С/х биология. – 2011. – № 3. – С. 34–38.

Шарова Е.И. Клеточная стенка растений – СПб: Изд. СПб ун-та, 2004. – 156 с.

Юсупова З.Р., Хайруллин Р.М., Максимов И.В. Активность пероксидазы в различных клеточных фракциях при инфицировании пшеницы *Septoria nodorum* Berk. // Физиология растений. – 2006. – Т. 53, № 6. – С. 910–917.

Hirsch A.M., Fang Y., Asad S., Kapulnik Y. The role of phytohormones in plant-microbe symbiosis // Plant Soil. – 1997. – V. 194. – P. 171–184.

INFLUENCE *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM* ON PRO- AND ANTIOXIDANT ACTIVITY PEROXIDASE OF ROOTS OF PEAS AT INITIAL STAGES INFECTION

G.P. Akimova, M.G. Sokolova

Siberian institute of plant physiology and biochemistry of SB RAS, Irkutsk, Russia, akimova@sifibr.irk.ru; SokolovaMG@sifibr.irk.ru

Abstract. Studied influence inoculation *Rhizobium leguminosarum* on pro- and antioxidant activity peroxidase enzyme system in cells of roots of peas. *Rhizobium* increases IAA-oxidase function peroxidase in soluble and in connected with cellular walls fractions of enzyme. It is shown, that *Rhizobium* increases IAA-oxidase function peroxidase in soluble and in connected with cellular walls fractions of enzyme, that it is obvious, is connected to regulation the initial stages infection.

Keywords: *Rhizobium leguminosarum*, seedling, root, *Pisum sativum* L, peroxidase, IAA-oxidase

ИЗМЕНЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЛИСТЬЕВ ПЛАТАНА И КАТАЛЬПЫ К ТЕМПЕРАТУРНЫМ ВОЗДЕЙСТВИЯМ НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ОНТОГЕНЕЗА

Н.Г. Акиншина, А.А. Азизов

Национальный Университет Узбекистана имени Мирзо Улугбека, Ташкент, Узбекистан, n.akinshina@yahoo.com

Аннотация. Представлены результаты изучения воздействия температур 17, 27, 37 и 42 °С на показатели скоростей темнового дыхания и видимого фотосинтеза молодых и зрелых листьев Платана клёнолистного (*Platanus acerifolia* (Wild.) Loud.) и Катальпы бигнониевой (*Catalpa bignonioides* Walt.) в Ташкенте. Рассчитаны индексы кислородного баланса указанных пород в данных условиях. Показано, что в процессе созревания происходит адаптация дыхательной и фотосинтетической систем листа к экстремально высоким температурам.

Ключевые слова: темновое дыхание, видимый фотосинтез, лист, адаптация, температурное воздействие

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-50-54

Температура является одним из важнейших факторов, регулирующих жизнь и развитие растений. Вегетация растений в аридных и семиаридных зонах происходит на фоне достаточно высоких, часто экстремальных температур, которые оказывают стрессовое воздействие на живые организмы. Жаростойкость, устойчивость к высоким температурам, относятся к основным экологическим свойствам растений, выращиваемых в подобных условиях.

Клеточные системы, связанные с обеспечением фотосинтеза и дыхания, являются первичными мишенями воздействия температурного стресса [Allakhverdiev et al., 2008]. Информация о температурной зависимости дыхания и фотосинтеза у различных растений весьма противоречива. В данной работе изучена реакция этих ключевых физиологических процессов на изменения температуры на разных стадиях развития листа (молодого и зрелого) у Платана клёнолистного (*Platanus acerifolia* (Wild.) Loud.) и Катальпы бигнониевой (*Catalpa bignonioides* Walt.), широко используемых в озеленении городов Узбекистана.

Отбор образцов проводили в начале активного периода вегетации 2017 года (апрель, май, июнь) на территории парковой зоны Национального университета Узбекистана (Ташкент), в утреннее время (8:00-8:30 утра), отбирали листья с 3-4 междоузлия веток на высоте примерно два метра, в условиях небольшого притенения. Скорости темнового дыхания и видимого фотосинтеза листьев измерялись в лабораторных условиях на приборе PlantVital_5030 (INNO-Concept GmbH, Германия) при помощи электрохимического кислородного сенсора MF 41-INN (Sensortechnik Meinsberg, Германия); температура измерения 17, 27, 37 и 42 °С. Измерение длилось 20-25 минут. Освещение измеряемой пробы осуществлялось с помощью люминесцентного диода, работающего в области красного спектра (635-650 нм) [Azizov et al., 2015]. Индекс кислородного баланса рассчитывался как отношение скорости чистой продукции кислорода к скорости потребления его в темноте [Акиншина и др., 2008].

Выявлено, что скорости дыхания и чистой продукции кислорода меняются с возрастом листа. Отмечается снижение скоростей дыхания у листьев обеих древесных пород в период с апреля по июнь (рис. 1). Максимальная скорость дыхания наблюдается на ранних фазах развития листа, причем, известно, что её величина коррелирует со скоростью роста и содержанием белка. Так, у платана скорости темнового дыхания в апреле (у совсем молодых, только формирующихся листьев) при

диапазоне температурного воздействия от 17 до 42 °С составляли в среднем 0,151 мкмоль $O_2/(дм^2 \cdot с)$, а в июне у зрелых листьев среднее значение этого показателя при аналогичных температурах равнялось 0,055 мкмоль $O_2/(дм^2 \cdot с)$. Молодые листья катальпы в апреле потребляли кислород в процессе темного дыхания при температурах от 17 до 42 °С со средней скоростью 0,260 мкмоль $O_2/(дм^2 \cdot с)$, а в июне – 0,053 мкмоль $O_2/(дм^2 \cdot с)$. То есть с апреля по июнь скорости темного дыхания листьев *Platanus acerifolia* уменьшились примерно в 3 раза, а у *Catalpa bignonioides* – в 4 раза.

Показатели скорости чистой продукции кислорода, наоборот, возрастают в процессе созревания листьев и формирования внутритканевых систем в них. Скорости видимого фотосинтеза молодых листьев *P. acerifolia* в апреле при температурах от 17 до 42 °С составляли в среднем 0,079 мкмоль $O_2/(дм^2 \cdot с)$, в мае этот показатель увеличивался до 0,125 мкмоль $O_2/(дм^2 \cdot с)$ и в июне был примерно 0,344 мкмоль $O_2/(дм^2 \cdot с)$. То есть в процессе созревания листа платана средняя скорость чистой продукции кислорода с единицы поверхности выросла примерно в 4 раза. У катальпы аналогичный усреднённый показатель равнялся в апреле, мае и июне соответственно 0,093, 0,159 и 0,196 мкмоль $O_2/(дм^2 \cdot с)$; за три месяца скорость чистой продукции кислорода увеличилась в 2,1 раза.

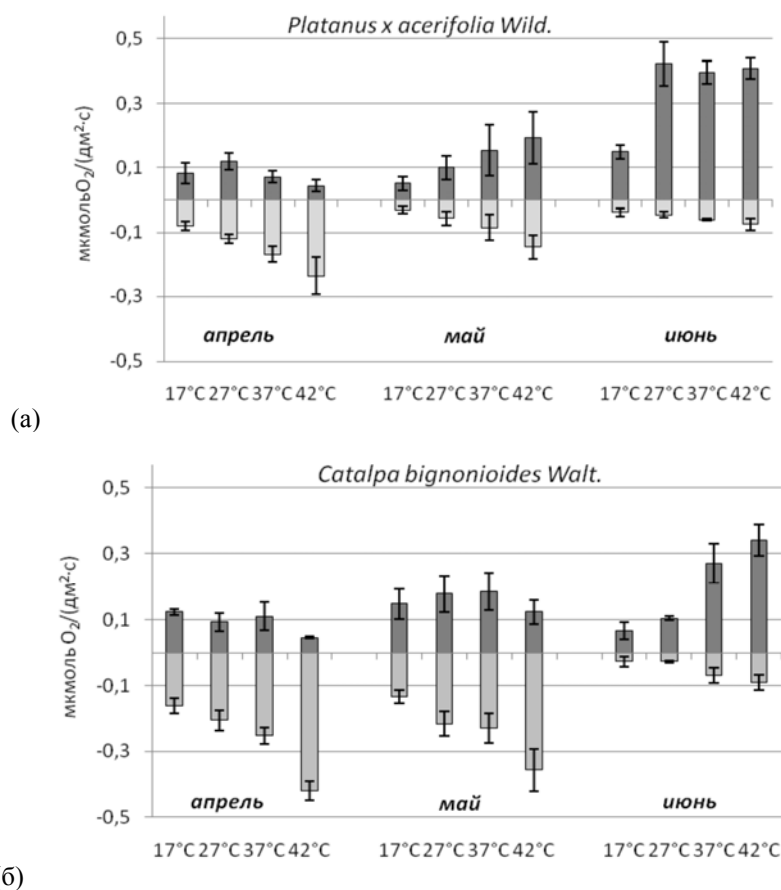


Рис. 1. Скорости видимого фотосинтеза и дыхания в темноте листьев Платана клёнолистного (*Platanus acerifolia* Wild.) (а) и Катальпы бигнониевой (*Catalpa bignonioides* Walt) (б) (Ташкент, 2017 г.).

Следует отметить, что интенсивность дыхания молодых листьев *C. bignonioides* выше примерно в 2 раза аналогичного показателя листьев *P. acerifolia* в тот же период. Зрелые листья указанных пород потребляют кислород примерно с одинаковой скоростью. Скорости видимого фотосинтеза у молодых листьев исследуемых пород (в

апреле) примерно равны. У сформированных (зрелых) листьев платана в июне процесс чистой продукции кислорода в диапазоне температур от 17 до 42 °С происходит с более высокой скоростью, чем у катальпы (в среднем примерно на 76% выше).

Обнаружена прямая корреляция между температурой воздействия и скоростью темнового дыхания листьев изученных пород деревьев. С ростом температуры в окружающей среде увеличивается скорость потребления кислорода листом. Несмотря на то, что подобные тенденции характерны и для молодых, и для зрелых листьев платана и катальпы, в разные периоды онтогенеза реакции данного физиологического показателя в ответ на температурные воздействия специфичны. Так, если считать 27 °С контрольной температурой, то в результате понижения температуры до 17 °С скорости темнового дыхания молодых листьев платана и катальпы уменьшились соответственно на 34 и 18%; а у зрелых листьев эти показатели достоверно не изменились. Под воздействием высокой температуры 42 °С скорости дыхания молодых листьев платана и катальпы увеличились примерно в 2 раза; зрелых, соответственно, – на 64% и в 3 раза.

Изменения скоростей видимого фотосинтеза листьев изученных декоративных пород в ответ на температурные воздействия видоспецифичны, а также зависят от стадии зрелости листа. У молодых листьев платана и катальпы (в апреле) фотосинтетический аппарат листа не проявлял достоверных реакций на снижение температуры от 27 °С до 17 °С, скорости видимого фотосинтеза не менялись. В ответ на повышение температуры до 42 °С данный показатель снижался у молодых листьев платана на 64%, у катальпы – на 50%. В мае скорости видимого фотосинтеза листьев обеих пород под воздействием температур 37 °С и 42 °С достоверно не отличались от контроля (27 °С). При 17 °С скорость чистой продукции листьев платана снижалась в 2 раза, у катальпы изменений не наблюдалось. У зрелых листьев платана в июне фотосинтетический аппарат работает при температурах 27, 37 и 42 °С стабильно хорошо, скорость чистой продукции не ингибируется и сохраняется на высоком уровне примерно 0,40 мкмоль O₂/(дм²·с). Скорости видимого фотосинтеза листьев катальпы при температурах 37 °С и 42 °С также оставались стабильно высокими, около 0,30 мкмоль O₂/(дм²·с).

Интересно отметить, что в апреле при средней температуре воздуха в Ташкенте 19-25 °С скорости фотосинтеза и дыхания листьев платана и катальпы более чувствительны к действию экстремально высокой температуры 42 °С, а под действием температур в диапазоне 17-27 °С показатели интенсивности этих физиологических процессов не меняются. В июне, при средней температуре в городе 35-40 °С, устойчивость систем дыхания и фотосинтеза к повреждающему действию экстремальной температуры 42 °С, наоборот, повышается. А воздействие необычной для данного периода температуры в 17 °С воспринимается клеточными системами листьев растений, как стресс, что проявляется в снижении скорости фотосинтеза.

На рис. 2 представлены индексы кислородного баланса (ИКБ) изученных декоративных пород. Этот показатель объективно характеризует соотношение процессов продукции и потребления кислорода листом, отражая, в том числе, общее состояние растения в конкретных условиях обитания или определённой фазе онтогенеза.

Данный индекс видоспецифичный, экологически лабильный и зависит от возраста листа. У молодых листьев (в апреле) в связи с интенсивным ростом и высоким уровнем энергетических затрат преобладают процессы дыхания и синтеза АТФ, что сопровождается низкими значениями ИКБ. В закончивших рост зрелых клетках листа дыхание ограничивается фосфат-акцепторным контролем, который тормозит дыхательные превращения, при этом интенсивность фотосинтеза становится гораздо

выше и наблюдаются высокие ИКБ. Так, у листьев платана средние значения индекса (рассчитанные как отношения скоростей чистой продукции кислорода к соответствующим скоростям темнового дыхания, измеряемые под воздействием температур от 17 до 42 °С) в апреле, мае и июне составляли соответственно 0,66; 1,64 и 6,31. У катальпы – 0,45; 0,78 и 3,72.

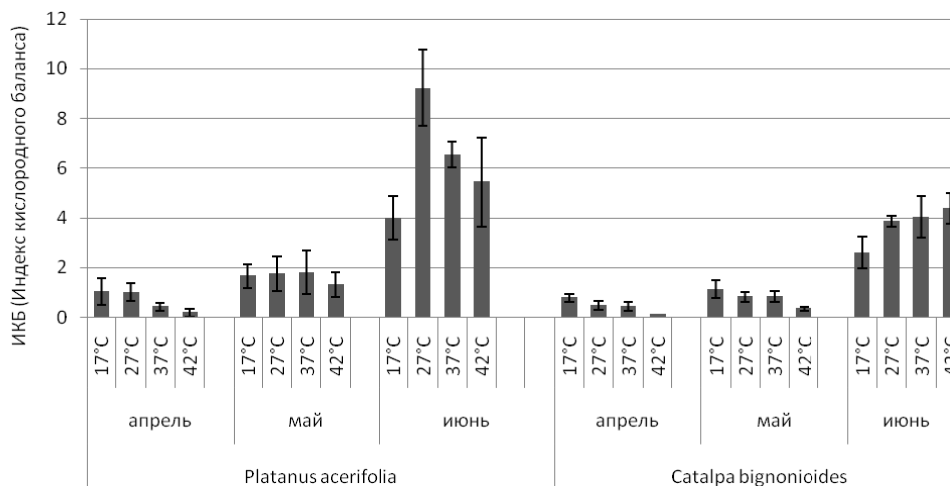


Рис. 2. Показатели индексов кислородного баланса листьев Платана клёнолистного (*Platanus acerifolia* Wild.) и Катальпы бигнониевой (*Catalpa bignonioides* Walt) (Ташкент, 2017 г.).

Рассчитанные на стадии зрелых листьев при разных температурах воздействия ИКБ позволяют делать обоснованные выводы не только о потенциальной фотосинтетической активности растений, но и о температурном оптимуме или о стрессовых значениях температуры для конкретной породы. Так, например, показатели ИКБ у катальпы (*C. bignonioides*) при 27, 37 и 42 °С достоверно не отличались, что свидетельствует о высокой жаростойкости вида. Для платана клёнолистного (*P. acerifolia*) температура 27 °С, скорее всего, является оптимальной, хотя, при высоких температурах 37 °С и 42 °С процессы фотосинтеза сохранялись на устойчиво высоком уровне при активации дыхания. Можно заключить, что клеточные системы зрелых листьев платана и катальпы, обеспечивающие фотосинтез и дыхание, достаточно хорошо адаптированы к действию экстремально высоких температур.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства инновационного развития РУз (проект БВ-М-Ф-5-001).

Литература

Allakhverdiev S.I., Kreslavski V.D., Klimov V.V., Los D.A., Carpentier R., Mohanty P. Heat stress: an overview of molecular responses in photosynthesis // *Photosynth Res.* – 2008. – V. 98. – P. 541–550.

Azizov A., Tauschke M., Lentzsch P. et al. Verfahren zur bewertung der vitalität chlorophylltragender biologischer proben. Deutsches Patentant. DE 112006000480. IPC: G01N 33/483. INNO-Concept GmbH, Strausberg, DE. Anmeldung 06.03.2006. Veröffentlichung 30.04.2015.

Акиншина Н.Г., Азизов А.А., Карасёва Т.А., Клозе Э. Новые возможности в оценке состояния растений // *Сибирский экологический журнал.* – 2008. – № 2. – С. 249–254.

LEAF SENSITIVITY CHANGES OF LONDON PLANE AND CATALPA IN DIFFERENT ONTOGENESIS STAGES UNDER TEMPERATURE IMPACTS

N.G. Akinshina, A.A. Azizov

National University of Uzbekistan named after Mirzo Ulugbek, Tashkent, Uzbekistan,
n.akinshina@yahoo.com

Abstract. Study of dark respiration and visible photosynthesis rates of young and mature leaves of London plane (*Platanus acerifolia* (Wild.) Loud.) and Catalpa (*Catalpa bignonioides* Walt.) under different temperatures (17, 27, 37 and 42 °C) in Tashkent city is presented. Oxygen balance indices of the plant species under the same conditions were calculated. It was shown that respiratory and photosynthetic systems of the plant leaves are able to adaptation to extreme temperatures as a result of maturing.

Keywords: *dark respiration, visible photosynthesis, leaf, adaptation, temperature effect*

ВЛИЯНИЕ ПОГОДНЫХ УСЛОВИЙ НА СОДЕРЖАНИЕ И СОСТАВ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЗЕРНЕ ФИОЛЕТОВОЗЕРНЫХ ЛИНИЙ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

А.Н. Акулов¹, А.И. Валиева¹, Н.З. Василова², Дан. Ф. Асхадуллин²,
Дам. Ф. Асхадуллин², Н.И. Румянцева¹

¹Казанский институт биохимии и биофизики – обособленное структурное подразделение Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия, akulov_anton@mail.ru

²Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства – обособленное структурное подразделение Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия, trulik@ya.ru

Аннотация. Установлено, что ответной реакцией фиолетовозерных линий яровой мягкой пшеницы на снижение среднемесячной температуры воздуха в вегетационный период является увеличение количества антоцианов и изменение состава фенольных соединений (ФС), а также снижение содержания проламинов и глютелинов в зерне. Степень выраженности ответной реакции на изменение температуры зависела от генотипа линии.

Ключевые слова: мягкая яровая пшеница, фиолетовозерная пшеница, фенольные соединения, антоцианы, погодные условия

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-55-60

Среди полезных для здоровья человека веществ, присутствующих в зерне пшеницы, фенольные соединения (ФС) представляют особый интерес, благодаря их высокой антиоксидантной активности (АОА) [Žilic, 2016]. Цвет зерна фиолетовозерных сортов пшеницы определяется наличием цианидин-3-глюкозида, основного антоциана пшеницы, локализованного, главным образом, в перикарпии зерновки [Abdel-Aal et al., 2006]. Известно, что антоцианы растений могут выполнять различные функции, преимущественно защитные [Stintzing, Carle, 2004]. На синтез антоцианов влияют различные факторы, среди которых температурные условия являются наиболее существенными. В данной работе было изучено влияние погодных условий на содержание и состав ФС и белков в зерне фиолетовозерных линий яровой мягкой пшеницы.

Объектом исследования служили две фиолетовозерные линии мягкой пшеницы, полученные в лаборатории селекции яровой пшеницы Татарского НИИСХ ФИЦ КазНЦ РАН. Линия Кк-163-08-4 была получена при скрещивании линии Л-22-95 (*Triticum aestivum* var. *vigorovii*) с сортом Kommissar (*T. aestivum* var. *lutescens*), линия Кк-193-08-1 при скрещивании линии Л-13-95 (*T. aestivum* var. *vigorovii*) с сортом Kommissar. Зерновки обеих линий имели фиолетовую окраску перикарпия. Опытные образцы высевали в 2016-2017 гг. на полях селекционного севооборота Татарского НИИСХ, расположенного в Предкамской зоне республики Татарстан. Почва – серая лесная, хорошо окультуренная, типичная для зоны. Данные по метеорологическим условиям (температура и влажность) были предоставлены метеостанцией Татарского НИИСХ.

Растворимые ФС были получены из 100 мг цельнозерновой муки по методу, описанному ранее [Akulov et al., 2018]. Содержание ФС определяли по методу [Folin, Ciocalteu, 1927], содержание антоцианов – по методу [Yu, Beta, 2015], АОА – по методу [Brand-Williams, 1995] с использованием дифенилпикрилгидразина. Спектр растворимых ФС был проанализирован методом обращенно-фазной ВЭЖХ [Akulov et al., 2018]. Для получения белковых фракций 100 мг цельнозерновой муки последовательно экстрагировали 1 мл деионизированной воды, 1 мл 10% NaCl, 1 мл

70% этанола, 1 мл 0,1% NaOH, соответственно. Образцы центрифугировали 10 мин. при 3000g, супернатанты использовали как фракции белков альбуминов, глобулинов, проламинов и глютелинов, соответственно. Содержание белка определяли по методу Лоури [Lowry et al., 1951].

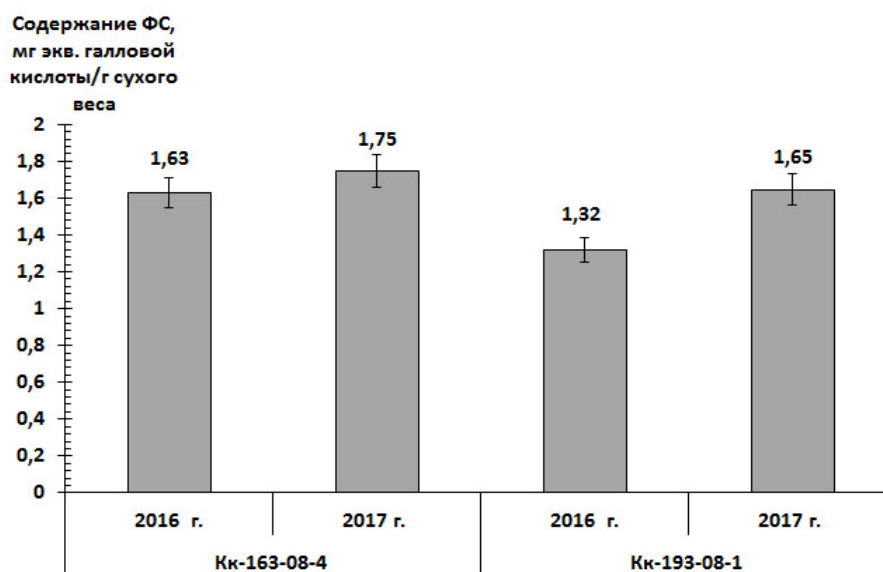


Рис. 1. Содержание метанол-экстрагируемых ФС в зерне фиолетовозерных линий пшеницы.

Согласно данным, предоставленным метеорологической службой ТатНИИСХ, 2017 г. характеризовался значениями температуры и влажности воздуха, отличными от среднемноголетних. До середины июня температура держалась ниже нормы на 3-5 С, в остальной вегетационный период разница была менее выражена, но в середине лета повышенная влажность усилила стрессовые условия для роста и развития растений. В 2016 г. понижения температуры воздуха относительно среднемноголетних значений температуры не наблюдалось, наоборот, с середины вегетационного периода зарегистрировано повышение температуры воздуха и снижение количества осадков.

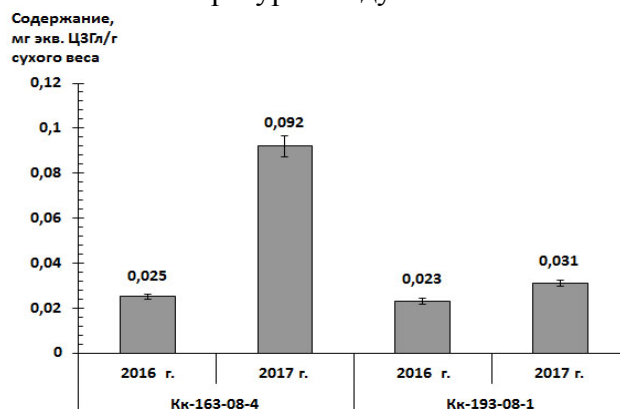


Рис. 2. Содержание антоцианов в зерне фиолетовозерных линий пшеницы.

Содержание растворимых ФС в зерне урожая 2016 г. было выше в линии Кк-163-08-4, чем в линии Кк-193-08-1 (рис.1), тогда как количество антоцианов (рис. 2) в обеих линиях существенно не различалось. Напротив, в зерне урожая 2017 года содержание растворимых ФС в обеих линиях не отличалось, а количество антоцианов в зерне линии Кк-163-08-4 было в 3 раза выше по сравнению с линией Кк-193-08-1.

Из данных, представленных на рис. 1, видно, что в зерне обеих фиолетовозерных линий урожая 2017 г. содержание антоцианов увеличивалось по сравнению с 2016 г., тогда как содержание ФС достоверно увеличивалось только для линии Кк-193-08-1. Полученные результаты позволили заключить, что увеличение антоцианов в обеих линиях, вероятно, является следствием более низких относительно среднесезонных значений температуры воздуха в 2017 г., причем для линии Кк-163-08-4 эта реакция была более выраженной. Тем не менее, мы не обнаружили прямой взаимосвязи между увеличением содержания ФС и антоцианов, поэтому предположили, что в линии Кк-193-08-1 увеличение общего содержания ФС в 2017 г. обусловлено активацией синтеза других ФС.

ВЭЖХ анализ растворимых ФС показал, что их спектр в обеих фиолетовозерных линиях был представлен в основном фенольными кислотами (рис. 3), что согласуется с литературными данными [Shahidi et al., 2015]. В зерновках обеих линий урожая 2016 и 2017 гг. идентифицировали галловую, кумаровую, феруловую и синаповую кислоты. (рис. 3А, Б). В зерне линии Кк-163-08-4 доля идентифицированных фенольных кислот в спектре растворимых ФС урожая 2016 и 2017 гг. существенно не изменялась. Однако в спектре ФС зерна линии Кк-163-08-4, урожая 2016 г. было отмечено наличие двух неидентифицированных ФС, отмеченных на рис.3 символами (●) и (■), в то время как в зерне урожая 2017 г. только одного неидентифицированного ФС (▲) (рис. 3А). В зерне линии Кк-193-08-1 урожая 2017 г. по сравнению с 2016 г. происходило увеличение (в 1,5 раза) доли феруловой и синаповой кислот. Кроме того, были выявлены неидентифицированные ФС (↓) и (↓↓), доля которых в спектре растворимых ФС была значительной (рис. 3Б). Таким образом, в зерне линии Кк-193-08-1 урожая 2017 г. увеличение содержания растворимых ФС (рис. 1) определяется усилением синтеза и накопления нескольких неидентифицированных ФС. Вероятно, эти ФС вовлечены в реакцию растений на колебания температуры воздуха в вегетационный период.

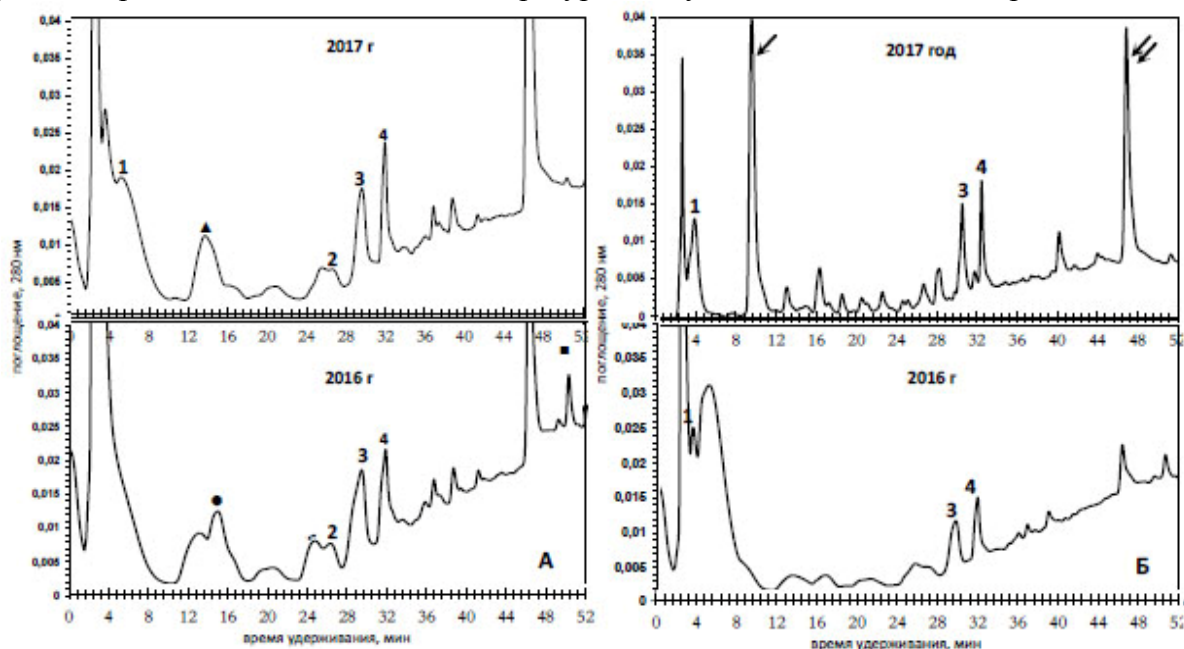


Рис. 3. ВЭЖХ метанол-экстрагируемых ФС зерновок линии Кк-163-08-4 (А) и линии Кк-193-08-1 (Б): 1 — галловая кислота, 2 – кумаровая кислота, 3 – феруловая кислота, 4 – синаповая кислота.

Обнаружено, что АОА спиртовых экстрактов, выделенных из цельнозерновой муки обеих линий, была выше в 2017 г. по сравнению с 2016 г. (рис. 4), причем в

2017 г. для линии Кк-163-08-4 это значение было почти в 14 раз выше значения для линии Кк-193-08-1.

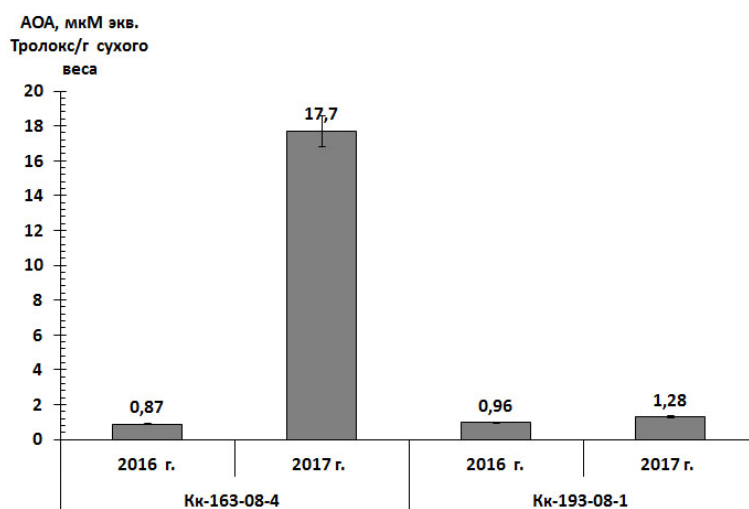


Рис. 4. АОА спиртовых экстрактов муки из зерна фиолетовозерных линий пшеницы.

Известно, что у многих растений усиление синтеза антоцианов при понижении температуры воздуха является стрессовой реакцией [Winkel-Shirley, 2005]. Антоцианы относятся к ФС, обладающими высокой АОА [Khoo et al., 2017]. Вероятно, синтез антоцианов позволяет растениям снижать уровень окислительного стресса, вызванного изменением температуры воздуха.

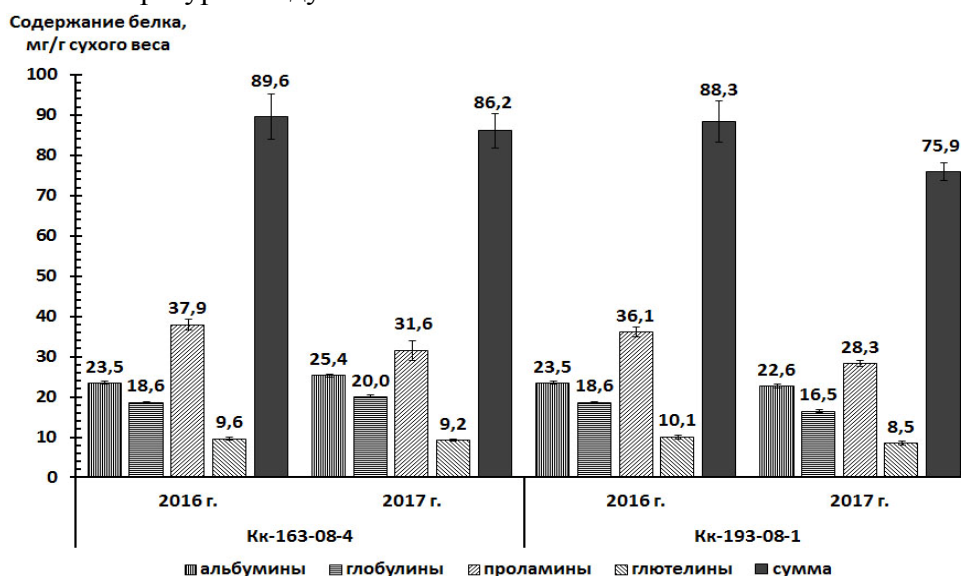


Рис. 5. Содержание белка в зерне фиолетовозерных линий пшеницы.

Стрессовая реакция растений на понижение температуры сопровождается не только увеличением антоцианов [Pierro et al., 2005], но и изменениями в белковом метаболизме [Pinedo et al., 2000]. Нами обнаружено, что для линии Кк-193-08-1 содержание белка в зерне урожая 2017 г. по сравнению с 2016 г. было ниже по всем белковым фракциям (рис. 5). В связи с тем, что количество запасных белков эндосперма, проламинов и глютелинов снижалось существенно, доля альбуминов и глобулинов в общем количестве белка зерна увеличивалась. В зерне линии Кк-163-08-4 достоверного изменения в содержании общего белка отмечено не было, однако происходило аналогичное перераспределение долей различных фракций белка в зерне.

Однако в данном случае оно было связано в большей степени с увеличением количества альбуминов и глобулинов, во фракции которых присутствуют различные ферменты, защитные и метаболические белки, и в меньшей степени – со снижением количества запасных белков.

Таким образом, можно заключить, что ответной реакцией фиолетовозерных линий яровой мягкой пшеницы на пониженные температуры в вегетационный период является увеличение количества антоцианов и изменение состава ФС, а также снижение содержания проламинов и глютелинов в зерне. Чем больше при пониженных температурах в фиолетовозерной линии образуется антоцианов, тем меньше снижается в ней синтез запасных белков – проламинов и глютелинов.

Литература

Akulov A.N., Gumerova E. A., R Rummyantseva N.I. Cell cultures of *Fagopyrum tataricum* as a source of biologically active phenolic compounds. In Meiliang Zhou, Ivan Kreft, Galina Suvorova, Yu Tang and Sun Hee Woo, editors: Zhou-Buckwheat Germplasm in the World, Chennai: Academic Press. – 2018. – P. 259–270.

Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity // LWT. – 1995. – V. 28. – P. 25–30.

Duke S. O. Biosynthesis of phenolic compounds chemical manipulation in higher plants the chemistry of allelopathy // ACS Symposium Series American Chemical Society. – 1985. – Chapter 8. – V. 268. – P. 113–131.

Folin O., Ciocalteu V. On tyrosine and tryptophane determinations in proteins // J. Biol. Chem. – 1927. – V. 73. – P. 627–650.

Khoo H. E., Azlan A., Tang S. T., Lim S. M. Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits // Food Nutr. Res. – 2017. – V. 61. – P. 1361779.

Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – V. 193. – P. 265–275.

Piero A.R.L., Puglisi I., Rapisarda P., Petrone G. Anthocyanins accumulation and related gene expression in red orange fruit induced by low temperature storage // J. Agric. Food Chem. – 2005. – V. 53. – P. 9083–9088.

Pinedo M.L., Hernández G.F., Conde R.D., Tognetti J.A. Effect of low temperature on the protein metabolism of wheat leaves // Biologia Plantarum. – 2000. – V. 43. – P. 363–367.

Shahidi F., Ambigaipalan P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects - A review // Journal of Functional Foods. – 2015. – V. 18. – P. 820–897.

Stintzing F.C., Carle R. Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition // Trends in Food Science and Technology. – 2004. – V. 15. – P. 19–38.

Winkel-Shirley B. Biosynthesis of flavonoids and effects of stress // Current Opinion in Plant Biology. – 2002. – V. 5. – P. 218–223.

Yu L., Beta T. Identification and antioxidant properties of phenolic compounds during production of bread from purple wheat grains // Molecules. – 2015. – V. 20. – P. 15525–15549.

Žilić S. Phenolic compounds of wheat. Their content, antioxidant capacity and bioaccessibility // MOJ Food Process Technol. – 2016. – V. 2. – P. 1–5.

WEATHER CONDITIONS INFLUENCE ON THE CONTENT AND COMPOSITION OF PHENOLIC COMPOUNDS IN THE PURPLE LINES OF SOFT SPRING WHEAT GRAINS

A.N. Akulov¹, A.I. Valieva¹, N.Z. Vasilova², Dan. F. Askhadullin²,
Dam. F. Askhadullin², N.I. Rumyantseva¹

¹Kazan institute of biochemistry and biophysics of Kazan science center of the Russian academy of sciences, Kazan, Russia, *akulov_anton@mail.ru*

²Tatar research institute of agriculture of Kazan science center of the Russian academy of sciences, Kazan, Russia, *trulik@ya.ru*

Abstract. We showed that two purple grain wheat lines response to the decrease of the average monthly air temperature during the growing season by an increase in the anthocyanin content and the change in the phenolic composition, as well as by the decrease of prolamin and glutelin content in the grain. This response was line-specific.

Keywords: *soft spring wheat, purple grain wheat, phenolic compounds, anthocyanins, weather conditions*

РОЛЬ ЛЕКТИНОВ АЗОСПИРИЛЛ В ПОВЫШЕНИИ АДАПТАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ СТРЕССА

С.А. Аленькина, В.Е. Никитина

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук, Саратов, Россия, alenkina_s@ibppm.ru

Аннотация. Показано, что лектин *Azospirillum brasilense* Sp7 вызывал увеличение активности пероксидазы, супероксиддисмутазы корней четырехдневных проростков пшеницы при действии кратковременного температурного стресса. Результаты настоящей работы являются дополнением к полученным ранее данным о том, что лектины азоспирилл могут участвовать в адаптации и вызывать индукцию защитных механизмов растений, что в сочетании с ростстимулирующим эффектом бактерий, способствует формированию устойчивости и повышению продуктивности растений.

Ключевые слова: ассоциативная азотфиксация, азоспириллы, лектины, корни проростков пшеницы, антиоксидантные ферменты, абиотические стрессы

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-61-63

Экстремальные температуры и засоление являются одними из важнейших факторов внешней среды, воздействующих на растения, поэтому изучение механизмов толерантности и адаптации высших растений имеет большое научное и практическое значение. Поскольку у растений отсутствуют поведенческие механизмы защиты от действия неблагоприятных факторов, основные адаптивные изменения происходят в первую очередь на биохимическом уровне

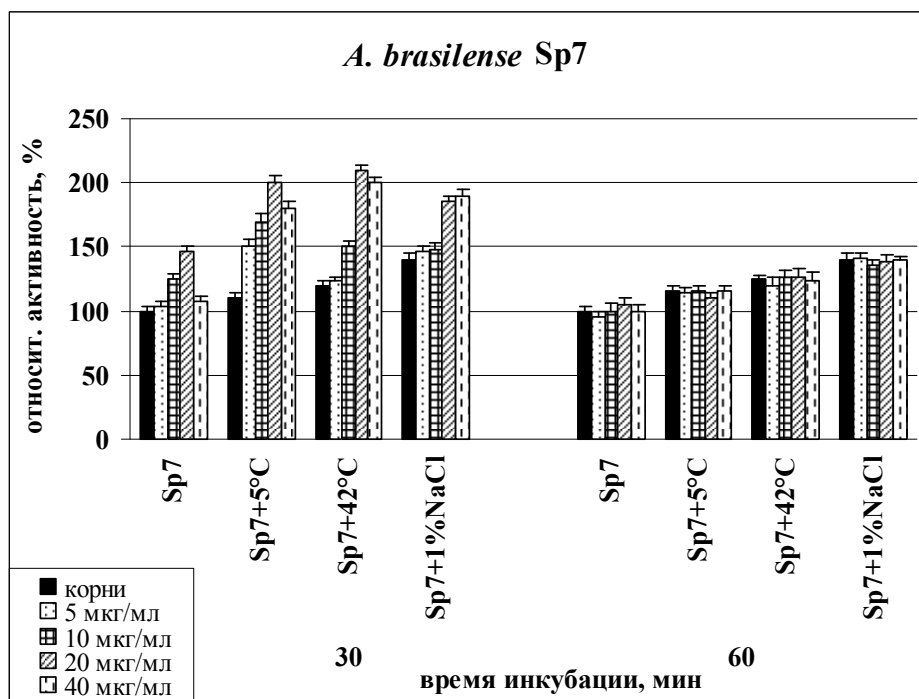
Ассоциативные азотфиксирующие бактерии рода *Azospirillum* – PGPR (plant growth-promoting rhizobacteria) микроорганизмы, стимулирующие рост растений за счет ряда положительных эффектов на растения [Никитина и др., 1996]. Несмотря на активно ведущиеся в этой области исследования, на данный момент вопрос о приоритетности какого-либо из факторов, объясняющих благоприятное влияние инокуляции азотфиксирующими бактериями на рост и продуктивность растения, остается открытым. Было показано, что инициация взаимодействия бактерий с корнями происходит по принципу лиганд-рецепторного взаимодействия. Установлено, что со стороны азоспирилл в этом процессе, в числе других факторов, участвуют лектины, находящиеся на поверхности клетки [Никитина и др., 2005].

С поверхности ассоциативных азотфиксирующих бактерий - *A. brasilense* Sp7 был изолирован лектин, являющийся гликопротеином. Было показано, что лектин является полифункциональной молекулой [Baldani et al., 2005].

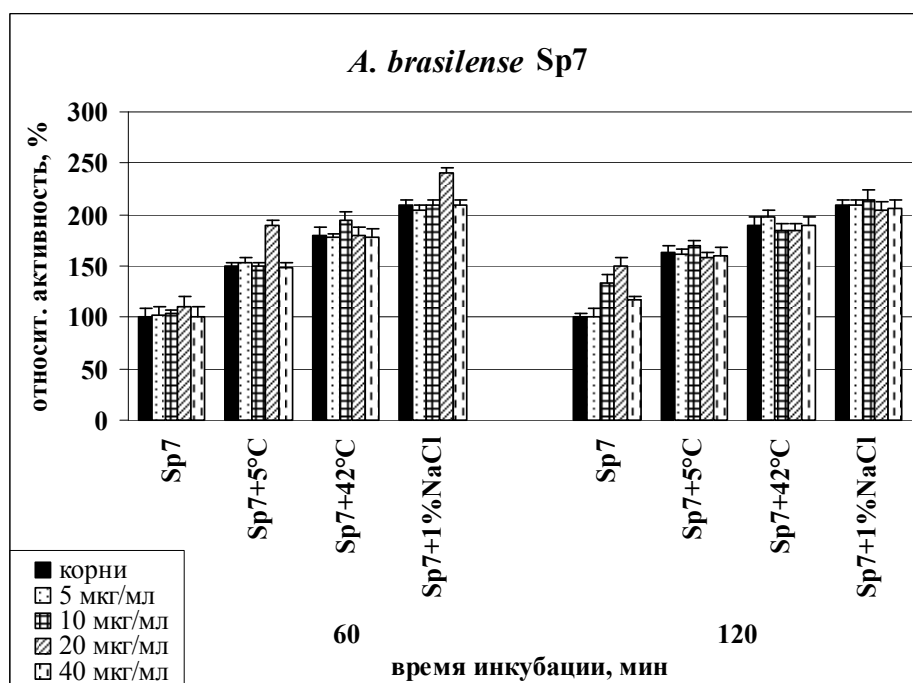
Цель работы состояла в оценке способности лектина *A. brasilense* Sp7 оказывать регулирующее воздействие на активность пероксидазы и супероксиддисмутазы в корнях проростков пшеницы в условиях гипо-, гипертермии и засоления.

В результате проведенных нами опытов было установлено, что лектин *A. brasilense* Sp7 увеличивал активность пероксидазы в корнях проростков пшеницы, подвергшихся гипо- и гипертермическому воздействию. Как для гипо-, так и для гипертермического стресса картина была аналогичной. Активность фермента возрастала после 30-минутной экспозиции с корнями, затем постепенно сравнивалась с контрольным уровнем. Повышение активности было отмечено для всех концентраций лектина и имело пикообразный характер с максимумом для концентрации 20 мкг/мл (рисунок).

При гипотермии для всех изучаемых концентраций лектина было отмечено увеличение активности СОД после часа инкубации с корнями проростков. Наибольший эффект был отмечен при концентрации - 20 мкг/мл. При гипертермии наблюдалась аналогичная картина, т.е. происходило активирование ферментативной активности после часа инкубирования лектина с корнями. Наибольший эффект был отмечен при концентрации лектина- 10 мкг/мл.



а.



б.

Рисунок. Влияние лектинов *Azospirillum brasilense* Sp7 на активность пероксидазы(а), и СОД(б) корней проростков пшеницы. Результаты представлены как средние арифметические значения со стандартной ошибкой (n=3). Все различия достоверны (p<0.05).

При комбинированном воздействии изучаемого лектина с 1%-ым NaCl после 30 мин инкубации с корнями проростков происходило повышение активности пероксидазы с максимумом для концентраций лектина 20 и 40 мкг/мл. Повышение составило 60 и 75%, соответственно. После 60 мин инкубации с корнями в условиях засоления активность фермента снижалась до контрольного уровня (рисунок).

Представленные данные согласуются с результатами других авторов, которые отмечают способность азоспирилл повышать активность пероксидазы и СОД в растениях при ряде абиотических стрессов [Baniaghil et al., 2005].

Литература

Никитина В.Е., Аленькина С.А., Пономарева Е.Г., Савенкова Н.Н. Изучение роли лектинов клеточной поверхности азоспирилл во взаимодействии с корнями пшеницы // Микробиология. – 1996. – Т. 65, № 2. – С. 165–170.

Никитина В.Е., Пономарева Е.Г., Аленькина С.А. Лектины клеточной поверхности азоспирилл и их роль в ассоциативных взаимоотношениях с растениями // Молекулярные основы взаимоотношений ассоциативных микроорганизмов с растениями / Под ред. В.В. Игнатова. – М.: Наука, 2005. – С. 70–97.

Baldani J.I., Baldani V.L.D. History on the biological nitrogen fixation research in graminaceous plants: Special emphasis on the Brazilian experience // An Acad. Bras. Cienc. – 2005. – V. 77. – P. 549–579.

Baniaghil N., Arzanesh M.H., Ghorbanli M., Shahbazi M. The effect of plant growth promoting rhizobacteria on growth parameters, antioxidant enzymes and microelements of canola under salt stress // J. Appl. Environ. Biol. Sci. – 2013. – V. 3. – P. 17–27.

EFFECT OF AZOSPIRILLUM LECTINS ON THE ACTIVITY OF ANTIOXIDANT ENZYMES IN PLANT ROOTS UNDER SHORT-TERM STRESSES

S.A. Alen'kina, V.E. Nikitina

Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, Saratov, Russia, alenkina_s@ibppm.ru

Abstract. We showed that lectin from *Azospirillum brasilense* Sp 7 increased activities of peroxidase and superoxide dismutase in roots of 4-day-old seedlings of wheat under short-term thermic stress. The results of in this study was supplemented of our earlier data and indicated that the *Azospirillum* lectins are involved in adaptations and that they inducted protection changes in plants. This effect in combination with other effects of plant growth-promoting bacteria positive influenced on plant resistance and productivity.

Keywords: *associative nitrogen fixation, Azospirillum, lectins, wheat roots, antioxidant enzymes, abiotic stresses*

ВЛИЯНИЕ ЛЕКТИНОВ АЗОСПИРИЛЛ НА СОДЕРЖАНИЕ ПРОЛИНА В КОРНЯХ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

С.А. Аленькина, К.А. Рощупкина, В.Е. Никитина

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук, Саратов, Россия, alenkina_s@ibppm.ru

Аннотация. Показано, что лектины *Azospirillum brasilense* Sp7 и Sp245 с различной интенсивностью вызывали увеличение количества пролина в корнях четырехдневных проростков пшеницы при воздействии ZnSO₄. Результаты настоящей работы свидетельствуют об участии лектинов азоспирилл в адаптационных изменениях в корнях проростков пшеницы, что способствует нормальному ходу метаболических процессов и обеспечивает регуляцию взаимодействия растений с азоспириллами при абиотических воздействиях.

Ключевые слова: ризосфера, азоспириллы, лектины, корни проростков пшеницы, пролин, абиотические стрессы

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-64-67

Промышленные предприятия, автотранспорт, минеральные удобрения, пестициды и гербициды, используемые в сельском хозяйстве – все это источники поступления тяжелых металлов (ТМ) в окружающую среду.

Главной причиной изменений физиологических и биохимических процессов в растениях при действии ТМ является окислительный стресс, вызванный избыточным количеством АФК. Обезвреживание АФК в стрессовых условиях обеспечивается многоступенчатой системой защиты, в которой участвуют антиоксидантные ферменты [Стеценко и др., 2011]. Однако при окислительном стрессе ферменты могут быть инактивированы не только АФК, но и самими ТМ. В этом случае основную и более эффективную роль антиоксидантов выполняют низкомолекулярные метаболиты, одним из которых является пролин [Сазанова и др., 2012].

Эффективность мультифункционального действия пролина при стрессе определяется способностью организма быстро индуцировать системы аккумуляции пролина в ответ на действие стрессора, способностью интенсивно накапливать свободный пролин до значительных внутриклеточных концентраций и наличием эффективной системы регуляции уровня стресс-индуцированного пролина [Carvalho et al., 2013].

Ассоциативные азотфиксирующие бактерии рода *Azospirillum* – PGPR (plant growth-promoting rhizobacteria) микроорганизмы, стимулирующие рост растений за счет ряда положительных эффектов на растения: способности к азотфиксации, продукции фитогормонов, солубилизации фосфатов, улучшению водного и минерального статуса, продукции ряда соединений, увеличивающих мембранную активность и пролиферацию тканей корневой системы, способности уменьшать влияние стрессоров на растение и осуществлять контроль многочисленных фитопатогенов [Никитина и др., 1996]. Несмотря на активно ведущиеся в этой области исследования, на данный момент вопрос о приоритетности какого-либо из факторов, объясняющих благоприятное влияние инокуляции азотфиксирующими бактериями на рост и продуктивность растения, остается открытым.

Было показано, что инициация взаимодействия бактерий с корнями происходит по принципу лиганд-рецепторного взаимодействия. Установлено, что со стороны

азоспирилл в этом процессе, в числе других факторов, участвуют лектины, находящиеся на поверхности клетки [Никитина и др., 2005].

С поверхности двух штаммов ассоциативных азотфиксирующих бактерий – *A. brasilense* Sp7 и *A. brasilense* Sp245 были выделены лектины, являющиеся гликопротеинами с различными молекулярными массами и углеводной специфичностью. Лектин *A. brasilense* Sp7 имел молекулярную массу 36 кДа и проявлял специфичность к L-фукозе (1.87 мМ) и D-галактозе (20 мМ). Лектин *A. brasilense* Sp245 проявлял сродство к собственному полисахариду – кислому D-рамнану и имел молекулярную массу 67 кДа [Никитина и др., 2005; Шелудько и др., 2009].

Цель работы состояла в оценке способности лектина *A. brasilense* Sp7 и *A. brasilense* Sp245 оказывать регулирующее воздействие на содержание пролина в корнях проростков пшеницы при воздействии тяжелых металлов.

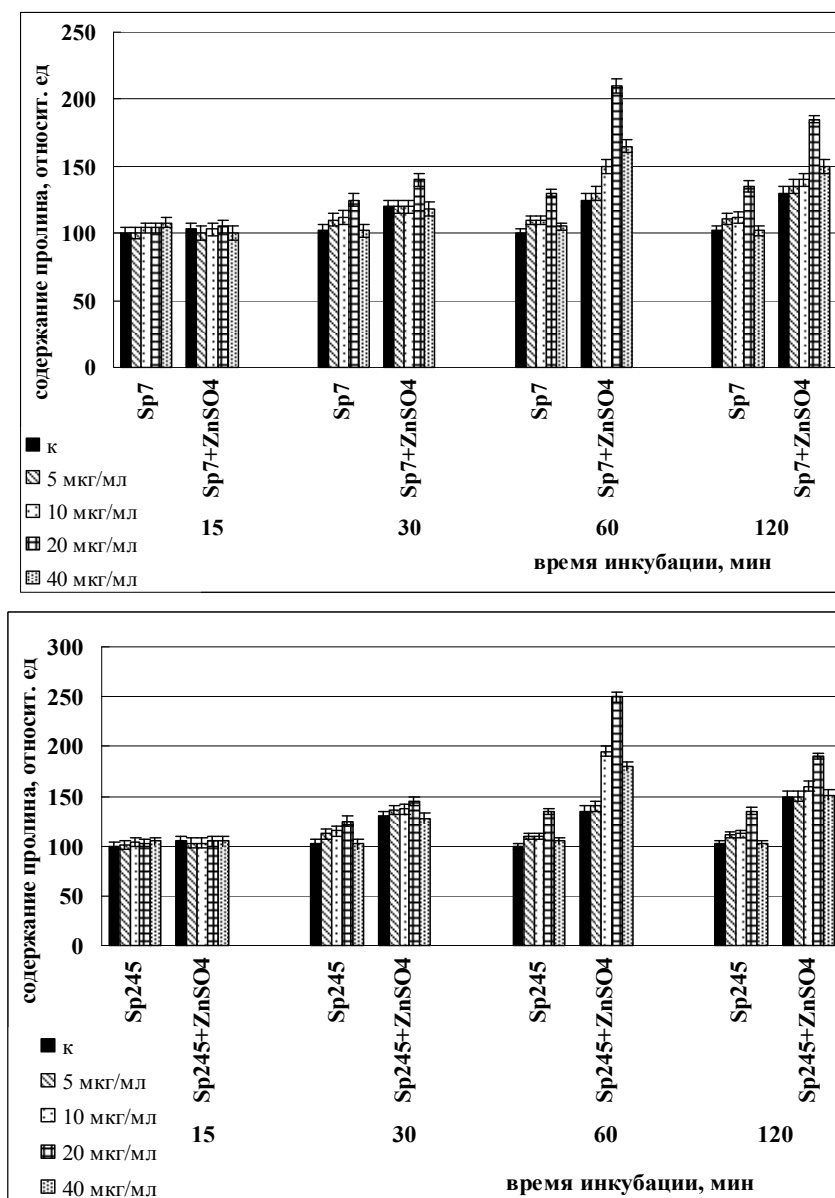


Рисунок. Влияние лектинов *Azospirillum brasilense* Sp7 и Sp245 на содержание пролина в корнях проростков пшеницы при воздействии ZnSO₄. Результаты представлены как средние арифметические значения со стандартной ошибкой (n=3). Все различия достоверны (p<0.05).

Семена пшеницы *Triticum aestivum* L. сорта «Саратовская 29» (ГНУ НИИ Сельского хозяйства Юго-Востока РСХА, Саратов, Россия) были поверхностно стерилизованы в 70% (v/v) этаноле 1 мин, отмыты стерильной водой. Для получения корней проростков семена были выращены в асептических условиях в чашках Петри на стерильной дистиллированной воде и инкубированы в темноте при 25 °С. Для экспериментов были использованы четырехдневные проростки.

Для изучения влияния стресса на активность ферментов корни в течение двух часов подвергали совместному воздействию лектинов (концентрация 5–40 мкг/мл) и ZnSO₄ (концентрация 10⁻³ММ). В качестве контроля выступали корни проростков, выращенные при 25 °С.

Корни гомогенизировали в 0,15 М фосфатном буфере (рН 7,8). Гомогенат центрифугировали при 7000g 10 мин, надосадочную жидкость использовали для определения пролина. Содержание свободного пролина определяли с помощью нингидринового реактива [Bates et al., 1973].

Известно, что в ответ на воздействие различных стрессорных факторов, и в частности тяжелых металлов, в растениях происходит накопление свободного пролина. В результате проведенных нами опытов было установлено, что в варианте комбинированного воздействия лектинов *A. brasilense* Sp7 и *A. brasilense* Sp245 с ZnSO₄ происходило увеличение количества пролина в корнях проростков пшеницы. Количество пролина в случае с лектином *A. brasilense* Sp7 возрастало после 30-минутной экспозиции с корнями, затем происходило дальнейшее повышение с максимумом при 60 мин, а затем уровень пролина постепенно падал. Максимальное повышение содержания пролина было отмечено для концентрации лектина этого штамма 20 мкг/мл. В контрольном варианте уровень пролина составлял 2 ммоль/г сырой массы.

В случае с лектином *A. brasilense* Sp245 наблюдалась аналогичная с лектином *A. brasilense* Sp7 картина – максимальное увеличение активности наблюдалось также после 60-минутной экспозиции с корнями и при концентрации лектина – 20 мкг/мл, но уровень эффекта был выше.

Вероятной причиной различной функциональной активности лектинов может быть различная углеводная специфичность, структурные различия белков. Полученные в нашей работе результаты свидетельствуют о более широком, чем считалось ранее, спектре влияния лектинов азоспирилл на метаболизм растения-хозяина и в сочетании с уже имеющимися сведениями позволят внести коррективы в представления о механизмах взаимодействия бактерий с растениями при формировании ассоциации.

Литература

Никитина В.Е., Аленькина С.А., Пономарева Е.Г., Савенкова Н.Н. Изучение роли лектинов клеточной поверхности азоспирилл во взаимодействии с корнями пшеницы // Микробиология. – 1996. – Т. 65, № 2. – С. 165–170.

Никитина В.Е., Пономарева Е.Г., Аленькина С.А. Лектины клеточной поверхности азоспирилл и их роль в ассоциативных взаимоотношениях с растениями // Молекулярные основы взаимоотношений ассоциативных микроорганизмов с растениями / Под ред. В.В. Игнатова. – М.: Наука, 2005. – С. 70–97.

Сазанова К.А., Башмаков Д.И., Лукаткин А.С. Генерация супероксидного анион-радикала в листьях растений при хроническом действии тяжелых металлов // Труды КарНЦ РАН. Серия: Экспериментальная биология. – 2012. – № 2. – С. 119–124.

Стеценко Л.А., Шевякова Н.И., Ракитин В.Ю., Кузнецов Вл.В. Проллин защищает растения *Atropa belladonna* от токсического действия солей никеля // Физиология растений. – 2011. – Т. 58, № 2. – С. 275–282.

Шелудько А.В., Пономарева Е.Г., Варшаломидзе О.Э., Ветчинкина Е.И., Кацы Е.И., Никитина В.Е. Гемагглютинирующая активность и подвижность бактерий *Azospirillum brasilense* в присутствии разных источников азота // Микробиология. – 2009. – Т. 78, № 6. – С. 749–756.

Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water-stress studies // Plant and Soil. – 1973. – V. 39. – P. 205–207.

Carvalho K., Campos M.K., Domingues D.S., Pereira L.F., Vieira L.G. The accumulation of endogenous proline induces changes in gene expression of several antioxidant enzymes in leaves of transgenic *Swingle citrumelo* // Mol. Biol. Rep. – 2013. – V. 40. – P. 3269–3279.

EFFECT OF *AZOSPIRILLUM* LECTINS ON PROLINE CONTENT IN WHEAT SEEDLING ROOTS EXPOSED TO HEAVY METALS

S.A. Alen'kina, K.A. Roshchupkina, V.E. Nikitina

Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms Russian Academy of Sciences, Saratov, Russia, alenkina_s@ibppm.ru

Abstract. Lectins isolated from *Azospirillum brasilense* Sp7 and Sp245 increased, with different intensities, the content of proline in ZnSO₄-exposed roots of 4-day-old seedlings of wheat. The results indicate that the *Azospirillum* lectins play a part in adaptational changes in wheat seedling roots, promoting the normal course of metabolism and ensuring the regulation of the plant-*Azospirillum* interaction under abiotic effects.

Keywords: Rhizosphere, *Azospirillum*, lectins, wheat seedling roots, proline, abiotic stresses

ИЗМЕНЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ CdSO₄ ДЛЯ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ ПОД ВЛИЯНИЕМ САЛИЦИЛАТА НАТРИЯ

Н.Р. Алигусейнова, Д.А. Джахмаева

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Дагестанский государственный университет», Махачкала, Россия, gulyaraabilova@mail.ru

Аннотация. В работе исследовано влияние CdSO₄ на рост осевых органов у 7-дневных проростков пшеницы сорта «Москвич», выросших из семян, обработанных салицилатом натрия. Начиная с концентрации CdSO₄ 10⁻⁴ М и выше, проявлялось токсическое действие кадмия, которое проявлялось в уменьшении длины и массы корня и стебля растений пшеницы, а также в увеличении содержания в них аминокислоты пролина. Обработка семян пшеницы 0,05 мМ салицилатом натрия снижало повреждающее действие CdSO₄, которое особенно было выражено при концентрации соли 10⁻⁴ М.

Ключевые слова: салицилат натрия, пшеница, кадмий, пролин

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-68-71

Растительные организмы обладают защитно-приспособительными реакциями на действие неблагоприятных факторов окружающей среды. В основе этих реакций лежит передача внешних сигналов в геном клетки через систему рецепторов, ионных каналов, сигнальных молекул и транскрипционных факторов. Среди стрессовых метаболитов особое место занимает салициловая кислота, которую относят к ключевым посредникам единой сигнальной системы [Колупаев, Ястреб, 2013]. Эффекты салициловой кислоты связывают с ее способностью влиять на окислительный стресс в клетках растений, вызванный увеличением в них активных форм кислорода. В качестве стрессового фактора, вызывающего окислительный стресс в клетках растений, была выбрана соль тяжелого металла – кадмия [Титов и др., 2014].

Задачей данной работы явилось исследование проростков пшеницы, выросших из обработанных салициловой кислотой семян, подвергнутых действию CdSO₄ разной концентрации. Поскольку салициловая кислота нерастворима в воде, то для изучения ее протекторной функции использовали соль салициловой кислоты – салицилат натрия (CNa).

Объектом исследования были проростки пшеницы мягкой (*Triticum aestivum* L.) сорта «Москвич». Первая серия опытов проводилась с целью выявления оптимальной концентрации CNa на показатели роста проростков пшеницы. Для этого семена пшеницы проращивали в климатической камере на растворах CNa с концентрациями 0,05-5,00 мМ в течение трех дней. Контрольные семена находились в дистиллированной воде. На 4-е сутки контрольные и опытные проростки пшеницы переносили в пластиковые контейнеры на фильтровальную бумагу, где они продолжали расти при постоянных условиях (освещение 3000 лк, влажность 75%, температура 23 °С и фотопериод 16 часов) при периодическом поливе дистиллированной водой. На 7-е сутки эксперимента определяли параметры, характеризующие рост проростков пшеницы: длину и массу осевых органов (корней и надземной части).

Вторая серия опытов была посвящена исследованию влияния соли CdSO₄ на проростки пшеницы, обработанные CNa с концентрацией 0,05 мМ. Для этого семена проращивали в тех же условиях, что и в первой серии опытов. Только на 4-е сутки семена поливали растворами CdSO₄ с концентрациями 10⁻⁶-10⁻³ М, контрольные

проростки – дистиллированной водой. На 7-е сутки у проростков определяли ростовые показатели, а также содержание пролина в листьях и корнях [Bates, 1973].

Из приведенных данных в табл. 1 видно, что обработка CNa, за исключением концентрации 5,00 мМ, оказывала на растения пшеницы рост-стимулирующий эффект. Наиболее эффективной концентрацией CNa была 0,05 мМ, когда длина и масса корня увеличивалась на 10% и 32%, соответственно, а длина и масса стебля – на 23% и 15%. В дальнейшем для изучения защитного эффекта CNa на рост растений пшеницы, подвергнутых действию CdSO₄, использовали концентрацию 0,05 мМ.

Таблица 1.

Ростовые показатели 7-дневных проростков пшеницы, выросших из семян после 3-дневной экспозиции на растворах CNa.

Концентрация CNa (мМ)	Корень		Стебель	
	Длина (мм)	Масса (мг)	Длина (мм)	Масса (мг)
0	128±2,4	47±1,4	127±2,9	71±1,5
0,05	140±2,8*	61±2,1*	156±2,3*	85±2,9*
0,10	141±2,4*	62±1,4*	147±1,6*	76±1,4*
0,50	136±1,7*	71±1,8*	150±1,6*	79±1,5*
1,00	127±1,1	69±1,7*	149±1,4*	76±1,6*
5,00	88±2,1*	58±2,1*	125±2,1	69±2,3

Примечание: данные представляют собой средние арифметические опытов с их стандартными ошибками; *P<0,05 относительно дистиллированной воды.

Исследования интенсивности роста растений пшеницы показали, что концентрации CdSO₄ 10⁻⁶-10⁻⁵ М стимулировали процессы роста побега и корня: масса побега увеличивалась недостоверно, а длина побега при концентрации соли 10⁻⁵ М была достоверно выше контрольных значений на 12% (табл. 2). Такая же зависимость отмечена и для корня, для которого оптимальной концентрацией соли для увеличения размеров корня была 10⁻⁵ М – масса корня увеличивалась на 42%, а длина – на 51% по сравнению с контролем.

Таблица 2.

Влияние CdSO₄ на ростовые показатели 7-дневных проростков пшеницы, выросших из семян, обработанных растворами CNa.

Концентрация CdSO ₄ (М)	Концентрация CNa (мМ)			
	0	0,05	0	0,05
	ПОБЕГ			
	Масса (мг)		Длина (мм)	
0	85±2,0	89±2,5	145±2,5	157±2,8*
10 ⁻⁶	88±4,3	84±3,8	144±4,0	149±3,4
10 ⁻⁵	90±5,5	86±3,5	162±3,9*	148±2,4**
10 ⁻⁴	63±3,0*	75±4,1***	117±3,5*	128±3,5* **
10 ⁻³	52±2,7*	54±3,2* **	84±2,5*	87±2,9* **
	КОРЕНЬ			
0	38±2,4	53±4,6*	100±4,5	141±5,0*
10 ⁻⁶	47±2,5*	45±2,7	119±5,5*	128±4,0*
10 ⁻⁵	54±2,2*	49±3,1*	151±3,9*	113±5,8**
10 ⁻⁴	35±1,7	43±1,8	93±3,0 **	99±2,8**
10 ⁻³	16±1,5*	18±0,4* **	49±3,6*	50±2,9* **

Примечание: данные представляют собой средние арифметические опытов с их стандартными ошибками; *P<0,05 относительно дистиллированной воды, **P<0,05 относительно 0,05 мМ CNa.

Предварительная обработка проростков CNa в течение 3-х суток привела к изменению этих параметров, степень которых зависела от концентрации CdSO₄. Если при концентрации соли ниже 10⁻⁵ М CNa не влиял или увеличивал уровень негативного действия кадмия, то при концентрации 10⁻⁴ М проявлялся защитный эффект CNa на рост подвергнутых стрессу проростков, что проявлялось в увеличении массы и длины подземной и надземной части растений пшеницы по сравнению с теми, которые подвергались действию только CdSO₄.

Пролин относят к низкомолекулярным метаболитам полифункционального действия, участвующего в повышении устойчивости растений к абиотическим факторам среды [Абилова, 2016]. Эндогенное содержание пролина в листьях контрольных растений было выше, чем в корнях (табл. 3). Неодинаковым было накопление пролина в клетках листьев и корней при действии CdSO₄. Если в клетках корней содержание пролина превысило контрольные значения при всех концентрациях CdSO₄, то в клетках листьев это превышение наступило только при концентрации соли 10⁻⁴ М. CNa способствовал снижению содержания пролина при всех концентрациях соли как в листьях, так и в корнях.

Таблица 3.

Влияние 4-дневной обработки проростков пшеницы CdSO₄ на содержание пролина (мМ/г сырой массы) в листьях и корнях после 3-дневной экспозиции семян на растворах CNa.

Концентрация CdSO ₄ (М)	Концентрация CNa (мМ)			
	0	0,05	0	0,05
	ЛИСТЬЯ		КОРЕНЬ	
0	1,84±0,02	1,52±0,11*	1,30±0,08	1,51±0,02*
10 ⁻⁶	1,50±0,10*	1,30±0,06*	1,61±0,04	1,06±0,04* **
10 ⁻⁵	1,69±0,04*	1,36±0,02*	1,98±0,06*	1,13±0,04**
10 ⁻⁴	2,73±0,06*	1,70±0,07	2,52±0,02*	1,82±0,22
10 ⁻³	3,78±0,21*	2,72±0,28* **	5,36±0,46*	4,96±0,24* **

Примечание: данные представляют собой средние арифметические опытов с их стандартными ошибками; *P<0,05 относительно дистиллированной воды, **P<0,05 относительно 0,05 мМ CNa.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что CNa снижает повреждающее действие CdSO₄, выявленное по интенсификации ростовых процессов и снижению содержания пролина в листьях и корнях пшеницы.

Литература

Абилова Г.А. Влияние ионов кадмия и свинца на рост и содержание пролина в растениях тритикале (*Triticosecale* Wittm.) // Труды Карельского научного центра РАН. – 2016. – № 11. – С. 27–38.

Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О. Стресс-протекторные эффекты салициловой кислоты и ее структурных аналогов // Физиология и биохимия культ. растений. – 2013. – Т. 45, № 2. – С. 113–123.

Титов А.Ф., Казнина Н.М., Таланова В.В. Тяжелые металлы и растения. – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2014. – 194 с.

Bates L.S. Rapid determination of free proline for stress studies // Plant Soil. – 1973. – V. 39, No. 1. – P. 205–207.

MODIFICATION OF TOXICITY OF CdSO₄ FOR WHEAT PLANTS UNDER THE INFLUENCE OF SODIUM SALICYLATE

N.R. Aliguseynova, D.A. Dzhakhmaeva

Dagestan State University, Makhachkala, Russia, *gulyaraabilova@mail.ru*

Abstract. The effect of CdSO₄ on the growth of axial organs in 7-day-old sprouts of the "Moskvich" wheat, grown from the seeds treated with sodium salicylate, was investigated. Beginning with a CdSO₄ concentration of 10⁻⁴ M and higher, a toxic effect of cadmium was discovered, which manifested itself in decreasing the length and weight of the root and stalk of wheat plants, as well as in increasing the content of proline amino acid in them. Treatment of wheat seeds with 0.05 mM sodium salicylate reduces the damaging effect of CdSO₄, which is especially pronounced at a salt concentration of 10⁻⁴ M.

Keywords: *sodium salicylate, wheat, cadmium, proline*

ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ МЕТИЛЖАСМОНАТА И ЦИТОКИНИНА 6-БЕНЗИЛАМИНОПУРИНА НА РАСТЕНИЯ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ ЗАСУХИ

Ч.Р. Аллагулова, Р.А. Юлдашев, А.М. Авальбаев, Ф.М. Шакирова

Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия, *molgen@anrb.ru*

Аннотация. Работа посвящена исследованию в сравнительном аспекте влияния обработки 44 нМ 6-бензиламинопурином (БАП) и 100 нМ метилжасмонатом (МеЖ) на показатели роста проростков пшеницы и целостности мембранных структур в условиях засухи, моделируемой 12%-ым полиэтиленгликолем (ПЭГ). Обработка растений пшеницы исследуемыми фитогормонами в нормальных условиях произрастания оказывала сходный по уровню рост стимулирующий эффект. Наряду с этим предобработанные БАП или МеЖ и подвергнутые стрессу проростки характеризовались поддержанием интенсивности ростовых процессов и целостности мембранных структур на уровне близком к контролю. Полученные данные могут служить доводом в пользу высказанного ранее предположения о выполнении эндогенными цитокининами роли гормональных интермедиатов в проявлении рост стимулирующего и защитного действия МеЖ на растения пшеницы.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L., метилжасмонат, цитокинины, засуха, абиотический стресс

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-72-75

В естественной среде обитания рост и развитие растений происходит в непрерывно меняющихся условиях произрастания. К числу наиболее широко распространенных неблагоприятных факторов внешней среды, вызывающих существенные нарушения в протекании всех звеньев метаболизма растений и существенно снижающих их рост и продуктивность, относится засуха [Carvalho, 2008; Osakabe et al., 2014; Burgess, Huang, 2016]. Ключевую роль в адаптации растений к стрессовым факторам, вызывающим нарушение водного режима, играет абсцизовая кислота (АБК), регуляторное действие которой связано со способностью индуцировать широкий спектр генов защитных белков [Burgess, Huang, 2016; De Ollas, Dodd, 2016]. Наряду с АБК в регуляцию защитных программ растений вовлекаются и другие фитогормоны, в частности жасмонаты, на что указывают сведения об усилении их биосинтеза при воздействии абиотических стрессовых факторов и снижении уровня их повреждающего действия на растения, предобработанные жасмонатами [Burgess, Huang, 2016; De Ollas, Dodd, 2016; Per et al., 2018]. Полученные нами ранее данные о накоплении цитокининов в проростках пшеницы в норме и предотвращении их падения при стрессе под влиянием экзогенной обработки метилжасмонатом позволили предположить важную роль эндогенных цитокининов в реализации рост стимулирующего и протекторного действия МеЖ на растения пшеницы [Шакирова и др., 2013; Avalbaev et al., 2016]. Поскольку и цитокинины и жасмонаты обладают свойствами стимуляторов роста растений и индукторов их защитных реакций, они весьма привлекательны для использования в практическом растениеводстве с целью повышения устойчивости и продуктивности разных хозяйственно-ценных культур [Burgess, Huang, 2016; De Ollas, Dodd, 2016; Per et al., 2018]. В связи с этим весьма актуальным является исследование механизмов, лежащих в основе индуцированной этими гормонами устойчивости растений к засухе. Цель работы заключалась в сопоставлении защитного действия метилжасмоната и цитокинина 6-бензиламинопурина на подвергнутые засухе проростки пшеницы.

Объектом исследования служили растения пшеницы *Triticum aestivum* L. сорта Башкирская 26. После стерилизации 96%-ным этанолом семена проращивали на смоченной водой фильтровальной бумаге при 21-23 °С, 16-часовом фотопериоде и освещенности 15 клк. 3-сут проростки изолировали от эндосперма и инкубировали 24 ч на растворе 2%-ной сахарозы. Предобработанные и необработанные 100 нМ МеЖ или 44 нМ БАП 4-сут проростки подвергали воздействию засухи, моделируемой обработкой 12%-м ПЭГ. О защитном действии фитогормонов судили по линейным размерам проростков (длина корня, побега и целого проростка), а также по интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) и проницаемости клеточных мембран проростков. Интенсивность ПОЛ оценивали по накоплению малонового диальдегида (МДА) с помощью цветной реакции с тиобарбитуровой кислотой [Шакирова и др., 2013]. О проницаемости клеточных мембран проростков судили по уровню выхода электролитов с использованием кондуктометра ОК 102/1 (Radelkis, Венгрия), измеряя омическое сопротивление водных экстрактов в постоянном токе [Шакирова и др., 2013]. Контролем во всех опытах служили проростки, инкубированные на 2%-ной сахарозе. Эксперименты проводили в трех биологических и четырех-пяти аналитических повторах. На рисунках представлены данные средних арифметических и их стандартные ошибки, полученных с использованием компьютерных программ Statistica, Microsoft Excel.

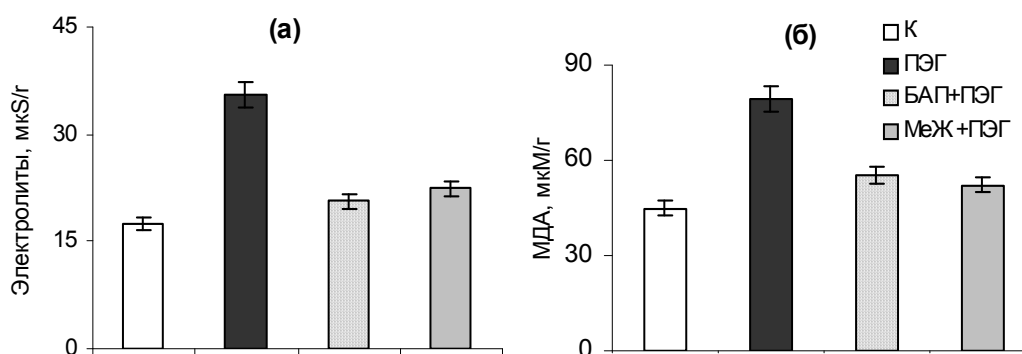


Рис. 1. Влияние предобработки 44 нМ БАП или 100 нМ МеЖ на уровень выхода электролитов (а) и накопление МДА (б) в 4-сут проростках пшеницы, подвергнутых 3 часовому воздействию 12%-го ПЭГ.

Известно, что в условиях обезвоживания клетки и ткани растений испытывают окислительный стресс, возникающий вследствие избыточной продукции активных форм кислорода (АФК), способных вызывать повреждения мембранных структур [Carvalho, 2008]. В литературе имеются данные о способности цитокининов и жасмонатов оказывать влияние на состояние антиоксидантной системы растений [Burgess, Huang, 2016; Per et al., 2018]. В связи с этим можно было ожидать, что предобработка БАП или МеЖ будет способствовать нейтрализации стресс-индуцируемой продукции АФК, что в свою очередь должно найти отражение в уменьшении степени повреждающего действия обезвоживания на целостность мембранных структур, о котором можно судить по содержанию одного из конечных продуктов ПОЛ малонового диальдегиду, а также по уровню экзоосмоса электролитов из тканей. Результаты опытов показали, что воздействие стресса вызвало сильно выраженный повреждающий эффект на целостность мембранных структур клеток, на что указывают данные по существенному увеличению содержания МДА и выходу электролитов из тканей (рис. 1). Предобработка проростков и БАП, и МеЖ хотя и не предотвращала, но существенно снижала негативное действие 12%-го ПЭГ на целостность мембранных структур проростков пшеницы, о чем свидетельствуют

данные по уменьшению в них уровня стресс-индуцированного накопления МДА и экзоосмоса электролитов (рис. 1).

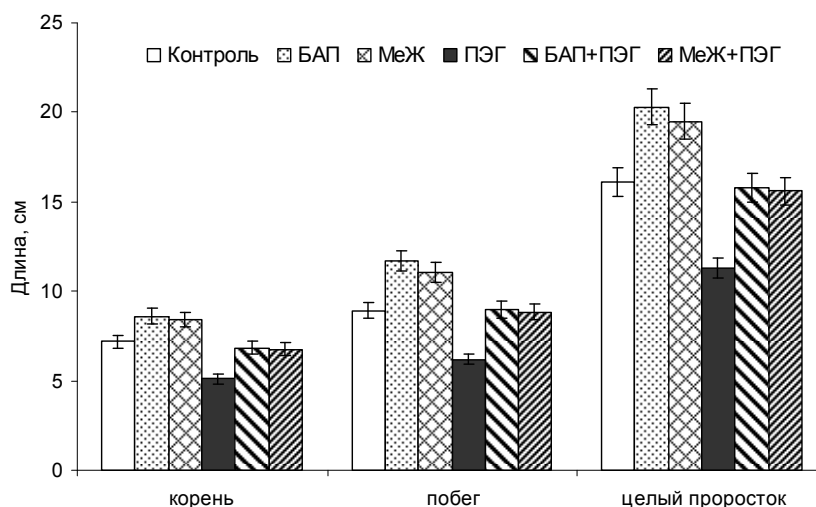


Рис. 2. Линейные размеры корней, побегов и целых 5-сут проростков пшеницы, предобработанных и необработанных 44 нМ БАП или 100 нМ МеЖ и подвергнутых действию засухи, моделируемой 12%-ным ПЭГ.

Интегральным показателем степени повреждающего действия стрессовых факторов на растения служат данные об их росте. В связи с этим далее был проведен сравнительный анализ линейных размеров необработанных и предобработанных БАП или МеЖ проростков пшеницы при воздействии моделируемой ПЭГ засухи, результаты которого приведены на рис. 2. Обработка проростков обоими гормонами в норме способствовала активации их роста, о чем судили по увеличению длины корней, побегов и целого проростка. При этом метилжасмонат оказал на проростки соизмеримый с действием цитокинина рост стимулирующий эффект, что отразилось более чем в 20%-ном возрастании линейных размеров проростков. Моделируемая ПЭГ засуха привела к существенному торможению роста проростков (рис. 2). Предобработанные БАП или МеЖ и подвергнутые стрессу растения характеризовались поддержанием интенсивности ростовых процессов на уровне близком к контролю. Важно отметить, что защитный эффект метилжасмоната сопоставим по уровню с протекторным действием цитокинина на рост проростков пшеницы в условиях засухи.

Таким образом, полученные данные о сопоставимом по уровню рост стимулирующем и защитном эффекте МеЖ и БАП на растения пшеницы при воздействии засухи свидетельствуют в пользу высказанного нами ранее предположения о выполнении эндогенными цитокинами роли гормональных интермедиатов в реализации физиологического действия метилжасмоната на растения пшеницы.

Работа выполнена в рамках госзадания (№ темы АААА-А16-116020350029-1) при частичной поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 17-04-01853_а) с привлечением приборного парка ЦКП «Биомика» (Отделение биохимических методов исследований и нанобиотехнологии РЦКП «Агидель») и УНУ «КОДИНК».

Литература

Шакирова Ф.М., Масленникова Д.Р., Фатхутдинова Р.А., Авальбаев А.М., Юлдашев Р.А., Сомов К.А. Сравнительный анализ физиологического действия метилжасмоната и цитокинина на растения пшеницы // *Агрохимия*. – 2013. – № 2. – С. 49–55.

Avalbaev A., Yuldashev R., Fedorova K., Somov K., Allagulova Ch., Shakirova F., Vysotskaya L. Exogenous methyl jasmonate regulates cytokinin content by modulating cytokinin oxidase activity in wheat seedlings under salinity // *J. Plant Physiology*. – 2016. – V. 191. – P. 101–110.

Burgess P., Huang B. Mechanisms of hormone regulation for drought tolerance in plants. In: Hossain M., Wani S., Bhattacharjee S., Burritt D., Tran L.S. (eds). *Drought stress tolerance in plants*. – Springer, Cham. – 2016. – P. 45–75.

Carvalho M.H.C. Drought stress and reactive oxygen species // *Plant Signaling Behaviour*. – 2008. – V.3 (3). – P. 156–165.

De Ollas C., Dodd I.C. Physiological impacts of ABA–JA interactions under water-limitation // *Plant Molecular Biology*. – 2016. – V. 91. – P. 641–650.

Osakabe Y., Osakabe K., Shinozaki K., Tran L.-S.P. Response of plants to water stress // *Front. Plant Sci*. – 2014. – V. 5. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00086>.

Per T.S., Khan M.I.R., Anjum N.A., Masood A., Hussain S.J., Khan N.A. Jasmonates in plants under abiotic stresses: Crosstalk with other phytohormones matters // *Environ. Exper. Bot*. – 2018. – V. 145. – P. 104–120.

THE PROTECTIVE EFFECT OF METHYL JASMONATE AND CYTOKININ 6-BENZYLAMINOPURINE ON WHEAT PLANTS UNDER DROUGHT CONDITIONS

Ch.R. Allagulova, R.A. Yuldashev, A.M. Avalbaev, F.M. Shakirova

Institute of Biochemistry and Genetics - Subdivision of the Ufa Federal Research
Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia, molgen@anrb.ru

Abstract. The work was devoted to comparative study of the effect of 100 nM methyl jasmonate (MeJA) and 44 nM 6-benzylaminopurine (BAP) on the growth parameters and integrity of membrane structures of wheat plants subjected to polyethylene glycol (PEG)-simulated drought. Treatment of wheat plants with BAP or MeJA under normal growth conditions had a similar growth-stimulating effect. At the same time, pretreated with hormones and stressed plants were characterized by maintaining the intensity of growth processes and the integrity of membrane structures at the level close to control. The obtained results can serve as evidence in favor of our earlier assumption that endogenous cytokinins fulfill the role of hormonal intermediates in the growth-stimulating and protective effects of MeJA on wheat plants under normal and stress conditions.

Keywords: *Triticum aestivum* L., methyl jasmonate, cytokinins, drought, abiotic stress

АДАПТИВНЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ РАСТЕНИЙ ПЕЛЮШКИ К АБИОТИЧЕСКИМ СТРЕССАМ И СЕЛЕКЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ ИХ РЕАЛИЗАЦИИ

А.В. Амелин, Е.И. Чекалин

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Орловский государственный аграрный университет», Орёл, Россия, *amelin_100@mail.ru*

Аннотация. Исследования показали, что пигменты каротиноиды и антоцианы в растениях пелюшек играет важную роль в повышении: устойчивости к абиотическим стрессорам; активности, стабильности и хозяйственной эффективности фотосинтетической деятельности растений, что является на современном этапе селекции важным условием в достижении более высокого уровня семенной продуктивности у культуры.

Ключевые слова: селекция, горох посевной (пелюшка), каротиноиды, антоциан, фотохимическое тушение флуоресценции хлорофилла

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-76-80

В результате многовекового отбора урожайность белоцветковых сортов гороха посевного увеличилась в 3-5 и более раз, но при этом устойчивость к стрессовым факторам среды существенно ослабла [Амелин, 2001].

Аналогичные тенденции проявляются и в селекции окрашенноцветкового гороха (пелюшки). По многолетним экспериментальным данным, в результате искусственного отбора урожайность пелюшки увеличилась за последние 70-80 лет в среднем на 26%, но при этом амплитуда ее колебаний по годам, как и общей сухой массы, приобрела выраженную тенденцию к усилению. В зависимости от погодных условий вегетации растений, её величина в годы исследований варьировала: у пелюшек 1920-50-х годов - в диапазоне от 2,15 до 3,32 т/га; 1970-80-х годов – 2,16...3,36 т/га, а у современных – от 1,77 до 4,31 т/га [Амелин и др., 2009].

В засушливых условиях у современных пелюшек количество бобов и семян формировалось в 2,3 раза, а у более старых по времени создания сортообразцов в 1,7 раза меньше, чем в обычных условиях – умеренное увлажнение (таблица).

Таблица.

Влияние погодных условий на морфофизиологические показатели пелюшек разных периодов селекции, фаза зеленой спелости бобов.

Условия вегетации	Число на растение		Масса семян, г	Длина стебля, см	Кол-во листьев, шт	ФП, млн. м ² дней	Инт-ть накопл с.в., мг/сут.
	бобов	семян					
Сорта 1920-1970-х годов							
условия, близкие к оптимальным	5,7	23,6	3,3	148,3	21,4	1,9	98,8
засушливые условия	3,0	13,6	2,6	76,1	18,2	0,7	62,9
Сорта 1990-2000-х годов							
условия, близкие к оптимальным	4,7	18,1	4,6	74,9	19,4	1,1	137,6
засушливые условия	2,1	7,6	3,3	30,6	16,5	0,4	60,7

Но реакция современных окрашенноцветковых сортов гороха посевного на экстремальные погодные условия пока менее выражена по сравнению с белоцветковыми представителями. В 2007 году, из-за засушливой погоды во время вегетации растений (гидротермический коэффициент составлял 0,59), интенсивность накопления ими сухой массы была снижена в среднем в 2,2 раза, а у белоцветковых сортов в 3,1 раза, по сравнению с 2006 (ГТК был равен 1,39) и 2008 (ГТК был равен 1,30) годами, когда отмечалось достаточное увлажнение. В результате у современных пелюшек в 2007 году сухая масса надземных органов растений формировалась на 15% больше, чем у белоцветковых сортов зернового использования.

Устойчивость растений к дефициту влаги и перегреву в значительной мере зависит от антиоксидантной системы растений, задача которой нейтрализовать активные формы кислорода, образующиеся при воздействии стрессора [Мерзляк, 1999; Карташов и др., 2008; Ясар и др., 2008]. Новикова Н.Е. с сотрудниками [2011], изучая сортовые особенности по содержанию антиоксидантов в листьях растений гороха, пришла к заключению, что по содержанию каталазы, пероксидазы и аскорбиновой кислоты современные безлисточковые пелюшки не уступают белоцветковым сортам подобного морфотипа. А низкое содержание аскорбиновой кислоты в их семенах, возможно, компенсируется наличием антоцианов в семенной оболочке [Новикова и др., 2011].

Известно, что в защитных механизмах клеток существенную роль играют и пигменты растений [Макашева, 1979; Demming-Adams et al., 1989; Frank et al., 1994].

У гороха наиболее изученными пигментами, участвующими в защитных механизмах клеток растений, являются каротиноиды и антоциан. Нами установлено, что больше всего каротиноидов синтезируется в листочках и прилистниках и меньше всего в усиках. В последних содержание пигмента отмечалось меньше, чем в листочках в среднем на 37%, а в прилистниках – на 30% (рис. 1).



Рис. 1. Содержание каротиноидов в основных фотосинтезирующих органах растений пелюшки в фазу цветения.

Образование каротиноидов у растений более активно шло на ранних этапах развития, достигая максимума в фазу 7-8 настоящих листьев, а с началом генеративного развития быстро снижалось, что особенно проявлялось у прилистников и усиков. В фазу плоского боба содержание пигмента в листочках, усиках и прилистниках растений было в среднем на 30% меньше, по сравнению с фазой 7-8 листьев. Но именно с данным пигментом отмечалось наиболее высокое сопряжение активности реакций световой фазы фотосинтеза (фотохимическое тушение флуоресценции хлорофилла – ФТФХ) (рис. 2).

Интервал генотипического варьирования значений признака в годы исследования составлял 1,32-5,01 мг/г сухого вещества в листочках, и 1,53-4,55 мг/г сухого вещества в прилистниках.

Обобщая многочисленные литературные сведения, ученые пришли к заключению, что каротиноиды присутствуют в мембранах у всех фотосинтезирующих организмов, где выполняют ряд важнейших функций в процессе фотосинтеза: антенную – дополнительные пигменты в процессе поглощения солнечной энергии; защитную – тушители триплетного хлорофилла и синглетного кислорода; фотопротекторную – предохраняют реакционный центр от мощных потоков энергии при высоких интенсивностях света и стабилизируют липидную фазу тилакоидных мембран, защищая ее от окисления [Алехина и др., 2007].

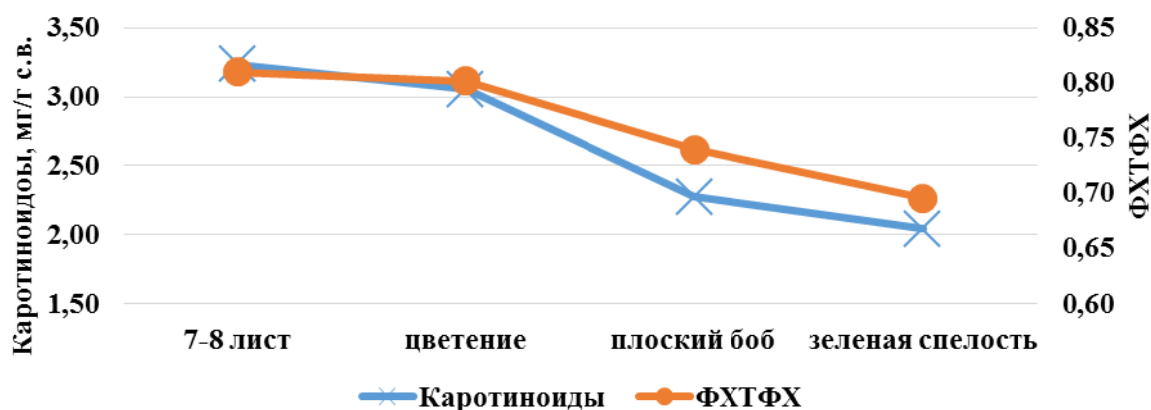


Рис. 2. Динамика каротиноидов и фотохимического тушения флуоресценции хлорофилла (ФТФХ) в прилистниках растений пелюшки.

Кроме этого, каротиноиды играют важную роль и в половом процессе растений [Якушкина, 2004]. В период цветения высших растений содержание каротиноидов в листьях уменьшается, но одновременно оно заметно растет в генеративных органах [Мироненко, 1965]. По мнению П.М. Жуковского [1964], микроспорогенез тесно связан с метаболизмом каротиноидов. Незрелые пыльцевые зерна имеют белую окраску, а созревшая пыльца – желто-оранжевую. Высказывается мнение, что именно каротиноиды обуславливают подвижность сперматозоидов.

Что касается антоциана, то в основном он локализован в пазухах прилистников растений и его содержание составляло в годы исследований 19,69 мг на грамм сухого вещества, что в среднем в 6 раз больше, по сравнению с каротиноидами, и в 2,3 раза – с хлорофиллом «а+в». В отличие от каротиноидов, его образование активно проявлялось в период «цветение – плоский боб» и во многом совпадало с динамикой хлорофилла (рис. 3).

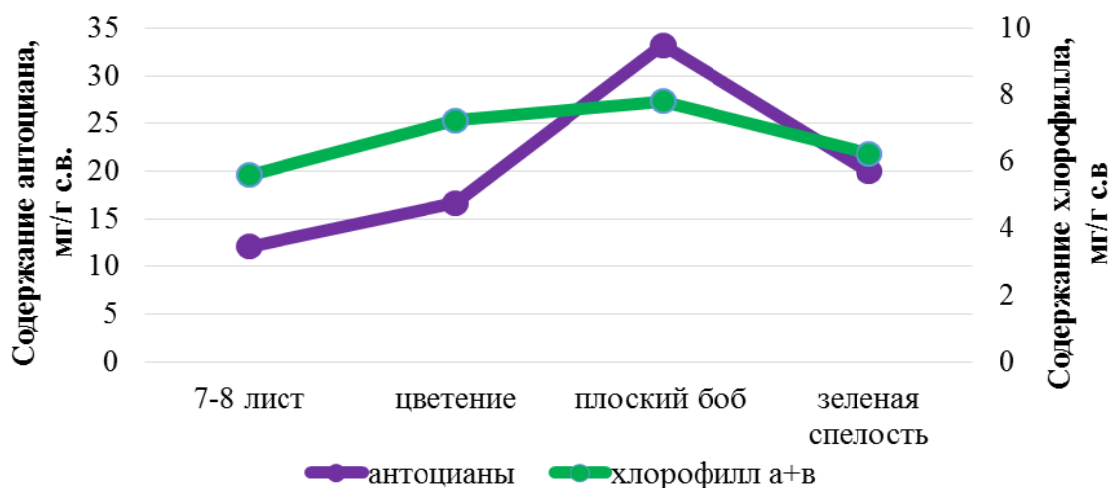


Рис. 3. Динамика антоциана в пазухах прилистников растений гороха полевого.

Известно, что данный пигмент локализован в вакуоле клетки, в отличие от каротиноидов, которые находятся в хлоропластах. С.А. Родиков [2012] в исследованиях с яблоней получил доказательства, что антоцианы отличаются большей стабильностью к облучению, чем хлорофиллы. Предполагается, что антоцианы выполняют защитную функцию против болезней яблок, индуцированных светом. Кроме того, они могут действовать как эффективная внутренняя ловушка света, дополняющая низкую абсорбцию хлорофилла в зелено-оранжевой части спектра [Merzlyak, Chivkunova, 2000].

Образование антоциана связывают и с адаптацией растений к заморозкам и низким положительным температурам [Oren-Shamir, Levi-Nissim, 1997]. В широком обиходе это явление известно, как «закаливание», которое нашло широкое применение в народной практике.

В целом можно заключить, что пигментный состав растений пелюшки играет важную роль в повышении: устойчивости к абиотическим стрессорам; активности, стабильности и хозяйственной эффективности фотосинтетической деятельности растений, что является на современном этапе селекции важным условием в достижении более высокого уровня семенной продуктивности у культуры.

Литература

- Алехина Н.Д., Балнокин Ю.В., Гавриленко В.Ф. и др. Физиология растений. – М.: Изд. центр «Академия». – 2007. – 640 с.
- Амелин А.В. Морфофизиологические основы повышения эффективности селекции гороха: автореф. дис. на соиск. уч. степ. д-ра с.-х. наук. – М., 2001. – 46 с.
- Амелин А.В., Кондыков И.В., Чекалин Е.И. и др. Качественный состав семян гороха полевого и его изменение в ходе селекции на семенную продуктивность // Вестник Орел ГАУ. – 2009. – № 3. – С. 35–37.
- Жуковский П. М. Культурные растения и их сородичи. Систематика. География, цитогенетика, экология, происхождение, использование. – Л.: Колос, 1964. – 791 с.
- Карташов А.В., Радюкина Н.Л., Иванов Ю.В. и др. Роль систем антиоксидантной защиты при адаптации дикорастущих видов растений к солевому стрессу // Физиология растений. – 2008. – Т. 55, № 4. – С. 516–522.
- Макашева Р.Х. Горох. Культурная Флора СССР. Зерновые бобовые культуры. – Л.: Колос, 1979. – Т. 4. – 324 с.
- Мерзляк, М.Н. Активированный кислород и жизнедеятельность растений // Соросовский образовательный журнал. – 1999. – № 9. – С. 20–26.
- Мироненко А.В. Физиология и биохимия люпина. – Минск, 1965. – 29 с.
- Новикова Н.Е., Зотиков В.И., Фенин Д.М. Механизмы антиоксидантной защиты при адаптации генотипов гороха (*Pisum sativum* L.) к неблагоприятным абиотическим факторам среды // Вестник Орел ГАУ. – 2011. – Т. 29, № 2. – С. 5–8.
- Родиков С.А. Влияние солнечного излучения на содержание антоцианов и хлорофиллов в кожице яблок // Плодоводство и ягодоводство России. – 2012. – Т. 33. – С. 286–292.
- Якушкина Н.И. и др. Физиология растений. – М.: Владос, 2004. – 464 с.
- Ясар Ф., Элиальтиглу С., Ильдис К. Действие засоления на антиокислительные защитные системы, перекисное окисление липидов и содержание хлорофилла в листьях фасоли // Физиология растений. – 2008. – № 6. – С. 869–873.
- Demming-Adams B., Winter K., Krüger A. Zeaxanthin synthesis, energy dissipation, and photoprotection of PSII at chilling temperature // Plant Physiol. – 1989. – No. 90. – P. 894–898.
- Frank H.A., Cua A., Chynwat V. et al. Photosynthesis of the carotenoids associated

with the xanthophyll cycle in photosynthesis // Photosynth. Res. – 1994. – V. 41. – P. 389–395.

Merzlyak M.N., Chivkunova O.B. Light stress induced pigment changes and evidence for anthocyanin photoprotection in apple fruit // J. Photochemistry and Photobiology (B), 2000. – V. 55, No. 2/3. – P. 154–162.

Oren-Shamir M., Levi-Nissim A. Temperature effect on the leaf pigmentation of *Cotinus coggygria* 'Royal Purple'. // J. of Hort. Sci. – 1997. – No. 72 (3). – P. 425–432.

ADAPTIVE OPPORTUNITIES OF COLOR FLOWERED PEA PLANTS TO ABIOTIC STRESSES AND THEIR REALIZATION IN BREEDING

A.V. Amelin, E.I. Chekalin

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Orel State Agrarian University”, Orel, Russia, *amelin_100@mail.ru*

Abstract. Studies have shown that pigment carotenoids and anthocyanins of the plants of the color flowered pea plays an important role in increasing: resistance to abiotic stressors; activity, stability and economic efficiency of photosynthetic activity of plants, which is an important condition for achieving a higher level of seed productivity in culture at the present stage of breeding.

Key words: *breeding, pea (color flowered pea), carotenoids, anthocyanin, photochemical quenching of fluorescence of chlorophyll*

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОСОБЕННОСТЬ Ca^{2+} -АТФазы СИМБИОСОМНОЙ МЕМБРАНЫ КОРНЕВЫХ КЛУБЕНЬКОВ БОБОВ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ ДЕТЕРМИНАНТ НОВОЙ, УНИКАЛЬНОЙ РОЛИ ЕЕ В КЛЕТОЧНОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ

И.М. Андреев, В.В. Крылова, Р.Ф. Зартдинова, С.Ф. Измайлов

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия, nitrogenexchange@mail.ru

Аннотация. Принимая во внимание недавно полученные данные о функционировании Ca^{2+} -АТФазы симбиосомной мембраны из корневых клубеньков бобов как $\text{Ca}^{2+}/\text{nH}^+$ антипортера, рассматривается гипотеза о новой, уникальной роли ее в клеточной сигнализации партнеров симбиоза, основанной на рН-зависимой модуляции в симбиосомах уровня сигнальных молекул, представленных супероксидом, одной из первичных активных форм кислорода.

Ключевые слова: Ca^{2+} -АТФаза, симбиосома, активные формы кислорода, симбиоз

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-81-83

Известно, что функционирующие в мембранах растительных клеток Ca^{2+} -АТФазы выполняют в них весьма активную сигнальную роль, ибо включаются как в формирование, так и декодирование кальциевых сигналов, индуцируемых стимулами различной природы, действующими на клетку как в нормальных, так и в стрессовых условиях [Kudla et al., 2018]. Это обстоятельство объясняется тем, что АТФазы данного типа участвуют не только в генерации на клеточных мембранах трансмембранных кальциевых градиентов (ΔpCa), но и ответственны за финальную стадию формирования кальциевого сигнала, тем самым определяя одну из наиболее существенных его характеристик.

Согласно имеющимся в настоящее время данным, в некоторых мембранах как животных, так и растительных клеток трансмембранная транслокация Ca^{2+} Ca^{2+} -АТФазами тесно сопряжена с переносом через мембрану в обратном направлении ионов H^+ , причем также как и транспорт Ca^{2+} он происходит внутри самой белковой молекулы фермента за счет энергии гидролиза АТФ [Bonza and De Michelis, 2011]. Имеются доказательства, что участие протонов в транспортной активности Ca^{2+} -АТФазы требуется для поддержания структурной целостности фермента в ходе его каталитического/транспортного цикла за счет зарядовой нейтрализации его Ca^{2+} -связывающих сайтов после диссоциации от них ионов Ca^{2+} [Obara et al., 2005]. Хотя точная физиологическая роль такого механизма функционирования Ca^{2+} -АТФазы остается пока неясной, предполагается, что способность этих ферментов включаться в регуляцию клеточного метаболизма не ограничивается их участием в кальциевой сигнализации и на самом деле может распространяться и на другие сигнальные каскады, то есть клеточную сигнализацию в более широком смысле [Holton et al., 2010].

Подобный механизм функционирования, как недавно выяснилось в ходе наших исследований, свойственен и Ca^{2+} -АТФазе, локализованной в симбиосомной мембране (СМ) из инфицированных клеток корневых клубеньков бобов. Как было показано нами ранее, эта АТФаза катализирует транспорт Ca^{2+} из их цитозоля внутрь симбиосом, органелло-подобных структур, содержащих бактериоиды, непосредственно ответственные за симбиотическую фиксацию азота в растениях в ходе мутуалистического симбиоза их корневых клеток с почвенными бактериями, ризобиями [Andreev et al., 1999]. Соответственно сказанному выше, основная

функциональная особенность данного фермента состоит в том, что, как показано на рисунке, аккумуляция кальция в симбиосомах, запускаемая действием на СМ Ca^{2+} -АТФазы, сопровождается защелачиванием их симбиосомного пространства (СП), обусловленным выходом из него протонов в обмен на поступление в него ионов Ca^{2+} [Krylova et al., 2017]. За щелочным сдвигом рН внутри симбиосом, запускаемым ИТФ, альтернативным субстратом Ca^{2+} -АТФазы, следили в этих экспериментах с помощью ΔpH -индикатора акридинового оранжевого после предварительного закисления среды внутри них в присутствии протонофора FCCP, ускоряющего эндогенный трансмембранный K^+/H^+ обмен на СМ при их инкубации в бескальциевой среде. Рассматриваемая здесь особенность функционирования Ca^{2+} -АТФ-азы на СМ обращает на себя внимание прежде всего по той причине, что величина рН внутри симбиосом, во многом определяемая активностью на этой мембране H^+ -АТФазы, должна поддерживаться на умеренно низком уровне, чтобы избежать деградации их из-за активации в них кислых протеаз, функция которых может быть реализована в случае преждевременного рН-индуцируемого старения симбиосом. С другой стороны, сохранение умеренно низкого рН внутри симбиосом является необходимым для поддержания их редокс-гомеостаза, то есть относительно низкого уровня здесь активных форм кислорода (АФК), условия, весьма существенного для функционирования симбиосом. Их неизбежное образование, даже в условиях крайне низкой концентрации кислорода, присущих функционирующим симбиосомам, является побочным результатом работы электрон-транспортной дыхательной цепи на плазматической мембране бактериоидов, причем, как и в случае митохондрий, их исходная, первичная форма представлена супероксидом. Кроме того, известно, что метаболизация или преобразование последнего путем дисмутации в гораздо более токсичную форму АФК, H_2O_2 , в существенной степени зависит от рН и сильно ускоряется при низких значениях его. Это означает, что рН-зависимая модуляция образования АФК может быть важным фактором поддержания редокс-гомеостаза в клетках корневых клубеньков или генерации в них сигнальных молекул этого типа, в основном, предположительно, представленных супероксидом. Иначе говоря, изменение рН внутри симбиосом может быть одним из событий, запускающих в них процесс сигнализации с помощью АФК как сигнальных молекул.

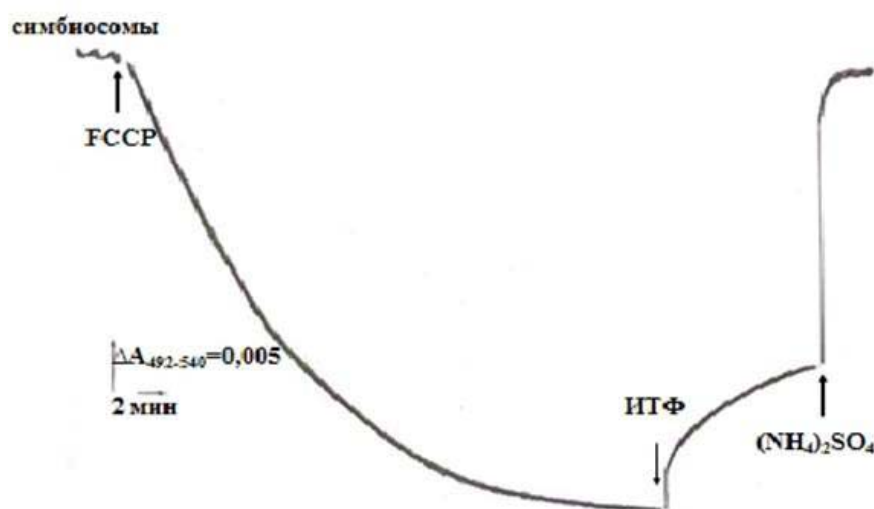


Рисунок. Щелочной сдвиг рН внутри симбиосом, запускаемый ИТФ в бескальциевой среде инкубации, после их предварительного закисления в присутствии FCCP. Стрелками указано добавление 5 мкМ FCCP, 0.5 мМ ИТФ, 10 мМ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

В свете изложенных выше аргументов, предполагается, что функционирующая на СМ Ca^{2+} -АТФаза может включаться в модуляцию рН внутри симбиосом, а именно, защелачивание их СП, и, тем самым, поддержание в этом компартменте уровня супероксида как одной из наиболее важных сигнальных форм АФК, принимающих участие в каскадах сигнальных событий в клетках макро- и микросимбионта. В настоящее время справедливость этой гипотезы находит свое подтверждение в некоторых примерах сигнализации АФК, запускаемой щелочным сдвигом рН в некоторых субклеточных компартментах животных и растительных клеток. Все это приводит к выводу о том, что активность рассматриваемой Ca^{2+} -АТФазы не ограничивается кальциевой сигнализацией и нагрузкой симбиосом ионами Ca^{2+} и, вероятно, играет более универсальную и важную роль в функционировании партнеров симбиоза.

Литература

Andreev I.M., Dubrovo P.N., Krylova V.V., Izmailov S.F. Functional identification of ATP-driven Ca^{2+} pump in the peribacteroid membrane of broad bean root nodules // FEBS Lett. – 1999. – V. 447. – P. 49–52.

Bonza M.C., De Michelis M.I. The plant Ca^{2+} -ATPase repertoire: biochemical features and physiological functions // Plant Biology. – 2011. – V. 13. – P. 421–430.

Holton M.L., Wang W., Emerson M., Neyses L., Armesilla A.L. Plasma membrane calcium ATPase proteins as novel regulators of signal transduction pathways // World J. Biol. Chem. – 2010. – V. 1. – P. 201–208.

Kudla J., Becker D., Grill E., Hedrich R., Hippler M., Kummer U., Parniske M., Romeis T., Schumacher K. Advances and current challenges in calcium signaling // New Phytol. – 2018. – doi: 10.1111/uph.14966.

Obara K., Miyashita N., Xu C., Toyashima i., Sugita Y., Inesi G. Toyoshima C. Structural role of countertransport revealed in Ca^{2+} pump crystal structure in the absence of Ca^{2+} // Proc. Natl. Acad. Sci. – 2005. – V. 102. – P. 14489–14496.

FUNCTIONAL FEATURE OF Ca^{2+} -ATPase OF SYMBIOSOME MEMBRANE FROM BROAD BEAN ROOT NODULES AS A POTENTIAL DETERMINANT OF NOVEL, UNIQUE ROLE OF IT IN CELL SIGNALING OF SYMBIOTIC PARTNERS

I.M. Andreev, V.V. Krylova, R.F. Zartdinova, S.F. Izmailov

K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia, nitrogenexchange@mail.ru

Abstract. Taking into account recently obtained evidence on functioning of Ca^{2+} -ATPase of symbiosome membrane from broad bean root nodules as $\text{Ca}^{2+}/\text{nH}^+$ antiporter the hypothesis on novel, unique role of it in cell signaling of symbiotic partners is considered. This is based on pH-dependent modulation in symbiosomes of the level of signal molecules represented by superoxide as one of primary reactive oxygen species.

Keywords: Ca^{2+} -ATPase, symbiosome, reactive oxygen species, symbiosis

ГЕНЫ БЕЛКОВ *ARABIDOPSIS THALIANA*, АССОЦИИРОВАННЫХ С ПЛАСТИДНОЙ РНК-ПОЛИМЕРАЗой БАКТЕРИАЛЬНОГО ТИПА: ЭКСПРЕССИЯ В УСЛОВИЯХ АБИОТИЧЕСКОГО СТРЕССА

А.А. Андреева^{1,2}, М.Н. Данилова¹, Н.В. Кудрякова¹, В.В. Кузнецов¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия, nkudryakova@rambler.ru

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия, alexaa27@mail.ru

Аннотация. Различные виды абиотического стресса вызывали избирательную экспрессию генов, кодирующих белки, ассоциированные с пластидной РНК-полимеразой бактериального типа (РАР-белки), сочетая корегуляцию и специфичность ответов.

Ключевые слова: *Arabidopsis thaliana*, гены, абиотический стресс, гены РАР белков

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-84-88

Превращение этиопластов в хлоропласты сопровождается формированием транскрипционно-активной хромосомы (ТАС) - ДНК-РНК-полимеразного комплекса, в состав которого входят субъединицы РНК-полимеразы бактериального типа (РЕР), кодируемые пластомом, σ -факторы, необходимые РЕР для узнавания и связывания промоторных областей хлоропластных генов, а также 35 дополнительных полипептидов, включая 12 белков, ассоциированных с РЕР (РАР-белков). Инактивация любого из генов РАР-белков влечет за собой aberrантное развитие хлоропластов и нарушение транскрипции хлоропластных генов. В геноме *Arabidopsis* идентифицировано 12 различных генов РАР, которые демонстрируют высокую степень коэкспрессии [Pfannschmidt et al., 2015]. Вместе с тем анализ *in silico* потенциальных функций РАР белков, предсказанных на основе имеющихся в их последовательностях функциональных доменов, свидетельствует об их структурном и функциональном многообразии и участии, по крайней мере, в двух процессах: ДНК-РНК метаболизме (РАР 1, 2, 3, 5, 7, 12) и редокс-регуляции (РАР 4, 6, 9, 10). При этом функции РАР8 и РАР11 понятны еще менее. В этой связи анализ экспрессии генов РАР в условиях абиотического стресса представляет особый интерес для расшифровки механизмов функционирования транскрипционного комплекса хлоропластов.

В настоящей работе двухнедельные растения *Arabidopsis thaliana*, выращенные на половинной питательной среде Мурасиге и Скуга в климатической камере (MLR-352Н-РЕ Sanyo, Japan) при освещении $100 \mu\text{E m}^{-2} \text{c}^{-1}$, температуре $23 \text{ }^\circ\text{C}$ и продолжительности светового периода 16 ч, подвергали действию стрессоров различной природы: температурному, солевому, осмотическому, окислительному и темновому. О повреждающем действии стрессов судили по содержанию МДА - продукта перекисного окисления липидов и изменению содержания пролина. Накопление МДА измеряли по методу Heath и Packer (1968). Содержание пролина определяли по методу Bates с соавт. (1973). Экспрессию генов РАР анализировали методом ПЦР-РВ на приборе LigthCylerR96 (Roche, Швейцария) согласно методике, описанной ранее [Данилова и др., 2014]. Уровень экспрессии целевых генов был нормализован к уровню экспрессии гена полиубиквитина *UBQ10*.

Как показали полученные результаты, содержание МДА достоверно возрастало в течение 24 ч действия таких стрессоров как метилвиологен (MV, 10 мкМ), повышенная

(37°C) и пониженная (4°C) температура и практически не изменялось при обработке NaCl (150 мМ) или при экспозиции в течение 48 ч в условиях темноты. При этом максимальный рост МДА был зафиксирован в присутствии маннитола (300 мМ) – от $1,67 \pm 0,16$ до $2,47 \pm 0,11$ мкмоль/г сырой массы. Параллельно возрастало содержание свободного пролина. Самое высокое накопление пролина – от $0,756 \pm 0,025$ до $3,67 \pm 0,89$ и $3,36 \pm 0,43$ мМ/г сырой массы, соответственно, было отмечено при действии NaCl и маннитола, тогда как в условиях темнового стресса наблюдалось снижение его содержания до $0,135 \pm 0,021$. Таким образом, полученные результаты свидетельствовали о дифференциальном изменении их осмоустойчивости и редокс-гомеостаза под действием различных стресс-факторов.

Хотя накопление избыточного количества АФК при стрессах имеет универсальный характер и сопровождается однонаправленными изменениями экспрессии пула стресс-регулируемых генов, реализация ответов на действие стрессоров различной природы может вызывать избирательную инициацию элементов регуляторных сетей и определять специфичный характер экспрессии конкретных генов [Killian et al., 2007]. Как правило, специфичная реакция развивается не сразу и становится видимой через 1-3 часа и позднее. Действительно, анализ экспрессии генов PAP белков показал, что в первый час воздействия стресс-факторов наблюдалось падение экспрессии всех исследованных генов. Эта реакция связана, возможно, с активацией транскрипционных регуляторов AZF2, ZAT10 и ZAT12, выступающих в качестве репрессоров углеводородного метаболизма и фотосинтеза, что необходимо для поддержания энергетического гомеостаза и успешной адаптации к стрессовым условиям. Дальнейшее изменение характера экспрессии различных PAP генов, очевидно, определялись их конкретной физиологической ролью и возможным участием в каскаде протекторных механизмов.

Так, в условиях гипертермии после первоначального снижения накопление транскриптов большинства генов поддерживалось на уровне, близком к контрольным значениям в течение 3-6 часов, после чего снижалось. Достоверно увеличивалась экспрессия лишь двух PAP генов PAP6 и PAP8. Белок, кодируемый геном PAP6, относится к группе PAP белков, связанных с редокс-регуляцией и защитой PER комплекса от окислительного стресса. Показана его способность к образованию гетерокомплекса с тиоредоксином z (Trx z) *in vitro* в двугибридной дрожжевой системе, а также с тиоредоксиновым доменом белка PAP10/TrxZ *in vivo* [Pfannschmidt et al., 2015]. Функция белка PAP8 также могла быть связана с защитой PER комплекса от избыточных АФК. Однако присутствие в его последовательности сигнала ядерной локализации не исключает его участия в стресс-протекторных функциях, ассоциированных с ядром. Повышение экспрессии PAP6 и PAP8 в ответ на тепловой стресс имело транзитный характер и после 6 ч гипертермии наблюдалось снижение экспрессии обоих генов.

Напротив, при гипотермии (4°C) экспрессия всех PAP генов возрастала лишь после 6 ч и через 24 ч действия холодого стресса превышала контрольные значения как минимум в 2 раза. Высокая степень коэкспрессии всех PAP генов при низких температурах, возможно, обусловлена их корегуляцией циркадными ритмами, в частности геном *CCA1*, который, в свою очередь, регулирует на уровне транскрипции ключевую цепь ответа на холодого стресс, включающую *транс*-факторы CBF/DREB и их целевые гены *COR*.

Известно, что экспрессия генов PAP индуцируется в ответ на свет, причем сборка PAP белков вокруг растворимого РНК-полимеразного комплекса и формирование так называемой транскрипционно-активной хромосомы (ТАС) не происходит в темноте. Как показали наши эксперименты, в ответ на затемнение фотосинтезирующих растений

наблюдалось снижение накопления транскриптов всех 12 *PAP* генов, что, по-видимому, способствовало дестабилизации РЕР комплекса и сопутствующим нарушениям функции хлоропластов.

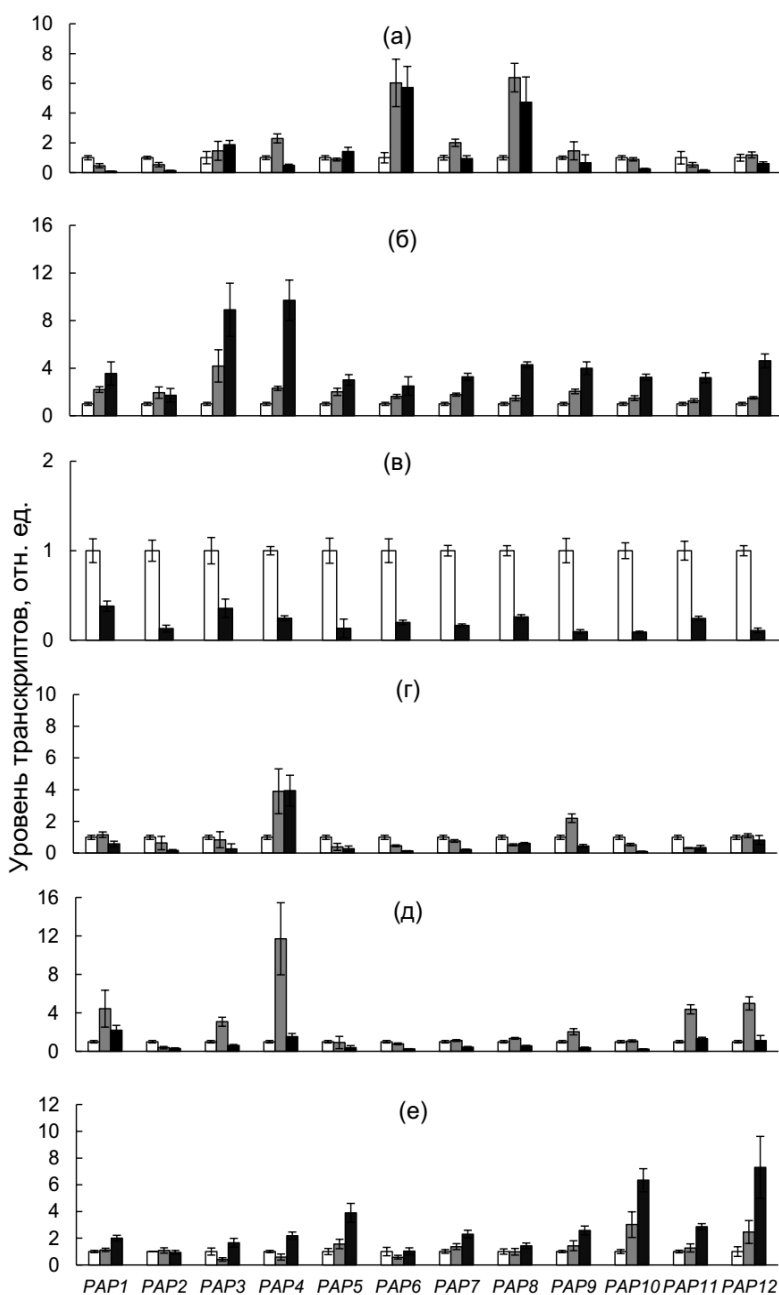


Рисунок. Влияние абиотических стрессов на уровень транскриптов генов *PAP*. (а) тепловой стресс, 37 °С (б) холодной, 4 °С, (в) темновой, 48 ч, (г) осмотический, 300 мМ маннитол, (д) окислительный, метилвиологен 10 мкМ, (е) солевой, 150 мМ NaCl. Белый цвет – контроль, серый 6 ч, черный 24 ч.

Осмотический стресс также резко ингибировал накопление матриц всех *PAP* генов к исходу 24 часов стресса. Исключение составил ген *PAP4*, который в присутствии 300 мМ маннитола демонстрировал активацию. Этот ген кодирует белок с доменом железосодержащей супероксиддисмутазы (FeSOD), относимый к группе антиоксидантных ферментов. Его непосредственная функция связана с защитой клеток от накопления супероксидных радикалов O_2^- . Поэтому поддержание экспрессии этого

гена в условиях стресса неудивительно и позволяет предполагать действие в тилакоидных мембранах высокоспецифичного O_2^- -зависимого сенсорного механизма.

Интересно, что, согласно базам данных транскриптомного анализа, большая часть АФК-регулируемых генов, отвечающих на O_2^- и H_2O_2 , репрессируется при абиотических стрессах, тогда как в ответ на синглетный кислород 1O_2 – индуцируются [Gadjev et al., 2006]. Тем не менее, при обработке метилвиологеном, гербицидом, генерирующим образование супероксидного радикала, экспрессия генов *PAP*, как правило, возрастала в полтора-два раза через 6 ч инкубации и возвращалась к исходному уровню через 24 ч. Рост содержания транскриптов *PAP* генов был отмечен также при засолении для всех генов кроме *PAP2,6* и *8* однако максимальные уровни транскриптов наблюдались через 24 часа действия NaCl. Все это свидетельствует об избирательной кинетике накопления транскриптов *PAP*, специфичной для действия различных стресс-факторов.

Таким образом, реакция *PAP* генов на различные виды абиотического стресса варьировала, сочетая корегуляцию экспрессии и специфичность ответов. Селективное изменение уровня экспрессии *PAP* генов – несомненное свидетельство их различной функциональной роли при защите PEP комплекса от повреждения АФК в хлоропластах. Вместе с тем наличие в последовательности ряда *PAP* сигнала ядерной локализации позволяет предполагать их одновременное участие в стресс-протекторных механизмах ядра.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 14-14-00584).

Литература

Данилова М.Н., Кудрякова Н.В., Воронин П.Ю., Оельмюллер Р., Кузнецов В.В., Кулаева О.Н. Мембранные рецепторы цитокинина и их регуляторная роль в реакции растений *Arabidopsis thaliana* на фотоокислительный стресс в условиях водного дефицита // Физиология растений. – 2014, – Т. 61. – С. 466–475.

Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water-stress studies // Plant Soil. – 1973. – V. 39. – P. 205–207.

Gadjev I., Vanderauwera S., Gechev T.S., Laloi C., Minkov I.N., Shulaev V., Apel K., Inzé D., Ron Mittler R., Van Breusegem F. Transcriptomic footprints disclose specificity of reactive oxygen species signaling in *Arabidopsis* // Plant Physiology. – 2006. – V. 141. – P. 436–445.

Heath L.R., Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation // Arch. Biochem. Biophys. – 1968. – V. 125. – P. 189–198.

Kilian J., Whitehead D., Horak J., Wanke D., Weinl S., Batistic O., D'Angelo C., Bornberg-Bauer E., Kudla J., Harter K. The AtGenExpress global stress expression data set: protocols, evaluation and model data analysis of UV-B light, drought and cold stress responses // Plant J. – 2007. – V. 50. – P. 347–363.

Pfannschmidt T., Blanvillain R., Merendino L., Courtois F., Chevalier F., Liebers M., Grübler B., Hommel E., Lerbs-Mache S. Plastid RNA polymerases: orchestration of enzymes with different evolutionary origins controls chloroplast biogenesis during the plant life cycle // J. Exp. Bot. – 2015. – V. 66. – P. 6957–6973.

**GENES OF *ARABIDOPSIS THALIANA* PROTEINS ASSOCIATED
WITH PLASTID RNA POLYMERASE OF BACTERIAL TYPE: EXPRESSION
UNDER CONDITIONS OF ABIOTIC STRESS**

A.A. Andreeva^{1,2}, M.N. Danilova¹, N.V. Kudryakova¹, V.V. Kusnetsov¹

¹K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia,
nkudryakova@rambler.ru

²Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia, *alexaa27@mail.ru*

Abstract. Various types of abiotic stresses caused differential regulation of the genes for proteins associated with plastid RNA polymerase of bacterial type (PAP), combining coregulation and specificity of responses.

Keywords *Arabidopsis thaliana*, abiotic stresses, PAP genes

МЕЖКЛЕТОЧНЫЙ ВОДООБМЕН ВО ВСАСЫВАЮЩЕЙ ЗОНЕ СЕГМЕНТА КОРНЯ: ИССЛЕДОВАНИЕ ГРАДИЕНТНЫМ МЕТОДОМ ЯМР

А.В. Анисимов, Т.И. Огородникова, М.А. Суслов

Казанский институт биохимии и биофизики – обособленное структурное подразделение Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия, anisimov@kibb.knc.ru

Аннотация. На примере всасывающей зоны корней проростков кукурузы методом спин-эхо ЯМР показано отсутствие драматических изменений в диффузионном радиальном транспорте воды в сегменте корня после его отсечения от интактного растения.

Ключевые слова: водообмен сегментов корня, ЯМР, диффузия, релаксация, парамагнитный допинг

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-89-92

Сегменты корней являются удобным и часто незаменимым объектом исследования транспорта воды в растениях. Всасывающая зона по своему предназначению – адекватный объект для исследования влияния на водоперенос различных физиологически активных соединений. Значительная часть результатов по транспорту воды получены на сегментах органов растений неинвазивными методами спинного эха ЯМР [Анисимов, 1992]. Последний позволяет регистрировать такие прямые характеристики переноса воды как коэффициент диффузии [Tanner, Stejskal, 1968], скорость трансмембранного обмена воды [Балла, 1985], разделять вклады различных путей водного переноса в растительных тканях [Ishida, 2000; Анисимов, 2004; Ионенко, 2012; Velikanov et al., 2015]. Возможность влияния на водообмен сегмента очевидного факта прерывания потока воды и сброса давления во ксилемных и флоэмных каналах при интерпретации данных зачастую по умолчанию сбрасывается со счетов. Последние соображения в рамках настоящей работы мотивировали предметное исследование релаксационным и диффузионным методами спинного эха ЯМР влияние отсечения на межклеточный радиальный диффузионный перенос воды в корнях всасывающей зоны проростков кукурузы.

Схема исследования построена на регистрации релаксационного и диффузионного затухания намагниченности воды в интактных корнях и сегментах корней 7-дневных проростков кукурузы. Эксперименты проводились на всасывающей зоне корней: 1 – интактных растений; 2 – на сегментах полноразмерной всасывающей зоны этих же корней; 3 – после фрагментации корней на отрезки длиной 3мм. Для сохранения первоначальной упаковки проростков в ампулах при их рассечении в последних, изготовленных из тефлона, были пропилены щели, с помощью которых упаковка проростков рассекалась непосредственно в измерительной ампуле. Для релаксационного подавления сигнала намагниченности от внеклеточной воды использовался парамагнитный допинг непроникающего в клетки комплекса GdDTPA 0,025 М (соль диэтилтриаминпентауксусной кислоты). Эксперименты на сегментах проводились в течение 10-20 мин после отсечения их от материнского растения. В релаксационных экспериментах импульсной последовательностью Карра-Парселла-Мейбума-Джилла регистрировалось релаксационное затухание (РЗ) поперечной намагниченности, обязанное спин-спиновой релаксации [Meiboom, Gill 1958].

В диффузионных экспериментах с помощью трехимпульсной р/ч последовательности (90°-90°-90°) с импульсным градиентом магнитного поля, регистрировалось диффузионное затухание (ДЗ) стимулированного эха [Tanner, 1970]. Измерялась относительная амплитуда сигналов эха – фактор $R=A(g,t_d)/A(g=0,t_d)$ в

зависимости от величины g и длительности δ импульсов градиента магнитного поля ($b = \gamma^2 \delta^2 g^2 t_d$) при вариации времени диффузии t_d как параметра [Tanner, Stejskal, 1968].

Серийный образец составлялся из 30 корней интактных проростков. Эксперименты проводились при температуре 23 °С.

Отсечение листовой зоны не привело к изменениям РЗ, и это вполне объяснимо слабым развитием суммарной площади листовой зоны 7 дневных проростков и, соответственно, малым уровнем транспирации (рис. 1). Незначительные изменения (снижение) скорости РЗ наблюдаются только при отсечении зоны меристемы корня, что, по-видимому, связано с потерей части корневого давления. Результаты диффузионных измерений (рис. 2) демонстрируют рост диффузии воды в сегментах. Данное увеличение, надо полагать, связано с отключением сопротивления переносу со стороны меристематической и листовой зоны. Инкубация в гадолинии приводит к исключению из рассмотрения быстро спадающего компонента ДЗ (рис. 2). Оставшаяся часть ДЗ характеризует воду симпласта. Высечение зоны всасывания (рис. 2) и последующее ее фрагментирование (рис. 3) также не приводят к кардинальным изменениям в поведении ДЗ. Таким образом, результаты диффузионных и релаксационных экспериментов на всасывающей зоне корней интактных растений кукурузы и на сегментах корней свидетельствуют об отсутствии драматических изменений в диффузионном радиальном транспорте воды в сегментах и трансмембранным и симпластным путями, по крайней мере, в интервале 20 мин после отсечения и в условиях низкого уровня транспирации, что позволяет считать сегменты корня самодостаточным объектом для исследования ближнего транспорта воды.

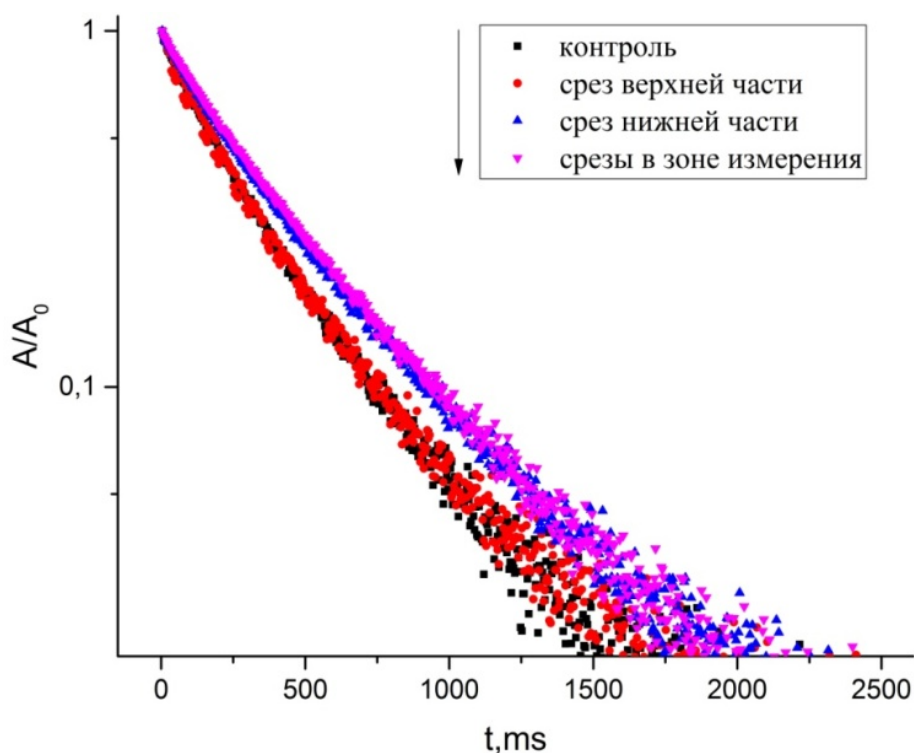


Рис. 1. Релаксационные затухания сигналов спинового эха при последовательном срезании листовой зоны проростков, зоны меристемы корней и после фрагментации зоны всасывания на 3 мм отрезки (срезы в зоне измерения).

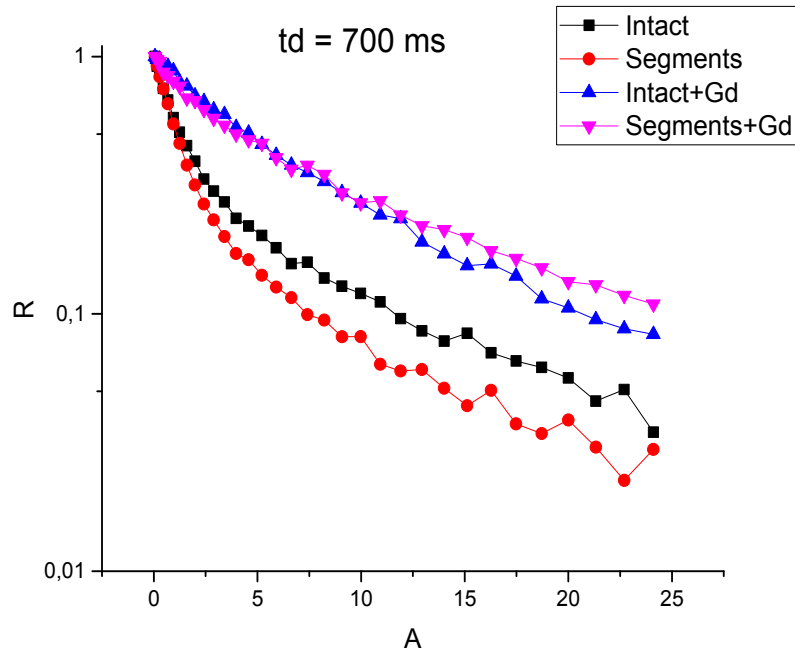


Рис. 2. Диффузионные затухания сигналов спин-эхо для корней интактных проростков и сегментов в норме и под допингом GdDTPA.

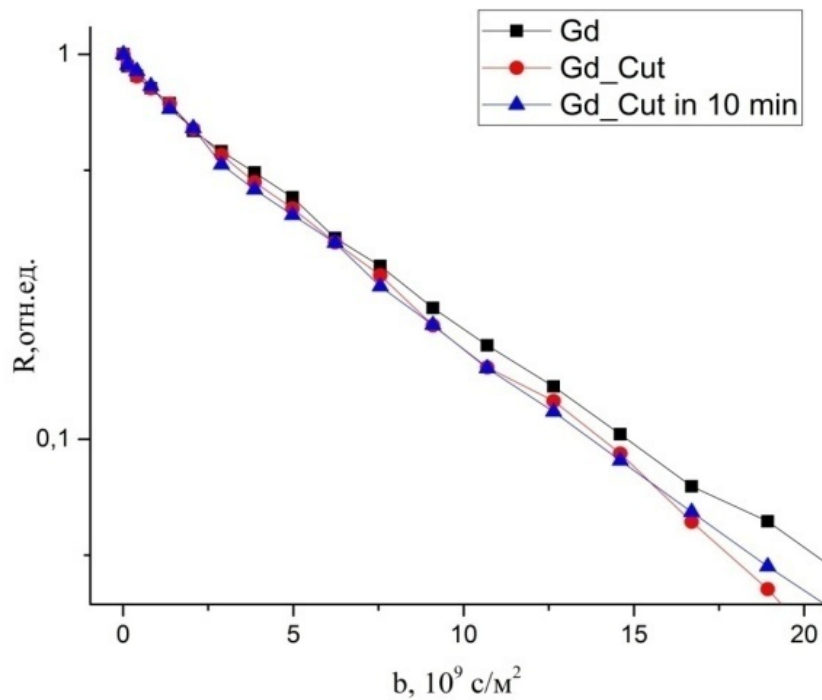


Рис. 3. Диффузионные затухания для сегментов корней под допингом GdDTPA при фрагментации на 3 мм отрезки в зависимости от времени после фрагментации.

Литература

Анисимов А.В., Раткович С. Транспорт воды в растениях. Исследование импульсным методом ЯМР. – Москва: Наука, 1992. – 144 с.

Анисимов А.В., Ионенко И.Ф., Романов А.В. Метод спин-эхо ЯМР в исследованиях трансляционной диффузии воды селективно по апопласту, цитоплазматическому и вакуолярному симпласту растений // Биофизика. – 2004. – Т. 49. – С. 891–896.

Балла Ю. И. Исследование состояния воды и процесса её кристаллизации в тканях растений методом ЯМР. – Тбилиси: 1985. – 127 с.

Ionenko I.F., Dautova N.R., Anisimov A.V. Early changes of water diffusional transfer in maize roots under the influence of water stress // Environ. Exp. Bot. – 2012. – V.76. – P. 16–23.

Ishida N., Koizumi M., Kano H. The NMR microscope: a unique and promising tool for plant science // Ann. Bot. – 2000. – V. 86. – P. 259–278.

Meiboom S., Gill V. Spin-echo method for measuring nuclear magnetic relaxation times // Rev. Sci. Instrum. – 1958. – V. 29, No. 8. – P. 688–691.

Tanner J.E. Use of the stimulated echo in NMR diffusion studies // J. Chem. Phys. – 1970. – V. 2. – P. 2523–2526.

Tanner J.E., Stejskal E.O. Restricted self-diffusion of protons in colloidal systems by the pulsed-gradient, spin-echo method // J. Chem. Phys. – 1968. – V. 19. – P. 1768–1777.

Velikanov G.A., Sibgatullin T.A., Belova L.P., Ionenko I.F. Membrane water permeability of maize root cells under two levels of oxidative stress // Protoplasma. – 2015. – V. 252. – P. 1263–1268.

INTERCELLULAR WATER EXCHANGE IN ABSORBING ZONE OF ROOT SEGMENTS: NMR GRADIENT METHOD STUDY

A.V. Anisimov, T.I. Ogorodnikova, M.A. Suslov

Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics of Kazan Science Center of the Russian Academy of sciences, Kazan, Russia, anisimov@kibb.knc.ru

Abstract. The lack of dramatic changes in diffusional radial water transport in root segment after their excision from intact plants is shown on the example of the absorbing zone of maize seedling roots using NMR spin-echo method

Keywords: *root segment water exchange, NMR, diffusion, relaxation, paramagnetic doping*

РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ 2-ОКСОГЛУТАРАТДЕГИДРОГЕНАЗНОГО ФЕРМЕНТНОГО КОМПЛЕКСА В ЛИСТЬЯХ КУКУРУЗЫ ПРИ СОЛЕВОМ СТРЕССЕ

Г.Б. Анохина, Т.Х.Т. Киеу, Л.С. Картавцева, Н.В. Селиванова, А.Т. Епринцев

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет», Воронеж, Россия, *dowi2009@mail.ru*

Аннотация. В естественной среде растения подвергаются воздействию различных абиотических факторов, одним из которых является солевой стресс. В ходе работы исследовано влияние солевого стресса на работу 2-ОГДК, как участника одного из важных этапов ЦТК. С помощью методов молекулярной биологии проведен анализ транскрипционной активности генов, кодирующих ферменты 2-ОГДК при солевом стрессе. Выявлено, что солевой стресс в первые часы стимулирует работу 2-ОГДК в листьях кукурузы.

Ключевые слова: *2-оксоглутаратдегидрогеназный комплекс, оксоглутаратдегидрогеназа, липоамидсукцинилтрансфераза, липоамиддегидрогеназа, солевой стресс*

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-93-97

Повышение концентрации солей в почве оказывает сильное влияние на различные физиологические и биохимические процессы, протекающие в растительном организме: нарушается водный обмен и транспорт ионов кальция, снижается скорость роста растений в длину, а также накопление биомассы, снижается интенсивность фотосинтеза, увеличивается концентрация углекислоты в междуклеточном пространстве листьев [Будаговской, 2010; Веселов и др., 2010; Калайи, Рутковска, 2010]. Солевой стресс оказывает влияние и на ферментативную активность. ЦТК, являясь важной точкой пересечения метаболических путей в организме, играет доминирующую роль в энергизации клетки, а также в синтезе важных клеточных интермедиатов.

Нам представляется интересным изучить влияние солевого стресса на функционирование 2-оксоглутаратдегидрогеназного комплекса (α -кетоглутарат дегидрогеназный комплекс, 2-ОГДК, КФ - 1.2.4.2), который, располагаясь на важном этапе ЦТК, катализирует реакцию окисления 2-оксоглутарата в сукцинил-СоА. Продуктами реакции являются CO_2 и сукцинил СоА. Окислительное декарбоксилирование 2-оксоглутарата протекает в несколько стадий с участием трёх независимых ферментов: E_1 – 2-оксоглутаратдегидрогеназа (ОГДГ); E_2 – дигидролипоамидсукцинилтрансфераза (ДЛСТ); E_3 – липоамиддегидрогеназа (ЛАДГ).

Целью данной работы являлось исследование регуляция активности 2-оксоглутаратдегидрогеназного ферментного комплекса в листьях кукурузы при солевом стрессе.

Материалы и методы

В качестве объекта исследования использовались 10-12 дневные проростки кукурузы (*Zea mays* L.) сорта Воронежская 76, выращенные гидропонным способом при 10 часовом световом дне с интенсивностью света 25 Вт/ м². Температура выращивания составляла 25 °С.

Постановка эксперимента по действию солевого стресса осуществлялась путём помещения растений из опытной группы, с предварительно удаленной корневой системой, в солевой раствор на сутки (24 часа). Солевой раствор представлял собой 150 мМ водный раствор хлорида натрия (NaCl). В качестве контрольной группы использовались растения, помещённые в воду на сутки (24 часа). У данной группы корневая система также предварительно удалялась. Первые образцы для исследования

отбирались ещё до начала инкубации (нулевой образец) и из контрольной, и из опытной группы растений. Далее, образцы изымались из инкубационной среды через 1, 2, 3, 4 часа, 6, 8, 12, 18 часов, 22 и 24 часа от начала эксперимента.

Выделение митохондриальной фракции. Навеску растительного материала растирали в керамической ступке со средой выделения (0,15 М калий-фосфатный буфер (pH 7.4); 0,4 М сахароза; 2,5 мМ ЭДТА; 1 мМ хлорид калия; 4 мМ хлорид магния) в соотношении 1:10. Гомогенат фильтровали и центрифугировали 3 минуты при 3000 об/мин на центрифуге Eppendorf Centrifuge 5804 R при температуре +4 °С. Супернатант центрифугировали 10 минут при 20000 об/мин ($t = +4$ °С). Надосадочную жидкость удаляли, а осадок растворяли в 0,15 М калий-фосфатном буфере (pH 7,4) с растворенной в нем сахарозой (0,25 М), $MgCl_2$, ТДФ. Полученную суспензию митохондрий использовали для определения активности 2-ОГДГ спектрофотометрическим методом.

Определение активности 2-ОГДГ. Активность 2-ОГДГ определяли по методу Гублера [Gubler, 1961]. Для определения активности суспензию митохондрий добавляли к среде фотометрирования (150 мМ калий-фосфатный буфер (pH 7,4); 6 мМ $MnSO_4$; 0,6 мМ ЭДТА-динатриевая соль; 1,9 мМ АТФ – динатриевая соль; 0,12 М сахароза; 0,05М малоната калия (для исключения участия СДГ); 6,7 мМ $K_3[Fe(CN)_6]$). Реакцию запускали добавлением 0,4 М 2-оксоглутарата натрия (pH 7.4). Измерение оптической плотности проводили в течение 5 минут при длине волны 417 нм.

Результаты и их обсуждение

Анализ ферментативной активности 2-ОГДК показал, что общая активность исследуемого ферментного комплекса увеличивается уже спустя час после инкубации в солевом растворе почти в три раза в сравнении с контрольной группой растений, где общая ферментативная активность оставалась на постоянном уровне (рис.1). Максимум активности 2-ОГДК отмечен на 2 час инкубации. В дальнейшем наблюдалось постепенное снижение общей активности фермента. По истечении 12 часов активность 2-ОГДК имела значения, характерные для контрольной группы растений.

В связи с тем, что 2-ОГДК обеспечивает образование сукцинил-СоА путём слаженной работы трёх ферментов, которые кодируются разными генами, важным является исследование роли каждого гена в синтезе белков при действии различных стрессовых факторов. По нашему мнению, интересным является исследование уровня экспрессии генов, кодирующих ферменты 2-ОГДК, как способа регуляции активности всего комплекса.

Первый компонент 2-ОГДК – оксоглутаратдегидрогеназа кодируется тремя генами: *ogdh1*, *ogdh2*, *ogdh3*; дегидролипоамидсукцинилтрансфераза (второй компонент), также, кодируется тремя генами: *dlst1*, *dlst2*, *dlst3*; третий компонент – липоамиддегидрогеназа кодируется генами: *dld1* и *dld 2*.

Исследование уровня транскриптов генов, кодирующих ферменты 2-ОГДК, показало, что солевой стресс действует, стимулируя экспрессию генов ОГДГ в первые часы инкубации: начиная с первого часа воздействия хлорида натрия отмечается рост уровня транскриптов генов *ogdh1*, *ogdh2* и *ogdh3* по сравнению с контрольными образцами (рис. 2). Для гена *ogdh1* максимальная концентрация мРНК отмечена на 2 час проведения эксперимента. Для генов *ogdh2* и *ogdh3* - на третий час инкубации. В дальнейшем отмечалось снижение транскрипционной активности для всех исследуемых генов, что в целом коррелирует с результатами, полученными в ходе исследования ферментативной активности 2-ОГДК.

Анализ транскрипционной активности генов, кодирующих второй компонент 2-ОГДК, показал, что для гена *dlst1* также наблюдалось увеличение уровня транскриптов в первые часы (максимум на второй час инкубации). Однако для гена *dlst2*, несмотря на

незначительное увеличение концентрации мРНК в первый час действия солевого стресса, было характерно падение уровня транскриптов ниже контрольных значений (рис. 3), как и для гена *dlst3*, для которого увеличение транскрипционной активности не было отмечено в течение всего времени эксперимента – относительный уровень транскриптов был ниже контроля. В то же время, следует отметить, что гены *dlst2* и *dlst3* всё-таки демонстрировали изменения концентрации мРНК.

Для гена *dld1* липоамиддегидрогеназы установлено увеличение уровня транскриптов в первые часы солевого стресса. Максимум отмечен на восьмой час инкубации. Ген *dld2* также демонстрировал рост концентрации мРНК в начале эксперимента, однако максимум зарегистрирован в первый час действия хлорида натрия (рис. 4). Далее экспрессионная активность исследуемого гена начала снижаться.

Таким образом, в ходе исследования регуляции активности 2-ОГДК в листьях кукурузы при действии солевого стресса установлено стимулирующее действие хлорида натрия в первые часы эксперимента, что говорит о попытке растительного организма компенсировать негативное влияние соли за счет интенсификации ЦТК. Анализ уровня транскриптов генов, кодирующих ферменты 2-ОГДК, выявил корреляцию с полученными данными изменения ферментативной активности, что говорит о генетической регуляции адаптивного механизма к данному стрессовому фактору.

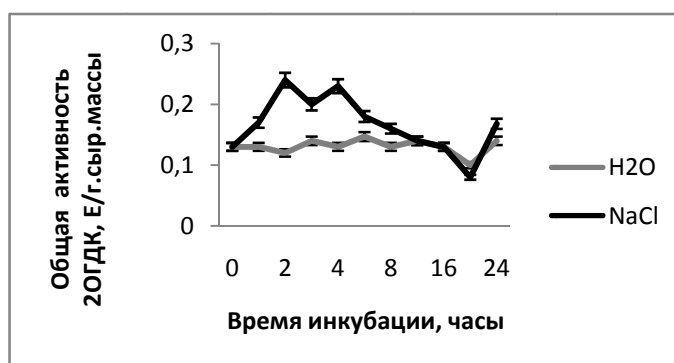


Рис. 1. Общая ферментативная активность 2-ОГДК (Е/г сырой массы) при действии солевого стресса. Черная линия – инкубация в NaCl; серая линия – инкубация в H₂O.

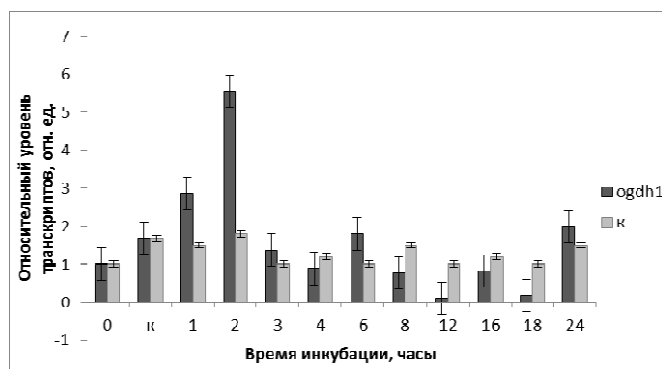


Рис. 2. Относительный уровень транскриптов (отн. ед.) гена *ogdh1* при действии солевого стресса.

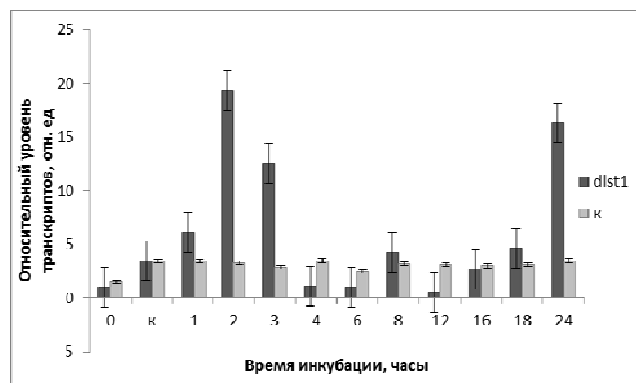


Рис. 3. Относительный уровень транскриптов (отн. ед.) гена *dlst1* при действии солевого стресса.

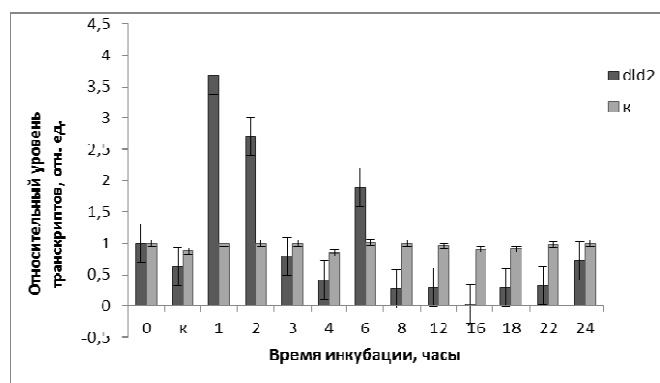


Рис. 4. Относительный уровень транскриптов (отн. ед.) гена *dld2* при действии солевого стресса.

Литература

Будаговская Н.В. Нарушения процессов роста и транспорта воды в растениях при засолении и блокировании кальциевых каналов // Всероссийский симпозиум «Растение и стресс», Москва, 2010: тез. докл. – 2010. – С. 70–71.

Веселов Д.С., Шарипова Г.В., Фрике В. Накопление АБК и устойчивость ростовых процессов на фоне засоления у разных сортов ячмен // Всероссийский симпозиум «Растение и стресс» (Plants under Environmental Stress) 09-12 ноября 2010: тез. докл. – 2010. – С.85–86.

Калайи Х., Рутковска А. Стресс от соли. Как определить эту проблему с помощью флуориметра // Зерно. – 2010. – Т.1. – С.76–83.

Gubler C.J. Studies on the physiological functions of thiamine. The effect of thiamine deficiency and thiamine antagonists on the oxidation of α -keto acids by rat tissues // J. Biol. Chem. – 1961. – V. 236. – № 12. – P. 3112–3120.

REGULATION OF 2-OXOGLUTARATE DEHYDROGENASE ENZYME COMPLEX ACTIVITY IN CORN LEAVES IN SALT STRESS

G.B. Anokhina, T.H.T. Kieu, L.S. Kartavtseva, N.V. Selivanova, A.T. Eprintsev

Voronezh State University, Voronezh, Russia, *dowi2009@mail.ru*

Abstract. In a nature, plants are exposed to various abiotic factors, one of which is salt stress. In the course of the work, influence of salt stress on the work of 2OGDC, as a participant of one of the important stages of the TCA, was investigated. An analysis of the transcriptional activity of genes encoding the 2GODK enzymes in salt stress was carried out using methods of molecular biology. It was found that salt stress in the first hours stimulates the work of 2OGDC in the leaves of maize.

Keywords: *2-oxoglutarate dehydrogenase complex, oxoglutarate dehydrogenase, lipoamide succinyltransferase, lipoamide dehydrogenase, salt stress*

ВЛИЯНИЕ ГИДРОТЕРМИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ ВЕГЕТАЦИОННОГО ПЕРИОДА НА СОДЕРЖАНИЕ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ В ПЛОДАХ ЯБЛОНИ

Э.Г. Базба¹, О.Г. Белоус²

¹Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Академии наук Абхазии, Сухум, Абхазия

²Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт цветоводства и субтропических культур», Сочи, Россия, oksana191962@mail.ru

Аннотация. Содержание АК в плодах яблони значительно различалось внутри групп разного срока созревания. Высокое содержание отмечено в сортах среднего срока. Плоды позднего срока, у которых процессы дозревания проходят в период ощутимого водного дефицита характеризуются и более низким количеством АК. Содержание АК зависит не только от видовых особенностей, но и от сложившихся метеорологических условий вегетации, вариабельность признака велика.

Ключевые слова: яблоня, сроки созревания, аскорбиновая кислота, динамика, зависимость

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-98-101

Природно-климатические условия республики Абхазия позволяют выращивать яблоки с высоким содержанием сахаров и биологически активных веществ. Однако участвовавшие нестабильные погодные условия, в частности, наметившаяся тенденция к повышению температур и повторяющиеся засушливые периоды оказывают существенное воздействие на растения, что может служить причиной снижения качества плодов. На сегодняшний момент эту культуру выращивают в семи районах республики: Ткуарчалском, Гагрском, Галском, Гудаутском, Сухумском и Гульрипшском районах, и самое большое количество выращивается в Очамчирском районе [Базба, 2017]. В этой связи вопрос оценки вариабельности качественных характеристик яблони, как самой популярной культуры в республике, имеет большое значение.

Целью исследований являлось изучение динамики аскорбиновой кислоты (АК) в плодах яблони для выделения лучших сортов и гибридов и подбора перспективного сортимента. При этом важное значение имеет выявление стабильности этого показателя по отношению к различным метеорологическим условиям разных лет, которая оценивается по коэффициенту вариации признака по годам [Грязев, Топилина, 1987]. Как правило, именно такие сорта более приспособлены к местным условиям выращивания.

Лабораторные исследования выполняли на базе лаборатории биохимии Научно-исследовательского института сельского хозяйства Академии наук Абхазии. Коллекционный участок сортов яблони расположен в типичных почвенно-климатических условиях Сухумского района республики Абхазия. Агротехника опытных участков общепринятая для этих почвенных условий. В 2015-2017 гг. объектами исследования являлись 10 гибридов яблони: раннего срока созревания (сбор в конце июля) – форма № 4, форма № 3, форма № 24 и форма № 25 (контролем служил сорт Мелба); среднего срока созревания (сбор в августе-сентябре) – форма № 7, форма № 32, форма № 31, форма № 29 и форма № 30 (контроль – Гала); позднего срока (сбор в октябре) – форма № 1 (контрольный сорт Ред Чиф).

При определении аскорбиновой кислоты проводили экстракцию навески с раствором хлороводородной кислоты, с дальнейшим титрованием 0,001 N раствором 2,6-дихлорфенолиндофенола [Ермаков, 1972]. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием ANOVA в программе STATGRAPHICS Centurion XV.

Погодные условия в годы проведения исследований были контрастными, что позволило провести реальную оценку гибридов по качеству плодов в условиях республики Абхазия. Температурные показатели активного вегетационного периода оценивали с апреля по сентябрь.

Содержание витаминов (в частности, аскорбиновой кислоты) в плодах яблони, как правило, незначительное, но в сочетании с другими веществами, они играют важную роль [Рысс, 1963]. По данным наших исследований содержание аскорбиновой кислоты (АК) в плодах значительно различалось как внутри групп, разделенных по срокам созревания, так и по годам (рис. 1), так как температурные условия и влажность во время их созревания оказывали непосредственное влияние на содержание биохимических компонентов. Количество АК в плодах составляло в среднем от 11,57 мг/100 г (у гибридов позднего срока созревания) до 17,26 мг/100 г (гибриды среднего срока).



Рис. 1. Содержание аскорбиновой кислоты в плодах яблони (мг/100г), НСР05=3,29 (для раннего срока), 3,31 (для среднего срока) и 3,82 (для позднего срока).

По данным ряда авторов, содержание АК в плодах яблони колеблется от 3 до 30 мг и более на 100 г сырого веса [Гудковский, 2014; Причко, Чалая, 2015; Belous et al., 2016]. Плоды лучших сортов содержат более 20 мг/100 г аскорбиновой кислоты. Наши анализы показали, что все исследуемые гибриды по содержанию аскорбиновой кислоты укладываются в общепринятые нормы (рис. 1). Причем, более высокое содержание аскорбиновой кислоты отмечено в сортах среднего срока созревания, выделяются формы № 29 и № 32, у которых количество АК выше, существенно превышая и контроль для данной группы. Исключение составляет форма № 7 (9,44 мг/100 г).

Мы сравнили климатические показатели тридцатилетней давности (1986 г.) и нашего периода исследований (2013 и 2017 гг.), а также данные по содержанию АК в плодах контрольных сортов – Мелба, Гала и Ред Чиф (рис. 2).

Нами показано, что вариабельность признака достаточно велика (22-30%) и его динамика полностью зависит от условий года ($R^2=45\%$), что выражается следующим уравнением регрессии:

$$\text{Аскорбиновая кислота, \%} = -0,15 + 0,12 * F1 + 0,23 * F2 - 0,23 * F3,$$

где F1 – количество осадков (мм); F2 – относительная влажность воздуха (%); F3 – температура воздуха ($^{\circ}\text{C}$).

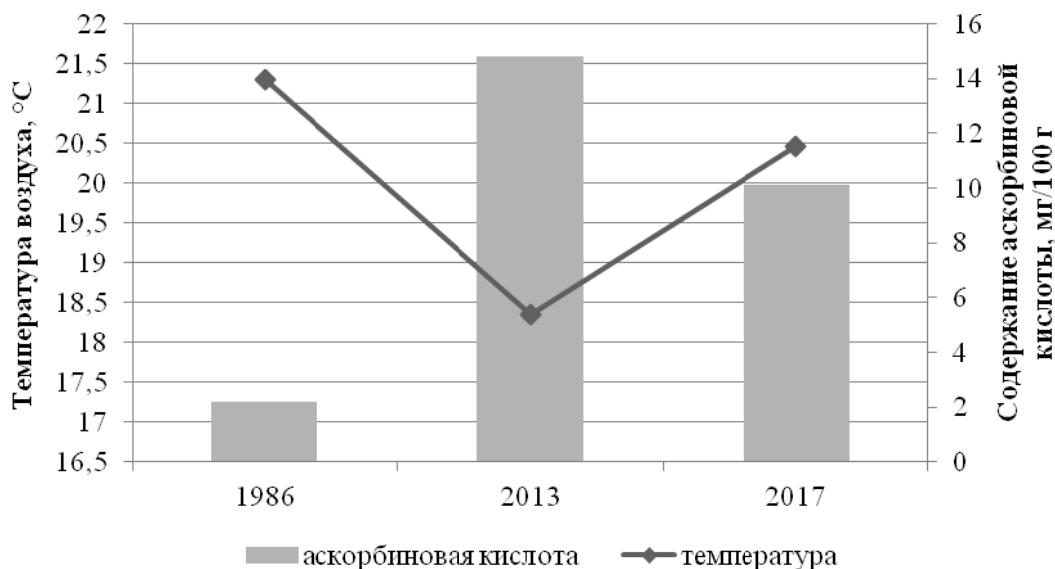


Рис. 2. Изменение аскорбиновой кислоты в соответствии с метеороусловиями вегетации.

Содержание аскорбиновой кислоты в плодах – признак неустойчивый, большее или меньшее содержание АК зависит не только от видовых особенностей и возрастных изменений у растений, но и от сложившихся метеорологических условий года [Седов и др., 2007; Belous, Pshenichny, 2015]. Так, по литературным данным, растения, обитающие в горах и в северных регионах, богаче витамином С [Грязев, Топилина, 1987]. Во влажные годы и при относительно низких температурах АК образуется более энергично, и накопление ее происходит более активно [Пшеничный, Белоус, 2012].

Так как климатические условия республики Абхазия относятся к субтропическим, с высокими температурами и активной солнечной инсоляцией, вполне объяснимы наши данные по более низкому содержанию аскорбиновой кислоты в плодах яблони позднего срока созревания, процессы дозревания у этих сортов проходят в период ощутимого водного дефицита.

Таким образом, в результате изучения биохимического состава плодов яблони гибридов, выделенных в условиях республики Абхазия, установлена динамика содержания аскорбиновой кислоты, существенно зависящая не только от генотипических особенностей, но и изменяется в зависимости от гидротермических условий вегетации.

Литература

Базба Э.Г., Белоус О.Г., Качурина А.П. Биохимическая характеристика сортов яблони в условиях республики Абхазия / Субтропическое и декоративное садоводство. – Сочи: ФГБНУ ВНИИЦиСК, 2017. – Вып. 61. – С. 129–138.

Грязев В.А., Топилина Е.А. Энергетическая оценка технологии производства яблок: резервы экономии // Садоводство. – 1987. – № 1. – С. 11–14.

Гудковский В.А., Кладь А.А., Кожина Л.В., Назаров Ю.Б. Физиологические и технологические основы управления продуктивностью насаждений и качеством плодов яблони в предуборочный и послеуборочный период: мат. науч-практ. конф «Научно-практические основы повышения эффективности садоводства для улучшения структуры питания населения отечественной экологически безопасной плодоовощной продукцией» (4-6 сентября 2014 г.). – Мичуринск-научоград РФ, 2014. – С. 18–33.

Ермаков А.И., Арасимович В.В., Смирнова-Иконникова М.И., Ярош Н.П. Луковникова Г.А. Методы биохимических исследований растений. – Л.: Колос, 1972. – 456 с.

Причко Т.Г., Чалая Л. Д. Результаты исследований по определению устойчивости плодов яблони к стрессовым факторам окружающей среды // Вестник АПК Ставрополя. – 2015. – № 2. – С. 212–215.

Пшеничный Н.В., Белоус О.Г. Оценка адаптивного потенциала колонновидных сортов яблони в условиях Черноморской зоны центральной подзоны садоводства // Субтропическое и декоративное садоводство. – 2012. – Т. 1. – С. 45–51.

Рысс С.М. Витамины. – Л.: Гос. Изд-во мед. лит-ры, 1963. – 376 с.

Седов Е.Н., Макаркина М.А., Левгерова Н.С. Биохимическая и технологическая характеристика плодов генофонда яблони. – Орел: ВНИИСПК, 2007. – 310 с.

Belous O., Pshenichny N. Columnar Apple cultivars in the conditions Black Sea zone of gardening. Conference “Hygiene a technologie potravín”, Brno – 2015. – P. 69–74.

Belous O., Vazba E., Kochurina A. Biochemical composition of Abkhazian fruit apple) // Sbornik prednasek a posteru. Conference “Food Hygiene and Technology – 46th Lenfeld’s and Hökl’s Days”. – Brno, 2016. – P. 2–7.

INFLUENCE OF HYDROTHERMAL CONDITIONS OF THE GROWING PERIOD ON ASCORBIC ACID CONTENT IN APPLE FRUITS

E.G. Vazba¹, O.G. Belous²

¹Research Institute of agriculture of Abkhazia sciences Academy, Sukhum, Abkhazia

²Federal state budgetary scientific institution All-Russian Research Institute of Floriculture and Subtropical Crops, Sochi, Russia, oksana191962@mail.ru

Abstract. Dynamics of ascorbic acid (AC) in apple fruits which grown in the Republic of Abkhazia was studied. Contents of AK varied considerably within groups, divided by maturity. The content of AK in the apple fruits differed substantially within groups of different maturity. The high content medium term varieties were marked. The fruits of the late period, in which the processes of ripening are take place in the period of noticeable water deficiency are characterized by a lower number of AK. The contents of AK was depends not only on species characteristics, but also on the prevailing meteorological conditions of the growing season, variability of symptom large.

Keywords: *Apple tree, ripening period, ascorbic acid, dynamics, dependence*

ВЛИЯНИЕ ЦИПРОКОНАЗОЛА, ФЛУДИОКСОНИЛА И ПРЕПАРАТОВ НА ИХ ОСНОВЕ НА РОСТ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ И ЯЧМЕНЯ И ЗАРАЖЕННОСТЬ ЗЕРНОВОК ВОЗБУДИТЕЛЯМИ ГРИБНЫХ БОЛЕЗНЕЙ

Е.В. Байбакова¹, Е.Э. Нефедьева¹, М. Суска-Малавская²

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный технический университет», Волгоград, Россия, *ekaterina.baybakova@yandex.ru*

²Варшавский университет, Варшава, Польша, *malma@biol.uw.edu.pl*

Аннотация. Дана оценка влияния двух действующих веществ фунгицидов на пшеницу сорта *Julius* и ячмень сорта *Gloria* (Польша). Анализ проведен в трех повторностях для 15 возможных сочетаний ципроконазола и флудиоксонила и двух контрольных вариантов. Проанализировано соотношение нормальных, зараженных, аномальных и не проросших ростков, а также количество и диаметр колоний грибов. Наиболее эффективными показали себя следующие сочетания: 2:4, 4:1, 4:2 ципроконазола и флудиоксонила, соответственно.

Ключевые слова: фитотоксичность, зараженность зерновок, фунгицид, эффективность фунгицидов

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-102-105

Разработка новых фунгицидных препаратов является актуальным вопросом в связи со способностью грибов вырабатывать резистентность. Этот факт вынуждает постоянно производить новые препараты, что несет дополнительную экологическую нагрузку на окружающую среду. Основной проблемой разработки в этой сфере остаются методы выявления оптимальных сочетаний и концентраций фунгицидов. Оптимально подобранные фунгициды позволяют применять меньшее количество действующих веществ, добиваясь синергического эффекта. Применение фунгицидных препаратов со сниженным количеством действующих веществ несет меньшую экологическую нагрузку и дает больший экономический эффект.

Ранее проведенные исследования эффективности и фитотоксичности следующих протравителей: азоксистробин, ацетамиприд, прохлораз, протиоконазол, ципроконазол, флудиоксонил позволили сделать вывод о необходимости дальнейших исследований многокомпонентных фунгицидных смесей [Байбакова и др., 2016]. Сочетание ципроконазола и флудиоксонила выбраны, исходя из теоретических данных о химических классах и механизмах действия исследуемых протравителей. Было проанализировано две контрольных пробы: с дистиллированной водой и растворителем для фунгицидов – циклогексанолом.

Таблица.

Варианты сочетаний и дозировок фунгицидов.

Фунгициды	Сочетание ципроконазола и флудиоксонила			
Ципроконазол, флудиоксонил (CF)	CF 4:4	CF 4:2	CF 4:1	CF 4:0
	CF 2:4	CF 2:2	CF 2:1	CF 2:0
	CF 1:4	CF 1:2	CF 1:1	CF 1:0
	CF 0:4	CF 0:2	CF 0:1	W/B 0:0
				WC/BC 0:0

Примечание: 1) W/B – пшеница или ячмень, WC/BC – пшеница или ячмень с циклогексанолом, соответственно; 2) 250; 500; 1000 мкг действующего вещества /10 г семян – 1, 2, 4, соответственно.

Анализы проводили на базе химической лаборатории кафедры «Промышленная экология и безопасность жизнедеятельности» Волгоградского государственного технического университета и лаборатории факультета биологии Варшавского университета.

Для анализов отбирали семена пшеницы и ячменя урожая 2017 г. (пшеница сорта *Julius* и ячмень сорта *Gloria*) по 10 г на каждую пробу и обрабатывали протравителями по схеме (таблица). Для приготовления суспензии использовали растворитель – циклогексанон. Сухие протравители навеской 200 мг предварительно растворяли в 1000 мкл циклогексанона и доводили объем до 100 мл дистиллированной водой. Затем семена обрабатывали готовыми растворами в трех дозах (125; 250; 500 мкл/10 г семян) в сочетаниях, представленных в таблице. Дозы составляли соответственно 250; 500; 1000 мкг действующего вещества /10 г семян.

Количество нормальных, зараженных, аномальных и не проросших проростков определяли согласно ГОСТ 12044-93 [1993]. Три пробы по 20 семян в каждой проращивали рулонным методом на дистиллированной воде [ГОСТ 12038-84, 1984]. При анализе энергии прорастания подсчитывали только нормально проросшие и загнившие семена, а при учёте всхожести (7-8 сут) отдельно подсчитывали нормально проросшие, аномальные, зараженные и не проросшие семена [ГОСТ 12038-84, 1984].

Полученные данные для пшеницы представлены на рис. 1. Для ячменя результаты аналогичные.

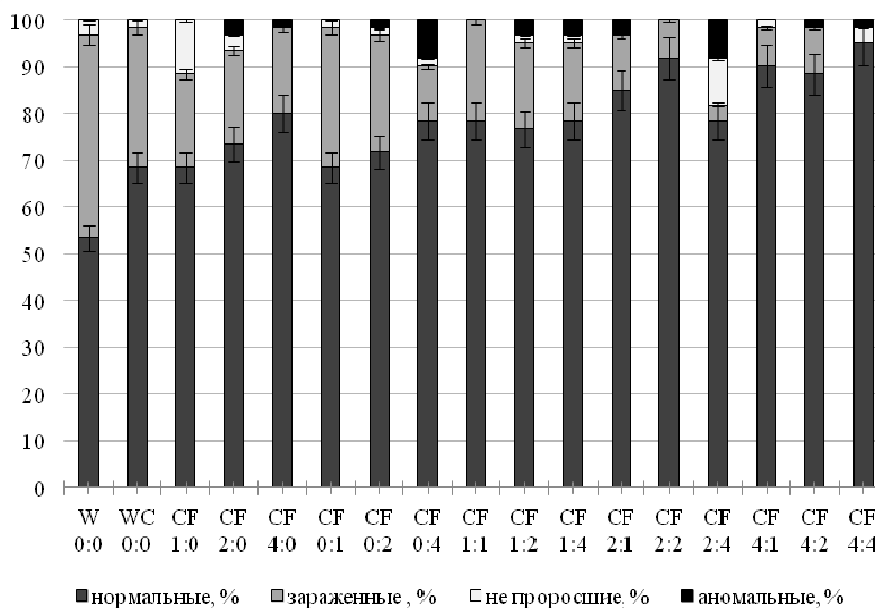


Рис. 1. Количество нормальных, зараженных, не проросших и аномальных проростков пшеницы после обработки ципроконазолом и флудиоксонилем на 8 сут, %.

Как видно из рис. 1, в контрольных образцах наиболее высокое количество зараженных проростков. Наибольшую эффективность против возбудителей грибных болезней показали высокие концентрации, такие как: 2:2, 4:1, 4:2, 4:4. Концентрации 4:0 и 0:4 менее эффективны. Несмотря на большое количество нормальных проростков при максимальной концентрации обоих фунгицидов, нельзя упускать из внимания фитотоксический эффект [Байбакова, Нефедьева, 2017; Груздев, 1987], а при низких концентрациях – стимулирование образования микотоксинов грибами под действием фунгицидов [Гаврилова, Гагкаева, 2014].

Следующая часть эксперимента – исследование зараженности семян и эффективности фунгицидов против грибов. Для этого отбирали 17 навесок семян в соответствии с количеством вариантов. Семена подвергали поверхностной стерилизации в 3%-ном растворе гипохлорита натрия в течение 2 минут, затем промывали дистиллированной водой в течение 2 минут [Pitt, Hocking, 2009]. После поверхностной стерилизации семена сушили до воздушно-сухого состояния при комнатной температуре и обрабатывали фунгицидами (таблица) в стерильном ламинар-боксе. Затем семена помещали на агаризованную среду Чапека в чашки Петри по 10 штук на каждую в стерильных условиях. Чашки Петри с семенами помещали в термостат (условия: темнота, 22 °С).

Подсчет количества зараженных семян, колоний грибов и их диаметров вели каждый день в течение 7 дней. Эксперимент был проведен в трех повторностях. Результаты представлены на рисунке 2.

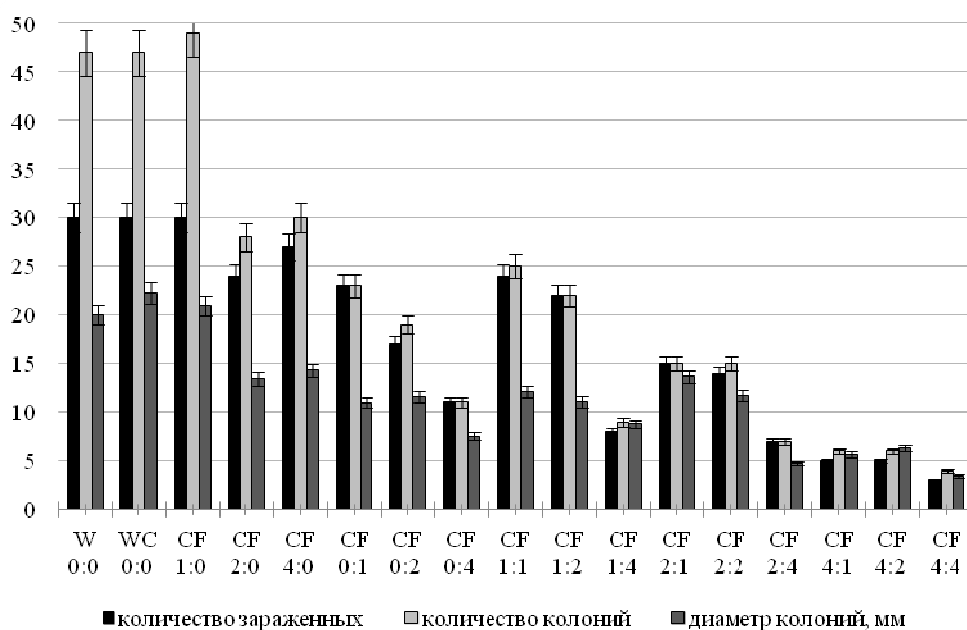


Рис. 2. Количество зараженных семян, колоний грибов и их диаметры на 7 сутки.

По результатам определения зараженности семян пшеницы и ячменя, а также оценки эффективности смесей фунгицидов было установлено, что максимальные дозы препаратов давали наилучшие результаты. Однако, зависимость не являлась линейной и наблюдался эффект малых доз: наименьшие концентрации не только не ингибировали рост мицелия, но и стимулировали, превышая контрольные показатели.

Оценка процента нормальных, зараженных, аномальных и не проросших проростков под действием ципроконазола и флудиоксонила показали, что исследуемые препараты имеют большую эффективность в смеси, чем по отдельности. Анализ зараженности семян и оценка эффективности смесей фунгицидов показали, что максимальные дозы обладают наиболее явным ингибирующим действием по отношению к грибам. При этом, минимальные дозы ципроконазола и флудиоксонила не только не замедляли рост мицелия, но даже увеличивали его, превышая контрольные показатели. Причиной такого эффекта малых доз могут быть особенности механизма резистентности грибов.

Таким образом, оптимальными концентрациями ципроконазола и флудиоксонила являлись 2:2, 4:1 и 4:2. Для повышения эффективности результата рекомендуется

применять данные фунгициды совместно со стимуляторами роста растений [Третьяков и др., 2000]. Как показали исследования, наиболее перспективные из них: 4-хлорфеноксисукусная кислота и антиоксиданты [Байбакова, Нефедьева, 2017; Байбакова 2015].

Литература

Байбакова Е.В., Нефедьева Е.Э. Изменения интенсивности дыхания проростков пшеницы под действием азоксистробина и регулятора роста // Вестник науки и образования. – 2017. – № 12 (36). – С. 29–32.

Байбакова Е.В., Нефедьева Е.Э., Белопухов С.Л. Исследование влияния современных протравителей на всхожесть и рост проростков зерновых культур // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2016. – Т. 6, № 3. – С. 57–64

Байбакова Е.В. Исследование влияния регуляторов роста на физиологические особенности зерновых культур. Комплексные проблемы техноферной безопасности : матер. междунар. науч.-практ. конф. (г. Воронеж, 12 ноября 2015 г.) / РАН, ФГБОУ ВО «Воронежский гос. техн. ун-т». – Воронеж, 2015. – Ч. V. – С. 149–153.

Байбакова Е.В., Нефедьева Е.Э. Фитотоксическое действие некоторых фунгицидов. Современная микология в России: матер. 4-го Съезда микологов России (г. Москва, 12-14 апреля 2017 г.) / Общественная национальная академия микологии. – Москва, 2017. – Т. 7. – С. 212.

Гаврилова О.П., Гагкаева Т.Ю., Влияние фунгицидов на рост и токсинообразование грибов. Успехи медицинской микологии. – Москва, 2014. – Т. XIII. – С. 314–317.

ГОСТ 12044-93 Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения зараженности болезнями. Госстандарт России. 21 октября 1993 г.

ГОСТ 12038-84 Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. Министерство сельского хозяйства СССР. 1 июля 1986 г.

Груздев Г.С. Химическая защита растений / Под ред. Г.С. Груздева. – X 46 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Агропромиздат, 1987. – 415 с.

Третьяков Н.Н., Кошкин Е.И., Макрушин Н.М. и др Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений / под ред. Н. Н. Третьякова. – М.: Колос, 2000 –640 с.

Pitt J.I., Hocking A.D. Fungi and Food Spoilage. Boston, MA: Springer US, 2009. – Third edition. – 519 p.

THE INFLUENCE OF CYPROCONAZOLE, FLUDIOXONIL AND PREPARATIONS ON THEIR BASIS ON THE GROWTH OF WHEAT AND BARLEY, AND GRAINS CONTAMINATION WITH FUNGAL DISEASES

E.V. Baybakova¹, E.E. Nefedieva¹, M. Suska-Malawska²

¹Volgograd State Technical University, Volgograd, Russia, ekaterina.baybakova@yandex.ru

²University of Warsaw, Warsaw, Poland, malma@biol.uw.edu.pl

Abstract. The effect of two active substances of fungicides on wheat (*cv.* Julius) and barley (*cv.* Gloria) was assessed. The analysis was performed in three replications for 15 possible combinations of ciproconazole and fludioxonil, with two control samples in addition. As a result, parts of normal, infected, abnormal and non-germinated seeds was analyzed. The number and diameter of the fungi colonies were searched. The following combinations of cyproconazole and fludioxonil were most effective: 2:4, 4:1, 4:2 respectively.

Key words: *phytotoxicity, contamination of grain, fungicide, effectiveness of fungicides*

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ У РАСТЕНИЙ *IROMOEA BATATAS* ПРИ ХЛОРИДНОМ ЗАСОЛЕНИИ

Н.Г. Баратова, З.Б. Давлятназарова, И. Абдулсамат, Н.Х. Норкулов, И.С. Каспарова, М. Садриддинов, К. Алиев

Институт ботаники, физиологии и генетики растений Академии наук Республики Таджикистан, Душанбе, Республика Таджикистан, lab.gen@mail.ru

Аннотация. Изучены процессы перекисного окисления липидов в листьях и корнях растений батата, отличающихся по морфологическим показателям и содержанию антоцианов в условиях хлоридного засоления. Показано, что уровень малонового диальдегида (МДА) у клона с повышенным содержанием антоцианов (№ 3) выше, чем у клона с низким уровнем антоцианов (№ 13), как в листьях, так и в корнях в условиях солевого стресса. Установлено, что содержание МДА в корнях было выше, чем в листьях, как в контроле, так и в опыте.

Ключевые слова: батат, NaCl, МДА, перекисное окисление липидов, антоцианы

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-106-108

Засоление входит в число наиболее распространенных факторов окружающей среды, снижающих общую продуктивность растений. Это связано с тем, что солевой стресс приводит к нарушению водного гомеостаза, закрытию устьиц, угнетению фотосинтетической активности, окислительному стрессу, приводящему к разрушению мембран и, в конечном итоге, к гибели клетки растений [Кузнецов, Дмитриева, 2005; Мерзляк, 1989]. В условиях солевого шока происходит усиленное образование активных форм кислорода, провоцирующих перекисное окисление липидов (ПОЛ), конечным продуктом которого является малоновый диальдигид (МДА) [Холявка и др., 2014; Давлятназарова и др., 2013].

Ключевую роль в снижении негативного действия АФК играют ферменты антиоксидантной системы защиты, такие как супероксиддисмутаза (СОД), каталаза, аскорбатпероксидаза, гваяколпероксидаза и т.д., а также низкомолекулярные соединения, к которым относятся и вещества фенольной природы, в том числе и антоцианы.

Можно предположить, что уровень антоциановых пигментов в листьях растений может являться одним из показателей физиологического состояния растений и адаптивной способности растительного организма к стрессовым условиям.

Целью работы являлось изучение влияния хлоридного засоления на перекисное окисление липидов у контрастных по содержанию антоцианов генотипов батата.

Объектами исследования служили листья и корни двух генотипов батата (*Iromoea batatas* L.), отличающихся по форме и окраске листа (№ 3, 13), которые были предоставлены Международным центром картофеля СИП (Перу). Опыты по изучению влияния хлоридного засоления на процессы перекисного окисления липидов в листьях и корнях растений батата проводились в фазу цветения растений на срезанных побегах, которые помещали в среду для корнеобразования. После образования корней часть растений помещали в 1% раствор NaCl. Длительность экспозиции в среде NaCl составляла 72 ч.

Определение МДА проводили согласно [Сибгатуллина и др., 2011]. Содержание суммы антоцианов определяли по [Сибгатуллина и др., 2011] и рассчитывали по формуле с применением удельного показателя поглощения цианидин-3,5-дигликозида в 1% растворе соляной кислоты. Опыты проводились в трёх биологических повторностях. Данные трёх независимых биологических повторностей эксперимента статистически обрабатывали с использованием стандартной компьютерной программы

MS Excel. Отличия считали значимыми при $P < 0.05$. Средние значения и их ошибки приведены на рисунках.

Проведенное исследование показало, что содержание антоциановых пигментов в листьях двух генотипов батата существенно различалось. Как видно из представленных на рис.1 данных, в листьях генотипа № 3 содержание антоцианов было на 56% выше, чем у генотипа № 13. В черешках листьев существенных различий по содержанию антоцианов у обоих генотипа не наблюдалось.

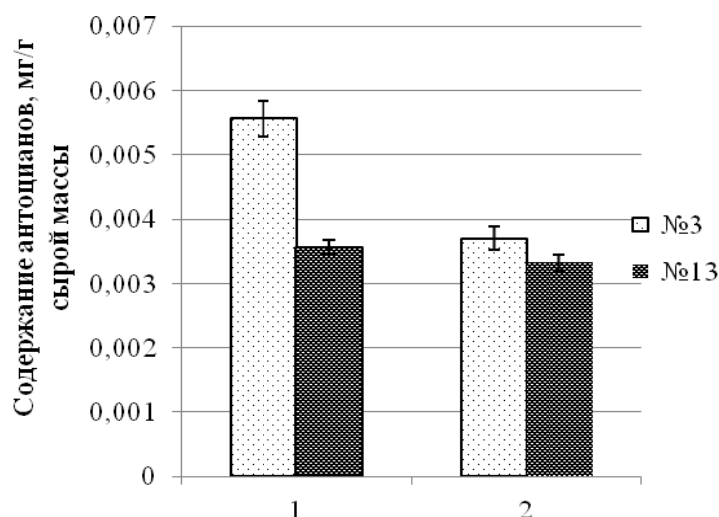


Рис. 1. Содержание антоцианов в листьях и черешках двух генотипов батата. 1 – лист; 2 – черешки листьев.

Содержание МДА характеризует процессы перекисного окисления липидов и используется в качестве индикатора окислительного стресса. Из представленных на рис. 2 данных видно, что содержание МДА у двух, отличающихся по морфологии листьев и содержанию антоцианов генотипов батата различны, как в контроле, так и в условиях солевого стресса (1% NaCl).

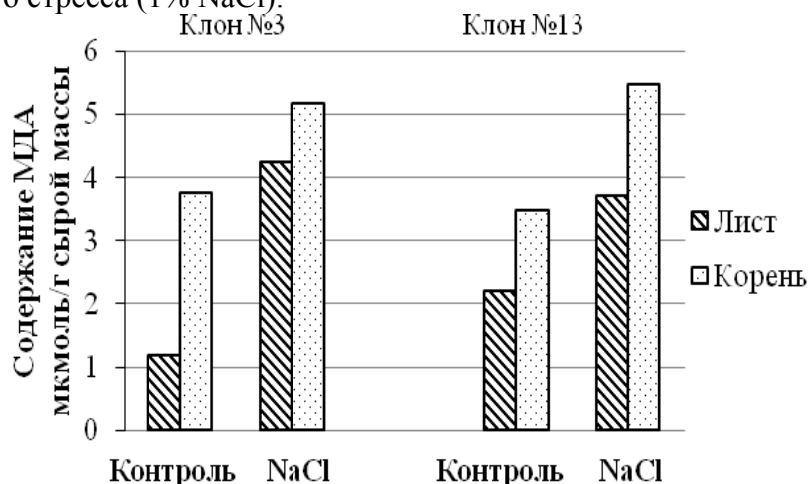


Рис. 2. Содержание МДА в листьях и корнях растений батата при 1% NaCl.

В контрольном варианте уровень МДА в листьях у антоцианов богатого клона (№ 3) ниже, чем у антоцианов бедного клона № 13. При воздействии 1% NaCl содержание МДА в листьях существенно возросло по отношению к контролю у обоих генотипов. Следует отметить, что у клона № 3 уровень накопления МДА был выше, чем у клона №

13 в условиях засоления. Эти данные указывают на то, что степень повреждения мембран в условиях засоления выше у клона № 3, хотя по содержанию антоцианов этот генотип превосходит клон № 13. Содержание МДА в корнях было выше, чем в листьях у обоих клонов, как в контроле, так и при засолении. Таким образом, исследования показали, что по содержанию антоцианов клон № 3 превосходил клон № 13, а по накоплению МДА наблюдалась обратная картина.

Литература

Давлятназарова З.Б., Киёмова З.С., Норкулов Н.Х., Ашуров С.Х., Алиев К.А. Влияние засоления и засухи на про- и антиоксиданты хлоропластов растений картофеля // Докл. АН Республики Таджикистан. – 2013. – Т. 56, № 9. – С. 745–749.

Кузнецов Вл.В., Дмитриева Г.А. Физиология растений: учебник для вузов. – Москва: Высш. шк., 2005. – 736 с.

Мерзляк, М. Н. Активированный кислород и окислительные процессы в мембранах растительных клеток // Итоги науки и техники. Сер. «Физиология растений». – М: ВИНТИ, 1989. – Т.6. – 168 с.

Сибгатуллина Г.В., Хаертдинова Л.Р. и др. Методы определения редокс-статуса культивируемых клеток растений: учеб.-метод.пособие. – Казань: Казанский (Приволжский) Федеральный университет, 2011. – 61 с.

Холявка М.Г., Карпова С.С., Калаев В.Н., Лепешкина Л.А., Агапов Б.Л., Артюхов В.Г. Оценка оксидативного статуса растений, произрастающих в различных условиях // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 8-4. – С. 891–897.

LIPIDES PEROXIDATION OF IPOMOEA BATATAS PLANTS UNDER SALINITY

N.G. Baratova, Z.B. Davlyatnazarova, I. Abdulsamat, N.Kh. Norkulov, I.S. Kasparova, K. Aliev

Institute of botany, plant physiology and genetics of Academy of Sciences Republic of Tajikistan, Dushanbe, Tajikistan, *lab.gen@mail.ru*

Abstract. The processes of lipid peroxidation in leaves and roots of sweet potato plants differing in their morphological characteristics and anthocyanins content under chloride salinity were studied. It was shown that the level of malonaldehyde (MDA) in a clone with an increased content of anthocyanins (No. 3) is higher than in a clone with a low level of anthocyanins (No. 13), both in leaves and in roots under conditions of salt stress. It was found that the MDA content in the roots was higher than in the leaves, both in the control and in the experiment.

Keywords: *sweet potato, NaCl, MDA, lipid peroxidation, anthocyanins*

ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ КОЛЛЕКЦИИ ЯЧМЕНЯ К ЗАСОЛЕНИЮ

Б.А. Баташева¹, Р.А. Абдуллаев², Е.Е. Радченко², О.Н. Ковалева², И.А. Звейнек²

¹Филиал Дагестанская опытная станция Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова», Республика Дагестан, Дербентский р-он, с. Вавилово, Россия, kostek-kum@rambler.ru

²Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова», Санкт-Петербург, Россия, Abdullaev.1988@list.ru

Аннотация. Изучено внутривидовое разнообразие ячменя культурного (*Hordeum vulgare* L.) по устойчивости к солевому стрессу. Оценена проростковая солеустойчивость более 400 образцов ячменя. В исследования были включены стародавние и селекционные сорта различного эколого-географического происхождения и систематической принадлежности. Показана дифференциация голозерных и пленчатых ячменей по реакции на солевой стресс. Отмечена повышенная солеустойчивость голозерных форм.

Ключевые слова: ячмень, засоление, сорт, разновидность

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-109-113

В исследованиях устойчивости растений к засолению в разрезе культур наиболее распространен «метод проростков». Критерием солеустойчивости являются показатели прорастания семян в солевых растворах по сравнению с прорастанием в воде. Метод проростков имеет целый ряд модификаций, отличающихся способом проращивания, условиями засоления и элементами учета показателей [Удовенко, 1988].

Изучение, анализ, обобщение литературных данных по проблеме солеустойчивости, с одной стороны, наличие засоленных почв в Южном Дагестане и ведущая роль ячменя в народном хозяйстве республики, как основной кормовой культуры, – с другой, определили необходимость и актуальность проведенных нами в данном направлении исследований.

На территории Южного Дагестана исторически формировались в различной степени засоленные и солонцеватые лугово-каштановые и луговые почвы, отличающиеся от почв речных долин неблагоприятными физико-химическими свойствами. Отдельными участками встречаются комплексы и сочетания солончаковых и солончаковатых разностей, а также солончаки [Баламирзоев, 1974].

Причиной засоления почв и грунтовых вод здесь служат почвообразующие породы третичных и четвертичных морских отложений, содержащих легкорастворимые сульфатно-натриевые, сульфатно-магниевые, хлористо-магниевые и хлористо-натриевые соли.

Из всех типов засоления наиболее вредным для культурных растений является хлоридное и содовое. В предгорьях южного Дагестана в основном встречается хлоридно-сульфатное и сульфатно-хлоридное засоление почв. Хлоридное и сульфатно-содовое засоление обнаруживается редко.

Характеристика почв Южного Дагестана:

1. Лугово-каштановые, слабосолончаковые, средне- и тяжелосуглинистые. Содержание гумуса в пахотном горизонте колеблется в пределах 2,59-3,59%. Содержание подвижного фосфора в пределах 1,5-10,0 мг/100 г почвы, но в большинстве случаев составляет 6,95-10,0 мг. Обменного калия обнаружено 23-52 мг/100 г почвы, содержание гидролизуемого азота – 7,0-8,4 мг/100 г почвы, CO₂ карбонатов колеблется от 20,6 до 24,2. Содержание поглощенного натрия

незначительно и не превышает 0,2-0,4 мг-экв/100 г почвы. Степень засоления в слое 0-50 см слабая, ниже 50-75 см, лишь изредка средняя. Реакция щелочная, pH=7.8-8.4. Такие почвы пригодны для возделывания всех сельскохозяйственных культур.

2. Лугово-каштановые, сильносолончаковые, среднесолонцеватые, средне-суглинистые. Содержание гумуса колеблется в пахотном слое от 1,62 до 3,12%; подвижного фосфора – 1,5-3,6 мг/100 г почвы; обменного калия – 24,5-39,0 мг/100 г почвы; гидролизуемого азота – 4,2-8,4 мг/100 г почвы; CO₂-карбонатов – 6,25-14,3%. Содержание поглощенного натрия – 1,7-2,5 мг-экв, реакция щелочная, pH=8.0-8.2. Почвы засолены в сильной степени по всему профилю. Тип засоления в верхнем слое хлоридно-сульфатный, в нижних горизонтах – сульфатно-хлоридный. На таких почвах целесообразно выращивать лишь солеустойчивые культуры [Шихмурадов, Магомедов, 2010].

3. Проведен анализ наших почв в агрохимическом отделе ФГУ «Ленинградский референтный центр Россельхознадзора» (26.11.2009).

Наименование показателя	Единицы измерений	Результаты испытаний
pH(KCl)	ед. pH	7.49
Органическое вещество	%	1,82
Влага	%	7,0
N-NH ₄	мг/кг	следы
N-NO ₃	мг/кг	3,75
Cl ⁻	%	0.01
P ₂ O ₅	мг/кг	25
K ₂ O	мг/кг	162
SO ₄ ²⁻	мг/кг	4,62
физ. глина (фр.<0,01 мм)	%	72,45

Проблема использования засоленных земель и повышение их плодородия крайне важна для производства. Важно определить какие культуры наиболее солестойки, и какие сорта необходимо рекомендовать для возделывания на засоленных почвах, в определенных почвенно-климатических регионах.

В задачи наших исследований входило изучение внутривидового разнообразия ячменя культурного (*H. vulgare* L.) по устойчивости к солевому стрессу с целью выделения нового исходного материала для вовлечения в селекционные программы.

На Дагестанской опытной станции с 1993 г. начаты работы по проростковой солеустойчивости ячменя. Изучено более 400 образцов. В исследования были включены стародавние и селекционные сорта различного эколого-географического происхождения и систематической принадлежности.

Образцы изучали в двух вариантах: «опыт» – 1,5% NaCl и «контроль» – H₂O. Основными оцениваемыми параметрами служили: длина ростка и зародышевого корешка проростков; относительную длину ростка (ОДР) использовали в качестве критерия солеустойчивости.

Критерий солеустойчивости (ОДР) имеет широкий размах варьирования (0-76,3%). Большинство изученных образцов чувствительно к стрессу, величина показателя их солеустойчивости в пределах 10%; доля устойчивых (ОДР: 30-40 и более %) составляет 25,7%.

Широкая вариабельность признака, вероятно, связана представленностью выборки разными эколого-географическими группами и свидетельствует о широком внутривидовом полиморфизме и сортовой дифференциации культуры по устойчивости к засолению.

В результате сравнительного изучения солерезистентности двух естественных систематических групп ячменя: голозерные (convar. *coeleste* и *nudum*) и пленчатые (convar. *vulgare* и *distichon*) формы показано их достоверное различие по чувствительности к засолению.

Средняя величина критерия солеустойчивости голозерных сортов 38,9 при 12,7% пленчатых (таблица).

Таблица.

Количественные параметры проростков голозерных и пленчатых ячменей

«Опыт»		«Контроль»		Относительная длина, %	
длина ростка, см	длина корешка, см	длина ростка, см	длина корешка, см	росток	корешок
convar.: <i>vulgare</i> и <i>distichon</i> (пленчатые)					
2,05±0,152	3,95±0,102	13,5±0,240	11,7±0,166	12,7±0,786	33,7±0,638
convar.: <i>coeleste</i> и <i>nudum</i> (голозерные)					
6,73±0,457	5,51±0,143	15,9±0,676	12,0±0,316	38,9±1,57	47,2±1,04

Для обеих групп, как и для вида (*H. vulgare* L.) в целом, характерна широкая изменчивость признака. Величина критерия солеустойчивости для пленчатых форм варьирует в пределах 0 ... 63,2; голозерных – 10,4 ... 76,3%. При этом следует отметить и их дифференциацию по характеру распределения. Так, среди голозерных ячменей не отмечено образцов с величиной ОДР менее 10% и их распределение смещено в сторону высоких значений относительной длины ростка.

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о повышенной солеустойчивости голозерных ячменей. Следует отметить, во-первых, относительную территориальную обособленность их в плане исторического происхождения: преимущественно Юго-Восточная Азия, а также Северо-Восточная Африка и горные районы Средней Азии; во-вторых, основной систематический признак голозерных форм – несрастимость цветковой чешуи с зерновкой.

Нами было предположено, что повышенная солеустойчивость голозерных ячменей, вероятно, связана с возможно более высокой скоростью ростовых процессов в начальный этап их развития, а наличие пленки служит своего рода барьером, тормозящим эти процессы [Баташева, 1997; Баташева, Альдеров, 2005, 2008].

В плане развития и подтверждения данного предположения было проведено изучение ранних этапов ростовых процессов представителей обеих групп разновидностей. Семена проращивались в чашках Петри, на дистиллированной воде, в темном термостате при температуре 22-24 °С. Через трое суток проводили промеры.

По результатам анализов средняя длина ростка голозерных форм (1,73 см) превышает таковую пленчатых (0,57 см) в 3 раза, а длина корня в 1,5 раза.

Наглядно более высокая скорость ростовых процессов голозерных ячменей, чем пленчатых показано на примере 3-х дневных голозерных (рис. 1) и пленчатых (рис. 2), соответственно 10-дневных голозерных (рис. 3) и пленчатых (рис. 4) форм ячменя.

Из результатов следует, что скорость начальных ростовых процессов – один из существенных факторов, определяющих более высокую солеустойчивость голозерных ячменей.

Возможен и другой механизм, что у пленчатых ячменей пленка, впитывая соль, образует вокруг развивающегося зародыша своего рода оболочку, насыщенную солью, что и угнетает процессы роста и развития.

Нами отмечены два возможных механизма, определяющие дифференциацию пленчатых и голозерных сортов по реакции на солевой стресс. При этом ведущая роль, несомненно, принадлежит генетически детерминированной устойчивости.



Рисунок 1.

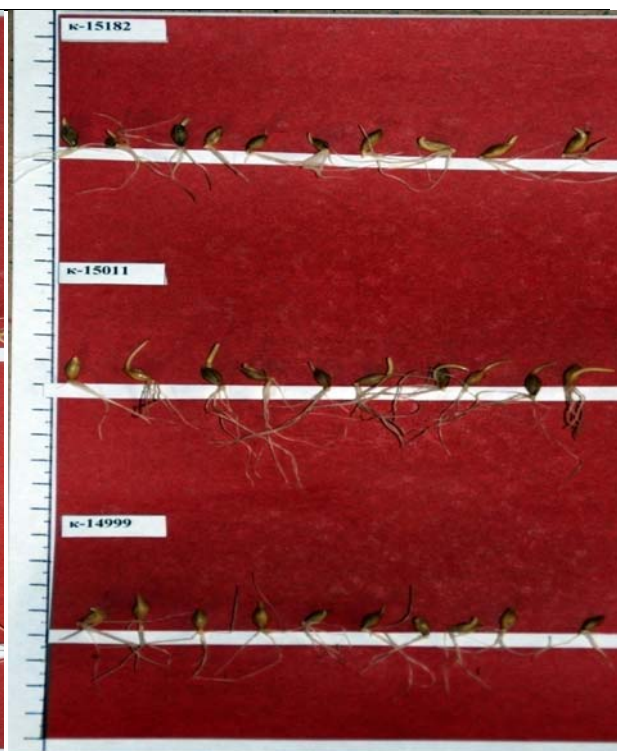


Рисунок 2.



Рисунок 3.



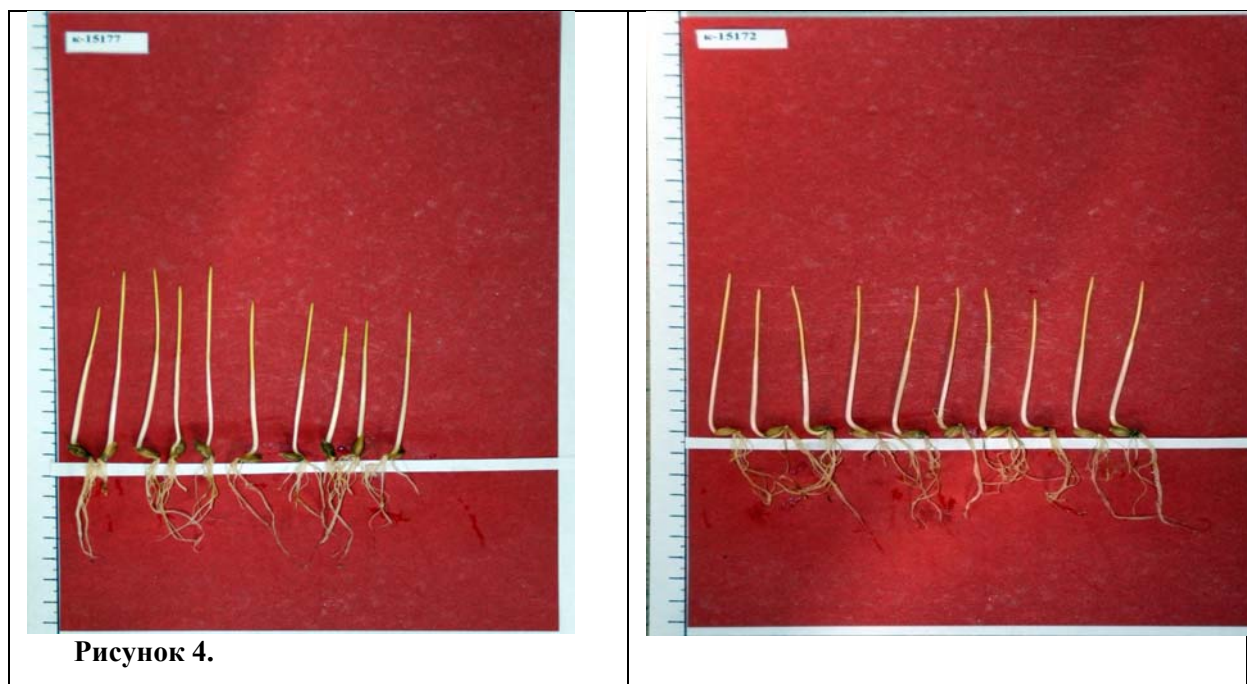


Рисунок 4.

Литература

Баламирзоев М. Почвы предгорного Дагестана и их рациональное использование. – Махачкала: «Дагестанское книжное издательство», 1974. – 60 с.

Баташева Б.А. Солеустойчивость ячменя в связи с эколого-географическим происхождением и ботанической принадлежностью образцов // Тр. по прикл. бот., ген. и селекции. – 1997. – Т. 150. – С. 63–66.

Баташева Б.А., Альдеров А.А. Устойчивость растений ячменя к солевому стрессу // Сельскохозяйственная биология. – 2005. – № 5. – С. 56–60.

Баташева Б.А., Альдеров А.А. К вопросу о дифференциации голозерных и пленчатых ячменей по солеустойчивости // Материалы междунар. науч.-практ. конф.: «Селекция, семеноводство и технология возделывания зернофуражных культур». – Ульяновск, 2008. – С. 56–60.

Удовенко Г.В. Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям (Методическое руководство). – Л., 1988. – 228 с.

Шихмурадов А.З., Магомедов А.М. Влияние солевого стресса на продуктивность твердой пшеницы // Известия ДГПУ. – 2010. – № 2. – С. 80–83.

ESTIMATION OF THE STABILITY OF BARLEY COLLECTION TO SALTATION

B.A. Batasheva¹, R.A. Abdullaev², E.E. Radchenko², O.N. Kovaleva², I.A. Zveynek²

¹Branch Dagestan Experimental Station of the Federal State Budgetary Scientific Institution “Federal Research Center the N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources”, the city of Derbent, selo Vavilovo, Russia, kostek-kum@rambler.ru

²Federal State Budgetary Scientific Institution “Federal Research Center the N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources”, Saint Petersburg, Russia, Abdullaev.1988@list.ru

Abstract. The intraspecific diversity of barley cultivated (*H. vulgare* L.) in resistance to salt stress has been studied. The sprouts salt tolerance of more than 400 barley samples was evaluated. The studies included old and selection varieties of different eco-geographical origin and systematic membership. The differentiation of holohydrate and filmy barley by reaction to salt stress is shown. An increased salt tolerance of holohydrate forms is noted.

Keywords: barley, anaphylaxis, variety, variety

РАЗВИТИЕ ПОЛОСАТОЙ ПЯТНИСТОСТИ ЯЧМЕНЯ В УСЛОВИЯХ ЮЖНОГО ДАГЕСТАНА

Б.А. Баташева¹, Р.А. Абдуллаев², Е.Е. Радченко², О.Н. Ковалева², И.А. Звейнек²

¹Филиал Дагестанская опытная станция Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова», Республика Дагестан, Дербентский р-он, с. Вавилово, Россия, kostek-kum@rambler.ru

²Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова», Санкт-Петербург, Россия, Abdullaev.1988@list.ru

Аннотация. Проведено изучение характера развития и вредоносность возбудителя (*Pyrenophora graminea* S.) полосатой пятнистости ячменя в условиях южно-плоскостного Дагестана. В регионе наблюдается первичная внутренняя глубокая инфекция семян, когда пораженное растение не дает ни одного полноценного зерна. Показана дифференциация сортов по чувствительности к патогену. Ячмени селекции европейских стран и местный сирийский сортимент отличаются повышенной устойчивостью.

Ключевые слова: ячмень, грибные болезни, полосатая пятнистость (*Pyrenophora graminea* S.), регион, сорт

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-114-117

Кроме мучнистой росы и карликовой ржавчины, широко распространенных грибных болезней ячменя, в Южном Дагестане встречается также полосатая пятнистость листьев (*Pyrenophora graminea* S.). Она проявляется реже, что, вероятно, связано с биологией гриба, но в случае ее эпифитотии ущерб урожаю гораздо выше.

Данные по ее исследованию в регионе практически отсутствуют. Нами проведено изучение характера развития и вредоносности патогена в условиях южно-плоскостного Дагестана (рис. 1, 2.). В данной зоне наблюдается первичная внутренняя глубокая инфекция семян, когда пораженные растения высыхают целиком, не сформировав ни одного жизнеспособного зерна [Баташева, 2011].

Уровень естественного инфекционного фона возбудителя позволял выделение восприимчивых форм и заведомое их исключение из выборки, подлежащей оценке с целью поиска резистентных к патогену образцов. Достоверно восприимчивые формы могут быть использованы в качестве тестеров при изучении генетики признаков.

Наши исследования показали чувствительность районированных в республике сортов (Циклон, Завет 3, Victoria, Темп) к полосатой пятнистости, что в случае достаточного развития патогена существенно снизит урожай культуры. В связи, с чем работа по данному признаку в условиях региона представляет теоретический и практический интерес.

Исследуемый признак морфологически четко проявляется уже в фазе кущения, а выраженность его сохраняется вплоть до полной спелости, что облегчает работу. Устойчивость образцов к патогену оценивали по 9-балльной шкале на основе подсчета % пораженных растений.

По многолетним данным уровень развития болезни по годам не одинаковый, что, вероятно, связано с гидротермическим режимом в годы исследований и степенью развития болезни.

Изучая признак в течение многих лет, мы располагали возможностью подробно проанализировать данные тех лет, которые отличались повышенной инфекционной нагрузкой с целью поиска относительно устойчивых к патогену форм. При этом за



Рис. 1. Инфекционный фон полосатой пятнистости листьев ячменя в условиях Южного Дагестана.



Рис. 2. Пораженное полосатой пятнистостью (слева) и здоровое (справа) растения.

основу была взята оценка в один из таких годов (1995, 1998, 2002 и 2005 гг.). В случае отсутствия поражения за три года изучения, сорт включали в группу относительно устойчивых, среди них как селекционные преимущественно из европейских стран (Франция, Германия и Чехия), так и стародавние сорта.

Многолетний (более 25 лет) опыт работы с культурой позволяет однозначно утверждать, что ячмени селекции этих регионов в условиях Южно-плоскостного Дагестана с характерным для него многообразием неблагоприятных биотических и абиотических факторов (патогенная микрофлора, насекомые-вредители, высокая температура и инсоляция, повышенная атмосферная влажность и почвенная засуха в период вегетации и др.) отличаются хорошим адаптивным потенциалом.

Среди стародавних сортов резистентность к возбудителю проявили образцы сирийского сортимента. При обсуждении экологической приуроченности источников устойчивости ячменя к грибным болезням следует отметить относительную резистентность сортов средиземноморского происхождения.

В 2002 году в изучении находились 239 дагестанских местных сортов. Из них 19 поразились патогеном. Среди сортов, районированных в республике и использованных в качестве стандартов, устойчивость к патогену по многолетним данным проявил сорт озимого ячменя Дагестанский 239.

Таким образом, в условиях Южно-плоскостного Дагестана наблюдается полосатая пятнистость листьев ячменя, причем проявляется I-тип поражения, т.е. первичная глубокая инфекция семян.

Ареал распространения возбудителя полосатой пятнистости уже, чем мучнистой росы и карликовой ржавчины, что связано с биологией гриба. Болезнь в районах её распространения более вредоносна по сравнению с мучнистой росой и карликовой ржавчиной.

Известно, что характер поражения растений мучнистой росой, карликовой ржавчиной и полосатой пятнистостью различен равно, как и существенность, их влияния на продуктивность. В I-II случаях вегетативное тело гриба в той или иной степени покрывает ассимиляционную поверхность растений, и влияние патогенов на урожайность опосредовано через нарушение нормального физиологического состояния растительных тканей и хода самих физиологических процессов. Полосатая пятнистость непосредственно влияет на продуктивность, ибо пораженное патогеном растение высыхает целиком, не формируя ни одного жизнеспособного зерна. Растения же, пораженные мучнистой росой и карликовой ржавчиной, дают зерно, хотя, возможно, уступающее по количеству и качеству зерну здорового растения.

Сорта дифференцируются по чувствительности к патогену. Ячмени селекции европейских стран и местный сирийский сортимент отличаются повышенной устойчивостью.

В результате проведенных исследований отмечены как сильно восприимчивые, так и относительно устойчивые сорта.

Нами отмечена восприимчивость районированных и возделываемых в республике сортов ячменя (Завет 3, Циклон, Виктория, Темп). В случае эпифитотии можно ожидать большие потери урожая. Актуальность и необходимость продолжения исследований в этом направлении, а также целесообразность внедрения в Республике высокопродуктивных, устойчивых к полосатой пятнистости форм, вполне очевидна.

Литература

Баташева Б.А. Полосатая пятнистость листьев ячменя в Южном Дагестане // Вестник РАСХН. – 2011. – № 2. – С. 58–59.

THE DEVELOPMENT OF THE STAIR OF BARLEEN SPRING IN THE CONDITIONS OF SOUTHERN DAGHESTAN

B.A. Batasheva¹, R.A. Abdullaev², E.E. Radchenko², O.N. Kovaleva², I.A. Zveynek²

¹Branch Dagestan Experimental Station of the Federal State Budgetary Scientific Institution “Federal Research Center the N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources”, the city of Derbent, selo Vavilovo, Russia, *kostek-kum@rambler.ru*

²Federal State Budgetary Scientific Institution “Federal Research Center the N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources”, Saint Petersburg, Russia, *Abdullaev.1988@list.ru*

Abstract. A study was made of the nature of the development and the harmfulness of the pathogen (*Pyrenophora graminea* S.) in the striped patchiness of barley in the conditions of southern-planar Dagestan. In the region there is a primary internal deep infection of seeds, when the affected plant does not yield any full grain. Differentiation of varieties by sensitivity to the pathogen is shown. The barley selection of European countries and the local Syrian assortment are characterized by increased resistance.

Keywords: *barley, fungal diseases, striped spotting (Pyrenophora graminea S.), region, variety*

ИЗМЕНЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ГЛУТАТИОНОВОЙ СИСТЕМЫ У РАСТЕНИЙ *MIMULUS GUTTATUS* DC. В ОТВЕТ НА СОВМЕСТНОЕ ДЕЙСТВИЕ СУЛЬФАТОВ ЦИНКА И НИКЕЛЯ

Е.Б. Башмакова, П.П. Пашковский

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия, *elenab_77@mail.ru*, *pashkovskiy.pavel@gmail.com*

Аннотация. Работа посвящена изучению изменений в функциональном состоянии глутатионовой (GR-GSH) системы у растений мимулюса крапчатого (*Mimulus guttatus* Fischer ex DC.) в условиях раздельного и совместного действия солей ZnSO₄ и NiSO₄. Состояние GR-GSH системы оценивали по изменению редокс-статуса глутатиона и активности глутатионредуктазы (GR). Наблюдаемые изменения в функциональном состоянии GR-GSH системы при совместном действии Zn и Ni были направлены на поддержание более восстановленного состояния внутриклеточной среды.

Ключевые слова: *Mimulus guttatus*, совместное действие цинка и никеля, антагонизм, редокс-статус, глутатионовая система

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-118-122

Проблема устойчивости растений к антропогенному загрязнению окружающей среды является одной из приоритетных в современной экспериментальной биологии. Среди большого числа стресс-факторов техногенного происхождения в настоящее время все большую актуальность приобретает токсическое действие тяжелых металлов (ТМ) на растения. Особое место среди ТМ-поллютантов занимают элементы цинк (Zn) и никель (Ni), поскольку их избыточное содержание в почве может быть результатом не только хозяйственной деятельности человека, но и естественных почвообразовательных процессов [Kabata-Pendias, Pendias, 2001; Yadav, 2010].

Zn и Ni являются эссенциальными элементами, которые в небольших количествах необходимы для нормальной жизнедеятельности растений. Известно, что Zn функционирует как кофактор многих ферментов, участвующих в метаболизме азота, фотосинтезе, биосинтезе гормонов, нуклеиновых кислот и белков, тогда как Ni, являясь компонентом некоторых Ni-зависимых ферментов, принимает участие в гораздо меньшем количестве биохимических процессов. При этом в высоких концентрациях Zn и Ni оказывают токсическое действие на клеточный метаболизм, тем самым могут снизить жизнеспособность растений или привести их к гибели [Krämer, Clemens, 2005].

Очевидно, что в природных экосистемах растения часто подвергаются комбинированному токсическому действию данных ТМ, которое может иметь антагонистический или синергический характер влияния на уровне различных физиологических и биохимических процессов [Kabata-Pendias, Pendias, 2001]. Однако в литературе совместному действию Zn и Ni в растении уделено чрезвычайно мало внимания. Например, фрагментарно изучено совместное действие Zn и Ni на клеточный редокс-статус. Это делает крайне важным исследование изменений прооксидантно-антиоксидантного статуса, обусловленных совместным действием Zn и Ni в растении.

Индикатором протекающих в тканях растений процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) является уровень малонового диальдегида (МДА) [Yadav, 2010]. Трипептид глутатион (γ -Glu-Cys-Gly) является наиболее значимым тиольным соединением, участвующим в поддержании внутриклеточного редокс-потенциала в растении. При этом основу клеточного окислительно-восстановительного гомеостаза

определяет соотношение восстановленный/окисленный глутатион (GSH/GSSG) и общее содержание глутатиона (GSHt) [Noctor et al., 2012]. Глутатион также играет важную роль в детоксикации различных активных форм кислорода (АФК) [Anjum et al., 2012]. Известно, что увеличение соотношения GSH/GSSG и уровня GSHt приводит к снижению редокс-потенциала (более восстановленному состоянию внутриклеточной среды), что способствует понижению уровня АФК в клетках и повышению устойчивости растений к окислительному стрессу [Szalai et al., 2009].

Цель настоящей работы заключалась в исследовании роли GR-GSH системы в антиоксидантном ответе на совместное действие Zn и Ni, которое было нами впервые проведено в лабораторных условиях на высоко устойчивом исключателе TM из семейства Фримовых (Phrymaceae) *M. guttatus* [Pollard et al., 2002].

Растения выращивали в камере фитотрона при температуре воздуха 23/18 °C (день/ночь), с 12-часовым световым периодом при интенсивности света $140 \pm 20 \mu\text{E}/(\text{m}^2 \cdot \text{с})$ на модифицированной питательной среде Роризона без $\text{Na}_2\text{ЭДТА}$ (pH=6.8 – 6.5). На момент постановки экспериментов ювенильные растения в возрасте 6 нед. имели 3 яруса листьев. Растения подвергали раздельному (50, 100 и 200 мкМ ZnSO_4 ; 20 и 80 мкМ NiSO_4) и совместному (20 мкМ NiSO_4 + 100 мкМ ZnSO_4 , 20 мкМ NiSO_4 + 200 мкМ ZnSO_4 , 80 мкМ NiSO_4 + 50 мкМ ZnSO_4 и 80 мкМ NiSO_4 + 100 мкМ ZnSO_4) воздействию солей TM. Контрольные растения выращивали на питательной среде, концентрация ZnSO_4 в которой составляла 1 мкМ, в отсутствие NiSO_4 . Продолжительность экспериментов составляла 4 нед. [Башмакова и др., 2016].

Содержание металлов анализировали методом атомно-абсорбционной спектроскопии [Башмакова и др., 2016]. Содержание МДА определяли согласно методике Heath и Packer [1968]. GSHt и содержание окисленного глутатиона (GSSG) определяли методом ферментативной рециклизации по модифицированной методике Griffith [1980]. Содержание восстановленного глутатиона (GSH) рассчитывали вычитанием содержания GSSG из GSHt [$\text{GSH} + 2 \text{GSSG}$]. Активность GR определяли спектрофотометрическим методом, согласно методике, предложенной Smith с соавт. [1988].

Установлено, что растения *M. guttatus* способны ограничивать поступление Zn и Ni в надземные органы, аккумулируя их преимущественно в корнях, что не противоречит ранее полученным экспериментальным данным [Pollard et al., 2002]. Обнаружен дозозависимый характер накопления этих металлов как в корнях, так и в листьях растений *M. guttatus* [Башмакова и др., 2016].

Интенсивность ПОЛ в корнях и листьях возрастала с увеличением концентрации солей TM в культуральной среде, причем при действии ZnSO_4 она была значительно выше, чем при действии NiSO_4 . При совместном воздействии 20 мкМ NiSO_4 и 100 (или 200) мкМ ZnSO_4 , а также 80 мкМ NiSO_4 и 50 (или 100) мкМ ZnSO_4 уровни МДА как в корнях, так и в листьях достоверно не различались и были несколько выше, чем при раздельном действии NiSO_4 , но ниже, чем при воздействии 100 (или 200) мкМ ZnSO_4 .

Содержание GSHt в корнях снижалось при увеличении концентрации ZnSO_4 в культуральной среде, в то время как в листьях снижение GSHt было установлено лишь при действии 200 мкМ ZnSO_4 . В ответ на воздействие 20 мкМ NiSO_4 содержание GSHt увеличивалось как в корнях, так и в листьях, а при действии 80 мкМ NiSO_4 возрастало только в корнях. При увеличении концентрации ZnSO_4 в присутствии NiSO_4 уровень GSHt в корнях возрастал, а в листьях снижался и становился немного ниже, чем в контроле.

В корнях и листьях содержание GSSG возрастало при увеличении концентрации ZnSO_4 в культуральной среде, тогда как в присутствии NiSO_4 увеличение уровня GSSG наблюдалось только в корнях при действии 80 мкМ NiSO_4 . С увеличением

концентрации $ZnSO_4$ в присутствии $NiSO_4$ наблюдали возрастание уровня GSSG в корнях, тогда как в листьях была установлена противоположная тенденция.

В корнях и листьях соотношение GSH/GSSG снижалось при увеличении концентрации $ZnSO_4$ в культуральной среде. Так, в корнях при действии 200 мкМ $ZnSO_4$ установлено практически 2-кратное снижение соотношения GSH/GSSG. Однако в присутствии 80 мкМ $NiSO_4$ соотношение GSH/GSSG снижалось незначительно, а при действии 20 мкМ $NiSO_4$ заметно увеличивалось как в корнях, так и в листьях. Обнаружено, что с увеличением концентрации $ZnSO_4$ в присутствии $NiSO_4$ соотношение GSH/GSSG несколько снижалось в корнях, в то время как в листьях увеличивалось. Примечательно, что при совместном действии 20 мкМ $NiSO_4$ и 200 мкМ $ZnSO_4$ соотношение GSH/GSSG в листьях было почти в 2 раза выше, чем в контроле.

С увеличением концентрации $ZnSO_4$ в культуральной среде активность GR в корнях снижалась, а в листьях возрастала. В то же время наблюдалось увеличение активности GR при действии 20 (или 80) мкМ $NiSO_4$ в корнях, а при воздействии 80 мкМ $NiSO_4$ также и в листьях. При увеличении концентрации $ZnSO_4$ в присутствии $NiSO_4$ активность GR в корнях снижалась, а в листьях, напротив, сильно возрастала.

Как следует из полученных данных, у растений *M. guttatus* с увеличением концентрации $ZnSO_4$ в культуральной среде уровень GSSG увеличивался при снижении уровня GSht и соотношения GSH/GSSG. Подобный эффект продемонстрировали Di Baccio с соавт. [2005] у растений рода *Populus*. Напротив, Ni-индуцирующее действие на биосинтез GSH было установлено у растений-гипераккумуляторов Ni из рода *Noccaea* [Freeman et al., 2004], что было также обнаружено и у растений *M. guttatus*.

Считается, что компенсаторными механизмами в функциональном состоянии GR-GSH системы в условиях стресса являются повышение уровня GSht в ответ на аккумуляцию GSSG и увеличение соотношения GSH/GSSG в ответ на снижение уровня GSht [Noctor et al., 2012]. Так, у растений *M. guttatus* при совместном действии $ZnSO_4$ и $NiSO_4$ одновременное увеличение содержания GSht и GSSG явилось причиной незначительного изменения в соотношении GSH/GSSG в корнях, а незначительное понижение уровня GSht на фоне снижения содержания GSSG приводило к увеличению соотношения GSH/GSSG в листьях. Таким образом, мы установили, что у растений *M. guttatus* совместное действие Zn и Ni увеличивает уровень GSht в ответ на аккумуляцию GSSG в корнях и снижает уровень GSSG в ответ на снижение содержания GSht в листьях, что является важной адаптационной реакцией, позволяющей снизить редокс-потенциал в тканях этих органов.

Увеличение активности GR приводит к увеличению соотношения GSH/GSSG, что способствует предотвращению окислительных повреждений в клетке и повышает устойчивость к окислительному стрессу [Митева и др., 2010]. Так, анализ экспериментальных данных показывает, что ответ растений *M. guttatus* на действие Zn и Ni, оцениваемый по активности GR, является дозозависимым, а также металл- и органоспецифическим. Установлено Zn-дозозависимое ингибирующее действие на активность GR в корнях и стимулирующее действие на активность этого фермента в листьях. Максимальная активность GR была установлена в корнях при действии 20 мкМ $NiSO_4$, тогда как в листьях наибольшая активность GR была обнаружена при действии 80 мкМ $NiSO_4$. С увеличением концентрации $ZnSO_4$ в присутствии $NiSO_4$ активность GR в листьях значительно возрастала, в то время как в корнях незначительно снижалась и становилась немного ниже активности GR в контроле. Очевидно, у растений *M. guttatus* синергическое действие Zn и Ni на активность GR в листьях является адаптационным механизмом, направленным на снижение интенсивности окислительного стресса и защиту фотосинтетического аппарата от повреждения АФК.

Таким образом, результаты нашего исследования изменений содержания GSht, GSSG и соотношения GSH/GSSG, а также активности GR свидетельствуют о двойственном (антагонистическом и синергическом) влиянии Zn и Ni на функциональное состояние GR-GSH системы. Было установлено антагонистическое действие Zn и Ni на прооксидантный статус в клетках и его зависимость от изменений функционального состояния GR-GSH системы, направленных на снижение окислительных повреждений. По-видимому, увеличение уровня GSht, а также соотношения GSH/GSSG и активности GR являются важными антиоксидантными механизмами у растений *M. guttatus* в ответ на совместное действие Zn и Ni.

Литература

Башмакова Е.Б., Пашковский П.П., Радюкина Н.Л., Кузнецов Вл.В. Совместное действие цинка и никеля на состояние глутатионовой системы у растений мимулюса крапчатого // Физиология растений. – 2016. – Т. 63. – С. 668–678.

Митева Л.П.-Е., Иванов С.В., Алексиева В.С. Изменение пула глутатиона и некоторых ферментов его метаболизма в листьях и корнях растений гороха, обработанных гербицидом глифосатом // Физиология растений. – 2010. – Т. 57. – С. 139–145.

Anjum N.A., Ahmad I., Mohmood I., Pacheco M., Duarte A.C., Pereira E., Umarc S., Ahmad A., Khan N.A., Iqbal M., Prasad M.N.V. Modulation of glutathione and its related enzymes in plants' responses to toxic metals and metalloids – a review // Environ. Exp. Bot. – 2012. – V. 75. – P. 307–324.

Di Vaccio D., Kopriva S., Sebastiani L., Rennenberg H. Does glutathione metabolism have a role in the defence of poplar against zinc excess? // New Phytol. – 2005. – V. 167. – P. 73–80.

Freeman J.L., Persans M.W., Nieman K., Albrecht C., Peer W., Pickering I.J., Salt D.E. Increased glutathione biosynthesis plays a role in nickel tolerance in *Thlaspi* nickel hyperaccumulators // Plant Cell. – 2004. – V. 16. – P. 2176–2191.

Griffith O.W. Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinylpyridine // Anal. Biochem. – 1980. – V. 106. – P. 207–212.

Heath R.L., Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation // Arch. Biochem. Biophys. – 1968. – V. 125. – P. 189–198.

Kabata-Pendias A., Pendias H. Trace Elements in Soils and Plants. – Boca Raton, FL.: CRC, 2001. – 331 p.

Krämer U., Clemens S. Functions and homeostasis of zinc, copper, and nickel in plants. In: Molecular Biology of Metal Homeostasis and Detoxification: From Microbes to Man, Tamás M.J., Martinoia E. (eds.) – Berlin: Springer-Verlag, 2005. – P. 215–271.

Noctor G., Mhamdi A., Chaouch S., Han Y., Neukermans J., Marquez-Garcia B., Queval G., Foyer C.H. Glutathione in plants: an integrated overview // Plant Cell Environ. – 2012. – V. 35. – P. 454–484.

Pollard A.J., Powell K.D., Harper F.A., Smith J.A.C. The genetic basis of metal hyperaccumulation in plants // Crit. Rev. Plant Sci. – 2002. – V. 21. – P. 539–566.

Smith I.K., Vierheller T.L., Thorne C.A. Assay of glutathione reductase in crude tissue homogenates using 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid) // Anal. Biochem. – 1988. – V. 175. – P. 408–413.

Szalai G., Kellös T., Galiba G., Kocsy G. Glutathione as an antioxidant and regulatory molecule in plants under abiotic stress conditions // J. Plant Growth Regul. – 2009. – V. 28. – P. 66–80.

Yadav S.K. Heavy metals toxicity in plants: an overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plants // S. Afr. J. Bot. – 2010. – V. 76. – P. 167–179.

**THE CHANGES IN GLUTATHIONE SYSTEM OF ZnSO₄-
WITH NiSO₄-TREATED *MIMULUS GUTTATUS* DC. PLANTS**

E.B. Bashmakova, P.P. Pashkovskiy

K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia,
elenab_77@mail.ru, pashkovskiy.pavel@gmail.com

Abstract. To determine whether the enhanced stress tolerance of ZnSO₄- with NiSO₄-treated *Mimulus guttatus* Fischer ex DC. plants was associated with the glutathione (GR-GSH) system, we investigated the changes in glutathione redox state and in the enzymatic activity of glutathione reductase (GR). Our studies on the Zn–Ni interactions identified the antagonizing role of Ni in Zn toxicity by the GR-GSH system.

Keywords: *Mimulus guttatus*, zinc–nickel interactions, antagonism, redox state, glutathione system

ВЛИЯНИЕ МЕТИЛЖАСМОНАТА НА КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ УРОВЕНЬ И ИММУНОРАСПРЕДЕЛЕНИЕ ФИТОГОРМОНОВ И ЛЕКТИНА ПШЕНИЦЫ ПРИ ОСМОТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ

М.В. Безрукова, А.Р. Лубянова, Д.Р. Масленникова, А.А. Плотников, Ф.М. Шакирова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа, Россия, lectin@anrb.ru

Аннотация. Полученные данные о содержании и иммунолокализации АБК и лектина агглютинаина зародыша пшеницы (АЗП) в тканях корней предобработанных метилжасмонатом (МеЖ) или БАП растений пшеницы, подвергнутых действию ПЭГ, свидетельствуют о влиянии этих фитогормонов на укрепление экзо- и эндодермального транспортного барьеров.

Ключевые слова. АБК, лектин пшеницы, метилжасмонат, цитокинин, ПЭГ

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-123-126

В сценарии климатических изменений засуха определена как основной стресс, влияющий на урожайность сельскохозяйственных культур. Известно, что основным гормоном, который регулирует ответные реакции растений на абиотические стрессы, является АБК. Однако становится все более очевидным, что и другие растительные гормоны, в том числе салициловая кислота и жасмонат, также участвуют в повышении толерантности растений к абиотическим стрессам посредством управления физиологическими и биохимическими процессами. Пристальное внимание к жасмоновой кислоте и ее активному производному метилжасмонату (МеЖ), прежде всего, вызвано их ключевой ролью в развитии индуцированной системной устойчивости. Однако жасмонаты являются эндогенными регуляторами роста с широким спектром физиологического действия на растения в ходе онтогенеза и играют, как показывают многочисленные литературные данные, немаловажную роль в регуляции роста и развитии растительного организма, как в обычных, так и неблагоприятных условиях.

Цель работы состояла в проведении сравнительного анализа влияния 100 нМ МеЖ и синтетического аналога природного цитокинина (ЦК) зеатина 6-бензиаминопурина (БАП) в концентрации 44 нМ на количественный уровень и иммунораспределение лектина агглютинаина зародыша пшеницы (АЗП) и АБК на срезах базальной части корней пшеницы, подвергнутых засухе, моделируемой 12%-ным полиэтиленгликолем (ПЭГ). Гормональной системе отводят ключевую роль в регуляции ростовых процессов растений. Проведенный нами иммуноанализ концентрации фитогормонов в необработанных и в ходе обработки МеЖ или БАП растений в норме выявил на фоне отсутствия сдвигов в уровне ИУК и АБК стойкое двукратное накопление цитокининов в варианте с обработкой БАП и более чем полуторакратное обратимое накопление цитокининов в варианте с обработкой МеЖ с максимумом, приходящимся на 2-4 ч, за счет торможения экспрессии гена и активности цитокининоксидазы, ключевого фермента деградации цитокининов, как было выявлено ранее [Avalbaev et al., 2016]. Воздействие 12%-ного ПЭГ привело к ярко выраженному дисбалансу в гормональной системе, который обусловлен как накоплением АБК, так и значительным падением уровня цитокининов относительно контроля (рис. 1). Вслед за ПЭГ-индуцированным транзиторным накоплением АБК наблюдалось существенное увеличение уровня АЗП с максимумом, приходящимся на третий час обезвоживания, после чего содержание лектина в корнях постепенно снижалось за счет его экскреции в

наружную среду (рис. 2а). Следует подчеркнуть, что максимумы в гормональной индукции экспрессии гена АЗП предшествуют по времени максимумам накопления лектина в корнях пшеницы. Следовательно, существенный вклад в увеличение содержания АЗП под влиянием фитогормонов вносит новообразование этого белка. Вместе с тем, нами были получены сведения об участии в регуляции экспрессии гена АЗП и других фитогормонов на фоне отсутствия сдвигов в уровне эндогенной АБК, в частности, индолиуксусной и гибберелловой кислот [Авальбаев и др., 2001], а также 24-эпибрасинолида [Shakirova et al., 2004]. Обнаружено, что сама обработка проростков БАП или МеЖ вызвала соответственно двух- и полуторакартное накопление АЗП в корнях в нормальных условиях произрастания. Предобработка проростков пшеницы в течение 24 ч МеЖ или БАП уменьшала индуцированный засухой дисбаланс фитогормонов. Корни предобработанных МеЖ или БАП растений, подвергнутых воздействию 12%-ного ПЭГ, характеризовались заметно меньшим уровнем стресс-индуцированного накопления АБК и, соответственно, меньшим по уровню содержанием АЗП в них (рис. 1а), а также в окружающей корню среде (рис. 2а), что демонстрирует проявление защитного действия этих фитогормонов на растения.

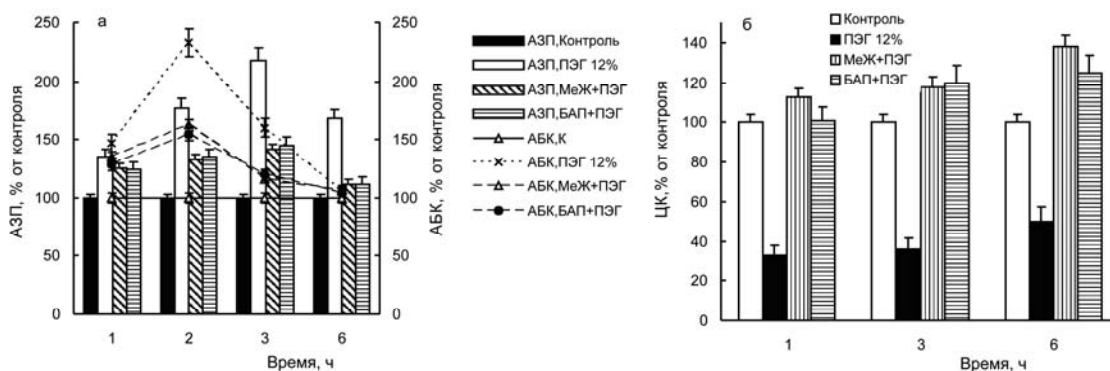


Рис. 1. Динамика изменения уровня АЗП, АБК (а) и ЦК (б) в корнях 5-суточных предобработанных МеЖ и БАП проростков пшеницы в условиях засухи, моделируемой 12%-ным ПЭГ.

Воздействие ПЭГ-индуцированной засухи оказало сильно выраженный негативный эффект на деление клеток апикальной меристемы корней необработанных гормонами проростков (рис. 2б), который проявился в двукратном падении митотического индекса (МИ) уже через 5 ч. В то же время показатели МИ апикальной

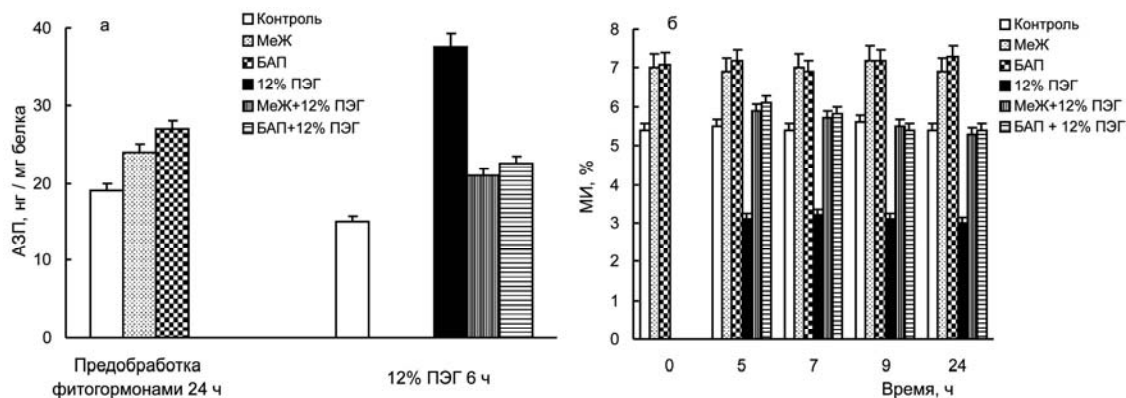


Рис. 2. Влияние предобработки фитогормонами на содержание АЗП в среде выдерживания 5-суточных проростков пшеницы (а) и МИ (б) в условиях ПЭГ-индуцированной засухи.

меристемы корней предобработанных МеЖ или БАП растений в ходе 24 ч воздействия ПЭГ поддерживались на уровне контрольных вариантов, что иллюстрирует ярко выраженный сопоставимый по уровню защитный эффект гормонов на деление клеток.

Таким образом, нами продемонстрирована сопоставимая по уровню рост-стимулирующая и антистрессовая активность МеЖ и БАП на растения, подвергнутые моделируемой ПЭГ засухе, что также свидетельствует в пользу вовлечения эндогенных цитокининов в реализацию физиологического действия МеЖ на растения пшеницы.

Проведенный далее анализ иммунораспределения АЗП и АБК на поперечных срезах базальной части предобработанных МеЖ и БАП корней выявил максимальную локализацию АБК (рис. 3б, в) в области проксимальной части эндодермы, исключая пропускные клетки, перицикла, незрелых сосудов ксилемы, а также паренхимы стели и первичной коры, наиболее заметную в варианте с БАП. Под влиянием 12% ПЭГ количественное накопление АБК сопровождалось концентрированием этого фитогормона во всех тканях базальной части корней; несколько меньшая интенсивность окрашивания выявлена в сосудистых клетках и пропускных клетках эндодермы (рис. 3г). На срезах предобработанных фитогормонами корней пшеницы при действии засухи наблюдалось снижение количественного уровня АБК, а также ее иммунолокализации (рис. 3д, е), особенно заметное в области стелярной паренхимы и пропускных клеток эндодермы. Вариант опыта МеЖ+ПЭГ окрашивался менее интенсивно.

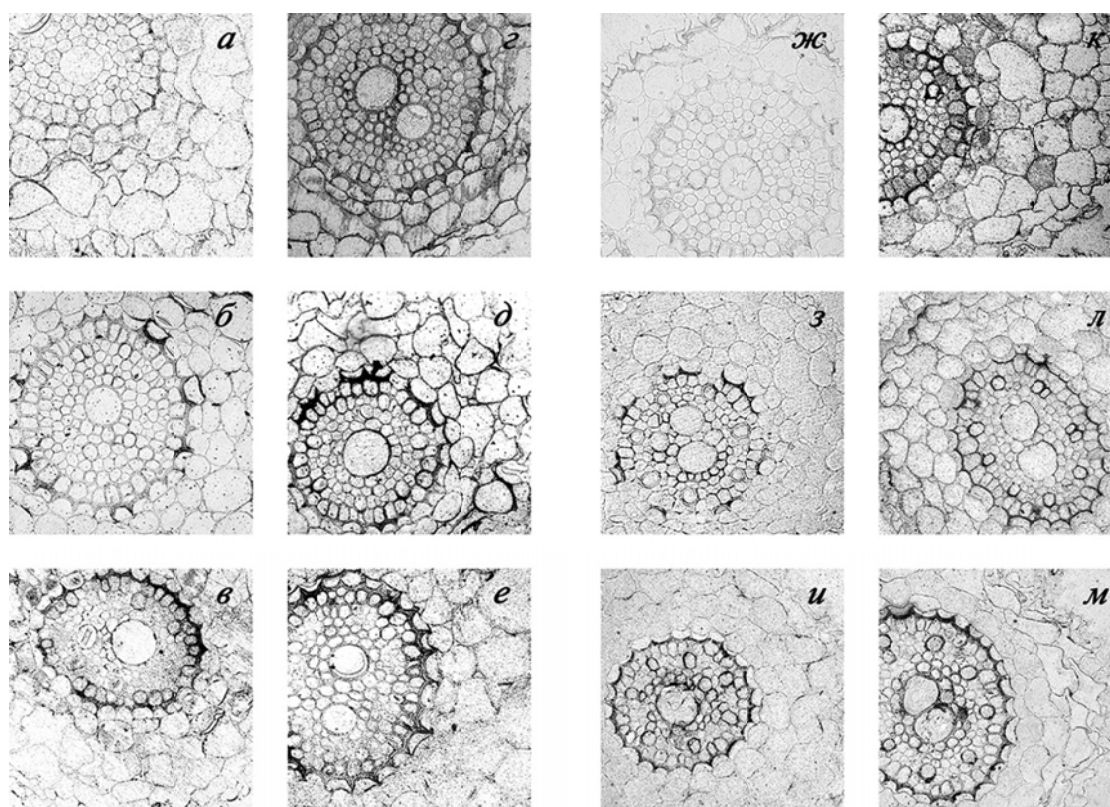


Рис. 3. Иммуногистохимическая локализация АБК (а-е) и АЗП (ж-м) в корнях 5-суточных проростков пшеницы необработанных (а, г, ж, к) и предобработанных МеЖ (б, д, з, л) и БАП (в, е, и, м) в условиях моделируемой 12% ПЭГ засухи.

В отсутствие стресса наблюдалась колокализация АБК и АЗП в корнях. Характер иммуногистохимического распределения АЗП на подвергнутых воздействию ПЭГ срезах отличался интенсивным отложением красителя в области перицикла,

проксимальной части эндодермы, менее значительным в клетках первичной коры, и, в отличие от АБК, стелярной паренхимы (рис. 3к). Под влиянием предобработки фитогормонами накопление АЗП во внутренних кортикальных клетках при стрессе было ниже при сохранении концентрирования его в эндодерме и в значительных количествах в клетках первичной коры (рис. 3л, м).

Полученные данные о содержании и имунораспределении АБК и АЗП в тканях корней предобработанных МеЖ или БАП растений пшеницы, подвергнутых действию ПЭГ, позволяют предположить их влияние на состояние экзо- и эндодермального транспортного барьеров. В пользу этого свидетельствуют данные об ослаблении локализации АБК и АЗП в клетках паренхимы и эндодермы в корнях предобработанных фитогормонами проростков при осмотическом стрессе.

Работа выполнена в рамках госзадания (№ темы АААА-А16-116020350029-1) при частичной поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 17-04-01853_а) с привлечением приборного парка ЦКП «Биомика» (Отделение биохимических методов исследований и нанобиотехнологии РЦКП «Агидель») и УНУ «КОДИНК».

Литература

Авальбаев А.М., Безрукова М.В., Шакирова Ф.М. Множественная гормональная регуляция содержания лектина в корнях проростков пшеницы // Физиология растений. - 2001. - Т. 48. - С. 718-722.

Avalbaev A., Yuldashev R., Fedorova K., Somov K., Vysotskaya L., Allagulova C., Shakirova F. Exogenous methyl jasmonate regulates cytokinin content by modulating cytokinin oxidase activity in wheat seedlings under salinity // J. Plant Physiol. - 2016. - V. 191. - P. 101–110.

Shakirova F.M., Kildibekova A.R., Bezrukova M.V., Avalbaev A.M. Wheat germ agglutinin regulates cell division in wheat seedling roots // Plant Growth Regul. - 2004. - V. 42. - P. 175-180.

THE INFLUENCE OF METHYLJASMONATE ON THE QUANTITATIVE LEVEL AND IMMUNOLocalIZATION OF PHYTOGORMONES AND WHEAT LECTIN UNDER OSMOTIC STRESS

M.V. Bezrukova, A.R. Lubyanova, D.R. Maslennikova, A.A. Plotnikov, F.M. Shakirova

Institute of Biochemistry and Genetics of Ufa Science Centre RAS, Ufa, Russia, lectin@anrb.ru

Abstract. The obtained data on the content and immunolocalization of ABA and wheat germ agglutinin (WGA) in the root tissues of pre-treated methyl jasmonate (MeJa) or BAP of wheat plants exposed to PEG testify to the influence of these phytohormones on the strengthening of exo- and endodermal transport barriers.

Keywords: ABA, wheat germ agglutinin, methyl jasmonate, cytokinin, PEG

ИЗМЕНЕНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ РАСТЕНИЙ ЧАЯ ПОД ВЛИЯНИЕМ СРЕСС-ФАКТОРОВ ВЛАЖНЫХ СУБТРОПИКОВ РОССИИ

О.Г. Белоус, Н.Б. Платонова

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт цветоводства и субтропических культур», Сочи, oksana191962@mail.ru

Аннотация. Активность пероксидазы у растений чая различных сортов и мутантных форм изменяется в зависимости от генотипических особенностей и периода вегетации. По мере усиления стрессовых воздействий идет ингибирование ферментативной активности. Выявлено наличие тесной зависимости между активностью пероксидазы и гидротермическими условиями вегетации (количество осадков, температура и относительная влажность воздуха).

Ключевые слова: чай, пероксидаза, гидротермические факторы, корреляционный анализ
DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-127-129

Как известно, реакции растения на изменившиеся условия среды связаны с изменением его физиологических и биохимических процессов. Не случайно, исследование разнообразных аспектов, связанных с установлением регуляторных механизмов адаптации растений к неблагоприятным условиям среды является актуальным [Мокроносов, 2000]. В адаптивных реакциях растений немаловажную роль играет комплекс антиоксидантных ферментов (каталаза, пероксидаза), принимающий участие в процессах жизнедеятельности [Савич, 1989; Рогожин, 2004; Passardi et al., 2005; Белоус, 2004, 2010; Виноградова, 2013]. Так, высокие температуры и недостаток влаги вызывает формирование окислительного стресса, что в свою очередь, активирует ферментную систему. Это нейтрализует перекисные соединения, образующиеся в клетке при воздействии стрессовых факторов [Apel, Hirt, 2004; Scandalios, 2005].

Чайный куст является растением субтропиков и тропиков, поэтому предъявляет высокие требования к теплу и влаге, особенно атмосферной. Сумма активных температур для вегетации растений не должна быть ниже 3000 – 3500 °С. Годовое количество осадков в среднем – 1534 мм. В то же время, в субтропической зоне Краснодарского края осадки распределяются неравномерно. При необходимом количестве в 500 – 600 мм в течение всего вегетационного периода в отдельные годы их выпадает не более 150 – 200 мм, при этом чаще они имеют ливневый характер. В этой связи, Черноморское побережье Краснодарского края (зона влажных субтропиков) характеризуется проявлением стрессоров летнего периода: постоянно повторяющийся длительный водный стресс на фоне высоких температур воздуха. Растения чая, выращиваемые в данном регионе, находятся под постоянным действием перечисленных стрессоров, именно поэтому изучение формирования ими антиоксидантного защитного механизма является актуальным.

Объекты и методы. В качестве объектов исследования использовали полновозрастные растения чая различных сортов и мутантных форм: Сочи, радиамутант № 3823, радиамутант № 582, мутантная форма № 855, колхимумант № 2264, выращиваемые на опытном коллекционно-маточном участке (посадка 1984 – 1985 гг., пос. Уч-Дере). Контролем служил сорт Колхида.

Активность пероксидазы, как одного из ферментов антиоксидантной системы, определяли в динамике в лаборатории биотехнологии, физиологии и биохимии растений ВНИИЦиСК спектрофотометрическим методом [Ермаков и др., 1987]. Статистическую обработку данных проводили с применением пакета статистических программ STATGRAPHICS Centurion. Оценку достоверности результатов исследований

проводили в трех биологических повторностях минимум на 35 листьях, при 95%-ом уровне надежности.

Результаты и обсуждение. Результаты наших исследований представлены на рисунке. В мае значимая ферментативная активность наблюдалась не у всех опытных образцов, что может быть связано с разным периодом выхода растений из вынужденного покоя в начале вегетации (конец апреля – первая декада мая). В июне после стремительного роста флешей, в жизни чайного растения наступает затухание ростовых процессов – чайный куст как бы отдыхает после активной вегетации, отмечаемой в третьей декаде мая. Нами выявлено, что активность гваякол-пероксидазы в июне была на уровне майского, но с наступлением стрессового периода (июль) у всех сортов и мутантных форм наблюдается активация пероксидазы до 0,763 – 1,163 мг/г (рисунок). В августе, как правило, наблюдается продолжение засухи, начинающейся еще в июле и сопровождающейся повышением температуры воздуха до 30 °С и более, снижением атмосферной влажности до 50-60%, что для чайного растения является даже более ощутимым стрессором, чем недостаток влаги почвенной, и увеличением солнечной инсоляции. По мере усиления стрессовых воздействий идет ингибирование ферментативной активности. Наиболее высокими значениями гваякол-пероксидазы в этот период отличалась форма № 582 (0,753 мг/г), наименьшую активность показала форма № 2264 (0,503 мг/г).

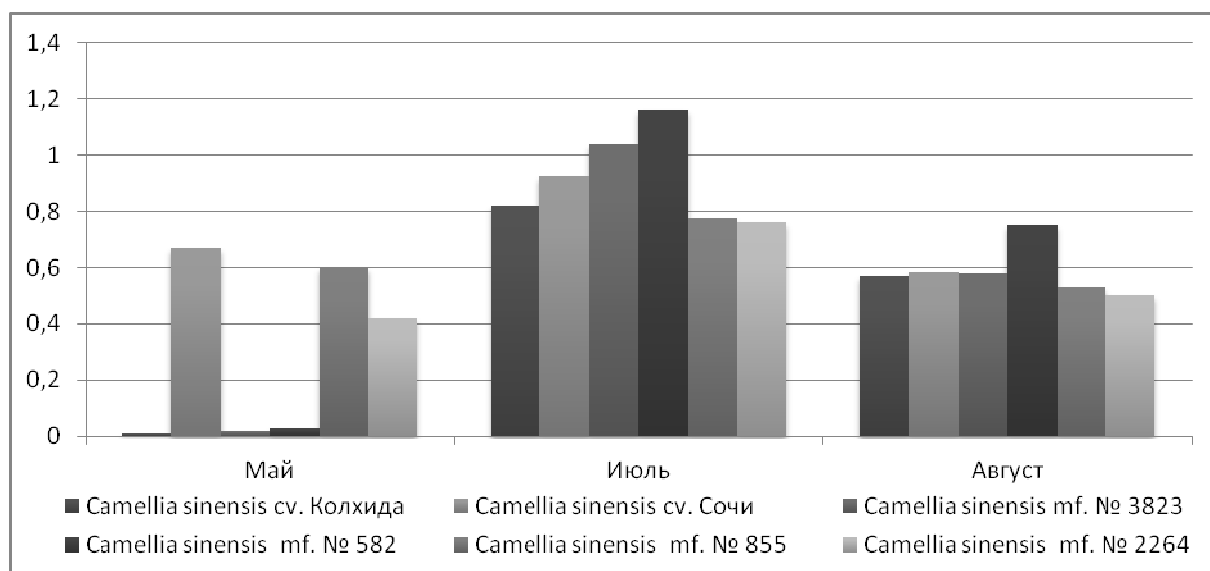


Рисунок. Динамика активности пероксидазы в свежесобранной 3-листной флешей (мг/г), $НСР_{05}=0,22$ (июль); $0,13$ (август).

Проведенный корреляционный анализ данных выявил наличие тесной прямой зависимости между активностью пероксидазы, количеством осадков ($r=0,99$) и относительной влажностью воздуха ($r=0,97$). Обратная корреляция наблюдается между температурой и активностью пероксидазы ($r=-0,93$).

Таким образом, показано, что активность пероксидазы у растений чая различных сортов и мутантных форм изменяется в зависимости от периода вегетации, что связано с гидротермическим режимом и активностью процессов жизнедеятельности растительного организма. Показано, что у растений чая активность пероксидазы максимальна в июле, по мере усиления стрессовых воздействий идет ингибирование ферментативной активности. Причем, растения различных сортов и мутантных форм характеризуются своим уровнем активности гваякол-пероксидазы. Отмечена

зависимость этого процесса не только от генотипических особенностей, но и от гидротермических факторов вегетационного периода.

Литература

Белоус О.Г. Пути повышения адаптивного потенциала растений чая // Успехи современного естествознания. – 2004. – № 4. – С. 139–140.

Белоус О.Г. Ферментативная активность листьев чая во влажных субтропиках России // Субтропическое садоводство России, науч.тр. – Т. 1, вып. 43. — Сочи, ВНИИЦиСК, – 2010. – С. 70–75.

Виноградова Е.Н. Устойчивость пероксидазы из листьев растений техногенных экотопов к действию ингредиентов эмиссий в условиях *in vitro* // Материалы Всероссийской научной конференции «Факторы устойчивости растений в экстремальных природных условиях и техногенной среде» – Иркутск, 2013. – С. 50– 53

Ермаков А.И., Арасенович В.В., Ярош Н.П., Луковникова Г.А. Методы биохимического исследования растений. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 430 с.

Рогожин В.В. Пероксидаза как компонент антиоксидантной системы живых организмов. – С.- Пб.: ГИОРД, 2004. – 240 с.

Савич И.М. Пероксидазы – стрессовые белки растений // Успехи современной биологии. – 1989. – Т. 107, вып. 3. – С. 406–417.

Apel K., Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction // Annual review of plant biology. – 2004. – V. 55. – P. 373–399.

Passardi F., Cosio C., Penel C., Dunandi C. Peroxidases have more functions than a Swiss army knife // Plant Cell Reports. – 2005. – V. 24. – N. 5. – P. 255–265.

Scandalios J.G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses // Braz. J. Med. and Biol. Res. – 2005. – V. 38. – No. 7. – P. 995–1014.

Zolfaghari R., Hosseini S.M., Korori S.A.A. Relationship between peroxidase and catalase with metabolism and environmental factors in Beech (*Fagus orientalis* Lipsky) in three different elevations // International journal of environmental sciences. – 2010. – No. 2. – P. 243–252.

CHANGE OF ENZYME ACTIVITY OF TEA PLANTS UNDER THE INFLUENCE OF STRESS FACTORS OF THE RUSSIA HUMID SUBTROPICS

O.G. Belous, N.B. Platonova

Federal state budgetary scientific institution All-Russian Research Institute of Floriculture and Subtropical Crops, Sochi, Russia, oksana191962@mail.ru

Abstract. The activity of peroxidase in tea plants of different varieties and mutant forms was varied depending on the genotypic characteristics and vegetation period. As the stress increases, the enzymatic activity is inhibited. The close relationship between the peroxidase activity and hydrothermal vegetation conditions (rainfall, temperature and relative humidity) was revealed.

Keywords: tea, peroxidase, hydrothermal factors, correlation analysis

ВКЛАД КРАТКОВРЕМЕННОГО ТЕРМОСТРЕССА В РЕГУЛЯЦИЮ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ И АНТИОКСИДАНТНЫХ ПРОЦЕССОВ У КРАСНЫХ ВОДОРОСЛЕЙ ЯПОНСКОГО МОРЯ

Е.С. Белоциценко, И.М. Яковлева

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Национальный научный центр морской биологии» Дальневосточного отделения РАН, Владивосток, Россия, belotsitsenko_es@mail.ru

Аннотация. Исследованы изменения активности антиоксидантных ферментов и содержания низкомолекулярных антиоксидантов у морских красных водорослей *Ahnfeltiopsis flabelliformis* и *Chondrus pinnulatus* после 3 ч термостресса (26 °С), а также комбинированного высокотемпературного и светового стресса. Обсуждается роль кратковременного повышения температуры воды в регуляции окислительных и антиоксидантных процессов у верхнесублиторальных красных водорослей в летний период.

Ключевые слова: макроводоросли, фотоокислительный стресс, антиоксидантные ферменты, низкомолекулярные антиоксиданты

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-130-134

В умеренных широтах температура является одним из основных абиотических факторов, определяющих географическое распространение морских макроводорослей, их выживание и продуктивность [Bischof, Rautenberger, 2012]. Колебания температурного режима могут вызывать повышение уровня активных форм кислорода (АФК), образование которых, с одной стороны, является неотъемлемой частью фотосинтетических процессов, а, с другой стороны, может быть потенциально опасным для растительных клеток в случае нарушения баланса между продукцией АФК и их нейтрализацией компонентами антиоксидантной системы (АОС) защиты [Lesser, 2012]. К сожалению, сведения о влиянии температурного режима на продуцирование АФК и антиоксидантный ответ водорослей ограничены небольшим количеством работ, выполненных, главным образом, на макроводорослях Арктики и Атлантического побережья [Bischof, Rautenberger, 2012], а также макрофитах тропиков [Lesser, 2012]. Кроме того, изменения уровня продукции АФК и антиоксидантного ответа макроводорослей, вызванные кратковременным повышением температуры воды, могут играть значительную роль в формировании стресс-устойчивости видов в условиях дополнительной нагрузки других факторов среды, в частности, при действии яркого света, как это было показано ранее для микроводорослей [Lesser, 2012]. Поэтому целью настоящей работы было исследование регуляции ферментативной и низкомолекулярной систем детоксикации АФК у макроводорослей умеренных широт в условиях кратковременного колебания температурного и светового режима на мелководье в летний период.

В качестве модельных организмов были выбраны широко распространенные красные водоросли *Ahnfeltiopsis flabelliformis* (Harv.) Masuda и *Chondrus pinnulatus* (Harvey) Okamura, прикрепленные формы которых собирали в летний период из естественных незатененных мест обитания в Амурском заливе (Японское море) на глубине 1.5 м. Температура в месте сбора составляла 22 °С. После 3-х дневной приакклимации в лабораторных условиях (22 °С ±0.5 °С; 41 Вт/(м² сек); 12ч:12ч) водоросли помещали в эксперименты, описанные ниже. В первом эксперименте (термостресс) в условиях лаборатории водоросли экспонировали 3 ч при низкой освещенности 41 Вт/(м² сек), которая насыщала, но не ингибировала фотосинтез, и температуре 26 °С, которая соответствовала максимальному прогреву воды на мелководье Амурского залива в типичный летний

солнечный день. Во втором эксперименте (комбинированный стресс) в течение 3 ч водоросли экспонировали на ярком свете (ФАР 350- 385 Вт/(м² сек), УФА 24-27 Вт/(м² сек); УФБ 1.3-1.9 Вт/(м² сек) под открытым небом (НИЦМБ, г. Владивосток) при 26 °С. Поддержание температуры в экспериментах обеспечивали термостатированные аквариумы. После проведения стрессовых экспозиций водоросли возвращали в исходные условия (22 °С ±0.5 °С; 41 Вт/(м² сек); 12ч:12ч) для наблюдения за процессом восстановления. В течение экспериментов контрольные образцы водорослей культивировали в условиях преаклимации. У контрольных и экспериментальных образцов анализировали скорость фотосинтеза, активность АОС и содержание малонового диальдегида (МДА), перекиси водорода (H₂O₂) после 3 ч стрессовых экспозиций, а также через 20 ч постстрессового периода. Максимальную скорость потенциального фотосинтеза (P_{max}) водорослей регистрировали стандартными методами оксиметрии [Granbom et al., 2001]. Активность супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), аскорбатпероксидазы (АПО) и содержание аскорбата (АсК), глутатиона (ГЛ) анализировали согласно [Яковлева, Белоциценко, 2017]. Для оценки устойчивости водорослей к окислительному стрессу определяли содержание МДА [Kamal et al., 1989] и H₂O₂ [Velikova et al., 2000]. Все анализы проводили в 4-х кратной биологической повторности. Достоверность различий оценивали с помощью критерия Стьюдента для независимых переменных (*t*-test) при равных объемах выборок и дисперсий. Представленные значения соответствуют средним и их стандартным отклонениям (SD); различия считали значимыми при $P < 0.05$.

Сравнительный анализ антиоксидантного статуса верхне-сублиторальных водорослей Японского моря: *A. flabelliformis* и *C. pinnulatus*, показал, что активность СОД, КАТ и содержание АсК, ГЛ были выше в тканях анфельтиопсиса (табл. 1). В активности АПО и содержании МДА и H₂O₂ статистически значимых различий между видами обнаружено не было (табл. 1).

Таблица 1.

Активность АОС и уровень маркеров окислительного стресса у контрольных образцов водорослей

Вид	СОД,	КАТ,	АПО,	АсК,	ГЛ,	МДА,	H ₂ O ₂ ,
	отн. ед./г с.в.	отн. ед./г с.в.	отн. ед./г с.в.	мкмоль/г с.в.	мкмоль/г с.в.	нмоль/г с.в.	нмоль/г с.в.
<i>A. flabelliformis</i>	73.8 ^a	77.2 ^a	3.4 ^a	1.36 ^a	0.62 ^a	7.14 ^a	56 ^a
<i>C. pinnulatus</i>	54.2 ^b	39.1 ^b	3.2 ^a	0.86 ^b	0.23 ^b	6.54 ^a	61 ^a

Примечание. В таблице представлены среднеарифметические значения. Одинаковые буквенные индексы, расположенные справа от значений, показывают отсутствие статистически значимых различий между значениями параметра у исследованных видов, при $P < 0.05$. SD не превышало 15%, при $n=4$. с.в. – сухой вес.

В условиях комбинированного стресса (КС: высокая инсоляция; 26 °С) для обоих видов было отмечено характерное снижение максимальной скорости фотосинтеза, P_{max} (табл. 2) и накопление в тканях МДА и H₂O₂ (табл. 2). Однако, в постстрессовый период, у *A. flabelliformis* уровни P_{max} , МДА и H₂O₂ не превышали контрольные значения (табл. 2), тогда как у *C. pinnulatus* восстановление этих показателей до уровня контроля не происходило (табл. 2). Таким образом, изученные виды характеризуются разной степенью устойчивости к совместному действию кратковременного повышения температуры воды и высокой инсоляции. У стресс-чувствительного *C. pinnulatus* интенсификация окислительных процессов в условиях КС могла быть вызвана постэкспозиционной инактивацией СОД (рис. 1А) и снижением содержания АсК (рисунок, Г). Обращает внимание дальнейшее падение содержания АсК, сопровождающееся инактивацией АПО у этого вида в постстрессовый период

(рисунок, А, Г), что может указывать на истощение пула АсК вследствие нарушения процессов его ресинтеза [Asada, 1999]. У стресс-устойчивого *A. flabelliformis* наблюдаемое снижение фотоокислительной нагрузки в постстрессовый период, по-видимому, было обусловлено 2-3-х кратным повышением активности антиоксидантных ферментов (рисунок, А-В) и накоплением АсК, ГЛ при действии КС (рисунок, Г, Д).

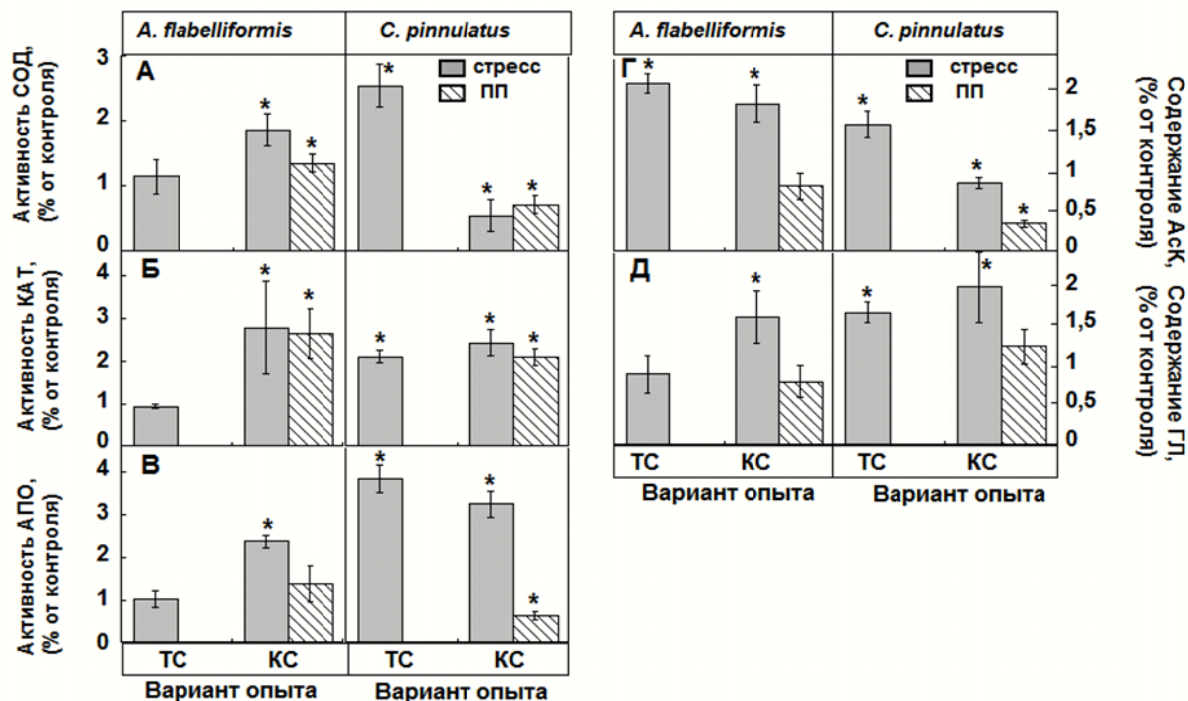


Рисунок. Активность СОД (А), КАТ (Б), АПО (В) и содержание АсК (Г), ГЛ (Д) у водорослей после термостресса, (ТС: слабый свет; 26 °С) или комбинированного стресса (КС: высокая инсоляция; 26 °С) и постстрессового периода (ПП: слабый свет; 22 °С). Данные представлены в единицах относительно контроля (см. материалы и методы). *отличие статистически значимо по отношению к контролю при $P < 0.05$.

Принимая во внимание высокую устойчивость обоих видов к световому стрессу в диапазоне комфортных температур: 15-20 °С [Белоциценко, 2015], мы предполагаем, что разная устойчивость *A. flabelliformis* и *C. pinnulatus* к КС была обусловлена различием в реакции их АОС на повышение температуры воды.

Таблица 2.

Максимальная скорость потенциального фотосинтеза (P_{max}) и содержание МДА, H_2O_2 у водорослей после термостресса, (ТС: низкий свет; 26 °С) или комбинированного стресса (КС: высокая инсоляция; 26 °С) и постстрессового периода (ПП: низкий свет; 22 °С).

Вид	P_{max}			МДА			H_2O_2		
	Вариант опыта			Вариант опыта			Вариант опыта		
	ТС	КС	ПП	ТС	КС	ПП	ТС	КС	ПП
<i>A. flabelliformis</i>	0.828*	0.606*	1.040	1.050	1.366*	0.989	0.895	1.877*	1.116
<i>C. pinnulatus</i>	0.523*	0.256*	0.445*	1.567*	2.243*	1.955*	1.866*	3.064*	2.677*

Примечание. Данные представлены в единицах относительно контроля (см. материалы и методы). На рисунке приведены среднеарифметические значения, n=4. *отличие статистически значимо по отношению к контролю при $P < 0.05$.

Действительно, в условиях термостресса (26 °С), при уровне освещенности насыщающем, но не ингибирующем фотосинтез *A. flabelliformis* и *C. pinnulatus*, повышение уровней МДА, H₂O₂ (табл. 2) и активация антиоксидантных ферментов (рисунок, А-В) были отмечены только у хондруса.

Это свидетельствует о развитии окислительного стресса у этой водоросли и ее повышенной чувствительности к тепловому воздействию [Choo et al., 2004]. Повидимому, подобная тенденция объясняется изначально низким конститутивным уровнем активности АОС у *C. pinnulatus* по сравнению с *A. flabelliformis* (табл. 1), что может быть связано с зонально-географической дифференциацией этих видов [Яковлева, Белоциценко, 2017].

Таким образом, отмеченные нами различия в функционировании АОС низкобореального *C. pinnulatus* и низкобореально-тропического-нотального *A. flabelliformis* в условиях высокой инсоляции и повышенной температуры воды в летний период могут свидетельствовать о том, что способность к реализации антиоксидантного потенциала водорослей одной глубины обитания, но различного широтного распространения, определяется их генетически закрепленным диапазоном толерантности к температуре.

Работа выполнена в рамках госбюджетной темы ННЦМБ ДВО РАН (НИР 0268-2018-0006).

Литература

Белоциценко Е.С. Устойчивость морских макроводорослей к фото-окислительному стрессу в условиях флуктуации температуры: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Владивосток: ДВО РАН, ИБМ. – 2015. – 28 с.

Яковлева И.М., Белоциценко Е.С. Антиоксидантный потенциал массовых видов макроводорослей Японского моря // Биология моря. – 2017. – Т. 43, № 5. – С. 372–382.

Asada K. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons // Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. – 1999. – V. 50. – P. 601–639.

Bischof K., Rautenberger R. Seaweed responses to environmental stress: reactive oxygen and antioxidative strategies // Ecological studies. – 2012. – V. 219. – P. 109–132.

Choo K.S., Nilsson J., Pedersen M., Snoeijjs P. Photosynthesis, carbon uptake and antioxidant defense in two coexisting filamentous green algae under different stress conditions // Mar. Ecol. Prog. Ser. – 2005. – V. 292. – P. 127–138.

Granbom M., Pedersén M., Kadel P., Lüning K. Circadian rhythm of photosynthesis in the red macroalga *Kappaphycus alvarezii*: dependence on light quantity and quality // J. Phycol. – 2001. – V. 37. – P. 1020–1025.

Kamal A.A., Goma A., el Khafif M., Hammad A.S. Plasma lipid peroxides among workers exposed to silica or asbestos dusts // Env. Res. – 1989. – V. 49. – P. 173–180.

Lesser M.P. Oxidative stress in tropical marine ecosystems // In: Abele D., Vazquez-Medina J.P., ZentenoSavin T. (eds), Oxidative Stress in Aquatic Ecosystems. – V. 1. – Wiley-Blackwell, Oxford. – P. 9–19.

Velikova V., Yordanov I., Edreva A. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated Bean Plants: Protective Role of Exogenous Polyamines // Plant Sci. – 2000. – V. 151. – P. 59–66.

**IMPACT OF SHORT-TERM THERMAL STRESS ON OXIDATIVE AND
ANTIOXIDANT REGULATION IN THE RED MACROALGAE
FROM THE SEA OF JAPAN**

E.S. Belotsitsenko, I.M. Yakovleva

Institute of Marine Biology, Vladivostok, Russia, *belotsitsenko_es@mail.ru*

Abstract. Changes in the activity of antioxidant enzymes and low-weight molecular antioxidants in the red macroalgae *Ahnfeltiopsis flabelliformis* and *Chondrus pinnulatus* after 3h exposure to thermal stress (26 °C) and after combined thermal and high light stress were investigated. Contribution of the increased temperature for the regulation of oxidative and antioxidant processes in the upper-subtidal red macroalgae during summer is discussed.

Keywords: *macroalgae, photooxidative stress, antioxidative enzymes, low-weight molecular antioxidants*

СЕЗОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ В ХВОЕ ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ ИНТРОДУКЦИИ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА *CUPRESSACEAE*

И.Г. Богачёв¹, Е.С. Белоциценко²

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ботанический сад-институт Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток, Россия, *ily-bogachev@yandex.ru*

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Национальный научный центр морской биологии» Дальневосточного отделения РАН», Владивосток, Россия, *belotsitsenko_es@mail.ru*

Аннотация. Исследована сезонная динамика содержания фотосинтетических пигментов и малонового диальдегида у четырех представителей семейства *Cupressaceae*: *Chamaecyparis pisifera*, *Platycladus orientalis*, *Microbiota decussata* и *Thuja occidentalis*. Обсуждается роль функциональных изменений фотосинтетического аппарата исследованных видов в обеспечении устойчивости перспективных для интродукции представителей сем. *Cupressaceae* к условиям Южного Приморья

Ключевые слова: *Cupressaceae*, фотосинтетические пигменты, малоновый диальдегид, сезонная динамика

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-135-138

Функциональное состояние фотосинтетического аппарата (ФСА) растений имеет критическую значимость для обеспечения жизнедеятельности автотрофных организмов [Рубин, Кренделева, 2003]. Интенсивность и направленность ассимиляционных процессов растений в течение года во многом определяются количеством и соотношением пигментов их ФСА, адаптационные перестройки которого в ответ на сезонные колебания факторов среды способствуют поддержанию в растительном организме нормального уровня первичной продукции. К сожалению, сведения о сезонной акклиматизации пигментного аппарата близкородственных видов вечнозелёных растений из разных ботанико-географических зон в условиях интродукции единичны и сосредоточены на представителях рода *Picea* Среднего Урала [Овсянников, 2015]. Целью настоящей работы было сравнительное изучение количественных изменений фотосинтетических пигментов у перспективных для интродукции представителей семейства кипарисовые в течение их вегетационного цикла в условиях Южного Приморья.

Объектами настоящего исследования были выбраны четыре высокодекоративных представителя семейства *Cupressaceae*. Три из них – *Thuja occidentalis*, *Chamaecyparis pisifera*, *Platycladus orientalis* являются интродуцентами, перспективными для озеленения городских насаждений. В климатических условиях Южного Приморья эти виды подвержены весеннему повреждению хвои (визуальные наблюдения). Четвертый вид – *Microbiota decussata* является представителем флоры Дальнего Востока и привлечен к исследованию в качестве фонового вида. Количественное определение пигментов: хлорофиллов а (Хл а) и b (Хл б), а также каротиноидов (Кар) проводили ежемесячно с февраля 2012 по январь 2013 гг. Параллельно оценивали содержание малонового диальдегида (МДА), как индикатора уровня перекисного окисления липидов в хвое изучаемых видов. Для анализа использовали незатененные образцы хвои из средней части кроны, сбор производили в утренние часы. Для определения содержания Хл а, Хл б, Кар использовали спектрофотометрический анализ с использованием методических разработок [Lichtenthaler, 1987]. Уровень МДА

определяли в соответствии с методикой [Heath, Packer, 1968]. Содержания Хл *a*, Хл *b*, Кар выражали в мг/(г сыр. веса), МДА – в мкмоль/(г сыр. веса). В течение сезона оценивали среднемесячные значения дозы физиологически активной радиации (ФАР) и температуры воздуха. Наиболее холодный в течение года период – с декабря по февраль, на него же приходится и минимальные значения ФАР. Наиболее теплые месяцы – август и сентябрь, высокие показатели ФАР в летний период наблюдались с апреля по август.

Выявленная сезонная динамика содержания Хл *a* и *b* в хвое исследуемых видов позволяют отнести изученные виды растений к группе светолюбивых (рисунок).

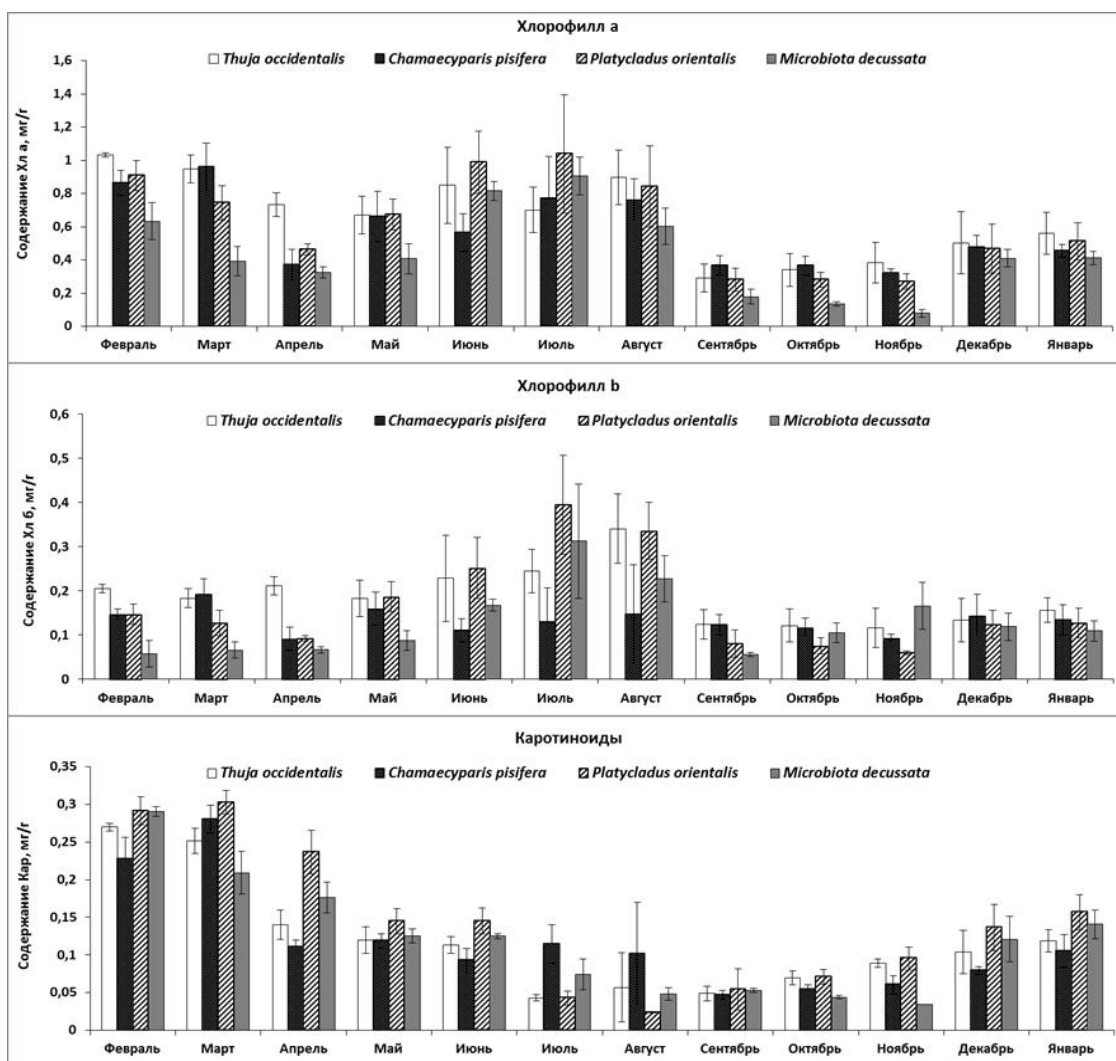


Рисунок. Содержание Хл *a*, Хл *b* и Кар у представителей сем. Кипарисовые в течение года. Представлены среднеарифметические значения, \pm SD.

Отмечено низкое содержание хлорофиллов в хвое исследуемых видов в мае по сравнению с летне-осенним периодом. Понижение концентрации хлорофиллов весной часто связывают с началом ростовых процессов [Яцко и др., 2009]. Осенью, когда ростовые процессы у хвойных замедляются, у всех видов наблюдали увеличение концентрации пигментов в хвое. С наступлением зимы у исследуемых видов отмечали тенденцию к уменьшению доли хлорофиллов в светособирающем комплексе (ССК) и возрастанию концентрации рассеивающих избыток солнечной энергии каротиноидов, что свидетельствует о снижении светособирающей функции пигментного комплекса

под воздействием неблагоприятных условий зимы [Рубин, Кренделева, 2003]. Сведения о возрастании концентрации каротиноидов в пигментном аппарате вечнозеленых растений в ответ на действие низких температур и/или высокой инсоляции описаны в работе [Ходасевич, 1982].

Максимальные годовые значения МДА у всех исследуемых видов зарегистрированы в ранневесенний период, в марте (таблица). При этом у *Chamaecyparis pisifera* и *Platycladus orientalis* эти показатели превышали таковые у *Microbiota decussata* и *Thuja occidentalis*, что свидетельствует о большей степени подверженности этих видов окислительному стрессу ранней весной.

Таблица.

Содержание малонового диальдегида (МДА) у представителей сем. Кипарисовые в течение их вегетационного цикла

Вид	Месяц											
	Февр.	Март	Апр.	Май	Июнь	Июль	Авг.	Сент.	Окт.	Нояб.	Дек.	Янв.
<i>Microbiota decussata</i>	0.065 ^a	0.176 ^b	0.035 ^B	0.055 ^a	0.038 ^B	0.046 ^B	0.036 ^B	0.065 ^a	0.058 ^a	0.073 ^a	0.032 ^B	0.039 ^B
<i>Platycladus orientalis</i>	0.093 ^a	0.254 ^b	0.052 ^B	0.068 ^Г	0.071 ^Г	0.058 ^Г	0.067 ^Г	0.070 ^Г	0.074 ^Г	0.083 ^Г	0.086 ^Г	0.074 ^Г
<i>Chamaecyparis pisifera</i>	0.173 ^a	0.340 ^b	0.075 ^B	0.080 ^B	0.045 ^Г	0.148 ^a	0.081 ^B	0.069 ^B	0.127 ^Л	0.063 ^B	0.118 ^Л	0.071 ^B
<i>Thuja occidentalis</i>	0.063 ^a	0.129 ^b	0.043 ^B	0.043 ^B	0.055 ^{ab}	0.046 ^B	0.031 ^Г	0.030 ^Г	0.042 ^B	0.049 ^B	0.054 ^{ab}	0.054 ^{ab}

Примечание. В таблице представлены среднеарифметические значения (n=3-4). Одинаковые буквенные индексы, расположенные справа от значений, показывают отсутствие статистически достоверных различий между значениями параметра в разные месяцы, при $P < 0.05$. Содержание МДА выражено в мкмоль/(г сыр. веса).

Исходя из полученных данных, критическим периодом в сезонном цикле изучаемых видов является февраль – март. В это время уровень окислительного стресса наивысший для всех видов. Это обуславливается возрастающей интенсивностью солнечной радиации в этот период в условиях отсутствия доступной капельножидкой воды в ризосфере [Яцко и др., 2009]. Также эта ситуация усугубляется нестабильным и довольно поздним снежным покровом, который не защищает почву от глубокого промерзания и не обеспечивает запас воды при таянии. Минимальные и максимальные значения пигментов ФСА достигаются видами в разные периоды вегетации, что отображает их различные генетически обусловленные адаптации к своим естественным экологическим условиям.

Полученные данные, возможно, использовать не только с точки зрения оценки индивидуальной адаптации и функционального состояния растений в течение года, но и для выбора оптимальных периодов проведения различных агротехнических работ при культивировании этих видов (пересадка, установка и снятие укрытий, вегетативное размножение, применение препаратов и удобрений).

Литература

Овсянников А.Ю. Сезонная структурно-функциональная трансформация фотосинтетического аппарата хвои *Picea pungens* Engl. и *P. obovata* Ledeb. на территории Ботанического сада УРО РАН (г. Екатеринбург): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Екатеринбург: ФГБУН Ботанический сад УРО РАН, 2015. – 282 с.

Рубин А.Б., Кренделева Т.Е. Регуляция первичных процессов фотосинтеза // Успехи биологической химии. – 2003. – Т. 43. – С. 225–266.

Ходасевич Э.В. Фотосинтетический аппарат хвойных: Онтогенетический аспект. – Мн: Наука и техника, – 1982. – 199 с.

Яцко, Я.Н., Дымова, О.В., Головкин, Т.К. Пигментный комплекс зимне- и вечнозеленых растений в подзоне средней тайги европейского Северо-Востока // Ботанический журнал. – 2009. – Т.94, № 12. – С. 1812–1820.

Heath R.L., Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation // Arch. Biochem. Biophys. – 1968 – V.125. – P. 189–198.

Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and carotenoids, the pigments of photosynthetic biomembranes // In: Methods Enzymol. (Douce, R. and Packer, L. (eds)). – V. 148. – Academic Press Inc., New York, 1987. – 350–382.

SEASONAL CHANGES OF THE PHOTOSYNTHETIC PIGMENT CONTENTS IN NEEDLES OF PERSPECTIVE FOR INTRODUCTION MEMBERS OF THE FAMILY *CUPRESSACEAE*

I.G. Bogachev¹, E.S. Belotsitsenko²

¹Botanical Garden-Institute FEB RAS, Vladivostok, Russia, *ily-bogachev@yandex.ru*

²Institute of Marine Biology, Vladivostok, Russia, *belotsitsenko_es@mail.ru*

Abstract. The seasonal dynamics of photosynthetic pigments and concentrations of malondialdehyde in four species of the *Cupressaceae* family (*Chamaecyparis pisifera*, *Platycladus orientalis*, *Microbiota decussate* и *Thuja occidentalis*) were investigated. The role of photosynthetic apparatus functional changes of the studied species for the stability of perspective for introduction members of the family *Cupressaceae* is discussed.

Keywords: *Cupressaceae*, photosynthetic pigments, malondialdehyde, seasonal dynamics

ОЦЕНКА ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ РЕЛИКТОВОГО ВИДА *GLOBULARIA PUNCTATA* В УСЛОВИЯХ СРЕДНЕГО ПОВОЛЖЬЯ

Е.С. Богданова, О.А. Розенцвет

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт экологии Волжского бассейна Российской академии наук, Тольятти, Россия, cornales@mail.ru

Аннотация. Исследован пигментный и липидный состав реликтового растения *Globularia punctata* Лареуг, произраставшего в двух ценопопуляциях (ЦП) в национальном парке «Самарская Лука» (Самарская обл.). Выявлено, что листья растений, произраставшие на более сухих почвах, содержали меньше зеленых пигментов. Установлено, что в листьях растений обеих ЦП качественный и количественный состав липидов был одинаковым.

Ключевые слова: *Globularia punctata*, жирные кислоты, липиды, пигменты

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-139-142

Реликтовые растения – живые ископаемые, дошедшие до настоящего времени из древних эпох без существенных изменений, в составе современного растительного покрова. Являясь историческим компонентом флоры, растения имеют ограниченный диапазон расселения, вследствие чего имеют низкую степень встречаемости и незначительные площади популяций. К таким растениям относится шаровница крапчатая, или глобулярия точечная (*Globularia punctata* Лареуг.) сем. *Globulariaceae* – редкий, исчезающий вид, занесен в Красную книгу. *G. punctata* многолетнее травянистое, раноцветущее растение, принадлежит к группе неогеновых реликтов, эндемиков [Чап, Киселева, 2014]. В экологическом плане растения данного вида относятся к ксеромезофитам, гелиофитам, кальцефитам. Ареал вида дизъюнктивный с основной частью в Атлантической, Средней, Южной Европе и Средиземноморья. У растений сем. *Globulariaceae* отмечается строгая приуроченность к условиям горной карбонатной злаковой степи, предпочтение к склонам южной и юго-западной экспозиции, каменистым склонам с развитыми оползневыми процессами [Саксонов и др., 2005; Малиновская, 2014].

В ходе эволюции у высших растений выработались разнообразные морфологические, физиологические и биохимические механизмы, направленные на адаптацию к определенным условиям произрастания. К таким механизмам можно отнести модификацию мембранных структур и изменение скорости и направленности метаболизма входящих в их состав соединений [Rozentsvet et al., 2016]. Важную информацию о состоянии клеток несут мембранные липиды, а также соответствующие им жирные кислоты (ЖК), поскольку они являются важнейшими компонентами каждой живой клетки и имеют большое структурное разнообразие в сочетании с высокой биологической специфичностью.

Пигментная система растений является основой для фотосинтетического преобразования солнечной энергии в энергию химических связей. Основными фотосинтетическими пигментами являются хлорофиллы (Хл), а каротиноиды (Кар) передают дополнительную энергию на Хл, выполняя светособирающую функцию, и отводят избыточную энергию от Хл – светозащитную функцию.

Следует отметить, что исследований, посвященных изучению представителей реликтовой флоры, крайне мало.

Целью работы было оценить физиолого-биохимические параметры *G. punctata* в условиях Среднего Поволжья.

Растения отбирали в двух ценопопуляциях (ЦП-1) и (ЦП-2) в национальном парке «Самарская Лука» (Самарская обл.) на степных слабо нарушенных каменистых склонах. Влажность и кислотность почвенного субстрата в местах произрастания существенно различались. Так, значения рН и влажности почвенного раствора на участке ЦП-1 составляли 7,8 и 11,6%, соответственно. Почва на участке ЦП-2 была более щелочная (8,3) и менее увлажнена (3,4%).

Физиолого-биохимическое состояние исследованных растений оценивали по параметрам фотосинтетического аппарата, а также содержанию и составу липидов. Сравнительный анализ пигментного пула показал, что листья растений ЦП-2, произраставшие на более сухих почвах, содержали меньше зеленых пигментов (1,2 мг/г), чем растения ЦП-1 (1,5 мг/г). При этом содержание Кар в листьях растений обеих ЦП было одинаковым и составляло 0,1 мг/г сухой массы (рисунок). Общее содержание пигментов в исследованных растениях не отличалось от растений опустыненных степей Поволжья [Иванов и др., 2013].

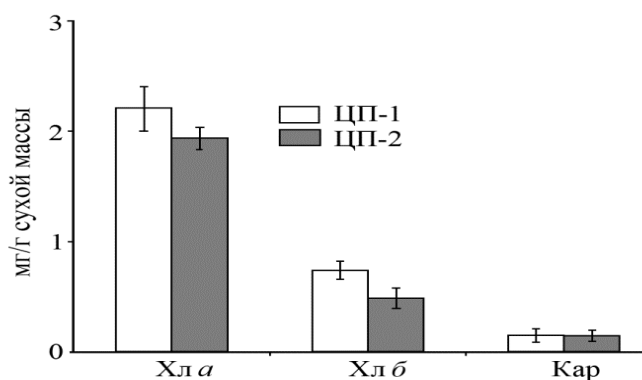


Рисунок. Содержание пигментов в листьях растений *G. punctata*.

Суммарное содержание липидов в листьях растений составляло 50,2 и 48,7 мг/г сухой массы, соответственно. Показательным является анализ соотношения липидных групп: гликолипидов (ГЛ), фосфолипидов (ФЛ), характеризующих разный тип клеточных мембран, а также нейтральных липидов (НЛ) – один из источников метаболического и энергетического резерва клетки. Выявлено, что листья растений обеих популяций в большей степени накапливали ГЛ (30,0–32,8 мг/г сухой массы), что составляло 69,7–67,2% от суммы липидов. За ними следовали НЛ (11,3–16,3 мг/г сухой массы) (табл. 1). Количественное содержание ФЛ было минимальным и не превышало 10% от общей суммы липидов.

В состав индивидуальных ФЛ листьев *G. punctata* значительный вклад вносит фосфатидилхолин (ФХ). Содержание данного класса липидов составляло 72,4–73,5% от суммы ФЛ, что существенно выше в сравнении с большинством высших растений. Относительное содержание фосфатидилглицерола (ФГ) и фосфатидилинозита (ФИ) в листьях растений обеих ЦП было приблизительно равным 10,5–12,5%. Доля фосфатидилэтаноламина (ФЭ) не превышала 7%.

Особенностью состава ГЛ *G. punctata* является высокое содержание дигалактозилдиацилглицерола (ДГДГ) – 48,0% от суммы ГЛ, при относительно низком значении моногалактозилдиацилглицерола (МГДГ) – 34,9–38,0%. Содержание сульфохиновозилдиацилглицерола (СХДГ) составляло 13,9 и 17,4%, соответственно.

Таблица 1.

Содержание липидов в листьях растений *G. punctata*

Липиды	ЦП-1	ЦП-2
мг/г сухой массы		
ГЛ	30,0±0,5	32,8±0,6
ФЛ	3,9±0,8	4,7±0,5
НЛ	16,3±0,3	11,3±0,2
% от суммы ФЛ		
ФХ	72,4±0,3	73,5±0,4
ФЭ	5,0±0,5	6,3±0,3
ФГ	12,5±0,4	10,8±0,85
ФИ	11,4±0,3	10,5±0,5
% от суммы ГЛ		
МГДГ	34,9±0,9	38,0±0,5
ДГДГ	47,7±0,6	48,1±0,5
СХДГ	17,4±0,3	13,9±0,8

Данные табл. 2 показывают, что состав ЖК исследованных растений обогащен ненасыщенными ЖК (ННЖК) (76,0–78,0% от суммы ЖК). Доминирующими кислотами были олеиновая (10,1–10,9%), линолевая (19,5–23,8%) и линоленовая (40,8–46,3%) кислоты. Среди насыщенных ЖК (НЖК) преобладала пальмитиновая кислота (16,4–18,6%).

Таблица 2.

Содержание жирных кислот (% от суммы ЖК) в листьях растений *G. punctata*

Жирные кислоты	ЦП-1	ЦП-2
Миристиновая	2,1±0,1	1,4±0,4
Пальмитиновая	18,6±0,5	16,4±0,3
Пальмитоолеиновая	0,1±0,1	1,2±0,1
Стеариновая	2,2±0,2	3,0±0,3
Олеиновая	10,1±0,1	10,9±0,8
Линолевая	23,8±0,6	19,5±0,4
Линоленовая	40,8±0,6	46,3±0,3
Бегеновая	0,2±0,1	0,2±0,1
Лигноцериновая	0,2±0,1	0,2±0,1
Другие ЖК	1,9±0,8	1,1±0,1
НЖК	24,0	22,0
ННЖК	76,0	78,0

В таблице представлены результаты кислот, содержание которых превышало 0,1% от суммы ЖК.

На основе исследования физиолого-биохимического состояния растений двух ЦП, реликтового вида *G. punctata* в условиях Среднего Поволжья выявлены количественные различия в содержании зеленых пигментов, в то время как качественный и количественный состав липидов оставался неизменным.

Литература

Иванов Л.А., Иванова Л.А., Ронжина Д.А., Юдина П.К. Изменение содержания хлорофиллов и каротиноидов в листьях степных растений вдоль широтного градиента на Южном Урале // Физиология растений. – 2013. – Т. 60, № 6. – С. 856–864.

Малиновская Е.Н. О распространении *Globularia punctata* Lapeyr., Globulariaceae в бассейне р. Сок (Самарская область) // Экология и география растений и растительных сообществ Среднего Поволжья. Материалы III научной конференции "Исследования растительного мира Самарско-Ульяновского Поволжья". – 2014. – С. 281–286.

Саксонов С.В., Кузнецова М.Н., Лобанова А.В., Конева Н.В. Жизненная стратегия и онтогенез шаровницы крапчатой (*Globularia punctata*, Globulariaceae) в условиях реликтового ареала // Теоретические проблемы экологии и эволюции (Четвертые Люблинские чтения). – 2005. – С. 191–202.

Чап Т.Ф., Киселева Д.С. *Globularia punctata* Lapeyr на Самарской Луке // Экология и география растений и растительных сообществ Среднего Поволжья. Материалы III научной конференции "Исследования растительного мира Самарско-Ульяновского Поволжья". – 2014. – С. 410–415.

Rozentsvet O., Grebenkina T., Nesterov V., Bogdanova E. Seasonal dynamic of morpho-physiological properties and the lipid composition of *Plantago media* (Plantaginaceae) in the Middle Volga region // Plant Physiology and Biochemistry. – 2016. – V. 104. – P. 92–98.

PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS FOR EVALUATION OF THE *GLOBULARIA PUNCTATA* UNDER THE CONDITIONS OF THE MIDDLE VOLGA

E.S. Bogdanova, O.A. Rozentsvet

Institute of Ecology of the Volga River Basin of the Russian Academy of Sciences,
Togliatti, Russia, cornales@mail.ru

Abstract. The pigment and lipid composition of the epibiont *Globularia punctata* Lapeyr was growing in two cenopopulations (CP) in the Samarskaya Luka National Park (Samara Region) were investigated. It was found that the leaves of plants growing on the drier soils contained less green pigments. The qualitative and quantitative composition of lipids in the leaves of plants of both CP was the same.

Keywords: *Globularia punctata*, fatty acids, lipids, pigments

ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА НА МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ РАСТЕНИЙ ОГУРЦА

Е.В. Бойко, Е.В. Симон, И.Н. Плюснин, А.Н. Видершпан, И.Ф. Головацкая

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», Томск, Россия, *CaterinaSoloveva@gmail.com*

Аннотация. В настоящее время показано широкое распространение мелатонина в растительном царстве. Следует отметить, что мелатонин является эволюционно высококонсервативной молекулой, и его основная роль принадлежит защите клеток. Однако механизм защитного действия мелатонина до настоящего времени полностью не изучен. В результате проведенных исследований показали влияние мелатонина на морфофизиологические параметры растений *Cucumis sativus* L.

Ключевые слова: *Cucumis sativus* L., мелатонин, пигменты, перекисное окисление липидов

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-143-145

В настоящее время известно большое количество неблагоприятных факторов окружающей среды, негативно влияющих на рост и развитие растений. Так как растения ведут прикрепленный образ жизни, им сложно избежать негативного воздействия окружающей среды. Способность растения адекватно отвечать на стрессорный фактор зависит от эффективности защитных механизмов растения. Среди эндогенных систем регуляции растений выделяют гормональную систему. Сравнительно недавно получена информация о наличии в растениях вещества индольной природы – мелатонина. Мелатонин – гормон, присутствующий практически во всех организмах, населяющих планету. Отмечено его наличие, как в царстве животных, так и в царстве растений. Установлено, что предобработка мелатонином повышает засухоустойчивость двух видов растений *Malus prunifolia* и *M. hupehensis*. Мелатонин инактивирует H_2O_2 за счет непосредственного связывания с пероксидом водорода, кроме того усиливает деятельность ферментов антиоксидантной системы растений [Li et al., 2015]. Показано, что обработка мелатонином растений *Arabidopsis* приводит к изменениям в уровне экспрессии большого количества генов. 40 % генов, которые под действием мелатонина изменяли уровень своей экспрессии, были связаны с защитной системой растений [Weeda et al., 2014]. Показан протекторный эффект предобработки мелатонина на фоне хлоридного засоления у растений картофеля [Бойко, 2018]. Установлено вовлечение мелатонина в реализацию ИУК-зависимых реакций при развитии проростков *Arabidopsis* в темноте и на свету; его взаимодействие с ИУК при растяжении колеоптилей пшеницы [Головацкая, 2017]. Способность мелатонина влиять на экспрессию большого количества генов позволяет говорить о значимости этого индоламина в функционировании растительного организма. Роль и механизмы действия мелатонина в растениях изучены далеко не полностью. В связи с этим целью данного исследования стало изучение влияния мелатонина на морфофизиологические параметры растений *Cucumis sativus* L.

Объектами исследования служили 35-дневные растения *Cucumis sativus* L. раннеспелого сорта Изящный (Агрофирма «СеДеК»). Семена огурца проращивали на безгормональной 50% жидкой среде МС (Мурасиге-Скуга) (контроль) и на среде с мелатонином разных концентраций (опыт). Исследовали мелатонин в диапазоне концентраций от 0,1 пМ до 10 мМ. Растения помещали в гидропонные сосуды и выращивали в фитокамере «Биотрон-5». В ходе культивирования проводили

фенологические наблюдения, оценивали ростовые (длина стебля, длина и объем корня, площадь семядолей, количество ярусов) и физиологические (содержание пигментов, интенсивность перекисного окисления липидов) параметры растений. Определяли содержание суммы хлорофиллов ($a+b$) в листьях разных ярусов без их отделения от растения с помощью Chlorophyll Content Meter CL-01 (Hansatech Instruments, Великобритания) и индивидуальные фотосинтетические пигменты спектрофотометрическим методом. Для расчета концентраций фотосинтетических пигментов использовали формулы [Lichtenthaler, 1987]. В результате проведенного исследования показали, что мелатонин в исследуемом диапазоне концентраций достоверно не влиял на длину стебля и корня, площадь листьев, количество ярусов. Объем корня увеличивался при действии самой высокой концентрации, более низкие концентрации гормона не изменяли данный параметр.

Наибольшее содержание суммы хлорофиллов ($a+b$) в контрольных растениях отмечено в листьях нижних ярусов, завершивших рост, тогда как в растущих листьях верхних ярусов данный показатель был в 1,5 раза меньше. Внесение мелатонина в питательную среду снижало сумму хлорофиллов, наибольшее снижение отмечено при самой высокой концентрации. При действии высокой концентрации мелатонина распределение зеленых пигментов по ярусам выравнивалось. При оценке содержания индивидуальных фотосинтетических пигментов (хлорофилла a , хлорофилла b и каротиноидов) в зависимости от концентрации мелатонина показали, что действие 0,1 пМ и 1 мкМ мелатонина снижало содержание всех групп пигментов в листьях нижнего яруса. Самая высокая из исследуемых концентраций мелатонина повышала уровень всех групп пигментов фотосинтеза, уровень каротиноидов возрастал в 1,5 раза. В листьях верхнего яруса любая из исследуемых концентраций гормона увеличивала содержание пигментов фотосинтеза. В листьях нижнего яруса уровень перекисного окисления липидов в ответ на обработку существенно не изменялся. Интенсивность перекисного окисления липидов в листьях верхних ярусов в ответ на обработку мелатонином в концентрациях 0,1 пМ и 1 мкМ снижалась, а 10 мМ имела тенденцию к повышению данного показателя. В корне мелатонин 0,1 пМ и 10 мМ повышали уровень перекисного окисления липидов, гормон в концентрации 1 мкМ снижал данный показатель.

Таким образом, в результате проведенного исследования нами показано, что мелатонин в исследуемом диапазоне концентраций не оказывал влияния на изменение линейных размеров побега растений огурца, тогда как высокая концентрация гормона приводила к увеличению объема корня. Мелатонин изменял содержание всех групп фотосинтетических пигментов. Значительное повышение уровня каротиноидов в ответ на обработку мелатонином может свидетельствовать об антиоксидантных свойствах мелатонина. Так как известно, что накопление каротиноидов приводит к снижению интенсивности окислительного стресса за счет тушения радикалов и перекиси водорода, генерируемых при избыточном возбуждении хлорофилла. Уровень перекисного окисления липидов в листьях верхних ярусов растений огурца изменялся в ответ на обработку мелатонином. Показано влияние мелатонина на морфофизиологические параметры растений *Cucumis sativus* L.

Литература

Бойко Е.В, Малофий М.К., Коломейчук Л.В, Кайлер О.А., Алимханов Б.Б., Данилова Е.Д., Головацкая И.Ф., Ефимова М.В. Регуляция мелатонином устойчивости растений *Solanum tuberosum* L. к хлоридному засолению // Актуальные проблемы картофелеводства: фундаментальные и прикладные аспекты: материалы Всероссийской

научно-практической конференции с международным участием, (10–13 апреля 2018 г.). – Томск: Издательский Дом Томского государственного университета, 2018. – С. 37–40.

Головацкая И.Ф., Бойко Е.В., Карначук Р.А. Роль мелатонина в регуляции ИУК-зависимых реакций растений в разных условиях освещения // Вестн. Том. гос. ун-та. Биология. – 2017. – № 37. – С. 144–160.

Li C., Tan D.X., Liang D., Chang C., Jia D., Ma F. Melatonin mediates the regulation of ABA metabolism, free-radical scavenging, and stomatal behaviour in two *Malus* species under drought stress // J. Exp Bot. – 2015. – V. 66, Is. 3. – P. 681–694.

Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes // Methods on Enzymology. – 1987. – V. 148. – P. 350–382.

Weeda S., Zhang N., Zhao X., Ndip G., Guo Y., Buck G.A., Fu C., Ren S. *Arabidopsis* transcriptome analysis reveals key roles of melatonin in plant defense systems // PLOS ONE. – 2014. – V. 9, Is. 3. – P. 1–18.

INFLUENCE OF MELATONIN ON THE MORPHOPHYSIOLOGICAL PARAMETERS OF CUCUMBER PLANT

E.V. Boyko, E.V. Simon, A.N. Plusnin, A.N. Vidershpan, I.F. Golovatskaya.

Tomsk State University, Tomsk, Russia, *CaterinaSoloveva@gmail.com*

Abstract. Nowadays a widespread of melatonin in the vegetable kingdom is shown. It should be pointed out that evolutionary melatonin is a high conserved molecule and cell protection has been its primary role. However, the mechanism of the protective action of melatonin has not yet been fully explored. As a result, studies have shown influence of melatonin on the morphophysiological parameters of *Cucumis sativus* L.

Keywords: *Cucumis sativus* L., melatonin, pigments, lipid peroxidation

ДЕГИДРИНЫ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ ХОЛОДОВОМ ЗАКАЛИВАНИИ И РАЗЗАКАЛИВАНИИ: СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ УЗЛОВ КУЩЕНИЯ И ЛИСТЬЕВ

О.А. Боровик¹, А.В. Поморцев¹, А.В. Корсукова^{1,3}, Е.А. Фомина², Е.А. Полякова³, О.И. Грабельных^{1,3}, Н.В. Дорофеев¹, Г.Б. Боровский¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия, ol.borovik@mail.ru

²Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь, E.Fomina@igc.by

³Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия, polyackova.elizaveta727@yandex.ru

Аннотация: В работе было изучено влияние холодового закаливания и раззакаливания на синтез дегидринов в листьях и узлах кущения двух сортов озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), отличающихся по морозоустойчивости. Выявлено, что используемые в работе сорта озимой пшеницы «Иркутская» и «Память» отличались по динамике накопления и содержания дегидринов в узлах кущения и листьях после разных этапов закаливания и при раззакаливании. Наряду с повышенной морозоустойчивостью озимой пшеницы сорта «Иркутская», способной перезимовывать в условиях резко-континентального климата Восточной Сибири, для данного сорта характерно более высокое содержание дегидринов в узлах кущения в период закаливания и раззакаливания, по сравнению с менее устойчивым сортом «Память». Более пристального внимания требует изучение механизма синтеза дегидринов на начальном этапе раззакаливания у менее морозоустойчивых сортов.

Ключевые слова: морозоустойчивость, холодовое закаливание, раззакаливание, дегидрины, озимая пшеница

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-146-149

Важную роль для успешной перезимовки озимых злаков играет процесс холодового закаливания, протекающий в осенний период и связанный с последовательным прохождением растениями первого и второго этапов закаливания [Туманов, 1979]. Первый этап закаливания протекает на свету при температурах немного выше 0 °С, характеризуется остановкой роста растений и изменениями клеточного метаболизма, повышающими устойчивость к низкой температуре. При дальнейшем действии отрицательных температур происходит второй этап закаливания, в результате которого в протопласте создаются условия, обеспечивающие его выносливость к обезвоживанию [Трунова, 2007]. После прохождения поэтапного закаливания озимые злаки достигают максимальной морозоустойчивости, которая сохраняется в течение всего зимнего периода [Туманов, 1979]. При повышении температуры воздуха в весенний период начинается раззакаливание растений, что снижает их морозоустойчивость. В регионах с нестабильным климатом, к которым относится и Иркутская область, стадия раззакаливания может начаться из-за оттепелей даже в зимний период, что приведет к гибели растений при последующих морозах [Дорофеев и др., 2004]. Низкотемпературное воздействие, даже не вызывающее видимых повреждений, оказывает глубокое и разностороннее действие на физиологические процессы, протекающие внутриклеточно. Особенно чувствительными к действию низкой температуры являются клеточные мембраны, такие как плазмалемма, мембраны хлоропластов и митохондрий [Трунова, 2007]. Важную роль в

формировании устойчивости растений к низкой температуре выполняют дегидрины, которые могут защищать мембраны и белки от повреждения крупными кристаллами льда при замерзании внутриклеточной воды и активных форм кислорода [Kosova et al., 2010; Hanin et al., 2011; Haimi et al., 2017]. Участие дегидринов в формировании механизмов защиты растений при действии неблагоприятных факторов среды и выявление ключевых для развития устойчивости дегидринов в настоящее время представляет интерес для исследования. Относительно функционирования данных белков при выходе растений из закаленного состояния известно очень мало. В связи с этим, целью работы явился сравнительный анализ содержания и спектра дегидринов у двух сортов озимой пшеницы, отличающихся по морозоустойчивости, на разных этапах закаливания и при раззакаливании.

В работе были использованы два сорта озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) – «Иркутская» и «Память». Сорт «Иркутская» получен в СИФИБР СО РАН (г. Иркутск) в результате отбора образцов озимой пшеницы из коллекции ИЦИГ СО РАН (г. Новосибирск), способных перезимовывать в условиях Восточной Сибири. Сорт «Память» создан методом индивидуального отбора из гибридной популяции 1256t/Леда//Панацея в КНИИСХ имени П.П. Лукьяненко (г. Краснодар), является менее морозоустойчивым по сравнению с сортом «Иркутская».

Растения озимой пшеницы выращивали, закаливали и раззакаливали в контролируемых условиях в климатических камерах «CLF Plant Climatics, Германия» и «Binder, Германия» на станции искусственного климата «Фитотрон» СИФИБР СО РАН. Растения были выращены в контейнерах с серой лесной среднесуглинистой почвой со следующими свойствами: Собщ = 1.86%; Нобщ. = 0.18%; рНсол. = 5.8, сумма обменных оснований 23.2 мг. экв/100 г, влажность почвы 70%. Влажность воздуха в камерах достигала 70%. Температура воздуха в контрольных условиях составляла +20 °С (день) / +12 °С (ночь) при 12 часовом фотопериоде (25-28 дней), освещенность – 180-200 мкмоль/(м² с). Для прохождения растениями первого этапа холодого закаливания температуру в камере снижали до +8 °С / +2 °С (день/ночь) при 12 часовом фотопериоде (продолжительность закаливания 10 дней). Для прохождения растениями второго этапа холодого закаливания закаленные при низкой положительной температуре растения подвергали обработке температурой -2 °С в темноте в течение 10 дней в камере МКТ-240 «Binder». После двух этапов закаливания растения подвергали раззакаливанию, повышая температуру в камере до +10 °С (день/ночь) при 12 часовом фотопериоде в течение 2 дней. В экспериментах использовали лист и узел кущения. Узел кущения является центром питания, регенерации и новообразования органов растения, благодаря узлу кущения растение перезимовывает. Содержание дегидринов в узлах кущения и листьях изучали с помощью электрофореза в 12.5% ПААГе с ДДС-Na и иммуноблоттинга с антителами против К-сегмента дегидринов (ADI-PLA-100, «Enzo Life Sciences», США). Морозоустойчивость закаленных проростков изучали путем их промораживания при температурах от -7 °С до -16 °С (в камере МКТ-240 «Binder»), снижая посуточно температуру со скоростью 1 °С/ч. Морозоустойчивость определяли с помощью подсчета выживших после отрастания растений (в % от общего числа проростков). Анализировалась температура, вызывающая гибель 50% растений (LT₅₀).

Анализ выживаемости растений озимой пшеницы выявил более высокую устойчивость сорта «Иркутская» к отрицательным температурам, по сравнению с сортом «Память». Различия в морозоустойчивости совпадали с различиями в динамике накопления и содержания дегидринов в листьях и узлах кущения озимой пшеницы.

Первый этап холодого закаливания сопровождался некоторым увеличением в узлах кущения содержания полипептида с мол. массой 66 кДа и индукцией синтеза новых полипептидов с мол. массами 209-169 кДа, 70 и 55 кДа. Эти изменения были

более выражены в узлах кущения озимой пшеницы сорта «Иркутская». Действие отрицательной температуры во втором этапе закаливания индуцировало синтез полипептидов с мол. массами 60 и 46 кДа как у сорта «Иркутская», так и у сорта «Память». Также происходило более выраженное увеличение содержания высокомолекулярных полипептидов и полипептидов с мол. массами 70 и 55 кДа. Однако у обоих сортов озимой пшеницы во втором этапе закаливания наблюдали исчезновение полипептида с мол. массой 66 кДа. Несмотря на сходную тенденцию синтеза дегидринов во втором этапе закаливания у изученных сортов озимой пшеницы, их содержание было значительно выше в узлах кущения сорта «Иркутская». Повышение температуры до +10 °С после второго этапа закаливания не приводило к снижению содержания дегидринов, а, даже наоборот, у сорта «Память» вызывало дальнейшее увеличение в узлах кущения содержания полипептидов с мол. массами 70 и 55 кДа, что, возможно, связано с защитной функцией данных полипептидов на начальном этапе раззакаливания менее морозоустойчивых сортов. В листьях спектр дегидринов и их содержание было гораздо меньше, чем в узлах кущения. Низкая положительная температура индуцировала синтез полипептидов с мол. массами 66 и 70 кДа, а после второго этапа закаливания и дальнейшего раззакаливания синтез этих полипептидов значительно не изменялся, однако в листьях озимой пшеницы сорта «Иркутская» содержание дегидринов было больше, чем в сорте «Память».

Таким образом, используемые в работе два сорта озимой пшеницы «Иркутская» и «Память» отличались по динамике накопления и содержания дегидринов в узлах кущения и листьях на разных этапах закаливания и при раззакаливании. В узлах кущения накапливалось гораздо больше дегидринов, чем в листьях. Наряду с повышенной морозоустойчивостью озимой пшеницы сорта «Иркутская», способной перезимовывать в условиях резко-континентального климата Восточной Сибири, для данного сорта было характерно более высокое содержание дегидринов в узлах кущения и листьях в период закаливания и раззакаливания, по сравнению с менее устойчивым сортом. Требуется более пристального внимания изучение механизма синтеза дегидринов на начальном этапе раззакаливания у менее морозоустойчивых сортов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке грантов РФФИ №17-54-04076 и БРФФИ №Б17РМ-054.

Литература

Дорофеев Н.В., Пешкова А.А., Войников В.К. Озимая пшеница в Иркутской области. – Иркутск : Арт-Пресс, 2004. – 175 с.

Трунова Т.И. Растение и низкотемпературный стресс. – М. : Наука, 2007. – 54 с.

Туманов И.И. Физиология закаливания и морозостойкости растений. – М. : Наука, 1979. – 349 с.

Haimi P., Vinskienė J., Stepulaitienė I., Baniulis D., Stanienė G., Šikšnianienė J.B., Rugienius R. Patterns of low temperature induced accumulation of dehydrins in *Rosaceae* crops-evidence for post-translational modification in apple // J. Plant Physiol. – 2017. – V. 218. – P. 175–181.

Hanin M., Brini F., Ebel C., Toda Y., Takeda S., Masmoudi K. Plant dehydrins and stress tolerance // Plant Signal Behav. – 2011. – V. 6, N. 10. – P. 1503–1509.

Kosova K., Prasil I.T., Vitamvas P. Role of dehydrins in plant stress response // Handbook of Plant and Crop Stress / Ed. Pessaraki M. Tucson: CRC Press, 2010. – P. 239–285.

DEHYDRINS OF WINTER WHEAT UNDER COLD ACCLIMATION AND DEACCLIMATION: COMPARED ANALYSE OF LEAVES AND CROWN

O.A. Borovik¹, A.V. Pomortsev¹, A.V. Korsukova^{1,3}, E.A. Fomina², E.A. Polyakova³, O.I. Grabelnykh^{1,3}, N.V. Dorofeev¹, G.B. Borovskii¹

¹Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia, *ol.borovik@mail.ru*

²Institute of Genetics and Cytology, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus, *E.Fomina@igc.by*

³Irkutsk State University, Irkutsk, Russia, *polyackova.elizaveta727@yandex.ru*

Abstract. The influence of cold acclimation and deacclimation on the synthesis of dehydrins in leaves and crown of two variety of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) that are differed in frost resistance was studied. It is detected that the varieties of winter wheat «Irkutskaya» and «Pamyat'» are differed in the dynamics of accumulation and content of dehydrins in leaves and crown after different stages of acclimation and deacclimation. The increased frost resistance of winter wheat of the variety «Irkutskaya», is due to able to overwinter in the conditions of the sharply continental climate of Eastern Siberia, is characterized by a higher content of dehydrines in the crown during acclimation and deacclimation, compared with the less resistant variety «Pamyat'». More attention is required to study the mechanism of synthesis of dehydrins at the initial stage of deacclimation in less cold-resistant varieties.

The reported study was funded by RFBR № 17-54-04076 and BRFFR № B17PM-054.

Keywords: *frost tolerance, acclimation, deacclimation, dehydrins, winter wheat*

ВОЗДЕЙСТВИЕ УМЕНЬШЕНИЯ ПЛОЩАДИ ЛИСТЬЕВ НА ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ РАСТЕНИЙ ХЛОПЧАТНИКА

М.К. Бохилова, Х.А. Абдуллаев, М.Б. Ниязмухамедова, А.К. Мирзорахимов

Институт ботаники, физиологии и генетики растений Академии наук Республики Таджикистан, Душанбе, Таджикистан, *Manzura5_2014@bk.ru*

Аннотация. В работе приводятся результаты изучения физиолого-биохимических показателей растений хлопчатника в условиях абиотического стресса – искусственного уменьшения площади листьев. Показано, что у тех растений хлопчатника, у которых в фазах бутонизации и цветения были удалены все листья, в конце вегетации в результате вторичного отрастания листьев сформировалась новая листовая поверхность, аналогичная по площади контрольных растений. Установлено, что при удалении листьев верхнего и нижнего ярусов происходит повышение интенсивности фотосинтеза в оставшихся листьях. Обнаружено, что у дефолированных растений хлопчатника сильная напряжённость в водном режиме не наблюдается. Выявлено, что при удалении листьев на 25, 50, 75 и 100% во всех вариантах опыта содержание крахмала достоверно снижается по сравнению с контролем в 2.1-2.6 раз.

Ключевые слова: тонковолокнистый хлопчатник, лист, дефолиация, фотосинтез, водный режим, содержание крахмала

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-150-153

Материалом для исследований служили растения тонковолокнистого хлопчатника сорта 9326-В селекции Вахшского филиала Института земледелия Таджикской академии сельскохозяйственных наук. Растения для опытов выращивали на экспериментальном участке Института ботаники, физиологии и генетики растений АН Республики Таджикистан, расположенном в восточной части Гиссарской долины на высоте 830 м над ур. м., согласно агрорекомендациям по выращиванию хлопчатника в Таджикистане [Ахмедов и др., 2009]. Делянки опыта – четырёхрядковые, десятилуночные, схема посева – 60x30x1, биологическая повторность трёхкратная, рендомизированная. Для анализов брали растения с одинаковым уровнем роста и развития.

Разовое механическое удаление листьев (дефолиацию) растений проводили одновременно в двух противоположных направлениях: снизу вверх от семядольного узла и сверху вниз от точки роста. В опытных вариантах удаляли 25, 50, 75 и 100% листьев от общего их количества на растениях. Контролем служили растения хлопчатника с сохранением всех сформировавшихся листьев.

Площади листьев определяли путём измерения длины и ширины каждого листа с последующим их умножением на поправочный коэффициент 0.707 [Абдуллаев, Каримов, 2001].

Для определения УПП листа с помощью пробочного сверла или листового бура площадью не менее 0.8 см² брали высечки из центральной части листа между жилками и высушивали их до постоянного веса при 105 °С.

Интенсивность транспирации определяли классическим методом быстрого взвешивания срезанных листьев на торсионных весах по [Иванов и др., 1950]. Водоудерживающую способность листьев по [Ничипорович, 1926]. Водный дефицит листьев определяли по методике [Chatsky, 1960].

Интенсивность фотосинтеза листа определяли в полевых условиях с помощью инфракрасного оптико-акустического газоанализатора «Инфралит-IV» (Германия) при естественных концентрациях CO₂ с использованием прямоточной камеры-прищепки конструкции Л.Т. Карпушкина [Карпушкин, 1974].

Содержание крахмала определяли по методике [Ястрембович, Калинин, 1962] с использованием сульфосалициловой кислоты.

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием программы Microsoft Excel 2007.

Таблица 1.

Морфо-биологические показатели растений тонковолокнистого хлопчатника сорта 9326-В после дефолиации. Фаза созревания.

Варианты опыта	Высота главного стебля, см	Количество листьев, шт/растение	Общая листовая поверхность, дм ² /растение	Общее количество появившихся плодовых органов, шт/растение
Контроль	100.3±9.7	16±1.5	13.9±1.4	34±3.2
25%	115.5±4.2	16±1.2	13.7±1.3	39±3.8
50%	97.5±5.5	14±1.2	12.8±0.9	32±3.0
75%	98.0±4.8	14±1.3	12.7±1.3	34±3.3
100%	102.0±4.9	13±0.6	13.5±0.9	25±2.4

Изучение последствий дефолиации по истечению значительного времени с момента удаления листьев (табл. 1) показало, что у тех растений хлопчатника, у которых в фазах бутонизации и цветения искусственно были удалены все листья (стоцентная дефолиация) в конце вегетации, в фазу полного созревания урожая (соответственно через 105 и 95 дней) в результате вторичного отрастания листьев сформировалась новая листовая поверхность, аналогичная по количеству и площади, как у контрольных растений. Этот процесс является ярким примером проявления типичной репаративной регенерации у растений.

Таблица 2.

Удельная поверхностная плотность листа (г/дм²) хлопчатника сорта 9326 – В после дефолиации растений

Варианты опыта	Ярус листа	Фаза развития растений:			
		бутонизация	цветение	плодоношение	созревание
Контроль	В	0.451±0.02*	0.866±0.05*	1.097±0.07	0.741±0.02*
	Н	0.839±0.08	0.694±0.02	1.038±0.01*	1.011±0.02
25%	В	0.394±0.04*	1.009±0.01*	0.932±0.08	0.898±0.06
	Н	0.608±0.06	0.600±0.03	0.671±0.01*	0.758±0.02
50%	В	0.373±0.02	0.828±0.08	0.982±0.09	0.901±0.04*
	Н	0.625±0.03	0.817±0.04	0.712±0.01	0.814±0.08
75%	С	0.569±0.03	1.242±0.09*	1.086±0.08	0.883±0.09
100%	В	0.405±0.03	1.280±0.09*	0.970±0.09	0.819±0.02

Анализ интегрального показателя содержания структурных и функциональных компонентов мезоструктуры листа – УПП листа в зависимости от степени удаления листьев показал (табл. 2), что искусственное уменьшение листовой поверхности в фазе бутонизации приводит к снижению УПП сохранившихся листьев как верхних, так и нижних ярусов куста хлопчатника. В фазе цветения дефолиация вызывает увеличение УПП листа оставшихся листьев верхнего яруса, а в нижних листьях УПП уменьшается. В вариантах опыта с 75% и 100%-ным удалением листьев величина показателя УПП листа в сравнении с контролем увеличивалась на 69% и 67%, соответственно. Эти данные свидетельствуют о ярком проявлении принципа адаптивных реакций и самонастройки фотосинтетического аппарата высших растений.

Результаты определения транспирации, водоудерживающей способности листа и водного дефицита тонковолокнистого хлопчатника при удалении листьев в различной степени и различных фазах развития растений представлены в табл. 3. Как видно из

табл. 3, интенсивность транспирации у хлопчатника достигает своего максимума к полудню (12 ч), у контрольных растений наблюдается самая высокая скорость испарения воды по сравнению с другими вариантами опыта. По величине водоудерживающей способности листьев между контрольными и опытными растениями достоверных различий не наблюдается. Увеличение степени дефолиации приводит к незначительному возрастанию водного дефицита у растений. Эти данные позволяют сделать вывод, о том, что в результате действия абиотического стресса-удаления листьев сильная напряжённость в водном режиме растений хлопчатника почти не наблюдается.

Таблица 3.

Интенсивности транспирации (мг/г сырой массы листа·ч) у тонковолокнистого хлопчатника сорта 9326-В после дефолиации. Фаза цветения.

Варианты опыта	Время определения показателя, часы		
	8 ч	12 ч	15 ч
Контроль	3.20±0.3	3.60±0.5	2.48±0.5
25%	2.63±0.3	2.60±0.2	2.53±0.4
50%	2.66±0.3	2.76±0.4	2.60±0.02
75%	2.90±0.3	3.01±0.2	2.70±0.1
100%	2.55±0.2	1.86±0.3	2.04±0.2

Изучение интенсивности фотосинтеза у дефолированных растений хлопчатника с нулевым типом ветвления показало, что при удалении листьев верхнего и нижнего ярусов происходит повышение CO₂-газообмена в сохранившихся листьях (табл. 4).

Таблица 4.

Дневная динамика ИФ (мг CO₂/дм²·ч) листьев тонковолокнистого хлопчатника сорта 9326-В после дефолиации. Фаза – массовое плодоношение

Варианты опыта	Время измерений:					
	9ч		12ч		15ч	
	ВЛ	НЛ	ВЛ	НЛ	ВЛ	НЛ
Контроль	35.7±1.5	23.7±1.1	35.8±2.3	14.4±1.2	31.8±1.8	20.4±2.0
25%	29.9±2.3	19.9±2.0	32.0±3.4	18.3±1.9	25.5±1.7	14.0±1.3
50%	36.0±1.6	26.8±2.7	38.4±1.4	25.8±2.0	30.6±2.9	19.4±0.9
75%	42.7±2.1	34.0±0.9	37.1±1.2	27.2±2.1	29.5±1.2	21.6±2.2
100%	42.0±1.7*	-	36.3±1.4*	-	30.8±3.1*	-

Примечание: ВЛ – верхние листья, НЛ – нижние листья, *ИФ листьев появившихся после 15 дней дефолиации.

Из биохимических показателей хлопчатника после проведения дефолиации растений в различной степени нами было изучено содержание крахмала в листьях. Результаты этих исследований представлены в табл. 5.

Как видно из табл. 5 в фазе бутонизации через 2 недели после дефолиации, содержание крахмала в листьях, как у контрольных, так и у опытных растений закономерно изменяется в течение дня. В дневной динамике у контрольных растений максимальное содержание крахмала в листьях наблюдается в полдень (12 ч).

При удалении листьев на 25, 50, 75 и 100% во всех вариантах опыта количество крахмала достоверно снижается по сравнению с контролем в 2.1-2.6 раз и максимальное содержание этого углевода наблюдается во второй половине дня (15ч), т.е. происходит смещение максимума его накопления к концу дня. Возможно, это связано с тем, что у дефолированных растений превращение моно-и дисахаров в крахмал происходит медленнее, и поэтому этот процесс затянут во времени.

Таблица 5.

Содержание крахмала (мг/г сырой массы) в листьях и черешках листьев у тонковолокнистого хлопчатника сорта 9326-В после дефолиации. Фаза бутонизация

Варианты опыта	Время взятия проб		
	9ч	12ч	15ч
контроль	1.977±0.02	2.604±0.01	1.302±0.02
25%	0.760±0.08	1.216±0.02	1.419±0.02
50%	1.165±0.05	1.014±0.01	1.885±0.02
75%	1.242±0.07	1.191±0.01	1.267±0.02
100%	1.774±0.08	1.216±0.02	2.027±0.05

Литература

Абдуллаев Х.А., Каримов Х.Х. Индексы фотосинтеза в селекции хлопчатника. – Душанбе: Дониш, 2001. – 267 с.

Ахмедов Х.М., Набиев Т.Н., Бухориев Т.А. (ред.) Научная система ведения сельского хозяйства Таджикистана (на тадж. яз.). – Душанбе: Матбуот, 2009, 764 с.

Иванов Л.А., Силина А.А., Цельникер Ю.Л. О методе быстрого взвешивания для определения транспирации в естественных условиях // Бот. журнал. – 1950. – Т. 35, № 2. – С. 171–185.

Карпушкин Л.Т. Биофизические методы в физиологии растений. – М.: Наука, 1974. – С.44–71.

Ничипорович А.А. О потере воды срезанными растениями в процессе завядания // Ж. опытной агрономии Юго-Востока (Россия). – 1926. – Т. 3, вып. 1. – С. 11-13.

Ястрембович И.И. Калинин Ф.Л. Определение углеводов и растворимых соединений азота в одной навеске растительного материала. // Рост и продуктивность растений. Научные труды УАСХН. – Киев: УАСХН, 1962. – Вып. 3. – С. 150–161.

Chatsky L. Determination of water deficit in disks cut out from leaf blades // Biol. Plantarum. – 1960. – V. 2, No. 1. – P. 76–78.

THE INFLUENCE OF LEAVES AREA DECREASE ON PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL TRAITS OF COTTON PLANTS

M.K. Bohirova, Kh.A. Abdullaev, M.B. Niyazmukhamedova, A.K. Mirzorakhimov

Institute of Botany, Plant Physiology and Genetics, Academy of Sciences of the Republic of Tajikistan, Dushanbe, Tajikistan, Manzura5_2014@bk.ru

Abstract. In this paper the results of physiological and biochemical study of cotton plants in conditions of abiotical stresses – decrease of leaves area are present. It shown that in cotton plants in whose in the budding and flowering phases its leaves completely removed after 95-105 days of growing is developed a new leaves area as in a control plants. It established that after remove upper and lower leaves the CO₂ – gas exchange rate in retain leaves is increase. In defoliated plants strained of water regime is not observed. After 25, 50, 75 and 100% defoliation in all variants of the experiments starch contents in cotton leaves reliable is decrease as compared to control in 2.1-2.6 times.

Keywords: long stable cotton, leaves, photosynthesis, water regime, starch contents

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ У РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ ЗАСОЛЕНИЯ И БЛОКИРОВАНИЯ КАЛЬЦИЕВЫХ КАНАЛОВ

Н.В. Будаговская

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия, *postnabu@mail.ru*

Аннотация. Исследовалось влияние засоления и блокатора кальциевых каналов верапамила на процессы роста и транспорт воды у растений кукурузы. Показано, что засоление вызывает снижение водонагнетающей активности корней и угнетение роста и развития растений. При блокировании кальциевых каналов происходят нарушения транспорта воды в корнях, снижение ростовой активности растений и морфологические изменения в корневой системе и побегах.

Ключевые слова: засоление, блокатор кальциевых каналов, кукуруза, рост, транспорт воды

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-154-158

Почвы с высоким уровнем засоления занимают обширные территории во всем мире. Большинство сельскохозяйственных растений относится к гликофитам, имеющим низкую солеустойчивость. Выращивание растений на засоленных почвах приводит к снижению их продуктивности [Pitman, Lauchli, 2002]. В проведенных ранее экспериментах было показано, что засоление вызывало снижение скорости роста надземной части (листьев, стеблей) растений овса, ячменя, пшеницы, риса, гречихи [Budagovskaya, 2007, 2010]. Данная работа посвящена исследованию транспорта воды в корнях растений кукурузы при разных концентрациях хлористого натрия (NaCl) в наружном растворе. В связи с тем, что засоление снижает поглощение кальция корнями и его транспорт [Lynch, Lauchli, 1985], были проведены модельные эксперименты с использованием блокатора кальциевых каналов, приводящие к аналогичному эффекту. Оценивалось состояние систем транспорта воды в корнях растений кукурузы в условиях блокирования кальциевых каналов. Регистрировались ростовые характеристики растений.

В экспериментах использовали растения кукурузы гибрида Пионер. Интенсивность экссудации корней определяли по методу [Anderson, House, 1967] с некоторыми модификациями. Эксперименты проводили с изолированными корнями в течение нескольких часов при концентрации NaCl 25 мМ-500 мМ, верапамила 1,0 мМ и 6,0 мМ. Для исследования влияния NaCl и верапамила на состояние растений в более длительных экспериментах использовали водную культуру для выращивания

Интенсивность экссудации характеризует водонагнетающую активность корней. На рис. 1 представлены результаты опытов по исследованию влияния NaCl (25 мМ, 50 мМ) на экссудацию корней. Можно видеть, что интенсивность экссудации корней при засолении в 25 мМ NaCl значительно ниже, чем в контрольном варианте. При более высоком уровне засоления (50 мМ NaCl) экссудация не регистрировалась, а наблюдался обратный транспорт воды (отрицательные значения на графике). Обратный транспорт воды в корнях вызван высоким осмотическим давлением раствора NaCl во внешней среде. Интенсивность обратного транспорта воды увеличивалась пропорционально увеличению концентрации NaCl во внешней среде (50, 100, 200, 500 мМ NaCl). Вызванный засолением отток воды из растений, приводящий к сжатию тканей надземных органов (листьев, стеблей) был зарегистрирован нами ранее [Budagovskaya, 2007, 2010].

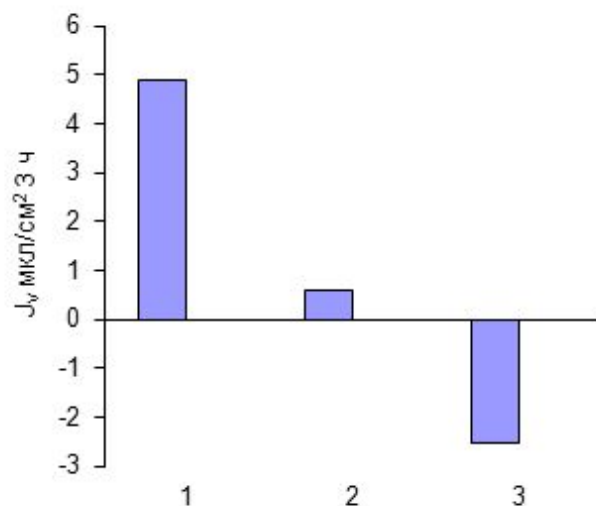


Рис. 1. Влияние NaCl на интенсивность экссудации корней растений кукурузы за 3 ч. 1 – контроль, 2 – 25 мМ NaCl, 3 – 50 мМ NaCl.

Нарушение транспорта воды в растениях, обусловленное засолением, является важным фактором, сдерживающим их рост и развитие. В условиях засоления размеры надземных органов и корней у растений кукурузы были меньше, чем у контрольных растений. Растения опытных вариантов отставали в развитии от контрольных: количество образовавшихся листьев у них было меньше, корневая система была развита хуже.

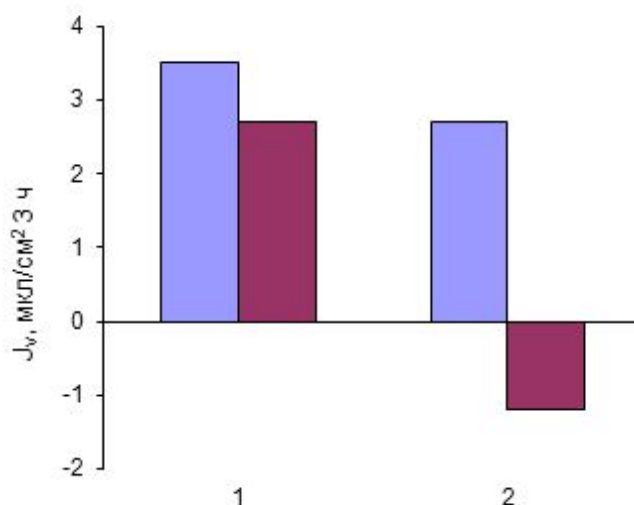


Рис. 2. Влияние верапамила на интенсивность экссудации корней растений кукурузы за 3 ч. (■ - 1-3 ч) и (■ - 4-6 ч), 1 – контроль, 2 – вариант с верапамилом (1,0 мМ).

Влияние нарушения поглощения и транспорта кальция, сопутствующего NaCl-засолению, на водонагнетающую активность корней и рост растений исследовалось в следующей серии модельных экспериментов с участием блокатора кальциевых каналов верапамила. Рис. 2 демонстрирует результаты таких экспериментов, характеризующие водонагнетающую активность корней кукурузы в отсутствие верапамила и при его добавлении. В контрольном варианте интенсивность экссудации

в течение 6 ч изменялась незначительно. В варианте с верапамилом (1,0 мМ) в первые 3 ч интенсивность экссудации была ниже контрольного уровня, в дальнейшем отмечено прекращение экссудации и обращение транспорта воды (отрицательные значения на графике). Интенсивность обратного транспорта воды в корнях увеличивалась при повышении концентрации верапамила до 6,0 мМ. С увеличением времени воздействия верапамила на растения или с увеличением его концентрации усиливались деструктивные процессы в корнях, вызванные дефицитом кальция, что приводило к увеличению интенсивности обратного транспорта воды в корнях в результате пассивного выхода ее в наружное пространство. Как было показано ранее в наших экспериментах, верапамил вызывал дефицит кальция у растений [Budagovskaya, 2010]. При дефиците кальция увеличивается проницаемость клеточных мембран, происходит разрушение клеток растений [Simon, 1978].



Рис. 3. Влияние верапамила на рост побега и корня растения кукурузы, слева – контроль, справа вариант с верапамилом.

В опытах на целых растениях наблюдалось снижение ростовой активности побегов и корней в вариантах с верапамилом в отличие от контроля. Размеры листьев и корней у растений опытного варианта были меньше, чем у контрольных (рис. 3). С увеличением времени выращивания растений в присутствии верапамила различия между контрольными и опытными растениями увеличивались. В то время как у растений контрольного варианта развивалась характерная для кукурузы мочковатая корневая система, у опытных растений корни были слаборазвиты, имели разветвления только на концах (рис. 4). Эта морфологическая особенность корней является типичной для растений варианта с верапамилом.

У растений варианта с верапамилом отмечено пожелтение и подсыхание концов листьев. Такие изменения в листьях являются диагностическим признаком дефицита кальция [Simon, 1978] и могут свидетельствовать о нарушении транспорта этого элемента из корней в побеги. Передвижение ионов кальция в акропетальном направлении сопряжено с транспортом ауксина в базипетальном направлении

[Медведев, 1989]. Гормон ауксин участвует в процессах роста растений. Нарушение транспорта кальция вызывает нарушение перемещения ауксина в растениях, что ведет к угнетению их роста. Нарушение транспорта ауксина может приводить к формированию морфотипов, отличных от контрольных растений, как представлено на рис. 4.

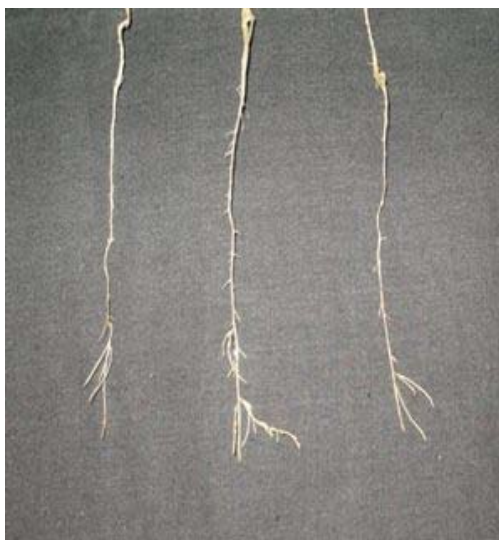


Рис. 4. Морфотип корней кукурузы, сформированный при выращивании растений в присутствии верапамила.

Таким образом, существенными причинами подавления роста растений при засолении является снижение водонагнетающей активности корней, обусловленное высокой концентрацией NaCl в наружной среде, деструктивными процессами в корнях в результате дефицита кальция в их тканях и нарушением транспорта кальция и сопряженного транспорта гормона ауксина в системе целого растения.

Литература

Медведев С.С., Маркова И.В., Шишова М.Ф., Сопова Т.М. О полярном транспорте кальция в растительных тканях. // Вестник ЛГУ. – 1989. – Сер. 3, Вып. 1, № 3. – С. 79–83.

Anderson W.P., House C.R. A correlation between structure and function in the root *Zea mays* L. // J. Exp. Bot. – 1967. – V. 18. – P. 544–555.

Budagovskaya N.V. Interaction of plant shoots and roots: dynamics and stability // Biophotonics and Coherent Systems. (Eds. Belousov L.V., Voeikov V.L., Martinuk V.). – Springer. – New York, – 2007. – P. 213–223.

Budagovskaya N.V. Rapid response reactions of buckwheat plant shoots on changes in sodium chloride concentration at the root zone and blockage of calcium channels // The European Journal of Plant Science and Biotechnology. – 2010. – V. 4. – P. 128–130.

Lynch J., Lauchli A. Salt stress disturbs the calcium nutrition of burley (*Hordeum vulgare* L.) // New Phytology. – 1985. – V. 87. – P. 351–356.

Pitman M.G., Lauchli A. Global impact of salinity and agricultural ecosystems. In: Lauchli A, Luttge V (Eds). Salinity: environment-plants molecules, Kluwer Academic Publishers. – The Netherlands, 2002. – P. 3–20.

Simon E.W. The symptoms of calcium deficiency in plants // New Phytol. – 1978. – V. 80. – P. 1–15.

FUNCTIONAL AND MORPHOLOGICAL CHANGES IN PLANTS UNDER SALINITY AND BLOCKAGE OF CALCIUM CHANNELS

N.V. Budagovskaya

Federal State Budget Educational Institution of Higher Education M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia, *postnabu@mail.ru*

Abstract. The effect of salinity and calcium channel blocker verapamil on the growth and water transport in maize plants has been studied. It was shown that salinity caused decrease in water pressure activity of roots and inhibition of growth and development of plants. Blockage of calcium channels led to a disturbance of water transport in roots, decrease in growth activity of plants and morphological changes in root system and shoots.

Keywords: *salinity, calcium channel blocker, maize, growth, water transport*

ВЛИЯНИЕ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ПРОРАСТАНИЕ СЕМЯН ГЛЕДИЧИИ С ТВЕРДЫМИ ПОКРОВАМИ

Е.В. Булгакова, Е.Э. Нефедьева

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный технический университет», Волгоград, Россия, vasichkinaev@yandex.ru

Аннотация. Твердые покровы создают сильные затруднения при прорастании семян. Одна из причин твердосемянности – это жесткая водонепроницаемая семенная кожура. В практике для разрушения твердых покровов семена перед посевом подвергаются различного рода физическим или химическим обработкам. В данной работе для улучшения прорастания семян с твердым покровом перед проращиванием использовали следующие приемы: скарификация, стратификация, обработка кипятком, воздействие импульсного давления и обработка поверхности семян ацетоном. Так как в состав семенной кожуры с твердым покровом входит суберин, высокополимерное гидрофобное вещество, обязательным компонентом которого являются насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты и жиры, предположили, что суберин частично растворяется в ацетоне, вследствие чего увеличивается проницаемость семенной кожуры для воды. Наличие в семенной кожуре гледичии лигнифицированных элементов, суберина, полисахаридов было подтверждено гистохимическими методами. Изучены строение и состав семенной кожуры гледичии трёхколючковой.

Ключевые слова: *Gleditsia triacanthos*, твердосемянность, семенная кожура

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-159-162

Одна из проблем, создаваемая явлением твердосемянности – сильное затруднение прорастание семян. [Попцов, 1976]. Это явление очень широко распространено в растительном мире и свойственно многим представителям ряда семейств: мимозовых (*Mimosaceae*), цезальпиниевых (*Caesalpinioideae*), мотыльковых (*Fabaceae*), мальвовых (*Malvaceae*), липовых (*Tiliaceae*), стеркулиевых (*Sterculiaceae*), канновых (*Cannaceae*) и, в том числе, гледичии трёхколючковой (*Gleditsia triacanthos*) [Estévez et al., 2012].

Объектом исследования была гледичия трёхколючковая *Gleditsia triacanthos* L. Гледичия обыкновенная (трёхколючковая) относится к семейству бобовые *Fabaceae*, подсемейство цезальпиниевые *Caesalpinioideae*. Растение используют для уличных насаждений, парковых аллей, высаживают вдоль пойм рек. Из гледичии создают как ажурные группы, так и массивы. Рекомендуются для непроходимой живой колючей изгороди. Используется для лесных массивов, для создания полезащитных лесных полос в наиболее засушливых районах с засоленными почвами [Кривцов, 2003]. Культивирование гледичии затрудняется тем, что семена имеют твердую кожуру и поэтому плохо прорастают [Ferreiras et al., 2015].

Плоды гледичии собрали вручную в городских посадках и отбирали выполненные неповрежденные семена. Семена перед посевом подвергли физическим и химическим воздействиям: скарификации, стратификации [Воронкова, 2003; Оразбаев, 2013], обработке кипятком, воздействию ударного и импульсного давления (11 МПа, 29 МПа), замачиванию в суспензии ризосферных микроорганизмов (СРМО) *V. paradoxus*, а также провели обработку семян ацетоном [Булгакова, 2014].

Из рис. 1 видно, что всхожесть семян гледичии составляла 30% в контроле. Семена, подвергшиеся воздействию ударного давления и импульсного давления 29 МПа и 11 МПа, продемонстрировали меньшую всхожесть (15% и 20% соответственно). Замачивание семян в СРМО *V. paradoxus* практически не влияло на всхожесть в сравнении с контролем. Семена с естественными трещинами, а также семена,

подвергшиеся скарификации, стратификации и обработке ацетоном, имели всхожесть более 50%.

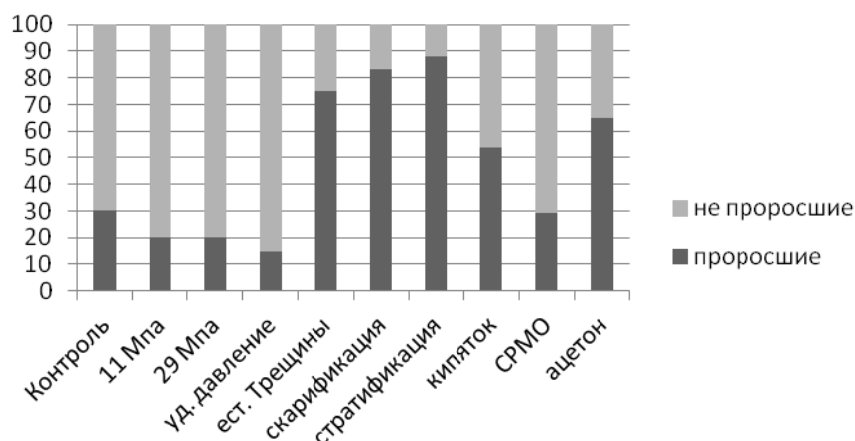


Рис. 1. Диаграмма изменения всхожести семян под воздействием абиотических факторов.

Увеличение всхожести семян при обработке ацетоном связано с наличием в составе семенной кожуры суберина, высокополимерного гидрофобного вещества, обязательным компонентом которого являются насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты и жиры. Предполагается, что суберин частично растворяется в ацетоне. Наличие в семенной коже гледичии лигнифицированных элементов, суберина, полисахаридов было подтверждено гистохимическими реакциями.

Для выяснения состава семенной кожуры срезы окрашивали красителями и исследовали в световом микроскопе.

При окрашивании среза семени гледичии суданом (рис. 2а) выявлено, что гиподерма и часть паренхимы окрасились в оранжево-красноватый цвет, произошла положительная реакция на суберин. Небольшое количество суберина присутствует и в нижней части клеток эпидермы.



Рис. 2. Окрашивание семенной кожуры гледичии: а – суданом, б – раствором Люголя; с – флороглюцином.

Обработку семян раствором Люголя проводили для выявления полисахаридов в клетках (рис. 2б). Часть клеток, расположенных под эпидермальными столбчатыми клетками, приобрела сине-фиолетовую окраску. Это свидетельствует о присутствии крахмала в клетках семени гледичии трехколючковой. Полисахариды, окрашивающиеся в коричневатый цвет, присутствуют также в эндосперме.

Воздействие флороглюцином помогло выявить присутствие в семенной коже

клеток, подверженных лигнификации (рис. 2с). Лигнификация способствует формированию твердой семенной кожуры, препятствующей проникновению воды и воздуха внутрь семени. Видно, что семенная кожура гледичии включает в себя лигнифицированные элементы в гиподерме и паренхиме, окрасившиеся в темно-малиновый цвет.

Для описания изменения поверхности семенной кожуры при воздействии на неё ацетона исследовали семена под электронным микроскопом. На поверхности семени видны неглубокие четкие трещины (рис. 3а) размером 1.2-1.9 мкм. При выдерживании семян в ацетоне в течение 2 ч наблюдается увеличение размера трещин на поверхности семени (рис. 3б), что также свидетельствует о частичном растворении веществ, входящих в тонкий плотный слой (воска, суберин).

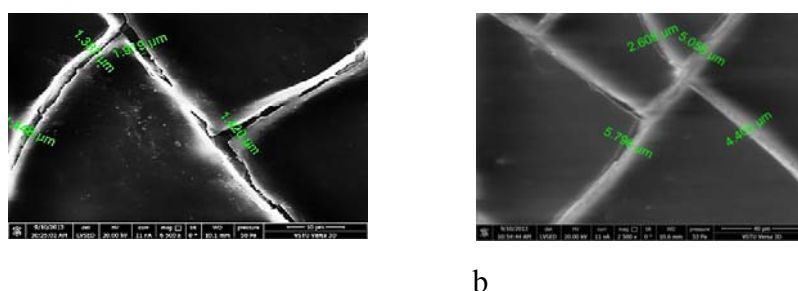


Рис. 3. Внешний вид семенной кожуры гледичии: а – контрольное семя, б – при обработке ацетоном в течение 2 ч.

Кроме того, при исследовании микрофотографии среза семени (рис. 4а) видно, что семенная кожура состоит из трех основных слоев, отличающихся своей структурой.

Паренхима имеет большую толщину в дорзальной и вентральной части, утончается в апикальной части семени.

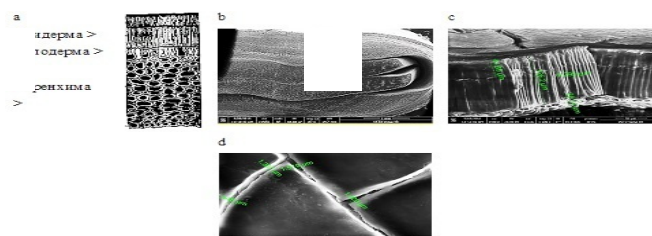


Рис. 4. Внешний вид семенной кожуры гледичии под электронным микроскопом.

Снаружи семенная кожура имеет тонкий плотный слой. Предположительно, это пигментированный слой кутина с вкраплениями воска.

Наружный слой семенной кожуры гледичии – эпидерма – состоит из двух рядов столбчатых клеток, разломы между которыми образуют трещины на поверхности семени. При набухании эти клетки растягиваются в длину, что приводит к росту трещин и дает возможность воде проникать в следующие слои.

Внутренний слой семенной кожуры гледичии – гиподерма – состоит из плотно уложенных клеток, несколько вытянутых в направлении, параллельном поверхности кожуры. Паренхима – наиболее мощный слой, состоит из паренхиматических клеток, которые уложены рыхло (рис. 4б).

Выводы. Для увеличения всхожести семян гледичии трехколючковой, имеющих твердые покровы, семена подвергли различному воздействию (давление, скарификация,

стратификация, обработка ацетоном и кипятком, обработка СРМО *V. paradoxus*). Результаты показали, что наиболее эффективными методами обработки твердopокровных семян являются скарификация, стратификация, обработка ацетоном. Данные методы значительно увеличивают всхожесть семян.

Изучение состава семенной кожуры с помощью гистохимических реакций показало, что прорастание затрудняется из-за наличия в составе семенной кожуры гледичии лигнифицированных элементов, суберина, полисахаридов.

Литература

Булгакова Е.В., Нефедьева Е.Э., Павлова В.А. Увеличение всхожести семян с твёрдой семенной кожурой предпосевной обработкой ацетоном // Современные проблемы науки и образования: электрон. науч. журнал. – 2014. – № 6. – С. 1-6. – Режим доступа: <http://www.science-education.ru/120-15475>.

Воронкова Н.М., Холина А.Б. Влияние температурного фактора и скарификации на прорастание семян и рост сеянцев *Sophora flavescens* // Растительные ресурсы – 2003. – Т. 39, № 1 – С. 43–48.

Оразбаев С., Салакшинова Б., Мендибаева Г., Алипбеков К. Влияние скарификации на твердосемянность многолетних бобовых трав // Международный научно-исследовательский журнал. – 2013. – №12-2. – С. 14–16.

Павлова В.А., Лысак В.И., Нефедьева Е.Э., Булгакова Е.В., Шайхiev И.Г. Влияние параметров ударно-волнового нагружения на состояние биополимеров и поглощение воды семенами гречихи // Вестник технологического университета – 2015. – Т. 18, № 10. – С. 79–84.

Полевой В.В., Физиология растений. Учебник для биологических специальностей ВУЗов. – М.: Высшая школа, 1989. – 464 с.

Попцов А.В. Биология твердосемянности. – М.: Колос, 1976. – 156 с.

Estévez, A.M., Escobar, B., Sepúlveda, M. Physical and rheological characterization of seeds of three legume trees // Idesia. – 2012. – V. 30. – P. 83–91.

Ferreras, A.E., Funes, G., Galetto, L. The role of seed germination in the invasion process of Honey locust (*Gleditsia triacanthos* L., *Fabaceae*): comparison with a native confamilial // Plant Species Biology. – 2015. – V. 30. – P. 126–136.

INFLUENCE OF ABIOTIC FACTORS ON THE GERMINATION OF SEEDS OF HONEYLOCUST WITH HARD TESTA

E.V. Bulgakova, E.E. Nefed'eva

Volgograd State Technical University, Volgograd, Russia, vasichkinaev@yandex.ru

Abstract. Hard testa creates severe difficulties for the germination of seeds. One of the causes of low germination is a rigid and waterproof seed testa. In practice, the seeds are treated by different kinds of physical or chemical agents before sowing to destroy the solid testa. In this paper, the following techniques were used before germination to improve the germination of seeds with a hard testa, such as scarification, stratification, treatment by boiling water, influence of pulse pressure and treatment of seeds with acetone. Suberin is a component of the hard seed coat; it is a highly polymeric hydrophobic substance, which contains saturated and unsaturated fatty acids and fats as essential components. We proposed that suberin partially dissolves in acetone, resulting in increased permeability of the seed coat for water. The presence of lignified elements, suberin, and polysaccharides in the seed coat was confirmed by histochemical methods. The structure and chemical composition of the seed coat of the honeylocust were searched.

Keywords: *Gleditsia triacanthos*, hard seeds, seed testa

ВЛИЯНИЕ ИНОКУЛЯЦИИ ТОМАТА ЭНДОФИТОМ *CYLINDROCARPON MAGNUSIANUM* НА УСТОЙЧИВОСТЬ К ДЕЙСТВИЮ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

И.Л. Бухарина, Н.А. Исламова, А.А.Ф. Аль-Зеяди

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Удмуртский государственный университет», Ижевск, Россия, buharin@udmlink.ru, islamovanadezhda@mail.ru

Аннотация. Изучено влияние инокуляции *Cylindrocarpon magnusianum* на биохимические показатели растений томата. Инокуляция растений контрольной популяцией гриба при действии солей тяжелых металлов в субстрате привела к снижению содержания хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов в листьях, биомассы растений. При инокуляции растений популяциями гриба, адаптированными к действию солей тяжелых металлов, при их выращивании на субстратах с солями тяжелых металлов выявлен эффект увеличения содержания хлорофиллов *a* и *b*.

Ключевые слова: *Cylindrocarpon magnusianum*, тяжелые металлы, инокуляция, биохимические показатели

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-163-167

В настоящее время в научном сообществе повысился интерес к изучению эндомикоризы, в том числе арбускулярной микоризы (АМ), которая является самой распространенной ее формой. В природе арбускулярно-микоризные грибы (АМГ) являются частью почвенных микробных сообществ, способны влиять на эти сообщества, модифицируя окружающую среду посредством мицелиальных экссудатов, формируя «гифосферу», или «микоризосферу», которая может опосредованно воздействовать на физиологию растений [Artursson et al., 2006; Toljander et al., 2008].

Проводятся исследования, которые указывают на важную роль эндомикоризы в устойчивости растений к ряду стрессовых факторов: высоким температурам, засолению, засухе, воздействию солей тяжелых металлов, к стрессовым факторам природного и антропогенного характера [Wang et al., 2016; Wu et al., 2016; Rodriguez et al., 2005; Szabo et al., 2014].

Использование АМГ в практике ограничено, что является следствием их облигатной симбиотрофии грибов. В связи с этим особый интерес вызывает изучение группы грибов эндофитов, их роли в формировании механизмов устойчивости у высших растений. Пристальное внимание к группе грибов эндофитов связано с поиском природных биорегуляторов устойчивости растений, в том числе к внешним и внутренним патогенам [Rodriguez et al., 2005]. Одним из перспективных видов является эндофит *Cylindrocarpon magnusianum*. Его метаболиты, могут быть использованы в борьбе с нематодами [Amaral et al., 2009]. Этот гриб относят к группе нефтегазоносных грибов, что может быть востребовано в восстановлении нефтезагрязненных земель [Sogonov., Velikanov, 2004]. Возможно его использование в качестве агента повышения солеустойчивости растений [Бухарина, Исламова, 2016].

Цель нашего исследования – изучить влияние инокуляции томата культурой *C. magnusianum* на устойчивость растений к действию солей тяжелых металлов в субстрате.

Культура *C. magnusianum* выделена из корневой системы древесных растений (хорошего жизненного состояния), произрастающих в условиях городских почв с высоким содержанием солей тяжелых металлов. Видовая принадлежность гриба установлена методами молекулярного анализа ДНК в лаборатории Лейбницкого

института овощных и декоративных культур (г. Берлин, Германия).

Согласно схеме эксперимента подготовлены изоляты (популяции) гриба на субстратах с внесением разных концентраций солей тяжелых металлов (A_0 – контрольный; A_1 – на субстрате с Zn_{100} мг/л, далее A_2 – Cu_{50} , A_3 – Cu_{100} , A_4 – Cu_{150} , A_5 – Pb_{50} , A_6 – Pb_{100} , A_7 – $Cr_{2,5}$, A_8 – Cr_{10} мг/л). Затем проведена инокуляция растений томата. Опыт включал варианты: 1) инокулированные томаты (инокуляция контрольным изолятом A_0) выращивались на субстратах с разным содержанием солей тяжелых металлов (B_0 – контрольный – без ТМ; B_1 – субстрат с Zn_{100} мг/л, далее B_2 – Cu_{50} , B_3 – Cu_{100} , B_4 – Cu_{150} , B_5 – Pb_{50} , B_6 – Pb_{100} , B_7 – $Cr_{2,5}$, B_8 – Cr_{10} мг/л); 2) томаты, инокулированные популяциями грибов, адаптированными к тяжелым металлам, выращивались на субстратах без внесения и с внесением солей ТМ. Растения выращивались в климатической камере BinderKBWF720 при соблюдении оптимальных условий культуры томата. Оценка устойчивости растений проведена на основе анализа фотосинтетических пигментов (спектрофотометрическим методом в ацетоновых экстрактах (поглощение 662, 644 и 440,5 нм, соответственно), расчет концентрации пигментов проведен по уравнениям Холма-Ветшттейна).

Результаты показали, что инокуляция растений контрольной популяцией гриба при выращивании растений на субстратах с внесением Cu_{100} , Pb_{50} и Pb_{10} , $Cr_{2,5}$ мг/л вызвала существенное снижение содержания хлорофилла a в листьях (рис. 1-3). На содержание хлорофилла b и каротиноидов достоверно повлияла (снижение) лишь концентрация хрома в субстрате 2,5 мг/л.

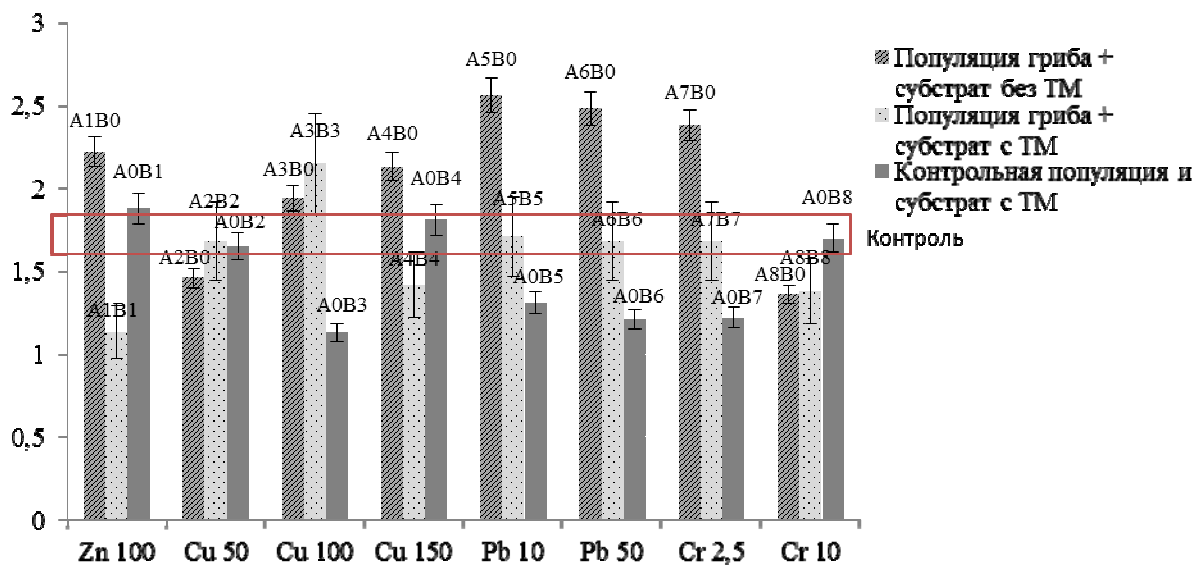


Рис. 1. Содержание хлорофилла a в листьях инокулированных растений, мг/г.

При выращивании томатов, инокулированных разными популяциями гриба (выращены на субстратах с разным содержанием ТМ), на контрольном (без внесения ТМ) субстрате мы наблюдали достоверное увеличение содержания хлорофилла a в листьях (за исключением популяций гриба Cr_{10} и Cu_{50} , где, наоборот, установлено достоверно меньшее значение показателя по сравнению с контролем).

Популяции гриба *C. magnusianum*, выращенные на субстрате с высоким содержанием хрома (Cr_{10}), вызвали существенное снижение содержания хлорофилла b в листьях. Интересен тот факт, что популяции гриба Pb_{10} и $Cr_{2,5}$ вызвали увеличение содержания хлорофилла b , а популяция $Cr_{2,5}$ – содержание каротиноидов в листьях томата.

Таким образом, содержание хлорофилла *a* в листьях оказалось более чувствительным показателем к действию инокуляции растений популяциями грибов.

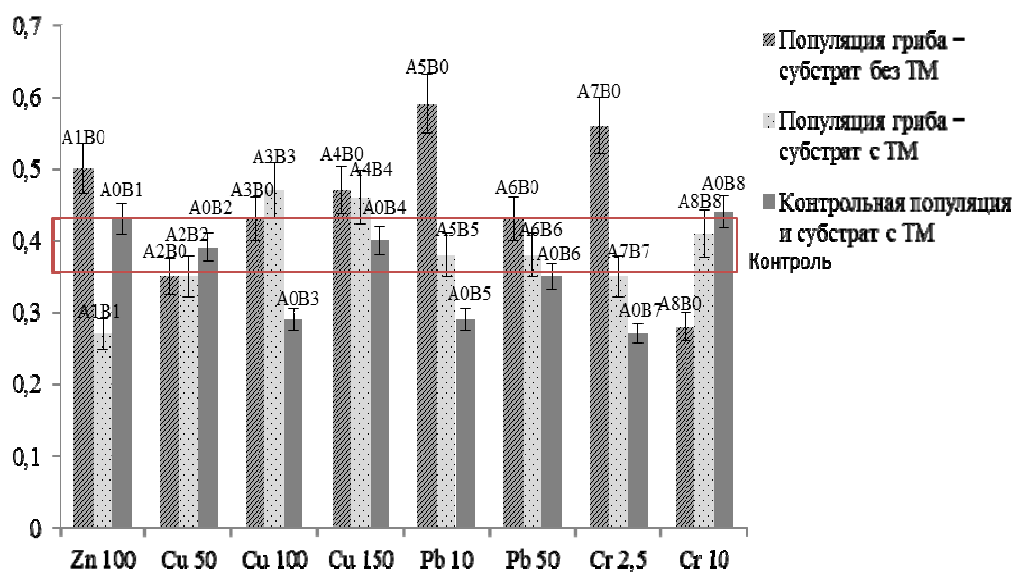


Рис. 2. Содержание хлорофилла *b* в листьях инокулированных растений, мг/г.

При анализе влияния взаимодействия популяции гриба и содержания химических элементов в субстрате установлено, что на содержание фотосинтетических пигментов в листьях достоверное влияние оказали популяции гриба Pb₁₀ и Cr_{2,5} (при выращивании растений на субстратах с аналогичным содержанием свинца и хрома), приводя к существенному снижению содержания хлорофиллов *a* и *b* в листьях, по сравнению с результатами выращивания растений (инокуляция популяциями гриба) на контрольном субстрате. Достоверное снижение концентрации хлорофиллов *a* и *b* по сравнению с контрольным вариантом (A₀V₀) отмечено лишь в варианте популяции гриба Zn₁₀₀ с последующим выращиванием растений в субстрате с содержанием цинка 100 мг/л. Наиболее стабилен был показатель содержания каротиноидов.

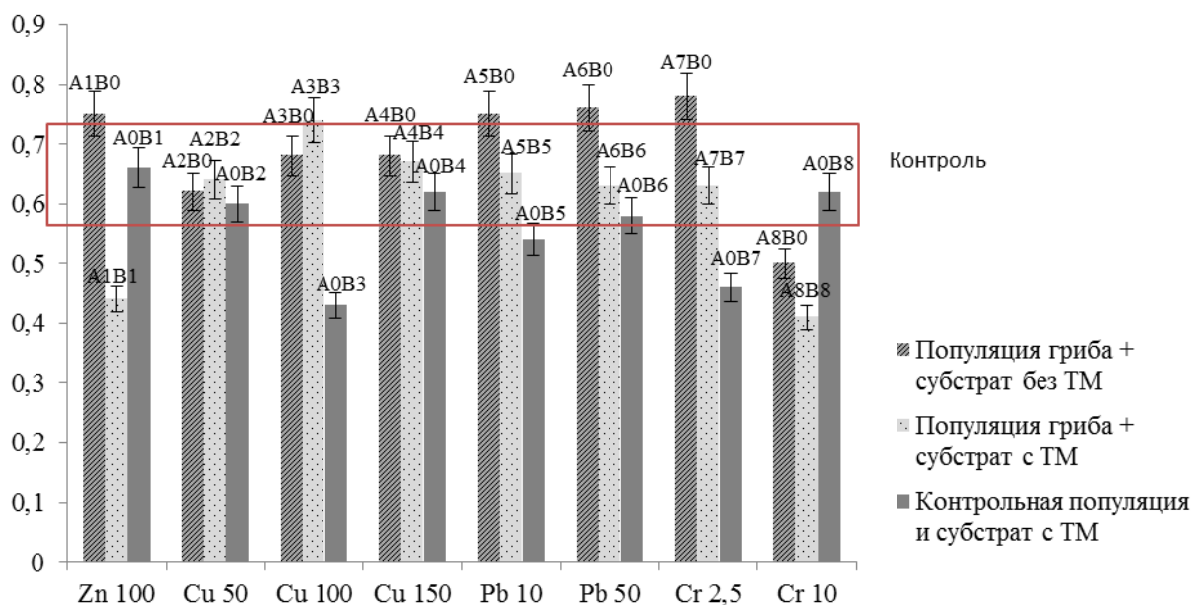


Рис. 3. Содержание каротиноидов в листьях инокулированных растений, мг/г.

При анализе влияния инокуляции томатов контрольной популяцией гриба на морфологические показатели выявлено, что при внесении в субстрат меди (50 мг/л) и хрома (10 мг/л) наблюдалось достоверное снижение биомассы надземной части растений. Содержание в субстрате хрома (2,5 мг/л) вызвало снижение биомассы корней. При выращивании томатов, инокулированных разными популяциями гриба *S. magnusianum*, на контрольном субстрате (без ТМ) практически во всех вариантах опыта (за исключением популяций гриба Zn₁₀₀) наблюдалось достоверное снижение биомассы корней. Популяции гриба Zn₁₀₀, Cu₁₀₀, Pb₅₀, Cr_{2,5} и Cr₁₀ также вызвали существенное снижение биомассы надземной части растений.

Что касается совместного влияния инокулята и содержания химических элементов в субстрате, наблюдалось достоверное увеличение биомассы надземной части и корней растений по сравнению с контролем при внесении в субстрат хрома в концентрации 2,5 мг/л и использовании популяции гриба Cr_{2,5}. Популяции гриба Cu₁₀₀ и Cr₁₀ при выращивании томатов на субстратах с аналогичным содержанием меди (100 мг/л) и хрома (10 мг/л) также вызвали рост биомассы надземной части растений.

Таким образом, стимулирующего эффекта, повышающего устойчивость растений к действию солей ТМ, при инокуляции растений контрольной популяцией гриба *S. magnusianum* не выявлено. Он установлен в случае инокуляции растений популяциями гриба, адаптированными к действию солей тяжелых металлов.

Исследования выполнены при поддержке гранта РФФИ "Мой первый грант" (проект № 16-34-00855).

Литература

Бухарина И.Л., Исламова Н.А. Исследование пределов устойчивости микроскопических грибов и формирование коллекции перспективных изолятов // Мат. годичного собрания общества физиологов растений России "Сигнальные системы растений: от рецептора до ответной реакции организма". – СПб., 2016. – С. 362–363.

Amaral D.R., Oliveira D.F., Campos V.P., de Carvalho D.A., Nunes A.S. Effect of plant and fungous metabolites on *Meloidogyne exigua* // Ciencia e Agrotecnologia. – 2009. – V. 33. – P. 1861–1865.

Artursson V., Finlay R.D., Jansson J.K. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth // Environmental Microbiology. – 2006. – V. 8. – P. 1–10.

Rodriguez R.J., White J.F., Arnold A.E., Redman R.S. Fungal endophytes: diversity and functional roles // New Phytologist. – 2009. – V. 182. – P. 314–330.

Sogonov M.V., Velikanov L.L. Soil microfungi from alpine and subnival ecosystems of the Northwestern Caucasus // Mikologiya i Fitopatologiya. – 2004. – V. 38. – P. 50–58.

Szabo K., Boll S., Eros-Honti Z. Applying artificial mycorrhizae in planting urban trees // Applied ecology and environmental research. – 2014. – V. 12. – P. 835–853.

Toljander J.F., Santos-González J.C., Tehler A., Finlay R.D. Community analysis of arbuscularmycorrhizal fungi and bacteria in the maize mycorrhizosphere in a long-term fertilization trial // FEMS microbiology ecology. – 2008. – V. 65. – P. 323–338.

Wang F., Liu X., Shi Z., Tong R., Adams C.A., Shi X. Arbuscular mycorrhizae alleviate negative effects of zinc oxide nanoparticle and zinc accumulation in maize plants – a soil microcosm experiment // Chemosphere. – 2016. – V. 147. – P. 88–97.

Wu S., Zhang X., Chen B., Wu Z., Li T., Hu Y., Sun Y., Wang Y. Chromium immobilization by extraradical mycelium of arbuscular mycorrhiza contributes to plant chromium tolerance // Environmental and Experimental Botany. – 2016. – V. 122. – P. 10–18.

EFFECT OF TOMATO INOCULATION BY CYLINDROCARPON MAGNUSIANUM ENDOPHYT ON THE RESISTANCE TO THE ACTION OF HEAVY METALS

I.L. Bukharina, N.A. Islamova, Amir Farhan Zhawad Al-Zeyadi

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Udmurt State University», Izhevsk, Russia, *buharin@udmlink.ru*

Abstract: The results of experiments on the effect of inoculation by endotrophic fungi *Cylindrocarpon magnusianum* on the physiological and biochemical parameters of tomato as a test culture are presented in the article. The scheme of the experiment included inoculation by the culture of the fungus *Cylindrocarpon magnusianum* and the populations of this fungus, previously grown on agar media with the introduction of different concentrations of heavy metals. Inoculated plants were grown on a control substrate and on substrates with various concentrations of heavy metals. The positive effect associated with the pigment system and the biochemical parameters of plants was observed in the experiment variants using fungal populations preliminarily adapted to the content of heavy metals in the substrate.

Keywords: *Cylindrocarpon magnusianum, heavy metals, inoculation, biochemical indices*

СОРТОВАЯ СПЕЦИФИКА ОТВЕТНЫХ РЕАКЦИЙ ЯЧМЕНЯ НА РАЗЛИЧНЫЕ СТРЕССЫ

И.А. Быковская, Л.В. Осипова, Т.Л. Курносова

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт агрохимии имени Д.Н. Прянишникова» Москва, Россия, *bykovskaya_irina@bk.ru*

Аннотация. В серии лабораторных и вегетационных опытов изучена специфика ответных реакций сортов ячменя на различные стрессы.

Ключевые слова: яровой ячмень; сорта; кремний; стресс; фотосинтетические пигменты

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-168-169

Получение стабильных урожаев зерна в условиях глобального потепления, увеличения погодных аномалий и антропогенных нагрузок возможно лишь при использовании агрохимически эффективных высокоустойчивых сортов зерновых культур [Павлова, Сиротенко, 2012; Шульгин и др., 2011; Chaviese et al., 2009].

Устойчивость растений – генетически обусловленный признак, реализация которого зависит от комплекса условий выращивания: погодно-климатических особенностей вегетационного периода и обеспеченности минеральным питанием [Тарчевский, 2001; Miller, 2002; Прадедова и др., 2011; Осипова и др., 2016].

При оценке исходной устойчивости сортов ярового ячменя на первых этапах органогенеза определяли уровень свободнорадикального окисления в благоприятных условиях культивирования и при действии стресс факторов. В отечественных и зарубежных публикациях в последние десятилетия показано, что свободно радикальное окисление (СРО) является необходимым звеном нормального функционирования растительного организма и лишь при стрессовом воздействии его уровень резко возрастает в результате активизации образования свободных радикалов, повреждающих структуры клетки. Пять сортов ячменя, – Нур, Владимир, Московский 86, Прометей, Яромир, – выращивали в климатической камере при поддержании постоянной температуры и влажности воздуха на воде и водных растворах стрессоров: сахарозе, хлориде натрия, нитрате кадмия и десиканте - диквате. В 7^{ми} дневных проростках определяли линейные размеры корней и ростка и уровень СРО по содержанию конечных продуктов перекисных процессов (в основном малонового диальдегида (МДА)). Рассчитывали биологический эффект воздействия стресс факторов как процент регистрируемого показателя от контрольных значений. В оптимальных условиях выращивания сорта различалось по интенсивности процессов СРО при незначительных различиях в размерах проростка. Содержание МДА в надземной части растений всех сортов было выше, чем в корнях. При действии всех видов стрессов отмечалось торможение роста проростка и повышение уровня СРО. Ингибирующее действие стрессов в большей степени было выражено в надземной части проростка. Биологический эффект воздействия зависел от вида стресса, его концентрации и сорта. Наибольшие отклонения от контроля наблюдались у всех сортов при осмотическом и солевом стрессах, а наименьшие – при воздействии тяжелого металла. Ответная реакция органов на стрессы была неоднозначна. У одних сортов содержание МДА возрастало в большей степени в ростке, у других в корневой системе, у третьих отмечалось одинаковое стрессовое действие на надземную часть и корень. Если оценивать резистентность сортов к стрессам по степени изменения содержания

МДА, то наиболее устойчивым из изученных сортов оказался сорт Прометей, а наименьшим – сорт Московский 86.

Литература

Осипова Л.В., Курносова Т.Л., Быковская И.А. Повышение адаптивного потенциала ячменя ярового (*Hordeum vulgare* L.) при действии абиотического стресса // Проблемы агрохимии и экологии. – 2016. – № 3. – С. 48–51.

Павлова В.Н., Сиротенко О.Д. Наблюдаемые изменения климата и динамика продуктивности сельского хозяйства России. – С. Пб: Труды главной геофизической обсерватории им. А.И. Воейкова, 2012. – Вып. 565. – С. 132–151.

Прадедова Е.В., Шмелева О.Д., Салаяев Р.К. Классификация системы антиоксидантной защиты как основа рациональной организации экспериментального исследования окислительного стресса у растений // Физиология растений. – 2011. – Т. 58. – № 2. – С. 177–185.

Тарчевский И.А. Метаболизм растений при стрессе. – Казань: ФЭН, 2001. – 447с.

Шульгин И.А., Тарасова Л.Л., Сенников В.А. Агрометеорологические аспекты оценки урожаев в условиях климатических изменений // Адаптация сельского хозяйства России к меняющимся погодно-климатическим условиям. – М.: РГАУ-МСХА. – 2011. – С. 90–99.

Chaves M.M., Flexas J., Pinheiro C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell // Ann. Bot. – 2009. – V. 103. – P. 551–560.

Miller R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance // Trends Plant Sci. – 2002. – V. 7 (9). – P. 405–410.

HIGH-QUALITY SPECIFICS OF RESPONSES OF BARLEY TO VARIOUS STRESSES

I.A. Bykovskaya, L.V. Osipova, T.L. Kurnosova

Federal State Budgetary Institution All-Russian Research Institute of Agrochemistry named after D.N. Pryanishnikov, Moscow, Russia; bykovskaya_irina@bk.ru

Abstract. In a series of laboratory and vegetative trials the specifics of responses of grades of barley to various stresses are studied.

Keywords: *summer barley; grades; silicon; stress; photosynthetic pigments*

МЕЛАТОНИН И ЕГО УЧАСТИЕ В РЕАКЦИЯХ ФОТООКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА *ARABIDOPSIS THALIANA*

И.А. Бычков, Н.В. Кудрякова, В.В. Кузнецов

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия, *Ivan.a.b@mail.ru*

Аннотация. Проведено изучение функций мелатонина в снижении негативных последствий фотоокислительного стресса в срезанных листьях *Arabidopsis thaliana*. Показано, что он участвует в сохранении хлорофилла, поддержании активности фотосистемы II. Мелатонин уменьшал также накопление антоцианов и малонового диальдегида. Действие мелатонина, предположительно, было связано с прямой деактивацией активных форм кислорода, за счет увеличения содержания каротиноидов и пролина, выполняющих антиоксидантную функцию.

Ключевые слова: *Arabidopsis thaliana*, антиоксидант, мелатонин, фотоокислительный стресс

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-170-174

Введение. Мелатонин впервые был идентифицирован в растительных организмах в 1995 году [Reiter at al., 2015]. Принято считать, что с одной стороны он способен выступать в качестве регулятора различных физиологических процессов, а с другой играет роль антиоксиданта [Arnao at al., 2014]. Согласно результатам анализа транскриптома *Arabidopsis*, мелатонин способен влиять на большое число генов ответа на стресс, включая гены антиоксидантных ферментов, гены стресс-индуцируемого гормонального сигналинга, гены транскрипционных факторов, связанных со стрессом, и другие [Weeda at al., 2014]. Антиоксидантная функция мелатонина проявляется в его способности связывать активные формы кислорода. Показано, что одна молекула мелатонина потенциально может дезактивировать через каскад реакций до десяти свободных радикалов [Tan at al., 2007].

К настоящему времени показана положительная роль мелатонина в снижении негативного действия ряда стрессоров абиотической природы. Мелатонин уменьшает окисление липидов мембран, снижает потерю хлорофилла, препятствует замедлению роста и развития растений разных таксонов при действии холода, гипертермии, засухи, недостатка кислорода, влиянии тяжелых металлов и засоления [Zhang at al., 2015]. Показано, что растения, подвергающиеся интенсивному облучению в естественных или искусственных условиях, накапливают больше мелатонина и продуктов его метаболизма в тканях [Hardeland, 2016], однако фотопротекторная роль мелатонина практически не изучена.

Целью данной работы являлось исследование участия мелатонина в снижении окислительного стресса листьев *Arabidopsis* в условиях повышенной освещенности.

Материалы и методы. Для работы использовали растения *Arabidopsis thaliana* экотипа Columbia 0. Растения выращивались в почве до достижения четырехнедельного возраста при 23 °С, режиме: свет/темнота – 16/8 ч и интенсивности освещения 100 мкМ⁻² с⁻¹. Для опыта отбирали 5 и 6 розеточные листья. Срезанные листья раскладывались в чашки Петри на бумажные фильтры на воду или растворы мелатонина (10 мкМ, 100 мкМ или 1 мМ). Чашки помещались в условия освещенности высокой интенсивности (250 мкМ⁻² с⁻¹). В качестве контроля использовали срезанные листья, инкубируемые на воде при рассеянном освещении (30 мкМ⁻² с⁻¹). Образцы выдерживались в данных условиях в течение 3 суток. Измерение содержания

фотосинтетических пигментов проводили по методу [Lichtenthaler, 1984]. Параметры фотосинтетической активности оценивали, измеряя флуоресценцию хлорофилла *a* с помощью флуориметра PAM-101 (Walz, Германия). Содержание свободного пролина определяли по методу [Bates et al., 1973]. Накопление малонового диальдегида оценивали по окрашенному комплексу ТБК с конечными продуктами окисления липидов [Heath, Packer, 1968], а уровень антоцианов – по методу [Giraud et al., 2008]. Все измерения проводились в 3-6 повторностях.

Результаты и обсуждение. Результаты исследования показали, что мелатонин способен влиять на сохранение хлорофилла в условиях фотостресса (табл. 1). Вероятно, это связано как с более высоким уровнем антиоксидантной защиты в присутствии мелатонина, так и с его способностью ингибировать ферменты распада хлорофилла – хлорофиллазу и феофорбид-*a*-оксигеназу, как было показано в опытах по старению листьев [Hardeland, 2016]. Интересно, что содержание каротиноидов у обработанных мелатонином листьев достоверно увеличилось не только относительно водного варианта, но и относительно контроля. Общеизвестно, что каротиноиды дезактивируют молекулы синглетного кислорода, который активно образуется в хлоропластах под действием избыточной световой энергии. Следовательно, мелатонин не только сам выступает в роли антиоксиданта, но и действует через каротиноиды.

Таблица 1.

Влияние мелатонина на содержание фотосинтетических пигментов в листьях *Arabidopsis* в условиях фотоокислительного стресса

Вариант обработки	Хлорофилл <i>a</i> , мг/г сырого веса	Хлорофилл <i>b</i> , мг/г сырого веса	Хлорофилл <i>a+b</i> , мг/г сырого веса	Каротиноиды, мг/г сырого веса
Контроль (вода, 30 мкМ ⁻² с ⁻¹)	0,504±0,008	0,242±0,006	0,746±0,013	0,114±0,003
Вода (250 мкМ ⁻² с ⁻¹).	0,315±0,005	0,162±0,003	0,477±0,008	0,112±0,001
+10 мкМ мелатонина	0,411±0,027	0,210±0,005	0,611±0,014	0,135±0,006
+100 мкМ мелатонина	0,424±0,011	0,208±0,011	0,632±0,022	0,136±0,001
+1 мМ мелатонина	0,380±0,001	0,212±0,006	0,592±0,006	0,149±0,001

Раствор мелатонина высокой концентрации 1 мМ в меньшей степени способствовал сохранению хлорофилла *a*. Эта особенность согласуется с данными измерения флуоресценции хлорофилла (табл. 2). Фотосинтетическая активность растения зависит не только от содержания хлорофилла, но и от эффективности использования полученной энергии света. Показатель *Fv/Fm* определяет потенциально-возможный максимальный квантовый выход фотосистемы II, уменьшение величины этого показателя свидетельствует о повреждении фотосинтетического аппарата и может служить показателем стресса. Полученная энергия квантов света расходуется на полезную работу *Y(II)*, и рассеивается в виде тепла с помощью регулируемого *Y(NPQ)* и нерегулируемого *Y(NO)* не фотохимического тушения. Соотношение этих показателей характеризует эффективность фотосистемы. В нашем опыте фотоокислительный стресс уменьшал показатели *Fv/Fm*, *Y(II)* и *Y(NPQ)*, но увеличивал показатель *Y(NO)*. При обработке мелатонином с концентрацией 10 мкМ и 100 мкМ негативное воздействие света уменьшалось, однако этот эффект не проявлялся при использовании 1 мМ мелатонина.

Известно, что антоцианы накапливаются в растении при световом облучении высокой интенсивности [Shi and Xie, 2014]. Индуцируемое в ответ на свет накопление антоцианов может служить показателем степени стресса. В наших опытах фотоокислительный стресс вызывал более чем десятикратное увеличение содержания антоцианов в листьях, инкубируемых на воде, по сравнению с контролем (табл. 3). Обработка мелатонином значительно замедляла скорость их накопления.

Таблица 2.

Влияние мелатонина на фотохимические и нефотохимические процессы в листьях *Arabidopsis* в условиях фотоокислительного стресса (по данным флуориметрии)

Вариант обработки	Fv/Fm	Y(II)	Y(NPQ)	Y(NO)
Контроль (вода, 30 мкМ ⁻² с ⁻¹)	0.807±0,001	0.692±0,004	0.079±0,006	0.230±0,007
Вода (250 мкМ ⁻² с ⁻¹)	0.707±0,007	0.647±0,007	0.038±0,007	0.315±0,007
+10 мкМ мелатонина	0.750±0,022	0.679±0,028	0.044±0,013	0.280±0,016
+100 мкМ мелатонина	0.756±0,044	0.664±0,046	0.045±0,007	0.291±0,040
+1 мМ мелатонина	0.710±0,055	0.549±0,080	0.075±0,015	0.376±0,065

Другим важным показателем устойчивости растения при воздействии негативных абиотических факторов является целостность клеточных мембран. Любой вид стресса сопровождается накоплением активных форм кислорода, которые являются причиной перекисного окисления липидов мембран. Мы оценивали целостность мембран, измеряя накопление малонового диальдегида (МДА) – конечного продукта окисления липидов. В листьях, инкубируемых на воде, избыточный свет вызывал почти пятикратное увеличение количества МДА, мелатонин понижал эти значения до четырех- и трехкратного значения относительно контроля (табл. 3). В наименьшей степени МДА и антоцианы накапливались при использовании 1 мМ мелатонина.

Таблица 3.

Влияние мелатонина на накопление антоцианов и накопление малонового диальдегида в листьях *Arabidopsis* в условиях фотоокислительного стресса.

Вариант обработки	Накопление антоцианов, усл. ед.	Накопление МДА, мкМ/г сырой массы
Контроль (вода, 30 мкМ ⁻² с ⁻¹)	0,135±0,004	2,062±0,157
Вода (250 мкМ ⁻² с ⁻¹)	1,403±0,086	10,117±0,856
+10 мкМ мелатонина	0,823±0,076	8,396±0,461
+100 мкМ мелатонина	1,007±0,025	6,282±0,098
+1 мМ мелатонина	0,561±0,019	6,880±0,105

Воздействие света высокой интенсивности способствовало накоплению пролина у опытных растений (табл. 4). Примечательно, что добавление мелатонина усиливало его накопление. Пролин является эффективным антиоксидантом, способным принимать участие в прямом «тушении» свободно-радикальных реакций при окислительном стрессе [Liang et al., 2013]. Его накопление уменьшает окислительный стресс. Увеличение содержания пролина в нашем опыте свидетельствует о том, что растения, обработанные мелатонином, продолжают испытывать стресс, однако накопление антиоксидантов способствует уменьшению негативных последствий для опытных образцов.

Таблица 4.

Влияние мелатонина на накопление пролина в листьях *Arabidopsis* в условиях фотоокислительного стресса

Вариант обработки	Накопление пролина, мМ/г сырой массы
Контроль (вода, 30 мкМ ⁻² с ⁻¹)	0,134±0,005
Вода (250 мкМ ⁻² с ⁻¹)	0,317±0,010
+10 мкМ мелатонина	0,371±0,026
+100 мкМ мелатонина	0,336±0,044
+1 мМ мелатонина	0,520±0,073

Заключение. В условиях фотоокислительного стресса мелатонин снижает накопление антоцианов и способствует сохранению целостности липидов мембран, что свидетельствует об уменьшении испытываемого растениями стресса. Он также эффективно поддерживает уровень хлорофиллов и активность фотосинтетического аппарата в концентрациях 10 и 100 мкМ. Мелатонин повышает уровень каротиноидов и пролина, опосредованно действуя на свободные радикалы. Нужно отметить, что в данной постановке эксперимента ни в одном из вариантов мелатонин не снижал уровень окислительного стресса до контрольных величин, что демонстрирует пределы его возможностей как антиоксиданта. Показаны отличия в действии разных концентраций мелатонина, особенно в отношении параметров фотосинтеза. Можно предположить, на основании литературных данных, что в данном опыте мелатонин высокой концентрации (1 мМ) действовал в большей степени как прямой антиоксидант, и в меньшей – как регулятор активности фотосинтетических генов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 14-14-00584).

Литература

Arnao M.B., Hernandez-Ruiz Melatonin and its relationship to plant hormones // *Ann. Bot.* – 2018. – V. 121. – P. 195–207.

Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water-stress studies // *Plant Soil.* – 1973. – V. 39. – P. 205–207.

Giraud E., Ho L.H., Clifton R. et al. The absence of alternative oxidase1a in *Arabidopsis* results in acute sensitivity to combined light and drought stress // *Plant Physiol.* – 2008. – V. 147. – P. 595–610.

Hardeland R. Melatonin in plants – diversity of levels and multiplicity of functions // *Frontiers in Plant Science.* – 2016. – V.7. – P. 1–14.

Heath L.R., Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1968. – V. 125. – P. 189–198.

Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes // *Meth. Enzymol.* – 1987. – V. 148. – P. 350–382.

Reiter R.J., Tan D.X., Zhou Z. et al. Phytomelatonin: assisting plants to survive and thrive // *Molecules.* – 2015. – V. 20(4). – P.7396–7437.

Shi M.-Z., Xie D.-Y. Biosynthesis and metabolic engineering of anthocyanins in *Arabidopsis thaliana* // *Recent Patents on Biotechnology.* – 2014. – V. 8. – P. 47–60.

Tan D.-X., Manchester L.C., Terron M.P. et al. One molecule, many derivatives: A never-ending interaction of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species? // *J. Pineal Res.* – 2007. – V. 42. – P. 28–42.

Weeda S., Zhang N., Zhao X. et al. *Arabidopsis* transcriptome analysis reveals key roles of melatonin in plant defense systems // *PlosOne.* – 2014. – V. 9. – P. 1–18.

Xinwen Liang, Lu Zhang, Sathish Kumar Natarajan, and Donald F. Becker Proline Mechanisms of Stress Survival // *Antioxidants & redox signaling.* – 2013. – V. 19. – P. 998–1011.

Zhang N., Sun Q., Zhang H. et al. Roles of melatonin in abiotic stress resistance in plants // *Journal of Experimental Botany.* – 2015. – V. 66. – P. 647–656.

MELATONIN AND ITS ROLE IN THE REACTIONS OF PHOTO-OXIDATIVE STRESS *ARABIDOPSIS THALIANA*

I.A. Bychkov, N.V. Kudryakova, V.V. Kusnetsov

K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia, *Ivan.a.b@mail.ru*

Abstract. In this study, we examined the role of melatonin in reducing of the negative effects of photo-oxidative stress in detached leaves of *Arabidopsis*. Melatonin was shown to participate in the retention of chlorophyll and the maintenance of photosystem II. Melatonin also reduced the accumulation of anthocyanins and malonic dialdehyde. The effect of melatonin was presumably associated with the direct deactivation of reactive oxygen species, particularly with the increase in carotenoids and proline performing the antioxidant function.

Keywords: *Arabidopsis thaliana*, antioxidant, melatonin, photo-oxidative stress

РОЛЬ *TRICHODERMA* В ПОВЫШЕНИИ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ К ДЕЙСТВИЮ ЦИНКА

А.Ф. Валиулина, Т.И. Голованова

Сибирский федеральный университет, Красноярск, Россия, biolog@krasnou.ru

Аннотация. Цинк (1×10^{-5} моль/л и 5×10^{-5} моль/л) оказывал влияние на физиолого-биофизические показатели растений томатов. Приводил к деградации общего содержания зеленых пигментов, изменению соотношения пулов зеленых и желтых пигментов, происходило снижение скорости электронного потока, квантового выхода у *Solanum lycopersicum*. *Trichoderma* снижала токсическое действие цинка. Их влияние на ростовые процессы растений зависело от содержания цинка в среде, времени его воздействия, от возраста растения.

Ключевые слова: *Trichoderma*, цинк, пигменты, квантовый выход, скорость электронного потока

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-175-179

На рост и развитие растений оказывают влияние целый ряд как абиотических, так и биотических факторов окружающей среды. Во многих случаях эти условия складываются неблагоприятно, что приводит к резкому снижению урожая и даже гибели посевов. Среди многочисленных абиотических факторов особое место занимают тяжелые металлы [Чиркова, 2002]. Тяжелые металлы составляют особую группу загрязнителей, неподверженных биодеструкции и способных аккумулироваться в почвах до токсических концентраций. Токсическое действие тяжелых металлов проявляется в нарушении метаболизма, снижении продуктивности растений. Среди группы тяжелых металлов уникальная роль принадлежит цинку, который в качестве кофактора входит в состав всех известных классов ферментов. Цинк характеризуется высокой интенсивностью поглощения растительностью, а увеличение техногенной эмиссии в окружающую среду делает его одним из опасных загрязнителей биоты [Савочкин, 2012]. Влияние цинка на растения зависит от микроорганизмов-антагонистов, совместно обитающих с растениями, они оказывают положительное влияние на целый комплекс физиолого-биохимических программ, протекающих в растительном организме, обеспечивают их необходимыми элементами питания и регуляторами роста, защищают растения от патогенных микроорганизмов, способствуют повышению устойчивости к различным стрессовым факторам [Кому et al., 2015]. К таким микроорганизмам-антагонистам патогенов относятся грибы рода *Trichoderma* [Голованова, Логинова, 2005], которые являются продуцентами комплекса антибиотических веществ, обладающих высокой физиологической активностью и подавляющие рост и развитие целого ряда фитопатогенных микроорганизмов путем индуцирования системной и локальной резистентности растений. Под действием метаболитов, выделяемых грибом-антагонистом, происходит изменение транспорта и распределение ассимилятов в растении, изменяется биохимическая направленность, увеличивается рост, развитие корневой системы и масса хозяйственно-ценных органов растения, что может быть связано с интенсивностью фотосинтеза.

Цель данного исследования – изучить влияние *Trichoderma asperellum* на биофизические показатели *Solanum lycopersicum*, выращенных при различных концентрациях цинка.

В качестве тест-объекта использовали растения томатов (*Solanum lycopersicum*), сорта Лакомка. Это высокоурожайный, раннеспелый сорт. Растение детерминантное, высотой 55-60 см. В качестве микроорганизмов-антагонистов – грибы *Trichoderma asperellum* штамма МГ-97.

Растения выращивали в условиях естественного освещения в течение 60 суток, освещенность на уровне проростков составляла $300 \text{ мкмоль фотонов м}^{-2} \text{ с}^{-1}$, относительная влажность воздуха – $75 \pm 3\%$, температура воздуха колебалась в пределах $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. Количество растений в каждом варианте – 50 штук. Перед посевом семян проводили их поверхностную стерилизацию. Часть семян опудривали спорами *Trichoderma asperellum*. Семена проращивали рулонным методом [Бенкен., Хацкевич, 1980]. Проросшие семена помещали в емкости с отстоянной водопроводной водой. На восьмые сутки часть проростков оставляли в емкостях с отстоянной водопроводной водой, а другую помещали в отстоянную водопроводную воду, содержащую цинк в различных концентрациях ($1 \cdot 10^{-5}$ моль/литр и $5 \cdot 10^{-5}$ моль/литр).

В качестве контроля использовали растения, семена которых не обработаны спорами *Trichoderma* и выращены на водопроводной воде.

Концентрацию пигментов измеряли спектрофотометрическим методом по молярным коэффициентам экстинкции на приборе Specol 1300 (analytic jena, Германия).

Вычисление концентрации зеленых и желтых пигментов проводили по формулам [Wintermans, Mots, 1965]:

$$C_a = 13,7 \times (D_{665} - D_{720}) - 5,76 \times (D_{649} - D_{720})$$

$$C_b = 25,8 \times (D_{649} - D_{720}) - 7,6 \times (D_{665} - D_{720}),$$

$$C_{\text{кар}} = ((D_{470} - D_{720}) - C_a \times 0,001666 - C_b \times 0,03315) / 0,21, \text{ где}$$

C_a – концентрация хлорофилла *a*, C_b – концентрация хлорофилла *b*, $C_{\text{кар}}$ – концентрация желтых пигментов, D – оптическая плотность раствора при заданной длине волны.

Количество пигментов рассчитывали по формуле:

$$M = (C \times V) / m, \text{ где}$$

C – концентрация пигментов (мг/мл), V – объем навески (мл), m – масса навески (г).

Функциональную активность фотосинтетического аппарата ассимилирующих тканей оценивали по показателям индукции флуоресценции хлорофилла РАМ-флуориметром (Heinz Walz GmbH, Германия) [Walz, 2006].

Определяли реальный квантовый выход фотосистемы II ($Y(II)$) в адаптированном к свету состоянии, учитывали относительную скорость транспорта электронов фотосистемой II (ETR). Для этого проводили регистрацию изменений показателей флуоресценции хлорофилла при фотосинтетической активной радиации в диапазоне от 0 до 800 фотонов/ $\text{м}^2\text{с}$. Данный прибор позволил визуализировать данные параметры. Скорость электронного транспорта (ETR) рассчитывали по формуле:

$$ETR = I_{\text{PAR}} \times (ETR\text{-Factor}) \times Y(II), \text{ где}$$

I_{PAR} – интенсивность света, ETR-Factor равен 0,84, который отражает эффективность поглощения фотонов пигментами; $Y(II)$ – эффективность квантового выхода ФС II рассчитывали на основе нулевого F_0 и максимального F_m уровней [Kitajima, Butler, 1975]:

$$Y(II)_m = (F_m - F_0) / F_m.$$

Для статистической обработки экспериментальных результатов использовали пакет программы Microsoft Excel 2007. Оценку достоверности различий средних проводили на основе критерия Стьюдента при уровне вероятности не менее 95%. Достоверность действия фактора проводили с использованием дисперсионного анализа. На рисунках приведены средние арифметические значения с двухсторонним доверительным интервалом из 3-5 независимых экспериментов, каждый из которых проведен в 50 биологических повторностях.

Показателем, который характеризует состояние растений в условиях стресса, является содержание пигментов в листьях растений. Оптимальное соотношение пигментов обеспечивает работу фотосинтетического аппарата и позволяет создавать большой запас ассимилятов для формирования урожая. Пигменты являются фотоакцепторами, от их количества и эффективности работы зависит продуктивность растений. Цинк привел к уменьшению количества хлорофилла *a* и *b*, снижению их отношения, что, возможно, связано с влиянием цинка на их деградацию, что экспериментально было доказано Ауени et al. Отмечено негативное действие цинка на содержание желтых пигментов и на соотношение пулов зеленых и желтых фотосинтетических пигментов.

В качестве показателя состояния и эффективности функционирования фотосинтетического аппарата были использованы параметры флуоресценции, которые широко используются в фундаментальных и прикладных исследованиях [Schreiber, 2004].

Показано, что на 25-е сутки развития растения цинк в концентрации 1×10^{-5} не оказывал существенного воздействия на скорость электронного потока (ETR) растений, кривые скорости электронного транспорта у подверженных и неподверженных стрессу растений совпадали (рис. 1А).

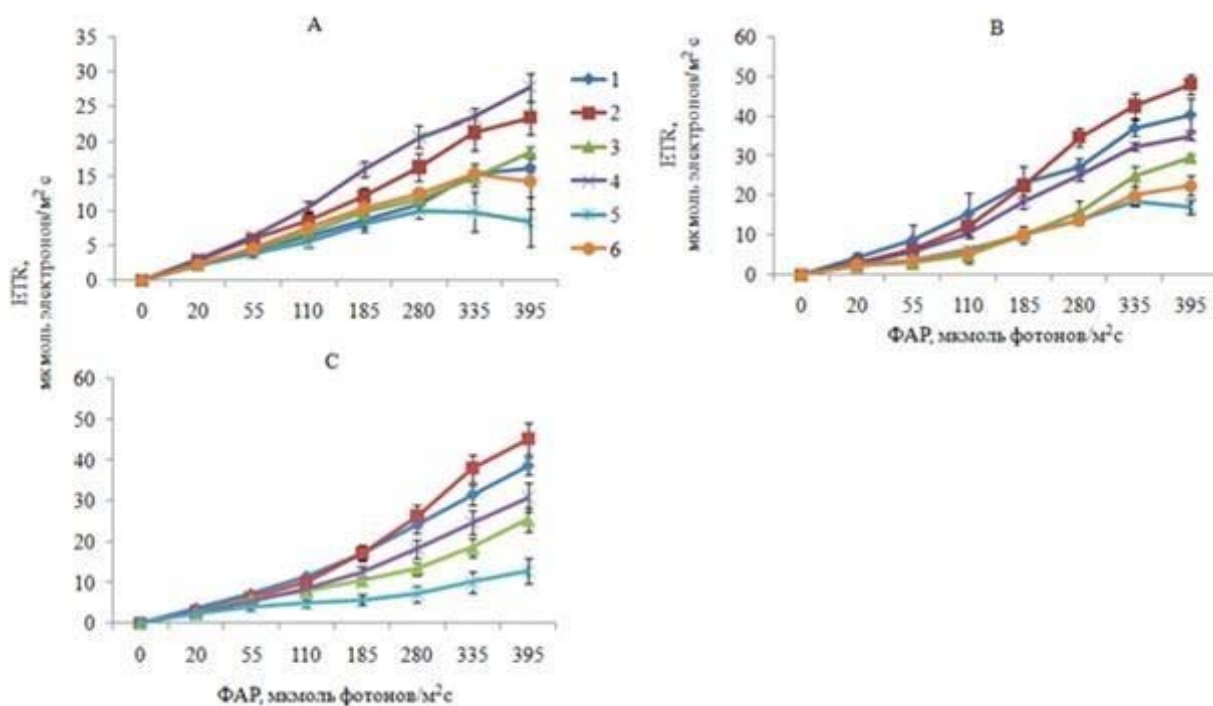


Рис. 1. Влияние цинка на скорость транспорта электронов *Solanum lycopersicum*:

А – на 25 сутки, В – на 45 сутки, С – на 60 сутки

- 1 – растения, выращенные на водопроводной воде;
- 2 – растения, семена которых были обработаны микромицетами;
- 3 – растения, выращенные на растворе, содержащем цинк ($1 \cdot 10^{-5}$ моль/л) и не обработанные микромицетами;
- 4 – растения, выращенные на растворе, содержащем цинк ($1 \cdot 10^{-5}$ моль/л) и обработанные микромицетами;
- 5 – растения, выращенные на растворе, содержащем цинк ($5 \cdot 10^{-5}$ моль/л) и не обработанные микромицетами;
- 6 – растения, выращенные на растворе, содержащем цинк ($5 \cdot 10^{-5}$ моль/л) и обработанные грибами рода микромицетами.

При увеличении плотности светового потока более 280 мкмоль фотонов/(м²с) - концентрация цинка 5×10^{-5} моль/л - скорость ETR существенно снижалась. Особенно сильный ингибирующий эффект цинка независимо от его концентрации проявлялся на последующих сроках вегетации растений, так на 45-е сутки в третьем и пятом вариантах по сравнению с контролем ETR снизилась в 1,4 и 2,4 раза, соответственно (рис. 1B). Причиной этого являются структурные изменения в листьях и прежде всего более длительное время действия стрессового фактора, приводящее к большим изменениям в синтезе пигментов и, как следствие, уменьшение эффективности работы первичных процессов фотосинтеза.

Trichoderma оказывала существенное влияние на поток электронов. Положительный эффект проявлялся уже на первых этапах развития растений: на 25-е сутки микромицеты увеличивали ETR в 1,4 раза, в 1,5 раза и 1,7 раза, соответственно (рис. 1A). Максимальное действие *T. asperellum* обнаружено на фоне тяжелого металла. Из проведенного статистического анализа данных на 45-е сутки установлена значимая разница по влиянию *Trichoderma* на ETR растений (рис. 1B). На 60-е сутки стимулирующий эффект антагониста не ослабевал и отрицательное воздействие цинка нивелировалось (рис. 1C).

Параметры кинетики флуоресценции хлорофилла обладают большой информативностью для характеристики состояния первичных процессов фотосинтеза. Это связано с тем, что изменения состояния фотосинтетического аппарата сопровождаются изменением вероятности тушения энергии электронного возбуждения молекул хлорофилла, что проявляется в изменении квантового выхода флуоресценции при освещении. Результаты проведенных исследований не выявили достоверных различий по величине квантового выхода на 25-е сутки между растениями контрольного и опытного вариантов. Существенные различия отмечены на более поздних этапах развития растения. *Trichoderma asperellum* снимала отрицательное действие цинка и увеличивала устойчивость растений к стрессовому фактору.

Таким образом, грибы *Trichoderma asperellum* штамм МГ-97 оказывали положительное влияние на физиолого-биофизические параметры растений *Solanum lycopersicum*, снимали ингибирующее действие цинка и способствовали увеличению устойчивости растений к данному фактору.

Литература

Бенкен А.А., Хацкевич Л.К. Оценка устойчивости растений к почвенным фитопатогенам // Микология и фитопатология. – 1980. – Т. 14, Вып. 6. – С. 531–538.

Голованова Т.И., Логинова Е.А. Реакция фотосинтетического аппарата на обработку растений пшеницы спорами гриба рода *Trichoderma* // Вестник Красноярского государственного университета. Красноярск. – 2005. – С. 210–215.

Чиркова Т.В. Физиологические основы устойчивости растений: учеб. пособие. – СПб: Изд-во С.-Петерб. ун-та, 2002. – 244 с.

El Komy M.H., Saleh A.A., Eranthodi A., Molan Y.Y. Characterization of novel *Trichoderma asperellum* isolates to select effective biocontrol agents against tomato fusarium wilt // Plant Pathology J. – 2015. – V. 31, № 1. – P. 50–60.

IMAGING-PAM M-series chlorophyll fluorometer instrument description and information for users / GmbH: Heinz Walz. – 2006. – 215 p.

Kitajima M., Butler W.L. Quenching of chlorophyll fluorescence and primary photochemistry in chloroplasts by dibromothymoquinone // Biochim Biophys Acta. – 1975. V. 376. – P. 105–115.

Schreiber U. Pulse-amplitude-modulation (PAM) fluorometry and saturation pulse Method: An Overview // *Advances in Photosynthesis and Respiration*. – 2004. – V.19. – P. 279–319.

Wintermans J.F.G.M., De Mots A. Spectrophotometric characteristics of chlorophylls a and b and their phenophytins in ethanol // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 1965. – V. 109. – P. 448–453.

THE ROLE OF *TRICHODERMA* IN ENHANCING THE RESISTANCE OF PLANTS TO THE ACTION OF ZINC

A.F. Valiulina, T.I. Golovanova

Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russia, biolog@krasnou.ru

Abstract. Zinc (1×10^{-5} mol / l and 5×10^{-5} mol / l) influenced the physiological and biophysical characteristics of tomato plants. Reduced the total content of green pigments, the change in the ratio of pools of green and yellow pigments, the rate of electron flow, quantum yield in *Solanum lycopersicum* decreased. *Trichoderma* reduced the toxic effect of zinc. Their influence on the growth processes of plants depended on the content of zinc in the medium, the time of its exposure, and the age of the plant.

Keywords: *Trichoderma, zinc, pigments, quantum yield, the velocity of the electron beam*

СОСТАВ ДЕГИДРИНОВ РАЗНЫХ ВИДОВ БЕРЕЗЫ В УСЛОВИЯХ ХОЛОДНЫХ РЕГИОНОВ

И.В. Васильева¹, Т.Д. Татарина¹, Л.В. Ветчинникова², А.А. Перк¹,
А.Г. Пономарев¹, О.С. Серебрякова², Н.Е. Петрова²

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологических проблем криолитозоны Сибирского отделения Российской академии наук, Якутск, Россия, ira_spira_vas@mail.ru

²Институт леса – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук», Петрозаводск, Россия, vetchin@krc.karelia.ru

Аннотация. Изучены особенности изменений состава дегидринов *Betula pendula* в условиях холодных регионов Евразии (Якутия, Карелия). При сравнении дегидринов этого вида березы с таковыми *B. pendula* var. *carelica* и *B. pubescens*, произрастающими в Карелии, выявлено значительное сходство состава и характера сезонных изменений. У всех видов березы высокий уровень дегидринов достигался зимой. Предполагается, что стрессовые белки – дегидрины участвуют в формировании низкотемпературной устойчивости растений.

Ключевые слова: холодные регионы, *Betula* L., дегидрины, сезонная динамика, полиморфизм

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-180-184

Повсеместное распространение в Евразии рода *Betula* L. обусловлено высокой экологической пластичностью его видов [Ветчинникова, 2004]. Наблюдаемый у березы генетический полиморфизм обеспечивает оптимальную приспособленность отдельных популяций к климатическим различиям. В условиях холодных регионов растения подвергаются наибольшему воздействию стрессовых факторов, главными из которых являются низкие отрицательные температуры. К таким регионам относятся Якутия с ее резко континентальным климатом и Карелия с умеренно континентальным климатом, переходным к морскому. Для климата первой особенно характерны экстремальные зимние холода, а для последней – неустойчивые возвратные потепления в осенне-зимний период и похолодания – в весенне-летний. Вместе с тем, оба региона исследований располагаются на одинаковой географической широте, что предопределяет одинаковую долготу дня для произрастающих здесь растений. В Якутии, где проходит северо-восточная граница ареала березы, основным видом является береза повислая (*Betula pendula* Roth.). В Карелии, наряду с этим видом, распространена береза пушистая (*B. pubescens* Ehrh.), предпочитающая более влажные местообитания. В южной части Карелии аборигенным представителем дендрофлоры является также карельская береза (*B. pendula* Roth. var. *carelica* (Mercklin) Hamet-Ahti), рассматриваемая как ценная техническая разновидность березы повислой [Ветчинникова и др., 2013].

В физиолого-биохимических механизмах устойчивости древесных растений к абиотическим факторам, включая низкотемпературный, важная роль отводится белкам дегидринам [Аллагулова и др., 2003; Welling, Palva, 2006; Kosova et al., 2010]. Дегидрины представляют собой семейство белков LEA, которые синтезируются и накапливаются у сосудистых растений в ответ на стресс [Welling, Palva, 2006]. Различные сочетания консервативного К-сегмента и ряда других сегментов (Y-, S-, E-, A- и N-сегменты) определяют их функциональные свойства, связанные с криопротекторной, антифризной, антиоксидантной и металлсвязывающей функциями [Svensson et al., 2002; Welling, Palva, 2006; Kosova et al., 2010].

Целью работы являлось изучение особенностей дегидринов в почках березы повислой в условиях холодных регионов (на примере Якутии и Карелии), а также сравнение состава дегидринов этого вида березы с таковыми карельской березы и березы пушистой, произрастающих на территории Северо-Запада России (Карелия).

Объектом исследований служили почки 30–40-летних деревьев березы повислой (*Betula pendula* Roth.). Сбор образцов осуществляли в Карелии (окрестности г. Петрозаводска, 62 °с.ш., 35 °в.д.) и Якутии (окрестности г. Якутска, 62 °с.ш., 130 °в.д.). Также были изучены березы *B. pendula* var. *carelica* (Mercklin) Hamet-Ahti и *B. pubescens* Ehrh. вышеупомянутой карельской локации. Значения многолетних температурных показателей регионов даны согласно: <http://www.pogodaiklimat.ru>. Выделение белков из растительного материала, аналитический электрофорез и иммуноблоттинг осуществляли согласно принятым методикам [Татарина и др., 2017, 2018]. Идентификацию дегидринов выполняли с использованием поликлональных антител против их консервативного К-сегмента («Agrisera», Швеция).

Независимо от особенностей природно-климатических условий Карелии и Якутии сравнительный анализ дегидринов в почках *Betula pendula* выявил определенное сходство их состава (таблица). Были обнаружены две группы дегидринов (56–73 и 14–21 кДа), причем 17 кДа дегидрин идентифицирован у всех изученных растений. Вместе с тем, в условиях Якутии спектры дегидринов в почках березы повислой в зимний период характеризовались более выраженным внутривидовым полиморфизмом, особенно в области 14–21 кДа. Также у отдельных растений якутской популяции идентифицированы дегидрины с мол. массами 14, 15, 18 и 21 кДа, отсутствующие в почках березы Карелии.

В сезонных изменениях дегидринов в почках березы повислой в условиях Карелии и Якутии проявляются общие черты. Так, в почках изученных популяций березы низкомолекулярные дегидрины (14–21 кДа), преобладающим из которых являлся 17 кДа дегидрин, характеризовались выраженной сезонной динамикой. Напротив, среднемолекулярные дегидрины (56–73 кДа) были представлены круглогодично почти на одинаковом уровне. Низкомолекулярные дегидрины синтезировались в конце лета – начале осени (август–сентябрь) при подготовке растений к покою и сохранялись в течение всего периода с низкими зимними температурами, но полностью исчезали по мере распускания почек в начале вегетации (май). При этом обнаружено, что их содержание в почках было значительно выше у растений в условиях Якутии по сравнению с таковым в Карелии. Также показано, что накопление и исчезновение низкомолекулярных дегидринов в межсезонье у березы повислой значительно быстрее происходит в условиях криолитозоны, что может свидетельствовать об особенностях обменных процессов, связанных с коротким вегетационным периодом, а также более резким повышением температуры в весенний период и более ранним ее снижением осенью в Якутии по сравнению с Карелией.

Во второй части исследования было проведено сравнение сезонных изменений состава дегидринов основных видов березы, произрастающих в условиях Северо-Запада Евразии (Карелии). У изученных растений *B. pendula*, *B. pendula* var. *carelica* и *B. pubescens* дегидрины выявлены в двух, ранее отмеченных нами выше, областях – 56–73 и 14–17 кДа, причем дегидрин с мол. массой 17 кДа обнаружен у всех растений. Максимальное накопление этих низкомолекулярных стресс-белков происходило к концу фенологической осени и устойчиво сохранялось в течение зимнего периода у всех берез, независимо от их видовой принадлежности, в отличие от среднемолекулярных дегидринов, представленных круглогодично. Одновременно, во время зимнего покоя в почках основных видов березы Карелии внутри- и межвидовой полиморфизм мажорных дегидринов не был выявлен, а обнаруженные у отдельных растений различия носили, в основном, количественный характер.

Таблица.

Температурные показатели климата и сезонная динамика дегидринов* в почках разных видов березы, произрастающих в условиях Якутии и Карелии

Месяцы/ дегидрины	II	III	IV	V	VIII	IX	X	XI
Многолетняя температура воздуха, °С (г. Якутск)								
минимальная	-38,2	-27,4	-11,8	1,0	8,9	1,2	12,2	-31,0
средняя	-33,8	-20,1	-4,8	7,5	15,2	6,1	-7,8	-27,0
максимальная	-28,6	-12,3	1,7	13,2	21,5	11,5	-3,6	-23,1
<i>Betula pendula</i> , якутская популяция								
56-73 кДа	139	135	134	100	73	94	118	124
17 кДа	119	116	56	0	55	147	161	163
Многолетняя температура воздуха, °С (г. Петрозаводск)								
минимальная	-12,3	-7,0	-1,6	3,9	10,7	6,3	1,4	-5,2
средняя	-9,1	-3,7	2,3	8,7	14,5	9,5	3,8	-2,8
максимальная	-5,9	-0,3	6,5	13,6	18,6	13,1	6,4	-0,5
<i>B. pendula</i> , карельская популяция								
56-73 кДа	166	215	243	247	208	132	139	185
17 кДа	128	80	32	0	24	87	105	137
<i>B. pendula</i> var. <i>carelica</i> , карельская популяция								
56-73 кДа	96	147	106	116	96	77	69	142
17 кДа	48	17	12	0	2	15	52	66
<i>B. pubescens</i> , карельская популяция								
56-73 кДа	156	164	175	118	252	110	128	155
17 кДа	51	19	21	0	0	19	109	128

*денситометрическая плотность (ДП, отн. ед.) 17 кДа дегидрина в мае принята за нулевой уровень.

Имеющиеся литературные данные также связывают динамику некоторых дегидринов с формированием устойчивости к холоду. Так, в условиях Финляндии при наступлении низких температур у *B. pendula* ранее был обнаружен 36 кДа дегидрин [Puhakainen et al., 2004]. В другой работе максимум содержания 24 кДа дегидрина в почках *B. pubescens* в тех же условиях отмечался в течение всего осенне-зимнего периода, 30 кДа дегидрина – только в холодный сезон, а 33 кДа дегидрина – в течение всего года [Rinne et al., 1998]. Ранее нами было показано, что в почках якутской популяции березы повислой самый высокий уровень 17 кДа дегидрина выявлялся в зимний период при низких температурах [Пономарев и др., 2014; Татарина и др., 2017, 2018]. У других видов древесных растений, например, кизила (*Cornus sericea*), дегидрины также накапливались при подготовке к зиме, чему предшествовало уменьшение содержания воды в тканях [Karlson et al., 2003].

Таким образом, в почках березы повислой, произрастающей в Карелии и Якутии – холодных регионах, различающихся по абсолютным значениям минимальных показателей зимней температуры, выявлены специфические сезонные изменения стрессовых белков-дегидринов. Также впервые в почках карельской березы и березы пушистой северо-западных популяций определен состав дегидринов и проведен сравнительный анализ их динамики в годовом цикле. Внутривидовой полиморфизм дегидринов более выражен у березы повислой в условиях резко континентального климата

Якутии в отличие от более умеренного в Карелии. Вероятно, это обусловлено особенностями адаптации древесных растений к экстремально низким зимним температурам, характерным для криолитозоны. Значительных различий в сезонных вариациях дегидринов в почках основных видов березы Карелии не выявлено. В целом, особенности сезонной динамики отдельных дегидринов, например, дегидрина с мол. массой 17 кДа, полученные в ходе изучения разных видов березы удаленных популяций, позволяют предположить вероятное участие этих белков в биохимических процессах, ассоциированных с формированием низкотемпературной устойчивости.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания ИБПК СО РАН (регистрационный номер АААА-А17-117020110054-6) и ИЛ КарНЦ РАН (тема № 0220-2014-0009).

Литература

Аллагулова Ч.Р., Гималов Ф.Р., Шакирова Ф.М., Вахитов В.А. Дегидрины растений: структура и предполагаемые функции // Биохимия. – 2003. – Т. 68. – С. 1157–1165.

Ветчинникова Л.В. Береза: вопросы изменчивости (морфо-физиологические и биохимические аспекты). – М.: Наука, 2004. – 183 с.

Ветчинникова Л.В., Титов А.Ф., Кузнецова Т.Ю. Карельская береза: биологические особенности, динамика ресурсов и воспроизводство. – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2013. – 312 с.

Пономарев А.Г., Татарина Т.Д., Перк А.А., Васильева И.В., Бубякина В.В. Дегидрины, ассоциированные с морозоустойчивостью березы плосколистной Восточной Сибири // Физиология растений. – 2014. – Т. 61, № 1. – С. 114–120.

Татарина Т.Д., Бубякина В.В., Ветчинникова Л.В., Перк А.А., Пономарев А.Г., Васильева И.В. Стрессовые белки-дегидрины в почках березы повислой в контрастных по климату регионах // Цитология. – 2017. – Т. 59, № 2. – С. 156–160.

Татарина Т.Д., Ветчинникова Л.В., Бубякина В.В., Перк А.А., Пономарев А.Г., Васильева И.В. Дегидрины в почках основных видов березы в условиях Карелии // Физиология растений. – 2018. – Т. 65, № 2. – С. 153–160.

Karlson D.T., Zeng Y.V.E., Stirm R., Joly J., Ashworth E.N. Photoperiodic regulation of a 24-kDa dehydrin-like protein in red-osier dogwood (*Cornus sericea* L.) in relation to freeze-tolerance // Plant Cell Physiol. – 2003. – V. 44. – P. 25–34.

Kosova K., Prasil I.T., Vitamvas P. Role of dehydrins in plant stress response // Handbook of Plant and Crop Stress. – Tucson: CRC Press, 2010. – P. 239–285.

Puhakainen T., Li Ch., Boije-Malm M., Kangasjarvi J., Heino P., Palva E.T. Short day potentiation of low temperature-induced gene expression of a C-repeat-binding factor-controlled gene during cold acclimation in silver birch // Plant Physiol. – 2004. – V. 136. – P. 4299–4307.

Rinne P., Welling A., Kaikuranta P. Onset of freezing tolerance in birch (*Betula pubescens* Ehrh.) involves LEA proteins and osmoregulation and is impaired in an ABA deficient genotype // Plant Cell Environ. – 1998. – V. 21. – P. 601–611.

Svensson J., Ismail A.M., Palva E.T., Close T.J. Dehydrins // Cell and molecular responses to stress. – Amsterdam: Elsevier Press, 2002. – P. 155–171.

Welling A., Palva E.T. Molecular control of cold acclimation in trees // Physiol. Plant. – 2006. – V. 127. – P. 167–181.

COMPOSITION OF DEHYDRINES IN DIFFERENT BIRCH TYPES IN CONDITIONS OF COLD REGIONS

I.V. Vasilieva¹, T.D. Tatarinova¹, L.V. Vetchinnikova², A.A. Perk¹, A.G. Ponomarev¹,
O.S. Serebryakova², N.E. Petrova²

¹Institute for Biological Problems of Cryolithozone Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Yakutsk, Russia, ira_spira_vas@mail.ru

²Forest Research Institute of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russia, vetchin@krc.karelia.ru

Abstract. The peculiarities of the changes in the composition of dehydrin *Betula pendula* in the conditions of the cold regions of Eurasia (Yakutia, Karelia) are studied. When comparing dehydrins of this species of birch with those of *B. pendula* var. *carelica* and *B. pubescens*, growing in Karelia, revealed a significant similarity in the composition and nature of seasonal changes. In all types of birch, a high level of dehydrin was achieved in the winter. It is assumed that stress proteins-dehydrins participate in the formation of low-temperature resistance of plants.

Keywords: cold regions, *Betula L.*, dehydrins, seasonal dynamics, polymorphism

РОЛЬ КОМПЛЕКСА МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В РЕАЛИЗАЦИИ ПОТЕНЦИАЛА ЗИМОСТОЙКОСТИ ТЕХНИЧЕСКИХ СОРТОВ ВИНОГРАДА

С.Г. Великсар

Институт генетики, физиологии и защиты растений, Республика Молдова,
Кишинев, dechevas@mail.ru

Аннотация. Эффективность некорневой подкормки различных технических сортов винограда новым комплексом микроэлементов Микроком-В была изучена и физиологически обоснована на основании результатов четырехлетних полевых опытов на виноградниках. Были определены изменения в содержании фотосинтетических пигментов в листьях, сахаров и аминокислот в листьях и ягодах, фосфорных компонентов и микроэлементов в тканях побегов и листьев, продуктивность кустов винограда и их устойчивость к низкой температуре в период покоя.

Ключевые слова: питание растений, виноград, микроэлементы, сахар, аминокислоты

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-185-189

Введение. Устойчивость многолетних растений, в частности винограда, к неблагоприятным условиям произрастания тесно связана с их обеспеченностью элементами минерального питания. Чаще всего лимитирующим фактором являются микроэлементы, которые играют важную роль во многих метаболических процессах растений. Известно, что они способствуют активизации ряда метаболических процессов, особенно при неблагоприятных условиях произрастания. Fe, Mn, B, Zn, Mo и другие элементы повышают продуктивность и резистентность растений к засухе, низким температурам и дисбалансу в питательной среде, улучшают качество продукции [Micronutrient ..., 2006]. Многолетние культуры более чувствительны к недостатку ряда микроэлементов, чем однолетние [Великсар, 1985; Micronutrient ..., 2006]. Как правило, почва под виноградной лозой недостаточно обеспечена подвижными формами Fe, Mn, Zn, B, Ni [Великсар, 1985]. Одним из основных способов регулирования минерального питания растений является некорневая подкормка. Она оказывает влияние на многие метаболические процессы вегетирующего растения, в том числе – на фотосинтетический потенциал растений, содержание углеводов и аминокислот [Veliksar et al., 1997]. Аккумуляция совместимых осмолитов, к которым относятся некоторые аминокислоты и сахара, является мощным защитным механизмом в стрессовых условиях [Лымарь, Ерёмченко, 2006].

В Институте генетики, физиологии и защиты растений разработан комплексный препарат Microsom-V, включающий 6 важнейших микроэлементов и предназначенный для некорневой подкормки винограда в критические фазы развития растений. В данной работе представлены результаты изучения действия данного препарата на некоторые процессы обмена веществ, определяющие резистентность растений, на продуктивность и зимостойкость четырех технических сортов винограда.

Методы и материалы исследования. Эксперименты были выполнены на опытном участке ИГФЗР и в условиях производства в центральной зоне Молдовы на технических сортах винограда Алиготе, Кодринский, Сурученский белый и Шардоне. Листовая подкормка растворами микроэлементов проводилась три раза за вегетационный период: первая - за неделю до цветения, последующие две – после окончания цветения с интервалом в 8-10 дней. Образцы растений отбирали через 3 и 6 дней после каждой обработки. Использованы следующие лабораторные методы: фотосинтетические пигменты – в ацетоновой вытяжке из дисков листа; содержание сахаров - по Бертрону; содержание свободных аминокислот – на аминокислотном

анализаторе; содержание фосфорных соединений – по Оканенко А.С. и др. (1969) и Левит Т.Е. (1981); содержание микроэлементов – на атомно-абсорбционном спектрофотометре Percin Elmer после сухого сжигания в муфельной печи при 450°C; рост и вызревание побегов – по Лазаревскому М. А. (1963).

Результаты и обсуждения. Содержание *фотосинтетических пигментов* в листьях является одним из важных показателей состояния растений в вегетационный период. В табл. 1 приведены результаты определения содержания в листьях хлорофилла и каротиноидов в зависимости от некорневой подкормки растений комплексом микроэлементов Микроком-В в сопоставлении с известным микроудобрением Диссолвин. Суммарное содержание хлорофиллов а + б в листьях обоих вариантов увеличивается после обработки на 9,47 и 11,0% по сравнению с контролем (табл. 1). Соотношение форм хлорофилла по существу не изменяется. Подкормка растений Микрокомом-В поддерживает содержание хлорофиллов на более высоком уровне во время вегетации. Наблюдается тенденция к снижению содержания каротиноидов после обработки микроудобрениями. Аналогичные данные получены и по другим сортам винограда – Шардоне и Кодринский.

Таблица 1.

Содержание фотосинтетических пигментов в листьях винограда после трехкратной некорневой подкормки микроудобрениями Микроком-В и Диссолвин, сорт Алиготе, мг/г с.в.

Варианты	хлорофилл "а"	хлорофилл "б"	Сумма "а+ б"	каротиноиды
Контроль	0,516 ± 0,009	0,202 ± 0,005	0,718±0,009	0,302±0,004
Диссолвин	0,573 ± 0,005	0,213 ± 0,005	0,786 ± 0,011	0,286±0,005
Микроком-В	0,588 ± 0,033	0,209 ± 0,005	0,797 ± 0,035	0,285±0,010

Улучшая работу фотосинтетического аппарата – основного поставщика энергии для формирования защитных механизмов, некорневые подкормки ускоряют рост и вызревание побегов, изменяют скорость и направленность процессов обмена углеводных соединений в органах винограда, повышая его устойчивость к морозам в период покоя.

Подкормка винограда микроудобрениями сопровождалась снижением количества *сахаров* в листьях в первые дни после каждой подкормки - при анализе через 3 дня, и последующим увеличением - анализ через 6 дней. На протяжении всего периода вегетации содержание сахаров в листьях после некорневой подкормки сохранялось на более высоком уровне по сравнению с контрольными растениями. Наиболее значимые изменения происходят после третьей подкормки (табл. 2). Сумма растворимых сахаров в листьях варианта с применением комплекса Микроком-В составила 3,46 мг/100 мг с.в. (144 % по сравнению с контролем).

Таблица 2.

Содержание сахаров и аминокислот (АК) в листьях (после третьей подкормки) и ягодах винограда (перед уборкой), мг/100 мг с.в.

Варианты	листья		ягоды	
	сахара	АК	сахара	АК
Контроль	2,40	0,05	18,77	0,020
Диссолвин	2,73	0,133	18,23	0,041
Микроком-В	3,46	0,164	19,67	0,052

Общее содержание *свободных аминокислот (АК)* в растительных тканях является довольно мобильным показателем и зависит от многих факторов, включая состояние растения, возраст, фенофазу, условия питания и т.д. Согласно полученным нами

данным, содержание АК в листьях уменьшается в листьях через три дня после подкормки, и увеличиваются через шесть дней, так же, как и содержание сахаров. Внесение микроэлементов поддерживает содержание АК на более высоком уровне на протяжении всего периода вегетации (табл. 2).

Анализ качественного состава АК показал, что после подкормки повысилось содержание пролина, валина, тирозина и фенилаланина, глутамина и глутаминовой кислоты. В последний срок определения (начало августа), когда резко усилилось действие засухи, количество пролина в листьях винограда увеличилось под влиянием микроэлементов почти вдвое по сравнению с контрольным вариантом. Известно, что накопление сахаров и других соединений, обладающих защитным действием в условиях стресса, является одним из механизмов устойчивости растений к действию отрицательных температур [Кузнецов, 2000; Veliksar et al., 1997].

Улучшение условий питания растений с помощью микроудобрений, в частности Микроком-В, способствовало повышению содержания сахаров и АК в ягодах технических сортов винограда (табл. 2), что очень важно для получения высококачественных стабильных вин.

Известно, что устойчивость винограда к низким температурам в определенной степени зависит от процессов взаимопревращения *фосфоросодержащих соединений* в ходе закаливания. Несмотря на значительную динамичность фосфорорганических соединений, полученные нами данные свидетельствуют об определенных изменениях в их содержании в листьях винограда после некорневой подкормки раствором комплекса микроэлементов: заметное увеличение содержания кислоторастворимого фосфора, фосфолипидов и нуклеотидов, снижение содержания фосфосахаров.

Содержание *микроэлементов* в виноградных листьях является одним из показателей, свидетельствующих об условиях минерального питания растений и его устойчивости к неблагоприятным условиям произрастания. Некорневая подкормка комплексным препаратом Микроком-В повышала содержание в листьях вносимых при подкормке микроэлементов, в наибольшей степени необходимых винограду (Fe, Mn и Zn). Снизилось по сравнению с контрольными растениями содержание Cu – антагониста – Fe. Была отмечена слабая тенденция к увеличению количества Fe и Mn в ягодах обработанных кустов, что очень важно для улучшения процесса ферментации и качества вина.

Учеты *урожая*, проведенные по каждому сорту в течение 2-3 лет, показали, что он повышается на 10-25 % по сравнению с контрольными растениями, в зависимости от сорта, условий года, почвенных особенностей. Повышение урожая происходит не только за счет увеличения веса грозди, но и за счет повышения количества гроздей, развившихся из боковых почек зимующего глазка, особенно на второй год действия микроудобрения. Микроком-В повышает содержание сахара в ягодах на 3,5 – 6 % (табл. 3).

Таблица 3.

Влияние некорневой подкормки на продуктивность винограда, сорт Кодринский

Вариант	Колич. гроздей/ куст M±m	Сред. вес грозди, г M±m	Урожай с 1 куста		Содерж. сах. в ягодах, % к контр.
			кг	% к контр.	
Контроль	48,8±3,22	144,4±7,50	7,05± 0,46	100	100
Disolvin	43,8± 2,57	164,7±9,74	7,21±0,42	102,3	97,2
Microcom-V	56,4±3,63	156,3±7,64	8,81±0,59	125,0	104,8

Некорневая подкормка раствором комплекса микроэлементов Микроком-В усиливает *ростовые процессы*, ускоряет *степень вызревания побегов* по сравнению с

контрольными растениями, что очень важно для повышения устойчивости растений в зимний период (табл.4). Положительный эффект препарата Микроком-В может быть объяснен включением жизненно важных микроэлементов, подобранных в соответствии с потребностями культуры, в критические фазы развития в основные метаболические процессы, связанные с формированием и реализацией потенциальной устойчивости растений в неблагоприятных условиях произрастания.

Таблица 4.

Рост и вызревание побегов винограда в зависимости от некорневой подкормки

Варианты	Общий прирост побегов, см	Вызревший прирост побегов, см	Степень вызревания побегов	
			%	± к контролю, %
Контроль	134,5±6,13	110,4±4,73	82,1	
Диссолвин	152,3±5,34	131,7±3,41	86,5	4,4
Микроком-В	173,4±9,53	159,2±7,86	91,8	9,7

Интегральным показателем воздействия подкормки комплексом микроэлементов на устойчивость растений к низким температурам является повышение зимостойкости, определенное в производственных условиях по *сохранности зимующих глазков* после периода покоя. Учеты, проведенные в полевых опытах весной, свидетельствуют о положительном влиянии летней подкормки на сохранность глазков в зимний период: в вариантах с Микрокомом количество живых глазков увеличивается по сравнению с контролем на 8-15%, а количество поврежденных и погибших - соответственно снижается, что подтверждает более высокую устойчивость этих растений к низким температурам.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о том, что комплексный препарат Микроком-В, предназначенный для некорневой подкормки винограда, является действенным средством повышения устойчивости растений к низким температурам в период покоя. Высокая эффективность препарата Микроком-В основана на рациональном подборе доз и сочетаний жизненно важных микроэлементов, участвующих в активации основных метаболических процессов, связанных с реализацией потенциальной устойчивости растений в неблагоприятных условиях произрастания.

Литература

- Великсар С.Г. Микроэлементы в виноградарстве Молдовы. – Кишинэу, 1985. – 190 с.
- Кузнецов Вл.В. Общие системы устойчивости и трансдукция стрессорного сигнала при адаптации растений к абиотическим факторам // Материалы выездной сессии ОФР РАН по проблемам биоэлектrogenеза и адаптации у растений. Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского, 2000. – С. 64–68.
- Лымарь О.А., Ерёмченко О.З. Накопление низкомолекулярных соединений растениями в условиях техногенного загрязнения // Ж. Фундаментальные исследования. – 2006. – №2. – С. 53–54.
- Micronutrient Deficiencies in Global Crop Production, edited by B.J. Alloway. – Springer, 2006. – P. 1–39.
- Veliksar S., Toma S., Zemshman A. Content of free aminoacids in grape leaves in relation to iron nutrition // Intern. Symp. "Iron nutrition and Plant interaction". – Germany, Stuttgart, 1997. – P. 42–43.

ROLE OF THE COMPLEX OF TRACE ELEMENTS IN THE REALIZATION OF WINTER RESISTANCE POTENTIAL OF TECHNICAL GRAPE VARIETIES

S.G. Veliksar

Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection, Republic of Moldova, Chisinau, *dechevas@mail.ru*

Abstract. The efficiency of foliar fertilization of various technical grape varieties with a new complex of trace elements Microcom-V was studied and physiologically substantiated based on the results of four years field experiments on the vineyards. Changes in the content of photosynthetic pigments in leaves, sugars and amino acids in leaves and berries, phosphorus components and trace elements in shoot and leaf tissues, productivity of grape bushes and their resistance to low temperature during dormancy were studied.

Keywords: *plant nutrition, grape, trace elements, microelements, sugar, amino acids*

ВЛИЯНИЕ ЭФФЕКТОРА *STAGONOSPORA NODORUM* SnTOX3 НА БИОСИНТЕЗ ЭТИЛЕНА И РЕДОКС-МЕТАБОЛИЗМ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ

С.В. Веселова, Г.Ф. Бурханова, Т.В. Нужная, И.В. Максимов

Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия, veselova75@rambler.ru

Аннотация. Изучено влияние двух различающихся по вирулентности и экспрессии эффектора SnTox3 штаммов фитопатогена *Stagonospora nodorum* Berk. на редокс-статус и биосинтез этилена у двух контрастных по устойчивости к патогену видов пшеницы - восприимчивый *Triticum aestivum* L. и устойчивый *T. timopheevii* Zhuk. Обнаружено отрицательное влияние SnTox3 на генерацию перекиси водорода на биотрофной стадии развития патогена за счет регуляции экспрессии генов оксидоредуктаз и манипуляции метаболизмом этилена.

Ключевые слова: *Stagonospora nodorum* Berk., пшеница, эффекторы, редокс-статус, этилен

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-190-194

Проблема устойчивости растений к фитопатогенам – одна из наиболее важных в физиологии растений. Исследования септориоза интенсивно ведутся последние 2 десятилетия, но до сих пор нет четкого понимания механизмов, лежащих в основе устойчивости/восприимчивости пшеницы к инфекции, с одной стороны, и вирулентности патогена, с другой стороны [Friesen et al., 2006; Phan et al., 2016; Shi et al., 2016]. Однако в 2006 г. было показано, что важнейшим фактором вирулентности *Stagonospora nodorum* Berk. являются многочисленные некротрофные эффекторы (НЭ) гриба [Friesen et al., 2006]. На сегодняшний день в геноме *S. nodorum* идентифицировано 4 гена эффектора (SnToxA, SnTox1, SnTox2, SnTox3) [Phan et al., 2016]. Эффекторы SnToxA, SnTox1, SnTox3 считаются основными у патогена *S. nodorum* и достаточно широко распространены среди штаммов и изолятов.

Эффекторы патогенов вносят большой вклад в развитие взаимоотношений паразит-хозяин. Они напрямую или косвенно взаимодействуют с продуктами генов устойчивости/восприимчивости, локализованных в геноме пшеницы [Winterberg et al., 2014; Shi et al., 2016]. Взаимодействие эффектора с продуктом R-гена – это в основном взаимодействие с трансмембранными рецепторными киназами плазмалеммы или цитоплазматическими рецепторными NBS-LRR белками [Тарчевский и др., 2012; Shi et al., 2016]. После узнавания эффектора рецептором активируются белковые медиаторы той или иной сигнальной системы и осуществляется передача сигнала в ядро, что в результате приводит к появлению защитного ответа [Тарчевский и др., 2012] или как в случае доминирующей восприимчивости – развитию инфекции [Shi et al., 2016].

Показано, что НЭ SnToxA, SnTox1, SnTox3 влияют на генерацию АФК в растениях пшеницы [Winterberg et al., 2014; Shi et al., 2016]. По данным литературы взаимодействие токсина SnToxA с рецептором приводит к коллапсу фотосинтеза, накоплению АФК и смерти клеток. Однако путь передачи сигнала до конца не расшифрован. Токсин SnTox1 участвует в образовании некрозов, за счет СВЧ-реакции, запускает MAP-киназный каскад, однако дальнейший путь трансдукции сигнала неизвестен [Shi et al., 2016]. Токсин *S. nodorum* SnTox3 участвует в образовании некрозов и хлорозов по неизвестному механизму [Winterberg et al., 2014]. Однако

недавно было показано, что SnTox3 влияет на процесс фотосинтеза, активирует фенилпропаноидный метаболизм и экспрессию ряда генов PR-белков, а также индуцирует накопление метионина и синтез этилена у растений уже через 24 часа после инфицирования [Winterberg et al., 2014]. На сегодняшний день считается, что основной ролью данного эффектора SnTox3 является индукция гибели клеток хозяина с помощью манипулирования защитными сигнальными путями растения [Winterberg et al., 2014]. Однако механизмы, лежащие в основе этого процесса, в настоящее время неясны. Несмотря на активное изучение эффекторов *S. nodorum* и генов устойчивости/восприимчивости к ним у пшеницы, остается много пробелов в наших знаниях и понимании всего пути трансдукции сигнала, приводящего в одном случае к устойчивости, а в другом – к восприимчивости.

Все сигнальные системы растений находятся под контролем фитогормонов [Kazan, Lyons, 2014]. Так, важную роль в регуляции иммунитета растений играют салициловая (СК) и жасмоновая (ЖАК) кислоты, а также этилен [Kazan, Lyons, 2014]. Роль этилена при биотическом стрессе неоднозначна и зависит от типа патогена и вида растения. Показано, что активация сигнального пути этилена в различных патосистемах может приводить как к увеличению устойчивости растений к патогенам [Kazan, Lyons, 2014], так и к развитию патогенных микроорганизмов в тканях растений [Vleeschauver et al., 2010]. Некоторые патогены могут индуцировать выделение этилена, что способствует распространению инфекции в растении [Vleeschauver et al., 2010]. Ранее нами была показана отрицательная роль этилена в развитии устойчивости растений пшеницы к *S. nodorum* [Веселова и др., 2016].

В данной работе было изучено влияние двух штаммов *S. nodorum* – высокоагрессивного SnБ, экспрессирующего ген эффекторного белка *SnTox3*, и низкоагрессивного Sn4, не экспрессирующего ген *SnTox3* – на экспрессию гена фермента биосинтеза этилена АЦК-оксидазы (*TaACC*), генов PR-белков, кодирующих ферменты про-/антиоксидантной системы (*TaPrx* – анионную пероксидазу, *TaRboh* – НАДФН-оксидазу, *TaSod* – супероксиддисмутазу), содержание перекиси водорода (H_2O_2) и активность пероксидазы (ПО) и каталазы (КАТ) у пшеницы двух контрастных по устойчивости видов – *Triticum aestivum* сорт Экада 113 (Э113) (восприимчивый) и *T. timopheevii* образец к-58666 (устойчивый).

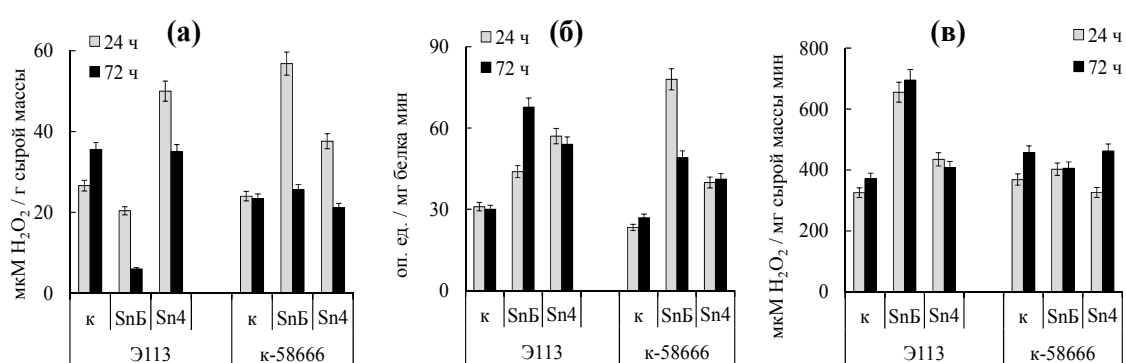


Рисунок. Изменение содержания H_2O_2 (а), активности пероксидазы (б) и каталазы (в) в растениях пшеницы контрастных по устойчивости видов, инфицированных высокоагрессивным штаммом *S. nodorum* (SnБ) или низкоагрессивным штаммом (Sn4).

В начальный период инфицирования высокоагрессивным штаммом SnБ, содержащим ген *SnTox3*, восприимчивый сорт Э113 отличала низкая генерация H_2O_2 , более медленное повышение активности ПО и усиление каталазной активности (рисунок), что, скорее всего, было причиной интенсивного развития патогена в листьях

(таблица). Устойчивый образец *T. timopheevii* к-58666 отличала интенсивная генерация H₂O₂, более быстрая и повышенная активность ПО и отсутствие увеличения активности КАТ (рисунок), что приводило к задержке и остановке роста патогена в листьях (таблица). При инфицировании слабоагрессивным штаммом Sn4, не содержащим ген *SnTox3*, и *Triticum aestivum* Э113, и *T. timopheevii* образец к-58666 развивали защитные реакции одинаково, как устойчивый фенотип при инфицировании высокоагрессивным штаммом SnБ, что приводило к образованию минимальных зон поражения на листьях (рисунок, таблица). Наши результаты показывают, что SnTox3 влияет на редокс-статус растений и участвует в образовании некрозов, что совпадает с данными литературы [Winterberg et al., 2014].

Таблица.

Влияние штаммов *S. nodorum* с различной агрессивностью на развитие симптомов заболевания, изменение экспрессии гена фермента биосинтеза этилена АЦК-оксидазы и генов PR-белков, кодирующих ферменты про-/антиоксидантной системы, у контрастных по устойчивости видов пшеницы

Показатели		Время после инфицирования, сутки	Виды пшеницы					
			<i>Triticum aestivum</i> Э113			<i>T. timopheevii</i> к-58666		
			Контр.	<i>S. nodorum</i>		Контр.	<i>S. nodorum</i>	
SnБ	Sn4	SnБ		Sn4				
Содержание мРНК генов, % от контроля	<i>TaACC</i>	1	100	146	80	0	16	0
	<i>TaRboh</i>	1	100	70	160	100	121	158
		3	100	160	150	100	69	154
	<i>TaPrx</i>	1	100	71	320	100	401	365
		3	100	283	300	100	853	300
	<i>TaSod</i>	1	100	69	144	100	320	110
3		100	192	213	100	150	100	
Площадь поражения, мм ²		9	0	91±6,1	9,6±2,2	0	2,8±0,5	0,8±0,1

В нашей работе было также показано, что у восприимчивого сорта Э113 через 24 часа инфицирования высокоагрессивным штаммом SnБ, содержащим ген *SnTox3*, на биотрофной стадии развития патогена уменьшалось содержание транскриптов *TaPrx*, *TaRboh*, *TaSod* генов, кодирующих ферменты, участвующие в генерации АФК (таблица), что совпадало со снижением генерации H₂O₂ у этого сорта (рисунок). Напротив, у устойчивого образца к-58666 в тех же условиях было обнаружено накопление транскриптов всех трех генов (таблица), что совпадало с повышением генерации H₂O₂ у данного вида (рисунок). Через трое суток после инфицирования, в начале некротрофной фазы развития патогена была обнаружена противоположная реакция контрастных видов. У восприимчивого сорта Э113 содержание мРНК двух генов (*TaRboh*, *TaSod*) повышалось, что впоследствии могло привести к образованию обширных зон поражения с некрозами, у устойчивого образца к-58666 содержание мРНК этих генов снижалось (таблица). Такие данные могут объяснить участие SnTox3 в образовании некрозов на листьях пшеницы, способствующих росту *S. nodorum* в некротрофную стадию развития. Интересно, что инфицирование обоих видов низкоагрессивным штаммом Sn4, не содержащим ген эффектора SnTox3, не приводило к снижению экспрессии генов *TaPrx*, *TaRboh*, *TaSod* на биотрофной стадии развития и к увеличению экспрессии этих генов на некротрофной стадии развития (таблица). Таким образом, влияние SnTox3 на редокс-статус растений осуществляется через регуляцию экспрессии генов оксидоредуктаз.

Также нами показано влияние SnTox3 на экспрессию гена фермента биосинтеза этилена АЦК-оксидазу (таблица). Инфицирование высокоагрессивным штаммом SnБ, содержащим ген *SnTox3*, повышало содержание транскриптов гена *TaACC*, а инфицирование слабоагрессивным штаммом Sn4, не содержащим ген *SnTox3*, не влияло на экспрессию данного гена у восприимчивого сорта Э113 через 24 часа инфицирования (таблица). У устойчивого образца к-58666 в тех же условиях практически не обнаруживалось мРНК данного гена (таблица). Интересно, что ранее нами было показано отрицательное влияние обработки растений химическим предшественником этилена - этефоном на редокс-статус инфицированных *S. nodorum* растений пшеницы, как восприимчивых, так и устойчивых фенотипов [Веселова и др., 2016]. Обработка этефоном приводила к снижению содержания H₂O₂, уменьшению активности ПО и повышению активности КАТ у инфицированных *S. nodorum* растений, а обработка ингибитором рецепции этилена 1-МЦП (1-метилциклопропеном) снимала эффект этефона [Веселова и др., 2016]. Таким образом, исходя из полученных данных, можно предположить, что эффектор SnTox3 влияет на редокс-статус растений, манипулируя биосинтезом и сигнальным путем этилена.

Работа выполнена в рамках госзадания по теме № 0246-2018-0035 и при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-04-00978 с использованием оборудования ЦКП «Биомика» (Отделение биохимических методов исследований и нанобиотехнологии РЦКП «Агидель») и УНУ «КОДИНК».

Литература

Веселова С.В., Бурханова Г.Ф., Нужная Т.В., Максимов И.В. Роль этилена и цитокининов в развитии защитных реакций в растениях *Triticum aestivum*, инфицированных *Septoria nodorum* // Физиология растений. – 2016. – Т. 63, № 5. – С. 649–660.

Тарчевский И. А., Яковлева В. Г., Егорова А. М. Индукция салициловой кислотой компонентов олигомерных белковых комплексов // Физиология растений. – 2012. – Т. 59, № 4. – С. 532–542.

Friesen T.L., Stukenbrock E.H., Liu Z.H., Meinhardt S., Ling H., Faris J.D., Rasmussen J.B., Solomon P.S., McDonald B.A., Oliver R.P. Emergence of a new disease as a result of interspecific virulence gene transfer // Nat. Genet. – 2006. – V. 38. – P. 953–956.

Kazan K., Lyons R. Intervention of phytohormone pathways by pathogen effectors // Plant Cell. – 2014. – V. 26. – P. 2285–2309.

Phan H.T.T., Rybak K., Furuki E., Breen S., Solomon P.S., Oliver R.P., Tan K.-C. Differential effector gene expression underpins epistasis in a plant fungal disease // The Plant Journal. – 2016. – V. 87. – P. 343–354.

Shi G., Zhang Z., Friesen T.L., Bansal U., Cloutier S., Wicker T., Rasmussen J.B., Faris J.D. Marker development, saturation mapping, and high-resolution mapping of the *Septoria nodorum* blotch susceptibility gene *Snn3B1* in wheat // Mol. Genet. Genomics. – 2016. – V. 291. – P. 107–119.

Vleeschauver D.D., Yinong Y., Casiana V.C., Monica H. Abscisic acid-induced resistance against the brown spot pathogen *Cochliobolus miyabeanus* in rice involves MAP kinase-mediated repression of ethylene signaling // Plant Physiol. – 2010. – V. 152. – P. 2036–2052.

Winterberg B., Du Fall L.A., Song X.M., Pascovici D., Care N., Molloy M., Ohms S., Solomon P.S. The necrotrophic effector protein SnTox3 re-programs metabolism and elicits a strong defence response in susceptible wheat leaves // BMC Plant Biol. – 2014. – V. 14. – P. 215.

INFLUENCE OF *STAGONOSPORA NODORUM* EFFECTOR SnTOX3 ON ETHYLENE BIOSYNTHESIS AND REDOX-METABOLISM OF WHEAT PLANTS

S.V. Veselova, G.F. Burkhanova, T.V. Nuzhnaya, I.V. Maksimov

Institute of Biochemistry and Genetics – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia, veselova75@rambler.ru

Abstract. The effect of two strains of *Stagonospora nodorum* Berk with various virulence and expression of the its effector SnTox3 on the redox status and ethylene biosynthesis in two wheat species *Triticum aestivum* L. (susceptible) *T. timopheevii* Zhuk. (resistant) was studied. The negative effect of SnTox3 on the generation of hydrogen peroxide during the biotrophic stage of pathogen development was detected. This effect of SnTox3 was due to the regulation of oxidoreductase genes expression and manipulation of ethylene metabolism.

Keywords: *Stagonospora nodorum* Berk., wheat, pathogen effector, redox status, ethylene

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ПРОИЗРАСТАНИЯ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ НА ИХ ВОДНЫЙ СТАТУС, РОСТОВЫЕ ПРОЦЕССЫ И ПРОДУКТИВНОСТЬ

Т.В. Волошина, О.Б. Сангаджиева

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Калмыцкий государственный университет имени Б.Б. Городовикова», Элиста, Россия, tat-vol.94@mail.ru

Аннотация. Проведено исследование некоторых физиологических параметров таких лекарственных растений как подорожник ланцетолистный и шалфей лекарственный в связи с их географическим положением и влиянием факторов окружающей среды в условиях Калмыкии и Северо-Западного Кавказа. Установлено, что изучаемые виды лекарственных растений, произрастающие в разных условиях, различались по величине общей оводненности листьев и целого растения, интенсивности транспирации, высоте, накоплению сырой и сухой биомассы.

Ключевые слова: водный режим, интенсивность транспирации, рост, продуктивность, подорожник ланцетолистный, шалфей лекарственный

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-195-198

Исследование лекарственных растений древняя отрасль человеческих знаний, продолжающая интересовать ученых и в настоящее время. Накоплен богатый материал по изучению лекарственных растений, их химическому составу, лечебным свойствам, распространению. Известно, что лечебные свойства лекарственных растений зависят от содержания в них действующих веществ, способных оказывать физиологическое воздействие лечебного характера на живой организм. Образование и накопление физиологически активных веществ является динамическим процессом, изменяющимся в онтогенезе растения, а также зависящим от многочисленных факторов окружающей среды (светового, водного, температурного режима, почв и т.д.). В связи с уменьшением запасов лекарственных растений в результате антропогенного пресса и поддержания их в природе на необходимом для воспроизведения уровне, разрабатывается проблема рационального использования лекарственных растений и введения их в культуру (лекарственное растениеводство) для создания альтернативных источников лекарственного сырья и реинтродукции видов в нарушенные природные экосистемы. Лекарственное растениеводство требует знания физиологического состояния растений, их адаптивности к абиотическим и биотическим факторам. Поэтому проводимые исследования некоторых физиологических параметров ряда лекарственных растений в связи с их географическим положением и влиянием факторов окружающей среды в условиях Калмыкии и Северо-Западного Кавказа представляют большой интерес, так как регионы кардинально отличаются по этим факторам.

Работа проводилась в июле месяце 2016 и 2017 г. Растения анализировались на фазе цветения. Интенсивность транспирации определяли по методу Иванова Л.А. [Иванов, 1950]. Общую оводненность анализировали по методике, представленной в пособии Удовенко Г.В. Ростовые параметры определяли по общепринятым методикам. Для изучения были выбраны подорожник ланцетолистный и шалфей лекарственный. Данные растения имеют важное лекарственное значение, распространены на территории России, а также обитают и в условиях Калмыкии.

Республика Калмыкия располагается на юго-востоке Европейской части России в зоне степей, полупустынь и пустынь. Климат резко континентальный с

продолжительным жарким и засушливым летом (среднегодовое количество осадков 200-300 мм) и довольно суровой зимой. В связи с этим, большая часть территории Калмыкии оценивается как аридная, где лимитирующими факторами является влага (минимум) и соли (максимум). Территория республики находится в зоне полупустыни, характерной особенностью которой является комплектность растительного покрова, проявляющаяся в сочетании степных и пустынных участков.

Биостанция Кубанского госуниверситета и государственного ландшафтного заказника местного значения «Камышанова поляна», являющаяся базой практики студентов биологов Кубанского и Калмыцкого государственного университета, расположена на Северо-Западе Кавказа в Краснодарском крае на Лагонакском нагорье на высоте 1463 метра над уровнем моря. Место произрастания растений характеризуется среднегодовыми температурами порядка 4 °С, зима умеренно мягкая, лето умеренно прохладное, количество осадков достигает 2100 мм в год. Для территории заказника и граничащих с ним районов Лагонакского нагорья характерны зональность и поясность растительности. Заказник расположен на территории букового леса, который после уничтожения в результате лесозаготовок стал восстанавливаться за счет ольхи, пихты, березы. На месте вырубленных лесов формируется вторично луговые поляны Камышанова. Флора биостанции «Камышанова поляна» богата и уникальна, и включает много лекарственных растений. Много работ посвящено ботаническому изучению данной территории, но практически отсутствуют сведения по изучению физиологического состояния растений, произрастающих в данных условиях. Это и является объективными предпосылками научно-исследовательских работ по изучению влияния условий произрастания на физиологическое состояние лекарственных растений.

Целью данной работы является изучение водного режима и ростовых процессов таких важных лекарственных растений как подорожник ланцетолистный (*Plantago lanceolata* L.), шалфей лекарственный (*Salvia officinalis* L.) при их произрастании в условиях «Камышановой поляны» и Калмыкии.

Водный режим является одной из важных характеристик физиологического состояния растений. От него зависят практически все процессы, протекающие в растениях [Жолкевич и др., 1989]. Проведенный анализ литературы показал, что отсутствуют сведения по сравнительному изучению водного статуса у данных лекарственных растений, произрастающих в условиях заказника «Камышанова поляна» и Калмыкии. Одним из параметров водного режима растений является показатель их общей оводненности. Поэтому нами была проанализирована общая оводненность целого растения и общая оводненность листьев. Данные по этим параметрам представлены в таблице. Как видно из таблицы, из двух изучаемых лекарственных растений большей оводненностью как листьев, так и целого растения отличается подорожник ланцетолистный. Согласно литературным данным это растение по характеру водного режима относится к мезофитам. Подорожник данного вида растет около дорог, на лугах, пустырях, на полянках лесных опушек. В условиях Кавказа (биостанция Камышанова поляна) содержание воды в листьях этого растения достигало 82%, а в целом растении 77%. При произрастании в условиях Калмыкии с более жесткими условиями оводненность данного вида была несколько ниже.

Шалфей лекарственный, являясь ксерофитом и обитая на каменистых склонах, полях, лесных опушках в условиях Северо-Западного Кавказа и в окрестностях лесополос, балках, ложбинках, степных склонах в Калмыкии [Бакташова, 2012], характеризовался меньшей оводненностью как листьев, так и целого растения (75% и 69% соответственно). Обнаружено также уменьшение воды у данного вида лекарственных растений при произрастании в аридном климате Калмыкии.

С оводненностью растений тесно связан такой показатель водного статуса растений как интенсивность транспирации, характеризующий количество потерянной воды за единицу времени. Анализ этого параметра у изучаемых видов лекарственных растений показал, что они отличались по реакции на климатические условия, обуславливаемые географическим положением места исследования. Интенсивность транспирации у подорожника была выше при его произрастании в условиях Калмыкии, по сравнению с произрастанием в окрестностях биостанции. Шалфей, относясь по отношению к водному режиму к ксерофитам, меньше терял воды в процессе транспирации при произрастании в условиях Калмыкии (173 мг), чем Северо-Западного Кавказа (279 мг).

Таблица.

Сравнительная характеристика водного режима, роста и продуктивности у изучаемых лекарственных растений

Физиологические показатели	Подорожник ланцетолистный		Шалфей лекарственный	
	Калмыкия	Северо-Западный Кавказ	Калмыкия	Северо-Западный Кавказ
Параметры водного режима:				
-Общая оводненность листьев (%)	80,0 ± 0,5	82,0 ± 0,1	71,0 ± 0,3	75,6 ± 0,1
-Общая оводненность целого растения (%)	76,0 ± 0,2	77,0 ± 0,1	68,8 ± 0,2	69,4 ± 0,1
-Интенсивность транспирации (мг/г.*ч.)	365 ± 1,1	146 ± 0,9	173 ± 0,8	279 ± 2,1
Ростовые параметры:				
-Высота (см)	35 ± 1,3	44 ± 1,5	50 ± 2,0	61 ± 0,9
-Сырой вес (г)	8,200 ± 0,70	13,180 ± 0,95	4,491 ± 0,61	7,580 ± 0,50
-Сухой вес (г)	1,820 ± 0,04	2,083 ± 0,08	1,302 ± 0,05	1,605 ± 0,03

Примечание: различия статистически значимы между условиями произрастания растений $p < 0.05$.

Кроме изучения водного режима данных видов растений нами был проведен анализ ростовых процессов во многом определяющих их продуктивность. Влажные условия Северо-Западного Кавказа благоприятно сказались на ростовых процессах, обуславливая их высокорослость в данных условиях. Измерение высоты большого количества растений каждого вида показало, что подорожник ланцетолистный достигал в среднем 44 см, шалфей лекарственный 61 см. Более сухой климат Калмыкии приводил к снижению ростовых процессов, что сказалось на высоте исследуемых растений (35 см и 50 см, соответственно). Изучение таких показателей продуктивности как накопление сырой биомассы позволило обнаружить, что она была значительно выше у растений в условиях Кавказа по сравнению с Калмыкией. Такая же тенденция прослеживается и в отношении сухого веса у анализируемых растений.

Исследование биологической специфики лекарственных растений флоры Калмыкии и Кавказа необходимо для оценки их жизненной стратегии, адаптивности и продуктивности. Анализ эколого-физиологического состояния растений, их специфики произрастания в различных условиях служит теоретической основой для разработки рекомендаций по внедрению видов в культуру для дальнейшего их применения в лекарственных целях, а также для решения вопросов по сохранению их

биоразнообразия. Это особенно важно в настоящее время, когда в результате антропогенного воздействия многие из широко распространенных видов становятся редкими и даже исчезающими в результате их нерационального использования.

Литература

Бакташова Н.М. Конспект флоры Калмыкии – Элиста: Изд-во Калм. ун-та, 2012. – 112 с.

Жолкевич В.Н., Гусев Н.А., Капля А.В. и др. Водный обмен растений. – М.: Наука, 1989. – 256 с.

Иванов Л.А., Силина А.А., Цельникер Ю.Л. О методе быстрого взвешивания для определения транспирации естественных условиях // Ботанический Журнал. – 1950. – Т.35, №2. – С. 171–185.

THE INFLUENCE OF GROWING CONDITIONS OF SOME SPECIES OF MEDICINAL PLANTS ON THEIR WATER STATUS, GROWTH PROCESSES AND PRODUCTIVITY

T.V. Voloshina, O.B. Sangadzhieva

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Kalmyk State University named after B.D. Gorodovikov», Elista, Russia, *tat-vol.94@mail.ru*

Abstract. The study of some physiological parameters of medicinal plants such as *Plantago lanceolata* and *Salvia officinalis* with the connection of their geographical location and the influence of environmental factors in the conditions of Kalmykia and the North-West Caucasus. It was found that the studied species of medicinal plants growing in different conditions differed in level of the total water content of leaves and the whole plant, the intensity of transpiration, height, accumulation of raw and dry biomass.

Keywords: *water regime, transpiration intensity, growth, productivity, Plantago lanceolata, Salvia officinalis*

ПРОИЗВОДСТВО ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР В НИЗКО-ПЛЕНОЧНЫХ ТУННЕЛЯХ В ДЕРБЕНТСКОМ РАЙОНЕ, РД

Е.Г. Гаджимустапаева

Филиал Дагестанская опытная станция Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова», Республика Дагестан, Дербентский р-он, с. Вавилово, Россия, *vir-evg-gajimus@yandex.ru*

Аннотация. Овощеводы южных районов Дагестана круглогодично занимаются овощеводством открытого грунта, используя низко-пленочные туннели и теплицы, сменяя культуры и обеспечивая овощами население республики и за ее пределы. Дербентский район относится к северным сухим субтропикам, что позволяет населению возделывать овощные культуры конвейером. Чередуя культуры и сорта по группе спелости: капуста белокочанная, редис, огурцы, томаты, баклажаны, тыкву, кабачки, лук репчатый, чеснок. Из огромного разнообразия культур и сортов отечественной селекции в районе не возделывают, т.к. наши ведущие ученые овощеводы не занимаются внедрением своих сортов, а также рекламой.

Ключевые слова: *Дагестан, овощи, сорта, скороспелость, дружность созревания, транспортабельность*

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-199-202

Овощеводство – отрасль растениеводства, занимающаяся производством овощей: сочных органов: плодов, корнеплодов, клубней, луковиц, листьев, стеблей, соцветий однолетних и многолетних культур [Тараканов, Мухин, 2003]. Это высокоспециализированная отрасль, в которой выделяют овощеводство открытого грунта и защищенного грунта (выращивание рассады и овощей в теплицах, в пленочных туннелях).

Рост городов и развитие промышленности в России привели к созданию в XIX в. очагов крупного товарного овощеводства, в том числе и товарного выращивания капусты [Лизгунова, 1984].

Пищевые достоинства овощей: в свежих овощах содержится 95% воды, жиры (до 1%), белки (1-2%); у бобовых (5%), сухое вещество (углеводы, клетчатка, крахмал, сахара), зольные элементы (от 0,07-2,23%). Всем известный факт, что включения овощей в рацион делает его гармоничным, препятствует возникновению желудочно-кишечных заболеваний.

Капустные культуры в мировом овощеводстве занимают важное место. В России кочанную капусту выращивают повсеместно и употребляют в пищу в большом количестве, чем другие овощи [Королева, 2013].

К концу 1990 годов отечественный семенной рынок подвергся активной экспансии иностранных семенных компаний, которые за короткий срок смогли вытеснить отечественные сорта и гибриды капусты белокочанной из товарного производства. Причиной быстрого распространения иностранных гибридов стала их морфологическая однородность, широкий сортимент и высокие посевные качества [Ситников, 2013].

Климатические условия района позволяют выращивать почти круглый год и первыми выйти на рынок с ранней капустой и другими видами овощей, как редис, огурцы, баклажаны, перцы, томаты, лук репчатый и зелень круглый год.

Разные сроки созревания сортов капусты белокочанной обеспечивают снабжение населения свежей продукцией в течение всего года. В Российской Федерации около

70% площади занимает поздняя капуста, предназначенная для хранения в течение 6-8 месяцев [Гаджимустапаева, 2015].

В южных районах Дагестана, в т.ч. и в Дербентском районе выращивали капусту белокочанную в озимой культуре. Сорты селекции ДСОСВиО (Дагестанская селекционная опытная станция виноградарства и овощеводства) – ДМУ (Дербентская местная улучшенная), Самур 2, Офелия, Лезгинка, Горянка 5. Все вышеперечисленные сорта последние 15-20 лет вытеснены из рынка производства, кроме ДМУ в частном секторе, который возделывают в озимой культуре (как салатная капуста).

Дербентский район по выращиванию раннеспелых овощных культур занимает огромные площади – 6528 га. Под капустой белокочанной в 2017 году была занята 1360 га, валовой сбор 108936 т, урожайность 801 ц/га. На протяжении длительного времени площадь незначительно менялась – от 1340 до 1380 га. Менялись также сорта и гибриды, пользующиеся спросом в районе для возделывания: ранние – Мирор, Сюрприз, Парель, Элиза, Кевин; средне позднеспелые – Ринда, Агрессор, Фарао, Бурбон, Бронко.

Под редис в Дербентском районе занято 470 га, валовой сбор 24017 т, урожайность 511 ц/га. Выращиваемые сорта редиса Селеста, Сорра, Розета пользуется высоким спросом, как для севооборота и уплотнителя культуры, так и для получения ранней продукции и весенних витаминов, от корнеплодов и молодых зеленых листочков для приготовления весенних салатов.

Общая площадь под огурцами в 2017 году состояло 512 га, валовой сбор 48711 т, урожайность 951,4 ц/га. Сорты и гибриды Меренги, Маша, Уран, Спино, Мария, Герман зарекомендовали в нашем районе как скороспелые, высокоурожайные и рентабельные.

В летне-осеннем сроке выращивания отечественные сорта огурцов, которые хорошо зарекомендовали себя как в нашем районе, так по южному Дагестану – Феникс, Родничок. Возделывают в летне-осенней культуре в основном для маринадов и засолки. Эти сорта выдерживают абиотические факторы, протекающие в период роста и развития, такие как высокая температура, низкая влажность почвы и воздуха. Без дополнительного орошения невозможно заниматься овощеводством.

Оптимальные сроки посева семян овощных культур с/с. Нюгди, Дербентского района показаны в таблице 1. Почву для посева и высадки готовят: пахоту на глубину 25-27 см, дискуюют, выравнивают и нарезают борозды. Площадь питания одного растения – 0,25 м² (70x35 см), в последнее время 0,27 м² (90x30 см) норма высадки 37-40 тыс. /шт. на 1 га. Это позволяет механизировать обработку междурядий и другие виды агротехники.

Таблица 1.

Сроки выращивания овощных культур в Дербентском районе

Название культуры	дата		Дата сбора товарной продукции	
	посева	высадки	25%	100%
Капуста ранняя	20-25.12.	01-05.03.	03-07.05.	10-12.05.
Капуста среднеспелая	20-25.02.	15-20.04.	20-25.06.	01-05.07.
Капуста позднеспелая	07-10.03.	25.04.-05.05.	10-20.07.	21 -30.07
Редис	20-25.12.	-	10-20.03	21-30.03
Редис	20-30.01.	-	20-30.03	01-10.04.
Огурцы	10-20.02.	05-15.04	09.05.	20-25.05.
Огурцы *	15-20.07.	-	20.08.	25.09.
Баклажаны	20.02 - 25.03.	10.04-10.05	июнь	июль

*- посев семян в открытом грунте.

Овощеводы частного сектора и арендаторы Дербентского района выращивают овощи круглый год. Они используют единицу площади экономично, позволяя этим высевать и высаживать круглый год, меняя культуры и современную агрохимию. Труженики являются флагманами введения новых культур и сортов, также по реализации ранней сельскохозяйственной продукции на рынке и вывозу за пределы республики.

Редис сеют кассетным методом 5х6 см, в утепленные траншеи (длина 8-10 м, ширина 1,0 -1,2 м), покрытые пленкой под зиму.

Скороспелость – один из главных хозяйственно-биологических свойств сорта. В зависимости от условий года, особенно от срока наступления оптимальной для начала образования кочана или корнеплода температуры, скороспелость сортов меняется. В нашем регионе необходимо точно соблюдать сроки посева и высадки, чтобы растения не прошли стадию яровизации. Урожайность и товарные качества культуры в большей степени определяется условиями выращивания, изменения которых нарушают режим питания, обмен веществ, процессы роста и развития.

В вышеназванном с/с Ньюджи в 2017 году общая площадь занято под ранними овощными культурами 605 га, что составляет 9,3%, валовой сбор 40520 т – 8,4% и средняя урожайность 664 ц/га, что составляет 90,2% относительно к показателям района.

Площадь занятой под капустой белокочанной 90 га, валовой сбор 6853 т, урожайность 761 ц/га.

Редис является скороспелой овощной культурой, площадь посева составляло 240 га, валовой сбор 12262 т, урожайность 510,9 ц/га.

Огурцы, семена сеют в два срока: первый ранний в кассеты в теплицах и высаживают в утепленные траншеи; второй срок – летом в открытый грунт и частично в кассеты в дальнейшем пересаживают. Под ранними огурцами площадь занята - 60 га, валовой сбор составляет 5583 т, урожайность 930,5 ц/га, и получают самый ранний урожай в районе.

Наиболее урожайные и стабильные сорта белокочанной капусты выделились и отмечены в таблице 2. По продуктивности, качеству кочана и транспортабельности выделились ранние сорта – Сюрприз (1000 ц/га) и Мирор (440 ц/га). Также отмечены сорта по высокой урожайности – Элиза и Кевин (800 ц/га), по характеру качество кочана – не плотные.

Таблица 2.

Продуктивность и срок созревания капусты белокочанной в утепленных траншеях

Культура, сорта	Продуктивность, ц/га	Качество кочана, транспортабельность	Созревания, суток	
			единичные	массовые
Скороспелые				
Парель	400	хорошая	60	70
Мирор	440	хорошая	64	72
Сюрприз	1000	хорошая	65	73
Элиза	800	слабая	65	74
Кевин	800	слабая	63	75
Средне-позднеспелые				
Ринда	1480-2220	хорошая	66	76
Агрессор	740	хорошая	66	81
Фарао	777	хорошая	64	76
Бурбон	814	хорошая	71	77
Бронко	555-740	хорошая	15-20.07	до 25.07.

По дружности созревания и подхода общего урожая выделились сорта Мирор (8 суток), Сюрприз (8 суток), Ринда (10 суток), Бурбон (6 суток).

Скороспелый – сорт Сюрприз урожайный –1000 ц/га, отмечен дружностью созревания кочана – 8 суток. Капуста белокочанная сорт Ринда, растения высаживают плотно 25-30 х 70 см, чтобы кочаны не доходили до 5-6 кг. Стабильно высокоурожайный сорт.

В зависимости от условий года, особенно от наступления оптимальной для формирования кочана температуры, скороспелость сортов капусты белокочанной в разные годы была неодинаковой. Сорта, относящиеся к ранней группе созревания, иногда переходили в среднеспелую группу.

Таким образом, очень бы хотелось видеть на полях южного Дагестана отечественные сорта и гибриды овощных культур. Культуры и сорта, проявляющие устойчивость к вредителям и болезням рано весной в период роста и развития растений. Не всегда и не все культуры в период роста и развития выдерживают не благоприятные абиотические факторы – температуру (30–42 °С) при дефиците влажности воздуха и почвы, без дополнительного полива.

Литература

Гаджимустапаева Е.Г. Сорта озимой белокочанной капусты для Юга России // Вестник РАСХН. – 2015. – № 1. – С. 40–42.

Королева С.В. Приоритеты селекции капусты белокочанной на Юге России – история и современность // Капустные овощные культуры. Актуальные вопросы селекции и семеноводства, современные технологии выращивания. Сборник материалов Международной научно-практической конференции. – Краснодар, 2012. – С. 5–10.

Лизгунова Т.В. Культурная флора СССР. Капуста. – Л.: «Колос», 1984. – 328 с.

Ситников С.В. Особенности селекции раннеспелых гибридов белокочанной капусты // Капустные овощные культуры. Актуальные вопросы селекции и семеноводства, современные технологии выращивания. Сборник материалов Международной научно-практической конференции // Краснодар. 2012. – С. 10–14.

Тараканов Г.И., Мухин В.Д. Овощеводство. – М.: «Колос», 2003. – 471 с.

THE PRODUCTION OF VEGETABLE CROPS IN LOW PLASTIC TUNNELS IN THE DERBENT DISTRICT, DAGESTAN

E.G. Gadjimustapaeva

Branch Dagestan Experimental Station of the Federal State Budgetary Scientific Institution “Federal Research Center the N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources”, the city of Derbent, selo Vavilovo, Russia, vir-evg-gajimus@yandex.ru

Abstract. Vegetable growers of the southern regions of Dagestan all year round are engaged in vegetable growing-open ground, using low-film tunnels and greenhouses replacing crops and providing vegetables to the population of the Republic and beyond. Derbent region belongs to the Northern dry subtropics, which allows the population to cultivate vegetable crops conveyor. Alternating cultures and varieties by group of ripeness: cabbage, radish, cucumbers, tomatoes, eggplant, pumpkin, zucchini, onion, garlic. From a huge variety of crops and varieties of domestic selection in the area is not cultivated, because our leading scientists vegetable growers are not engaged in the introduction of their varieties, as well as advertising.

Keywords: Dagestan, vegetables, early maturity, simultaneous ripening, transportability

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ У КАПУСТЫ БРОККОЛИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СРОКА ВЫРАЩИВАНИЯ

Е.Г. Гаджимустапаева

Филиал Дагестанская опытная станция Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова», Республика Дагестан, Дербентский р-он, с. Вавилово, Россия, *vir-evg-gajimus@yandex.ru*

Аннотация. В исследованиях по выращиванию брокколи встречались с проблемой физиологического наращения. Культура брокколи новая в южном регионе Дагестана, встречаются проблемы выращивания. Для получения полноценного урожая и товарной головки необходимо соблюдать все агротехнические приемы возделывания.

Ключевые слова: брокколи, период вегетации, физиологическое нарушение, болезни, восприимчивость

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-203-206

В России брокколи недостаточно известна и мало распространена, хотя в начале 20 века известные русские ученые-овощеводы – Н.И. Кичунов и Р.Д. Шредер отмечали ее преимущества перед другими разновидностями капусты [Гаджимустапаева, Рабаданов, 2015].

Головки брокколи, по существу, готовые поливитамины. Они содержат витамины А, В1, В2, РР, С, К, соли калия, фосфора, кальция и магния [Пивоваров, Старцев, 2006].

По исследованиям [Чернышева, 2007] головки брокколи содержат много сухого вещества (в среднем 10%), мало сахаров (2,5%), в 2 раза больше, чем цветная капуста, сырого белка (3,6%).

В настоящее время рынок выдвигает требования по улучшению обеспечения населения овощной продукцией, расширению ассортимента и поступлению ее в течение всего года [Гаджимустапаева, 2013].

На филиале Дагестанская ОС ВИР в 2015 - 2017 гг. заложены мелко-деляночные опыты.

Цель данных исследований состояло изучить новый набор сортов капусты брокколи по качеству продукции, дружностью подхода товарного урожая и устойчивость биотическим и абиотическим условиям среды. Объектом исследований являлись 19 образцов: из Японии – 12; России и США по 2; Канады, Нидерланды и Новой Зеландии по одному.

Погодные условия в период вегетации растений капусты брокколи. Анализ метеорологических показателей сезона вегетации 2015 - 2017 годов свидетельствовал о неблагоприятных для растений климатических условиях.

Начиная с I-й декады июня 2015 года стояла сильная жара – 26,2 °С и низкая влажность воздуха – 59%. Максимальные значения среднесуточных температур были выше среднеголетних показателей на 8,8-9,1 °С. В июле наблюдалось наибольшее термическое напряжение и повышенная солнечная активность. Жаркая погода практически сохранялась 2 с лишним месяца. Максимальная температура воздуха в летний период достигала в среднем – 35,7 °С. Особенно сильно засуха ощущалась во 2, 3 декадах июня. Спорадическое выпадение осадков было отмечено во II-III декадах июля. Большое количество осадков выпало в октябре – 140,6 мм и в ноябре – 160 мм, что выше климатической нормы в 3-4 раза.

Лето 2016 года было также жарким и влажность воздуха 64%. Сумма осадков за три месяца июнь – август составила 113,1 мм. Максимальная температура воздуха в летние месяцы достигала 35,6 °С.

Осень прохладная и дождливая, периодически выпадали незначительные осадки. Осадки выпали выше нормы в октябре – 204,0 мм. В ноябре выпал снег, и минимальная температура воздуха достигла 1,5 °С, в декабре – 6,4 °С. Погодные условия были не благоприятны для вегетации растений.

Лето 2017 года, также стояла высокая температура, и была низкая влажность воздуха, осень сухая, без дождей, все росло при наличии поливной воды по бороздам.

Размещение делянок – рендомизированное. Площадь высадки каждой повторности – 8,4 м² по 30 растений. Посев семян производили во второй декаде июня, с высадкой рассады в третьей декаде июля. Всходы семян и приживаемость высаженной рассады дружные. Площадь питания растения – 0,28 м².

В рассаднике провели против вредителей рапсовой блошки профилактическую обработку инсектицидом «Актара» (СП, норма 2 г/10 л). В фазе семядольных и 6-7 настоящих листьев перед высадкой – «Фастак» (ВР, норма расхода 1 мл/5 л.). Окучивали для ускорения корнеобразования растений. В период вегетации проводили обработку растений против капустной совки, капустной белянки – «Проклейм» (норма расхода 10 г/10 л воды). Повторили опрыскивание после высадки, а также перед формированием головок для чистоты выращиваемой товарной продукции.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили методом дисперсного анализа [Доспехов, 1985].

Биологические особенности растения брокколи относительно устойчивы к холоду и выдерживают заморозки -7 °С. В засушливые годы они формирует небольшой урожай, при условии, если не будет проблемы с поливом и подкормкой.

В Южных районах Дагестана, на равнине растения тяжело переносят прямые солнечные лучи, поэтому необходимо размещать брокколи в полутени. Идеальна для культуры брокколи – прохладная погода. Почва подойдет нейтральная или щелочная. Рассаду можно считать готовой к высадке в открытый грунт при достижении 18-20 см, 6-7 шт. листьев, не менее 40-45 дней.

Важно помнить, что рассаду не сажают глубоко в почву, только до первых нижних листочков.

В период исследования нами отмечено физиологические нарушения у растений брокколи. Нарушения являются фактором, которые необходимо принимать во внимание. В период роста и развития растений сорта (гибрида) брокколи существует значительная разница восприимчивости к физиологическим нарушениям, которая зависит во многом от их способности справляться с различными условиями среды. Склонность растений сорта (гибрида) к подобным нарушениям имеет определяющее значение при решении возделывания данной культуры для конкретных условий выращивания, особенно в южных провинциях страны.

Польный стебель. Во время роста, развития растений и формирования головки у брокколи в летне-осенний период часто можно встретить растения с такой проблемой. Растения брокколи подвержены к физиологическим нарушениям при дефиците бора, считается, что клеткам не хватает эластичности, они рвутся, и образуется польный стебель. Такое физиологическое нарушение не отмечено при озимом сроке выращивания в нашей зоне.

Глазки – это крупные бутоны, которые преждевременно начинают цвести, еще до полного формирования головки (соцветия). Данный фактор также является физиологическим нарушением, частота проявления такого нарушения зависит от сорта (гибрида).

Прорастание листочков. При таком нарушении кроющиеся листья прорастают через соцветие, внутри головки, из-за чего утрачивает гладкость и товарный вид головки. Данное физиологическое нарушение наблюдается в сложных условиях роста, как при недостатке воды или чрезмерной жаре как в нашем случае. Восприимчивость к прорастанию листочков зависит от сорта (гибрида), поскольку некоторые из них, скорее всего, уязвимее других.

Бесплодность растения (слепые растения) также является физиологическим нарушением. Повреждение точки роста происходит на раннем этапе развития, часто такое явление можно встретить при осенне-зимнем сроке выращивания, если сроки посева и высадки передвинуть. Особенно уязвимы в этом отношении скороспелые сорта (гибриды) брокколи. При понижении температуры воздуха менее 8 °С происходит повреждение первых листьев образующегося соцветия. Отмечено, что такое нарушение может образоваться вследствие недостатка микроэлементов, например, молибдена, или же в результате повреждения точки роста насекомыми.

Боковые побеги. Такой тип физиологического нарушения, свойственный только для культуры брокколи, проявляется в условиях стресса. Растения сорта (гибрида), не переносящие высокую температуру в летний период выращивания в жарких условиях, могут образовывать на стебле мелкие соцветия. Растения фактически тратят энергию, предназначенную для формирования основного соцветия (головки). При таком нарушении боковые побеги портят качество основной товарной продукции, предназначенной для реализации. Боковые побеги это дополнительный урожай с единицы площади после сбора основного урожая, являются подспорьем для дачных участков как показано в таблице. Они растут и появляются через 2-3 недели после сбора основного урожая.

Таблица.

Агробиологическая оценка образцов брокколи

Название, происхождение	Число суток от всходов до наступления хозяйственной годности			Продуктивность и качество головок		
	10%	50%	100%	средняя масса, кг	урожай второго порядка, кг	качество, балл
	головок					
Hybrid Southern Comet, Япония	79	85	104	0,21	0,51	2,6
Packer, США	80	87	100	0,25	1,32	2,8
Тонус, ВНИИССОК	82	85	90	0,36	3,28	2,9
Surgee № 74310 F1 RS, Нидерланды	82	89	101	0,34	1,45	2,3
Comanche, Япония	82	104	122	0,32	1,84	2,9
Arcadia F1, Япония	85	95	104	0,34	0,97	3,0
Hybrid Cape Queen, Япония	89	110	126	0,28	1,25	2,9
Triathlon F1, Япония	98	114	128	0,36	0,57	3,0
Senshi, Япония	102	123	130	0,24	1,18	3,0
Hybrid Express Corona, Япония	103	119	141	0,30	0,76	2,6
Marathon F1, Япония	104	125	142	0,30	0,90	2,9
Фортуна, Россия	122	142	158	0,21	2,78	2,9

В Южных широтах в летне-осенний период вегетации у капусты брокколи, растения развиваются до поздней осени, а в 2017 и 2018 годах в январе, первых числах марта. В таблице отмечены показатели: число суток от всходов до наступления хозяйственной годности головок, средняя масса и качество головки, наступление урожая второго порядка с делянкообразца. Распределены образцы по числу суток от

всходов до наступления хозяйственной годности головок: скороспелые 70-85 суток, среднеспелые 86-95 и позднеспелые 96 суток и более. Формирование и поступление товарных головок у брокколи отмечено дружное у стандартного сорта Тонус. Формирование растянуто – 10% головок на 82 и 100% на 90 сутки, на формирование приходится 8 суток.

Скороспелые сорта брокколи показали низкие показатели по качеству головок: появление крупных бутонов (глазки), неровности бугорком, головки быстро распадались, отмечено качество в 2,3 – 2,6 балла. Эти наблюдения были отмечены ранее в наших исследованиях.

Таким образом, при летне-осеннем сроке выращивания брокколи в Дербентском районе можно получить качественный урожай. Для получения полноценной товарной и качественной головки в период роста и развития у брокколи главными факторами являются: температура, влажность почвы и воздуха, наличие микроэлементов в почве, которые следует вносить своевременно на зеленую массу.

Литература

Гаджимустапаева Е.Г., Рабаданов Г.Г. Особенности возделывания капусты цветной и брокколи в почвенно-климатических условиях равнинной, предгорной и горной провинций Дагестана // Овощи России. – 2015. – № 3-4 (28-29). – С. 90–95.

Гаджимустапаева Е.Г. Брокколи настоящего и будущего // Материалы Всероссийской научной конференции «Роль ботанических садов в изучении и сохранении генетических ресурсов природной и культурной флоры». – Махачкала, 2013. – С. 161–163.

Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). – М.: Агропромиздат, 1985. – 416 с.

Пивоваров В.Ф., Старцев В.И. Капуста, ее виды и разновидности (разнообразие и способы выращивания). – М., 2006. – 191 с.

Чернышева Н.Н. Капуста. История, состояние и перспектива культуры в Западной Сибири. – Барнаул: Издат. АГАУ. – 2007. – 169 с.

PHYSIOLOGICAL DISORDERS IN BROCCOLI DEPENDING ON THE TIME OF CULTIVATION

E.G. Gadjimustapaeva

Branch Dagestan Experimental Station of the Federal State Budgetary Scientific Institution “Federal Research Center the N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources”, the city of Derbent, selo Vavilovo, Russia, vir-evg-gajimus@yandex.ru

Abstract. In studies on the cultivation of broccoli met with the problem of physiological capacity. Broccoli culture is new in the southern region of Dagestan, there are problems of cultivation. To obtain a full-fledged crop and commodity head, it is necessary to observe all agrotechnical methods of cultivation.

Keywords: *broccoli, vegetation period, physiological disorders, diseases, susceptibility*

ОСНОВНЫЕ РЕГУЛЯТОРЫ РАЗВИТИЯ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КАМБИЯ У ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ

Н.А. Галибина, Л.Л. Новицкая, Ю.Л. Мощенская, К.М. Никерова,
М.Н. Подгорная, И.Н. Софронова

Институт леса – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук», Россия, galibina@krc.karelia.ru

Аннотация. Разные сценарии ксилогенеза у обычной березы повислой и карельской березы отличаются по уровню экспрессии генов, кодирующих TDIF-пептид и его рецептор TDR, играющих центральную роль в камбиальной деятельности. Формирование у карельской березы узорчатой древесины, для которой характерны включения клеток паренхимы и нарушение ориентации проводящих элементов, происходит на фоне увеличения уровня экспрессии гена *CLE41* во флоэме и гена *PXY* в камбиальной зоне, и эктопической экспрессии *CLE41* в ксилеме.

Ключевые слова: карельская береза, аномальный ксилогенез, TDIF/CLE-41-TDR/PXY
DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-207-210

Центральную роль в судьбе стволовых клеток латеральной меристемы играют TDIF-пептид CLE-41 и его рецептор TDR, которые определяют направление дифференцировки клеток камбия [Додуева и др., 2012, 2014; Ito et al., 2006; Fisher, Turner, 2007; Hirakawa et al., 2008; Whitford et al., 2008; Du, Groover, 2010; Etchells, Turner, 2010; Etchells et al., 2012, 2013, 2015; Ye, Zhong, 2015; Nieminen et al., 2015]. Относительный уровень экспрессии гена, кодирующего CLE-пептиды (*CLE41*) у 46-летних растений обычной березы во флоэме в период активного формирования ранней тонкостенной древесины (15.06.2016) составил 0.04 усл. ед., повысился к началу июля в 3 раза и оставался на этом уровне до конца июля. В тканях ксилемы *B. pendula* var. *pendula* ген *CLE41* практически не экспрессировался. Эти данные согласуются с представлением о том, что для поддержания правильно ориентированных клеточных делений необходима локализованная экспрессия *CLE41* во флоэме [Etchells, Turner, 2010].

Количество транскриптов мРНК гена *PXY*, кодирующего рецептор для CLE-41, в тканях со стороны флоэмы в период активного формирования ранней тонкостенной древесины (15.06.2016) составило 0.04 усл. ед. и повышалось к 07.07.2016 г. в 2 раза. В тканях со стороны ксилемы уровень экспрессии генов *PXY* был в 2 раза выше, по сравнению с флоэмой. *PXY*-рецепторная киназа синтезируется в ксилемных производных камбия [Etchells, Turner, 2010]. Поскольку в период камбиального роста при снятии коры с древесины разрыв тканей происходит по активно делящейся зоне, то ксилемные инициалы оказываются как со стороны флоэмы, так и со стороны ксилемы, что и объясняет обнаружение нами в них транскрипты мРНК гена *PXY*.

У карельской березы мы обнаружили ряд существенных отличий. Во-первых, во флоэме был в 3 раза выше уровень экспрессии гена *CLE-41*. В камбиальной зоне, как со стороны флоэмы, так и со стороны ксилемы, в 4-10 раз было выше количество транскрипта мРНК гена *PXY*, кодирующего рецептор для лиганда CLE-41. У карельской березы в местах формирования аномальной древесины, на фоне большей экспрессии генов *CLE41* и *PXY* шире проводящая флоэма и камбиальная зона, и меньше размер зон формирования ксилемы, по сравнению с нормальной древесиной обычной березы. Полученные нами данные согласуются с известными функциями лиганд-рецепторной системы CLE41/PXY, а именно, подавление развития ксилемы, а также

регулирование числа и ориентации делений клеток в сосудистых меристемах [Додуева и др., 2012, 2014; Ito et al., 2006; Fisher, Turner, 2007; Hirakawa et al., 2008; Whitford et al., 2008; Du, Groover, 2010; Etchells, Turner, 2010; Etchells et al., 2012, 2013, 2015; Gancheva et al., 2016; Nieminen et al., 2015; Ye, Zhong, 2015].

Если в ксилеме *B. pendula* var. *pendula* ген *CLE41* практически не экспрессировался, то в ксилеме узорчатых растений уже обнаруживаются транскрипты мРНК гена *CLE41*. Это еще одна особенность карельской березы. От локализации пептида *CLE41* зависит ориентация деления клеток. Для нормального развития сосудов ксилемы требуется градиент концентрации пептида *CLE41*, экспрессия его гена должна быть ограничена флоэмой и прилегающими к ней клетками камбия. В линиях *35S::CLE41* (повсеместная экспрессия *CLE41*) и *IRX3::CLE41* (экспрессия *CLE41* в ксилеме) присутствуют сосуды ксилемы с резко отличающимися ориентациями: клетки, имеющие нормальную ориентацию, расположены рядом с клетками в перпендикулярной ориентации [Fisher, Turner, 2007; Etchells, Turner, 2010]. Исходя из вышесказанного, мы выдвинули предположение, что обнаруженная нами эктопическая экспрессия гена *CLE41* в ксилеме узорчатых растений карельской березы может быть причиной нарушения ориентации деления камбиальных производных.

Представленные результаты, вместе с данными других исследователей [Ito et al., 2006; Hirakawa et al., 2008; Whitford et al., 2008; Etchells, Turner, 2010; Ye, Zhong, 2015; Etchells et al., 2015; Nieminen et al., 2015], показывают, что передача сигналов через PXY/CLE регулирует деление клеток в камбиальном регионе. Увеличение уровня экспрессии генов *CLE41* во флоэме и *PXY* в камбиальном регионе способствует увеличению числа делений в периклиальном направлении, и только изменение положения экспрессии *CLE41* приводит к нарушению плоскости деления стволовых клеток.

В связи с этим представляет интерес рассмотрение экспрессии генов, кодирующих пептид *CLE-41* и его рецептор *PXY*, у 11-летних растений обычной березы и карельской березы с разной степенью аномальности вторичных проводящих тканей (узорчатая и безузорчатая части ствола). У обычной березы уровень экспрессии гена *CLE41* во флоэме был в 15 раз, а уровень экспрессии гена *PXY* в камбиальной зоне в 7.8 раз ниже по сравнению с узорчатой частью карельской березы. Если в ксилеме обычной березы ген *CLE41* практически не экспрессировался, то в ксилеме узорчатой части растений карельской березы обнаруживаются транскрипты мРНК гена *CLE41* (рисунок). То есть, распределение экспрессии генов *CLE41* и *PXY* в камбиальной зоне у 11-летних растений было схоже с таковым у 46-летних растений. Неожиданный результат был получен для безузорчатой части ствола узорчатых растений карельской березы. Если уровень экспрессии генов *CLE41* во флоэме занимал промежуточное положение между обычной березой и узорчатой частью ствола карельской березы, то в ксилеме его значение было в 5 раз выше, по сравнению с узорчатым участком. При этом количество транскриптов мРНК гена *PXY* в камбиальном регионе было в 1.2. и 9 раз ниже, по сравнению с обычной березой и узорчатой частью карельской березы (рисунок).

Таким образом, формирование нормальной по строению древесины, в составе которой преобладают сосуды и волокна, у обычной березы происходит на фоне экспрессии во флоэме гена *CLE41* и в камбиальной зоне гена *PXY*. Формирование аномальной узорчатой древесины, для которой характерны крупные включения клеток паренхимы и нарушение ориентации проводящих элементов, происходит на фоне (1) существенного увеличения уровня экспрессии гена *CLE41* во флоэме и гена *PXY* в камбиальной зоне, и (2) эктопической экспрессией *CLE41* в ксилеме. В безузорчатых участках ствола узорчатых растений карельской березы, где формирование нормальной

по строению древесины происходит на фоне высокого содержания сахаров в тканях, функционирование камбиальных производных происходит на фоне (1) повышенной, по сравнению с обычной березой, но не так существенно, как в узорчатых участках, экспрессией *CLE41* во флоэме; (2) значительно увеличенной эктопической экспрессией *CLE41* в ксилеме и (3) пониженной экспрессией *PXY* в камбиальной зоне (рисунок).

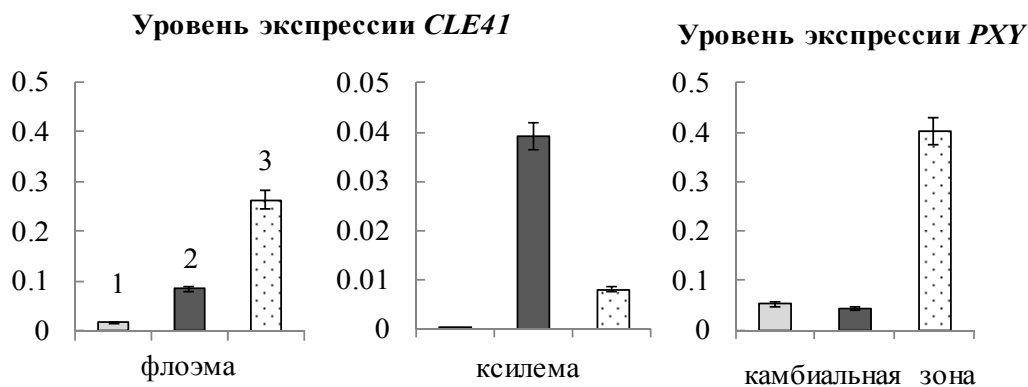


Рисунок. Относительный уровень экспрессии (отн.ед.) генов *CLE41*, *PXY* в тканях ствола 11-ти летних растений обычной березы (1), безузорчатой (2) и узорчатой (3) частях ствола карельской березы. Представлены средние значения и их стандартные ошибки.

Получено, что уже на начальных этапах онтогенеза, когда еще отсутствуют видимые признаки аномального строения, сеянцы двух форм березы повислой отличаются между собой по уровню экспрессия генов, кодирующих систему TDIF-TDR. Было выявлено, что если у 2-недельных сеянцев экспрессия генов *CLE41*, *PXY* была выше у растений обычной березы, то уже у 5-недельных растений картина кардинально меняется: количество транскриптов мРНК генов *CLE41*, *PXY* существенно выше у растений карельской березы, остается таким до 10-недельного возраста и сохраняется у взрослых растений.

Механизмы, объясняющие нарушение работы CLAVATA-подобной системы TDIF-TDR, остаются до сих пор не изученными. Эксперименты по созданию зон избыточного содержания сахарозы в стволе обычной березы (эксперименты по двойному кольцеванию ствола, наши неопубликованные данные) показали, что эндогенное повышение сахаров не только приводит к увеличению уровня экспрессии генов, кодирующих пептид CLE-41 и его рецептор PXY, способствуя возрастанию числа делений в камбиальной зоне, но также изменяет положение экспрессии *CLE41*. Можно предположить, что наличие избытка сахаров в камбиальной зоне изменяет пути развития камбиальных производных.

Дальнейшее исследование функционального состояния камбиальной зоны, ее субстратной обеспеченности в период активного камбиального роста и уровня экспрессии генов, контролирующих процессы дифференцировки камбиальных производных, позволит дать дополнительную информацию о механизмах аномального ксилогенеза у древесных растений.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (Институт леса КарНЦ РАН) и при финансовой поддержке РФФИ (проекты № 16-04-01191 и 16-04-100639_p_a).

Литература

Додуева И.Е., Ганчева М.С., Осипова М.А., Творогова В.Е., Лутова Л.А. Латеральные меристемы высших растений: фитогормональный и генетический контроль // Физиология растений. – 2014. – Т. 61, № 5. – С. 611–631.

Додуева И.Е., Юрлова Е.В., Осипова М.А., Лутова Л.А. CLE-пептиды – универсальные регуляторы развития меристем // Физиология растений. – 2012. – Т. 59. – С. 17–31.

Du J., Groover A. Transcriptional regulation of secondary growth and wood formation // JIPB. – 2010. – V. 52. – P. 17–27.

Etchells J.P., Mishra L.S., Kumar M., Campbell L., Turner S.R. Wood formation in trees is increased by manipulating PXY-regulated cell division // Current Biology. – 2015. – V. 25. – P. 1050–1055.

Etchells J.P., Provost C.M., Mishra L., Turner S.R. *WOX4* and *WOX14* act downstream of the PXY receptor kinase to regulate plant vascular proliferation independently of any role in vascular organization // Development. – 2013. – V. 140. – P. 2224–2234.

Etchells J.P., Provost C.M., Turner S.R. Plant vascular cell division is maintained by an interaction between PXY and ethylene signaling // PLoS Genet. – 2012. – V. 8. e1002997.

Etchells J.P., Turner S.R. The PXY-CLE41 receptor ligand pair defines a multifunctional pathway that controls the rate and orientation of vascular cell division // Development. – 2010. – V. 137. – P. 767–774.

Fisher K., Turner S. PXY, a receptor-like kinase essential for maintaining polarity during plant vascular-tissue development // Curr. Biol. – 2007. – Vol. 17. – P. 1061–1066.

Gancheva M.S., Dodueva M.A., Lebedeva M.A., Tvorogova V.E., Tkachenko A.A., Lytova L.A. Identification, expression, and functional analysis of CLE genes in radish (*Raphanus sativus* L.) storage root // BMC Plant biology. – 2016. – V. 16. – P. 23–33

Hirakawa Y., Shinohara H., Kondo Y., Inoue A., Nakanomyo I., Ogawa M., Sawa S., Ohashi-Ito K., Matsubayashi Y., Fukuda H. Non-cell-autonomous control of vascular stem cell fate by a CLE peptide/receptor system // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2008. – V. 105. – P. 15208–15213.

Ito Y., Nakanomyo I., Motose H., Iwamoto K., Sawa S., Dohmae N., Fukuda H. Dodeca-CLE peptides as suppressors of plant stem cell differentiation // Science. – 2006. – V. 313. – P. 842–845.

Nieminen K., Blomster T., Helariutta Y. and Mähönen A.P. Vascular cambium development // The Arabidopsis Book. – 2015. – Vol. 13. e0177.

Whitford R., Fernandez A., De Groot R., Ortega E., Hilson P. Plant CLE peptides from two distinct functional classes synergistically induce division of vascular cells // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2008. – V. 105. – P. 18625–18630.

Ye Z.H., Zhong R. Molecular control of wood formation in trees // J. Exp. Bot. – 2015. – V. 66. – P. 4119–4131.

KEY REGULATORS OF CAMBIUM STEM CELLS DEVELOPMENT IN WOODY PLANTS

N.A. Galibina, L.L. Novitskaya, Ya.L. Moschenskaya, K.M. Nikerova, M.N. Podgornaya, I.N. Sofronova

Forest Research Institute of Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russia, galibina@krc.karelia.ru

Abstract. Different xylogenesis scenarios in silver birch and Karelian birch differ in the level of genes expression encoding TDIF-peptide and its TDR receptor, which play a central role in cambial activity. The figured wood formation in Karelian birch, characterized by parenchyma cell inclusions and disturbance of the conducting elements orientation, occurs against the background of an increase in the expression level of the *CLE41* gene in phloem and the *PXY* gene in the cambial zone and ectopic expression of *CLE41* in xylem.

Keywords: Karelian birch, abnormal xylogenesis, TDIF/CLE-41-TDR/PXY

ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ФЕРМЕНТОВ МАЛАТДЕГИДРОГЕНАЗНОЙ СИСТЕМЫ В МЕЗОФИЛЛЕ ЛИСТЬЕВ КУКУРУЗЫ В СТРЕССОВЫХ УСЛОВИЯХ

М.О. Гатауллина, Н.В. Селиванова, А.Т. Епринцев

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет», Воронеж, Россия, *marina.gataullina@gmail.com*

Аннотация. Было исследовано влияние стресса на малатдегидрогеназную систему в мезофилле листьев кукурузы. Растения подвергались воздействию холода, тепла и соли в течение 24 часов. Были построены графики динамики активности NAD-MDH, NADP-MDG, NAD-ME и NADP-ME. Различные ферменты малатдегидрогеназной системы реагируют по-разному и могут участвовать в нивелировании стресса. Результаты исследования показывают индукцию цикла трикарбоновой кислоты и интенсификацию цикла Хатч-Слейк в стрессовых условиях. На основе полученных данных обсуждается роль ферментной системы малатдегидрогеназы в механизмах адаптивной реакции листьев кукурузы к засолению и экстремальным температурам.

Ключевые слова: малатдегидрогеназа, малик-энзим, солевой стресс, температурный стресс, мезофилл

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-211-215

Хозяйственная деятельность человека постепенно меняет природные экосистемы. Нерациональная индустриализация вызывает засуху, засоление, повышение радиоактивного фона. Так, культивируемые растения оказываются в неблагоприятных условиях, к которым вынуждены адаптироваться. Абиотические стрессы вызывают окислительный стресс на клеточном уровне, что требует от растений высокой степени координации и баланса между сигнальными и метаболическими путями в разных клеточных компартментах.

В зеленых листьях важным аспектом является сопряжение хлоропластов, цитозоля и митохондрий при стрессе для модуляции клеточного редокс-гомеостаза [Wang et al., 2016].

Двойной путь утилизации малата с помощью малатдегидрогеназ и малик-энзимов позволяет организму уменьшить зависимость от гликолиза при катаболизме и синтезе углеводов. Растительная малатдегидрогеназная система представляет собой динамическое равновесие белков, способное четко реагировать на физиологическое состояние и потребности организма, а также на изменение окружающей среды [Пинейру де Карвалью и др., 1991]. Малатдегидрогеназный комплекс представлен четырьмя типами ферментов, два из которых катализируют обратимое превращение оксалоацетата в малате с помощью НАД/Н или НАДФ/Н в качестве окислителя/восстановителя, соответственно (НАД-МДГ, КФ 1.1.1.37 и НАДФ-МДГ, КФ 1.1.1.82) [Scheibe, 2004]. Два других энзима участвуют в окислительном декарбоксилировании малата, запасая энергию в форме НАДН или НАДФ (НАД-малик-энзим, КФ 1.1.1.39 и НАДФ-малик-энзим, КФ 1.1.1.40) [Chang & Tong, 2003]. Благодаря работе данной ферментной системы осуществляется координация и сопряжение отдельных метаболических процессов в клетке.

В связи с этим целью данной работы явилось изучение роли отдельных компонентов малатдегидрогеназной системы мезофилла кукурузы в формировании адаптивной реакции клетки к условиям абиотических стрессов.

Объектом исследования служили 10-дневные проростки кукурузы сорта Воронежская-76, выращенные гидропонным методом. Для формирования солевого стресса применяли 150 мМ раствор NaCl, ионы которого обладают низкой физиологической активностью в растительной клетке. Для изучения температурного стресса растения выдерживали при 4 °С и 37 °С. Экспозиция эксперимента составляла 24 ч. Контролем служили растения, экспонируемые в воде в нормальных условиях. Разделение мезофилла и обкладки проводили по методу [Епринцев и др., 2016]. Активность малатдегидрогеназ измеряли спектрофотометрически при 340 нм по изменению оптической плотности, обусловленному утилизацией или накоплением НАДН/НАДФН.

Солевой стресс является одним из самых распространенных явлений для сельскохозяйственных растений и интенсивно изучается. Токсичные уровни натрия в органах растений повреждают биологические мембраны и субклеточные органеллы, снижая рост и вызывая аномальное развитие растений.

Анализ данных по динамике активности ферментов МДГ-комплекса в мезофилле зеленых листьев кукурузы при засолении, представленных на рис. 1, показывает, что под действием хлорида натрия в мезофилле кукурузы происходит активация НАД-зависимой МДГ в первые 3 ч действия стрессора. В дальнейшем активность фермента в опытных растениях заметно падает, не достигая контрольных значений. Засоление также приводит к увеличению ферментативной активности НАД-зависимого малик-энзима через 3 ч экспозиции, хотя и в меньшей степени (по сравнению с НАД-МДГ). Однако через сутки после начала опыта данный показатель становится ниже в 2,8 раза, чем в контроле.

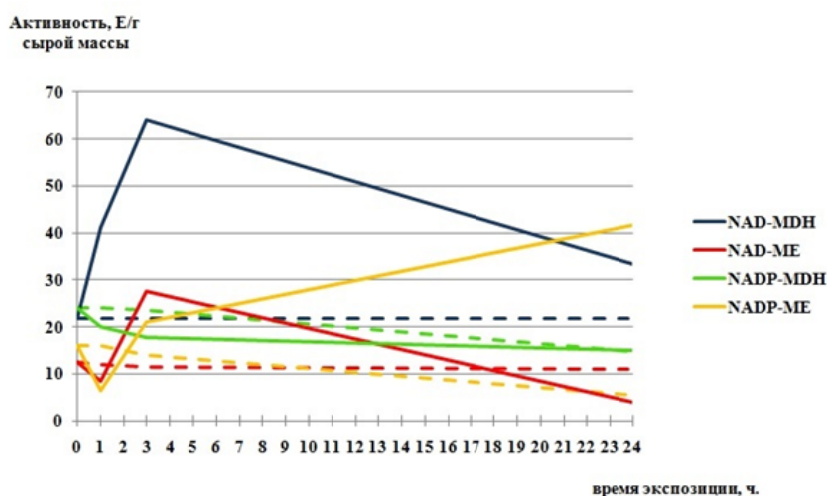


Рис. 1. Динамика активности ферментов малатдегидрогеназной системы в условиях солевого стресса (сплошной линией отмечены опытные образцы, пунктиром – контрольные измерения).

Что касается функционирования НАДФ-зависимой МДГ, то под влиянием высоких концентраций соли наблюдается снижение значений ее активности относительно контроля на протяжении всего времени экспозиции. Интересно, что скорость функционирования НАДФ-малик-энзима постепенно увеличивалась (небольшое снижение наблюдалось в течение первого часа инкубации). Наибольшая разница между опытными и контрольными значениями была зафиксирована через 24 ч экспозиции и достигала 7,8 раза.

Анализируя полученные данные, можно заключить, что хлорид натрия вызывает интенсификацию основных метаболических процессов в клетках мезофилла листьев кукурузы в первые часы действия стрессора. Активация НАД-зависимой МДГ

свидетельствует об индукции ЦТК в стрессовых условиях, что соответствует известному эффекту «солевого дыхания» [Головкин, 1999]. Наблюдаемая в мезофилле значительная интенсификация засолением НАДФ-зависимого малик-энзима может быть связана с накоплением в стрессовых условиях пирувата, обеспечивающего клетку энергией и являющегося предшественником важнейшего осморегулятора клеток – аланина [Yamamoto et al., 2015].

Адаптация растений к низким температурам является сложным, интегральным процессом, протекающим на всех уровнях структурной организации организма и затрагивающим практически все функции растения. На сегодняшний день механизмы приспособленности теплолюбивых растений к низким температурам изучены недостаточно полно. Поэтому детальное изучение регуляции физиологических процессов на ферментативном уровне имеет важное значение для выяснения механизмов адаптации теплолюбивых растений к низким температурам.

Анализ активности отдельных компонентов малатдегидрогеназной системы в условиях холодного стресса показал, что в первые часы экспозиции данный фактор негативно влияет на исследуемые ферменты, снижая скорость их функционирования относительно контроля (рис. 2). Исключение составляет НАД-зависимая малатдегидрогеназа, скорость работы которой в первый час пребывания растений на холоду повышается в 2,5 раза, однако длительная инкубация листьев кукурузы при низких значениях температур (24 ч) приводит к постепенному уменьшению активности НАД-МДГ ниже контрольных значений.

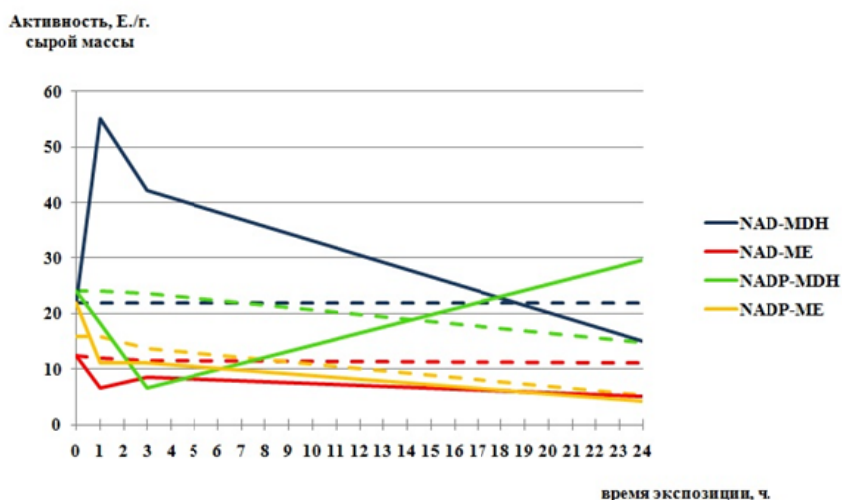


Рис. 2. Динамика активности ферментов малатдегидрогеназной системы в условиях холодного стресса (экспозиция при +4 °С) (сплошной линией отмечены опытные образцы, пунктиром – контрольные измерения).

Противоположным холодному является высокотемпературный стресс. Он является серьезной проблемой для сельского хозяйства, так как характерен более чем для 23% суши и негативно влияет на урожай культурных растений, как самой неприспособленной группы [Кошкин, 2010].

В целом, высокие температуры негативно влияют на НАД-зависимые ферменты. Их активность характеризуется кратковременным увеличением (1 ч экспозиции) и уменьшением исследуемого показателя в дальнейшем. Особенно ярко это проявляется у НАД-зависимой малатдегидрогеназы. Скорость ее функционирования через сутки после начала опыта снизилась в 4,2 раза относительно контроля. Аналогичные результаты были получены и для НАДФ-МДГ. Известно, что толерантность к высоким температурам подлжит закону дозы – действия, т. е. длительно действующая более

низкая жара вызывает такой же вред, как короткодействующая большая жара, что подтверждается снижением активности исследуемых ферментов спустя 24 ч эксперимента (рис. 3).

Следует отметить, что активность НАДФ-зависимого малик-энзима в условиях гипертермии в мезофилле кукурузы практически не менялась.

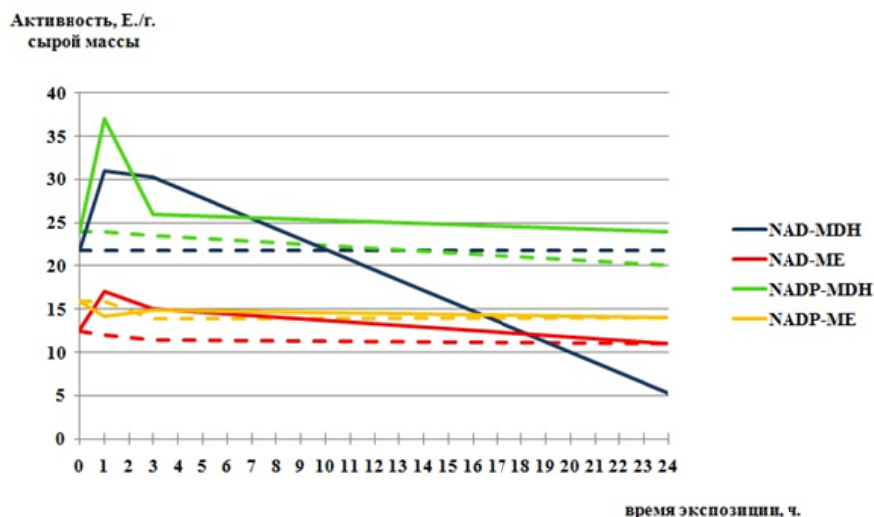


Рис. 3. Динамика активности ферментов малатдегидрогеназной системы в условиях теплового стресса (экспозиция при +37 °С) (сплошной линией отмечены опытные бразцы, пунктиром – контрольные измерения).

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют об индукции цикла трикарбоновых кислот и интенсификации цикла Хэтча-Слейка в стрессовых условиях. На основании полученных данных обсуждается роль малатдегидрогеназной ферментной системы в механизмах адаптивной реакции мезофилла листьев кукурузы к засолению и экстремальным температурам.

Литература

Головко Т. К. Дыхание растений (физиологические аспекты). – Санкт-Петербург: Наука: 1999. – 204 с.

Епринцев А. Т., Гатауллина М. О., Лященко М. С. Получение гомогенных препаратов изоформ НАД⁺-зависимой малатдегидрогеназы из мезофилла листьев кукурузы и изучение их физико-химических и каталитических свойств // Прикладная биохимия и микробиология. – 2016. – Т. 52, №. 4. – С. 365–369.

Кошкин Е. Физиология устойчивости сельскохозяйственных культур. – Москва: Дрофа, 2010. – 640 с.

Пинейру де Карвалью М.А.А., Землянухин А.Т. Малатдегидрогеназа высших растений. — Воронеж: Изд-во Воронеж. ун-та, 1991. — 216 с

Chang G. G., Tong L. Structure and function of malic enzymes, a new class of oxidative decarboxylases // Biochemistry. – 2003. – V. 42, No. 44. – P. 12721–12733.

Scheibe R. Malate valves to balance cellular energy supply // Physiologia Plantarum. – 2004. – V. 120, No. 1. – P. 21–26.

Wang Q. J. et al. The enhancement of tolerance to salt and cold stresses by modifying the redox state and salicylic acid content via the cytosolic malate dehydrogenase gene in transgenic apple plants // Plant biotechnology journal. – 2016. – V. 14, No. 10. – P. 1986–1997.

Yamamoto N. et al. Comprehensive analysis of transcriptome response to salinity stress in the halophytic turf grass *Sporobolus virginicus* // Frontiers in plant science. – 2015. – V. 6. – P. 241.

PECULIARITIES OF FUNCTIONING OF ENZYME OF MALATEHYDROGENASE SYSTEM IN MEZOPHILLE OF CORN LEAVES IN STRESS CONDITIONS

M.O. Gataullina, N.V. Selivanova, A.T. Eprinsev

Voronezh State University, Voronezh, Russia, *marina.gataullina@gmail.com*

Abstract. This has been investigated the effect of stress on the maize dehydrogenase mesophyll system of maize leaves. The plants were exposed to cold, heat and salt stress for 24 hours. Graphs of activity dynamics of NAD-MDH, NADP-MDG, NAD-ME and NADP-ME were constructed. Different enzymes of the malate dehydrogenase system react differently to stresses and can participate in the stress leveling. The results of the study indicate the induction of the tricarboxylic acid cycle and the intensification of the Hatch-Slake cycle under stressful conditions. Based on the data obtained, the role of the malate dehydrogenase enzyme system in the mechanisms of the adaptive mesophyll reaction of maize leaves to salinity and extreme temperatures is discussed.

Keywords: *malate dehydrogenase, malic enzyme, salt stress, temperature stress, mesophyll*

ФТАЛАТЫ РАСТЕНИЙ И ИХ УЧАСТИЕ В ЗАЩИТНОМ ОТВЕТЕ ПРОТИВ ФИТОПАТОГЕНОВ

Д.Э. Гвильдис, Ю.В. Омеличкина, С.В. Бояркина, Л.А. Максимова, А.А. Семёнов, А.Г. Еникеев, Т.Н. Шафикова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия, *t-shafikova@yandex.ru*

Аннотация. Обнаружены эндогенные фталаты у растений *in situ* и *in vitro*. В модельных экспериментах выявлено подавление фталатами формирования биопленок бактериального фитопатогена *Clavibacter michiganensis ssp. sepedonicus* и *Pectobacterium carotovorum ssp. carotovorum* на фоне стимуляции роста патогенов при концентрации дибутилфталата в среде в диапазоне 10-30 мкг/л. Предполагается, что фталаты имеют функциональное значение и прежде всего участвуют в защитных реакциях растений на воздействие фитопатогенов.

Ключевые слова: эндогенные фталаты; растения; фитопатогены; защитные реакции, биопленки

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-216-220

Фталаты (сложные эфиры *o*-фталевой кислоты) наиболее известны как продукты химической промышленности, и долгое время считались исключительно ксенобиотиками и поллютантами. Однако к настоящему моменту появилось немало сведений о присутствии биогенных фталатов в организмах различных таксономических групп. Эти соединения обнаружены в красных [Chih, 2004] и пресноводных водорослях, цианобактериях [Babu, 2010], в грибах [Lotfy, 2011], а также в растениях различных семейств. Примечательно, что в растениях содержание фталатов имеет качественные и количественные различия, в зависимости от их локализации в различных органах растения [Shafaghat, 2012]. К настоящему времени получены прямые доказательства биосинтеза фталатов из меченых предшественников [Babu, 2010]. В проведенных нами исследованиях, фталаты были обнаружены в растениях, взятых из естественной среды обитания, а также в закрытых экспериментальных системах с контролируемыми условиями роста - в растениях и культурах клеток, выращиваемых *in vitro* (Табл. 1) [Семенов, 2016]. Следует отметить, что растения *in situ* были разных таксономических групп, разных экологических специализаций и произрастали в разных регионах России. Анализ образцов на содержание дибутилфталата (ДФБ) и ди-2-этилгексилфталата (ДЭГФ) проводили методом газожидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором с использованием хромато-масс-спектрометра 7000QQQ/7890A Agilent Technologies, (USA).

Таблица 1.

Количественное содержание ортофталатов в культивируемых клетках *A. baicalense*, мг/г сухого вещества. $M \pm m$, $n = 3$.

Сроки сбора биомассы	<i>бис</i> -2R(-)этилгексилфталат	Дибутилфталат
Апрель	0,17± 0,01	0,18± 0,01
Июнь	1,39± 0,08	0,03± 0,00
Сентябрь	1,44± 0,05	0,01± 0,00
Ноябрь	0,21± 0,01	0,02± 0,00

В ряде работ выявлена антимикробная активность фталатов на грамположительные и грамотрицательные патогены человека [Philip, 2011], обнаружены их цитотоксические свойства [Rajamanikyam, 2017]. Кроме того, была

установлена способность клеток в условиях стресса экскретировать фталаты во внеклеточную среду, что также может иметь биологическое значение при взаимодействии различных организмов [Babu, 2010]. Совсем недавно у бактерии *Streptomyces* штамма КХ852460 был выделен и идентифицирован эндогенный ДБФ, обладающий фунгицидной активностью в отношении возбудителя пятнистости листьев табака *Rhizoctonia solani* [Ahsan, 2017]. Вместе с тем, появились экспериментальные данные об участии фталатов в подавлении роста симбионтов растений *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* [Макарова, 2012]. Эти факты дают основание предполагать использование растениями этих веществ в качестве защитных соединений.

Одной из стратегий преодоления механизмов защиты растения и начальным этапом его колонизации бактериями является образование биопленок – сложных структурированных сообществ микроорганизмов, погруженных в полисахаридный матрикс. Известно, что образование биопленок определяет проявление вирулентности фитопатогенов, повышая их устойчивость к факторам резистентности растений, а также блокируя ксилемный ток [Koczan, 2011]. Надо отметить, что ранее влияние фталатов на фитопатогенные бактерии практически не изучалось.

Для определения действия фталатов на рост бактериальных культур и способность к биопленкообразованию в 50 мл бактериальной суспензии (*Cms* – титр $0,5 \times 10^7$ КОЕ, *Pcc* – титр 1×10^8 КОЕ) вносили предварительно растворенные в этаноле ДБФ (Реахим, Россия) и ди-(2-этилгексил)-*o*-фталат (ДЭГФ) (Sigma-Aldrich, США) в

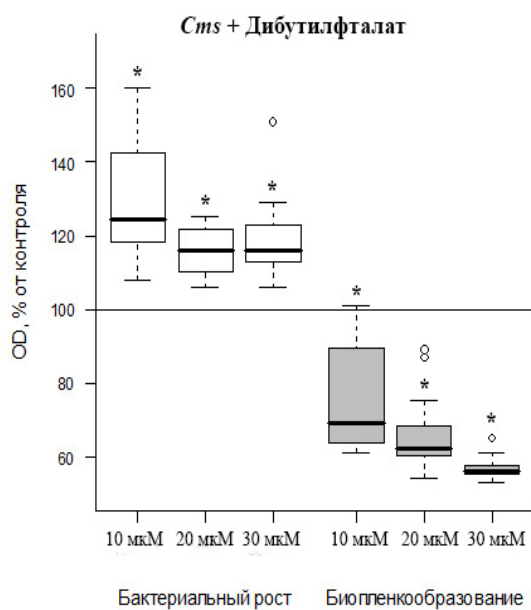


Рис. 1. Действие различных концентраций ДБФ на бактериальный рост и биопленкообразование *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus*, процент от контроля; * – достоверное отличие от контроля.

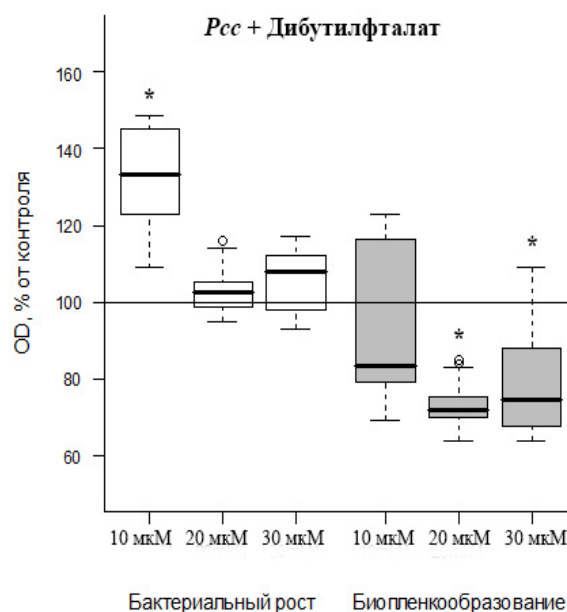


Рис. 2. Действие различных концентраций ДБФ на бактериальный рост и биопленкообразование *Pectobacterium carotovorum* ssp. *carotovorum*, процент от – контроля ; * – достоверное отличие от контроля.

концентрациях 10 мкМ, 20 мкМ и 30 мкМ. После 48 часов культивирования бактериальную суспензию переносили в 96-луночные планшеты для статического культивирования и определения биопленкообразования с помощью красителя Генциан Виолет по методу, описанному Merritt J.H. с соавт. [Merritt, 2005]. Для изучения действия фталатов на рост бактериальной культуры через каждые 24 часа в течение 3х

суток определяли оптическую плотность среды при 655 nm на планшетном спектрофотометре iMark Microplate Reader (Bio-Rad Laboratories, США). Эксперименты проводили в трех биологических и трех аналитических повторностях. Проверку достоверности отличий осуществляли с помощью теста HSD Тьюки в среде R.

Согласно полученным данным, добавление ДБФ в среду культивирования бактерий снижало интенсивность биопленкообразования как у биотрофа *Cms* (рис. 1), так и у некротрофа *Pcc* (рис. 2). Важно отметить тот факт, что при этом наблюдалось усиление роста бактериальных культур. Аналогичным был эффект при использовании ДЭГФ. Его действие также приводило к снижению интенсивности биопленкообразования и также стимулировало рост культур изучаемых фитопатогенов, хотя и в различной степени. На основании полученных данных можно полагать, что фталаты принимают участие в защите растений от инфекций, подавляя процесс биопленкообразования бактериальных фитопатогенов – начальный этап колонизации растений.

Между тем, фталаты были обнаружены в клетках фитопатогенных бактерий (табл. 2).

Таблица 2.

Содержание сложных эфиров орто-фталевой кислоты в бактериях, мкг/г сухого веса

Фталаты	Бактерии			
	<i>Cms</i>	<i>Pcc</i>	<i>Rhizobium rhizogenes</i>	<i>Rhizobium radiobacter</i>
ДЭГФ	70-121	80-121	60-90	50-80
ДБФ	7-9	35-45	11-20	8-13

При выращивании *Cms* в чашках Петри на минимальной среде с градиентом ДБФ 0-60 мкг/л наблюдался рост бактерий в направлении увеличения концентрации ДБФ (рис. 3-4), что свидетельствует о наличии физиологической реакции бактерий на присутствие фталатов.

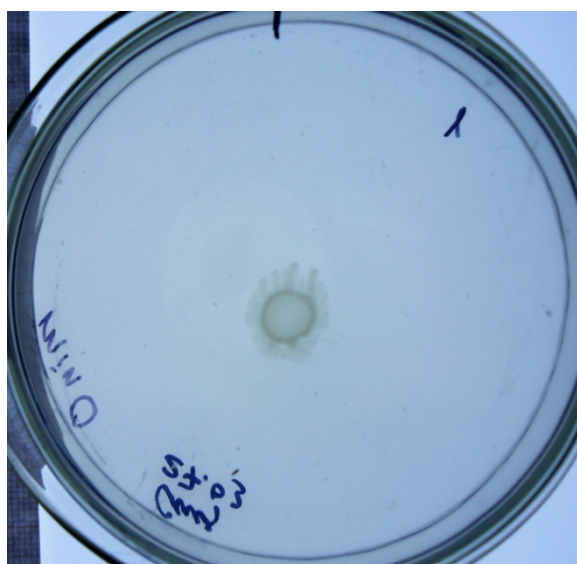


Рис. 3. Рост *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* на минимальной среде без ДБФ.

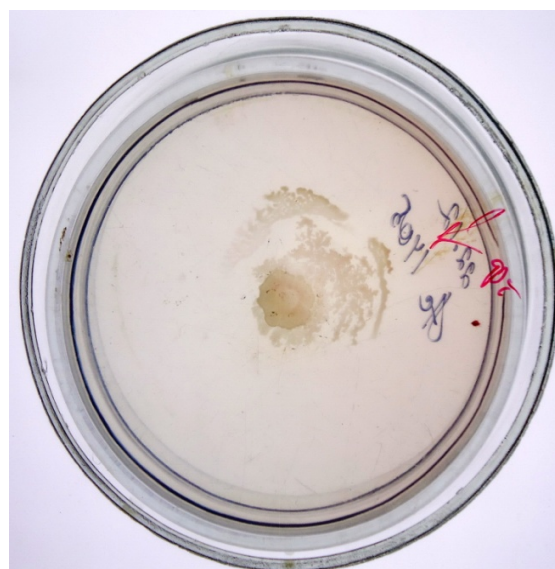


Рис. 4. Рост *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* на минимальной среде с градиентом ДБФ 0-60 мкг/л.

Стимулирование пролиферации в клетках печени крыс [Buckner, 2018] экзогенным ди-*N*-октилфталатом и активация роста *Cms* и *Pss* на среде с ДБФ, возможно, имеют аналогичный механизм возникновения. Весьма неоднозначные результаты говорят о том, что физиолого-биохимическая роль фталатов может оказаться гораздо более сложной, и не ограничиваться только участием в защитном ответе растительных организмов.

Литература

Макарова Л.Е., Смирнов В.И., Клыба Л.В., Петрова И.Г., Дударева Л.В. Роль аллелопатических соединений в регуляции и формировании бобоворизобиального симбиоза // Прикладная биохимия и микробиология. – 2012. – Т. 48, № 3. – С. 394–402.

Семенов А.А., Еникеев А.Г., Снеткова Л.В., Пермяков А.В., Соколова Н.А., Дударева Л.В. Сложные эфиры ортофталевой кислоты из культуры *Aconitum baicalense* Turcz ex Rapais 1907 // Доклады Академии наук. – 2016. – Т. 471, № 3. – С. 366–367.

Ahsan T., Chen J., Zhao X., Irfan M., Wu Y. Extraction and identification of bioactive compounds (eicosane and dibutyl phthalate) produced by *Streptomyces* strain KX852460 for the biological control of *Rhizoctonia solani* AG3 strain KX852461 to control target spot disease in tobacco leaf // AMB Expr. – 2017. – V. 7, № 54. – P. 17–64.

Babu B., Wu J.-T. Production of phthalate esters by nuisance freshwater algae and cyanobacteria // Science of The Total Environment. – 2010. – V. 408, № 21. – P. 4969–4975.

Buckner S.L., Pruitt A.N., Thomas C.N., Amin M.Y., Miller L.L., Wiley F.E., Sabbatini M.E. Di-*N*-octylphthalate acts as a proliferative agent in murine cell hepatocytes by regulating the levels of TGF- β and pro-apoptotic proteins // Food and Chemical Toxicology. – 2018. – V. 111. – P. 166–175.

Chih Yu Chen. Biosynthesis DEHP и DBP from red alga // Water Res. – 2004. – V. 38, № 4. – P. 1014–1018.

Koczan J.M., Lenneman B.R., McGrath M.J., Sundin G.W. Cell surface attachment structures contribute to biofilm formation and xylem colonization by *Erwinia amylovora* // Appl. Environ. Microbiol. – 2011. – V. 77, № 19. – P. 7031–7039.

Lotfy M.M., Hassan H.M., Hetta M.H., El-Gendy A.O., Mohammed R. Phthalate, a major bioactive metabolite with antimicrobial and cytotoxic activity isolated from River Nile derived fungus *Aspergillus awamori* // Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences. – 2018. – in press.

Merritt J.H., Kadouri D.E., O'Toole G.A. Growing and Analyzing Static Biofilms. // Curr. Protoc. Microbiol. – 2005. – Chapter 1: Unit 1B.1.

Philip D., Kaleena P.K., Valivittan K. GC-MS analysis and antibacterial activity of chromatographically separated pure fractions of leaves of *Sansevieria roxburghiana* // Asian J. Pharm. Clin. Res. – 2011. – V. 4, № 4. – P. 130–133.

Rajamanikyam M., Vadlapudi V., Parvathaneni S.P. et al. Isolation and characterization of phthalates from *Brevibacterium mcbrellneri* that cause cytotoxicity and cell cycle arrest.// EXCLI J. – 2017. – V. 16. – P. 375–387.

Shafaghat A., Salimi F., Amani-Hooshyar V. Phytochemical and antimicrobial activities of *Lavandula officinalis* leaves and stems against some pathogenic microorganisms // Journal of Medicinal Plants Research. – 2012. – V 6, № 3. – P. 455–460.

PHTHALATES OF PLANT AND ITS INVOLVMENT IN DEFENCE RESPONSE AGAINST PHYTOPATHOGENS

D.E. Gvildis, Y.V. Omelichkina, S.V. Boyarkina, L.A. Maksimova, A.A. Semenov,
A.G. Enikeev, T.N. Shafikova

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry the Siberian Branch of the
Russian Academy of Science, Irkutsk, Russia, *t-shafikova@yandex.ru*

Abstract. Endogenic phthalates are widely spread among plants *in situ* and *in vitro*. Phthalates are supposed to have complex physiological functions and also take part in plant defence response. It was revealed that phthalates suppress the biofilm formation of phytopathogene *Clavibacter michiganensis ssp. sepedonicus* and *Pectobacterium carotovorum ssp. carotovorum* at 10-30 mkg/L in medium but stimulate the growth of ones in the same conditions.

Key words: *endogenic phthalates, phytopathogens, plant defence reactions, biofilms*

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС У ПРОРОСТКОВ ГОРОХА В ПЕРИОД ВОССТАНОВЛЕНИЯ ПОСЛЕ ДЕЙСТВИЯ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ФАКТОРОВ

И.П. Генерозова, П.А. Буцанец, А.Г. Шугаев

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, igenerozova@mail.ru

Аннотация. Исследовали влияние отдельного и совместного похолодания и обезвоживания на содержание МДА в тканях и дыхательную активность митохондрий эпикотилей этиолированных проростков гороха *Pisum sativum* L. Содержание МДА превышало контрольные значения в условиях засухи, после холода и совместного стресса оно возрастало в период восстановления проростков в контрольных условиях. Снижение V_{alt} на вторые сутки восстановления проростков коррелировало с возрастанием МДА во всех вариантах

Ключевые слова: этиолированные проростки гороха, пониженная температура, обезвоживание, окислительный стресс, дыхательный метаболизм митохондрий

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-221-225

Различные типы абиотических стрессов вызывают ответную защитную реакцию растений на уровне митохондрий (МХ). Этот ответ состоит в поддержании, как их метаболической активности, так и неизменного баланса активных форм кислорода (АФК), которые неизбежно появляются в стрессовых условиях, при этом сами комплексы электрон-транспортной цепи МХ являются источниками АФК [Belt et al., 2017]. Процесс преодоления окислительного стресса часто вызывает активирование альтернативных оксидоредуктаз, таких как альтернативная $СN$ -резистентная оксидаза (АО) и ротенон-нечувствительные $NADH$ -дегидрогеназы. Получено множество данных в пользу предположения, что в условиях стресса одной из главных функций АО и других альтернативных путей разобщенного электронного транспорта становится поддержание транспорта электронов при подавлении стрессовыми условиями цитохромного пути и предотвращение избыточной генерации АФК [Vanlerberghe, 2013].

Закономерности влияния на растения не одного неблагоприятного фактора (НФ), а их комбинации, включающей два, а порой и три фактора, привлекают все большее внимание. Обычно авторы исследуют действие такого сочетания факторов, которое часто встречается в природе и приводит к понижению защитных сил организма, например сочетание жары и засухи [Zandalinas et al., 2018]. Между тем, как показали Rizcky et al. [2006], сочетание НФ является новым стрессовым воздействием, и предположение о том, что при этом может не понижаться, а даже повышаться сопротивляемость организма по сравнению с действием отдельно взятых факторов, кажется вполне оправданным. Примером тому могут служить данные о позитивном влиянии на растения сочетания, например, повышенного содержания CO_2 и озона [Zandalinas et al., 2018]. В настоящей работе исследовали действие пониженной температуры и обезвоживания, предположив, что пониженная температура может снизить неблагоприятное воздействие обезвоживания, в частности, потому, что испарение воды в этом случае понижается. Надо отметить, что данная комбинация НФ часто встречается в природе, например, при нередких похолоданиях весной после малоснежной зимы. Насколько нам известно, действие такой комбинации НФ на растения ранее не изучалось.

Целью настоящей работы было исследование генерации АФК, а именно, перекисного окисления липидов мембран, выявляемое с помощью МДА, в условиях

адаптивного изменения активности путей окисления субстратов МХ после 1-суточного совместного и раздельного действия обезвоживания и пониженной температуры и последующего восстановления проростков в контрольных условиях.

Двухдневные этиолированные проростки гороха *Pisum sativum* L. сорта Флора-2, выращенные при температуре 24 °С, переносили на 1 сутки на сухую фильтровальную бумагу, либо помещали на температуру 15 °С, либо применяли оба воздействия одновременно. Контрольные проростки оставались в стандартных условиях. Через сутки растения всех вариантов помещали в контрольные условия. МХ выделяли из эпикотилей и исследовали по методу, описанному ранее [Генерозова и др., 2009]. Поглощение кислорода измеряли амперометрически на полярографе LP-7 (Чехия). Добавку малата (10 мМ) и сукцината (10 мМ) сопровождали внесением глутамата (10 мМ) для устранения оксалоацетата. Максимальную активность АО (V_{alt}) определяли по чувствительности дыхания МХ к 2 мМ СГК в присутствии 1 мМ цианида. МДА определяли по [Hodges et al., 1999].

Результаты показали, что в условиях воздействий НФ изменялся дыхательный метаболизм МХ – снижалась активность окисления малата и сукцината (данные не приводятся), а также изменялось соотношение активности различных путей транспорта электронов – возрастала активность альтернативного цианид-резистентного пути и снижалась активность цитохромного пути транспорта электронов (рис. 1).

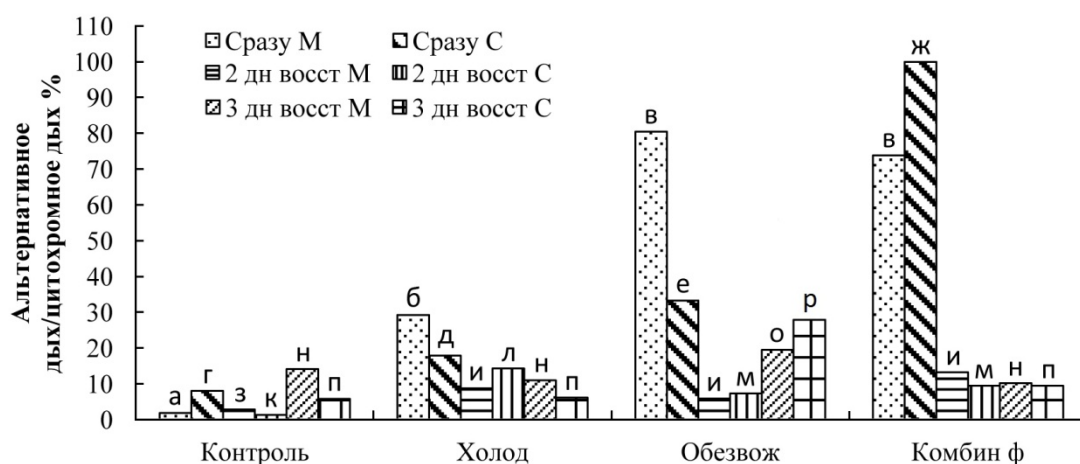


Рис. 1. Соотношение альтернативного/цитохромного путей в контроле и после 1 - суточного воздействия похолодания (Холод), обезвоживания (Обезвож) и совместного действия НФ (Комбин ф) на 2 дневные проростки: сразу после воздействия, (М - малат, С - сукцинат), после 2-х и 3-х дней восстановления в контрольных условиях. Разные буквы в пределах одного субстрата при разных воздействиях означают достоверное различие при $p < 0.05$.

После двухсуточного восстановления проростков в контрольных условиях активность окисления субстратов возросла, но она не достигала контрольных значений. При этом возрастала активность цитохромного пути на фоне снижения активности альтернативного цианид-резистентного пути окисления субстратов (рис. 1). Наиболее значительно возросла скорость окисления сукцината. Целью дальнейших экспериментов было выяснить, когда восстановится окисление малата. Ранее были представлены убедительные доказательства ключевой роли окисления НАД-зависимых субстратов, особенно малата, в процессах роста растений и восстановления метаболизма после действия НФ [Fromm et al., 2016], а также в предотвращении изменений в дыхательной цепи, связанных с процессом старения [Priault et al., 2007].

Мы показали, что после трехсуточного восстановления проростков скорость окисления малата значительно возрастала в варианте «комбинированный фактор», причем одновременно возрастала скорость роста проростков (данные не приводятся). Соотношение V_{alt}/V_{cyt} не изменялось (рис. 1).

Под влиянием неблагоприятных факторов возрастала генерация активных форм кислорода в тканях эпикотилей. Характерной особенностью этого показателя в данных условиях было то, что содержание МДА было выше контрольных значений только сразу после засухи. В условиях похолодания и совместного действия НФ содержание МДА возросло на 2-й день восстановления проростков от стрессовых условий (рис. 2). На 3-й день содержание МДА было повышено только после похолодания. Повышение содержания МДА в период восстановления растений пшеницы после окончания засухи описала Simova-Stoilova et al. [2008], причем, по мнению авторов, снижение антиоксидантной защиты на уровне мембран сочеталось с укреплением антиоксидантной защиты на уровне цитоплазмы. Также в ряде исследований показано, что реоводнение может индуцировать дополнительный окислительный стресс [Mittler, Zilinskas, 1994; Flexas et al., 2006; Wang, Vanlerberghe, 2013]. Авторы пришли к заключению, что многие антиоксиданты перестают работать по окончании стресса. Именно снижение активности компонентов антиоксидантной защиты в этот период является ключевым фактором, способным усложнить процесс восстановления растений после реоводнения.

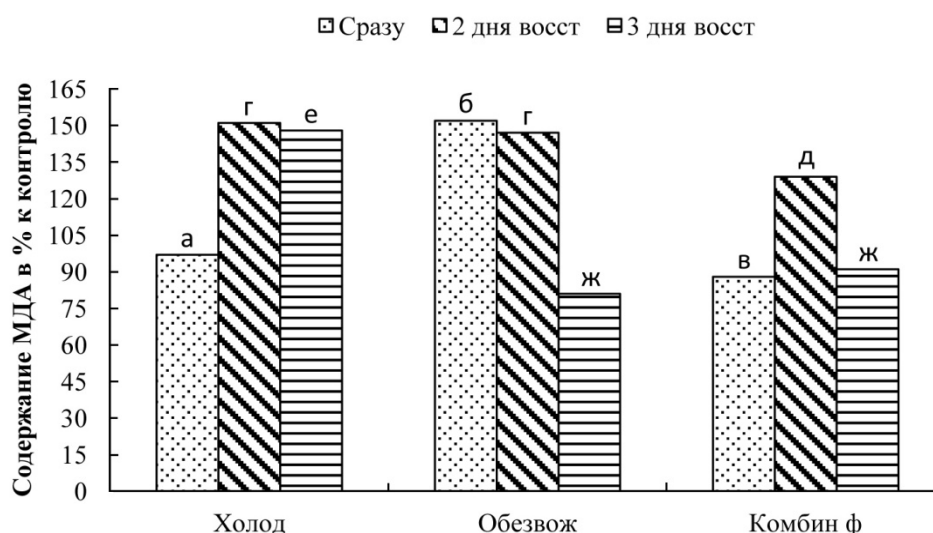


Рис. 2. Содержание МДА (в процентах к контролю) после 1 - суточного воздействия похолодания (Холод), обезвоживания (Обезвож) и совместного действия НФ (Комбин ф) на 2 дневные проростки: сразу после воздействия, после 2-х и 3-х дней восстановления в контрольных условиях. Разные буквы в пределах одного субстрата при разных воздействиях означают достоверное различие при $p < 0.05$.

В нашей работе модуляции в активности альтернативного и цитохромного путей окисления субстратов в период восстановления проростков после стрессовых воздействий в значительной степени отражают, по нашим представлениям, состояние антиоксидантной системы на уровне мембран. Так, снижение мощности V_{alt} на вторые сутки восстановления могло означать снижение антиоксидантной защиты на уровне мембран, что коррелировало с возрастанием уровня МДА в тканях проростков во всех вариантах. В дальнейшем в варианте «комбинированный НФ» содержание МДА по отношению к контролю падало, а скорость окисления субстратов, как и рост проростков, возрастали, что может происходить на фоне повышения антиоксидантной защиты на клеточном уровне (данные не приводятся).

Полученные нами результаты показали, что 1) избыточное образование АФК и увеличение уровня ПОЛ не всегда тормозится с прекращением неблагоприятного воздействия, оно может активизироваться в ходе восстановления проростков и сочетаться со снижением соотношения Valt/Vcyt в дыхательной цепи МХ; 2) совместное влияние на растения двух разных по силе воздействия НФ (засухи и умеренного охлаждения) оказывает менее выраженное повреждающее действие, чем действие одного наиболее сильного повреждающего фактора, т.е. засухи, что наиболее отчетливо проявлялось в период восстановления растений.

Литература

Генерозова И.П., Маевская С.Н., Шугаев А.Г. Ингибирование метаболической активности митохондрий в этиолированных проростках гороха, подвергнутых водному стрессу // Физиология растений, – 2009. – Т. 56. – С. 45–52.

Belt K., Huang S., Thatcher L.F., Casarotto H., Singh K.B., Van Aken O., Millar A.H. Salicylic acid-dependent plant stress signaling via mitochondrial succinate dehydrogenase // Plant Physiol. – 2017. – V. 173. – P. 2029–2040.

Flexas J, Bota J, Galmés J, Medrano H, Ribas-Carbo M. Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: responses of photosynthesis and respiration to water stress // Physiol. Plant. – 2006 – V. 127. – P. 343–352.

Fromm S., Senkler J., Eubel H., Peterhänsel H., Braun H.-P. Life without complex I: proteome analyses of an Arabidopsis mutant lacking the mitochondrial NADH dehydrogenase complex // J. Exp. Bot. – 2016. – V. 67. – P. 3079–3093.

Hodges D.M., DeLong J.M., Forney C.F., Prange R.K. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds // Planta – 1999 – V. 207. – P. 604–611.

Mittler R., Zilinskas B.A. Regulation of pea cytosolic ascorbate peroxidase and other antioxidant enzymes during the progression of drought stress and following recovery from drought // Plant Journal. – 1994. – V. 5, No. 3. – P. 397–405.

Priault P., Vidal G., De Paepe R., Ribas-Carbo M. Leaf age-related changes in respiratory pathways are dependent on complex I activity in *Nicotiana sylvestris* // Physiologia Plantarum. – 2007. – V. 129. – P. 152–162.

Rizhsky L., Liang H., Shuman J, Shulaev V., Davletova S., Mittler R. When defense pathways collide. The response of Arabidopsis to a combination of drought and heat stress // Plant Physiology. – 2004. – V. 134. – P. 1683–1696.

Simova-Stoilova L., Demirevska K., Petrova T., Tsenov N., Feller U. Antioxidative protection in wheat varieties under severe recoverable drought at seedling stage // Plant Soil Environ. – 2008 – V. 54. – P. 529–536.

Vanlerberghe, G.C.: Alternative oxidase: a mitochondrial respiratory pathway to maintain metabolic and signaling homeostasis during abiotic and biotic stress in plants // Int. J. Mol. Sci. – 2013. – V. 14, No. 4. – P. 6805–6847.

Wang J., Vanlerberghe G.C. A lack of mitochondrial alternative oxidase compromises capacity to recover from severe drought stress // Physiologia Plantarum. – 2013. – V. 149. – P. 461–473.

Zandalinas S.I., Mittler R., Balfagyn D., Arbona V., Gymez-Cadenas A. Plant adaptations to the combination of drought and high temperatures // Physiologia Plantarum. – 2018. – V. 162. – P. 2–12.

OXIDATIVE STRESS AT PEAS SEEDLINGS DURING RESTORATION AFTER ADVERSE FACTORS

Generozova I.P., Butsanets P.A., Shugaev A.G.

K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia,
igenerozova@mail.ru

Abstract. The impact of the individual and combined action of dehydration and moderate chilling on the content of tissues MDA and respiratory activity of mitochondria isolated from epicotyls of pea (*Pisum sativum* L.) seedlings was investigated. MDA content exceeded control values in a drought, after cold and a joint stress MDA content increased during restoration of seedlings in control conditions. Decrease in V_{alt} on second day of seedling restoration correlated with increase MDA in all options.

Keywords: *etiolated pea seedlings, moderate chilling, dehydration, oxidative stress, respiratory metabolism of mitochondria*

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ 24-ЭПИБРАССИНОЛИДА НА РАСТЕНИЯ-РЕГЕНЕРАНТЫ КАРТОФЕЛЯ СОРТА ЛУГОВСКОЙ ПРИ АДАПТАЦИИ К УСЛОВИЯМ ГИДРОПОНИКИ

И.Ф. Головацкая¹, М.К. Кадырбаев¹, О.Г. Бендер², И.Н. Плюснин¹, М.В. Ефимова¹

¹Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», Томск, Россия, golovatskaya.irina@mail.ru

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт мониторинга климатических и экологических систем Сибирского отделения Российской академии наук, Томск, Россия, obender65@mail.ru

Аннотация. Показано, что при адаптации растений-регенерантов картофеля к условиям гидропоники снижалась скорость роста побега и листьев, увеличивалось содержание флавоноидов в листьях. Корневая обработка 24-эпибрассинолидом (ЭБЛ) стимулировала рост побега и листьев, образование столонов и клубней. ЭБЛ изменил функциональное состояние листьев, увеличивая в них содержание фотосинтетических пигментов, интенсивность фотосинтеза, транспирации и перекисного окисления липидов на фоне низкого содержания флавоноидов.

Ключевые слова: *Solanum tuberosum*, фотосинтетические пигменты, фотосинтез, перекисное окисление липидов, флавоноиды, 24-эпибрассинолид

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-226-228

Картофель служит незаменимым продуктом питания населения в большинстве стран мира. В связи со сложными фитопатологическими условиями на сельскохозяйственных территориях продуктивность растений картофеля падает. Создание новых сортов – длительный процесс обеспечения высокой урожайности картофеля. Наиболее быстрым способом является использование оздоровленного семенного материала, полученного биотехнологическим методом через культуру апикальных меристем.

Поскольку рост и развитие растений контролируется фитогормонами, то их использование может изменить сроки и величину урожая семян картофеля. Среди важных регуляторов роста выделяют стероидные фитогормоны, которые в ничтожно малых количествах осуществляют существенные морфогенные модификации растительного организма. Использование таких регуляторов является экологически чистым способом хозяйствования. Одним из активных представителей брассиностероидов является 24-эпибрассинолид (ЭБЛ). Показано, что он участвует в регуляции экспрессии генов, мембранного потенциала, баланса цитокининов, стимуляции синтеза белков, роста клеток, фотоморфогенеза и устойчивости растений [Efimova et al., 2017]. Недостаточно изучен физиологический механизм адаптации растений картофеля к условиям гидропоники, не показана роль ЭБЛ в этих процессах.

В связи с этим целью исследования было изучение влияния 24-эпибрассинолида на физиологические параметры растений-регенерантов картофеля сорта Луговской при адаптации к условиям гидропоники.

В качестве объекта исследований взяты растения-регенеранты *Solanum tuberosum* L. среднеспелого сорта Луговской. Растения-регенеранты картофеля получали *in vitro* из оздоровленных через культуру апикальных меристем микроклонов, которые культивировали на агаризованной питательной среде по Мурасиге-Скугу. Затем последовательно проводили 14-дневную адаптацию растений-регенерантов к жидкой питательной среде Прянишникова и обработку их корней водой (контроль) или 0,1 нМ

раствором 24-эпибрассинолида (опыт) в течение 16 ч. Корни отмывали от гормона и растения высаживали на гидропонную установку «Картофельное дерево» (КД-10). Через каждые 7 дней определяли ростовые параметры (длину главного побега, количество ярусов, количество боковых побегов, столонов и клубней). Физиологические параметры (содержание фотосинтетических пигментов и флавоноидов, интенсивность перекисного окисления липидов) измеряли в листьях средних ярусов на 42 сутки культивирования растений в гидропонике. До высадки растений на гидропонную установку определяли скорость ассимиляции углекислоты и транспирации через 4 ч после воздействия экзогенных стероидных гормонов и по истечении 20 ч после отмывания корней дистиллированной водой. Для измерения интенсивности видимого фотосинтеза и транспирации использовали портативный инфракрасный газоанализатор Li-6400 (LI-COR, Inc., Lincoln, Nebraska, USA).

В процессе культивирования растений-регенерантов картофеля в условиях гидропоники наблюдали за динамикой ростовых процессов побега. Обработанные стероидным гормоном растения не только стопроцентно приживались, но и активно росли, увеличивая размеры и массу побега. Корневая обработка 24-эпибрассинолидом привела к активации растяжения побега и увеличению количества ярусов в начальный период культивирования растений. Последующее торможение роста главного побега к 28 суткам было обусловлено активным его ветвлением. Увеличивалось на 36% количество боковых побегов и на 77% – количество столонов. Корневая обработка ЭБЛ поддерживала преимущества в ростовых процессах листьев и побега у 42-дневных растений картофеля. У обработанных гормоном растений отмечено более раннее формирование клубней. Стимулирующие эффекты ЭБЛ на рост и развитие растений-регенерантов сорта Луговской были подобны эффектам, показанным для растений-регенерантов картофеля сорта Жуковский ранний на более поздних этапах гидропонного культивирования [Головацкая и др., 2018a].

Активация ростовых процессов стероидным гормоном могла быть связана с их участием в углеводном обмене. Известно, что они контролируют выгрузку сахара [Xu et al., 2015]. Это может являться решающим этапом в переносе углеводов на большие расстояния к местам интенсивного роста. Отток сахаров также может увеличивать интенсивность фотосинтеза. Показано, что дефицит брассиностероидов нарушает накопление крахмала, активность цикла трикарбоновых кислот, клеточное растяжение и накопление биомассы [Schröder et al., 2014].

Оценка функционального состояния листьев средних 3-х ярусов показала, что ЭБЛ увеличивал суммарное содержание хлорофиллов ($a+b$) у опытных растений относительно контрольных. Одновременно увеличивалась интенсивность поглощения углекислоты и транспирации. При этом повышалась интенсивность перекисного окисления липидов, и снижалось содержание флавоноидов. Такая реакция на действие стероидного гормона могла свидетельствовать о повышении функциональной активности листьев, поскольку известно, что с завершением роста листа содержание флавоноидов в нем увеличивается.

Таким образом, адаптация растений-регенерантов картофеля к условиям гидропоники происходила через изменение функционального состояния листьев. При переходе на новый субстрат в растении увеличивалось содержание флавоноидов, во-первых, как механизм удаления избытка активных форм кислорода, во-вторых, как механизм повышения осмолитов для поддержания водного статуса листьев. Корневая обработка 24-эпибрассинолидом оказала положительное действие на процессы адаптации растений-регенерантов картофеля к условиям гидропоники. Стероидный гормон увеличил приживаемость растений, интенсивность ростовых процессов листьев и их функциональную активность. В листьях увеличивалось

содержание фотосинтетических пигментов, повысилась интенсивность фотосинтеза, транспирации и перекисного окисления липидов на фоне снижения уровня эндогенных флавоноидов. 24-эпибрассинолид активировал столоно- и клубнеобразование у оздоровленных растений картофеля сорта Луговской в условиях гидропоники, что свидетельствовало о повышении семенной продуктивности растений.

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта Российского научного фонда № 16-16-04057.

Литература

Головацкая И.Ф., Бендер О.Г., Ефимова М.В., Бойко Е.В., Малофий М.К., Мурган О.К., Плюснин И.Н. Роль экзогенных стероидных фитогормонов в регуляции функционирования фотосинтетического аппарата растений // Актуальные проблемы картофелеводства: фундаментальные и прикладные аспекты: материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (Россия, Томск, 10–13 апреля 2018 года). – Томск, 2018b. – С. 103–107.

Головацкая И.Ф., Ефимова М.В., Плюснин И.Н., Бойко Е.В., Малофий М.К., Коломейчук Л.В., Видершпан А.Н., Мурган О.К., Медведева Ю.В., Дорофеев В.Ю., Лаптев Н.И., Большакова М.А., Кузнецов Вл.В., Хрипач В.А. Стероидные гормоны регулируют образование клубней у растений-регенерантов картофеля в условиях аквакультуры // Актуальные проблемы картофелеводства: фундаментальные и прикладные аспекты: материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (Россия, Томск, 10–13 апреля 2018 года). – Томск, 2018a. – С. 211–215.

Efimova M.V., Vankova R., Kusnetsov V.V., Litvinovskaya R.P., Zlobin I.E., Dobrev P., Vedenicheva N.P., Savchuk A.L., Karnachuk R.A., Kudryakova N.V., Kuznetsov V.V. Effects of 24-epibrassinolide and green light on plastid gene transcription and cytokinin content of barley leaves // *Steroids*. – 2017. – V. 120. – P. 32–40.

Schröder F., Lisso J., Obata T., Erban A., Maximova E., Giavalisco P., Kopka J., Fernie A.R., Willmitzer L., Müssig C. Consequences of induced brassinosteroid deficiency in *Arabidopsis* leaves // *BMC Plant Biology*. – 2014. – V. 14. – P. 309.

Xu F., Xi Z.-M., Zhang H., Zhang C.-J., Zhang Z.-W. Brassinosteroids are involved in controlling sugar unloading in *Vitis vinifera* «Cabernet Sauvignon» berries during véraison // *Plant Physiology and Biochemistry*. – 2015. – V. 94. – P. 197–208.

PHYSIOLOGICAL MECHANISM OF THE 24-EPIBRASSINOLIDE ACTION ON POTATO PLANT-REGENERANTS OF LOUGOVSKY VARIETY UNDER HYDROPONIC CONDITION

I.F. Golovatskaya¹, M.K. Kadyrbaev¹, O.G. Bender², I.N. Plyusnin¹, M.V. Efimova¹

¹Tomsk State University, Tomsk, Russia, golovatskaya.irina@mail.ru

²Institute of Monitoring of Climatic and Ecological Systems, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia, obender65@mail.ru

Abstract. It was shown that during the adaptation of potato plants to the hydroponics conditions, the growth rate of shoot and leaves decreased, the flavonoids content in leaves increased. Root treatment with 24-epibrassinolide (EBL) stimulated the growth of shoot and leaves, the formation of stolons and tubers. EBL changed the functional state of the leaves. It increased the content of photosynthetic pigments in them, the intensity of photosynthesis, transpiration and lipid peroxidation against a background of low flavonoids content.

Keywords: *Solanum tuberosum*, photosynthetic pigments, photosynthesis, lipid peroxidation, flavonoids, 24-epibrassinolide

ВЛИЯНИЕ СЕЛЕКТИВНОГО СВЕТА НА УСТОЙЧИВОСТЬ *MELILOTUS ALBUS* К СЕЛЕНУ *IN VITRO*

И.Ф. Головацкая, Т.В. Лошкарева, Е.В. Бойко, Н.И. Лаптев

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», Томск, Россия, golovatskaya.irina@mail.ru

Аннотация. Показаны различия морфофизиологических параметров проростков *Melilotus albus*, выращенных *in vitro* на среде МС со 100 мкМ селенитом натрия под белым, синим, красным и зеленым светом. Действие селена вызывало окислительный стресс, величина которого зависела от условий освещения. Совместное действие красного света и селена увеличивало интенсивность перекисного окисления липидов, возможно, в связи с активным накоплением элемента в проростках.

Ключевые слова: *Melilotus albus*, фотосинтетические пигменты, пролин, перекисное окисление липидов, селен

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-229-232

Одним из важных минеральных элементов для жизнедеятельности животных и человека является селен, поскольку его дефицит обуславливает нарушения, прежде всего, деятельности иммунной системы и повышает риск возникновения сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний. Поступление данного элемента в человеческий организм происходит в основном за счет растений, аккумулирующих селен из почвы. Селен имеет значение и для растений, поскольку оказывает стимулирующее действие на рост, устойчивость к факторам окружающей среды, вызывающих окислительный стресс, и патогенам [Блинохватов и др., 2001]. Исторически сложилось так, что большинство растений не накапливают селен, поэтому существует интерес к изучению механизмов влияния селена на развитие и метаболизм растений. Особенно интересны растения-аккумуляторы селена.

Неотъемлемым фактором окружающей среды является свет, интенсивность и качество которого зависят от структуры и плотности фитоценозов. Еще Н.П. Воскресенской [1965], а в последующем и другими авторами [Карначук, Головацкая, 1998] показано, что свет разного спектрального состава регулирует рост и метаболизм растительных организмов. Имеются единичные работы по влиянию селективного света на накопление селена и продуктов первичного и вторичного обмена [Головацкая и др., 2013]. Не выяснены механизмы регуляции светом устойчивости растений к селену.

В связи с этим целью наших исследований было изучение зависимости устойчивости растений *Melilotus albus* к селену от действия света разного спектрального состава в отсутствие его симбионтов.

Объектом данного исследования служило растение-концентратор селена донник белый (*Melilotus albus*), который в природе живет с симбионтом *Sinorhizobium meliloti*. Однако культивирование растений в стерильных условиях предотвращало взаимодействие с симбионтами, поэтому характерное свойство накопление селена, а, следовательно, и устойчивость к нему, вероятно, были снижены.

Стерилизацию семян проводили смесью, содержащей 0.1% H₂O₂ в 96% растворе этилового спирта. В связи с твердой оболочкой семян их дополнительно скарифицировали. Стерильные семена *M. albus* культивировали на жидкой безгормональной 50% питательной среде Мурасиге-Скуга (50% МС) в темноте и на белом, красном (КС), синем (СС) и зеленом (ЗС) свету под люминесцентными лампами фирмы «Philips» (Нидерланды) с интенсивностью светового потока 120 мкмоль

фотонов/м²с. Для изучения устойчивости растений донника к селену проростки выращивали с добавлением селенита натрия («Sigma», США) в концентрации 100 мкМ (опыт) в течение 7-ми суток. Контролем служила среда 50% МС, не содержащая селена. Для обработки растений использовали селенит натрия, что связано с его большей эффективностью встраивания в органические соединения по сравнению с селенатом натрия. Селенит натрия добавляли в питательную среду после ее автоклавирования. В конце эксперимента определяли ростовые показатели, интенсивность перекисного окисления, содержание фотосинтетических пигментов и пролина.

Количественное определение фотосинтетических пигментов хлорофилла *a* (Хла), хлорофилла *b* (Хлб) и каротиноидов основано на их способности поглощать лучи определенной длины волны. Оптическую плотность спиртовых вытяжек из семядолей измеряли при различных длинах волн (720, 664, 648, 470 нм) с помощью спектрофотометра (Genesys 10S UV-Vis Thermo Electron, Германия). Для расчета содержания пигментов в семядолях использовали формулы [Lichtenthaler, 1987] с учетом их сырой массы. Содержание пролина в проростках *M. albus* определяли по реакции с нингидрином в кислой среде с образованием окрашенного продукта и оптической плотности растворов при длине волны 520 нм [Bates et al., 1973]. В качестве теста на интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) использовали уровень малонового диальдегида (МДА), образующегося в клетках при деградации полиненасыщенных жирных кислот с помощью АФК. Для этого использовали метод, основанный на способности МДА реагировать с тиобарбитуровой кислотой, образуя окрашенный комплекс с максимальной оптической плотностью при 532 нм [Heath, Parker, 1968]. Ростовые показатели 7-дневных проростков *M. albus* определяли на фотографиях, сделанных с помощью видеокамеры, в программе Moticom 2300.

В результате, исследования особенностей роста проростков донника белого на свету разного спектрального состава показали, что при одинаковой интенсивности потока фотонов белый свет с широким диапазоном спектра был эффективней в регуляции фотоморфогенеза, чем отдельные участки спектра электромагнитного излучения: формировалась большая площадь поверхности семядоли, и сильнее тормозился рост гипокотилля. По эффективности качества света в стимуляции роста семядоли участки спектра расположили в следующем порядке: белый свет>синий свет>зеленый свет=красный свет, тогда как в ингибировании роста гипокотилля: белый свет=синий свет>зеленый свет=красный свет. Особенности действия белого света, вероятно, связаны с его энергетической ролью, спектральной спецификой фотосинтетических пигментов, а также с активацией большего числа регуляторных фоторецепторов. Тогда как селективный свет активировал только отдельные фотосенсоры. Так, красный свет поглощается преимущественно фитохромами, а синий свет – криптохромами, на белом свету активны те, и другие пигменты. ЗС оказывает неоднозначное действие: частично активизирует фитохром и инактивирует криптохром [Головацкая, Карначук, 2015].

Действие 100 мкМ селена тормозило растяжение структурных элементов проростка донника, что уже свидетельствовало о негативном эффекте этой концентрации элемента. При этом наибольший ингибирующий эффект проявлялся на уровне семядолей, наименьший – на уровне гипокотилей.

Максимальное ингибирование селеном растяжения семядолей проявилось на СС и составило 52%, против такового на ЗС и КС (32 и 37% соответственно), относительно контроля на соответствующем участке спектра. Совместное действие света разного качества и селена оказывало приблизительно одинаковой силы торможение растяжения гипокотилей и составило в среднем 21–27% на СС, ЗС и КС.

Кроме того, наблюдалась спектральная фотоспецифичность в регуляции селеном роста корней. Наибольшее торможение роста корня селеном отмечено на КС, что могло быть связано с активным накоплением элемента в подземном органе на этом участке спектра [Головацкая и др., 2013]. В то время как на СС рост корня в присутствии селена ускорялся на 78%, что, вероятно, и приводило к изменению донорно-акцепторных отношений между органами и к отставанию в росте семядолей.

Ростовые процессы семядоли сопровождались изменением фотосинтетических реакций. На ЗС отмечено наименьшее содержание Хла в семядоле по сравнению с другими участками спектра. Этот эффект был отмечен нами ранее и для других видов растений [Карначук, Головацкая, 1998]. Действие селена двукратно снижало уровень Хла на СС и КС, однако повышало его на ЗС, последнее согласовывалось с увеличением уровня антиоксидантов каротиноидов на средневолновом участке спектра. В то же время снижение содержания каротиноидов на КС, способствовало увеличению уровня Хлв. Последний эффект мог свидетельствовать об увеличении окислительного стресса на длинноволновом участке спектра.

В качестве показателя степени повреждающего действия того или иного стрессора может служить повышенное образование МДА, который является своеобразным маркером развития окислительного стресса. Анализ уровня этого вещества показал существенное увеличение в 1.5–2.5 раза интенсивности ПОЛ в семядолях относительно гипокотилей, что могло свидетельствовать о большей функциональной активности этих органов, например, интенсивности фотосинтетических реакций, производящих определенный уровень АФК. Добавление селена в питательную среду снижало ПОЛ в семядолях, но повышало в гипокотилеях. Наибольшая интенсивность ПОЛ отмечалась в присутствии 100 мкМ селена на КС и минимальное – на СС (2-кратное уменьшение относительно КС). Такая локализация окислительных процессов могла быть связана с неоднородным распределением элемента вдоль проростка, обусловленная буферностью корня и отдельных клеток гипокотилия.

Гетероциклическая аминокислота пролин является широко распространенным метаболитом, обладающим протекторными свойствами. При действии засухи, засоления, тяжелых металлов и УФ-облучения показана её аккумуляция в растениях. Накапливаясь в растении, пролин проявляет осмопротекторные и антиоксидантные свойства. Сравнительный анализ содержания пролина у контрольных и опытных растений служит показателем эффективности защитного ответа. В побеге проростков донника наибольшая аккумуляция пролина отмечена на ЗС, его уровень уменьшался в ряду зеленый свет>красный свет>синий свет. В присутствии селена содержание пролина увеличивалось на 82% на СС, тогда как на ЗС и КС на 60–65% по сравнению с соответствующим световым контролем. Наибольшему увеличению содержания пролина на СС соответствовало снижение интенсивности ПОЛ, однако на ЗС и КС сохранялась высокая интенсивность окислительных процессов.

В соответствии с нашими более ранними данными, низкие концентрации селенита натрия (0,1 и 1 мкМ) выступали как антиоксиданты. Полученные в ходе настоящего исследования данные свидетельствуют о прооксидантной функции высоких концентраций селенита натрия (100 мкМ) в стерильных проростках донника белого.

Таким образом, показаны различия морфофизиологических параметров проростков *Melilotus albus*, выращенных *in vitro* с селенитом натрия под белым, синим, красным и зеленым светом. Действие 100 мкМ селена вызывало окислительный стресс, величина которого зависела от условий освещения. Совместное действие КС и селена увеличивало интенсивность перекисного окисления липидов, возможно, в связи с активным накоплением элемента в проростках.

Литература

Блинохватов А.Ф., Вихрева В.А., Хрянин В.Н. Селен – адаптоген и стимулятор роста растений. – М: МСХА, 2001. – 82 с.

Воскресенская Н.П. Фотосинтез и спектральный состав света. – М.: Наука, 1965. – 220 с.

Головацкая И.Ф., Кулагина Ю.М., Крахалева А.В., Карначук Р.А. Влияние селена на морфогенез и биохимические параметры растений *Triticum aestivum* L. в зависимости от селективного света // Агрехимия. – 2013. – № 5. – С. 558–565.

Карначук Р.А., Головацкая И.Ф. Гормональный статус, рост и фотосинтез растений, выращенных на свету разного спектрального состава // Физиология растений. – 1998. – Т. 45, № 6. – С. 925–934.

Bates L.E., Waldren R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water stress studies // Plant Soil. – 1973. – V. 39. – P. 205–207.

Heath R.L., Parker L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation // Archives of Biochemistry and Biophysics. – 1968. – V. 125. – P. 189–198.

Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and carotenoids, the pigments of photosynthetic biomembranes // Methods in enzymology / Eds. R. Douce, L. Packer. Academic Press Inc., New York. : Plant Cell Membranes, 1987. –V. 148. – P. 350–382.

INFLUENCE OF SELECTIVE LIGHT ON THE *MELILOTUS ALBUS* RESISTANCE TO SELENIUM *IN VITRO*

I.F. Golovatskaya, T.V. Loshkareva, E.V. Boyko, N.I. Laptev

Tomsk State University, Tomsk, Russia, golovatskaya.irina@mail.ru

Abstract. The differences in morphophysiological parameters of *Melilotus albus* seedlings grown *in vitro* on MS medium with 100 μ M sodium selenite under white, blue, red and green light are shown. The selenium action caused oxidative stress. The stress amount depended on the lighting conditions. The combined action of red light and selenium increased the intensity of lipid peroxidation, possibly due to the active accumulation of the element in the seedlings.

Keywords: *Melilotus albus*, photosynthetic pigments, proline, lipid peroxidation, selenium

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ НАРИНГЕНИНА НА РОСТ, СИГНАЛИНГ И АКТИВНОСТЬ ФАКТОРОВ ВИРУЛЕНТНОСТИ У *RHIZOBIUM LEGUMINASARUM* BV. *VICEAE* И *PSEUDOMONAS SYRINGAE* PV. *PISI*

А.М. Гончарова, Л.А. Ломоватская

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия, alvlad87@mail.ru

Аннотация. Изучено влияние различных концентраций нарингенина (Nar) на титр, аденилатциклазную сигнальную систему и факторы вирулентности у *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* (*Rhl*) и *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (*Psp*). Установлено, что на рост планктонной культуры *Rhl* оказывал активирующее влияние 1 мкМ Nar. Однако, на титр *Psp* стимулирующим действием на первые сутки роста обладал 100 нМ Nar, в то время как 500 пМ Nar, напротив, приводил к ингибированию роста *Psp*.

Ключевые слова: нарингенин, аденилатциклазная сигнальная система, цАМФ, *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae*, *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-233-235

Известно, что нарингенин (Nar) из корневых экссудатов гороха активирует у *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* (*Rhl*) *nod*-гены, необходимые для процесса образования клубеньков [Recourt et al., 1989; Tsvetkova et al., 2006]. цАМФ, вторичный мессенджер аденилатциклазной сигнальной системы (АСС), является регулятором факторов транскрипции для многих генов бактерий, тем самым индуцируя множественные механизмы, направленные как на изменение роста бактерий, так и на синтез белков *de novo* [Smith et al., 2004; Kereszt et al., 2011; Jimenez et al., 2012].

Целью нашего исследования было изучить влияние различных концентраций Nar на активность компонентов АСС (аденилатциклазы (АЦ), фосфодиэстеразы (ФДЭ), цАМФ) в планктонной культуре мутуалиста гороха *Rhl* и патогена *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (*Psp*).

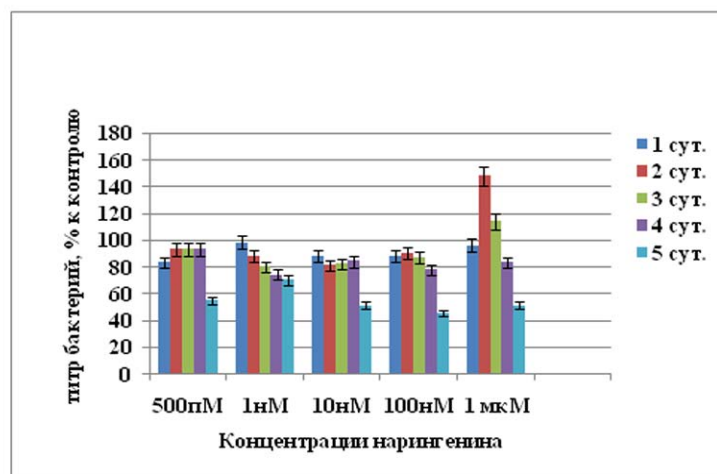


Рис. 1. Влияние различных концентраций нарингенина на рост планктонной культуры *Pseudomonas syringae* pv. *Pisi*.

Результаты показали, что Nar в концентрациях 500 пМ, 1 нМ, 10 нМ и 100 нМ практически не влиял на рост планктонной культуры *Rhl*. В то же время, 1 мкМ Nar

приводил к значительному возрастанию титра (148%) этих бактерий уже на 2 сутки роста (рис. 1).

В тоже время, рост *Psp* ингибировался при 500 пМ Nar уже с первых суток. При этом в дальнейшем наблюдалось постепенное восстановление этого показателя с достижением уровня контроля на 4-5 сутки (рис. 2). Напротив, 100 нМ Nar приводил к стимулированию роста *Psp* в первые сутки роста, но титр постепенно незначительно снижался в последующие сутки (рис. 2). Концентрации Nar 1нМ, 10 нМ и 1 мкМ не оказывали значительного влияния на рост *Psp* (рис. 2).

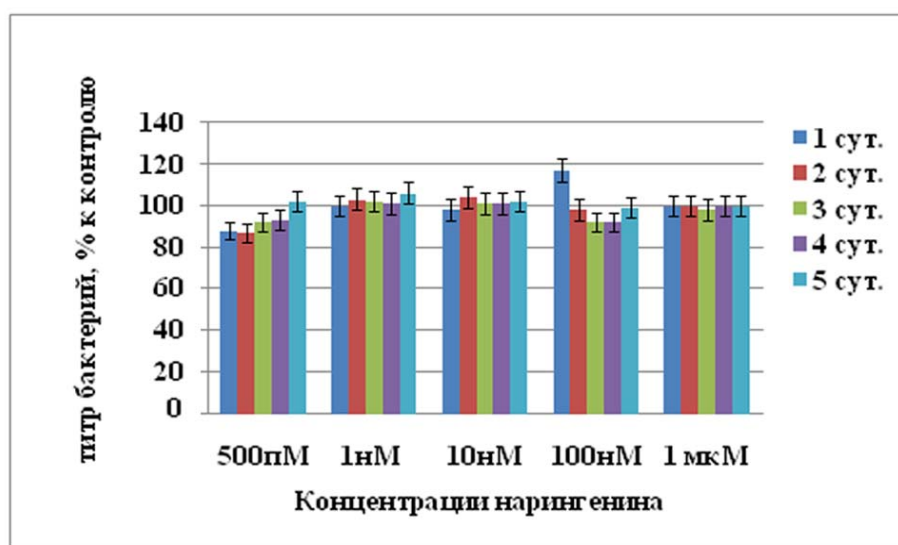


Рис. 2. Влияние различных концентраций нарингенина на рост планктонной культуры *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae*.

В роли факторов вирулентности патогенных и мутуалистических бактерий могут выступать пектиназы и целлюлазы, разрушающие клеточные стенки растений. В клетках *Rhl* при действии 10 нМ и 1 мкМ Nar наблюдалось увеличение активности целлюлазы на 38%, однако не изменялась в культуральной жидкости (КЖ). Активность пектиназы под действием обеих испытуемых концентраций Nar практически не поменялась ни в клетках бактерий, ни в КЖ.

В то же время, 500 пМ и 100 нМ Nar ингибировали активность целлюлазы в клетках *Psp* на 30% и 55% соответственно, но не затрагивали работу данного фермента в КЖ. При этом активность пектиназы у *Psp* не изменялась ни в присутствии 500 пМ, ни 100 нМ Nar, как в клетках данных бактерий, так и в их КЖ.

Вероятно, различное влияние определенных концентраций Nar на *Rhl* и *Psp* связано как со специализацией бактерий, так и со способом и местом инфицирования растения.

Как известно, рост бактерий и активность факторов вирулентности зависит, в частности, от концентрации цАМФ в клетках. Поэтому изучали влияние 10 нМ и 1 мкМ Nar на концентрацию цАМФ в клетках *Rhl* и в их культуральной жидкости. Эксперименты показали, что 10 нМ Nar повышали уровень цАМФ на 54% в бактериях и на 30% в КЖ; 1 мкМ Nar увеличивал этот показатель на 70% в бактериях, и на 76% в КЖ. Поскольку концентрация цАМФ бактерий зависит от активности АЦ (трансмембранная (тАЦ) и растворимая (рАЦ)), а также от ФДЭ (аналогичные формы – тФДЭ и рФДЭ)), исследовали активность этих ферментов.

Под влиянием 10 нМ Nar активность тАЦ в бактериях *Rhl* повышалась на 50%, а в варианте с 1 мкМ Nar – на 73%. При этом, активность тФДЭ практически не изменялась, а в присутствии 1 мкМ Nar наблюдалась ее активация только на 40%. Активность рАЦ в бактериях *Rhl* при 10 нМ Nar увеличивалась на 56,5%, а в КЖ – на 92%. В то же время, 1 мкМ Nar приводил к увеличению активности рАЦ на 80% в бактериях и их КЖ. Однако 10 нМ Nar ингибировали рФДЭ на 78% в бактериях и на 43% – в КЖ. В то время как 1 мкМ Nar ингибировал рФДЭ на 80% и в бактериях, и в КЖ.

Проведенные исследования позволили сделать вывод о том, что экзогенный Nar приводит к большей активации тАЦ и рАЦ, по сравнению с аналогичными формами ФДЭ. В результате этого происходило значительное возрастание концентрации цАМФ, контролирующего важные физиологические процессы у бактерий, включая рост и активность факторов вирулентности.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-34-00295-мол_a.

Литература

Recourt K. Accumulation of a nod gene inducer, the flavonoid naringenin, in the cytoplasmic membrane of *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* is caused by the pH-dependent hydrophobicity of naringenin // Journal of bacteriology. – 1989. – V. 171, No. 8. – P. 4370–4377.

Tsvetkova G. Effect of naringenin and quercetin on activity of nodABC genes of strain D293 and following nodulation and nitrogen fixation response of inoculated pea plants (*Pisum sativum* L.) // Gen. Appl. Plant Physiol. special issue. – 2006. – P. 67–71.

Jimenez P.N. The multiple signaling systems regulating virulence in *Pseudomonas aeruginosa* // MMBR. – 2012. – V. 76, No. 1. – P. 46–65.

Smith R.S. An adenylate cyclase-controlled signaling network regulates *Pseudomonas aeruginosa* virulence in a mouse model of acute pneumonia // Infect. Immun. – 2004. – V. 72, No. 3. – P. 1677–1684.

Kereszt A. Innate immunity effectors and virulence factors in symbiosis // Current opinion in microbiology. – 2011. – V. 14, No. 1. – P. 76–81.

INFLUENCE OF DIFFERENT CONCENTRATIONS OF NARINGENIN ON THE GROWTH, SIGNALLING AND ACTIVITY OF VIRULENCE FACTORS IN *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM* BV. *VICEAE* AND *PSEUDOMONAS SYRINGAE* PV. *PISI*

A.M. Goncharova, L.A. Lomovatskaya

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia, alvlad87@mail.ru

Abstract. The influence of different concentrations of naringenin (Nar) on the titer, adenylate cyclase signal system and virulence factors in *Rh. leguminosarum* bv. *viciae* (*Rhl*) and *P. syringae* pv. *pisi* (*Psp*) has been studied. It was established that 1 μM Nar had the activating influence on the growth of planktonic culture *Rhl*. However, on the *Psp* titer the stimulating effect on the first day of growth was 100 нМ Nar, while 500 нМ Nar, on the contrary, led to the inhibition of *Psp* growth.

Keywords: naringenin, adenylate cyclase signal system, cAMP, *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*, *Pseudomonas syringae* pv. *Pisi*

ПЛОДОНОШЕНИЕ КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ И МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ РОЛЬ ВОДЫ «ОТ КОРНЯ ДО СЕМЕНИ»

Э.А. Гончарова¹, С.В. Мурашев²

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова», Санкт-Петербург, Россия, *e.goncharova@vir.nw.ru*

²Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики», Санкт-Петербург, Россия, *s.murashev@mail.ru*

Аннотация. Многолетнее изучение коллекции плодовых растений раскрыло возможные пути и приемы их сохранения.

Ключевые слова: методология изучения и сохранения плодовых ресурсов

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-236-237

На основе исследований, проведенных на базе генофонда растительных ресурсов Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, разработаны теоретические представления об общности метаболических перестроек у растений при разных видах стрессов и сформулирована концепция о механизмах отдельных фаз адаптации растений к стрессорам. Вывод о не специфичности адаптации растений к разным неблагоприятным факторам имеет принципиально важное значение для более глубокого и детального выяснения общей природы устойчивости растений к различным стрессорам, а также для разработки общих принципов диагностики приемов повышения устойчивости растений. Потенциал устойчивости растений, ее физиологическая и эволюционно-экологическая природа, принципы и методы надежного диагностирования, а также эффективность вовлечения в селекционный процесс генетических источников высокой устойчивости растений – это главные составляющие теоретического и практического базиса исследований в области устойчивости и адаптивности на базе генбанка растительных ресурсов.

Оригинальным вкладом и дополнением в общую теорию устойчивости растений на организменном уровне явились разработанные представления о характере изменений донорно-акцепторных связей между вегетативными и генеративными органами в стрессовых условиях, о саморегуляции растением своей плодонагрузки и о роли ее уровня в устойчивости растений к стрессам.

На удобных экспериментальных моделях (томат, кабачок, земляника, соя и др.) изучение донорно-акцепторных связей в репродуктивный период (плодоносящие растения) с использованием радиоизотопных меток показало, что *потоки воды и пластических веществ проходят последовательный путь стебель – лист – плод; хотя общая интенсивность транспорта веществ как энергозависимого процесса в экстремальных условиях понижается, аттрагирующее воздействие плодов на потоки веществ при этом усиливается.* В числе таких механизмов, при стрессовых условиях резко проявляются активность аттрагирующей способности генеративных органов и саморегуляция растением в этих условиях своей плодонагрузки. Общая зависимость устойчивости растений от уровня плодонагрузки выражается одновершинной кривой с максимумом устойчивости у растений с умеренной плодонагрузкой и минимумом у растений, полностью лишенных плодов. *Именно в плане реализации этой зависимости и осуществляется эндогенная регуляция растением своей плодонагрузки при*

стрессовых воздействиях, как проявление важнейшего механизма адаптации на организменном уровне.

В связи с вышеизложенным, возникла необходимость разработки технологии получения высококачественной плодовой продукции, способной к длительному хранению. Одним из инновационных приемов, является использование препарата глицина, способствующего формированию урожая с наиболее длительным сроком хранения и с сохранением качества продукции. Использование этого препарата в качестве регулятора роста ускоряет рост и развитие плодов, повышая продуктивность и адаптивный потенциал к биотическим и абиотическим стрессам. При этом поверхность плодов приобретает большую гидрофобность, что с одной стороны, не допускает внедрение патогенов через неповрежденную поверхность (гидрофобный слой кутикулы), а, с другой стороны, увеличивает препятствие для испарения воды из тканей плода. *Последнее является ценным защитным (водосберегающим) механизмом сохранения тургорного состояния плода; повышая упругость растительных тканей, сопряженных с клеточными стенками, препятствуя внедрению патогенов. Предложенная технология позволяет получать плоды с ценными признаками: для которых характерны повышенные концентрации физиологически активных веществ, в том числе антиоксиданты (аскорбиновая кислота, фенолы и др.), вследствие заторможенного состояния окислительных ферментов (полифенолоксидаза, аскорбатоксидаза).* Экспериментально выявлено, что у растений, обработанных глицином, при холодном хранении плодовой продукции, уменьшаются потери биомассы и в меньшей степени изменяется их качество. Разработанная стратегия прогнозирования минимизации потерь плодовой продукции при хранении, включающая своевременный прогноз, существенно снижает потери при хранении. Такой подход, на основе разработанного прогнозирования, позволяет планировать экономически эффективное хранение растительного сырья и, в дальнейшем, его переработку.

FRUCTIFICATION OF CULTIVATED PLANTS AND THE METABOLIC ROLE OF WATER "FROM ROOT TO SEED"

E.A. Goncharova¹, S.V. Murashev²

¹Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Research Center the N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources", Saint Petersburg, Russia, e.goncharova@vir.nw.ru

²Saint Petersburg National Research University of Information Technologies, Mechanics and Optics, Saint Petersburg, Russia, s.murashev@mail.ru

Abstract. Long-term study of the collection of fruit plants revealed possible ways and methods of their preservation.

Keywords: *methodology of study and conservation of fruit resources*

АЛЬТЕРНАТИВНАЯ ОКСИДАЗА МИТОХОНДРИЙ И УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ К ГИПО- И ГИПЕРТЕРМИИ

О.И. Грабельных^{1,2}, Т.П. Побежимова¹, О.А. Боровик¹, Н.С. Забанова^{1,2}, А.В. Степанов¹, И.В. Любушкина^{1,2}, А.В. Корсукова^{1,2}, В.К. Войников¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия, grolga@sifibr.irk.ru

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Иркутский государственный университет», Иркутск, Россия

Аннотация. Представлены данные по участию альтернативной цианид-резистентной оксидазы (АО) митохондрий в ответной реакции растений на действие низких и высоких температур. Показана высокая потенциальная активность АО при длительном действии низких и высоких закаливающих температур на проростки пшеницы. С использованием растений, суспензионной культуры клеток и протопластов арабидопсиса с измененной экспрессией *AOX1a* показана защитная роль альтернативной оксидазы при температурном стрессе.

Ключевые слова: температурный стресс, митохондрии, альтернативная оксидаза, *AOX1a*

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-238-240

Один из путей решения проблемы адаптации растений к экстремальным температурам связан с исследованиями физиологических систем митохондрий, способных рассеивать энергию в виде тепла. Исторически первой энерго-рассеивающей системой у растений была открыта альтернативная оксидаза (АО). Альтернативный путь переноса электронов, связанный с функционированием АО, устойчивой к ингибиторам комплексов III и IV, ответвляется от основной дыхательной цепи на уровне пула убихинона, минуя, таким образом, два из трех пунктов запаса энергии, которая высвобождается в виде тепла [Lambert et al., 2005]. АО – высокорегулируемый фермент, который принимает участие в процессах адаптации растений к различным абиотическим и биотическим стрессам [Vanlerberghe, 2013]. Возможные функции АО у растений: участие в термогенезе; участие в предотвращении образования активных форм кислорода (АФК); участие совместно с ротенон-нечувствительными НАД(Ф)Н-дегидрогеназами (НАД(Ф)Н-ДГ II типа) в окислении цитозольного или матричного НАД(Ф)Н; защита фотосинтетического аппарата от фотоингибирования при избыточном освещении; и др. Высокая значимость АО для метаболизма растительных клеток и ее роль в репрограммировании клетки в стрессовых условиях привели к тому, что в 2008 г. в Португалии (Évora, Alentejo) был организован первый международный симпозиум по АО (First International AOX Symposium 2008). Структуре, механизмам регуляции и функциям АО посвящено большое число обзоров.

Наши исследования, проведенные с использованием этиолированных и зеленых проростков и гетеротрофных суспензионных культур, выявили важную роль АО в механизмах адаптации растений к низким и высоким температурам. С использованием ингибиторов дыхательной цепи установлена антиоксидантная роль АО в первую фазу холодового закаливания озимой пшеницы [Грабельных и др., 2011]. Показано, что действие низкой положительной температуры приводит к подавлению цитохромного пути транспорта электронов в митохондриях, повышению содержания АФК и переключению транспорта электронов с цитохромного на альтернативный путь. Повышение способности АО к транспорту электронов после действия на проростки

закаливающей отрицательной температуры (2 фаза закалывания) связано с сохранением высокой активности внешней ротенон-нечувствительной НАД(Ф)Н-ДГ [Грабельных и др., 2014]. С использованием сенсовой (XX-2) и антисенсовой (AS-12) линий арабидопсиса [Umbach et al., 2005] удалось выявить, что изменение экспрессии гена *AOX1a* может приводить к существенным перестройкам в метаболизме растительной клетки, направленным на повышение холодо- и морозоустойчивости [Grabelnych et al., 2016].

Поскольку АФК играют ключевую роль в развитии адаптивной реакции и в гибели клетки при стрессовом воздействии, было предположено, что активация АО, предотвращающая генерацию АФК, будет влиять как на экспрессию генов стрессовых белков, так и повышение устойчивости к тепловому шоку. На протопластах из листьев арабидопсиса выявлено снижение продукции АФК при тепловом шоке у линии с повышенной экспрессией *AOX1a*. Анализ жизнеспособности протопластов выявил некоторое увеличение выживаемости протопластов у линий с измененной экспрессией *AOX1a*. С использованием суспензионных культур клеток арабидопсиса с измененной экспрессией *AOX1a* показано повышение содержания у линии AS-12 одного из белков теплового шока (БТШ) – Hsp101 и разобщающего белка UCP. Сравнительный анализ выявил, что в отличие от зеленых листьев в гетеротрофной культуре клеток арабидопсиса снижение экспрессии *AOX1a* приводит к индукции синтеза Hsp101 как в контрольных условиях, так и при тепловом стрессе. Анализ прироста биомассы клеток суспензионной культур выявил замедление процесса старения клеток у линий с измененной экспрессией *AOX1a*, особенно у линии AS-12. Показано, что воздействие закаливающей температурой 37 °С в течение 2 и, особенно, 24 часов, приводило к росту теплоустойчивости этиолированных проростков озимой пшеницы, связанному с синтезом некоторых БТШ (Hsp101, Hsp70, Hsp17,6). Эти изменения, наряду с повышением содержания в митохондриях белка и активности АО (через 24 ч воздействия), вероятно, способствовали снижению генерации АФК и сохранению интактности и окислительной и фосфорилирующей активности митохондрий при последующем тепловом шоке [Грабельных и др., 2018]. Также наблюдали увеличение вклада АО в дыхание митохондрий из зеленых листьев на фоне повышенного содержания водорастворимых углеводов в тканях листа [Боровик, Грабельных, 2018]. Вероятно, что активация АО при повышенных температурах позволяет поддерживать функционирование не только митохондрий, но и фотосинтетического аппарата хлоропластов. Предполагается, что АО вместе с другими антиоксидантными системами контролирует продукцию АФК в растительной клетке, что позволяет избежать окислительного стресса при деэтиоляции [Garmash et al., 2017].

Таким образом, обобщая исследования по функционированию АО в растительных клетках, можно заключить, что участие АО необходимо для развития адаптивных реакций и поддержания жизнеспособности клетки при гипо- и гипертермии как в гетеротрофных тканях, так и в фотосинтезирующих.

Литература

Боровик О.А., Грабельных О.И. Влияние высоких температур на функционирование альтернативной цианид-резистентной оксидазы в митохондриях из листьев яровой пшеницы // Механизмы регуляции функций органелл эукариотической клетки: Материалы докладов II Всероссийской научной конференции с межд. участием, 22-24 мая 2018 г. Иркутск: Изд-во Института географии им. В.Б. Сочавы СО РАН, 2018. – С. 17–18.

Грабельных О.И., Боровик О.А., Таусон Е.Л., Побежимова Т.П., Катышев А.И., Павловская Н.С., Королева Н.А., Любушкина И.В., Башмаков В.Ю., Попов В.Н.,

Боровский Г.Б., Войников В.К. Митохондриальные энергорассеивающие системы (альтернативная оксидаза, разобщающие белки и «внешняя» NADH-дегидрогеназа) вовлечены в развитие морозоустойчивости проростков озимой пшеницы // Биохимия. – 2014. – Т. 79. – С. 645–660.

Грабельных О.И., Побежимова Т.П., Забанова Н.С., Боровик О.А., Войников В.К. Митохондрии растений при стрессе и адаптации к гипо- и гипертермии // Механизмы регуляции функций органелл эукариотической клетки: Материалы докладов II Всероссийской научной конференции с межд. участием, 22-24 мая 2018 г. Иркутск: Изд-во Института географии им. В.Б. Сочавы СО РАН, 2018. – С. 27–29.

Грабельных О.И., Побежимова Т.П., Павловская Н.С., Королева Н.А., Боровик О.А., Любушкина И.В., Войников В.К. Антиоксидантная функция альтернативной оксидазы в митохондриях озимой пшеницы при холодовом закаливании // Биологические мембраны. – 2011. – Т. 28, № 4. – С. 274–283.

Garmash E.V., Velegzhaninov I.O., Grabelnych O.I., Borovik O.A., Silina E.V., Voinikov V.K., Golovko T.K. Expression profiles of genes for mitochondrial respiratory energy-dissipating systems and antioxidant enzymes in wheat leaves during de-etiolation // J. Plant Physiology. – 2017. – V. 215 – P. 110–121.

Grabelnych O.I., Borovik O.A., Pobezhimova T.P., Koroleva N.A., Lyubushkina I.V., Zabanova N.S., Voinikov V.K. Changes of *Aox1a* expression, encoding mitochondrial alternative oxidase, influence on the frost-resistance of Arabidopsis plants // Journal of Stress Physiology and Biochemistry. – 2016. – V. 12, N 4. – P. 78–90.

Lambers H., Robinson A., Ribas-Carbo M. Regulation of respiration *in vivo* // Plant Respiration: From Cell to Ecosystem. Lambers H. and Ribas-Carbo M. (eds.), Springer, Hamburg, 2005. – P. 1–15.

Umbach A.L., Fiorani F., Siedow J.N. Characterization of transformed Arabidopsis with altered alternative oxidase levels and analysis of effects on reactive oxygen species in tissue // Plant Physiol. – 2005. – V. 139. – P. 1806–1820.

Vanlerberghe G.C. Alternative oxidase: a mitochondrial respiratory pathway to maintain metabolic and signaling homeostasis during abiotic and biotic stress in plants // Int. Mol. Sci. – 2013. – V. 14. – P. 6805–6847.

MITOCHONDRIAL ALTERNATIVE OXIDASE AND PLANT RESISTANCE TO HYPO- AND HYPERTERMIA

O.I. Grabelnych^{1,2}, T.P. Pobezhimova¹, O.A. Borovik¹, N.S. Zabanova^{1,2}, A.V. Stepanov¹, I.V. Lyubushkina^{1,2}, A.V. Korsukova^{1,2}, V.K. Voinikov¹

¹Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia, grolga@sifibr.irk.ru

²Irkutsk State University, Irkutsk, Russia

Abstract. Data on the participation of mitochondrial alternative cyanide-resistant oxidase (AOX) in the response of plants to the action of low and high temperatures are presented. The high potential activity of AOX is shown at long action of low and high temperatures on shoots of wheat seedlings. With the use of plants, a suspension culture of cells and protoplasts of Arabidopsis with altered expression of *AOX1a*, the protective role of alternative oxidase at temperature stress is shown.

Keywords: temperature stress, mitochondria, alternative oxidase, *AOX1a*

РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ СНИЖЕНИЯ ЗАРАЖЕННОСТИ СЕМЯН РЕДКОЙ ДЕКОРАТИВНОЙ КУЛЬТУРЫ *ORMOSIA HOSIEI*

Е.В. Грошева¹, М.В. Маслова¹, А.В. Будаговский^{1,2}, О.Н. Будаговская^{1,2}

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Мичуринский государственный аграрный университет, Мичуринск, Россия, ekaterina2687@mail.ru, marinamaslova2009@mail.ru, budagovsky@mail.ru

²Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Федеральный научный центр им. И.В. Мичурина, Мичуринск, Россия, budagovsky@mail.ru

Аннотация. В данной статье рассмотрены проблемы работы с эндемичным видом *O. hosiei*. Анализ состава эпифитной микробиоты семян показал высокий уровень их обсемененности грибами и бактериями. Показано, что удаление семенной оболочки и использование лазерного облучения в комплексе позволяют увеличить количество всхожих семян и здоровых проростков. Рекомендовано комплексное применение различных способов снижения уровня инфекционного фона и стимуляции иммунной системы растений.

Ключевые слова: *Ormosia hosiei*, зараженность семян, лазерное облучение, всхожесть семян

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-241-244

Ormosia hosiei Hemsl et Wils – эндемичный дикий вид из семейства Бобовых (*Fabaceae*), произрастающий в низкогорных широколиственных лесах в восточном и центральном районах Китая (в провинциях Аньхой, Фуцзянь, Ганьсу, Гуйчжоу, Хубэй, Цзянсу, Цзянси, Шэньси, Сычуань и Чжэцзян). В настоящее время *O. Hosiei* входит в список второго класса национальных ключевых охраняемых дикорастущих растений Китая [Yang Fu, 2003; Zhao-Ying, 2008; Zhichun, 2012].

Растение данного вида представляет собой прямостоящее вечнозеленое дерево, высотой 20-30 метров. Нижняя половина ствола дерева не имеет ветвления и достигает толщины около одного метра, у молодых деревьев кора серо-зеленая, с белыми чечевичками. С возрастом кора приобретает темно-серо-коричневую окраску. Цветет и плодоносит через один, реже через два года, независимо от сезона не сбрасывает лиственный покров. Плоды 6 см длины, 3,5 см ширины и 2 см толщиной, продолговатые, редко округлые, кожистые, растрескивающиеся стручки с 1-3 семенами. Семена твердые, блестящие, 1,7 см длины и 1,1 см шириной, обычно красные с черным пятном у основания, без эндосперма и с толстыми семядолями. Они долгое время могут находиться в состоянии покоя из-за жесткой семенной оболочкой, которая препятствует усвоению воды. Это является эффективным механизмом, который гарантирует выживание и сохранение вида, но также препятствует равномерному и быстрому прорастанию семян. В связи с этим применяется скарификация, т.к. нарушение целостности оболочки позволяет пропускать воду и инициировать развитие проростка [Zheng, 2007a, 2008; 2009; Goncalves, 2011].

O. hosiei ценится за блестящую и прочную древесину красивой текстуры, которая может служить неограниченный срок. Сердцевина ствола дерева розовато-красноватая, преимущественно лососевая, иногда желтовато-коричневая, с более бледными прожилками, что делает её полосатой. Древесину данного вида широко используют при производстве элитной мебели, паркета и других лесоматериалов, выполнения инкрустаций, изготовления музыкальных инструментов ручной работы и рукоятей для ножей, сделанных на заказ; корни и семена находят применение в медицине; растения используются в ландшафтном дизайне для создания декоративного сада [Zheng, 2007b].

Огромный спрос на древесину *O. hosiei* и деятельность человека привели к

значительному уменьшению численности растений в естественных местах их произрастания. Причинами исчезновения данного вида является низкий коэффициент размножения естественным путем, превышение вырубке деревьев над воспроизведением, отсутствие культурных посадок, высокая степень зараженности семян патогенными микроорганизмами, повреждение насекомыми.

Интродукционная работа с *O. hosiei* предусматривает, прежде всего, изучение роста и развития растений, разработку агротехнологических мероприятий по выращиванию и размножению с учетом биологических особенностей вида. Как показал анализ зарубежной литературы, данные вопросы изучены фрагментарно и требуют дальнейших исследований. Эта информация необходима для интродукции и поддержания генетического разнообразия редких культур [Eira, 1993; Zhang, 2003; Eivsand, 2006; Goncalves, 2011].

В связи с вышеперечисленными проблемами актуальной становится работа с *O. hosiei* в южных регионах России, поиск средств и методов повышения коэффициента размножения данной культуры. Для этого необходима разработка методов, способствующих снижению уровня зараженности семян, что позволит повысить их всхожесть и получить высококачественный посадочный материал.

Целью исследования являлась разработка методов снижения зараженности семян редкой декоративной культуры *Ormosia hosiei*.

Данная работа проведена в рамках совместного сотрудничества ФГБОУ ВО «Мичуринский ГАУ» Российской Федерации с Central China Valley Industrial Development Co.Ltd Китайской Народной Республики (КНР).

Исследования проведены на базе научно-исследовательской проблемной лаборатории биофотоники ФГБОУ ВО «Мичуринский ГАУ» в 2017-2018 гг. Исследования проводились на семенах *O. hosiei*, привезенных из провинции Хубэй КНР.

Состав эпифитной микробиоты семян *O. hosiei* изучали путем посева смывов с их поверхности на агаризированную картофельно-глюкозную питательную среду в чашки Петри согласно общепринятым методикам [Дудка, 1982; Теппер, 2004].

В первом варианте опыта у семян *O. hosiei* нарушали скальпелем целостность оболочки и замачивали их в воде в течение 2 часов. При этом наблюдалось размягчение и набухание семенных покровов, которые отделяли от семядолей. Второй вариант опыта проводили на семенах после механической скарификации, не снимая оболочки.

С целью снижения зараженности во всех вариантах опыта применяли 1%-ный раствор экологически безопасного дезинфектанта *Intra Hydrocare* для замачивания семян в течение 1 часа. После этого проводили их облучение гелий-неоновым лазером в первом и во втором вариантах опыта в течение 120 с и 240 с соответственно. Проращивание семян осуществляли в лабораторных условиях в гидрогеле при температуре 22°C.

Анализ состава эпифитной микробиоты семян *O. hosiei* показал высокий уровень их обсемененности грибной и бактериальной микробиотой. Частота тестирования грибов рода *Mucor* составила 50,0%; *Penicillium* – 55,6%; *Aspergillus* – 33,3%; *Cladosporium* – 22,2%; *Alternaria* – 11,1% и *Fusarium* – 5,6%. Бактериальные колонии были выявлены в 27,8% всех тестов. Такая степень зараженности семян приводит к значительному снижению их всхожести, а полученные проростки имеют признаки различных болезней. В связи с этим необходимо применять различные способы снижения уровня инфекционного фона и стимуляции иммунной системы растений. При этом важно отдавать предпочтение экологически безопасным методам и средствам, что соответствует принципам органического земледелия.

Для этих целей использовали химический препарат *Intra Hydrocare*, созданный на основе 50% раствора перекиси водорода и коллоидного серебра, а также физический метод защиты растений от патогенов – обработка семян лазерным излучением.

В результате проведенных исследований было выявлено, что лазерное облучение способствовало повышению процента проросших семян, который составил в первом варианте опыта 75,0% и 58,0% во втором варианте. В контроле данный показатель был равен 55,0% и 42,5% соответственно. Таким образом, количество проросших семян увеличилось после облучения на 26,7% у семян без оболочки и на 22,7% у скарифицированных семян (рис. 1).

Установлено, что из семян *O. hosiei*, лишенных оболочки, проростки появляются на 2 недели раньше, чем из скарифицированных семян. Их всхожесть увеличивается на 29,4%, но при этом возрастает количество больных проростков на 27,1%.

Применение лазерного облучения позволило снизить степень зараженности семян без оболочки на 70,1% и на 16,2% у скарифицированных семян по сравнению с контрольными вариантами.

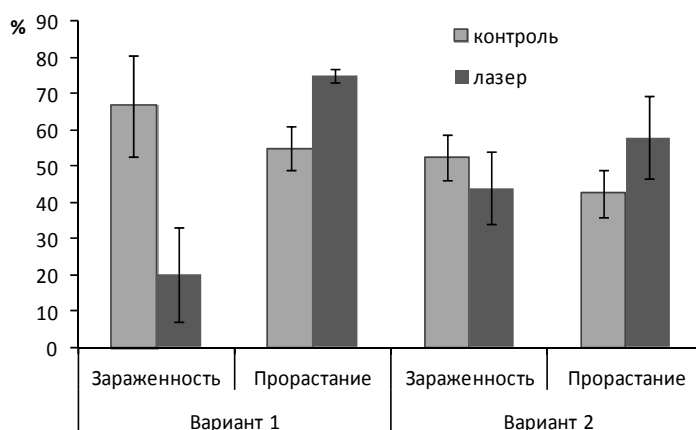


Рис. 1. Влияние лазерного облучения на зараженность и прорастание семян *Ormosia hosiei*: вариант 1 - семена без оболочки; вариант 2 - скарифицированные семена.

На основании проведенных исследований для повышения всхожести семян *O. hosiei* и получения здоровых проростков рекомендуется перед проращиванием удалять семенную оболочку и использовать лазерное облучение. Данные приемы в комплексе позволяют увеличить количество всхожих семян на 75,6% и здоровых проростков на 61,9% по сравнению с вариантом опыта, где использовались скарифицированные семена без облучения.

Литература

Дудка И.А., Вассер С.П., Элланская И.А., Коваль З.Э. и др. Методы экспериментальной микологии. – Киев: Наукова думка, 1982. – 551 с.

Теппер Е.З., Шильникова В.К., Переверзева Г.И. Практикум по микробиологии: учебное пособие для вузов. – М.: Дрофа, 2004. – 256 с.

Goncalves E.P. et al. Dormancy breaking in *Ormosia arborea* seeds // International Journal of Agronomy. – 2011. URL: http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTotal-FJLK200701008.html.

Eira M.T.S., Freitas R.W.A., Mello C.M.C. Breaking seed dormancy of *Enterolobium contortisiliquum* (VELL) Morong-Leguminosae // Journal of Seeds. – 1993. – V. 15. – N1. – P. 177–182.

Eisvand H. R., Arefi H. M., Tavakol-Afshari R. Effects of various treatments on breaking seed dormancy of *Astragalus siliquosus* // Seed Science and Technology. – 2006. – V. 34. – P. 747–752.

Rui Zhang Zhichun, Ch. Kejiu Du. Genetic diversity of natural populations of endangered *Ormosia hosiei*, endemic to China // Biochemical Systematics and Ecology. – 2012. – V. 40. – P. 13–18.

Yang Fu. Conservation of landscape ecological diversity in Wulingyuan scenic area of China // Journal of Environmental Sciences. – 2003. – V. 15, N 2. – P. 284–288.

Zhang Duhai, Yuan Weigao, Chen Chengliang, Zhu Jingru, Jiang Bo. Preliminary study on growth regularity of man-made *Ormosia henryi forest* // Journal of Zhejiang Forestry Science and Technology. – 2003. – V.23. – P. 9–11.

Zhao-Ying, He Yun-fang, Zhou Zhi-chun, Feng Jian-guo, Jin Guoqing, Wang Bang-shun. Genetic diversity of five naturally reserved *Ormosia hosiei* populations in Zhejiang and Fujian provinces // Chinese Journal of Ecology. – 2008. – V. 08. URL: http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-STXZ200808005.htm.

Zheng T., Chen Y., He G. Community characteristics of virgin forest of *Ormosia hosiei Hemsl et Wils* // Subtropical Agriculture Research. – 2007a. – V. 02. URL: http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-GZZZ200702010.htm.

Zheng Tian-han, Huang Chang-yao, Cai Yong, Jiang Ren-ping. A study on the Ecological characteristics of the hundred years of virgin forest of *Ormosia hosiei* // Journal of Fujian Forestry Science and Technology. – 2007b. – V. 01. URL: http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTotal-FJLK200701008.htm.

Zheng Tian-han, Li Jian-ying, Huang Xing-fa. Main characteristics of the *Ormosia hosiei Hemsl. et Wils.* living trees // China Forestry Science and Technology. – 2009. – V. 01. URL: http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-LKKF200901023.htm.

Zheng Tian-han. The seedling quality character analysis of *Ormosia hosiei* and its choice of main factors // Journal of Fujian Forestry Science and Technology. – 2008. – V. 01. URL: en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-FJLK200801015.htm.

DEVELOPMENT OF THE METHODS OF REDUCING THE INFECTION SEEDS OF RARE DECORATIVE CULTURE *ORMOSIA HOSIEI*

E.V. Grosheva¹, M.V. Maslova¹, A.V. Budagovsky^{1,2}, O.N. Bydagovskaya^{1,2}

¹Federal state budgetary educational institution of higher education Michurinsk State Agrarian University, Michurinsk, Russia, ekaterina2687@mail.ru, marinamaslova2009@mail.ru, budagovsky@mail.ru

²Federal Scientific Center named after I.V. Michurina, Michurinsk, Russia, budagovsky@mail.ru

Abstract. This article discusses the problems of working with the endemic species *O. hosiei*. Analysis of the composition of the epiphytic microbiota of the seeds showed a high level of their contamination with fungi and bacteria. It is shown that the removal of the seed coat and the use of laser irradiation in the complex make it possible to increase the number of viable seeds and healthy seedlings. It is recommended to use complex methods of reducing the level of infectious background and stimulating the immune system of plants.

Keywords: *Ormosia hosiei*, infection of seeds, laser irradiation, seed germination

ОСОБЕННОСТИ РОСТА ПОБЕГОВ И ФОРМИРОВАНИЕ ЛИСТОВОЙ ПОВЕРХНОСТИ У ЦИТРУСОВЫХ В РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ ВЫРАЩИВАНИЯ

С.М. Гулов¹, Х.А. Абдуллаев², М.Б. Дадобоева³, Р.Ш. Хакимова³

¹Таджикский аграрный университет, Душанбе, Таджикистан, sgulov@gmail.com

²Институт ботаники, физиологии и генетики растений АН РТ, Душанбе, Таджикистан, bahshullo@mail.ru

³Худжандский государственный университет им. академика Б. Гафурова, Худжанд, Таджикистан, sheer-23051991@mail.ru, Leo-1992@mail.ru

Аннотация. В работе приведены результаты исследования физиологической реакции цитрусовых, выращиваемых в условиях Северного Таджикистана, на различные дозы минерального питания. Показано что, у растений лимона в варианте с органо-минеральным питанием количество побегов и их длина было больше по сравнению с контролем. В конце вегетационного периода у растений с органо-минеральным питанием число листьев и их площадь также значительно увеличивается. Аналогичная закономерность наблюдается у мандарина и апельсина. Установлено, что в благоприятных для цитрусовых условиях с оптимальным обеспечением питанием, влагой и аэрацией развивается мощная корневая система, которая обеспечивает формирование высокой урожайности.

Ключевые слова: минеральное питание, цитрусовые, урожайность

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-245-248

Рост, развитие и продуктивность цитрусовых зависит от климата, микроклимата, почвенных условий и комплекса агротехнологии выращивания [Александров, 1947; Гутиев, 1977; Надарая, 1966; Воронцов, Штейман, 1982; Цулая, Эшонкулов, 1983; Махмадбеков, 1976]. В условиях Средней Азии, в том числе и в Таджикистане, цитрусовые выращиваются в защищенном грунте – в траншейных и наземных лимонариях. Существующая агротехнология их выращивания является материалоемкой и дорогостоящей. Поэтому первоочередная задача заключается в разработке агротехнологии увеличивающая урожайность цитрусовых культур, чтобы отдача от защищенного грунта была максимальной. В этой связи целью настоящей работы явилось изучение физиологической реакции цитрусовых на различные минеральные условия выращивания. Исследование проводилось в условиях Северного Таджикистана в наземных лимонариях, построенных из металлических каркасов с использованием полиэтиленовой плёнки в качестве покрытия. Опыт был заложен в трёх вариантах:

- Контроль – цитрусовые выращивались по общепринятой методике.
- Опыт 1- цитрусовые выращивались на полном органо – минеральном питании (навоз 30 т/га, N-120, P-90 и K-60 кг/га).
- Опыт 2 – цитрусовые выращивались только на минеральном питании (N-120, P-90 и K-60 кг/га). Количество учётных растений во всех вариантах опыта было всего 12 (4 лимона, 4 апельсина, 4 мандарина).

Результаты по биометрическому учету прироста у растений лимона, выращенных в различных агротехнических условиях, представлены в табл. 1. Как видно из этих данных, в первый год посадки в течение вегетации, во всех вариантах, было 4 периода роста. Число побегов за вегетацию и их суммарная длина были больше у растений в варианте с органо-минеральным питанием, а число побегов и их длина у растений в варианте с минеральным питанием были меньшими, чем у растений контрольного варианта. Во второй год выращивания, у растений всех вариантов было отмечено 5 периодов роста.

Таблица 1.

Рост побегов лимона

Возраст, лет	Вариант					
	Контроль		Органо- минеральное питание		Минеральное питание	
	Число побегов за вегетацию, шт.	Суммарная длина побегов за вегетацию, см	Число побегов за вегетацию, шт.	Суммарная длина побегов за вегетацию, см	Число побегов за вегетацию, шт.	Суммарная длина побегов за вегетацию, см
3	133	1494	149	2214	118	1462
4	254	3689	503	9231	311	4821
5	521	14152	786	19498	655	16096

Различия как по числу побегов, так и по их длине были более резко выражены у растений в варианте с органо-минеральным питанием (по сравнению с контролем). Но в отличие от первого года после посадки у растений, получавших минеральное питание, наблюдалось заметное увеличение числа побегов и их длины, по сравнению с растениями контрольного варианта. В третий год после посадки, растения на всех вариантах опыта имели 4 периода роста. Во все периоды роста чётко наблюдается увеличение числа побегов и их длины у растений, растущих в варианте только с минеральным и органо-минеральным питанием, где площадь ассимиляционного аппарата была больше, по сравнению с таковой у растений контрольного варианта. В конце вегетационного периода у растений в варианте с органо-минеральным питанием число листьев и их площадь значительно возросли, в варианте с минеральным питанием их также было больше, чем у растений контрольного варианта. Точно такая же закономерность в росте и развитии побегов и листьев наблюдались у мандарина и апельсина.

Таким образом, ростовые процессы и развитие листовой поверхности происходят более энергично у растений цитрусовых, произрастающих на полном режиме питания. Особенно ярко это выражается на площади листовой поверхности растений. Исходя из вышесказанного, нами проводились биометрические измерения листовой поверхности цитрусовых (табл. 2). Как видно из данных табл. 2, в листьях деревьев, в условиях органо-минерального питания и минерального питания существенно увеличивается количество и площадь листьев по сравнению с растениями контрольного варианта. Особенно это наблюдается у растений в варианте с органо-минеральным питанием. Количество и площадь листьев в растениях контрольного варианта значительно меньше, чем у растений в варианте с минеральным питанием. Больше всего суммарная площадь листьев за вегетацию наблюдается у растений лимона, получавших органо-минеральное питание.

У апельсина и мандарина по количеству и суммарной площади листьев наблюдается такая же закономерность по вариантам опыта, как и у лимона.

Улучшение водно-питательного режима в сочетании с благоприятным температурным режимом в зоне корневой системы цитрусовых способствовало образованию большого прироста и листовой поверхности.

Таким образом, в благоприятных для цитрусовых условиях с оптимальным обеспечением питания, влагой и аэрацией, развивается мощная корневая система. В результате этого надземная часть хорошо работает, обеспечивая необходимой влагой и питанием, и развивает мощную ассимиляционную поверхность. Все это способствует достижению потенциальной урожайности цитрусовых.

Таблица 2.

Формирование листовой поверхности citrusовых

Варианты опыта	До начало вегетации			Число листьев за вегетацию шт.	Средняя площадь 1 листа за вегетацию см ²	Суммарная площадь листьев за вегетацию, м ²
	Число листьев, шт.	Средняя площадь 1 листа, м ²	Суммарная площадь листьев, м ²			
Лимон						
Контроль	2008	25,3	5,1	5813	25,2	14,6
Органо-минеральное питание	3990	31,7	12,6	7448	32,2	24,0
Минеральное питание	2688	27,9	7,5	6309	27,8	17,5
Мандарин						
Контроль	1484	18,6	2,8	3589	18,2	6,5
Органо - минеральное питание	1690	26,5	4,5	5124	26,0	13,3
Минеральное питание	1520	24,9	3,8	3914	24,6	9,6
Апельсин						
Контроль	1330	22,5	3,0	36,8	22,2	8,1
Органо - минеральное питание	1573	27,7	4,3	4502	28,3	12,7
Минеральное питание	1001	26,5	2,6	3599	26,7	9,6

Литература

- Александров А.Д. Культура лимона в СССР. – М.: Сельхозгиз, 1947. – 293 с.
- Воронцов В.В., Штейман У.Г. Возделывание субтропических культур. – М.: Колос, 1982. – 271 с.
- Гутиев Г.Т. Мосияш А.С. Климат и морозостойкость субтропических растений – Л: Гидрометеиздат, 1977. – 260 с.
- Махмадбеков С. Цитрусоводство в Таджикистане. – Душанбе: Дониш, 1976. – 62 с.
- Надарая Г.Б. Научные основы получения высоких и устойчивых урожаев citrusовых. – Тбилиси: Ганатлеба, 1966. – 367 с.
- Цулая В.И., Эшонкулов У.Э. Citrusовые в Таджикистане. – Душанбе: Ирфон, 1965. – 43 с.

THE GROWTH CHARACTERISTICS OF SHOOTS AND THE FORMATION OF LEAF SURFACE IN CITRUS IN DIFFERENT GROWING CONDITIONS

S.M. Gulov¹, H.A. Abdullaev², M.B. Dadoboeba³, R.Sh. Hakimova³

¹Tajik Agrarian University, Dushanbe, Tajikistan, *sgulov@gmail.com*

²Institute of botany, physiology and plant genetics of the Academy of Sciences RT, Dushanbe, Tajikistan, *bahshullo@mail.ru*

³B. Gafurov Khujand state University academician, Khujand, Tajikistan, *sher-23051991@mail.ru, Leo-1992@mail.ru*

Abstract. In this paper the result of research of physiological responses of citrus to different doses of mineral nutrition in the growing conditions of the Northern part of Tajikistan is given. It is shown that plants of lemon in a variant with organic-mineral nutrition have a higher number of shoots and their length was compared with the control. At the end of the vegetation period in plants with organic-mineral nutrition number of leaves and their area is greatly increased. A similar pattern is observed in Mandarin and orange of citrus. It is established that in favorable conditions provided with optimal nutrition, moisture and aeration develop a strong root system, which ensures the formation of a high yield.

Key words: *mineral nutrition, citrus fruits, productivity*

ГЛИКОГЛИЦЕРОЛИПИДЫ ТОНОПЛАСТА ПОД ВЛИЯНИЕМ АБИОТИЧЕСКИХ СТРЕССОВ

В.В. Гурина, Н.В. Озолина, И.С. Нестёркина, Е.В. Спиридонова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, nichka.g@bk.ru

Аннотация. Проведено изучение содержания гликоглицеролипидов вакуолярных мембран корнеплодов столовой свеклы. При гиперосмотическом стрессе существенно уменьшалось соотношение ДГДГ/МГДГ и также снижалось количество МГДГ, что может являться защитной реакцией при данном виде стресса.

Ключевые слова: липиды, гликоглицеролипиды, абиотические стрессы, вакуолярные мембраны

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-249-251

В природных условиях среды растения подвергаются абиотическим, биотическим и антропогенным стрессовым воздействиям. Известно, что биологические мембраны первыми реагируют на стрессовые факторы. Роль мембран очень разнообразна и зависит от качественного и количественного состава молекулярных структур, которые лежат в их основе. Большой интерес представляет вакуолярная мембрана, которая участвует в переносе ряда соединений, восприятию внутриклеточных сигналов и др. Мембраны состоят из липидов, белков, углеводов. Относительное содержание липидов и белков зависит от типа мембран. Липиды в мембранах выполняют не только структурную функцию, но также принимают участие в различных процессах, протекающих в клетках. Основная часть липидов не является высокомолекулярными соединениями и обычно они связаны с другими биополимерами. В тонопласте содержится до 80% липидов от общего веса и липидный состав не является случайным. Основную часть липидов тонопласта занимают фосфолипиды, гликоглицеролипиды (ГЛ) и в меньшей степени нейтральные липиды. Липиды неодинаковых типов обладают различными биофизическими и биохимическими характеристиками, и поэтому в гидратированных средах ведут себя по-разному. Моногалактозилдиацилглицерины (МГДГ), имея небольшую полярную группу, могут переходить в гексагональную фазу, тем самым, нарушая липидный бислои, а также инициировать образование дополнительных гидрофильных водных каналов в биологической мембране, позволяющих пассивную диффузию воды через мембраны [Hirayama and Mihara, 1987]. Дигалактозилдиацилглицерины (ДГДГ) образуют стабильные ламеллярные (двуслойные) структуры. ГЛ очень обогащены полиненасыщенными жирными кислотами, в частности гексадекатриеновой кислотой (16: 3) и α -линоленовой кислотой (18: 3). Биосинтез МГДГ в растениях происходит путем переноса галактозы на диацилглицерин с помощью МГДГ-синтаз и ДГДГ путем галактозилирования МГДГ с УДФ-галактозой (UDP-Gal) в качестве донора сахара с помощью ДГДГ-синтаз. ГЛ наиболее распространены в пластидах, но и в других мембранах они играют важную роль. Снижение синтеза ГЛ влияет на ультраструктуру хлоропластов, на содержание хлорофилла и эффективность фотосинтеза [Jarvis et al., 2000]. Во время роста, ограниченного фосфатом, растения перестраивают свои мембраны, частично заменяя фосфолипиды ГЛ, чтобы сохранить фосфат для других метаболических процессов [Tawarayama et al., 2018]. Также исследователи предполагают участие ГЛ в ответе на различные абиотические стрессы. Например, экспрессия МГДГ-синтаз повышается при высоком засолении, затоплении и засухе в *Oryza sativa* L. и *Arabidopsis thaliana* [Qi et al., 2004; Klecker et al., 2014]. Увеличение количества

фермента MGD1 обеспечивает синтез ГЛ для восстановления мембран или в качестве предшественников оксипипина [Kobayashi et al., 2009; Böttcher and Weiler, 2007]. Другая реакция на стресс – это ацилирование углерода С6 галактозы МГДГ и ДГДГ у разных видов растений [Vu et al., 2014].

Цель работы – изучение динамики содержания гликоглицеролипидов вакуолярной мембраны вакуолярной мембраны столовой свеклы в условиях гипо-, гиперосмотического и окислительного стрессов. Объектом исследования были вакуолярные мембраны корнеплодов столовой свёклы (*Beta vulgaris* L.), выделенные по методу [Саляев и др., 1981]. Для создания гиперосмотического стресса корнеплоды подвергали подсушиванию в течение 3-х суток, гипоосмотического – в течение суток выдерживали в дистиллированной воде, окислительного стресса – кусочки ткани корнеплода инкубировали в растворе перекиси водорода. Для оценки влияния осмотического и окислительного стресса были использованы разные контроли, для осмотических стрессов корнеплоды, не подвергнутые стрессам, а для окислительного – кусочки ткани корнеплода, инкубированные в дистиллированной воде. Экстракцию липидов проводили по методу [Bligh and Dyer, 1959]. Для разделения липидов использовали одномерную систему: ацетон – бензол – вода (91:30:8). Обнаружение и идентификацию ГЛ в растительном материале проводили с помощью стандартов. Количество ГЛ определяли по методу Дюбуа [Dubois et al., 1956], в модификации Роугхана и Батта [Roughan and Batt, 1986].

Анализ полученных данных показал, что при воздействии осмотических стрессов содержание МГДГ уменьшалось, при окислительном стрессе наоборот увеличивалось по сравнению с контролем. При изучении гиперосмотического стресса на других объектах было также показано снижение содержания МГДГ, что вероятно объясняется устойчивостью этих растений к данному виду стресса, так как увеличение содержания МГДГ приводит к дестабилизации бислоя мембран, вызывая переход в гексагональную фазу липидов. Количество ДГДГ в условиях гиперосмотического стресса также достоверно снижалось, при гипоосмотическом существенных изменений выявлено не было. При окислительном стрессе содержание ДГДГ увеличивалось, что возможно связано со стабилизирующими свойствами этого ГЛ в мембране. Такие же данные были получены и при изучении влияния температурных стрессов [Chen et al., 2006] и засухи [Quartacci et al., 1995] на других мембранах.

Суммарное количество МГДГ и ДГДГ при гиперосмотическом стрессе достоверно снижалось, а при окислительном увеличивалось. Соотношение ДГДГ/МГДГ применяют для оценки стрессового воздействия и адаптационных возможностей мембраны. ДГДГ/МГДГ в условиях гипоосмотического и окислительного стрессов увеличивалось. Увеличение отношения ДГДГ/МГДГ характеризует увеличение стабильности бислоя, мембранную целостность и обеспечивает нормальное функционирование мембранных белков. При гиперосмотическом стрессе это соотношение уменьшалось, и это возможно является защитной реакцией, так как количество МГДГ тоже снижалось.

Гликоглицеролипиды в вакуолярных мембранах выполняют не менее важную функцию, чем в других клеточных мембранах, поэтому полученные результаты вносят вклад в исследование динамики липидов при воздействии абиотических стрессов.

Литература

Саляев Р.К., Кузеванов В.Я., Хаптагаев С.Б., Копытчук В.Н. Выделение и очистка вакуолей и вакуолярных мембран из клеток растений // Физиология растений. – 1981. – Т. 28. – С. 1295–1305.

Bligh E.G., Dyer W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification // *Can. J. Biochem. Physiol.* – 1959. – № 37. – P. 911–917.

Chen J., Burke J.J., Xin Z., Xu C., Velten J. Characterization of the Arabidopsis thermosensitive mutant *atts02* reveals an important role for galactolipids in thermotolerance // *Plant Cell Environ.* – 2006. – V. 29, № 7. – P. 1437–1448.

Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances // *Analyt. Chem.* – 1956. – V. 28, № 3. – P. 350–356.

Roughan P.G., Batt R.D. Quantitative analysis of sulfolipid (sulfoquinovosyl diglyceride) and galactolipids (monogalactosyl and digalactosyl diglycerides) in plant tissues // *Analytical biochemistry.* – 1986. – № 22. – P. 74–88.

Quartacci M.F., Pinzino C., Sgherri C.L., Navari-Izzo. F. Lipid composition and protein dynamics in thylakoids of two wheat cultivars differently sensitive to drought // *Plant Physiol.* – 1995. – № 108. – P. 191–197.

Hirayama O., Mihara M. Characterization of membrane lipids of higher plants different in salt-tolerance // *Agric. Biol. Chem.* – 1987. – V. 51, № 12. – P. 3215–3221.

Tawarayama K., Honda S., Cheng W., Chuba M., Okazaki Y., Saito K., Oikawa A., Maruyama H., Wasaki J., Wagatsuma T. Ancient rice cultivar extensively replaces phospholipids with non-phosphorus glycolipid under phosphorus deficiency // *Physiol Plant.* – 2018.

Vu H.S., Roth M.R., Tamura P., Samarakoon T., Shiva S., Honey S., Lowe K., Schmelz E.A., Williams T.D., Welti R. Head-group acylation of monogalactosyldiacylglycerol is a common stress response, and the acyl-galactose acyl composition varies with the plant species and applied stress // *Physiol Plant.* – 2014. – № 150. – P. 517–528.

Böttcher C., Weiler E. cyclo-Oxylipin-galactolipids in plants: occurrence and dynamics // *Planta.* – 2007. – № 226. – P. 629–637.

Qi Y., Yamauchi Y., Ling J., Kawano N., Li D., Tanaka K. Cloning of a putative monogalactosyldiacylglycerol synthase gene from rice (*Oryza sativa* L.) plants and its expression in response to submergence and other stresses // *Planta.* – 2004. – № 219. – P. 450–458.

Klecker M., Gasch P., Peisker H., Dörmann P., Schlicke H., Grimm B., Mustroph A. A shoot-specific hypoxic response of Arabidopsis sheds light on the role of the phosphate responsive transcription factor PHOSPHATE STARVATION RESPONSE1 // *Plant Physiol.* – 2014. – № 165. – P. 774–790.

Jarvis P., Dörmann P., Peto C.A., Lutes J., Benning C., Chory J. Galactolipid deficiency and abnormal chloroplast development in the Arabidopsis MGD synthase 1 mutant // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2000. – № 97. – P. 8175–8179.

Chen J., Burke J.J., Xin Z., Xu C., Velten J. Characterization of the Arabidopsis thermosensitive mutant *atts02* reveals an important role for galactolipids in thermotolerance // *Plant Cell Environ.* – 2006. – V. 29, № 7. – P. 1437–1448.

Quartacci M.F., Pinzino C., Sgherri C.L., Navari-Izzo. F. Lipid composition and protein dynamics in thylakoids of two wheat cultivars differently sensitive to drought // *Plant Physiol.* – 1995. – № 108. – P. 191–197.

GLYCOGLYCEROLIPIDS OF TONOPLAST UNDER INFLUENCE OF ABIOTIC STRESSES

V.V. Gurina, N.V. Ozolina, I.S. Nesterkina, E.V. Spiridonova

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, Irkutsk, Russia,
nichka.g@bk.ru

Abstract. The content of glyco-glycerolipids of vacuolar membranes of beet root (*Beta vulgaris* L.) was studied. With hyperosmotic stress, the DGDG/MGDG ratio was significantly decreased and the amount of MGDG also decreased, which may be a protective reaction for this type of stress.

Keywords: lipids, glyco-glycerolipids, abiotic stresses, vacuolar membranes

АКТИВНОСТЬ ПЕРОКСИДАЗ В РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНАХ РАСТЕНИЙ БАТАТА В УСЛОВИЯХ СОЛЕВОГО СТРЕССА

З.Б. Давлятназарова, К. Алиев, Н.Г. Баратова, Н.Х. Норкулов, И.С. Каспарова, У.К. Алиев

Институт ботаники, физиологии и генетики растений Академии наук Республики Таджикистан, Душанбе, Таджикистан, *lab.gen@mail.ru*

Аннотация. Изучено влияние хлоридного засоления на активность антиоксидантных ферментов в листьях и корнях двух генотипов батата. Показано, что реакция систем, обеспечивающих защиту от повреждающего действия солевого шока, различалась в зависимости от локализации антиоксидантных ферментов в органах растений. В листьях активность аскорбатпероксидазы (АПО) была значительно выше, чем в корнях, а активность гваяколпероксидазы (ГвПО) в корнях значительно превосходила активность в листьях у обоих генотипов. Активность АПО и ГвПО имели разный уровень накопления в листьях и корнях батата во всех периодах воздействия солевого стресса, что в комплексе оказало существенную роль в обезвреживании активных форм кислорода (АФК), образующихся в условиях повышенных концентраций NaCl.

Ключевые слова: батат, окислительный стресс, пероксидаза, АФК, NaCl

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-252-255

Солевой стресс (NaCl) провоцирует окислительный стресс, который ведет к угнетению физиолого-биохимических процессов в клетке, нарушению водного гомеостаза, разрушению мембран и, в конечном итоге, гибели растений [Синькевич и др., 2009; Nasegawa et al., 2000; Кузнецов, Дмитриева, 2005]. Как известно, растения обладают антиоксидантными системами, защищающими их от повреждения и действия окислительного стресса, вызванного сверхпродукцией активных форм кислорода (АФК). Показано, что при солевом шоке усиливается образование АФК и это, в свою очередь, может стимулировать синтез ферментов антиоксидантных систем [Давлятназарова и др., 2013], и, в частности, пероксидаз, среди которых важную роль играют аскорбат-, глутатион-, и гваякол-пероксидазы. Активность последней связана с фенольным обменом в клетках, функционированием различных механизмов, участвующих в лигнификации клеточной стенки, процессах роста и развития растений в целом [Hernandez et al., 1999].

Батат является новой продовольственной культурой в Таджикистане. Высокий интерес к этой культуре вызван, прежде всего, тем, что растения батата могут играть существенную роль в обеспечении продовольственной безопасности в условиях изменения климата, так как обладают большим адаптационным потенциалом.

Целью данного исследования явилось изучение влияния солевого стресса на активность пероксидазной системы в листьях и корнях у контрастных по морфофизиологическим показателям генотипов батата.

Объектом исследования служили два генотипы батата (*Ipomoea batatas* L.), полученные из Международного центра картофеля СИП, Перу (№ 3, по каталогу СИП № 106090.1 и № 13, по каталогу СИП № 440136). Эти генотипы имели различия по форме листовой пластинки, длине стеблей, количеству междоузлий, корнеобразованию, а также имели различный уровень содержания антоцианов и β-каротина в клубнях. Растения помещали в водную среду, содержащую 1% NaCl в течение 3-х суток. Определение активности аскорбатпероксидазы, проводили по методу [Борисова и др., 2012]. Активность гваяколпероксидазы определяли согласно [Nakano, Asada, 1981]. Опыты проводились в трёх биологических повторностях и были статистически

обработаны с использованием стандартной компьютерной программы MS Excel. Отличия считали значимыми при $P < 0.05$. Средние значения и их ошибки приведены на рисунках.

При воздействии солевого стресса (1,0% NaCl) на растения батата от 24 до 72 ч наблюдалось увеличение активности АПО и ГВПО в листьях, как у клона № 3, так и клона № 13. Следует отметить, что по содержанию антоцианов в листьях клон № 3 превосходил № 13. Активность АПО повышалась, достигая максимального значения к 24 ч солевого шока у обоих генотипов, а после 48 ч и далее к 72 ч воздействия 1,0% NaCl активность несколько снизилась, но была выше контроля (рис. 1). Содержание АПО в листьях было выше, чем в корнях, как у богатого по содержанию антоцианов клона № 3, так и бедного по антоцианам клона № 13.

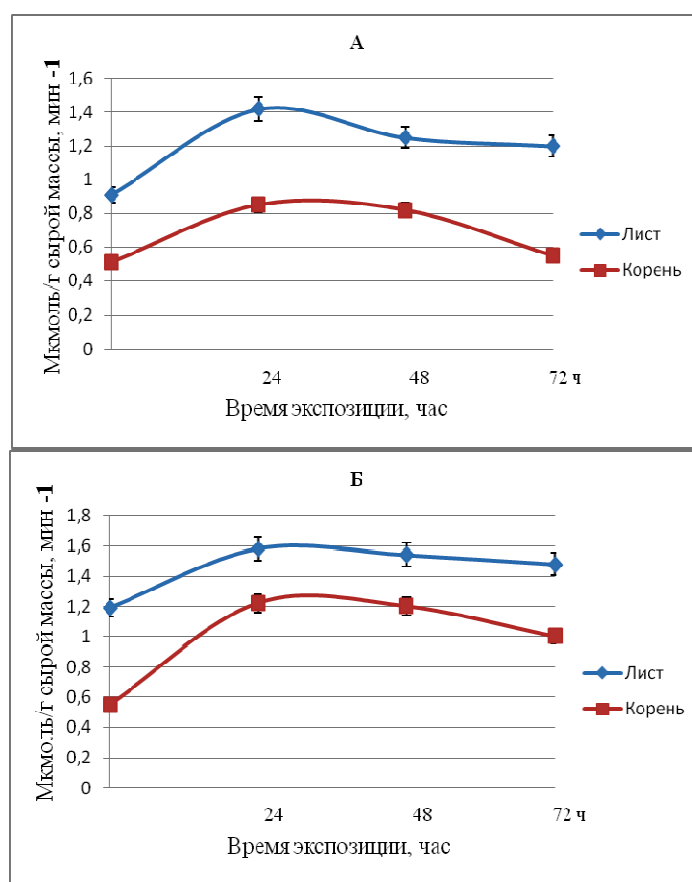


Рис. 1. Активность АПО клона № 3 (А) и № 13 (Б) при воздействии 1% NaCl.

Солевой стресс оказывал влияние на активность как АПО, так и ГВПО в листьях и корнях батата. Так, в первые часы воздействия соли в листьях клона № 3 активность ГВПО повышалась, достигая максимума к 24 ч солевого шока и далее несколько снижалась. Такой же характер наблюдался у клона № 13, но уровень активности ГВПО у № 13 был выше, чем у клона № 3. Повышение активности ферментов также наблюдалось в корнях растений, но активность ГВПО в корнях была выше, чем в листьях (рис. 2).

Таким образом, в листьях клона №3 – богатого антоцианами, активность АПО, была ниже, чем у антоциано бедного клона № 13. А в корнях имело место увеличение активности ГВПО, причем у клона № 3 этот показатель был также ниже, чем у № 13. Более того, необходимо отметить, что такая тенденция сохраняется как при низких концентрациях NaCl (0,5%), так и при повышенных концентрациях (1,0%).

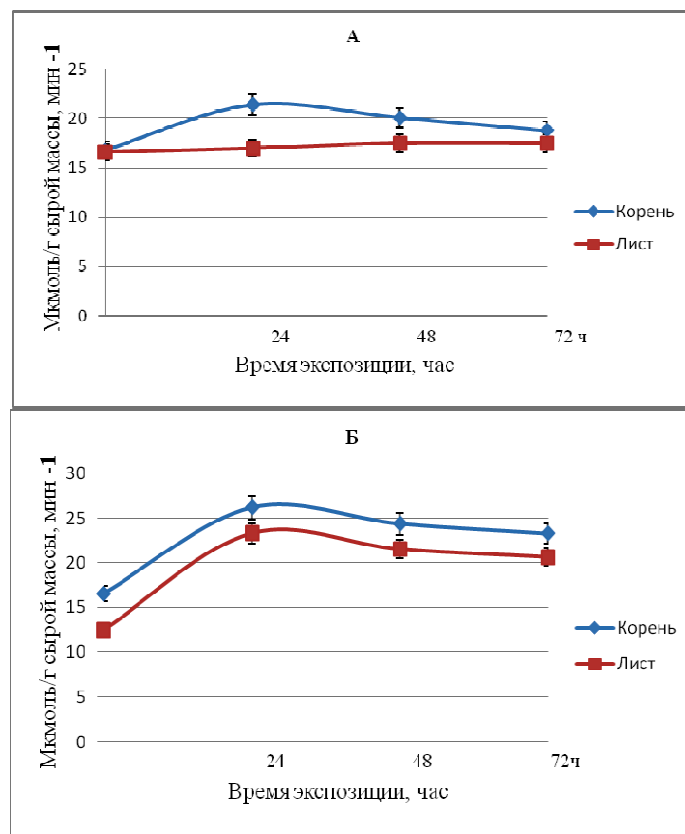


Рис. 2. Активность ГвПО клона № 3 (А) и клона № 13 (Б) при воздействии 1% NaCl.

Таким образом, полученные результаты показали, что у исследованных нами клонов батата реакция систем, обеспечивающих защиту от повреждающего действия солевого шока, различалась и зависела от локализации антиоксидантных ферментов по органам растений.

Литература

- Борисова Г.Г. и др. Методы оценки антиоксидантного статуса растений: учеб.-метод. пособие. – Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2012. – 72 с.
- Давлятназарова З.Б., Киёмова З.С., Норкулов Н.Х., Ашуров С.Х., Алиев К. Влияние засоления и засухи на про- и антиоксиданты хлоропластов растений картофеля // Докл. АН Республики Таджикистан. – 2013. – Т. 56, № 9. – С. 745–749.
- Кузнецов Вл.В., Дмитриева Г.А. Физиология растений: учебник для вузов. – Москва: Высш. шк., 2005. – 736 с.
- Синькевич М.С., Дерябин А.И., Трунова Т.И. Особенности окислительного стресса у растений картофеля с измененным углеводным метаболизмом // Физиология растений. – 2009. – Т. 56, № 2. – С. 186–192.
- Hasegawa P.M., Bresan R.A., Zhu J.K., Bohnert H.J. Plant cellular and molecular responses to high salinity // Plant Physiol. – 2000. – V. 51. – P. 463–499.
- Hernandez J.A., Campillo A., Jimenes A. Response of antioxidant systems and leaf water relations to NaCl stress in pea plants // New Phytologist. – 1999. – V. 141. – P. 241–251.
- Nakano Y., Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts // Plant Cell Physiol. – 1981. – V. 22. – P. 867–880.

PEROXIDASE ACTIVITY IN DIFFERENT ORGANS OF BATATA'S PLANTS IN CONDITIONS OF SALT STRESS

Z.B. Davlyatnazarova, K. Aliev, N.G. Baratova, I. Abdulsamat, I.S. Kasparova,
U.K. Aliev

Institute of botany, plant physiology and genetics of Academy of Sciences Republic of
Tajikistan, Dushanbe, Tajikistan, *lab.gen.@mail.ru*

Abstract. The influence of salinity on the activity of antioxidant enzymes in the leaves and roots of two genotypes of sweet potato is studied. It is shown that the reaction of systems providing protection against the damaging effect of salt shock varied depending on the location of antioxidant enzymes in plant organs. In the leaves, the activity of ascorbate peroxidase (APO) was significantly higher than in the roots, and the activity of guaiacol peroxidase (GvPO) in the roots was significantly higher than the activity in the leaves of both genotypes. The activity of APO and GvPO had a different level of accumulation in the leaves and roots of sweet potato in all periods of exposure to salt shock, which in the complex had a significant role in neutralizing the active forms of oxygen (ROS) formed under conditions of elevated NaCl concentrations.

Keywords: *sweet potato, salt stress, peroxidase, ROS*

СОДЕРЖАНИЕ ВОДЫ В ЛИСТЬЯХ НЕКОТОРЫХ ГАЛОФИТОВ И КСЕРОФИТОВ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В АРИДНОЙ ЗОНЕ ТАДЖИКИСТАНА

Д.М. Давлятова¹, М.Б. Ниязмухамедова², Д. Бердыев¹, М.М. Рахимов³,
Ф.А. Косумбекова², Н. Камолов²

¹Курган-Тюбинский государственный университет им. Н. Хусрава, Таджикистан

²Институт ботаники, физиологии и генетики растений Академии наук Республики Таджикистан, Душанбе, Таджикистан, *mukadam.44@mail.ru*

³Таджикский государственный педагогический университет им. С. Айни, Душанбе, Таджикистан

Аннотация. Проведены исследования по содержанию воды в дневной и сезонной динамике в листьях 4 видов галофитов и ксерофитов, произрастающих в аридных условиях Таджикистана. Показано, что в листьях верблюжьей колючки количество воды в мае в течение дня колеблется от 61.3 утром до 70.8% в полдень. В листьях полыни ферганской в мае содержание воды утром и вечером было почти одинаковым, а в полдень оно было пониженным. С середины лета и до конца августа оводненность листьев верблюжьей колючки и полыни ферганской снижается. С наступлением осени содержание воды в листьях верблюжьей колючки и полыни ферганской было повышенным. В листьях соляноколосника Белянже и тамарикса многоветвистого и содержание воды было высоким как в дневной, так и в сезонной динамике. Таким образом, результаты наших исследований выявили, что содержание воды в листьях изученных нами растений колеблется в течение дня по несколько раз и также оно меняется в сезонной динамике, благодаря этому, эти растения обладают устойчивостью, пластичностью и приспособляемостью к стрессовым условиям произрастания.

Ключевые слова: галофиты, ксерофиты, пустыня, содержание воды

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-256-258

Заповедник «Тигровая балка» характеризуется уникальными климатическими и агроэкологическими особенностями, поэтому и требует комплексного подхода к изучению морфо-физиологических и биохимических показателей растений в целях их рационального использования и правильного преобразования растительного покрова и ландшафта.

В литературе уже было достаточно опубликовано работ по разным показателям водного режима [Бейдеман, 1962; Прозоровский, 1984; Молотковский, 1984], но комплексных эколого-физиологических и биохимических исследований в условиях заповедника «Тигровая балка», к сожалению, не было проведено.

В связи с этим целью нашей работы было изучение в дневной и сезонной динамике содержания воды в листьях 4-х растений-галофитов и ксерофитов, произрастающих в условиях заповедника «Тигровая балка», для выявления наиболее перспективных видов пустынных растений и улучшения деградированных пастбищ

Объектами исследования служили 4 вида растений галофитов и ксерофитов: верблюжья колючка (*Alhagi canescens* (Regel) Shap. ex Keller et Shap.), полынь ферганская (*Artemisia ferganensis* Krasch. ex Poljak.), соляноколосник Белянже (*Halostachys belangeriana* (Moq.) Botsch.), тамарикс многоветвистый (*Tamarix ramosissima* Ledeb).

Содержание воды вычисляли в процентах от сухой массы.

Результаты анализа содержания воды в листьях изученных растений, произрастающих в аридных условиях заповедника «Тигровая балка» в дневной динамике показали, что в листьях верблюжьей колючки количество воды в мае в течение дня колеблется от 61.3 утром до 70.8% в полдень, вечером содержание воды

снижается до утреннего уровня. В июне-июле утром содержание воды почти одинаковое, а в полдень и вечером её количество снижается до 63.3%. В августе утром и вечером содержание воды в листьях почти одинаковое, в полдень (12⁰⁰) оводнённость листьев была высокой и достигала 70.3%. В сентябре листья верблюжьей колючки в течение дня незначительно теряют воду, утром и вечером содержание воды было почти на одном уровне, а в полдень количество воды снизилось до 66.2% из-за того, что днём температура воздуха и почвы ещё очень высокая. В октябре, после ночной прохлады, в листьях утром содержание воды было повышенным – 71.8%.

В листьях полыни ферганской в мае содержание воды утром (8⁰⁰) и вечером (15⁰⁰) было почти одинаковым, в полдень оно снижалось до 57.4%. В июне утром количество воды было 67.4%, а в полдень и вечером оно немного снизилось. В июле утром количество воды было – 61.5%, в полдень оно повысилось на 8.3%, а в 15⁰⁰ ч повысилось незначительно. В августе влажность листьев была 62.2%, в течение дня её содержание незначительно повышалось. С наступлением осени в листьях содержание воды продолжало колебаться, относительно максимальная оводнённость была в полдень.

В листьях соляноколосника Белянже содержание воды было высоким как в дневной, так и в сезонной динамике. Оводнённость листьев в течение дня и сезона менялась незначительно в пределах 1-2%, листья соляноколосника Белянже, отличающиеся особыми анатомо-морфологическими строениями, способны сохранять содержание воды в аридной зоне, как в дневной, так и в сезонной динамике.

Листья тамарикса многоветвистого утром в мае и июне имели почти одинаковое содержание воды, вечером в эти месяцы содержание воды немного повысилось, но оставалось почти на одном уровне. В июле влажность листьев утром и в полдень (12⁰⁰) была почти одинаковой (67.2-67%). В августе наблюдали самое высокое содержание воды в листьях тамарикса многоветвистого в течение дня (от 70.8% утром; 72.4% – в полдень, 70.7% – вечером). До конца вегетации листья тамарикса многоветвистого умеренно сохраняли воду, и даже в октябре в полдень содержание воды в листьях было максимальным – 73.2%. Тамарикс многоветвистый, даже в самую жару летом и с наступлением осени, лавируя, способен сохранять уровень воды в листьях, необходимый для жизнедеятельности.

Таким образом, результаты наших исследований показали, что у изученных нами галофитов и ксерофитов содержание воды в растениях, как правило, ниже, чем у мезофитов, однако её количество в течение дня изменчиво и оно несколько раз меняется. Это позволяет таким растениям обеспечить пластичность, устойчивость и приспособляемость к аридным условиям пустынь или полупустынь с высокой температурой и низкой влажностью воздуха.

Литература

Бейдеман И.Н. Транспирация растений в Кура-Араксинской низменности при различном увлажнении и засолении почв // Эколого-геоботанические и агрономелиоративные исследования в Кура- Араксинской низменности Закавказья. – М.: АН СССР, 1962. – С. 329–405.

Молотковский Ю.И. Биоэкологические особенности и водный режим растений лесных флороценотивов Таджикистана: Автореф. дисс .. д.б.н. – Новосибирск, 1984. – 49 с.

Прозоровский А.В. Растительность СССР. Полупустыни и пустыни СССР. – М.: Наука, 1984. – 255 с.

WATER CONTENT IN LEAVES OF HALOPHYTES AND XEROPHYTES GROWING IN ARID ZONE OF TAJIKISTAN

D.M. Davlatova¹, M.B. Niyzmuamedova², D. Berdiev¹, M.M. Rahimov³,
F. Kosumbekova², N. Kamolov²

¹Kurgan-Tyube State University, Tajikistan

²Institute of botany, plant physiology and genetics of Academy of Sciences Republic of
Tajikistan, Dushanbe, Tajikistan, *mukadam.44@mail.ru*

³Tajik State Pedagogical University, Dushanbe, Tajikistan

Abstract. Studies were conducted on the water content in day and seasonal dynamics in the leaves of 4 species of halophytes and xerophytes growing in arid conditions of Tajikistan. It is shown that in the leaves of the camel thorn the amount of water in May during the day varies from 61.3 in the morning to 70.8% at noon. In leaves of wormwood Fergana in May, the water content in the morning and evening was almost the same, and at noon it was lowered. From the middle of summer to the end of August, the waterlogging of the leaves of camel thorn and Fergana wormwood decreases. With the onset of autumn, the water content in the leaves of camel thorn and wormwood Fergana was elevated. In the leaves of the hydrochloric bath of Belianje and the tamarix of the multi-branched and the water content was high both in the daytime and in the seasonal dynamics. Thus, the results of our studies revealed that the water content in the leaves of the plants we studied varies several times during the day and also changes in seasonal dynamics, due to this, these plants possess resistance, plasticity and adaptability to stressful growth conditions.

Keywords: *halophytes, xerophytes, desert, water content*

ЗАВИСИМОСТЬ ФОРМИРОВАНИЯ ХОЛОДОУСТОЙЧИВОСТИ У РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ ОТ ОСОБЕННОСТЕЙ УГЛЕВОДНОГО МЕТАБОЛИЗМА

А.Н. Дерябин, Н.В. Астахова, Г.П. Алиева, Т.И. Трунова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия, trunova@ippras.ru

Аннотация. Изучали влияние экспрессии гена *SUC2*, кодирующего инвертазу *Saccharomyces cerevisiae* (апопластный вариант локализации фермента) на морфологические, физиологические и биохимические показатели трансформированных растений картофеля (*Solanum tuberosum* L., cv. Désirée). Повышенная активность дрожжевой инвертазы увеличивала содержание сахаров в апопласте, листьях и корнях трансформированных растений, что привело к изменению их морфометрических и физиологических параметров. Наши данные свидетельствуют о повышенной устойчивости трансформированных растений к различным низкотемпературным условиям.

Ключевые слова: *Solanum tuberosum*, инвертаза, низкая температура, *SUC2* ген, сахара
DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-259-263

Низкотемпературная адаптация – процесс формирования свойств морозо- или холодостойкости растений в соответствующих генотипу условиях – включает изменение гомеостаза, в целом и, в частности, перепрограммирование углеводного метаболизма [Nägele et al., 2011]. Одним из обязательных условий развития максимальной морозо- и холодостойкости является накопление в тканях соответствующих растений достаточного для этого процесса содержания сахаров [Трунова, 2007]. Культивируемые *in vitro* растения представляют удобную модель для изучения как углеводного метаболизма (в силу возможности направленной модификации состава и содержания сахаров в среде выращивания), так и действия различных стресс-факторов (в том числе, низкой температуры), избегая отрицательного влияния факторов окружающей среды. Поддерживаемые *in vitro* растения находятся в строго контролируемых по фотопериоду, освещенности, температуре, влажности воздуха и др. параметрам, условиях. В данной работе изучали основные закономерности, обуславливающие формирование повышенной холодостойкости растений картофеля, как типичного представителя группы холодостойких растений, с выявлением роли ключевого фермента углеводного метаболизма – инвертазы (К.Ф. 3.2.1.26) клеточных стенок (апопластная инвертаза) в этом процессе. Изменение содержания сахаров в тканях достигалось тремя способами: 1) модификацией углеводного состава среды выращивания растений, 2) длительной экспозицией растений при низкой закалывающей температуре и, 3) использованием трансформанта с конститутивно повышенным содержанием сахаров в вегетативных органах.

Объектами исследования служили растения картофеля (*Solanum tuberosum* L., сорт Дезире) (далее WT-растения) и полученная на их основе линия со встроенным целевым геном *suc2*, кодирующим белок инвертазы *Saccharomyces cerevisiae* (далее *B33-inv*-растения). В экспрессионном векторе ген *suc2* находился под контролем пататинового промотора *B33* класса I и был слит с последовательностью лидерного пептида ингибитора протеиназы II картофеля, обеспечивающего апопластную локализацию дрожжевой инвертазы. *B33-inv*-растения были получены с помощью агробактериальной трансформации, отобраны *in vitro* на МС-среде с канамицином и проверены на экспрессию трансгена методом Northern блот-гибридизации [Sonnwald et al., 1997]. Растения картофеля выращивали в пробирках при 22 °С и 16-ч световом дне (мощность светового потока 100 мкмоль квантов/(м²·с)) в течение 5 недель на МС-

среде, дополненной сахарозой (0, 2 или 4%), pH 5,8. Для оценки функционального состояния растений был использован комплекс параметров, широко применяемых в современных эколого-физиологических исследованиях, такие как ростовые показатели, активность в листьях различных типов инвертазы, содержание сахарозы, глюкозы и фруктозы, интенсивность фотосинтеза и дыхания, фотоморфометрия ультраструктурных элементов хлоропластов, а также стресс-маркеры – степень проницаемости мембран для электролитов и содержание малонового диальдегида (МДА), как одного из конечных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ).

У *B33-inv*-растений была подтверждена встройка полной последовательности переносимого трансгена в ядерный геном, экспрессия дрожжевого гена *suc2* и выявлена высокая активность целевого белка – дрожжевой инвертазы, находящейся в апопласте в растворимой форме [Дерябин и др., 2014; Deryabin et al., 2016, 2018]. При этом собственная апопластная инвертаза картофеля ионно-связана с клеточной стенкой [Roitsch et al., 2003]. Инвертаза клеточных стенок регулирует многие процессы, такие как, флоэмную разгрузку, концентрацию сахарозы в свободном пространстве (апопласте) и её транспорт через плазмалемму [Fotopoulos, 2005]. Благодаря использованию *B33-inv* растений была установлена важная роль инвертазы клеточных стенок в изменении баланса между процессами фотосинтеза и оттоком ассимилятов во флоэму, приведшем к накоплению в тканях трансформантов сахаров, и как следствие, снижению морфометрических, ростовых и фотосинтетических показателей, что обусловило повышенный уровень их конститутивной холодоустойчивости [Deryabin et al., 2005, 2018].

Результатом конститутивной экспрессии гена *suc2* явилось уменьшение числа и размера структурных элементов хлоропластов, что согласуется с отставанием в росте и снижением скорости фотосинтеза у трансформантов, по сравнению с WT-растениями. Увеличение внутриклеточной концентрации сахаров у *B33-inv*-растений привело к формированию ксероморфной ультраструктуры хлоропластов, особо выраженной при низкотемпературном закаливании, что обеспечивало трансформантам пониженную холодочувствительность фотосинтетического аппарата. У WT-растений, в отличие от трансформантов, при снижении температуры процесс фотосинтеза находился в компенсационной точке. Возможно, более высокие значения скорости фотосинтеза у *B33-inv*-растений можно объяснить более выраженным подавлением нарастания сухой массы листьев, на г которых производился расчет фотосинтеза.

В наших исследованиях одним из приёмов изменения концентрации внутриклеточных сахаров в вегетативных органах была использована 6 суточная экспозиция растений картофеля на свету при низкой закалывающей температуре 5 °С. В этих условиях у обеих линий растений выявлены высокая степень изменений в листьях состава пигментов, ультраструктурной организации хлоропластов и параметров углеводного метаболизма. При этом пигментный аппарат *B33-inv* растений показал более высокую устойчивость к охлаждению, т.к. отношение хл *a* к хл *b* у них уменьшилось на 15%, а у WT-растений на 45%. Установлена положительная корреляция ($r = 0,90-0,99$) между активностью инвертазы клеточных стенок и содержанием глюкозы, что свидетельствует о сопряженности этих процессов. При низкотемпературном закаливании происходило накопление сахаров в вегетативных органах, которые в порядке возрастания их содержания можно расположить следующим образом: стебель, корни, листья. В итоге, суммарная концентрация сахаров в листьях и апопласте трансформантов была почти на треть выше, чем у WT-растений, что является существенным для выживания в условиях действия низких температур. Установлена высокая отрицательная корреляция ($r = -0,80$) между содержанием сахаров в корнях и листьях, подтверждающая активное поступление сахаров из

питательной среды и свидетельствующая о важности у холодостойких растений перераспределения растворимых сахаров в пользу надземной части (листья), по сравнению с подземными органами (корень).

Низкие положительные температуры не интенсифицировали свободно-радикальные реакции в листьях картофеля обеих линий. Поэтому были подобраны режимы охлаждения, позволившие ранжировать линии в зависимости от степени их холодостойкости. После низкотемпературного закаливания растения обеих линий повышали свою устойчивость к последующему жёсткому охлаждению, при этом *B33-inv*-растения приобретали бóльшую устойчивость (на основании данных по накоплению в листьях МДА, а также выживаемости растений спустя 1 сутки после тестирующего промораживания), что свидетельствует о меньших повреждениях их мембран и бóльших репарационных возможностях. В условиях действия пониженной температуры в листьях *B33-inv*-растений, по сравнению с WT-растениями, наблюдали меньшую интенсивность ПОЛ и активность СОД. Данные по электропроводности тканей листьев подтвердили полученные ранее результаты и свидетельствовали о повышенной холодоустойчивости трансформантов, по сравнению с WT-растениями. В последствии различных режимов жёсткого краткосрочного охлаждения (без льдообразования) наблюдали транзитное изменение содержания МДА с менее выраженным эффектом у *B33-inv*-растений. Характер изменений показателей холодоустойчивости зависел от интенсивности и продолжительности действия низкой температуры и был менее выражен у трансформантов, ткани которых более обогащены сахарами [Deryabin et al., 2005; Дерябин и др., 2016].

Углеводная модификация среды выращивания показала прямую зависимость активности цитоплазматической инвертазы (в отличие от апопластной и вакуолярной инвертаз) от уровня эндогенных сахаров (при оптимальной для роста температуре). Установлена ведущая роль цитоплазматической инвертазы в изменении внутриклеточного состава сахаров при модификации углеводного состава среды выращивания. Содержание МДА в листьях при охлаждении растений также зависело не только от экспрессии гена *suc2*, но и от концентрации сахарозы в среде выращивания. Отсутствие сахаров в среде приводило к накоплению МДА, и наоборот, наличие экзогенной сахарозы (2-4%) снижало содержание МДА. При действии и в последствии низкой повреждающей (отрицательной) температуры активность всех типов инвертаз имела обратную зависимость от внутриклеточной концентрации глюкозы и сахарозы. Установлено, что холодоустойчивость растений имела нелинейную обратную зависимость от концентрации внутриклеточных сахаров, опосредованной уровнем сахарозы в среде выращивания.

Полученные данные свидетельствуют, что один из механизмов повышения холодоустойчивости растений связан с активацией инвертазы клеточных стенок и накоплением сахаров (глюкозы и сахарозы) в листьях (как в клетках, так и в апопласте) и корнях. Показана способность сахаров стабилизировать структурно-функциональное состояние клеточных мембран и снижать интенсивность свободнорадикальных процессов, как конститутивно, так и в условиях низкотемпературного стресса. Следовательно, накапливаемые конститутивно и при действии низкой температуры сахара регулировали процесс формирования холодоустойчивости. Известно, что концентрация сахаров в клетках растений является одним из факторов, влияющих на экспрессию генома. Сахара способны избирательно усиливать либо ослаблять биосинтез метаболитов (белков, липидов, органических кислот и др.), что сказывается на проявлении такого признака, как устойчивость растения к низкой температуре. Следовательно, индуцируемая низкой температурой активность инвертазы клеточных стенок приводила к изменению апопластного и внутриклеточного состава сахаров, что

позволяет рассматривать ее в качестве стрессового фермента углеводного обмена, участвующего в процессе формирования повышенной устойчивости холодостойких растений. В условиях действия низкой температуры уровень сахаров в клетках растений оказывал регулирующее воздействие на интенсивность свободно-радикальных процессов, морфофизиологические процессы (рост, фотосинтез, дыхание, структуру хлоропластов и др.) и, в целом, процесс формирования холодоустойчивости [Deryabin et al., 2016, 2018; Deryabin, Trunova, 2016, 2017].

Сделано заключение, что изменение активности только одного фермента углеводного метаболизма, инвертазы клеточных стенок, существенно перестраивает метаболические процессы у растений и способствует увеличению уровня их холодоустойчивости. Увеличение активности инвертазы клеточных стенок в условиях действия низких температур следует рассматривать как часть катаболического процесса, являющегося одним из составляющих стрессовой реакции растений. При этом сам фермент выполняет важную регуляторную функцию в модификации внутриклеточного состава сахаров, учитывая, что субстрат инвертазы клеточных стенок (сахароза), а также продукты реакции гидролиза (глюкоза, фруктоза) являются активными полифункциональными метаболитами, оказывающими существенное влияние на процесс формирования холодоустойчивости у растений. Полученные результаты указывают на важную роль апопластной инвертазы в индукции устойчивости растений картофеля к низкой температуре.

Работа частично поддержана Российским фондом фундаментальных исследований. Авторы благодарны сотрудникам Лаборатории сигнальных систем контроля онтогенеза им. акад. М.Х. Чайлахяна ИФР РАН и группе доктора Lothar Willmitzer (Max Planck Institute of Molecular Plant Physiology, Германия) за предоставленные для исследований растения картофеля.

Литература

Дерябин А.Н., Бердичевец И.Н., Бураханова Е.А., Трунова Т.И. Характеристика внеклеточной инвертазы *Saccharomyces cerevisiae* в условиях гетерологичной экспрессии гена *suc2* в растениях *Solanum tuberosum* // Известия РАН. Серия биологическая. – 2014. – № 1. – С. 22–29.

Дерябин А.Н., Бураханова Е.А., Трунова Т.И. Участие апопластной инвертазы в формировании устойчивости холодостойких растений к гипотермии // Известия РАН. Серия биологическая. – 2016. – № 1. – С. 32–40.

Трунова Т.И. Растение и низкотемпературный стресс (64-е Тимирязевские чтения). – М.: Наука. – 2007. – 54 с.

Deryabin A.N., Dubinina I.M., Burakhanova E.A., Sabel'nikova E.P., Trunova T.I. Influence expressing yeast-derived invertase gene in potato plants on membranes lipid peroxidation at low temperature // Journal of Thermal Biology. – 2005. – V. 30, – № 1. – P. 73–77.

Deryabin A.N., Berdichevets I.N., Burakhanova E.A., Trunova T.I. Apoplastic expression and functional role of *Saccharomyces cerevisiae* yeast invertase in transgenic potato plants // Annals Biological Research. – 2016. – V. 7(5). – P. 62–69.

Deryabin A.N., Trunova T.I. The physiological and biochemical mechanisms providing the increased constitutive cold resistant in the potato plants, expressing the yeast *suc2* gene encoding apoplastic invertase // Journal of Stress Physiology & Biochemistry. – 2016. – V. 12. – P. 39–52.

Deryabin A., Trunova T. Transformation of the *Solanum tuberosum* with *Saccharomyces cerevisiae* gene *suc2* encoding cell-wall invertase influences on sugars distribution in plants // Focus on Sciences. – 2017. – V. 3(2). – P. 1–4.

Deryabin A., Berdichevets I., Trunova T. Constitutively expressing of the *suc2* gene of *Saccharomyces cerevisiae* encoding of invertase apoplastic localization in potato plants results in multiple physiological and biochemical changes associated with low temperature resistance // Journal of Plant Chemistry and Ecophysiology. – 2018. – V. 3(1). – P. 1–6.

Fotopoulos V. Plant invertases: structure, function and regulation of a diverse enzyme family // Journal Biological Research. – 2005. – V. 4. – P. 127–137.

Nägele T., Kandel B.A., Frana S., Meissner M., Heyer A.G. A systems biology approach for the analysis of carbohydrate dynamics during acclimation to low temperature in *Arabidopsis thaliana* // FEBS Journal. – 2011. – V. 278. – P. 506–518.

Roitsch T., Balibrea M.E., Hofmann M., Proels R., Sinha A.K. Extracellular invertase: key metabolic enzyme and PR protein // J. Exp. Bot. – 2003. – V. 54. – P. 513–524.

Sonnewald U., Hajlrezaei M.-R., Kossmann J., Heyer A., Thethewey R.N., Willmitzer L. Increased potato tuber size resulting from apoplastic expression of a yeast invertase // Nature Biotechnology. – 1997. – V. 15(8). – P. 794–797.

DEPENDENCE OF THE COLD RESISTANCE OF POTATO PLANTS FROM THE CHARACTERISTICS OF CARBOHYDRATE METABOLISM

A.N. Deryabin, N.V. Astakhova, G.P. Alieva, T.I. Trunova

K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology of the Russian Academy of Sciences,
Moscow, Russia, trunova@ippras.ru

Abstract. We studied the influence of the expression of *SUC2* gene encoding invertase of the *Saccharomyces cerevisiae* (apoplastic version of enzyme localization) on morphological, physiological and biochemical traits of transformed potato plants (*Solanum tuberosum* L., cv. Désirée). It was shown that invertase activity increased the sugars content in the apoplast, leaves and roots of the transformed plants and led to changes in their morphometric and physiological parameters. Our data indicate higher resistance of transformed plants to severe low temperature conditions.

Keywords: *Solanum tuberosum*, invertase, low temperature, *SUC2* gene, sugars

НЕКОТОРЫЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ У РАЗНЫХ СОРТОВ БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ ЗАСУХИ

Б.Б. Джумаев, Х. Ёдгоров, М.Х. Атоев, Ё.Х. Сафаров, А. Абдуллаев

Институт ботаники, физиологии и генетики растений Академии наук Республики Таджикистан, Душанбе, Таджикистан, bahshullo@mail.ru

Аннотация. В работе приведены результаты по изучению некоторых фотосинтетических параметров у 5 сортов бобовых растений в условиях засухи. У всех изученных объектов значение УППЛ у опытных растений в фазе бутонизации и плодоношения выше, чем у контрольных растений, а в фазе цветения у большинства изученных сортов наблюдается такая же закономерность, за исключением растений фасоли «Пёстрая». Выявлено, что в растениях опытного варианта у всех изученных сортов фасоли включение меченого углерода в продукты ФЕП-карбоксилирования, в том числе в малат, выше, чем у контрольных растений. По количественному включению углерода ^{14}C в гликолат, как продукт интермедиата гликолатного цикла, наблюдалась такая же тенденция. Таким образом, на основе полученных результатов можно сделать заключение, что изменение изученных параметров в зависимости от условий водообеспечения, возможно, связано с механизмом адаптации растений к изменяющимся условиям выращивания.

Ключевые слова: бобовые культуре, засуха, удельная поверхность плотность листа, потенциальный фотосинтез, продукты фотосинтеза

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-264-267

Факторы окружающей среды, такие как засуха, засоление почв, недостаток элементов минерального питания, высокие или низкие температуры, ультрафиолетовое излучение, патогены различной природы и другие влияют на продуктивность сельскохозяйственных культур. В связи с этим, изучение адаптационных возможностей и механизмов устойчивости растений к глобальным изменениям климата является чрезвычайно актуальным [Дроздова и др., 2004; Abdullaev, 2008; Давлятназарова и др., 2012]. Известно, что интенсивность фотосинтеза и характер фотосинтетического метаболизма углерода зависят как от комплекса внешних факторов, так и генотипических особенностей растений [Дроздова и др., 2004; Abdullaev, 2008; Давлятназарова и др., 2012; AlamZeb et al., 2006]. Для раскрытия механизмов этих процессов используют различные методы и приемы. Одним из доступных подходов является воздействие на растения почвенной засухи. В условиях почвенной засухи у растений изменяются многие метаболические процессы [AlamZeb et al., 2006; Абдуллаев и др., 2006].

Целью данной работы было изучение некоторых фотосинтетических параметров у разных сортов бобовых растений в условиях засухи.

Объектами исследования служили сорта бобовых культур: фасоль обыкновенная (*Phaseolus vulgaris* L.), маш (*Phaseolus aureus* Roxb.), конский боб, сорта фасоли «Пёстрая», «Красная» (*Phaseolus coccineus* L.), «Чёрный глаз». Полевые опыты проводились на экспериментальном участке Института ботаники, физиологии и генетики растений Академии наук Республики Таджикистан (г. Душанбе), расположенном в восточной части Гиссарской долины на высоте 834 м. над ур. моря. Растения выращивались в вегетационных сосудах (22 кг почвы). Посевы были произведены в весенние сроки. Фотосинтетическую фиксацию $^{14}\text{CO}_2$ при коротких экспозициях проводили по ранее описанному методу [Эргашев и др., 1971]. Источником $^{14}\text{CO}_2$ служил карбонат натрия ($\text{Na}_2^{14}\text{CO}_3$). Экспозиция в камере с $^{14}\text{CO}_2$ продолжалась 60 с, после чего высечки быстро фиксировали в парах кипящего этанола. Затем пробы высушивали в термостате при температуре 67 ... 70 °С. Потенциальную

интенсивность фотосинтеза (ПИФ) определяли радиометрическим методом. Разделение продуктов водно-спиртовой фракции проводили методом двумерной тонкослойной хроматографии на порошке целлюлозы [Белан, Абдурахманова, 1969]. Идентификацию веществ проводили с использованием метчиков.

Результаты анализа некоторых фотосинтетических параметров у разных сортов бобовых растений в условиях засухи представлены в табл. 1-2.

Исследование фотосинтетических параметров листа – удельную поверхностную плотность листа (УППЛ) и потенциальную интенсивность фотосинтеза (ПИФ) показало, что у разных сортов бобовых растений в зависимости от влажности почвы эти параметры изменяются по-разному (табл.1). У всех изученных объектов значение УППЛ у опытных растений в фазе бутонизации и плодоношения превышает над контрольными растениями, а в фазу цветения у большинства изученных сортов наблюдается такая же закономерность, за исключением растений фасоли «Пёстрая». Растения контрольного варианта по данному показателю незначительно превосходят растения опытного варианта.

Таблица 1.

Интенсивность потенциального фотосинтеза (ПИФ) и удельная поверхностная плотность листа (УППЛ) в разных фазах развития и условиях выращивания у сортов бобовых растений

Объекты	Условия эксперимента	ПИФ						УППЛ		
		мг ¹⁴ СО ₂ /г-сухого вещества·ч			мг ¹⁴ СО ₂ /дм ² ·ч			г/дм ²		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3
Конские бобы	К	-	26	-	-	70	-	-	0.369	-
	О	-	32	-	-	75	-	-	0.399	-
Фасоль «Пёстрая»	К	48	47	40	127	113	96	0.380	0.418	0.415
	О	35	25	39	88	61	67	0.400	0.413	0.579
Маш	К	58	61	57	140	153	129	0.415	0.399	0.442
	О	32	19	48	65	39	90	0.495	0.513	0.532
Фасоль «Красная»	К	37	27	51	109	75	141	0.340	0.358	0.362
	О	36	21	40	96	55	97	0.375	0.381	0.412
Фасоль «Чёрный глаз»	К	37	25	41	103	65	78	0.360	0.390	0.505
	О	32	7	40	80	18	75	0.400	0.414	0.532

Примечание: К – оптимальная влажность почвы – 70-80%, О – почвенная засуха; фазы: 1 – бутонизация, 2 – цветение, 3 – плодоношение.

В фазах бутонизации и цветения максимальные параметры УППЛ, обнаружены у растений маша опытного варианта, а в фазу плодоношения у растений фасоли «Чёрный глаз» опытного варианта, которые составляют: 0.495, 0.513 и 0.579 г/дм² соответственно. Самая минимальная УППЛ обнаружена у растений фасоли «Красная» контрольного варианта в фазах бутонизации, цветения и плодобразования, которая составляет 0.340, 0.358 и 0.362 соответственно.

При изучении ПИФ выявлено, что у большинства растений при обоих способах расчёта: как на мг¹⁴СО₂/г-сухого вещества·ч, так и на мг¹⁴СО₂/дм²·ч растения контрольного варианта почти во всех фазах развития превышают растения опытного варианта, за исключением растений фасоли сорта «Конские бобы», у которых в фазу цветения наблюдается обратная зависимость, т.е. ПИФ растений опытного варианта превышает ПИФ контрольных растений при названных способах расчёта.

Таблица 2.

Влияние почвенной засухи на фотосинтетический метаболизм углерода (в % от водно-спиртовой фракции) у разных сортов бобовых растений в фаза цветения

Объекты	Варианты	Старт	ФГК	ФЭС	Сахароза	Гли, сер	Аланин	Глицерат	Гликолат	Малат	Моно сахараиды	Линия фронта
Конские бобы	К	16.5	9.9	8.7	8.7	11.6	7.1	11.1	Сл.	Сл.	11.4	15.0
	О	11.8	8.2	11.0	14.2	13.2	7.8	5.9	6.9	7.2	8.2	5.6
Фасоль «Пёстрая»	К	12.3	10.5	9.4	14.4	11.8	11.1	12.4	Сл.	Сл.	12.2	5.9
	О	11.3	9.1	8.4	11.1	14.6	9.0	8.5	6.1	6.1	7.9	7.9
Маш	К	16.8	16.8	13.1	16.9	9.7	8.1	7.4	6.5	Сл.	Сл.	4.8
	О	15.4	13.0	10.3	14.6	12.0	6.8	7.6	5.3	9.3	Сл.	5.7
Фасоль «Красная»	К	13.1	11.5	15.1	11.0	19.7	9.5	10.8	Сл.	Сл.	Сл.	9.3
	О	9.2	14.9	8.4	13.5	11.7	11.9	5.1	7.4	11.6	Сл.	6.3
Фасоль «Чёрный глаз»	К	5.8	6.2	11.9	19.2	11.8	11.3	9.6	7.0	Сл.	10.7	6.5
	О	13.4	9.1	7.6	14.6	11.7	7.3	9.8	7.3	5.8	6.6	6.8

Примечание: К – оптимальная влажность почвы – 70-80%, О – почвенная засуха. Сл. – следы. ФГК – фосфоглицериновая кислота, ФЭС – фосфорные эфиры сахаров.

Полученные данные по изучению фотосинтетического метаболизма углерода (табл. 2) показывают, что в зависимости от условий водообеспечения у разных сортов растений скорость и количественное включение меченого углерода в продукты фотосинтеза изменяется в разных направлениях процесса фотосинтеза по-разному. Выявлено, что в растениях опытного варианта у всех изученных сортов фасоли включение меченого углерода в продукты ФЕП-карбоксилирования, в том числе в малат, выше, чем у контрольных растений. По количественному включению углерода ^{14}C в гликолат, как продукт интермедиата гликолатного цикла, наблюдалась такая же тенденция. У растений конского боба, фасоли «Пёстрая» и «Чёрный глаз» меченый углерод в большем количестве включается в моносахариды в растениях контрольного варианта по сравнению с растениями опытного варианта. По включению ^{14}C в фосфоглицериновую кислоту, как первичный продукт фотосинтеза у C_3 -растений, контрольные растения конского боба, фасоли «Пёстрая» и маша, в отличие от сортов фасоли «Красная» и «Черный глаз», превосходят растения опытного варианта.

Таким образом, на основе полученных результатов можно сделать заключение, что изменение изученных параметров в зависимости от условий водообеспечения, скорее всего, связано с механизмом адаптации растений к изменяющимся условиям выращивания. По результатам изучения скорости включения меченого углерода в продукты фотосинтеза, можно заключить, что по типу фотосинтетического

метаболизма углерода все изученные сорта бобовых растений, несмотря на уровень изменения водообеспечения, относятся к C_3 -растениям, а изменение скорости и количественного включения меченого углерода в отдельные продукты фотосинтеза у разных сортов бобовых растений, в зависимости от изменения условий выращивания, также связано с их адаптационными свойствами.

Литература

Абдуллаев А., Абдурахмонова З.Н., Джумаев Б.Б. Фотосинтетический метаболизм углерода у хлопчатника. – Душанбе: Дониш, 2001. – 94 с.

Белан Н.Ф., Абдурахманова З.Н. Разделение продуктов фотосинтеза методом хроматографии на тонких слоях // ДАН Тадж. ССР. – 1969. – Т. 12, № 2. – С. 61–63.

Давлятназарова, З.Б., Киёмова З.С., Шукурова М.Х., Каспарова И.С., Алиев К. Биохимические аспекты устойчивости разночувствительных генотипов картофеля к солевому стрессу // Известия АН РТ. Отд. биол. и мед. наук. – 2012. – № 3 (180). – С. 43–49.

Дроздова И.С., Пустовойтова Т.Н., Джибладзе Т.Г., Барабанщикова Н.С., Жданова Н.Е., Маевская С.Н., Бухов Н.Г. Эндогенная регуляция фотосинтетической активности листьев огурца в условиях прогрессирующей почвенной засухи: влияние конечных продуктов фотосинтеза // Физиология растений. – 2004. – Т. 51, № 5. – С. 742–750.

Эргашев А., Абдурахманова З.Н., Кичитов В.К., Насыров Ю.С. // Фотосинтез и использование солнечной радиации. – Л.: Наука, 1971. – С. 226–231.

Abdullaev S.F. Global climate change in conditions of the arid and mountainous zone of Tajikistan and adaptation to climate change. International Workshop of the experts on ecology. – 02-04, April, 2008, Moscow, the ISTC and the State Duma of Russia.

Alam Zeb., Zahir Ali., Taufiq Ali., Abdullaev A. // Pakistan Journal of Biological Science. – 2006. – No. 9. – P. 1823–1827.

SOME PHOTOTHYNTETIC PARAMETERES OF DIFERENT VARIETIES OF KIDNEY BENS IN DROUGHT CONDITION

B.B. Dzhumayev, H. Yodgorov, H. Atoev, Y.H. Safarov, A. Abdullaev

Institute of botany, plant physiology and genetics of Academy of Sciences Republic of Tajikistan, Dushanbe, Tajikistan, bahshullo@mail.ru

Abstract. The article presents result on the study of some photosynthetic parameters of 5 varieties of leguminous plants under drought conditions. In all studied objects LAI in experimental plants is higher in the budding phase than that of control plants. It was found that in the experimental plants the incorporation of labeled carbon in the products of PEP-carboxylation, including malate, is higher in all studied bean cultivars than in control plants. Inclusion of ^{14}C carbon in glycolate - the intermediate of the glycolate cycle has the same tendency. Thus, it can be concluded that the change in the studied parameters depending on water supply may be related to the mechanism of plant adaptation to the growing condition.

Keywords: legumes, drought, specific surface, leaf density, photosynthesis

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНА, КОДИРУЮЩЕГО ПРОДУКЦИЮ 2,4- ДИАЦЕТИЛФЛОРОГЛЮЦИНОЛА, В ГЕНОМАХ БАКТЕРИЙ РОДА *PSEUDOMONAS*

А.М. Дмитриева¹, Н.Л. Белькова²

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия, nastyu.wss@mail.ru

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук СО РАН, Иркутск, Россия, nlbelkova@gmail.com

Аннотация. Микроорганизмы в процессе своей жизнедеятельности вырабатывают различные вещества, обладающие антибактериальной, антигрибковой или противовирусной активностью. Проведено изучение структуры генов *phl*, отвечающих за продукцию 2,4-диацетилфлороглюцинола (2,4-DAPG), в геномах бактерий рода *Pseudomonas*. 2,4-DAPG является высокоэффективным средством биоконтроля различных патогенов.

Ключевые слова: антибиотики, *Pseudomonas*, эндемичные губки, озеро Байкал

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-268-272

Микроорганизмы в процессе своей жизнедеятельности вырабатывают различные химические соединения, среди которых особую роль играют вещества, обладающие антибактериальной, антигрибковой или противовирусной активностью [Netzker et al., 2018]. В сложном микробном консорциуме такие микроорганизмы называются антагонистами, так как способны замедлять или полностью подавлять рост других организмов. Наиболее полно изучены антагонистические отношения между почвенными бактериями, где показано, что увеличение плотности заселения почвы бактериями ведет к активной конкурентной борьбе за существование и тем выше продукция активных бактериальных метаболитов [Lanteigne et al., 2012]. Механизмы действия антибактериальных веществ различны, заключаются в подавлении определенных процессов в обмене веществ бактериальной клетки (разрушение клеточной оболочки, нарушение синтетических процессов, дыхания), размножения и др.

Среди флуоресцирующих представителей рода *Pseudomonas* наиболее изучены продуценты 2,4-диацетилфлороглюцинола (2,4-diacetylphloroglucinol, 2,4-DAPG) [Carroll et al., 1995], который является высокоэффективным средством биоконтроля различных фитопатогенов почвенного происхождения [Yang, Cao, 2012]. Продукция данного соединения отдельными представителями микробного сообщества обуславливает способность почв подавлять патогенные для растений организмы. Примером может служить защита томатов от бактериального рака, вызванного *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* *rhizospheric*. В ассоциации с растениями *Pseudomonas* sp. LBUM300 способен значительно уменьшить развитие болезни и популяцию патогена, продуцируя как 2,4-DAPG, так и HCN [Lanteigne et al., 2012]. Другим важным свойством этого вторичного метаболита псевдомонад является усиление эффекта фитостимуляции, проявляемого ризобактериями, стимулирующими рост растений (PGPR). Это было доказано на примере совместной инокуляции пшеницы со штаммами *Azospirillum brasilense* sp. 245-Rif и *Pseudomonas fluorescens* F113. Оказалось, что 2,4-DAPG, продуцируемый псевдомонадами, усиливает экспрессию широкого спектра генов азоспирилл, включая гены, участвующие в фитостимуляции (продукция ауксина) [Combes-Meynet et al., 2011].

Поиск штаммов, продуцирующих активные вторичные метаболиты, ведется на озере Байкал давно [Иванова и др., 1992, Бакунина и др., 1994]. Однако акцент на изучение микроорганизмов, обладающих антагонистической активностью, и поиск потенциально активных штаммов в ассоциированных микробных сообществах был сделан в последние 10–15 лет [Теркина и др., 2006, Липко и др., 2012, Зименс и др., 2014, Shishlyannikova et al., 2017]. Наиболее изучены в этом отношении грамположительные бактерии – представители фило Actinobacteria, среди которых описаны как узкоспециализированные, так и штаммы с широким спектром антимикробной активности [Теркина и др., 2006]. В частности, изучение антагонистической активности актиномицетов из оз. Байкал показало, что бактерии родов *Streptomyces* и *Micromonospora* являются сильными антагонистами по отношению к некоторым гетеротрофным микроорганизмам [Теркина и др., 2006]. Анализ антагонистической активности штаммов, ассоциированных с биопленками, развивающимися на различных субстратах в озере, показал, что наиболее активны грамположительные бактерии *Kocuria* sp., *Bacillus* spp. и *Paenibacillus* spp. [Зименс и др., 2014]. Потенциальная активность грамотрицательных бактерий была показана молекулярно-генетической детекцией и идентификацией генов поликетидсинтаз (PKS) в геноме штамма *Pseudomonas fluorescens* 28bBb-06 из пресноводной губки *Baikalospongia bacillifera* [Липко и др., 2012]. Однако биоконтролирующая активность многих штаммов *P. fluorescens*, как и некоторых других флуоресцирующих псевдомонад, связана с продукцией 2,4-DAPG [Weller et al., 2007; Kim et al., 2012].

Таким образом, целью настоящего исследования стала детекция и идентификация гена *phl*, продуцирующего 2,4-DAPG, в геномах *Pseudomonas* spp., изолированных из ассоциированных микробных сообществ.

Материалы и методы. В работе использованы штаммы, изолированные с внешней поверхности байкальских губок и охарактеризованные рибосомной филогенией как *Pseudomonas* spp. Выделение геномной ДНК из клеточной суспензии проводили коммерческим набором ДНК-сорб-В (АмплиСенс, Москва). Амплификацию гена *phl* проводили на праймерах *phl2a* 5'-GAGGACGTCGAAGACCACCA-3' и *phl2b* 5'-ACCGCAGCATCGTGTATGAG-3' [Naik et al., 2008], продукты амплификации анализировали в агарозном гель-электрофорезе, целевые ампликоны вырезали и использовали для лигирования с вектором pJET™ (CloneJET, Fermentas, Латвия) [Белькова, 2009]. Трансформацию клеток *Escherichia coli* вели по стандартной методике с CaCl₂ [Sambrook et al., 1989]. Скрининг колоний выполняли с помощью амплификации на плазмидных праймерах, рекомендованных фирмой-производителем. Все положительные ампликоны были секвенированы с набором BigDye® Terminator (Applied Biosystems, США) согласно протоколу фирмы-производителя. В реакцию брали 10–20 нг ампликона и 3–5 пмоль праймера. Нуклеотидные последовательности определяли на автоматическом капиллярном секвенаторе ABI3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США).

Редактирование нуклеотидных последовательностей производили вручную в соответствии с секвенограммой при помощи программы BioEdit v 7.1.3.0 [Hall, 1999]. Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей проводили с помощью программы BLASTx для анализа белок-кодирующих генов с международной базой генетических данных EMBL (<http://www.ebi.ac.uk/embl/index.html>).

Результаты. Всего проанализировано 19 штаммов псевдомонад, ассоциированных с эндемичными байкальскими губками. В 17 штаммах детектирован ген *phl*, который ответственный за продукцию антибиотика 2,4-DAPG. Для каждого штамма определена нуклеотидная последовательность гена *phl*, размер ее варьировал от 486 до 558 п. н. Все последовательности были сгруппированы в пять групп на

основании идентичности их структур. Сравнительный анализ с гомологами белок-кодирующих генов из международной базы генетических данных EMBL позволил определить последовательности генов, ответственных за продукцию 2,4-диацетилфлороглюцинола, которые были получены из других штаммов псевдомонад: *Pseudomonas fluorescens* (99% гомологии), *Pseudomonas saponiphila* (99%), *Pseudomonas protegens* (97%), *Enterobacter ludwigii* (97%). Дополнительно выявлено сходство с генами поликетидсинтаз, которые идентифицированы в псевдомонадах молекулярными методами.

Таблица.

Замены аминокислот — сравнение полученных последовательностей с гомологом AXX31621

Название последовательности	Количество замен	Положение замены	АМК гомолог	АМК посл-ть	Нукл. гомолог	Нукл. Посл-ть	Кэф. по Сниту	Кэф. по Волькенштейну	Кэф. по Бачинскому	Характер
67-R	1	32	A	G	GCG	GGC	0,659	0,63	29	CONS
	2	35	T	N	ACC	AAC	0,488	0,44	17	CONS
	3	36	S	P	AGC	CCG	0,321	2,56	2,56	RAD
	4	123	Y	F	TAT	TTT	0,729	0,22	28	CONS
	5	162	R	K	CGT	AAA	0,733	0,77	25	CONS
	6	166	E	D	GAA	GAT	0,840	0,01	31	CONS
68	1	32	A	G	GCG	GGC	0,659	0,63	29	CONS
	2	35	T	N	ACC	AAC	0,488	0,44	17	CONS
	3	123	Y	F	TAT	TTT	0,729	0,22	28	CONS
	4	162	R	K	CGT	AAA	0,733	0,77	25	CONS
	5	166	E	D	GAA	GAT	0,840	0,01	31	CONS
AAX31621 2,4-diacetylphloroglucinol biosynthetic protein, partial [<i>Pseudomonas protegens</i>]	1	32	A	G	GCG	GGC	0,659	0,63	29	CONS
	2	35	T	N	ACC	AAC	0,488	0,44	17	CONS
	3	123	Y	F	TAT	TTT	0,729	0,22	28	CONS
	4	162	R	K	CGT	AAA	0,733	0,77	25	CONS
	5	166	E	D	GAA	GAT	0,840	0,01	31	CONS
AGT95946 2,4-diacetylphloroglucinol biosynthetic protein, partial [<i>Pseudomonas</i> sp. MSSRFD865]	1	32	A	G	GCG	GGC	0,659	0,63	29	CONS
	2	62	R	S	CGT	AGC	0,317	0,69	12	RAD

Анализ аминокислотных последовательностей позволил выявить расхождения, среди которых отмечены преимущественно консервативные замены аминокислот (таблица). Число замен варьировало от двух до шести, при этом замена аминокислоты в 32 позиции определена во всех случаях. Дополнительно консервативные замены выявлены еще в четырех позициях: 35, 123, 162 и 166. Установлены только две радикальные замены в позициях 36 и 62, при этом происходила смена заряженной положительно аминокислоты (аргинин) на незаряженную полярную (серин).

Несомненно, это говорит о незначительной степени вариаций конечного продукта экспрессии представленных генов и близких свойствах данных белков.

Работа выполнена в рамках темы VI.50.1.4. «Молекулярная экология и эволюция живых систем Центральной Азии в условиях глобальных экологических изменений» (0345-2016-0002).

Литература

Бакунина И.Ю., Иванова Е.П., Михайлова В.В., Недашковская О.И., Горшкова Н.М., Парфенова В.В. Распространение а-N-ацетилгалактозаминидаз среди морских и пресноводных микроорганизмов // Микробиология. – 1994. – Т. 63, № 5. – С. 847–853.

Белькова Н.Л. Молекулярно-генетические методы анализа микробных сообществ // Разнообразие микробных сообществ внутренних водоемов России: Учебно-методическое пособие. Ярославль: Изд-во ООО «Принтхаус», 2009. – С. 53–63.

Зименс Е.А., Суханова Е.В., Штыкова Ю.Р., Парфенова В.В., Белькова Н.Л. Антагонистическая активность гетеротрофных микроорганизмов из биопленок на твердых субстратах литоральной зоны озера Байкал // Известия ИГУ. Серия 'Биология. Экология'. – 2014. – Т. 7. – С. 91–98.

Иванова Е.П., Бакунина И.Ю., Горшкова Н.М., Романенко Л.А., Михайлов В.В., Елякова Л.А., Парфенова В.В. Распространение хитинразлагающих ферментов у морских и пресноводных микроорганизмов // Биол. моря. – 1992. – № 3-4. – С. 69–75.

Липко (Теркина) И.А., Калюжная О.В., Кравченко О.С., Парфенова В.В. Идентификация генов поликетидсинтаз (PKS) в геноме штамма *Pseudomonas fluorescens* 28bBb-06 из пресноводной губки *Baikalospongia bacillifera* // Молекулярная биология. – 2012. – Т. 46, № 4. – С. 677–679.

Теркина И.А., Парфенова В.В., Ан Т.С. Антагонистическая активность актиномицетов озера Байкал // Прикл. биох. микроб. – 2006. – Т. 42, № 2. – С. 195–199.

Carroll H., Moenne-Loccoz Y., Dowling D.N., O'gara F. Mutational disruption of the biosynthesis genes coding for the antifungal metabolite 2,4-diacetylphloroglucinol does not influence the ecological fitness of *Pseudomonas fluorescens* F113 in the rhizosphere of sugarbeets // Appl. Environ. Microbiol. – 1995. – V. 61, No. 8. – P. 3002–3007.

Combes-Meynet E., Pothier J.F., Moëne-Loccoz Y., Prigent-Combaret C. The *Pseudomonas* secondary metabolite 2,4-diacetylphloroglucinol is a signal inducing rhizoplane expression of *Azospirillum* genes involved in plant-growth promotion // Mol. Plant Microbe Interact. – 2011. – V. 24, No. 2. – P. 271–284.

Hall T.A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT // Nucl. Acids. Symp. Ser. – 1999. – V. 41. – P. 95–98.

Kim S.D., Fuente L.de L., Weller D.M. Colonizing ability of *Pseudomonas fluorescens* 2112, among collections of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing *Pseudomonas fluorescens* spp. in pea rhizosphere // J. Microbiol. Biotechnol. – 2012. – V. 22, No. 6. – P. 763–770.

Lanteigne C., Gadkar V. J., Wallon T., Novinscak A., Filion M. Production of DAPG and HCN by *Pseudomonas* sp. LBUM300 contributes to the biological control of bacterial canker of tomato // Phytopathology. – 2012. – V. 102, No. 10. – P. 967–973.

Naik P.R., Sahoo N., Goswami D., Ayyadurai N., Sakthivel N. Genetic and functional diversity among fluorescent pseudomonads isolated from the rhizosphere of banana // Microb. Ecol. – 2008. – V. 56. – P. 492–504.

Netzker T., Flak M., Krespach M.K., Stroe M.C., Weber J., Schroeckh V., Brakhage A.A. Microbial interactions trigger the production of antibiotics // Curr. Opin. Microbiol. – 2018. – V. 45. – P. 117–123.

Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. Molecular Cloning. A laboratory Manual. – Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press. – 1989. – V. 1, 2, 3.

Shishlyannikova T.A., Kuzmin A.V., Fedorova G.A., Shishlyannikov S.M., Lipko I.A., Suhanova E.V., Belkova N.L. Ionofore antibiotic polynactin produced by *Streptomyces* sp. 156A isolated from Lake Baikal // *Nat. Prod. Res.* – 2017. – V. 31, Iss. 6. – P. 639–644.

Weller D.M., Landa B.B., Mavrodi O.V., Schroeder K.L., De La Fuente L., Blouin Bankhead S., Allende Molar R., Bonsall R.F., Mavrodi D.V., Thomashow L.S. Role of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing fluorescent *Pseudomonas* spp. in the defense of plant roots // *Plant Biol. (Stuttg.)*. – 2007. – V. 9, No. 1. – P. 4–20.

Yang F., Cao Y. Biosynthesis of phloroglucinol compounds in microorganisms--review. // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2012. – V. 93, No. 2. – P. 487–495.

IDENTIFICATION OF THE GENE CONTAINING THE PRODUCTION OF ANTIBIOTICS OF 2,4-DIACETYL FLOROGLUCINOL IN THE GENES OF BACTERIA OF THE GENUS *PSEUDOMONAS*

A.M. Dmitrieva¹, N.L. Belkova²

¹Irkutsk State University, Irkutsk, Russia, *nastyawss@mail.ru*

²Limnological Institute SB RAS, Irkutsk, Russia, *nibelkova@gmail.com*

Abstract. Microorganisms during their vital activity produce various substances revealing antibacterial, antifungal or antiviral activity. A study was done of the structure of the *phl* genes responsible for the production of 2,4-diacetylfluoroglucinol (2,4-DAPG) in the genomes of bacteria of the genus *Pseudomonas*. 2,4-DAPG is a highly effective biocontrol of various pathogens.

Keywords: *antibiotics, Pseudomonas, endemic sponges, Lake Baikal*

РЕАКЦИЯ УЗЛОВ КУЩЕНИЯ ОЗИМОГО ТРИТИКАЛЕ В ПЕРИОД ВЕСЕННЕГО ВОЗОБНОВЛЕНИЯ РОСТА НА РАЗНЫЕ УРОВНИ УВЛАЖНЕНИЯ ПОЧВЫ

Н.В. Дорофеев, А.В. Поморцев, Л.Г. Соколова, С.Ю. Зорина, Н.Б. Катышева

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия, *nikolay.v.dorofeev@gmail.com*

Аннотация. При моделировании условий весеннего возобновления вегетации озимого тритикале показано, что расход углеводов и содержание дегидринов в узлах кущения не зависели от уровня увлажнения почвы, при котором выращивались растения. На начальном этапе отрастания растений наблюдали сохранение состава дегидринов, характерное для зимующих узлов кущения, и значительное повышение концентрации свободного пролина. Недостаток влаги в этот период оказывал отрицательное влияние на выживаемость растений.

Ключевые слова: *уровень увлажнения почвы, озимое тритикале, свободный пролин, углеводы, дегидрины*

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-273-277

В неблагоприятных условиях зимовки при невысоком снежном покрове и низких отрицательных температурах у озимых зерновых культур частично или полностью утрачиваются листья, стебли и корни. Это не всегда приводит к гибели растений, поскольку основным органом регенерации озимых зерновых культур является узел кущения [Rubka, 1993]. Жизнеспособность озимых зерновых культур зависит от выживаемости тканей узла кущения [Tanino, McKersie, 1985], поскольку он содержит как корневые, так и листовые меристемы и, следовательно, играет важную роль в регенерации корней и листьев в весенний период. При выходе растений из зимовки и возобновлении ростовых процессов регенерация утраченных органов может сильно задерживаться, и растения погибают.

В условиях Восточной Сибири нормой для весеннего периода (апрель, май) является сильный недостаток осадков, что приводит к дефициту почвенной влаги и снижению доступности воды растениям. Ответ растений на водный стресс изучается преимущественно на проростках и взрослых растениях [Zhang et al., 2013]. Исследований узлов кущения в условиях недостатка влаги крайне мало. В связи с этим цель нашего исследования состояла в изучении физиологической и биохимической реакции узлов кущения в период весеннего отрастания на изменение уровня увлажнения почвы.

Растительный материал (узлы кущения озимого тритикале; сортообразец № 430-6002) был отобран в условиях полевого опыта (Иркутская область 53°33'58,75" С.Ш. и 102°35'23,90" В.Д.), когда растения прошли процесс холодной акклиматизации (начало ноября). До начала эксперимента отобранные узлы кущения в течение трёх месяцев хранились при температуре минус 1-3 °С в холодильной камере.

Исследования проводились в условиях климатической камеры (CLF Plant Climatics). В первые 10 дней эксперимента дневная температура составляла 10 °С, а ночная – 6 °С, в последующие 20 и 30 дней соответственно 15 и 10 °С. Температура воздуха в камере соответствовала показателям второй и третьей декады мая, когда происходит процесс отрастания озимых злаков. Уровни увлажнения воздушно-сухой почвы моделировали добавлением расчетного количества воды 30, 60 и 90% от ППВ в каждом сосуде. Влажность почвы на протяжении всего эксперимента поддерживали ежедневным поливом сосудов. Отбор растительных проб проводили на 10, 20 и 30 день

эксперимента. В каждой точке отбирали 15 узлов кушения и взвешивали их сырой вес (FW). Затем образцы высушивали в сушильном шкафу при 80 °С в течение 72 ч и определяли воздушно-сухой вес (DW). Содержание воды в растительных тканях (WC, %) рассчитывали по формуле: $(FW-DW)/FW*100$. Пролин определяли, используя нингидриновый реактив [Bates, 1973]. Водорастворимые углеводы определяли, используя антроновый реагент [Dische, 1962]. Электрофорез белков проводили по методу Лэммли [Лэммли, 1970]. Затем белки переносили на нитроцеллюлозную мембрану («Amersham», США) и обрабатывали первичными антителами против дегидринов (от T.J. Close, США), а затем вторичными антителами, конъюгированными со щелочной фосфатазой. Для выявления дегидринов использовали антитела на общую для большинства растительных дегидринов последовательность. Статистическую значимость различий между медианными значениями в вариантах опыта определяли с помощью критерия Краскела-Уоллиса с последующей процедурой множественного сравнения по методу Стьюдента-Ньюмена-Кейлса ($P \leq 0.05$) с использованием программы SigmaPlot 12.5.

В течение зимнего периода у зимующих растений могут наблюдаться повреждения, вызванные различными неблагоприятными факторами, при этом значительно снижается их способность восстанавливаться весной и, как следствие, они погибают [Livingston et al., 2009]. В проведённом эксперименте узлы кушения были отобраны у растений, прошедших холодовую акклиматизацию. После хранения в течение трёх месяцев при температуре минус 1-3 °С узлы кушения были высажены в сосуды, содержащие почву с различным уровнем влажности.

Первые 10 дней от начала эксперимента не отмечали значительной гибели растений. В этот период вне зависимости от влажности почвы растения испытывали недостаток влаги из-за отсутствия корневой системы. Содержание пролина значительно увеличилось в узлах кушения по отношению к исходной его концентрации во всех исследуемых вариантах. В последующем его уровень снижался и к концу эксперимента достигал минимального значения. При этом концентрация пролина при 30% от ППВ была достоверно выше ($P < 0,05$), по сравнению с 60 и 90% от ППВ в течение всего эксперимента.

Вероятно, увеличение содержания пролина, по отношению к исходной его концентрации, во всех исследуемых вариантах позволило растениям успешно пережить первый период весеннего возобновления роста до начала регенерации корней и листьев. Необходимо отметить, что на варианте с недостатком влаги в почве 30% ППВ небольшая гибель растений наблюдалась, несмотря на то, что содержание пролина в узлах кушения было самое высокое.

Косвенным показателем возобновления вегетации после длительного воздействия низких температур является возвращение уровня оводнённости тканей к нормальному состоянию для активно вегетирующих растений 80-90% от общего веса [Kramer, Boyer, 1995]. Увеличение оводнённости тканей в узлах кушения в варианте 90% от ППВ наблюдалось с самого начала эксперимента. У растений, выращиваемых при 60% от ППВ, повышение оводнённости тканей отмечалось спустя 20 дней от начала эксперимента. Одновременно с увеличением оводнённости тканей в этих вариантах содержание пролина значительно снижалось. В варианте с недостатком влаги (30% от ППВ) снижение содержания пролина также наблюдали, но в меньшей степени по сравнению с другими вариантами. Причиной могло быть замедленное восстановление корневой системы в отличие от других вариантов. Самое высокое среди изучаемых вариантов содержание пролина при 30% ППВ не обеспечивало лучшую выживаемость растений к концу эксперимента.

На 20-й день эксперимента наблюдали гибель 21-26% растений при всех уровнях увлажнения почвы. В дальнейшем гибель растений наблюдали только в варианте с влажностью почвы 30% от ППВ. Количество живых растений на этом варианте составило 43% от начального уровня, что достоверно ($P < 0,05$) отличалось от других вариантов.

На начало проведения эксперимента содержание углеводов в узлах кущения было высоким – около 15% от сухого веса. При нормальном и избыточном уровнях увлажнённости почвы первые 10 дней эксперимента не наблюдали снижения содержания сахаров в узлах кущения. При уровне влажности 30% от ППВ содержание водорастворимых сахаров в узлах кущения снизилось по сравнению с исходным их содержанием. Возможно, что повышенный расход сахаров в узлах кущения этого варианта связан с усилением трат запасных питательных веществ при недостаточном водообеспечении. Через 20 дней от начала эксперимента содержание водорастворимых сахаров снизилось в узлах кущения растений всех вариантов и сохранялось до конца эксперимента на уровне менее 5% от сухого веса.

В ответ на стресс, связанный с засухой, растения накапливают в листьях растворимые сахара, которые защищают клеточные структуры от обезвоживания [Asthir et al., 2014]. Увеличение содержания сахаров не наблюдалось ни в одном из вариантов эксперимента. Можно было ожидать увеличение содержания сахаров у растений на варианте с недостатком влаги 30% от ППВ, поскольку они испытывают неблагоприятное воздействие, связанное с засухой, но у этих растений отсутствует развитый фотосинтетический аппарат для накопления сахаров. Поскольку и надземная, и подземная часть у растений была удалена, им требуется значительное количество энергии на регенерацию утраченных органов.

Реакция растений на обезвоживание, вызванная неблагоприятными факторами среды включает активацию ряда генов [Kosová et al., 2014], которые приводят к синтезу дегидринов. В узлах кущения озимого тритикале в первые 10 дней присутствовали дегидрины с различной молекулярной массой. Независимо от уровня увлажнённости почвы, на которой были высажены растения, качественный состав дегидринов был схож с исходным их показателем в начале эксперимента. В первые десять дней независимо от уровня увлажнения почвы (30, 60 и 90% от ППВ) в узлах кущения присутствовали полипептиды с молекулярными массами 66, 55, 45, 39, 36, 29, 24, 21, 18, 6.5 и 5.9 кДа. Надо отметить, что полипептид с молекулярной массой 66 кДа был более ярко выражен при уровне влажности 30% от ППВ по сравнению с другими вариантами. В последующие точки отбора проб (20 и 30 дней) дегидрины в узлах кущения обнаружены не были, причем независимо от уровня увлажнения почвы.

Мы полагаем, что отсутствие изменений в качественном составе дегидринов в узлах кущения в первые 10 дней, вызвано тем, что узлы кущения находились на начальном этапе выхода растений из покоя. Ранее нами показано, что в осенний период в узлах кущения озимых зерновых отмечен синтез полипептидов (дегидринов) с различной молекулярной массой и их качественный состав сохранялся до конца зимовки [Pomortsev et al., 2017]. В последующий период дегидрины не были обнаружены даже при уровне увлажнённости почвы 30% от ППВ. Отсутствие дегидринов в узлах кущения озимого тритикале в период 20-и и 30-и дней, вероятно, связано с возвратом растений к активному росту и развитию. Показано, что начало весенней вегетации растений приводит к потере белков, характерных для закаленного состояния [Stupnikova et al., 2002]. Интересно, что даже при уровне влажности почвы 30% от ППВ не обнаружено синтеза дегидринов в узлах кущения, хотя в литературе имеются сведения об их синтезе в других органах (листья) растений в ответ на засуху [Lopez et al., 2002].

Таким образом, нами было показано, что в период весеннего возобновления роста и регенерации утраченных в течение зимовки органов озимого тритикале ни расход углеводов, ни снижение содержания дегидринов в узлах кушения не зависели от уровня увлажнения почвы, при котором выращивались растения. Одновременно с этим содержание пролина и оводнённость тканей узлов кушения находились в зависимости от уровня увлажнённости почвы. Недостаток влаги в этот период оказывал сильное отрицательное влияние на выживаемость растений.

Литература

Asthir B, Gulati A, Bains N.S. Controlling water deficit by osmolytes and enzymes: enhancement of carbohydrate mobilization to overcome osmotic stress in wheat subjected to water deficit conditions // *Afr. J. Biotechnol.* – 2014. – V. 13. – P. 2072–2083.

Bates L. Rapid determination of free proline for water-stress studies // *Plant Soil.* – 1973. – V. 39. – P. 205–207.

Dische Z. Color reactions of carbohydrates. In Whistler RL, Wolfrom ML, editors. In *methods in carbohydrate chemistry.* – NY, USA: Academic Press, 1962. – P. 475–514.

Kosová K., Vítámvás P., Prášil I.T. Wheat and barley dehydrins under cold, drought, and salinity – what can LEA-II proteins tell us about plant stress response? // *Front. Plant Sci.* – 2014. – V. 5. – P. 343.

Kramer P.J., Boyer J.S. *Water relations of plants and soils.* 1st ed. – San Diego, CA, USA: Academic Press. – 1995. – 495 p.

Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of head bacteriophage – T4 // *Nature.* – 1970. – V. 227. – P. 680–685.

Livingston D.P., Tuong T.D., Haigler C.H., Avci U., Tallury S.P. Rapid microwave processing of winter cereals for histology allows identification of separate zones of freezing injury in the crown // *Crop Sci.* – 2009. – V. 49. – P. 1837–1842.

Lopez C.G., Banowetz G.M., Peterson C.J., Kronstad W.E. Wheat dehydrin accumulation in response to drought stress during anthesis // *Funct. Plant Biol.* – 2002. – V. 29. – P. 1417–1425.

Pomortsev A.V., Dorofeev N.V., Katysheva N.B., Peshkova A.A. Changes in dehydrin composition in winter cereal crowns during winter survival // *Biologia Plantarum.* – 2017. – V. 61 – P. 394–398.

Stupnikova I.V., Borovskii G.B., Dorofeev N.V., Peshkova A.A., Voinikov V.K. Accumulation and disappearance of dehydrins and sugars depending on freezing tolerance of winter wheat plants at different developmental phases // *J. Therm. Biol.* – 2002. – V. 27. – P. 55–60.

Rubka Z. Morphology of crown – the overwintering organ of winter wheat seedling // *Acta Soc. Bot. Pol.* – 1993. – V. 62. – P. 127–129.

Zhang H.M., Zhang L.S., Liu L., Zhu W.N., Yang W.B. Changes of dehydrin profiles induced by drought in winter wheat at different developmental stages // *Biologia Plantarum.* – 2013. – V. 57. – P. 797–800.

**THE REACTION OF THE NODES OF TILLERING OF WINTER TRITICALE
DURING THE SPRING RENEWAL OF GROWTH TO DIFFERENT LEVELS
OF SOIL MOISTENING**

N.V. Dorofeev, A.V. Pomortsev, L.G. Sokolova, S.Yu. Zorina, N.B. Katysheva

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia, *nikolay.v.dorofeev@gmail.com*

Abstract. When simulating the conditions for the spring renewal of the vegetation of winter triticale, it was shown that the consumption of carbohydrates and the content of dehydrins in the crowns did not depend on the level of moistening of the soil at which the plants were grown. At the initial stage of plant growth, the preservation of the dehydrins composition characteristic of wintering crowns was observed and a significant increase in the concentration of free proline. The deficiency of soil moisture during this period had a negative effect on the survival of plants.

Keywords: *soil moistening level, winter triticale, free proline, carbohydrates, dehydrins*

УЧАСТИЕ ФОТОПРОТЕКТОРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ФЕНОЛЬНОЙ ПРИРОДЫ В РЕАКЦИИ ТКАНЕЙ ЛИСТЬЕВ *ARABIDOPSIS THALIANA* НА ДЕЙСТВИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Л.В. Дударева, Е.Г. Рудиковская

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия, laser@sifibr.irk.ru

Аннотация. Методами хроматографии и масс-спектрометрии изучена динамика содержания фотопротекторных соединений в листьях *Arabidopsis thaliana* под влиянием низкоинтенсивного лазерного излучения. Установлено, что при облучении тканей стимулирующей дозой (3,6 Дж/м²) происходит существенное (в 2-8 раз) увеличение содержания соединений фенольной природы, обладающих фотозащитными свойствами – антоцианов, кемпферола, кверцетина и их гликозидов.

Ключевые слова: кемпферол, кверцетин, антоцианы, He-Ne лазер, *Arabidopsis thaliana*

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-278-281

Несмотря на то, что механизмы влияния лазерного излучения низких интенсивностей на растения все еще остаются предметом дискуссии, оно достаточно широко используется в агрокультуре для стимуляции процессов роста и развития в растительной ткани, увеличения всхожести и энергии прорастания семян и, в конечном итоге, для увеличения урожайности культурных растений [Hernandez, 2010]. Большинство исследований такого рода посвящено действию низкоинтенсивного лазерного излучения на ткани микроорганизмов, животных и человека. Для этих объектов определены ключевые структуры в клетках и клеточных органеллах, в которых могут формироваться ответы на действие лазерного излучения [Капу, 2005]. Работ по изучению влияния света лазера на растительные ткани все еще существенно меньше. Растения эволюционно приспособлены к восприятию световой энергии и к ее утилизации в физиологических целях. Помимо хлоропластов, в которых под действием солнечного света протекают фотосинтетические реакции, растительные ткани богаты пигментами-сенситизаторами, выполняющими в клетках растений различные функции, в первую очередь сигнальные. Изучение биологического действия света лазера на растения может представлять интерес не только для выявления механизмов его влияния, но и для исследования закономерностей действия света на растительные клетки, ткани и организмы. Известно, что свет лазера низкой интенсивности с длиной волны 632,8 нм может оказывать действие на физиологические процессы, между которыми отсутствует выраженная взаимосвязь. Следовательно, при реализации действия этого излучения, по-видимому, задействован неспецифический, общий для многих событий в жизни растения механизм. Логично было предположить, что стресс, как неспецифический системный ответ, может являться одним из путей действия низкоинтенсивного излучения на растительные ткани. К настоящему времени установлены основные признаки неспецифической составляющей стресса у растений. Ранее полученные, в том числе нами, данные подтверждают, что действие лазерного излучения низкой интенсивности на растительные объекты на начальном этапе отклика на облучение может вызывать реакцию, подобную стрессовой. Эта реакция проявлялась в характерных для стресса биохимических изменениях в тканях. Показано значительное увеличение количества «стрессовых» аминокислот – пролина, гидроксипролина и некоторых других, повышение содержания первичных и вторичных продуктов перекисного окисления липидов в облученных каллусах пшеницы,

изменение активности ферментов АТФ-азы и H^+ -пирофосфатазы в вакуолярном соке красной столовой свеклы. Обнаружены существенные изменения в составе, содержании и степени ненасыщенности жирных кислот, в содержании липидов и фитогормонов в каллусной ткани пшеницы *Triticum aestivum* L. Все вышеперечисленные реакции относят к неспецифическим, мало или вообще не зависящим от природы стрессора. По понятным причинам растения в отношении реакций на стрессор отличаются от животных. Для них ответ на воздействие, обеспечивающий долговременную адаптацию, большей частью оказывается зависимым от характера неблагоприятного воздействия. По всей вероятности, по крайней мере, для выращенных в темноте каллусов, при облучении растений низкоинтенсивным светом лазера имеет место избыточная освещенность. Среди абиотических факторов среды влияние избыточного освещения достаточно долго оставалось малоизученным по сравнению с влиянием температуры, засухи и т.п. Реакция растений на свет рассматривалась, как правило, в связи с изучением фотосинтетических процессов. Однако специфической реакцией на это воздействие могут быть изменения как в содержании защитных пигментов фотосинтетического аппарата – каротиноидов, в том числе кислородсодержащих ксантофиллов, так и в содержании других соединений, выполняющих фотозащитные функции в других клеточных компартментах. Известно, что наряду с каротиноидами, алкалоидами и микоспорин-подобными аминокислотами, фотозащитные функции у растений выполняют соединения фенольной природы, такие как антоцианы, кемпферол, кверцетин и их гликозиды [Соловченко, Мерзляк, 2008]. Для того чтобы оценить возможное участие в ответе на облучение светом лазера фотопротекторных соединений, неассоциированных с фотосинтетическим аппаратом и локализованных в других клеточных компартментах – фенольных соединений, необходимо было провести анализ изменений в их содержании после действия низкоинтенсивного лазерного излучения.

В связи с этим, целью представляемой работы был сравнительный анализ динамики изменений содержания фотозащитных соединений фенольной природы (антоцианов, кверцетина и кемпферола и их гликозидов) под влиянием низкоинтенсивного лазерного излучения в листьях *Arabidopsis thaliana* L.. В качестве объектов исследования были использованы 35-дневные растения *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. экотип *Columbia*. Растения выращивали в условиях фитотрона при 24 °С день/21 °С ночь, фотопериод – 16 часов. Облучение проводили по разработанному в Институте методу с помощью гелий-неонового лазера, длина волны излучения 632,8 нм, в течение 5 минут, доза облучения при этом составила 3,6 Дж/см². Анализ проводили методами высокоэффективной жидкостной и газожидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором. Как видно из рис. 1. в содержании суммы антоцианов произошли существенные изменения непосредственно после облучения НИЛ, которые сохранялись, по крайней мере, в течение суток после воздействия. В первый момент после облучения содержание антоцианов выросло в более чем в 8 раз и по истечении суток все еще оставалось достоверно более высоким, чем в необлученном контроле. Известно, что антоцианы выполняют в растениях множество функций, включая привлечение опылителей, защиту от действия низких положительных температур, засухи и избыточной инсоляции. Поэтому их также называют "пигментами стресса". Особенности спектров поглощения антоцианов, максимум которых находится в зеленой части видимой области, предопределяют их участие в защите от фотоповреждения интенсивным видимым светом [Соловченко, Мерзляк, 2008].

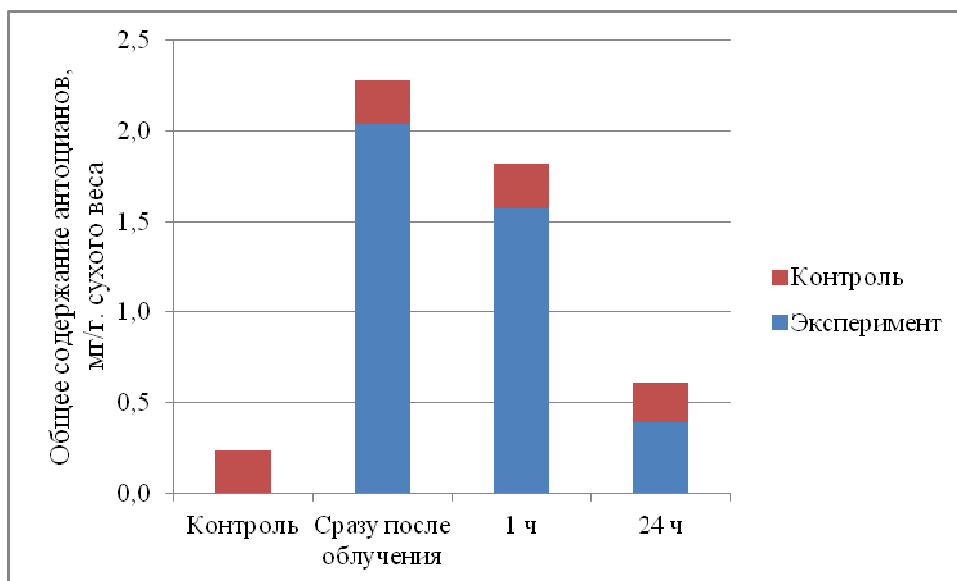


Рис. 1. Динамика изменений общего содержания антоцианов в тканях листьев *Arabidopsis thaliana* после облучения светом лазера (λ -632, 8 нм).

Впечатляющее увеличение содержания антоцианов в листьях арабидопсиса после облучения гелий-неоновым лазером в стимулирующей дозе с большой долей вероятности свидетельствует об активном участии этих соединений в ответной реакции растительной ткани на это воздействие. В содержании водорастворимых флавоноидов кемпферола и кверцетина и их гликозидов в листьях арабидопсиса после облучения также обнаружены заметные изменения (рис. 2.). Сразу после облучения и через 1 час после него содержание кверцетина было значительно выше в опыте, чем в необлученном контроле ($7,2 \pm 0,3$ мкг/г. сух. веса и $3,9 \pm 0,2$ мкг/г. сух. веса, соответственно). Содержание кемпферола, напротив, более чем в три раза уменьшилось в этот же период в облученных образцах по сравнению с контролем (с $10,4 \pm 0,3$ мкг/г. сух. веса до $2,4 \pm 0,2$ мкг/г. сух. веса).

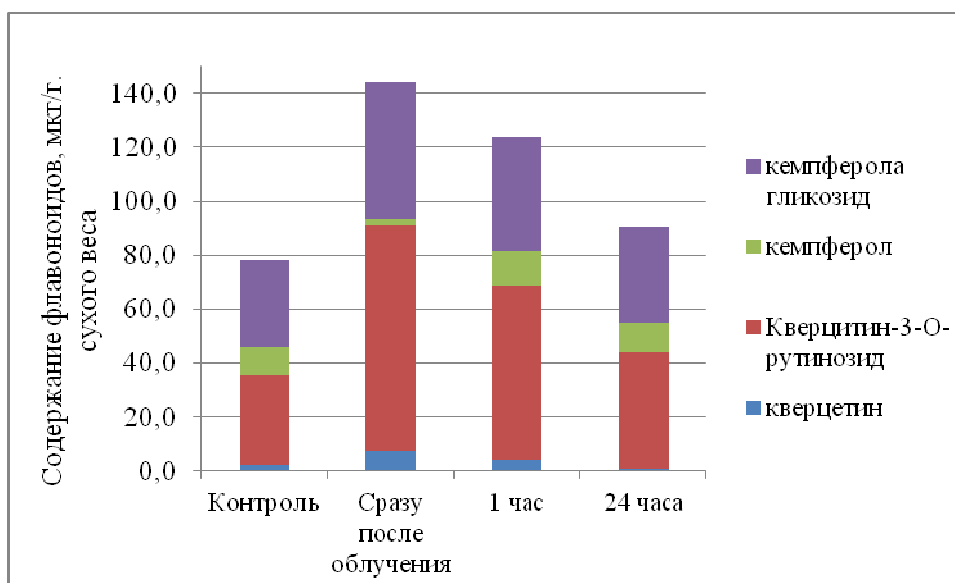


Рис. 2. Динамика изменений содержания кемпферола, кверцетина и их гликозидов в тканях листьев *Arabidopsis thaliana* после облучения светом лазера (λ -632, 8 нм).

Известно, что при избыточной инсоляции в тканях растений происходит увеличение содержания флавоноидов с большим числом ОН-групп [Andersen, 2005]. В наших экспериментах содержание кверцетина (пять ОН-групп) возросло после облучения в 6 раз по сравнению с контролем, в то время как содержание кемпферола (четыре ОН-группы) в 3 раза уменьшилось. Различие, возможно, обусловлено содержанием ОН-групп в фенольном радикале – у кемпферола одна такая группа, а у кверцетина – две. Что касается гликозидов этих двух соединений, изменения в их содержании под влиянием облучения носили сходный характер с агликонами, в присущем им более высоком порядке величин. На основании полученных результатов можно предположить, что низкоинтенсивное лазерное излучение в стимулирующих дозах может быть индуктором синтеза фотопротекторных соединений фенольной природы (флавоноидов, в том числе антоцианов) в тканях листьев арабидопсиса.

Показанное увеличение их содержания при облучении светом лазера низкой интенсивности, вероятно, является одной из специфических ответных реакций растения на это воздействие. Однако, возможно также, что защитная реакция растительной ткани реализуется, по крайней мере, в отношении кемпферола, кверцетина и их гликозидов, как антиоксидантная – преимущественным синтезом соединений с большим числом ОН-групп и двойных связей.

Литература

Кару Т.И. Универсальный клеточный механизм лазерной биостимуляции: фотоактивация фермента дыхательной цепи цитохром-*c*-оксидазы. Современные лазерно-информационные и лазерные технологии: Сб. трудов ИПЛИТ РАН. – М.: Интерконтакт Наука, 2005. – 304 с.

Соловченко А.Е., Мерзляк М.А. Экранизация видимого и УФ излучения как механизм фотозащиты растений // Физиология растений. – 2008. – Т. 5, № 6. – С. 803–822.

Andersen O.M., Markham K.R. Flavonoids: chemistry, biochemistry and application. – New York: CRC Press, 2005. – P. 397–441.

Hernandez A.C., Dominguez P.A., Cruz O.A., Ivanov R., Carballo C.A., and Zepeda B.R. Laser in agriculture // Int. Agrophys. – 2010. – V. 2. – P. 407–422.

Kreslavski V.D., Fomina I.R., Los D.A., Carpentier R., Kuznetsov V.V., Allakhverdiev S.I. –Red and near infra-red signaling: hypothesis and perspectives // J. Photochem. Photobiol. – 2012. – V. 13. – P. 190–203.

INVOLVEMENT OF PHOTOPROTECTOR PHENOLIC COMPOUNDS IN THE REACTION OF *ARABIDOPSIS THALIANA* LEAVES ON THE IMPACT OF LOW-INTENSIVE LASER IRRADIATION

L.V. Dudareva, E.G. Rudikovskaya

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia, laser@sifibr.irk.ru

Abstract. The dynamics of the content of photoprotective phenolic compounds in the leaves of *Arabidopsis thaliana* was studied by chromatography and mass spectrometry methods. It has been established that when irradiating tissues with a stimulating dose (3.6 J / m²), the content of phenolic photoprotective compounds – anthocyanins, kaempferol, quercetin and their glycosides increases significantly (by 2-8 times).

Keywords: *kaempferol, quercetin, anthocyanins, He-Ne laser, Arabidopsis thaliana*

МОРФОАНАТОМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТОПОЛЕЙ КАК ПОКАЗАТЕЛЬ ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ

П.М. Евлаков, В.Ю. Заплетин

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики, селекции и биотехнологии», Воронеж, Россия, peter.evlakov@yandex.ru

Аннотация. Проведены исследования по изучению морфологических характеристик фотосинтетического аппарата различных сортов и клонов тополя. Объектом исследования являлись 6 перспективных генотипов тополей второго года жизни. Выявлены морфометрические характеристики верхушечного побега, а также онтогенетическая динамика площади и ассимиляционной поверхности листа у селекционно-ценных форм тополя. Определены формы тополей, отличающиеся по морфоанатомическим параметрам листового аппарата, как потенциально засухоустойчивые и влаголюбивые.

Ключевые слова: тополь, верхушечный побег, площадь листа, биомасса, засухоустойчивость

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-282-285

В литературе в настоящее время накоплены довольно многочисленные экспериментальные данные по изучению морфологической структуры и фотосинтетической функции различных видов древесных растений. Интенсивно ведутся селекционные работы, а также поиск экспресс методов, который поможет оценить и выявить перспективные, наиболее быстрорастущие клоны и гибриды. Площадь отдельного листа, а также площадь ассимиляционной поверхности растения может быть перспективным показателем, определяющим потенциальную продуктивность вида [Dillen, 2010]. Нами проведена сравнительная оценка морфологических особенностей различных генотипов р. *Populus* в онтогенезе растения.

Объектами исследования являлись 6 перспективных гибридов и сортов тополя второго года жизни, выращенных на ювенилизационном участке лесопарка ФГБУ «ВНИИЛГИСбиотех», относящихся к разным морфолого-систематическим секциям.

Площадь листовой поверхности верхушечного побега без отделения листа от растения определяли с помощью усовершенствованной методики измерения с использованием цифрового фотоаппарата [Дмитриев, 2016].

Удельную поверхностную плотность листа, характеризующую отношение сухой массы листа к его площади, определяли путём взвешивания каждого из 10 одновозрастных листьев верхушечного побега отдельно.

Были проанализированы морфометрические характеристики листа верхушечного побега различных форм тополя (таблица).

Таблица.

Морфологическая характеристика листа верхушечного побега различных форм тополя (19.06.2017 г.)

Генотип	Толщина, мкм	Площадь, дм ²	УПП, г/дм ²		Масса 1 листа, г	
			сырая	сухая	сырая	сухая
'Волосистоплодный'	188,9±2,68	0,17±0,01	1,29±0,025	0,48±0,028	0,22±0,02	0,05±0,003
'Регенерата'	156,7±3,37	0,28±0,02	1,33±0,013	0,41±0,007	0,37±0,03	0,09±0,006
'Ведуга'	113,8±0,65	0,29±0,01	1,93±0,034	0,37±0,009	0,56±0,02	0,15±0,001
'Пионер'	163,8±3,24	0,39±0,02	1,34±0,026	0,46±0,014	0,52±0,03	0,11±0,006
'Э.с.-38'	193,9±2,27	0,56±0,02	1,65±0,050	0,48±0,020	0,92±0,04	0,20±0,011
'Ведуга*'	119,7±0,89	0,29±0,02	1,38±0,072	0,34±0,007	0,39±0,02	0,12±0,005

* - микроклонально-размноженный сорт Ведуга.

Показано, что наиболее тонкие листья зафиксированы у белых тополей сорта 'Ведуга' и 'Ведуга*'. Максимальная толщина листовой пластинки наблюдалась у межсекционного гибрида 'Э.с.-38' и представителя бальзамического тополя 'Волосистоплодный' ($193,9 \pm 2,27$ и $188,9 \pm 2,68$ мкм соответственно).

Площадь листьев у межсекционного гибрида тополя 'Э.с.-38' («Воронежский гигант») значительно превышала аналогичные показатели у всех испытываемых сортов и гибридов тополя. Более чем в 3 раза по сравнению с 'Волосистоплодным' и в 1,5 раза по сравнению с сортом 'Пионер'.

Удельная поверхностная плотность листа (УПП), являющаяся интегральным показателем мезоструктуры листа и характеризующая фотосинтетическую способность генотипа к усвоению углекислоты в оптимальных условиях произрастания особи. Данный признак объединяет в себе все внутренние и внешние свойства ассимилирующих органов растения [Слемнев, 1996]. Значение УПП листа имеет генетическую обусловленность и у различных генотипов оно различно [Миракилов, 2013].

На основании результатов, представленных в таблице, можно выделить группу генотипов с высокой удельной поверхностной плотностью листа ($0,46-0,48$ г/дм²): 'Э.с.-38', 'Волосистоплодный' и 'Пионер', а также группу с низкой удельной поверхностной плотностью, к которой относятся белые тополя с пирамидальной кроной сорта 'Ведуга', 'Ведуга*' ($0,34-0,37$ г/дм²).

При сравнительных исследованиях сортовых особенностей у различных генотипов древесных растений целесообразно использование показателей площади листа, которые довольно устойчивы к различным условиям среды и легко контролируются. Следовательно, эти характеристики очень хорошо согласуются с молекулярными маркерами, и могут использоваться в селекции тополя [Bunn, 2004].

В связи с этим нами была проанализирована возрастная динамика средней площади листа у различных систематических форм тополя второго года жизни (рисунок).

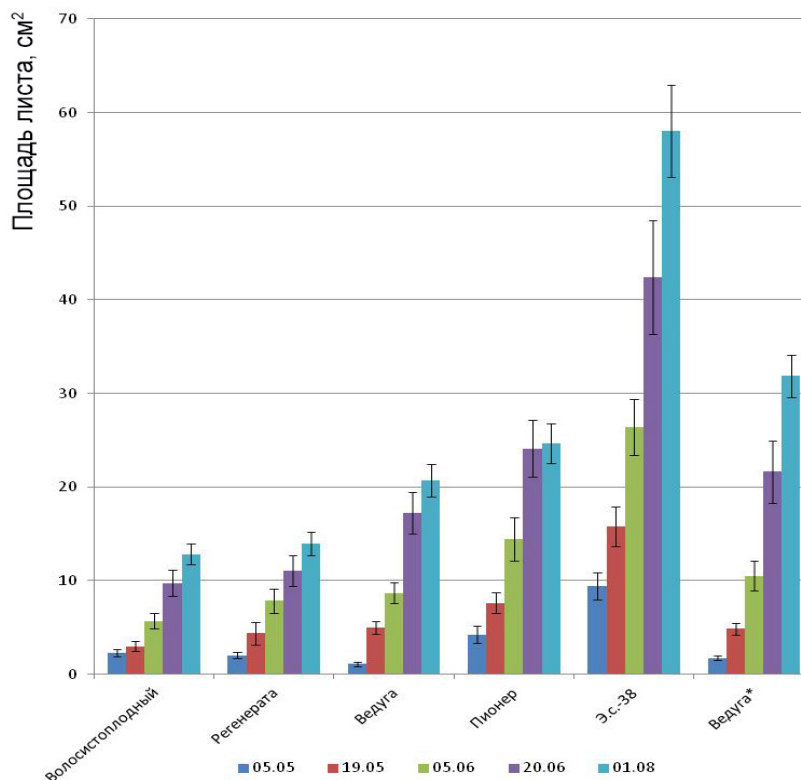


Рисунок. Онтогенетическая динамика средней площади листа верхушечного побега у различных форм тополя второго года жизни, 2017 г.

На основании данных, представленных на рисунке, видно, что на протяжении всего вегетационного периода средний размер площади листьев тополя 'Э.с.-38' был достоверно выше по сравнению с другими сортообразцами тополя. При этом в фазу интенсивного роста его средняя площадь листа составляла $42,4 \pm 6,11 \text{ см}^2$, что в 2 и более раз превышает аналогичный показатель исследуемых тополей. Напротив, большое количество листьев в сочетании с меньшими размерами характерна для бальзамического тополя 'Волосистоплодный' ($9,7 \pm 1,39 \text{ см}^2$).

Размер листьев тополя обычно уменьшается, в то время как количество листьев увеличивается от умеренной к засушливой среде (то есть от умеренного влажного до сухого климата соответственно). Большое количество листьев в сочетании с меньшими размерами может быть адаптивным признаком, а также приспособительной реакцией в засушливых условиях среды. Напротив, более крупные и редкие листья, вероятно, предпочтительны в условиях умеренного климата, где часто солнечные дни сменяются пасмурными [Dunlap, 1995; Pearce, 2005].

Таким образом, полученные данные позволяют отнести бальзамический тополь 'Волосистоплодный' к более засухоустойчивым, а межсекционный гибрид 'Э.с.-38' к тополям более влаголюбивым, растущим в условиях умеренного климата. Черные тополя с пирамидальной ('Пионер') и раскидистой формой кроны ('Регенерата'), а также белые тополя сорта 'Ведуга' занимают промежуточное положение между засухоустойчивыми и влаголюбивыми.

Литература

Дмитриев Н.Н., Хуснидинов Ш.К. Методика ускоренного определения площади листовой поверхности сельскохозяйственных культур с помощью компьютерной технологии // Вестник КрасГАУ, биологические науки. – 2016. – № 7. – С. 88–93.

Миракилов Х.М., Миракилов Х.М., Гиясидинов Б.Б., Абдуллаев Х.А. и др. Удельная поверхностная плотность листа стародавних и современных сортов тонковолокнистого хлопчатника // Доклады АН республики Таджикистан. – 2013. – Т. 56, № 3. – С. 250–255.

Слемнев Н.Н. Особенности фотосинтетической деятельности растений Монголии: эволюционные, экологические и фитоценотические аспекты // Физиология растений. – 1996. – Т. 43, № 3. – С. 418–436.

Bunn S.M., Rae A.M., Herbert C.S., Taylor G. Leaf-level productivity traits in *Populus* grown in short rotation coppice for biomass energy // Forestry. – 2004. – V. 77. – P. 307–323.

Dillen S.Y., Rood S.B., Ceulemans R. Growth and Physiology // Genetics and genomics of *Populus*. – Luxemburg: Springer Science+Business Media, 2010. – P. 39–63

Dunlap J.M., Stettler R.F., Heilman P.E. Genetic variation and productivity of *Populus trichocarpa* and its hybrids. VIII. Leaf and crown morphology of native *P. trichocarpa* clones from four river valleys in Washington // Can. J. For. Res. – 1995. – V. 25. – P. 1710–1724

Pearce D.W., Millard S., Bray D.F., Rood S.B. Stomatal characteristics of riparian poplar species in a semi-arid environment // Tree Physiol. – 2005. – V. 26. – P. 211–218.

MORPHO-ANATOMICAL CHARACTERISTICS OF POPLARS AS THE DROUGHT RESISTANCE TRAIT

P.M. Evlakov, V.Yu. Zapletin

All-Russian Research Institute of Forest Genetics, Breeding and Biotechnology,
Voronezh, Russia, *peter.evlakov@yandex.ru*

Abstract. Research into morphological traits of photosynthetic apparatus of different varieties and clones of poplar has been conducted. The object of the research was 6 prospective poplar genotypes in the second year of life grown. Morphometric traits of apical shoot, as well as ontogenetic dynamics of the individual leaf area and leaf area of apical shoot in selection-valuable poplar forms have been revealed. Forms of poplars that differ in the morpho-anatomical leaf traits as potentially drought-resistant and moisture-loving have been defined.

Keywords: *Poplar, apical shoot, leaf area, biomass, drought resistance*

ОЦЕНКА МОРОЗОУСТОЙЧИВОСТИ ТОПОЛЕЙ В УСЛОВИЯХ ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ

П.М. Евлаков, С.Г. Ржевский, Т.А. Гродецкая

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики, селекции и биотехнологии», Воронеж, Россия, *peter.evlakov@yandex.ru*

Аннотация. В работе представлен результат исследования морозоустойчивости 16 сортов и клонов тополей в условиях средней полосы России. В качестве показателя при оценке морозоустойчивости использовалось содержание рибонуклеиновой кислоты, а также динамика отращивания побегов после промораживания в лабораторных условиях. В целом полученные данные подтверждают существование физиолого-биохимических аспектов повреждения при воздействии низких температур на древесные растения.

Ключевые слова: тополь, морозоустойчивость, рибонуклеиновая кислота, лабораторное отращивание

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-286-288

Одной из важнейших проблем лесного хозяйства является устойчивость растений к различным видам стрессовых воздействий, включая влияние биотических и абиотических факторов. Современные методы биохимии и молекулярной биологии позволяют проводить оценку влияния данных стрессовых факторов на функционирование генома растений и в целом метаболизма растений [Сергеева, 1971]. Одним из маркеров стрессового состояния является содержание рибонуклеиновых кислот в побегах растений [Рязанцева, 1980].

Целью данного исследования являлась оценка специфических особенностей реакции на холодовой стресс различных сортов и клонов тополя. В качестве исследуемых показателей использовалась динамика отращивания побегов и концентрация суммарной РНК после искусственно смоделированного воздействия низкой температуры.

Исследование стрессоустойчивости осуществлялось на 16 образцах тополя, из которых в дальнейшем, по результатам оценки фенологической динамики, было отобрано 6 контрастных форм для последующего анализа содержания РНК.

Для опыта использовались черенки верхушечных побегов, срезанные в период глубокого покоя при температуре воздуха $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$. Опытные образцы помещались в морозильную камеру марки «Thermo» с температурой $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, после чего температура медленно понижалась до $-38\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 5 часов (скорость снижения температуры $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ в час). Лабораторное промораживание при данной температуре длилось 7 часов, далее производилось постепенное оттаивание до $+1\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 12 часов.

Контрольные и подвергнутые стрессовому воздействию черенки помещались в стеклянные сосуды с дистиллированной водой для отращивания, которое проводилось в условиях искусственного освещения люминесцентными лампами при температуре $18-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ с фотопериодом 16 часов.

Суммарную РНК выделяли фенол-хлороформным методом [Епринцев, 2008], её концентрацию определяли при помощи флуориметра «Cubit 2.0» с использованием стандартного набора реактивов «Qubit RNA BR Assay Kit».

Анализ полученных данных по динамике отращивания побегов исследованных генотипов тополей позволяет выявить различия в сроках выхода почек из состояния покоя. Сорты и гибриды характеризуются разным интервалом от начала отращивания до распускания первых почек. Так, лабораторное отращивание позволило выделить

«раннераспускающиеся» и «позднераспускающиеся» формы. К первым, у которых ритм фенологического развития соответствует ритму климатических условий района интродукции можно отнести тополь «Китайский» и «Максимовича», они первыми начинают вегетацию весной.

Позже других начали распускаться черенки тополей «ЭС-38», «Степная лада», «Серотина», «Бахильери», «Сакрау», «ПОК», «Ведуга», «Болид». Наиболее «позднераспускающимся» оказался евро-американский тополь «Регенерата», причем, это свойство проявилось как у опытных, так и у контрольных экземпляров.

В результате промораживания изученных сортов и гибридов рода *Populus* можно выделить три группы сортообразцов по особенностям динамики распускания почек у контрольных и опытных образцов:

1) Тополя «Ведуга», «Болид», а также межсекционный гибрид «ЭС-38», у которых опытные образцы демонстрируют более интенсивное распускание почек, чем контрольные.

2) Сорта, у которых в результате промораживания задержалось (на два-три дня) распускание почек по сравнению с контролем («Ивантеевский», «Серотина», «Волосистоплодный»).

3) Сорта, у которых промораживание не привело к значительным фенологическим отличиям между опытными и контрольными образцами.

Показано, что содержание нуклеиновых кислот в почках тополей зависит от физиологического состояния тканей и степени их сформированности после отращивания. У сортов «Болид» и «Ведуга», относящихся к секции белых тополей, с меньшим количеством распустившихся почек, обнаружено меньшее количество РНК в почках после промораживания (рисунок).

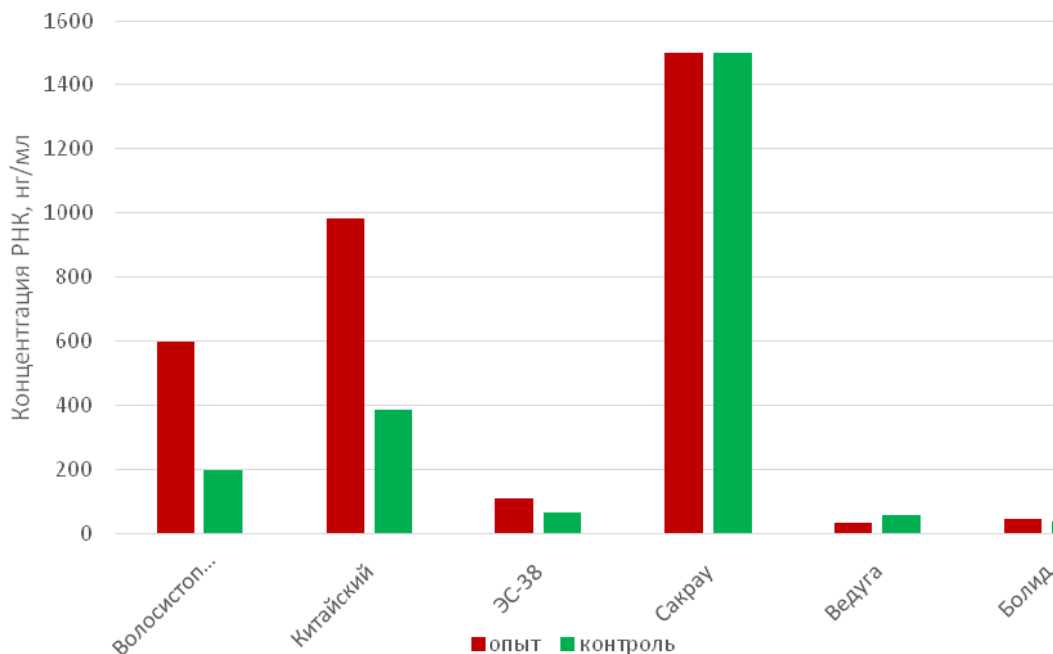


Рисунок. Содержание суммарной РНК в почках у различных сортообразцов тополя.

В целом, можно заключить, что в ответ на промораживание происходит изменение содержания нуклеиновых кислот. Эффект воздействия различен, в зависимости от фенологических особенностей и ритмики роста каждого вида. У более

морозоустойчивых форм тополей («Волосистоплодный», «Китайский») отмечается повышение содержания РНК в почках, что способствует созданию устойчивой структуры протоплазмы клеток. Подобная тенденция сохраняется у межсекционного гибрида «Э.С-38», при более низких абсолютных значениях количества РНК у контрольных и опытных растений.

В целом, полученные данные подтверждают существование физиолого-биохимических аспектов повреждения при промораживании древесных растений. В дальнейшем, планируется разделение сортов и гибридов тополей при более низкой температуре для характеристики абсолютной морозостойкости.

Литература

Епринцев А.Т., Попов В.Н., Федорин Д.Н. Идентификация и исследование экспрессии генов. Учебно-методическое пособие. – Воронеж: ВГУ, 2008. – С. 3–15.

Рязанцева Л.А., Федченко А.И., Морева Т.И. Содержание РНК и ДНК в почках и побегах лиственницы после действия промораживания // Нуклеиновые кислоты и хроматин растений. Сборник научных трудов. – Киев: Наукова думка, 1980. – С. 121–124.

Сергеева К.А. Физиологические и биохимические основы зимостойкости древесных растений. – М.: Наука, 1971. – 220 с.

ESTIMATION OF FROST RESISTANCE OF TOPOLS IN THE CONDITIONS OF THE VORONEZH REGION

P.M. Evlakov, S.G. Rzhovsky, T.A. Grodetskaya

All-Russian Research Institute of Forest Genetics, Breeding and Biotechnology, Voronezh, Russia, peter.evlakov@yandex.ru

Abstract. In this work, the result of a study of the frost resistance of 16 varieties and clones of poplars in the conditions of the central Russian belt is presented. As an indicator in assessing frost resistance, the content of ribonucleic acid was used, as well as the dynamics of shoot growth after freezing in laboratory conditions. In general, the data obtained confirm the existence of physiological and biochemical aspects of damage during the freezing of woody plants.

Keywords: *poplar, frost resistance, ribonucleic acid, laboratory growing*

РАСТИТЕЛЬНО-БАКТЕРИАЛЬНЫЕ АССОЦИАЦИИ ПРИ ОСМОТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

Н.В. Евсева¹, О.В. Ткаченко², Г.Л. Бурыгин^{1,2}, А.Ю. Денисова², Л.Ю. Матора¹,
С.Ю. Щеголев¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук, Саратов, Россия, *evseeva_n@ibppm.ru*

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова», Саратов, Россия, *oktkachenko@yandex.ru*

Аннотация. Исследовали взаимодействие микроклонов картофеля с ассоциативными бактериями *Azospirillum brasilense* Sp245 и *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 в оптимальных условиях и при осмотическом стрессе в культуре *in vitro*. Бактерии оказывали ростстимулирующее действие на растения в условиях *in vitro* и способствовали снижению уровня стрессового пролина, что коррелировало с ростом побегов и увеличением массы побегов и корней при постстрессовой репарации.

Ключевые слова: культура клеток и тканей растений *in vitro*; картофель; *Azospirillum brasilense* Sp245; *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2; осмотический стресс

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-289-292

Растительно-бактериальные ассоциации в условиях *in vitro* являются уникальными моделями для исследования молекулярных и клеточных механизмов взаимодействия макро- и микропартнеров в оптимальных условиях и при действии различных стрессовых факторов. Стимулирующие рост растений ризобактерии (plant growth promoting rhizobacteria – PGPR) играют важную роль в жизнедеятельности растения-хозяина, а также влияют на формирование у растений устойчивости к биотическому и абиотическому стрессам [Максимов и др., 2015; Bashan et al., 2014; Tkachenko et al., 2015; Verma et al., 2018].

Цель работы – исследование ответных реакций микроклонов картофеля сорта Невский на инокуляцию штаммами *Azospirillum brasilense* Sp245 и *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 в оптимальных условиях и при осмотическом стрессе в культуре *in vitro*.

Исследования проводили на сорте картофеля Невский из пересадочной коллекции кафедры Растениеводство, селекция и генетика агрономического факультета ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ». В качестве инокулятов использовали модельный штамм *Azospirillum brasilense* Sp245 и природный изолят из ризосферы картофеля *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 из коллекции ризосферных микроорганизмов ИБФРМ РАН. Осмотический стресс создавали путем добавления к питательной среде полиэтиленгликоля (ПЭГ, М.м. 6000) в концентрации 25 г/л, что соответствовало осмотическому давлению в среде выращивания – 0,0189 МПа. В питательную среду Мурасиге и Скуга [Murashige, Skoog, 1962] добавляли суспензию бактерий в концентрации 10⁶ кл/мл. Для изучения влияния на растения бактерий и водного дефицита закладывалось 4 варианта опыта: контроль без добавления бактерий и ПЭГ (К1); вариант с бактериями без ПЭГ (К2); вариант без бактерий с ПЭГ (К3) и вариант с бактериями и ПЭГ (О). Оценка состояния растений проводили на основании изменения морфофизиологических параметров и содержания свободного пролина в листьях на 7 сутки стресса и на 7 сутки постстрессовой репарации. Пролин определяли колориметрическим методом по стандартной методике [Bates et al., 1973]. Статистическую обработку результатов проводили методом дисперсионного анализа

(ANOVA) с вычислением наименьшей существенной разницы (НСР) и проведением множественных сравнений по тесту Дункана при уровне значимости 95% ($P \leq 0,05$).

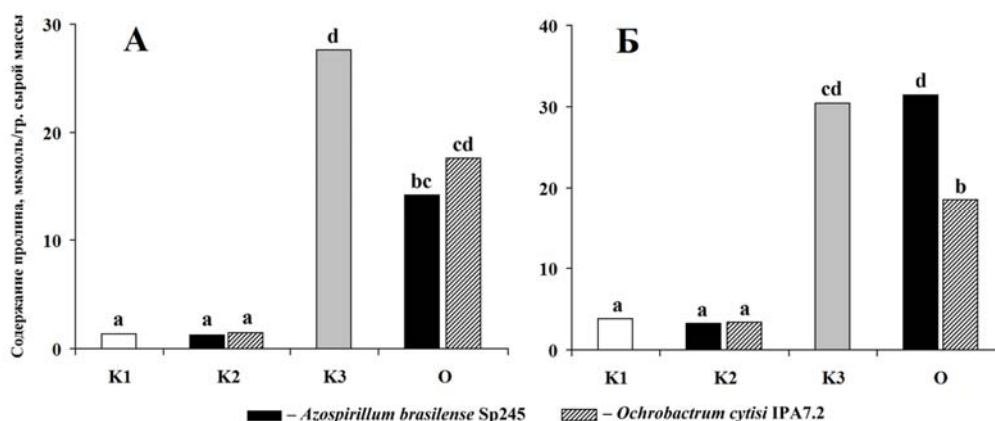


Рис. 1. Влияние бактерий на содержание пролина в листьях картофеля после 7 суток стресса (А) и на 7 сутки постстрессовой репарации (Б).

Было показано, что азоспириллы в оптимальных условиях положительно влияли на количество корней и сырую массу стебля по сравнению с неинокулированными растениями. В отличие от азоспирилл штамм *O. cytisi* IPA7.2 в этих условиях не проявлял заметного ростстимулирующего действия. Инокуляция микрорастений бактериями частично способствовала ослаблению действия стресса, что проявлялось в увеличении длины побега, массы листьев, стеблей и корней при инокуляции штаммом *O. cytisi* IPA7.2 и в увеличении только длины побегов и массы листьев при инокуляции растений азоспирилами по сравнению с контрольными вариантами при стрессе.

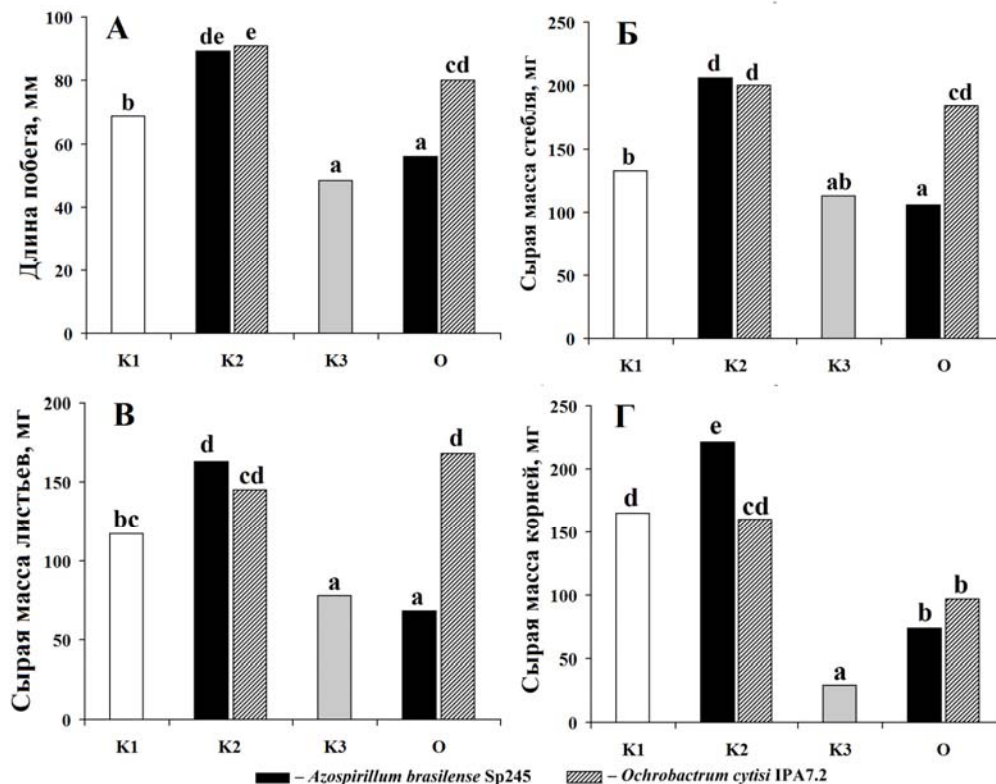


Рис. 2. Влияние бактерий *O. cytisi* IPA7.2 и *A. brasilense* Sp245 на длину побега (А), массу стеблей (Б), листьев (В) и корней (Г) растений картофеля на 7 сутки постстрессовой репарации.

Осмотический стресс приводил к увеличению содержания свободного пролина в листьях как инокулированных, так и контрольных растений (рис. 1А), что согласуется с данными других авторов [Sziderics et al., 2007]. Уровень пролина оставался высоким в течение 7 суток после снятия действия стрессового фактора. Бактеризация способствовала снижению уровня стрессового пролина при репарации (рис. 1Б), что коррелировало с ростом побегов и, соответственно, увеличением массы листьев, стеблей и корней при инокуляции *O. cytisi* IPA7.2 и увеличением массы только корней под влиянием *A. brasilense* Sp245 по сравнению с КЗ (рис. 2, А, Б, В, Г).

Следует заметить, что бактерии *O. cytisi* IPA7.2 сильнее проявляли ростстимулирующее действие на растения при репарации по сравнению с азоспириллами. Вероятно, штамм *A. brasilense* Sp245 не выдерживал длительного стресса, что приводило к частичной потере его защитных функций. Таким образом, бактеризация растений стимулировала рост растений в условиях *in vitro* и репарационные процессы в модельных условиях осмотического стресса.

Повышение адаптационного потенциала растений в целенаправленно создаваемых растительно-микробных ассоциациях представляется перспективным с точки зрения общих подходов к экологически чистому земледелию.

Литература

Максимов И.В., Веселова С.В., Нужная Т.В., Сарварова Е.Р., Хайруллин Р.М. Стимулирующие рост растений бактерии в регуляции устойчивости растений к стрессовым факторам (Обзор) // Физиология растений. – 2015. – Т. 62, № 6. – С. 763–775.

Bashan Y., de-Bashan L.E., Prabhu S.R., Hernandez J-P. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998–2013) // Plant Soil. – 2014. – V. 378. – P. 1–33.

Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water-stress studies // Plant Soil. – 1973. – V. 39, № 1. – P. 205–207.

Murashige T., Skoog G. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plantarum. – 1962. – V. 15. – P. 473–497.

Sziderics A.N., Rasche F., Trognitz F., Sessitsch A., and Wilhelm E. Bacterial endophytes contribute to abiotic stress adaptation in pepper plants (*Capsicum annuum* L.) // Can. J. Microbiol. – 2007. – V. 53. – P. 1195–1202.

Tkachenko O.V., Evseeva N.V., Boikova N.V., Matora L.Yu., Burygin G.L., Lobachev Y.V., Shchyogolev S.Yu. Improved potato microclonal reproduction with the plant-growth promoting rhizobacteria *Azospirillum* // Agron. Sustain. Develop. – 2015. – V. 35. – P. 1167–1174.

Verma S.K., Kingsley K., Bergen M., English C., Elmore M., Kharwar R.N., White J.F. Bacterial endophytes from rice cut grass (*Leersia oryzoides* L.) increase growth, promote root gravitropic response, stimulate root hair formation, and protect rice seedlings from disease // Plant Soil. – 2018 – V. 422. – P. 223–238.

PLANT-BACTERIA ASSOCIATIONS UNDER *IN VITRO* OSMOTIC STRESS CONDITIONS

N.V. Evseeva¹, O.V. Tkachenko², A.Yu. Denisova², G.L. Burygin^{1,2}, L.Yu. Matora¹, S.Yu. Shchyogolev¹

¹Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms Russian Academy of Sciences, Saratov, Russia, evseeva@ibppm.sgu.ru

²Federal State Budgetary Educational University of Higher Education “Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov”, Saratov, Russia, oktkachenko@yandex.ru

Abstract. We studied *in vitro* interactions of potato microclones with associative bacteria *Azospirillum brasilense* Sp245 and *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 under the optimal and osmotic stress conditions. It was shown that the bacteria had a growth promoting effect on plants *in vitro* and facilitated the decrease of stress prolin level, being correlated to shoots growth and to increase of mass of shoots and roots during the post-stress reparation.

Keywords: *plant cells and tissue culture in vitro, potatoes, Azospirillum brasilense Sp245, Ochrobactrum cytisi IPA7.2, osmotic stress*

ГИДРОЛИТИЧЕСКИЕ ЭКЗОФЕРМЕНТЫ РОСТСТИМУЛИРУЮЩИХ РИЗОБАКТЕРИЙ *PAENIBACILLUS POLYMUXA*

И.В. Егоренкова, К.В. Трегубова, В.В. Игнатов

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук, Саратов, Россия, egorenkova_i@ibppm.ru

Аннотация. Представлены современные данные исследований, связанных с продукцией ризобактериями *Paenibacillus polymyxa* спектра физиологически активных метаболитов, в том числе гидролитических ферментов. В результате сравнительной оценки штаммов *P. polymyxa* выявлена способность ряда штаммов к синтезу: целлюлаз, хитиназ, пектиназ, амилаз, протеаз и липаз. Тестируемые штаммы *P. polymyxa* и их метаболиты могут представлять интерес для использования в качестве биопрепаратов для сельского хозяйства.

Ключевые слова: *Paenibacillus polymyxa*, ростстимулирующий эффект, пшеница, литические ферменты, биопрепараты

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-293-296

Одним из аспектов биологического земледелия, основанного на экологической стабилизации агроэкосистем, является применение микробных препаратов. Разработаны экологически безопасные биоудобрения, которые вводятся в систему необходимых агротехнических мероприятий и успешно применяются в технологиях выращивания сельскохозяйственных культур в различных агроклиматических зонах [Чайковская, Клименко, 2016]. К числу бактерий, входящих в состав таких препаратов, относят бактерии рода *Paenibacillus*, включающего на данный момент более 200 видов факультативных анаэробов, с типовым видом *P. polymyxa*.

Формирование эффективных ассоциативных отношений ростстимулирующих ризобактерий *P. polymyxa* связывают с их способностью к азотфиксации, улучшению минерального питания и водного баланса растений, адаптированностью к стрессовым условиям окружающей среды, а также с продукцией широкого спектра физиологически активных метаболитов, среди которых: фитогормоны, литические ферменты, антибиотики и экзополисахариды (ЭПС) [Raza et al., 2008; Liang, Wang, 2015; Kwon et al., 2016]. В последние годы для ряда агрономически важных штаммов *P. polymyxa* представлены полные последовательности геномов. Данные геномы кодируют синтез гормонов роста растений, антибиотиков, гидролитических ферментов и других метаболитов [Liu et al., 2017].

Сообщалось об амилазной, протеазной, ксиланазной, целлюлазной, хитиназной, пекатлиазной активностях, обнаруженных у ряда штаммов *P. polymyxa* [Raza et al., 2008; Adhikari et al., 2017]. Создание эффективных препаратов биологического контроля грибных фитопатогенов является одной из актуальных задач современной микробиологии. По мнению многих исследователей, одним из ключевых элементов таких препаратов может быть миколитическая активность внеклеточных ферментов бактерий.

Мы оценивали способность ряда штаммов *P. polymyxa*: ССМ 1459^T, ССМ 1460, ССМ 1465, 88А и 92 к синтезу внеклеточных литических ферментов. На первом этапе использовали чашечный тест – простой и эффективный метод экспресс-оценки ферментативной активности у бактерий, часто применяемый для решения подобных задач [Чеботарь и др., 2009; Rasul et al., 2015, Adhikari et al., 2017]. Использовали дифференциально-диагностические плотные среды со специфическими субстратами: для выявления амилазной активности – с растворимым крахмалом, целлюлазной – с кристаллической целлюлозой, хитиназной – с коллоидным хитином, протеазной – с

молочным агаром, пектиназой – со свекловичным, цитрусовым или яблочным пектином, липолитической – с твином-40, твином-60 и твином-80. Синтез и активность литических ферментов оценивали по величине отчетливых зон просветления среды вокруг колоний (после обработки пластин соответствующими проявителями). Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета Microsoft Office Excell 2003. Доверительные интервалы даны для надежности 95%.

Активные штаммы бактерий на агаризованной среде вследствие расщепления субстрата литическими ферментами образуют зоны просветления вокруг колоний. В результате проведенных экспериментов обнаружено, что все исследуемые штаммы *P. polytuxa* в той или иной мере обладали способностью к продукции ряда литических экзоферментов: протеаз, амилаз, целлюлаз, хитиназ, липаз и пектиназ (таблица).

Таблица.

Способность штаммов ризобактерий *Paenibacillus polytuxa* к синтезу ряда литических экзоферментов

Штаммы	Ферментативная активность, радиус зоны просветления среды (мм)				
	Амилазная*	Протеазная*	Целлюлазная*	Пектолитическая**	
				Цитрусовый пектин	Яблочный пектин
<i>P. polytuxa</i> ССМ 1459 ^T	15.3 ± 0.3	10.0 ± 0.6	8.5 ± 0.2	12.5 ± 0.3	14.8 ± 0.3
<i>P. polytuxa</i> ССМ 1460	15.3 ± 0.3	9.0 ± 0.5	17.4 ± 0.2	12.3 ± 0.2	14.5 ± 0.2
<i>P. polytuxa</i> ССМ 1465	18.7 ± 0.5	7.0 ± 0.3	18.0 ± 0.3	12.0 ± 0.5	13.5 ± 0.4
<i>P. polytuxa</i> 88А	20.2 ± 0.8	10.0 ± 1.1	13.8 ± 0.2	12.6 ± 0.2	14.3 ± 0.2
<i>P. polytuxa</i> 92	22.0 ± 0.4	10.8 ± 0.6	21.6 ± 0.3	12.5 ± 0.2	14.5 ± 0.2

Примечание: Доверительные интервалы даны для надежности 95%. * Приведены данные для 7 суток культивирования бактерий, ** – для 4 суток.

По литературным данным, миколитические штаммы *Paenibacillus* sp. продуцируют гидролитические ферменты: протеазы, 1,3-глюканазы и хитиназы, – роль которых в лизисе клеточных стенок грибов и оомицетов существенно возрастает в условиях дефицита других органических источников углерода и азота [Nielsen, Sorensen, 1997].

Установлено, что все анализируемые нами штаммы *P. polytuxa* обладали примерно одинаковой высокой способностью разлагать пектины, полученные из различных источников сырья (таблица). Важность поиска таких штаммов определяется перспективностью использования пектолитических ферментов в разных сферах хозяйства, основанных на переработке растительного сырья, повышении биологической ценности кормов или разложения растительных остатков в почве. Следует отметить, что по нашим данным некоторые из протестированных штаммов *P. polytuxa* активно колонизировали корни проростков пшеницы, образовывали биопленки, продуцировали ЭПС и стимулировали рост, развитие и защитные реакции пшеницы [Егоренкова и др., 2016; Yegorenkova et al., 2013].

Таким образом, совокупность результатов данного исследования и сведений, полученных нами ранее, позволяет предположить, что ризобактерии *P. polytuxa* и их метаболиты обладают ценными свойствами и могут представлять интерес для использования в качестве биопрепаратов для сельского хозяйства, что может

существенно снизить применение химических веществ и способствовать сохранению и оздоровлению природной среды.

Литература

Егоренкова И.В., Трегубова К.В., Коннова С.А., Бугреева Л.В., Игнатов В.В. Влияние экзополисахаридов бактерий *Paenibacillus polymyxa* 1465 на рост и защитные реакции пшеницы // Известия Саратовского университета. Серия Химия. Биология. Экология. – 2016. – Т. 16, вып. 4. – С. 414–420.

Чайковская Л.А., Клименко Н.Н. Размножение бактерий *Paenibacillus polymyxa* в ризосфере винограда // Аграрный вестник Урала. – 2016. – № 3 (145). – С. 72–76.

Чеботарь В.К., Макарова Н.М., Шапошников А.И., Кравченко Л.В. Антифунгальные и фитостимулирующие свойства ризосферного штамма *Bacillus subtilis* 4–13 – продуцента биопрепаратов // Прикл. биохим. микробиол. – 2009. – Т. 45, № 4. – С. 465–469.

Adhikari M., Yadav D.R., Kim S.W., Um Y.H., Kim H.S., Lee S.C., Song J.Y., Kim H.G., Lee Y.S. Biological control of bacterial fruit blotch of watermelon pathogen (*Acidovorax citrulli*) with rhizosphere associated bacteria // Plant Pathol. J. – 2017. – V. 33, № 2. – P. 170–183.

Kwon Y.S., Lee D.Y., Rakwa R., Baek S.-B., Lee J.H., Kwak Y.-S., Seo J.-S., Chung W.S., Bae D.-W., Kim S.G. Proteomic analyses of the interaction between the plant-growth promoting rhizobacterium *Paenibacillus polymyxa* E681 and *Arabidopsis thaliana* // Proteomics. – 2016. – V. 16. – P. 122–135.

Nielsen P., Sorensen J. Multi-target and medium-independent fungal antagonism by hydrolytic enzymes in *Paenibacillus polymyxa* and *Bacillus pumilus* strains from barley rhizosphere // FEMS Microbiol. Ecol. – 1997. – V. 22. – P. 183–192.

Liang T.-W., Wang S.-L. Recent advances in exopolysaccharides from *Paenibacillus* spp.: production, isolation, structure, and bioactivities // Mar Drugs. – 2015. – V. 13. – P. 1847–1863.

Liu H., Wang C., Li Y., Liu K., Hou Q., Xu W., Fan L., Zhao J., Gou J., Du B., Ding Y. Complete genome sequence of *Paenibacillus polymyxa* YC0573, a plant growth-promoting rhizobacterium with antimicrobial activity // Genome Announc. – 2017. – 5:e01636–16. doi.org/10.1128/genomeA.01636–16.

Rasul F., Afroz A., Rashid U., Mehmood S., Sughra K., Zeeshan N. Screening and characterization of cellulase producing bacteria from soil and waste (molasses) of sugar industry // Int. J. Biosci. – 2015. – V. 6, N 3. – P. 230–238.

Raza W., Yang W., Shen Q.-R. *Paenibacillus polymyxa*: antibiotics, hydrolytic enzymes and hazard assessment // J. Plant Pathol. – 2008. – V. 90. – P. 419–430.

Yegorenkova I.V., Tregubova K.V., Ignatov V.V. *Paenibacillus polymyxa* rhizobacteria and their synthesized exoglycans in interaction with wheat roots: colonization and root hair deformation // Curr. Microbiol. – 2013. – V. 66. – P. 481–486.

HYDROLYTIC EXOENZYMES OF THE PLANT-GROWTH-PROMOTING RHIZOBACTERIUM *PAENIBACILLUS POLYMYXA*

I.V. Yegorenkova, K.V. Tregubova, V.V. Ignatov

Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms Russian Academy of Sciences, Saratov, Russia, egorenkova_i@ibppm.ru

Abstract. Current data are reported from research on the production by *Paenibacillus polymyxa* rhizobacteria of a range of physiologically active metabolites, including hydrolytic enzymes. A comparative evaluation of *P. polymyxa* strains showed that several strains were able to produce cellulases, chitinases, pectinases, amylases, proteases, and lipases. The tested *P. polymyxa* strains and their metabolites may be of interest for use as biopreparations for agriculture.

Keywords: *Paenibacillus polymyxa*, plant-growth promotion, wheat, lytic enzymes, biopreparations

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЮГЛОНА НА ИНТАКТНЫЕ И ИММОБИЛИЗОВАННЫЕ МИКРОБНЫЕ КЛЕТКИ

Е.В. Емельянова, И.П. Соляникова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина Российской академии наук, Пущино, Россия, elenvem@ibpm.pushchino.ru, innas@ibpm.pushchino.ru

Аннотация. Было проведено сравнение воздействия юглона (5-гидрокси-1,4-нафтохинона) на интактные и иммобилизованные клетки бактерий. Показано, что исследованные культуры различались по соотношению реакции на юглом между интактными и иммобилизованными клетками. Индукция юглоном также по-разному влияла на клетки. После индукции юглоном наблюдали повышение в 2 раза активности как фермента, инициирующего разложение юглона, так и каталазы.

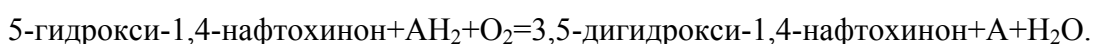
Ключевые слова: актинобактерии, интактные и иммобилизованные клетки, юглон; 5-гидрокси-1,4-нафтохинон

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-297-301

Природный нафтохинон – юглон (5-окси-1,4-нафтохинон), благодаря своим свойствам, находит применение в пищевой и косметической промышленности, в медицине, технике и сельском хозяйстве.

Оперативный метод определения содержания юглона основан на использовании сенсорных анализаторов, например, микробного сенсора, лабораторная модель которого разработана в ИБФМ РАН. Ранее было показано, что разработанная модель микробного амперометрического сенсора на 5-гидрокси-1,4-нафтохинон может быть использована для изучения метаболизма юглона актинобактериями. В настоящей работе было продолжено изучение влияние юглона на метаболизм бактерий с использованием интактных клеток (полярографический метод) и иммобилизованных покоящихся клеток (сенсорная методика) [Емельянова, 2017].

Юглон 3-монооксигеназа – фермент, инициирующий реакцию разложение юглона в аэробных условиях [Schonburg, 2006]:



Фермент относится к классу оксидоредуктаз. Реакция происходит с потреблением кислорода. Поэтому интенсивность реакции клеток (как интактных, так и иммобилизованных) на юглон оценивали по изменению потребления кислорода клетками в ответ на внесение субстрата – юглона, которое было связано с изменением метаболизма бактерий. Реакцию клеток на юглон измеряли в рА/с.

Была оценена реакция на юглон интактных и иммобилизованных бактериальных клеток до и после индукции юглоном. Результаты измерения приведены на рис. 1. Как видно из приведённых на рис. 1 данных, у двух культур из четырёх величина реакции на юглон для интактных клеток была выше, чем для иммобилизованных: для *Rh 13* – в области низких концентраций юглона, а для *Rhodococcus erythropolis* – при всех исследованных концентрациях. При этом только для *P. putida* индукция юглоном однозначно привела к увеличению отклика клеток на него, для остальных культур эффект индукции был отрицательным. Примеры зависимости реакции клеток от концентрации юглона приведены на рисунке 2.

В случае культуры *P. putida*, когда индукция юглоном приводила к положительным результатам, существенное значение имели условия проведения

адаптации: продолжительность индукции (рис. 1б) и концентрация кислорода в среде (рис. 3). Так для *P. putida* понижение содержания кислорода в среде приводило к снижению эффективности индукции. В отличие от этой культуры, для *R. erythropolis*, у которого в стандартных условиях аэрации был зафиксирован отрицательный эффект индукции, снижение аэрации во время индукции способствовало повышению реакции на юглон у индуцированных клеток (рис. 1а).

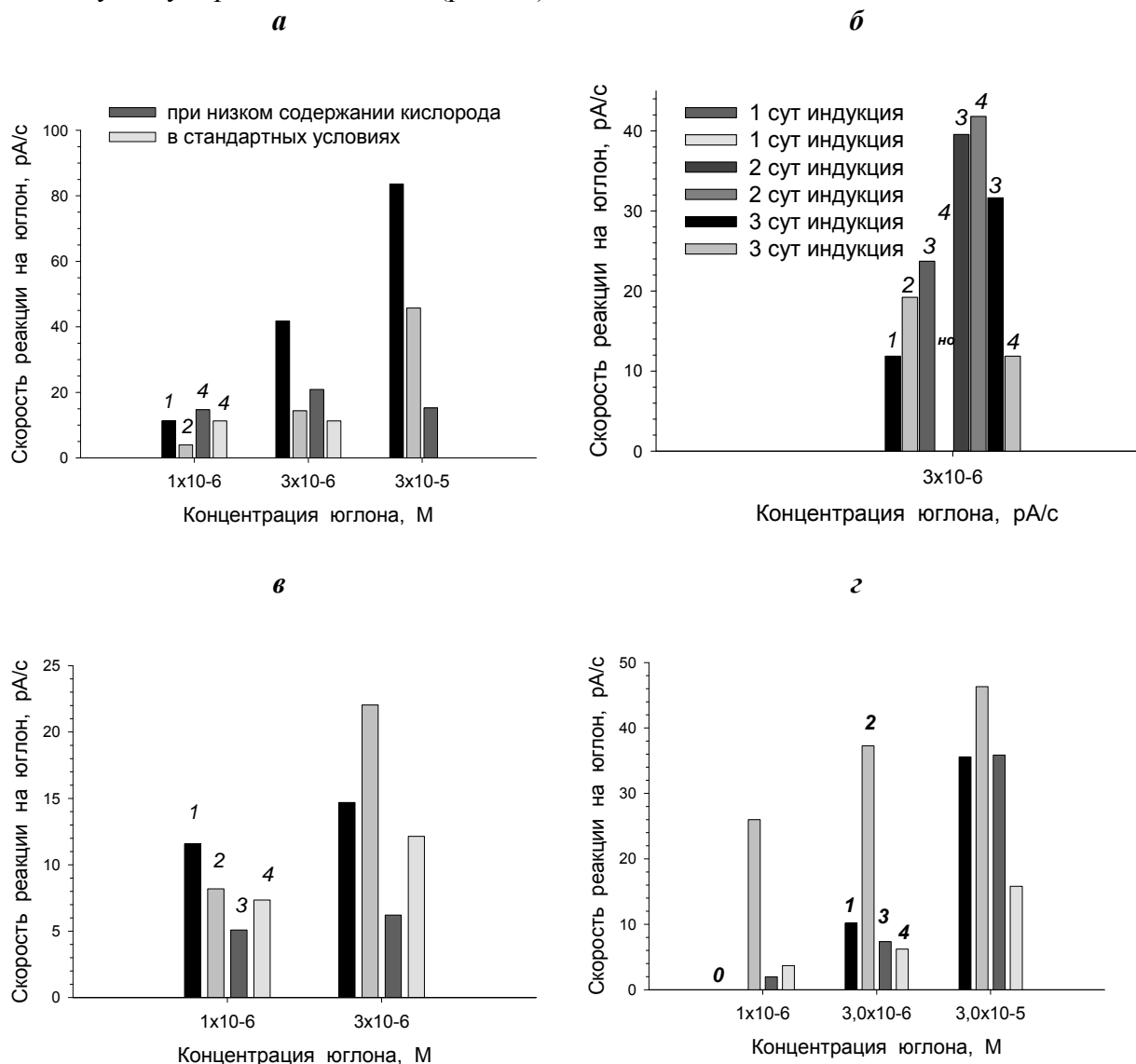


Рис. 1. Реакция на юглон интактных неиндуцированных (1), индуцированных (3) и иммобилизованных неиндуцированных (2), индуцированных (4) клеток бактерий: *Rhodococcus erythropolis* (а), *Pseudomonas putida* (б), *Rh13* (в), *Rh1св* (г). *no* – нет реакции.

Активность юглон 3-монооксигеназы штамма *Rh13* (самая низкая величина реакции для иммобилизованных клеток) определяли в бесклеточных экстрактах, полученных как из неиндуцированных клеток, так и из индуцированных юглоном в течение 4 часов. Результаты измерений представлены в таблице. В экстракте из неиндуцированных клеток удельная активность юглон 3-монооксигеназы была невысокой, но достоверно определяемой. После индукции юглоном наблюдали повышение активности фермента в 2 раза. Известно, что, попадая в клетку, нафтохиноны приводят к условиям окислительного стресса [Thomson, 1971]. Так для

гриба *Fusarium decemcellulare*, синтезирующего нафтохиноновые метаболиты, было показано, что процесс адаптации к юглону связан с увеличением в клетках активности основных защитных ферментов от окислительного стресса – каталазы и супероксиддисмутазы [Меденцев, 2001]. Поэтому нами, кроме юглона 3-монооксигеназы, была проверена активность двух ферментов, принимающих участие в защите организмов от окислительного стресса: каталазы и глутатионредуктазы. В обоих бесклеточных экстрактах штамма *Rh13* активность глутатионредуктазы отсутствовала. Штамм является каталазо-положительным, инкубирование с юглоном приводило к увеличению удельной активности каталазы (таблица).

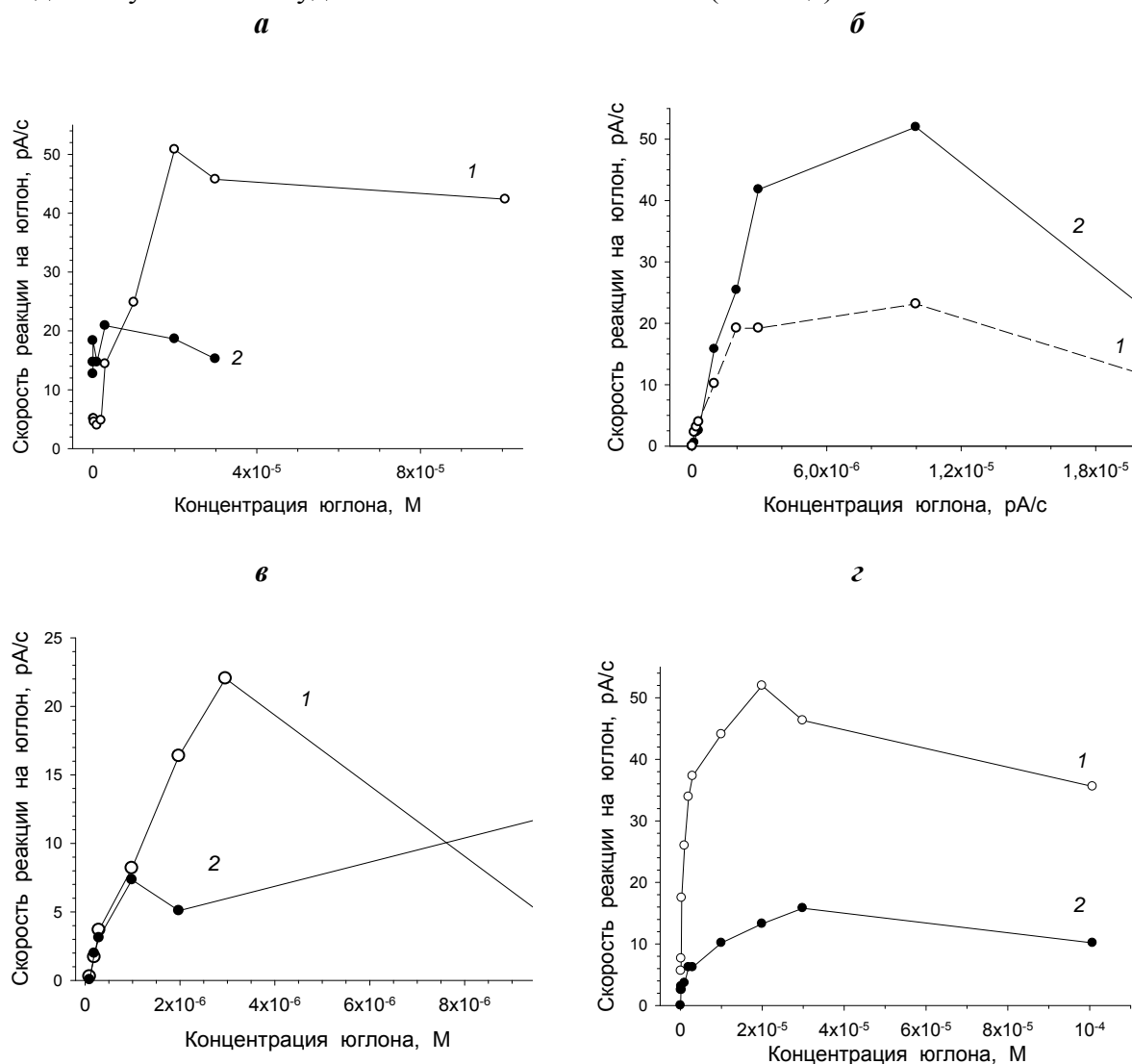


Рис. 2. Зависимость реакции на юглон от концентрации субстрата для иммобилизованных неиндуцированных (1) и индуцированных (2) клеток бактерий: *Rhodococcus erythropolis* (а), *Pseudomonas putida* (б), *Rh13* (в), *Rh1св* (г).

Ранее при определении активности ферментов, участвующих в защите от перекисных радикалов (каталазы, супероксиддисмутазы, аскорбатпероксидазы, пероксидазы) у актинобактерии *Rhodococcus opacus* 1СР, выращенной на богатой среде, активность супероксиддисмутазы, аскорбатпероксидазы, и пероксидазы не детектировалась, за исключением каталазы. В клетках, выращенных на бензоате, активность каталазы была в 2-3 раза выше, чем в клетках, выращенных на богатой среде [Соляникова, 2017]. Каталазо-положительной была и бактериальная культура,

способная расти на юглоне в качестве единственного источника углерода и энергии [Rettenmaier, 1983].

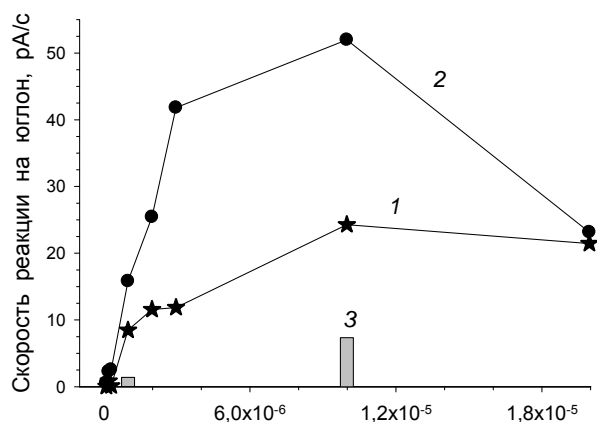


Рис. 3. Зависимость реакции иммобилизованных клеток *Pseudomonas putida* от условий индукции юглонем: 1 - 2х суточная индукция; 2 – 3х суточная индукции; 3 – индукция при низком содержании кислорода в среде.

Таблица.

Активность ферментов в бесклеточном экстракте *Rh13* до и после индукции юглонем

Фермент	Удельная активность, мкмоль/мин на мг белка	
	Неиндуцированные клетки	Индуцированные клетки
Юглон 3-монооксигеназа	0.0182	0.0405
Каталаза	0.0191	0.0389
Глутатион редуктаза	0	0

В дальнейшем предполагается расширить круг определяемых ферментов, защищающих клетки от окислительного стресса, выявить зависимость активности этих ферментов от условий проведения индукции юглонем и особенности, характерные для каждой культуры.

Таким образом, исследованные культуры различались не только по ответу на индукцию юглонем, но и по соотношению реакции на юглон между интактными и иммобилизованными клетками. Это можно объяснить как наличием или отсутствием ферментов, ответственных за формирование ответа культуры, так и их природой – индуцибельные или конститутивные.

Литература

Емельянова Е.В., Сузина Н.Е., Поливцева В.Н., Решетилов А.Н., Соляникова И.П. Выживаемость и биодegradативная активность *Gordonia polyisoprenivorans* 135 – основы рецепторного элемента биосенсора // Прикладная биохимия и микробиология. – 2017. – Т. 53, № 5. – С. 510–518.

Меденцев А.Г., Аринбасарова А.Ю., Акименко В.К. Адаптация фитопатогенного гриба *Fusarium decemcellulare* к окислительному стрессу // Микробиология. – 2001. – Т. 70, № 1. – С. 34–38.

Соляникова И.П., Сузина Н.Е., Емельянова Е.В., Поливцева В.Н., Пшеничникова А.Б., Лобанок А.Г., Головлёва Л.А. Морфо-физиологические и биохимические характеристики штамма *Rhodococcus opacus* 1CP – деструктора бензоата – в стрессовых условиях // Микробиология. – 2017. – Т. 86, № 2. – С. 188–200.

Rettenmaier H., Kupas U., Lingens F. Degradation of juglone by *Pseudomonas putida* J1 // FEMS Microbiology Letters. – 1983. – V. 19, No. 2/3. – P. 193–195.

Schonburg D., Schonberg I., Chang A. Handbook of enzymes / V. 27. Class I. Oxidoreductases XII. EC 1.14.15-1.97. – Springer, 2006. – P. 364–366.

Thomson R.H. Naturally occurring quinones. – London, New York: Academic Press, 1971. – 198 p.

STUDY OF THE EFFECT OF JUGLONE ON INTACT AND IMMOBILIZED MICROBIAL CELLS

E.V. Emelyanova, I.P. Solyanikova

G.K. Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia, elenvem@ibpm.pushchino.ru, innas@ibpm.pushchino.ru

Abstract. The effects of juglone (5-hydroxy-1,4-naphthoquinone) on intact and immobilized microbial cells were compared. It has been shown that as to one cultures responses of intact cells were higher than those of immobilized cells to juglone and vice versa with respect to other cultures. The effect of induction by juglone was different for the cultures studied. The activity of juglone 3-monooxygenase, the enzyme that initiates the decomposition of juglone, and the activity of catalase increased 2 times after induction.

Keywords: *actinobacteria, intact and immobilized cells, juglone, 5-hydroxy-1,4-naphthoquinone*

РЕАКЦИИ ИНТАКТНЫХ И ИММОБИЛИЗОВАННЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КЛЕТОК НА БЕНЗОАТ И ЕГО ПРОИЗВОДНЫЕ

Е.В. Емельянова, И.П. Соляникова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина Российской академии наук, Пущино, Россия, elenvem@ibpm.pushchino.ru, innas@ibpm.pushchino.ru

Аннотация. Проведено сравнение реакций на бензоат и его производные для интактных свежевыращенных и иммобилизованных покоящихся клеток актинобактерий для отработки методики определения активности бензоат 1,2-диоксигеназы (БДО) и оценки транспорта бензоата в клетки бактерий. Показано, что реакция на бензоат у интактных клеток актинобактерий характеризует активность идуцибельной БДО, а у иммобилизованных (при определённых условиях) служит для оценки транспорта бензоата в клетку.

Ключевые слова: *Rhodococcus opacus*, *Gordonia polyisoprenivorans*, интактные и иммобилизованные клетки, бензоат и его аналоги

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-302-306

Чтобы разобраться в особенностях метаболизма микроорганизмов, необходимо иметь представление о ключевых ферментах энзиматического аппарата культуры. В случае стабильных растворимых ферментов несложной структуры их активность можно определить в бесклеточных экстрактах. Однако активность ряда ферментов в бесклеточном экстракте не всегда удаётся определить из-за невозможности сохранить фермент в активном состоянии во время разрушения клеток. Это касается и фермента начальной атаки бензоата – бензоат 1,2-диоксигеназы (БДО), представляющего собой двухкомпонентный ферментный комплекс сложной структуры. Бензоат 1,2-диоксигеназа катализирует реакцию, протекающую с участием кислорода:



Поэтому активность БДО измеряли в целых клетках по изменению потребления кислорода [Farr, 1968].

В настоящем исследовании о скорости ферментативной реакции, катализируемой БДО, судили опосредованно по изменению скорости дыхания свежевыращенных интактных клеток культуры в присутствии соединений – субстратов БДО (реакция свежевыращенных интактных клеток на бензоат (БК) и его производные, полярографическое определение). При этом не следует забывать, что интенсивность (скорость) дыхания – это реакция, которая является комплексным ответом всей клетки, а не только одного конкретного фермента. Для той же культуры оценивали реакцию иммобилизованных покоящихся клеток на бензоат и его производные. Иммобилизованные клетки фиксировали на поверхности кислородного электрода и регистрировали изменение дыхания клеток в ответ на внесение субстрата БДО (сенсорная методика). В этом случае скорость реакции иммобилизованных клеток опосредуется двумя процессами: скоростью реакции фермента с субстратом и скоростью транспорта субстрата в клетку [Тёрнер, 1992]. Целью исследования было сравнить реакции на бензоат и его замещённые производные для интактных и иммобилизованных клеток актинобактерий для отработки методики определения активности БДО и транспорта бензоата.

Чтобы определить реакцию на субстрат, в открытую кювету помещали суспензию свежевыращенных интактных клеток в буферном растворе или в кювету с буферным

раствором помещали кислородный электрод с зафиксированными на нём иммобилизованными покоящимися клетками. После регистрации базового дыхания интактных или иммобилизованных клеток в кювету вносили раствор бензоата (субстратного аналога бензоата) и фиксировали изменение потребления кислорода клетками с помощью кислородного электрода Кларка. Кислородный электрод преобразовывал химический сигнал – концентрация кислорода – в электрический. Регистрируемым параметром являлась максимальная скорость изменения выходного сигнала dI/dt (pA/c), связанная пропорциональной зависимостью со скоростью изменения концентрации кислорода (в ответ на внесение субстрата повышается потребление кислорода клетками). Регистрируемый сигнал отражал скорость реакции клеток с бензоатом или его производными. Скорость выражали в pA/c.

Нами были исследованы реакции на бензоат у двух представителей актинобактерий: *Rhodococcus opacus* 1CP и *Gordonia polyisoprenivorans* 135. Культуры были способны расти на БК в качестве единственного источника углерода и энергии [Solyanikova, 2015]. БДО – индуцибельный фермент, детектируемые количества которого синтезируются в клетках, выросших на средах содержащих субстрат БДО – бензоат. Реакция на бензоат суспензии (2.2 мг влажных клеток/мл) свежесвыращенных на бензоате клеток достигала 91.4 pA/c. Была проверена реакция на бензоат интактных клеток, свежесвыращенных на богатой пептон-триптонной среде (отсутствие бензоата), или длительно хранившихся после роста на среде с бензоатом [Емельянова, 2017; Соляникова, 2016, 2017; Solyanikova, 2017]. У клеток *R. opacus* 1CP и *G. polyisoprenivorans* 135, выросших в отсутствие бензоата, как и следовало ожидать, отсутствовала реакция на бензоат, при этом эндогенное дыхание было достаточно высоким. После длительного хранения (до 4 месяцев) клетки *R. opacus* 1CP, выросшие на бензоате, сохраняли дыхательную активность, но реакция клеток на бензоат падала до нуля. Клетки *G. polyisoprenivorans* 135 в течение более длительного времени (до 10 месяцев) сохраняли следовую активность БДО (2 pA/c). Индукция бензоатом в не ростовых условиях восстанавливала реакцию на бензоат у клеток, выросших на бензоате и длительно хранившихся, и индуцировала реакцию на БК у клеток, выращенных в отсутствие бензоата. Таким образом, реакция свежесвыращенных интактных клеток на бензоат характеризует активность индуцибельной бензоат 1,2-диоксигеназы, содержащейся в клетках исследованных актинобактерий.

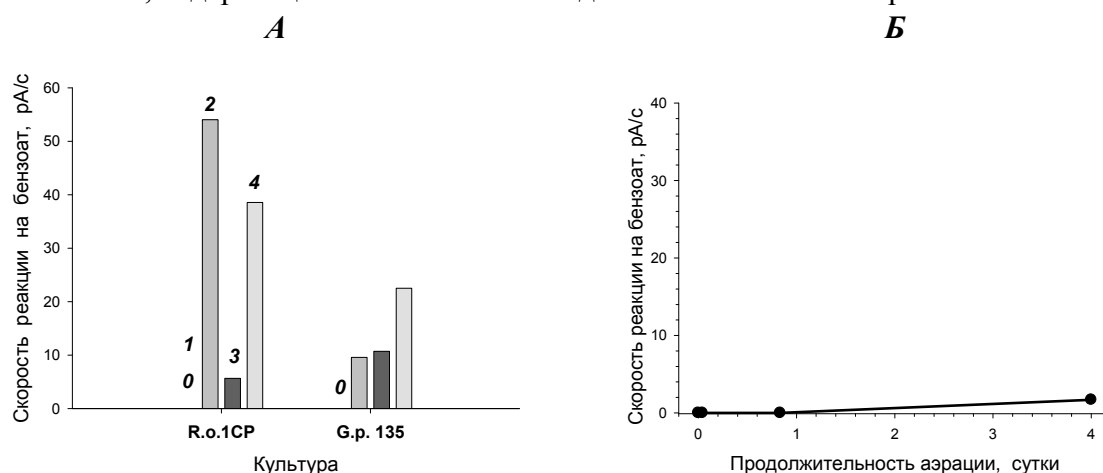


Рис. 1. А – сравнение реакции на бензоат (3.47 мМ) для *R. opacus* 1CP и *G. polyisoprenivorans* 135, выращенных на пептон-триптонной среде: неиндуцированных бензоатом интактных (1) и иммобилизованных (2) клеток и индуцированных бензоатом клеток, (3 и 4), соответственно. Б – появление следовой активности на бензоат у интактных клеток *R. opacus* 1CP после аэрации в неростовых условиях. 0 – нет реакции.

Сравнение реакций на бензоат для иммобилизованных и интактных клеток, выращенных на среде без бензоата, приведено на рис. 1А. Учитывая, что реакция иммобилизованных клеток на бензоат определяется скоростью реакции фермента с субстратом и скоростью транспорта субстрата, логично предположить, что при отсутствии активности фермента в клетках (отсутствие реакции у интактных клеток) реакция иммобилизованных клеток на субстрат зависит, прежде всего, от скорости транспорта субстрата. При аэрации интактных клеток (без БДО активности) в буферном растворе в течение 4-х суток была зарегистрирована следовая реакция на бензоат – около 2 рА/с (рис. 1Б). Это можно было бы объяснить активацией транспорта к 4-м суткам у интактных клеток: исчерпание основных запасов эндогенных субстратов переводит клетки в разряд покоящихся. Однако у длительно хранившихся интактных клеток аналогичной реакции не было зафиксировано.

Для интактных клеток 1СР зависимость скорости реакции на бензоат от концентрации БК отклонялась от классической гиперболической зависимости Михаэлиса-Ментен [Emelyanova, 2017]. Зависимости "реакция-концентрация", полученные для иммобилизованных клеток *R. oracus* 1СР и *G. polyisoprenivorans* 135 [Емельянова, 2017], с большей достоверностью можно было описать уравнением Хилла. Чтобы оценить природу реакции, перед иммобилизацией клетки культур были индуцированы бензоатом. В работе [Тёрнер, 1992] показано, что, если определяющей является скорость ферментативного процесса, то насыщение наблюдается при концентрации субстрата, лишь немного большей $S_{0.5}$ ($S_{0.5}$ – концентрация субстрата, при которой скорость процесса составляет половину максимальной скорости). Однако если процесс лимитируется скоростью транспорта субстрата, то насыщение может быть достигнуто и при концентрациях субстрата ($S_{нас}$), значительно превышающих $S_{0.5}$. Для *G. polyisoprenivorans* 135 проводимая перед иммобилизацией индукция бензоатом клеток, выращенных без БК, приводила к увеличению V_{max} (V_{max} – это предельное значение скорости реакции при $S \rightarrow \infty$) при небольшом увеличении соотношения $S_{нас}/S_{0.5}$ и практически неизменном значении $S_{0.5}$. А для *R. oracus* 1СР в результате индукции аналогичных клеток было зафиксировано снижение V_{max} при сохранении значения $S_{0.5}$ и значительном снижении $S_{нас}/S_{0.5}$. Данный факт может свидетельствовать о различной интенсивности процессов, задействованных в формировании ответа иммобилизованных клеток у двух исследованных культур.

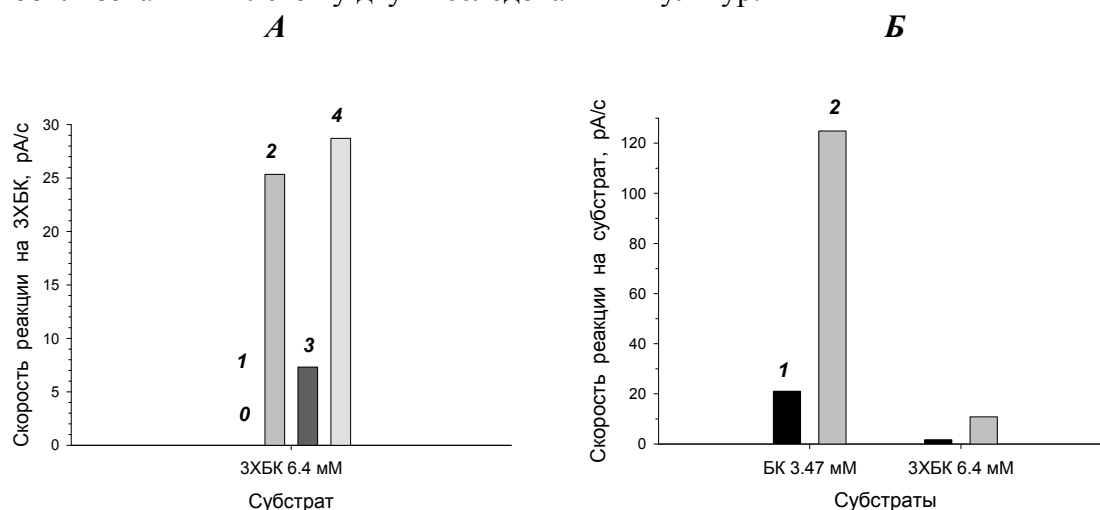


Рис. 2. Сравнение реакции на бензоат и ЗХБК для клеток *R. oracus* 1СР, выращенных на разных средах. А – рост на пептон-триптонной среде: 1, 3 – реакция интактных и 2, 4 – иммобилизованных клеток до (1, 2) и после индукции (3, 4) 3-хлорбензоатом. Б - рост на бензоате и хранение (14 месяцев): 1 – реакция интактных клеток и 2 – иммобилизованных. 0 – нет реакции.

Ранее нами было показано наличие конкуренции за БДО клеток *R. opacus* 1СР между бензоатом и моно-хлорбензоатами [Solyanikova, 2016, 2017]. Тип ингибирования для 2-хлорбензоата был определён как двухпараметрически рассогласованное ингибирование. Расчёт K_i с помощью метода векторного анализа привел к значению 337.5 мкМ, а для иммобилизованных клеток константа составила 140 мкМ (тип ингибирования – переходное от активации к ингибированию).

Для 3-хлорбензоата (ЗХБК) тип ингибирования был определен как двухпараметрически согласованное и рассчитаны константы ингибирования. K_s бензоата (21.2 мкМ) для клеток, выращенных на бензоате, была на порядок меньше константы ингибирования БДО 3-хлорбензоатом (565 мкМ). На рис. 2 приведены реакции на ЗХБК для интактных и иммобилизованных клеток *R. opacus* 1СР, выращенных на пептон-триптонной среде и среде с БК. Для интактных клеток, которые выращивали на бензоате, была зафиксирована реакция и на ЗХБК. Однако она отсутствовала у клеток, свежес выращенных в отсутствие БК. У иммобилизованных клеток реакцию на ЗХБК, как и на бензоат, наблюдали независимо от присутствия БК или ЗХБК в среде культивирования или в буфере для индукции.

Таким образом, в клетках актинобактерий, содержащих индуцибельную бензоат 1,2-диоксигеназу, реакция на бензоат у свежес выращенных интактных клеток характеризует активность БДО. Реакция иммобилизованных покоящихся клеток при определённых условиях может служить для оценки транспорта бензоата в клетку.

Литература

Емельянова Е.В., Соляникова И.П. Оценка *Rhodococcus opacus* 1СР как потенциальной культуры-рецептора биосенсора для детекции бензоата // Экология родного края: проблемы и пути их решения: Материалы XII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (Киров, 13–14 апреля 2017). Книга 2. – Киров: ВятГУ, 2017. – С. 327–332.

Емельянова Е.В., Сузина Н.Е., Поливцева В.Н., Решетиллов А.Н., Соляникова И.П. Выживаемость и биодegradативная активность *Gordonia polyisoprenivorans* 135 – основы рецепторного элемента биосенсора // Прикладная биохимия и микробиология. – 2017. – Т. 53, № 5. – С. 510–518.

Соляникова И.П., Емельянова Е.В., Егозарьян Н.С., Борзова О.В., Поливцева В.Н., Сузина Н.Е., Головлева Л.А. Выживаемость актинобактерий и сохранение ими биодegradативного потенциала в стрессовых условиях. // Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных систем: Материалы XIV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (Киров, 5-8 декабря 2016). Книга 2. – Киров: ООО «Издательство «Радуга-ПРЕСС», 2016. – С. 338–343.

Соляникова И. П., Сузина Н. Е., Емельянова Е. В., Поливцева В. Н., Пшеничникова А. Б., Лобанок А. Г., Головлёва Л. А. Морфо-физиологические и биохимические характеристики штамма *Rhodococcus opacus* 1СР – деструктора бензоата – в стрессовых условиях // Микробиология. – 2017. – Т. 86, № 2. – С. 188–200.

Тёрнер Э., Карубе И., Уилсон Дж. Биосенсоры: основы и приложения. – М: Мир, 1992. – 614 с.

Emelyanova E.V., Solyanikova I.P. Benzoate concentration and cooperativity by a substrate for benzoate 1,2-dioxygenase from benzoate-degrading *Rhodococcus opacus* 1СР // Journal of Biotechnology and Biomedical Science. – 2017. – V. 1, No. 1. – P. 38–46.

Farr D.R., Cain R.B. Catechol oxygenase induction in *Pseudomonas aeruginosa* // Biochem. J. – 1968. – V. 106. – P. 879–885.

Solyanikova I.P., Borzova O.V., Emelyanova E.V. Kinetics of interaction between substrates/substrate analogs and benzoate 1,2-dioxygenase from benzoate-degrading

Rhodococcus opacus 1CP // Folia Microbiol. – 2017. – V. 62, Is. 4. – P. 355–362.

Solyanikova I.P., Emelyanova E.V., Borzova O.V., Golovleva L.A. Benzoate degradation by *Rhodococcus opacus* 1CP after a dormancy: characterization of dioxygenases involved in the process // J. Environm. Sci. Health. – 2016. – Part B. – V. 51, No. 3. – P. 182–191.

Solyanikova I.P., Emelyanova E.V., Shumkova E.S., Egorova D.O., Korsakova E.S., Plotnikova E.G., Golovleva L.A. 2015. Peculiarities of the degradation of benzoate and its chloro- and hydroxy-substituted analogs by actinobacteria // Intern. Biodeterioration and Biodegradation. – 2015. – V. 100. – P. 155–164.

RESPONSES OF INTACT AND IMMOBILIZED BACTERIAL CELLS TO BENZOATE AND ITS ANALOGS

E.V. Emelyanova, I.P. Solyanikova

G.K. Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia, elenvem@ibpm.pushchino.ru, innas@ibpm.pushchino.ru

Abstract. Comparison of responses of intact freshlyharvested and immobilized resting cells of actinobacteria to benzoate and its analogs was undertaken in order to develop further the method of detection of the benzoate 1,2-dioxygenase (BDO) activity and evaluation of benzoate transport into bacterial cells. It has been shown that the response of intact actinobacterial cells to benzoate characterizes the activity of inducible BDO and the response of immobilized cells (under specified conditions) serves as an estimation of benzoate transport into the cell.

Keywords: *Rhodococcus opacus*, *Gordonia polyisoprenivorans*, intact and immobilized cells, benzoate and its analogs

РЕГУЛЯЦИЯ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ФОРМ β -ГЛЮКОЗИДАЗЫ РАСТЕНИЙ МЕТАБОЛИТАМИ И ФАКТОРАМИ СРЕДЫ

А.Н. Ершова, О.Н. Баркалова, С.Е. Долбилина

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный педагогический университет», Воронеж, Россия, aershova@vspu.ac.ru

Аннотация. Получены электрофоретически гомогенные препараты цитоплазматической и связанной с клеточными стенками β -глюкозидазы (КФ. 3.2.1.21) растений гороха. Показано, что пероксид водорода и ионы Ag^+ , Hg^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} ингибировали, а ионы Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{2+} повышали активность обоих молекулярных форм фермента. Условия гипоксии и CO_2 -среда частично снимали ингибирующее действие пероксида на β -глюкозидазу.

Ключевые слова: β -глюкозидаза, горох, ионы металлов, пероксид водорода, гипоксия

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-307-311

β -глюкозидазы (КФ. 3.2.1.21) относятся к классу гидроксил-гидролаз и участвуют в реакциях расщепления β -гликозидной связи в различных олиго-, алкил- и арилглюкозидах [Наумов, 2011]. При классификации β -глюкозидаз обычно учитывается природа агликона расщепляемых ими субстратов. Однако многие β -глюкозидазы могут обладать широкой субстратной специфичностью, что затрудняет их отнесение к определенным семействам этого класса. β -глюкозидазы участвуют в гидролизе гликолипидов, превращении цианогенных гликозидов и сапонинов, алкалоидов, флавоноидов, в проявлении активности фитогормонов, в процессах лигнификации и деградации клеточных стенок [Gerardi, 2001]. β -глюкозидазы имеют различную клеточную локализацию и их можно обнаружить в вакуолях, цитоплазме и хлоропластах растительных клеток. Кроме того, целый ряд растительных β -глюкозидаз может находиться и в связанном с клеточной стенкой состоянии [Shah, 2012].

В проростках гороха была обнаружена β -глюкозидаза, участвующая в расщеплении специфического для данного растения изосукцинимид- β -гликозида (ИС-гликозид) [Ершова, 2009]. Показано [Ершова, 2011], что в клетках данного растения присутствуют как минимум две молекулярные формы β -глюкозидазы: цитоплазматическая и связанная с клеточной стенкой. Как цитоплазматическая, так и связанная с клеточной стенкой β -глюкозидаза проявляли строгую специфичность к агликону и с наибольшей скоростью гидролизовали специфический для растений гороха ИС-гликозид, однако могли расщеплять и другие как арил- и алкилглюкопиранозиды, так и ди- и полисахариды [Ершова, 2017]. Они обладали абсолютной специфичностью к типу расщепляемой гликозидной связи и расщепляли только 1 \rightarrow 4 и 1 \rightarrow 6 β -D-глюкопиранозидные связи, но не расщепляли α -и β -D-галактопиранозидные, что было характерно для глюкозидаз других растений. Известно [Shah, 2012], что ферменты, связанные с клеточной стенкой, обычно значительно отличаются от цитоплазматических форм по своим физико-химическим параметрам. На данный момент исследованы свойства лишь незначительного количества растительных β -глюкозидаз различной клеточной локализации [Sue, 2006].

В связи с этим целью работы явилось получение высокоочищенных препаратов цитоплазматической и связанной с клеточной стенкой β -глюкозидазы растений гороха и изучения влияния различных металлов, ингибиторов и пероксида водорода, а также условий гипоксии и среды высоких концентраций диоксида углерода на активность фермента.

β -глюкозидазу выделяли из листьев 10-дневных проростков гороха, выращенных методом гидропоники при 12-часовом фотопериоде. Цитоплазматическую β -глюкозидазу выделяли из гомогената. Для связанной β -глюкозидазы использовали осадок, содержащий клеточные стенки, который обрабатывали раствором 1М NaCl. Для получения высокоочищенных препаратов цитоплазматической и связанной с клеточными стенками молекулярных форм β -глюкозидазы проводили их очистку путем высаливания сульфатом аммония и гель-хроматографии на колонках с использованием G-25 и G-100. Чистоту выделенных препаратов подтверждали методом нативного электрофореза модифицированным методом Девиса. Для определения наличия субъединиц в ферменте осуществляли электрофорез с ДДС-Na по Леммли. Активность β -глюкозидазы определяли глюкооксидазным тестом по глюкозе, а для р-НФГ по количеству отщепившегося р-нитрофенила ($\lambda=440$ нм). За единицу активности принимали количество фермента, которое расщепляло 1 мкмоль субстрата в мин при +37 °С [Ершова, 2009]. Белок определяли по Лоури. Металлы и ингибиторы вносили в среду инкубации фермента в концентрациях 0,1–10 мМ при оптимальной концентрации субстрата (5 мМ). В отдельном опыте препараты фермента выделяли из проростков, подвергнутых воздействию разных газовых сред (гипоксия, CO₂-среда) в течение 3-24 часов с последующим определением их активности.

В результате проведенной многостадийной очистки были получены ферментные препараты цитоплазматической β -глюкозидазы со степенью очистки 80.7 и удельной активностью 1477.7 Е/мг белка и связанной с клеточной стенкой β -глюкозидазы со степенью очистки – 57.9 и удельной активностью 451.7 Е/мг белка. Нативный электрофорез показал, что в результате предложенной нами схемы очистки были получены электрофоретически гомогенные ферментные препараты. Результаты ДДС-электрофореза показали, что цитоплазматическая и связанная с клеточной стенкой молекулярные формы β -глюкозидазы являются мономерами, но имеют различную электрофоретическую подвижность. Величина Rf для цитоплазматической β -глюкозидазы составила 0.39, а для связанной с клеточной стенкой – 0.86. Полученные высокоочищенные препараты цитоплазматической и связанной с клеточной стенкой β -глюкозидазы гороха были использованы в дальнейших опытах.

β -глюкозидазы не являются металлсодержащими ферментами, но часто на их активность оказывают значительное влияние ионы различных металлов [Gerardi, 2001]. На рисунке показано, что на активность как цитоплазматической, так и связанной с клеточной стенкой β -глюкозидазы растений гороха существенно влияли ионы различных металлов. Ионы Ag⁺, Hg⁺, Cu²⁺, Zn²⁺, Mn²⁺ оказывали ингибирующее действие на обе молекулярные формы β -глюкозидазы, снижая их активность на 50% и более. Ингибирующее влияние на β -глюкозидазу таких ионов, как Ag⁺, Hg⁺, Cu²⁺, Zn²⁺ могло быть следствием образования комплексов с сульфгидрильными, а также с карбоксильными или имидазольными группами, входящих в активные центры фермента. В то же время, такой ингибирующий эффект изученных ионов может быть обратим и легко сниматься разбавлением или обессоливанием фермента. В наших опытах добавление в среду хелатирующего агента ЭДТА в концентрации 10⁻²-10 мМ, не только не снижало активность обеих форм β -глюкозидаз, но она даже несколько возрастала, что подтверждает отсутствие в активном центре β -глюкозидазы атомов металла. Напротив, действие ионов Mg²⁺, Ca²⁺, Fe²⁺ в тех же концентрациях активировали β -глюкозидазу, что было ранее показано и для β -глюкозидаз ряда растений [Shah, 2012].

При изучении механизма катализа ферментов часто используют метод ингибиторного анализа. В связи с этим в наших опытах в среду инкубации фермента вносили р-СМВ и арсенит натрия. Как видно из приведенных данных (рисунок) в

присутствии р-СМВ активность обоих молекулярных форм фермента уменьшалась на 60-70%, что подтверждает наличие в активном центре β -глюкозидазы SH-групп. Ранее на это указывал и сильный ингибирующий эффект ионов Ag^+ , Hg^+ . Известно [Ершова, 2011], что соединения, имеющие в активном центре близкорасположенные SH-группы, имеют высокое сродство к арсениту натрия, что вызывает сильный ингибирующий эффект на активность фермента в присутствии данного ингибитора. Под действием арсенита натрия (10^{-3} М) в наших опытах активность обеих молекулярных форм β -глюкозидазы снижалась на 40-50%, что подтверждает присутствие в активных центрах не только цитоплазматического, но и связанного с клеточной стенкой фермента наличие нескольких, близко расположенных SH-групп.

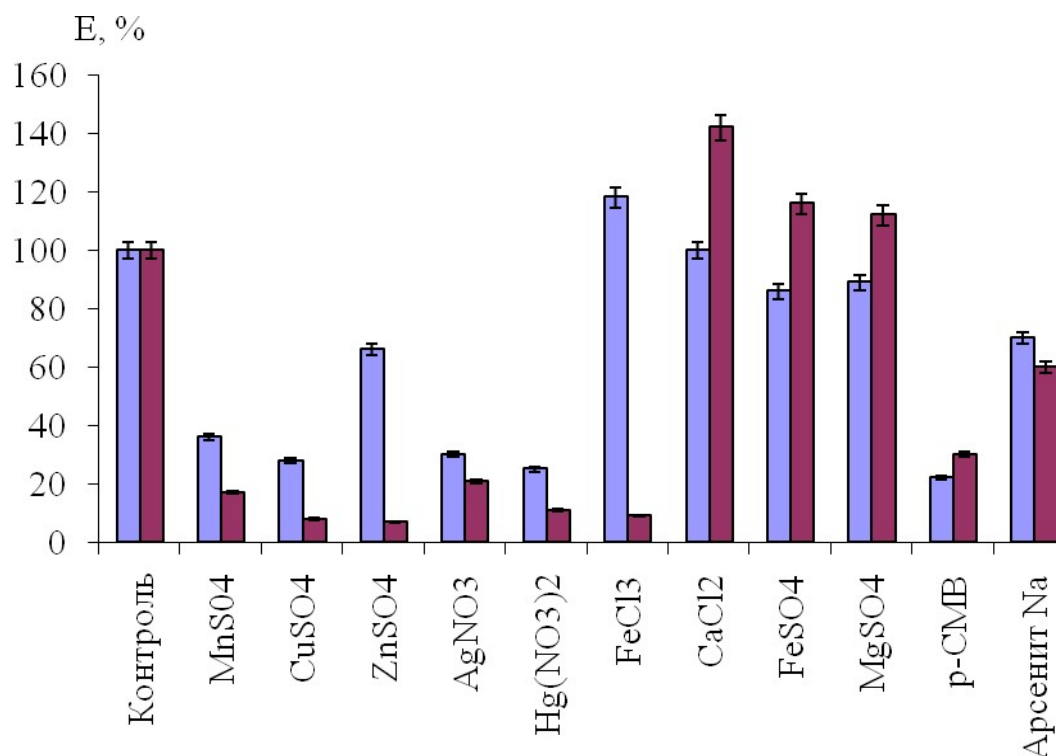


Рисунок. Влияние ингибиторов и ионов металлов на активность цитоплазматической (а) и связанной с клеточной стенкой (б) β -глюкозидазы растений гороха.

Пероксид водорода является предшественником одной из наиболее агрессивных форм АФК – гидроксильного радикала, который накапливается в различных стрессовых условиях, включая гипоксию [Ершова, 2009]. В связи с этим, было проведено исследование влияния пероксида водорода в концентрации 0,1-2 мМ на активность цитоплазматической и связанной с клеточными стенками β -глюкозидазы растений гороха, подвергнутых действию газовых сред. При этом в качестве субстрата использовали р-НФГ. Было показано, что пероксид водорода ингибировал активность фермента как при аэрации, так в условиях дефицита кислорода. Для цитоплазматической β -глюкозидазы растений, подвергнутых воздействию CO_2 -среды, отмечалось самое сильное ингибирование активности фермента (почти в 3 раза). В то же время, при обычной аэрации, как и при гипоксии, активность цитоплазматической β -глюкозидазы с увеличением концентрации пероксида водорода до 2 мМ уменьшалась на 60-65%. Для связанной с клеточной стенкой β -глюкозидазы присутствие в среде пероксида водорода даже в низкой концентрации (0,1-0,5 мМ), снижало активность

фермента почти вдвое. При увеличении концентрации пероксида водорода до 1 мМ активность фермента падала уже на 70%. В то же время в условиях гипоксического стресса и действии CO₂-среды отмечалась некоторая стабилизация активности фермента. Активность связанной с клеточной стенкой β-глюкозидазы сохранялась после действия гипоксии и CO₂-среды на проростки гороха в присутствии даже 1 мМ пероксида водорода на уровне 40%.

Проведенные нами исследования показали, что молекулярные формы β-глюкозидазы растений гороха отличаются величиной электрофоретической подвижности. При этом активность цитоплазматической и связанной с клеточной стенкой β-глюкозидазы подавлялась ионами Ag⁺, Hg⁺, Cu²⁺, Zn²⁺ также в разной степени. Установлено, что активирующее влияние ионов Mg²⁺, Ca²⁺, Fe²⁺ проявлялось в большей степени у связанной с клеточной стенкой молекулярной формы, чем у цитоплазматической формы β-глюкозидазы. Пероксид водорода подавлял активность связанной с клеточной стенкой β-глюкозидазы в условиях различной аэрации более значительно, чем это наблюдалось для цитоплазматической формы фермента. Полученные данные свидетельствуют о значительных различиях физико-химических свойств исследуемых молекулярных форм β-глюкозидазы растений гороха. Отмеченное ингибирование их активности р-СМВ и арсенитом натрия свидетельствует о присутствии в активном центре обеих молекулярных форм фермента близко расположенных SH-групп, которые играют важную роль в акте катализа. Для связанной с клеточной стенкой формы фермента это показано впервые.

Литература

Ершова А.Н., Баркалова О.Н. Выделение, хроматографическая очистка и свойства β-глюкозидазы растений гороха, подвергнутых воздействию гипоксии и CO₂-среды // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2009. – Т. 9, № 5. – С. 714–721.

Ершова А.Н., Баркалова О.Н. Идентификация каталитически активных групп β-глюкозидазы растений гороха (*Pisum sativum*) // Прикладная биохимия и микробиология. – 2011. – Т. 47, № 3. – С. 259–264.

Ершова А.Н., Баркалова О.Н., Фатуллаева А.С. Физико-химические и кинетические свойства цитоплазматической и связанной с клеточной стенкой β-глюкозидазы растений гороха // Вестник Воронежского Государственного Университета. Серия Химия. Биология. Фармация. – 2017. – № 4. – С. 29–34.

Наумов Д.Г. Иерархическая классификация гликозил-гидролаз // Биохимия. – 2011. – Т. 76, № 6. – С. 764–780.

Gerardi C., Blando F., Santino A., Zacheo G. Purification and characterisation of a β-glucosidase abundantly expressed in ripe sweet cherry (*Prunus avium* L.) fruit // Plant Science. – 2001. – V. 160. – P. 795–805

Shah M.A., Chaudhuri T.K., Mishra S. Strategy for purification of aggregation prone β-glucosidases from the cell wall of yeast: a preparative scale approach // New Biotechnology. – 2012. – V. 29, No. 3. – P. 311–320.

Sue M., Yamazaki K. Molecular and structural characterization of β-d-glucosidases in wheat and rye // Plant Physiology. – 2006. – V. 141. – P. 1237–1247.

REGULATION OF MOLECULAR FORMS OF PLANT β -GLUCOSIDASE BY METABOLITES AND ENVIRONMENTAL FACTORS

A.N. Ershova, O.N. Barkalova, S.E. Dolbilina

Voronezh State Pedagogical University, Voronezh, Russia, aershova@vspu.ac.ru

Abstract. The electrophoretically homogenous samples of cytoplasmic and cell wall-bound β -glucosidase (EC. 3.2.1.21) of pea plants were obtained. It was shown that hydrogen peroxide and ions of Ag^+ , Hg^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} inhibited but ions of Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{2+} increased the activity of both molecular forms of the enzyme. Hypoxia and CO_2 -media partially eliminated inhibiting effect of peroxide on β -glucosidase.

Keywords: *β -glucosidase, pea, metal ions, hydrogen peroxide, hypoxia*

АКТИВНОСТЬ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ЛИПОКСИГЕНАЗЫ РАСТЕНИЙ ГОРОХА В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ И CO₂-СРЕДЫ

А.Н. Ершова, О.С. Бердникова

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный педагогический университет», Воронеж, Россия, *aershova@vspsu.ac.ru*

Аннотация. Методом нативного электрофореза и специфического окрашивания показано присутствие в митохондриях липоксигеназы. Определена молекулярная масса фермента, которая составила 99 ± 2 кДа. Отмечено увеличение активности фермента в условиях гипоксии и CO₂-среды, но только в первые 3-6 часов действия газовых сред. Определены кинетические параметры митохондриальной липоксигеназы K_M и V_{max} у растений в условиях нормальной аэрации, гипоксии и высоких концентраций диоксида углерода.

Ключевые слова: горох, липоксигеназа, митохондрии, физико-химические свойства, гипоксия

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-312-315

Различные стрессовые факторы внешней среды, включая дефицит кислорода, влияют не только на изменение содержания в клетках растений активных форм кислорода, но и на активность ферментов, связанных с их детоксикацией [Ершова, 2011]. Показано, что в условиях недостатка кислорода (гипоксия) также усиливаются процессы перекисного окисления липидов. В большей степени эти изменения в активности ферментов, содержании активных форм кислорода происходят при действии на растения среды высоких концентраций диоксида углерода [Ершова, 2007].

Растительные липоксигеназы (КФ 1.13.11.12) принадлежат к классу диоксигеназ. Липоксигеназы катализируют реакцию окисления полиненасыщенных высших жирных кислот с образованием гидропероксидных производных. Субстратами растительных липоксигеназ обычно являются свободные, реже связанные в фосфолипидах полиненасыщенные жирные кислоты, такие как линолевая и линоленовая [Liavonchanka, 2006]. Липоксигеназы имеют разную локализацию в клетках растений. Кроме цитоплазмы и хлоропластов, фермент обнаружен и в митохондриях [Braidot, 2004]. Ранее было показано [Ершова, 2009], что активность липоксигеназы, определяемая в тканевых гомогенатах растений гороха, находящихся в условиях кратковременной гипоксии и среды высоких концентраций CO₂, возрастала. Определяли активность и некоторые физико-химические свойства фермента липоксигеназы, локализованной в митохондриях растений гороха, подвергнутых воздействию кратковременной гипоксии и CO₂-среды.

Объектами исследования служили 10-дневные проростки гороха «Рамонский 77», которые помещали в темновые условия в различные газовые среды на 3-24 часа. Митохондрии выделяли методом дифференциального центрифугирования при +4 °С. Чистоту фракции митохондрий оценивали по активности маркерного фермента СДГ и содержанию хлорофилла. Перекрестное загрязнение фракций митохондрий по содержанию хлорофилла составляло 2%, при этом в ней определялось до 90% активности суммарной СДГ. Активность липоксигеназы определяли спектрофотометрическим методом, используя в качестве субстрата линолевою кислоту по методике [Ильинская, 2000] в нашей модификации и рассчитывали с использованием соответствующего коэффициента экстинкции. Удельную активность выражали в ФЕ на мг белка, содержание которого определяли методом Лоури. Все

опыты по определению активности фермента проводились в двух биологических и двух химических повторностях, в таблицах представлены их средние значения и отклонения.

Согласно литературным данным, основным местом локализации липоксигеназы являются хлоропласты и цитоплазма растительных клеток. Однако в исследованиях [Braidot, 2004] было обнаружено накопление продуктов перекисидации жирных кислот за счет фермента липоксигеназы в митохондриях растительных клеток. Кроме этого, в работе [Hunter, 1983] было отмечено, увеличение активности липоксигеназ в условиях аноксического стресса в клетках растения касатика, что определялось по увеличению содержания соответствующей мРНК.

Для доказательства присутствия в митохондриях растений гороха липоксигеназы были проведены опыты по выделению фракций митохондрий и электрофоретического анализа белков митохондриальной фракции с последующим специфическим окрашиванием на липоксигеназу в присутствии линолевой кислоты по методу [Heydeck, 1985]. В отдельном опыте растения гороха помещали в условия гипоксии и CO₂-среды на 3 часа, и далее проводили электрофоретический анализ на присутствие липоксигеназы в митохондриях растений. Как видно из данных рисунка, на электрофореграмме обнаруживалось три четких пятна липоксигеназы, которые по электрофоретической подвижности не отличались друг от друга. В то же время интенсивность окраски пятен возрастала, если растения подвергались действию гипоксии и CO₂-среды, что свидетельствовало о повышении активности липоксигеназы. При использовании маркерных ферментов (каталаза, альбумин) была рассчитана графическим способом молекулярная масса липоксигеназы, которая составила 99±2 кДа, что близко к митохондриальной липоксигеназе других растений [Braidot, 2004].

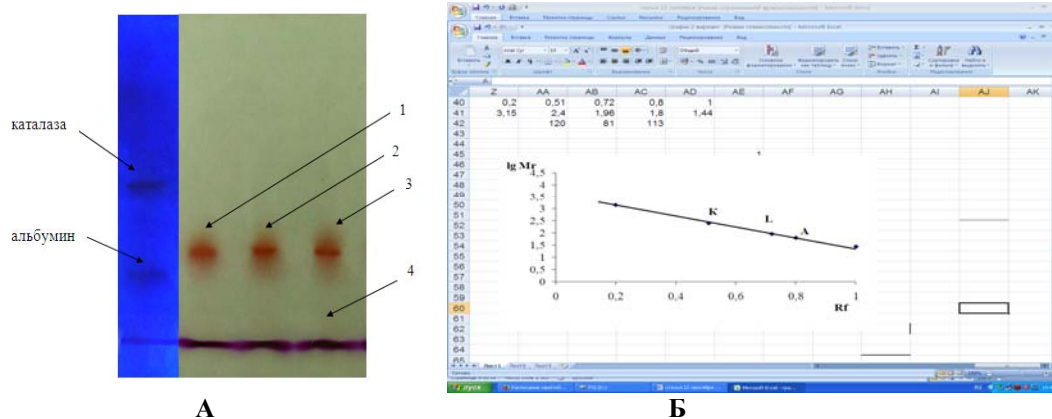


Рисунок. Специфическое проявление липоксигеназы на электрофореграммах белковой фракции митохондрий растений, находящихся в разных условиях аэрации (А), и графическое определение молекулярной массы фермента липоксигеназы по электрофоретической подвижности (Б). Маркерные белки: каталаза (250 кДа), альбумин бычий сывороточный (66 кДа), проявленные с использованием кумасси R-250 (1 – воздух; 2 – гипоксия; 3 – CO₂-среда; 4 – фронт красителя бромфенолового синего); К - каталаза (250 кДа), А - альбумин бычий сывороточный (66 кДа), L – липоксигеназа.

В следующих опытах определяли активноть митохондриальной липоксигеназы растений, подвергнутых действию кратковременной гипоксии и CO₂-среды. Как видно из данных табл. 1, через три часа действия гипоксии и CO₂-среды активность митохондриальной липоксигеназы возрастала на 77 и 52% по сравнению с аэрируемыми растениями. Однако через 6 часов активность митохондриальной

липоксигеназы начинала падать и к концу опыта (24 часа) становилась ниже уровня контрольных растений.

Таблица 1.

Активность митохондриальной липоксигеназы растений гороха, подвергнутых воздействию разных газовых сред

вариант	3 часа		6 часов		24 часа	
	Удельная активность (мкмоль/ мг белка)	% от контроля	Удельная активность (мкмоль/ мг белка)	% от контроля	Удельная активность (мкмоль/ мг белка)	% от контроля
воздух	96,0±10,2	100%	158,5±7,6	100%	105,6±10,9	100%
гипоксия	170,1±15,0	177%	156,2±9,1	99%	87,9±9,2	83%
СО ₂ -среда	145,8±15,1	152%	163,2±7,0	103%	55,8±6,11	53%

При изучении кинетических характеристик (K_M и V_{max}) митохондриальной липоксигеназы было показано, что при 3-х часовой экспозиции в растениях в условиях гипоксии величина K_M фермента снижается с 1,19 до 0,65, что свидетельствует об увеличении сродства фермента к субстрату, а, следовательно, повышении активности данного фермента. В то же время в условиях высоких концентраций диоксида углерода величина K_M фермента возрастала до 1,89. Это свидетельствует об уменьшении сродства фермента к субстрату. Вследствие этого, повышение активности митохондриальной липоксигеназы при действии СО₂-среды на растения может быть и результатом увеличения содержания фермента за счет его новообразования. Подобное усиление синтеза ферментов анаэробного метаболизма было отмечено в целом ряде работ.

Таблица 2.

Влияние гипоксии и среды высоких концентраций углекислого газа (3 часа) на кинетические характеристики липоксигеназы митохондрий проростков гороха

вариант	воздух	гипоксия	СО ₂ -среда
K_M	1,19	0,65	1,89
V_{max}	111,0	60,6	176,3

Проведенные нами исследования с использованием нативного электрофореза и специфического окрашивания показали присутствие липоксигеназы в митохондриях растений гороха. Было установлено, что высокие концентрации диоксида углерода повышали активность митохондриальной липоксигеназы растений гороха, однако при этом величина K_M фермента возрастала. В то же время в условиях гипоксии повышение активности фермента хорошо объяснялось за счет увеличения сродства фермента к субстрату, о чем свидетельствовало уменьшение величины K_M фермента. Было показано, что действие гипоксии и СО₂-среды не вызывает появления новых изоформ фермента митохондриальной липоксигеназы, а связано только с изменением активности фермента. Рассчитана M_r митохондриальной липоксигеназы, которая составила 99±2 кДа.

Повышение активности митохондриальной липоксигеназы в первые часы действия гипоксического стресса и СО₂-среды может способствовать повышению в митохондриях растений фонда свободных радикалов, образующихся при дефиците кислорода. Можно предположить, что липоксигеназный путь образования гидропероксидных радикалов в митохондриях вносит значительный вклад в процессы пероксидации липидов у растений в условиях гипоксии, но это характерно лишь для кратковременных экспозиций (3-6 часов).

Литература

Ершова А.Н., Бердникова О.С. Активность липоксигеназы растений в условиях гипоксии и высоких концентраций CO₂ // Организация и регуляция физиолого-биохимических процессов. — Воронеж: ВГУ, 2009. — Вып. 11. — С. 82–85.

Ершова А.Н., Попова Н.В., Бердникова О.С. Продукция активных форм кислорода и антиоксидантные ферменты растений гороха и сои при действии гипоксии и CO₂-среды // Физиология растений. — 2011. — Т. 58, № 6. — С. 834–843.

Ершова А.Н. Метаболическая адаптация растений к гипоксии и повышенному содержанию диоксида углерода. — Воронеж: Изд-во ВГУ, 2007. — 264 с.

Ильинская Л.И., Переходов Е.А., Чаленко Г.И., Герасимова Н.Г., Романенко Е.Н., Зиновьева С.В., Озерецковская О.Л. Активность липоксигеназы в растениях с индуцированной устойчивостью // Физиология растений. — 2000. — Т. 47, № 4. — С. 516–523.

Braidot E. Biochemical and immunochemical evidences for the presence of lipoxygenase in plant mitochondria // Journal of Experimental Botany. — 2004. — V. 55, No. 403. — P. 1655–1662.

Heydeck D., Schewe T. Improved procedure for the detection of activity of lipoxygenases on electrophoregrams // Biochim. Biophys. Acta. — 1985. — V. 44. — P. 1261–1263.

Hunter M.I.S., Hetherington A.M., Crawford R.M.M. Lipid peroxidation – a factor in anoxia in tolerance in Iris Species? // Phytochemistry. — 1983. — V. 2, No. 5. — P. 1145–1147.

Liavonchanka A., Feussner I. Lipoxygenase: occurrence, function and catalysis // J. Plant Physiol. — 2006. — V. 163. — P. 348–357.

ACTIVITY AND PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF MITOCHONDRIAL LIPOXYGENASE OF PEA PLANTS UNDER HYPOXIA AND CO₂-MEDIA

A.N. Ershova, O.S. Berdnikova

Voronezh State Pedagogical University, Voronezh, Russia, aershova@vspsu.ac.ru

Abstract. By the method of native electrophoresis and specific coloring the presence of lipoxygenase in mitochondria was shown. Molecular mass of the enzyme was determined as 99±2 kDa. An increase of enzyme activity under hypoxia and CO₂-media was noted but only during first 3-6 hr of gas media influence. Kinetic parameters K_M and V_{max} of mitochondrial lipoxygenase were determined in plants under normal aeration, hypoxia and high concentrations of carbon dioxide.

Keywords: *pea, lipoxygenase, mitochondria, physical and chemical properties, hypoxia*

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ПОВЫШЕНИЯ СОЛЕУСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ *SOLANUM TUBEROSUM* L. БРАССИНОСТЕРОИДАМИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СПОСОБА ВОЗДЕЙСТВИЯ

М.В. Ефимова

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», Томск, Россия, stevmv555@gmail.com

Аннотация. Исследовали способность brassinosteroidов (на примере brassinolidа, 24-эпибрасинолида и 28-гомобрасинолида) повышать устойчивость растений картофеля (*Solanum tuberosum* L.) к солевому стрессу и возможные механизмы их защитного действия. Впервые установлена специфика протекторного эффекта brassinosteroidов в зависимости от химической структуры, концентрации используемых гормонов и продолжительности воздействия.

Ключевые слова: brassinolid, 24-эпибрасинолид, 28-гомобрасинолид, продолжительность воздействия, гидропонная культура картофеля

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-316-320

В последнее время отмечается существенное снижение продуктивности сельскохозяйственных культур, связанное с расширением засоленных территорий. Значительная часть засоленных площадей возникла естественным путем в зонах с засушливым климатом в результате накопления солей, главным образом, за счет выветривания родительских пород. Другой причиной избыточного засоления почв является интенсивная антропогенная деятельность, в первую очередь, орошение [Shahid, Rahman, 2011]. Наиболее распространено засоление, вызываемое хлоридом натрия; оно же оказывает наибольший негативный эффект на растения [Munns, Tester, 2008].

В основе негативного действия высоких концентраций солей лежит нарушение осмотического статуса и ионного гомеостаза растений, а также проявление токсического действия неорганических ионов на клеточный метаболизм [Zhang, Shi, 2013; Gupta, Huang, 2014]. Помимо этого, засоление вызывает генерацию активных форм кислорода и развитие окислительного стресса [Ефимова и др., 2014; Schmitt et al., 2014].

Важную роль в регуляции клеточного гомеостаза в оптимальных условиях произрастания и при стрессе играют вещества гормональной природы. Одним из способов защиты растений от избыточного засоления может быть использование экзогенных фитогормонов, среди которых наибольший интерес представляют стероидные гормоны растений – brassinosteroidы (БС). Среди преимуществ БС можно отметить их экологическую безопасность и способность вызывать биологические эффекты в очень низких концентрациях по сравнению с другими группами растительных гормонов [Khrirach et al., 2003]. Brassinosteroidы оказывают всестороннее влияние на развитие растений в процессе их онтогенеза. Известно, что они изменяют активность ферментов, мембранный потенциал, активируют синтез белков и нуклеиновых кислот, регулируют экспрессию пластидных генов, метаболизм аминокислот и жирных кислот, влияют на гормональный статус организма. Эти сдвиги на клеточном уровне отражаются на уровне целого растения усилением роста и повышением продуктивности [Choudhary et al., 2012; Efimova et al., 2017; Fridman, Savaldi-Goldstein, 2013; Siddiqui et al., 2018]. Весьма существенно, что brassinosteroidы увеличивают устойчивость ряда растений к неблагоприятным

температурам, высокому содержанию в почве тяжелых металлов, избыточному засолению и др. [Ефимова и др., 2014; Fariduddin et al., 2014]. Вместе с тем, механизмы стресс-протекторного, в том числе, и солезачитного действия стероидных фитогормонов в настоящее время изучены недостаточно. Кроме того, защитный эффект гормонов обычно оценивают при его совместном действии с повреждающим фактором [Fariduddin et al., 2014; Siddiqui et al., 2018]. Имеются немногочисленные работы, в которых предпринимаются попытки более фундаментального подхода при изучении гормональной регуляции физиологических процессов при стрессе у растений [Ефимова и др., 2016, 2018a; Кузнецов и др., 2016].

В качестве объектов исследования использовали растения *Solanum tuberosum* L., отличающиеся сроками созревания – раннеспелые (Жуковский ранний и Ред Скарлетт) и среднеспелые (Луговской и Накра) сорта. Исходные оздоровленные материнские микроклоны *S. tuberosum* были получены из Всероссийского научно-исследовательского института картофельного хозяйства им. А.Г. Лорха (п. Коренёво, Россия). Культивирование микрочеренков *in vitro* осуществляли на модифицированной агаризованной безгормональной питательной среде Мурасиге и Скуга (рН=5.8) с добавлением витаминов и сахарозы. Продолжительность культивирования для сортов Жуковский, Луговской и Ред Скарлетт составляла 23 дня, для сорта Накра – 30 суток. Микроклоны выращивали под люминесцентными лампами L36W/77 Fluora («Osram», Германия) при плотности потока квантов ФАР 200–250 мкмоль·м⁻²·с⁻¹ в фитотроне с 16-часовым фотопериодом и температурой 16±2 °С. Корни растений отмывали от агаризованной среды и проводили двухнедельную адаптацию микроклонов к жидкой среде МС и условиям воздушной среды под люминесцентными лампами L36W/77 Fluora («Osram», Германия) при плотности потока квантов ФАР 200–250 мкмоль·м⁻²·с⁻¹ в фитотроне с 16-часовым фотопериодом и температурой 20±3 °С.

Нами проведена серия экспериментов по влиянию трех основных БС (брасинолид, 24-эпибрасинолид и 28-гомобрасинолид), отличающихся как по количеству атомов углерода в молекуле, так и по конфигурации заместителей в боковой цепи, на рост и развитие растений картофеля. В первой серии экспериментов оценивали эффекты, достигаемые от воздействия стероидных гормонов на разных этапах адаптационного процесса – до начала действия стрессора (этап преадаптации), одновременно с началом действия стрессора (период стресса) или после действия стрессора (этап восстановления). Продолжительность каждого этапа составляла 4 суток. Во второй серии экспериментов анализировали эффект кратковременного (4 ч) воздействия гормонами до начала действия стрессора. Стероидные гормоны растений были любезно предоставлены академиком В.А. Хрипачом (Институт биоорганической химии НАН Беларуси).

Ответные реакции растений картофеля на воздействие экзогенных стероидных гормонов оценивали по общепринятым ростовым критериям – сырой и сухой биомассе, линейным размерам побега и корня, суммарной площади ассимилирующей поверхности, количеству столонов. Кроме того, определяли ряд физиологических показателей – содержание фотосинтетических пигментов (хлорофилла *a*, хлорофилла *b* и каротиноидов), уровень осмотического стресса (содержание осмолитов и осмотический потенциал клеточного экссудата), интенсивность окислительного стресса (уровень перекисного окисления липидов, содержание низкомолекулярных антиоксидантов и активность антиоксидантных ферментов), накопление ионов натрия, калия и кальция в надземных и подземных частях растений.

Подробное описание отрицательного воздействия хлоридного засоления на ростовые и физиологические показатели *S. tuberosum* приводится в публикации [Ефимова и др., 2018b].

Эффективность стероидных гормонов при хлоридном засолении определялась их химической структурой и способом воздействия. Введение стероидных гормонов в питательную среду при стрессе или после действия стрессора приводило к увеличению количества столонов по сравнению с действием одного стрессора; содержание фотосинтетических пигментов при этом увеличивалось, показатели осмотического потенциала клеточного экссудата приближались к контрольным значениям. Содержание совместимого осмолита пролина, обладающего выраженными свойствами антиоксиданта и химического шаперона, при стрессе в ответ на экзогенное воздействие brassinosteroidов или увеличивалось (в случае внесения brassinolidа или гомобрассинолида в среду на этапе восстановления), или снижалось (если гомобрассинолид или эпибрассинолид добавляли в питательную среду на этапе преадаптации). Вероятно, протекторный эффект brassinosteroidов реализовался на уровне регуляции ионного гомеостаза. Стероидные гормоны снижали накопление натрия в корнях в 1.5-2 раза в зависимости от химической структуры и способа обработки, при этом, в побегах концентрация ионов натрия уменьшалась не значительно. Скорее всего, БС регулировали поступление ионов натрия в растение и/или их перераспределение по органам.

При хлоридном засолении для раннеспелых сортов картофеля наиболее эффективным гормоном в снижении негативного влияния соли был эпибрассинолид. Для среднеспелых сортов максимальный протекторный эффект проявляли эпибрассинолид и brassinolid. Возможно, выраженный защитный эффект для brassinolidа и эпибрассинолида связан с тем, что они имеют сходную структуру – количество атомов углерода в молекуле (28) и заместители в боковой цепи (метильная группа в 24 положении углерода), в то время как 28-гомобрассинолид отличается большим количеством атомов углерода (29) и иным заместителем в боковой цепи (этильная группа в 24 положении углерода).

Наибольший положительный эффект brassinolidа при интенсивном хлоридном засолении для среднеспелых сортов картофеля отмечен при продолжительном воздействии гормона на этапах стрессорного воздействия или восстановления.

Кратковременное (4 ч) внесение стероидных гормонов в питательную среду в значительной степени снижало отрицательное воздействие засоления на ростовые показатели, такие как: число столонов, суммарная листовая поверхность и сырая масса растений, что свидетельствует о повышении солеустойчивости растений. Экзогенное внесение гормонов во всем диапазоне исследуемых концентраций на фоне засоления (100 мМ NaCl) снижало уровень малонового диальдегида, что свидетельствует о замедлении процесса перекисного окисления липидов и падении интенсивности окислительного стресса и является одной из вероятных причин повышения солеустойчивости растений. Содержание фотосинтетических пигментов (хлорофилла *a* и каротиноидов) также возрастало при обработке растений эпибрассинолидом (от 10^{-10} до 10^{-8} М) и ГБЛ (10^{-9} и 10^{-8} М) в условиях засоления, достигая в ряде случаев контрольных значений.

Таким образом, нами впервые была установлена специфика защитного действия brassinosteroidов при хлоридном засолении в зависимости от химической структуры, концентрации используемых гормонов и продолжительности воздействия.

Исследование было поддержано грантом Российского научного фонда (РНФ) №16-16-04057.

Литература

Ефимова М.В., Савчук А.Л., Хасан Дж.А.К., Литвиновская Р.П., Хрипач В.А., Холодова В.П., Кузнецов Вл.В. Физиологические механизмы повышения

солеустойчивости растений рапса brassиностероидами // Физиология растений. – 2014. – Т. 61, № 6. – С. 778–789.

Ефимова М.В., Хрипач В.А., Бойко Е.В., Малофий М.К., Коломейчук Л.В., Мурган О.К., Видершпан А.Н., Мухаматдинова Е.А., Кузнецов Вл.В. Индуцированный brassиностероидами прайминг растений картофеля снижает окислительный стресс и повышает солеустойчивость // Доклады Академии Наук. Общая биология. – 2018а. – Т. 478, № 6. – С. 723–726.

Ефимова М.В., Коломейчук Л.В., Бойко Е.В., Малофий М.К., Видершпан А.Н., Плюснин И.Н., Головацкая И.Ф., Мурган О.К., Кузнецов Вл.В. Физиологические механизмы устойчивости растений *Solanum tuberosum* L. к хлоридному засолению // Физиология растений. – 2018b. – Т. 65, № 3. – С. 196–206.

Кузнецов Вл.В., Ефимова М.В., Хасан Ж., Холодова В.П., Хрипач В.А. Способ повышения устойчивости растений рапса к интенсивному хлоридному засолению 24-эпибрасинолидом // Патент РФ № 2603091. – 2016 г.

Choudhary S.P., Yu J.Q., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K., Lam-Son P.T. Benefits of brassinosteroid crosstalk // Trends in Plant Sci. – 2012. – V. 17. – P. 594–605.

Efimova M.V., Vankova R., Kusnetsov V.V., Litvinovskaya R.P., Zlobin I.E., Dobrev P., Vedenicheva N.P., Sauchuk A.L., Karnachuk R.A., Kudryakova N.V., Kuznetsov V.V. Effects of 24-epibrassinolide and green light on plastid gene transcription and cytokinin content of barley leaves // Steroids. – 2017. – V. 120. – P. 32–40.

Fariduddin Q., Yusuf M., Ahmad I., Ahmad A. Brassinosteroids and their role in response of plants to abiotic stresses // Biol. Plant. – 2014. – V. 58. – P. 9–17.

Fridman Y., Savaldi-Goldstein S. Brassinosteroids in growth control: How, when and where // Plant Sci. – 2013. – V. 209. – P. 24–31.

Gupta B., Huang B. Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization // Int. J. Genom. – 2014. – P. 1–18.

Khripach V.A., Zhabinskii V.N., Khripach N.B. New practical aspects of brassinosteroids and results of their ten-year agricultural use in Russia and Belarus // Brassinosteroids. Bioactivity and Crop Productivity / Eds. Hayat S., Ahmad A. Dordrecht: Kluwer, 2003. – P. 189–230.

Munns R., Tester, M. Mechanisms of salinity tolerance // Annu. Rev. Plant Biol. – 2008. – V. 59. – P. 651–681.

Schmitt Fr.J., Renger G., Friedrich T., Kreslavski V.D., Zharmukhamedov S.K., Los D.A., Kuznetsov V.I., Allakhverdiev S.I. Reactive oxygen species: re-evaluation of generation, monitoring and role in stress-signaling in phototrophic organisms // Biochim. Biophys. Acta. – 2014. – V. 1837. – P. 835–848.

Siddiqui H., Hayat S., Bajguz A. Regulation of photosynthesis by brassinosteroids in plants // Acta Physiologiae Plantarum. – 2018. – V. 40:59.

Shahid S.A., Rahman K. Soil salinity development, classification, assessment, and management in irrigated agriculture // Handbook of Plant and Crop Stress / Ed. Pessarakli M. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2011. – P. 23–38.

Zhang J.L., Shi H. Physiological and molecular mechanisms of plant salt tolerance // Photosynth. Res. – 2013. – V. 115. – P. 1–22.

**PHYSIOLOGICAL MECHANISMS OF INCREASING THE SALT RESISTANCE
OF *SOLANUM TUBEROSUM* L. PLANTS BY BRASSINOSTEROIDS
AS DEPENDENT FROM THE EXPOSURE PATHWAYS**

M.V. Efimova

Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation, *stevmv555@gmail.com*

Abstract. The ability of brassinosteroids, such as brassinolide, 24-epibrassinolide and 28-homobrassinolide to increase the resistance of potato plants (*Solanum tuberosum* L.) to salt stress was investigated along with the possible mechanisms of their protective action. For the first time, the specificity of the protective effect of brassinosteroids from their chemical structure, the concentration of them and the duration of the exposure was established.

Keywords: *brassinolide, 24-epibrassinolide, 28-homobrassinolide, duration of the exposure, hydroponic culture of potato*

БИОИНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ, ЭКСТРАГИРОВАННЫХ ИЗ *VERONICA CHAMAEDRYS*, *ALCHEMILLA SUBCRENATA* И *ANDROMEDA POLYFOLIA*

М.А. Живетьев^{1,2}, Н.В. Семенова¹, Л.В. Дударева¹, И.А. Граскова¹, Ю.С. Букин^{2,3}

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия, *nik.19@mail.ru*

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Иркутский национальный исследовательский технический университет», Иркутск, Россия

³Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия

Аннотация. Изучались лекарственные растения: *Andromeda polyfolia*, *Alchemilla subcrenata* и *Veronica chamaedrys*. Результаты хроматографии сводились в единый массив данных для последующей обработки с помощью компьютерных программ (R и Statistica 7.0). Был использован метод главных компонент и сса-анализ. Были продемонстрированы возможности компьютеризированного статистического анализа в выявлении природных закономерностей. В частности, показано изменение набора вторичных метаболитов фенольной природы в тканях растений в зависимости от органа растения, времени суток и месяца сбора проб.

Ключевые слова: фенольные соединения, *Andromeda polyfolia*, *Alchemilla subcrenata*, *Veronica chamaedrys*

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-321-322

Исследовались полифенолы следующих растительных видов: подбел многолистный *Andromeda polyfolia*, манжетка городковатая *Alchemilla subcrenata* и вероника дубравная *Veronica chamaedrys*. Отбор материала проводили на юго-восточном побережье озера Байкал, в 700 м от уреза озера, стационар СИФИБР СО РАН «Речка Выдринная». Бралась надземная часть растения. На разнотравном лугу преобладала манжетка и вероника, в заболоченной низменности – господствовал подбел.

Экстракцию полифенолов из растительных тканей осуществляли метанолом или этанолом. Пробоподготовка перед ВЭЖХ-анализом включала в себя очистку экстрактов хлороформом от липофильных пигментов по стандартной методике с последующей экстракцией фенольного комплекса этилацетатом. Качественный состав фенольной фракции экстрактов исследовали на микроколоночном высокоэффективном жидкостном хроматографе «Милихром А-02» (Россия) с УФ-детектором при градиентном режиме хроматографирования (градиент 40 мин от 5 до 100 % ацетонитрила), колонка длиной 75 мм, диаметром 2 мм, скорость потока 100 мкл/мин, объем пробы 4 мкл. Идентификацию полученных хроматографических пиков проводили путем сравнения их УФ-спектров с базами данных в программе МультиХром-СПЕКТР для Windows.

Результаты хроматографии (время выхода и площади пиков) сводились в единый массив данных для последующей обработки с помощью компьютерных программ (R и Statistica 7.0). Был использован метод главных компонент и сса-анализ.

Были продемонстрированы возможности компьютеризированного статистического анализа в выявлении природных закономерностей. Показано изменение набора вторичных метаболитов фенольной природы в тканях растений в

зависимости от органа растения, времени суток и месяца отбора проб.

Проведенный биоинформационный анализ выявил наиболее сильно зависящие от внешних и внутренних условий хроматографические пики. Соответствующие этим пикам соединения перспективно идентифицировать и исследовать их вторичную структуру. Соответствующие наиболее изменчивым пикам вещества можно считать перспективными в изучении, в том числе в установлении их физиологической роли в метаболизме растений.

Работа выполнена на оборудовании Центра коллективного пользования «Биоаналитика» Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН (г. Иркутск) с использованием коллекций микроорганизмов ЦКП «Биоресурсный центр» СИФИБР СО РАН при поддержке интеграционной программой «Фундаментальные исследования и прорывные технологии как основа опережающего развития Байкальского региона и его межрегиональных связей».

BIOINFORMATION ANALYSIS OF PHENOLIC COMPOUNDS EXTRACTED FROM *VERONICA CHAMAEDRYS*, *ALCHEMILLA SUBCRENATA* AND *ANDROMEDA POLYFOLIA*

M.A. Zhivetyev^{1,2}, N.V. Semenova¹, L.V. Dudareva¹, I.A. Graskova¹, Ju.S. Bukin^{2,3}

¹Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia, *nik.19@mail.ru*

²Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Irkutsk National Research Technical University», Irkutsk, Russia

³Limnological Institute Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia

Abstract. Examined the medicinal plants: *Andromeda polyfolia*, *Alchemilla subcrenata* and *Veronica chamaedrys*. Results of chromatography were in a single data array for further processing using computer programs (R and Statistica 7.0). Principal component analysis method was used and the cca-analysis. Demonstrated the possibilities of computerized statistical analysis to identify natural patterns. In particular, it modifies the set of secondary metabolites phenol nature in tissues of plants depending on the organ of a plant, time of day and month collecting samples.

Keywords: *phenolic compounds, Andromeda polyfolia, Alchemilla subcrenata, Veronica chamaedrys*

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МИТОХОНДРИЙ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА В УСЛОВИЯХ ДЕФИЦИТА ВОДЫ

И.В. Жигачева¹, И.Ф. Русина²

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук, Москва, Россия, zhigacheva@mail.ru

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук, Москва, Россия, rusina939@mail.ru

Аннотация. Используя модель дефицита воды (ДВ) исследовали антистрессовые свойства N-ацетилцистеинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина (З-ОП). ДВ приводил к 3-кратному росту интенсивности ПОЛ в мембранах митохондрий этиолированных проростков гороха и 30% снижению максимальных скоростей окисления НАД-зависимых субстратов. 10^{-9} М З-ОП предотвращал активацию ПОЛ в мембранах митохондрий, что обеспечивало эффективную работу электрон-транспортной цепи митохондрий и повышало устойчивость проростков к ДВ.

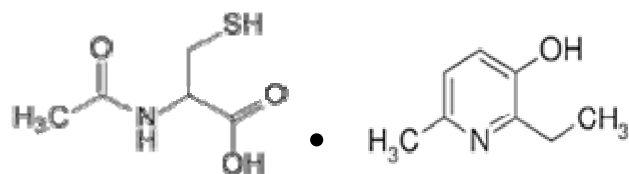
Ключевые слова: производные 3-гидроксипиридина, митохондрии, дефицит воды

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-323-327

Доступность воды – важный экологический фактор, от которого зависит рост, урожайность и выживание растений. Вода участвует во всех метаболических процессах, поддерживая структуру цитоплазмы, стабильность ее коллоидных компонентов и определенную конформацию белков. Растения, перенесшие сильную кратковременную засуху, так и не возвращались к нормальному обмену веществ [Boyer, 1982].

Известно, что реализация антистрессовых программ требует больших энергетических трат [Шакирова и др., 2003]. При этом митохондрии играют одну из ключевых ролей в энергетических, окислительно-восстановительных и метаболических процессах клетки [Atkin, Macherel, 2009]. Тем не менее, в условиях стресса эти органеллы являются одним из основных источников активных форм кислорода (АФК) [Зоров и др., 2007]. Увеличение генерации АФК митохондриями при стрессе может привести к взаимодействию АФК с полиненасыщенными жирными кислотами, входящими в состав липидов мембран митохондрий, такими как линолевая и линоленовая кислоты, что приводит к активации перекисного окисления липидов (ПОЛ). Активация процессов ПОЛ может быть одной из причин утечки цитохрома *c* и нарушения электрон-транспортной функции цитохромоксидазного участка дыхательной цепи митохондрий.

Можно предположить, что препараты, снижающие генерацию АФК митохондриями, будут повышать устойчивость растений к действию стрессовых факторов, в том числе и к дефициту воды. В качестве таких препаратов, вероятно, могут быть использованы производные 3-гидроксипиридина (З-ОП). Исследования биологических свойств производных З-ОП позволили установить, что данные соединения могут выступать в качестве потенциальных защитных агентов при действии на организм различных повреждающих факторов. В связи с этим в качестве объектов исследования нами был выбран препарат, относящийся к производным 3-гидроксипиридина - N-ацетилцистеинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридин (З-ОП), предотвращающий активацию ПОЛ в модельных экспериментах:



Поскольку водный дефицит снижает функциональную активность, как хлоропластов, так и митохондрий [Шугаева и др., 2007] интересно было выяснить, как влияет N-ацетилцистеинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридин (3-ОП) на функциональное состояние митохондрий проростков гороха, подвергнутых 2-х дневному водному дефициту. Использовали 3-ОП в той концентрации, в которой он снижал интенсивность ПОЛ до контрольных значений (10^{-9} М).

Материалы и методы

Работу проводили на митохондриях 5 дневных проростков гороха (*Pisum sativum* L), сорт и сорт Альфа.

Семена гороха промывали водой с мылом и 0,01% раствором KMnO_4 . Контрольную группу семян в течение 30 мин замачивали в воде, а опытную группу – в 10^{-9} М растворе N-ацетилцистеинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина (3-ОП). Затем семена переносили на влажную фильтровальную бумагу, где они находились в темноте в течение суток. Спустя сутки половину семян контрольной группы (ДВ) и семена, обработанные 3-ОП, переносили на сухую фильтровальную бумагу. Через 2 суток семена группы ДВ переносили на влажную фильтровальную бумагу, а семена опытной группы – на фильтровальную бумагу, увлажненную 3-ОП, где семена обеих групп находились в течение последующих 2 суток. Семена контрольной группы оставались на влажной фильтровальной бумаге в течение 5 суток. На пятые сутки выделяли митохондрии из эпикотилей проростков всех исследуемых групп.

Выделение митохондрий из эпикотилей этиолированных проростков гороха проводили методом дифференциального центрифугирования (при 25000 g в течение 5 мин и при 3000 g в течение 3 мин) [Попов и др., 2003]. Осаждение митохондрий проводили в течение 10 мин при 11000 g. Осадок ресуспендировали в 2-3 мл среды, содержащей: 0,4 М сахарозу, 20 мМ KH_2PO_4 (pH 7,4), 0,1% БСА (свободный от жирных кислот) и вновь осаждали митохондрии при 11000 g в течение 10 мин.

Скорости дыхания митохондрий проростков гороха регистрировали электродом типа Кларка, используя полярограф LP-7 (Чехия). Среда инкубации митохондрий печени содержала: 0,4 М сахарозу, 20 мМ HEPES-Tris-буфер (pH 7,2), 5 мМ KH_2PO_4 , 4 мМ MgCl_2 и 0,1% БСА.

Перекисное окисления липидов (ПОЛ) оценивали флуоресцентным методом, используя спектрофлуориметр «FluoroMax-HoribaYvon GmbH (Германия) [Fletcher et al., 1973]. Длина волны возбуждения флуоресценции была 360 нм, испускания – 420-470 нм.

Антирадикальную активность (АРА) препарата оценивали хемилюминисцентным методом (ХЛ) по эффекту торможения жидкофазного окисления этилбензола (60 °С), которое инициировали термическим распадом азобисизобутиронитрила, (АИБИН). Интенсивность ХЛ усиливали 9,10-дибромантраценом. Эффективную константу ингибирования k_{INH} рассчитывали из серии ХЛ кривых с разной концентрацией 3-ОП [Русина и др., 2005]. Полученные результаты соотносили с данными, полученными с использованием известных антиоксидантов α -токоферола и хромана C_1 (аналога α -токоферола).

Результаты и обсуждение

Дефицит воды приводил к активации свободнорадикального окисления в мембранах митохондрий этиолированных проростков гороха, о чем свидетельствует 3-

кратный рост интенсивности флуоресценции продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) (рисунок).

Изменения физико-химических свойств мембран митохондрий сопровождались 30% снижением максимальных скоростей окисления НАД-зависимых субстратов и 25% снижением эффективности окислительного фосфорилирования (таблица).

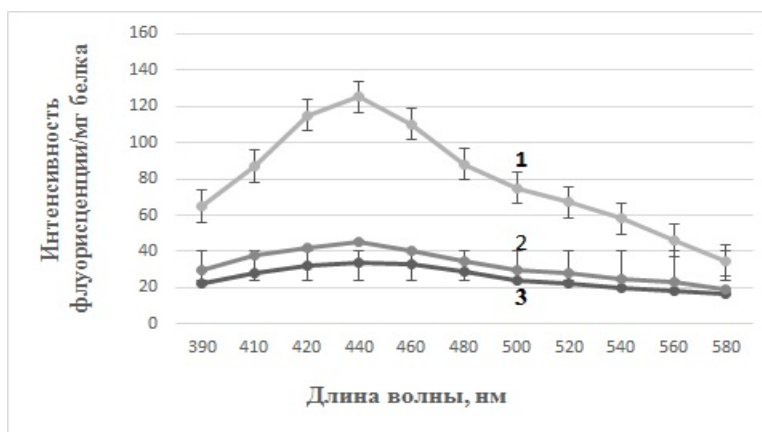


Рисунок. Спектры флуоресценции продуктов ПОЛ в мембранах митохондрий 5-дневных этиолированных проростков гороха в условиях дефицита воды (ДВ) и обработки семян N-ацетилцистеинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридином (3-ОП). 1- ДВ; 2- ДВ+3-ОП; 3- контроль.

Таблица.

Влияние дефицита воды (ДВ) и N-ацетилцистеинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина (3-ОП) на скорости окисления НАД-зависимых субстратов митохондриями, выделенными из проростков гороха, нг-моль / (мг белка мин)

Группа	Состояние 2	Состояние 3	Состояние 4	ДК	FCCP
Контроль	25,50±1,20	74,3±3,2	31,62±2,50	2,35±0,01	76,1±4,8
ДВ	15,0±2,10	45,6±2,5	27,27±1,00	1,65±0,02	52,0±2,2
ДВ+3-ОП (10 ⁻⁹ М)	26,8±2,34	76,5±2,6	30,36±1,32	2,52± 0,01	76,5±4,1

Среда инкубации: 0,4 М сахараза, 20 мМ HEPES-Tris буфер (pH 7,2), 5 мМ KН₂РO₄, 4 мМ MgCl₂, и 0,1% БСА, 10мМ малат, 10 мМ глутамат. Дополнительные добавки: 200 мкМ АДФ, 10⁻⁶ М FCCP (карбонилцианид-р-трифторметоксифенил-гидразон).

При этом скорости окисления сукцината снижались всего на 10-15%. Введение в среду инкубации митохондрий 10 мкМ витамина К₃ почти восстанавливало скорости транспорта электронов на начальном участке дыхательной цепи, что свидетельствовало о снижении активности I комплекса дыхательной в условиях дефицита воды. Нарушение функционирования электрон-транспортной цепи митохондрий в условиях дефицита воды, возможно, обусловлено окислением ненасыщенных жирных кислот, входящих в состав кардиолипина, главным образом линолевой кислоты, и, следовательно, возможным снижением содержания этого фосфолипида во внутренней мембране митохондрий [Paradies et al., 2004].

Обработка семян и проростков гороха 3-ОП предотвращала активацию ПОЛ в мембранах митохондрий (рисунок). Препарат, защищая от ПОЛ ненасыщенные ЖК, входящие в состав липидов мембран, способствовал сохранению высоких скоростей окисления НАД-зависимых субстратов в присутствии АДФ или FCCP и предотвращал снижение эффективности окислительного фосфорилирования, обусловленное дефицитом воды (таблица).

Изменения физико-химических свойств мембран митохондрий, приводящие к изменениям в энергетическом метаболизме, отразилось и на физиологических

показателях, а именно, на росте проростков. Водный дефицит резко снижал ростовые процессы. Обработка семян гороха 3-ОП предотвращала снижение темпа роста корней.

На основании приведенных данных можно прийти к заключению, что образование АФК при стрессе (дефиците воды) активирует перекисное окисление липидов мембран, что приводит к дестабилизации комплекса I, усилению генерации АФК и вероятно, диссоциации суперкомплексов дыхательной цепи митохондрий [Genova, Lenaz, 2014]. Можно предположить, что защитный эффект препарата обусловлен его антирадикальными и антиоксидантными свойствами. Эффективная константа ингибирования свободнорадикального окисления этилбензола (60 °С) равна – $3,84 \times 10^4$ (Мс)⁻¹. Снижение интенсивности процессов свободнорадикального окисления находит отражение в низкой интенсивности ПОЛ. N-ацетилцистеинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридин, предотвращая пероксидацию фосфолипидов, обеспечивает эффективную работу электрон-транспортных цепей митохондрий за счет повышения активности НАД-зависимых дегидрогеназ. Результатом повышения активности этих ферментов является активация энергетических процессов в клетке, что повышает устойчивость растительного организма к изменяющимся условиям внешней среды.

Литература

Зоров Д.Б., Исаев Н.К., Плотников Е.Ю., Зорова Л.Д., Стельмашук Е.В., Васильева А.К., Архангельская А.А., Хряпенкова Т.Г. Митохондрия как многоликий янус // Биохимия. – 2007. – Т. 72, №10. – С. 1371–1384.

Попов В.Н., Руге Э.К., Старков А.А. Влияние ингибиторов электронного транспорта на образование активных форм кислорода при окислении сукцината митохондриями гороха // Биохимия. – 2003. – Т. 68, №7. – С. 910–916.

Русина И.Ф., Максимова Т.В., Кондратович В.Г., Ведутенко В.В., Касаикина О.Т. Кинетические модели для определения биоантиоксидантов // Сб. «Молекулярные механизмы регуляции функции клетки». – Тюмень, 2005. – С. 46–49.

Шакирова Ф.М., Гилязетдинов Ш.Я., Кулаева О.Н. Стратегия использования регуляторов роста растений // Вестник академии наук Республики Башкортостан. – 2003. – Т. 8, № 1. – С.14–21.

Шугаева Н.А., Выскребенцева Э.И., Орехова С.О., Шугаев А.Г. Влияние водного дефицита на дыхание проводящих пучков листового черешка сахарной свеклы // Физиология растений. – 2007. – Т. 54, № 3. – С. 373–380.

Atkin O.K., Macherel D. The crucial role of plant mitochondria in orchestrating drought tolerance // Ann. Bot. – 2009. – V.103. – P. 581–590.

Boyer J.S. Plant productivity and the environment // Science. – 1982. – V. 218. – P. 443–448.

Genova M.L., Lenaz G. Functional role of mitochondrial respiratory supercomplexes // BBA. – V. 1837, № 4. – P. 427–443.

Paradies G., Petrosillo G., Pistolese M., Venosa N., Federici A., Ruggiero F.M. Decrease in mitochondrial complex i activity in ischemic/perfused rat heart. involvement of reactive oxygen species and cardiolipin // Circulation Research. – 2004. – V. 94. – P. 53–59.

THE FUNCTIONAL STATE OF MITOCHONDRIA OF PEA SEEDLINGS UNDER CONDITIONS OF WATER DEFICIENCY

I.V. Zhigacheva¹, I.F. Rusina²

¹Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, *zhigacheva@mail.ru*

²Semenov Institute of Chemical Physics Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, *rusina939@mail.ru*

Abstract. Using the model of water deficiency (WD), the anti-stress properties of 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine N-acetylcysteinate (3-OP) were studied. WD led to a 3-fold increase in the intensity of LPO in the membranes of mitochondria of etiolated pea seedlings and a 30% decrease in the maximum rates of oxidation of NAD-dependent substrates. 10^{-9} M 3-OP prevented the activation of LPO in mitochondrial membranes, which ensured efficient operation of the electron transport chain of mitochondria and increased the resistance of seedlings to WD.

Keywords: *3-hydroxypyridine derivatives, mitochondria, water deficiency*

ФИТОНЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ ПО СИСТЕМЕ БИОТЕСТОВ

Е.Н. Жидкова, А.А. Новожилов

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Липецкий государственный педагогический университет имени П.П. Семенова-Тян-Шанского», Липецк, Россия, zhidkova_helen@mail.ru

Аннотация. Изучали аллелопатическое влияние вытяжки из листьев яблони домашней (*Malus domestica* Borkh), черёмухи обыкновенной (*Padus avium* Mill.) и сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) на всхожесть семян и развитие зародышевого корня газонных трав райграса пастбищного (*Lolium perenne* L.), мятлика лугового (*Poa pratensis* L.), овсяницы красной (*Festuca rubra* L.) и полевицы тонкой (*Agrostis capillaris* L.). Степень чувствительности прорастающих семян к фитонцидам древесных растений определяли по отношению всхожести семян и длины корней проростков в опытном и контрольном вариантах, выраженной в процентах.

Ключевые слова: аллелопатия, газонные травы, лабораторная всхожесть, листья, ингибирующий эффект

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-328-331

Проращивание семян в присутствии фитонцидов других растений вследствие своей простоты, как метод изучения аллелопатии, получило значительное распространение. Источником водорастворимых фитонцидов являютсяготавливаемые разными способами настойки, донные вытяжки (промывные воды) из разных частей растений-доноров; для летучих фитонцидов – измельченные части растений [Бойко и др., 2013; Бударин, 2015; Глубшева, Ткаченко, 2011; Гродзинский и др., 1990; Ерёмченко, 2012; Осирова, 2001; Приступа, Москалёв, 2015; Симагина, 2013].

Нами рассмотрено влияние вытяжки из листьев яблони домашней (*Malus domestica* Borkh), черёмухи обыкновенной (*Padus avium* Mill.) и сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) на всхожесть и развитие зародышевого корня газонных трав: райграса пастбищного (*Lolium perenne* L.), мятлика лугового (*Poa pratensis* L.), овсяницы красной (*Festuca rubra* L.) и полевицы тонкой (*Agrostis capillaris* L.).

Для получения вытяжки листа древесных растений разрезали на полоски шириной 1 мм, затем заливали кипяченной дистиллированной водой из расчёта 5, 7,5 и 10 грамм на 100 мл воды и выдерживали сутки в тёмном прохладном помещении. После настаивания раствор отфильтровали от остатков листьев и использовали для проращивания семян.

Семена (по 50 шт.) газонных трав проращивали при температуре 22-26 °С в чашках Петри на фильтровальной бумаге с добавлением 4 мл отфильтрованного раствора вытяжки. Контрольный вариант – проращивание семян в дистиллированной воде. Повторность опыта трёхкратная, всхожесть определяли по [ГОСТ 12038-84].

Статистическую обработку материала проводили методом однофакторного дисперсионного анализа [Доспехов, 1985].

По аналогии с изучением влияния токсичности гербицидов [Минеев и др., 1991] определяли степень чувствительности к фитонцидам прорастающих семян, выраженной в процентах, по отношению к: а) всхожести семян по вариантам опыта к всхожести семян контрольного варианта; б) снижения (увеличения) длины корней проростков по вариантам опыта к показателям контрольного варианта.

Выделение степени влияния при использовании показателя «всхожесть семян» проводили по градации, предложенной [Стаценко и др., 2000]: низкая – 76% и выше;

средняя – от 50 до 75%; высокая – 49% и ниже.

При изучении стимулирования (ингибирования) роста корней нами использована следующая размерность шкалы: слабое влияние – 20% и ниже; среднее – от 21 до 50%; высокое – 51% и выше.

В результате проведенных исследований выявлено ингибирующее влияние веществ из вытяжки листьев изучаемых древесных растений на всхожесть семян райграса пастбищного и мятлика лугового (за исключением варианта с вытяжкой из листьев черёмухи обыкновенной в концентрации 5 г листьев на 100 мл воды). Для овсяницы красной ингибирующее влияние на всхожесть семян оказали все вытяжки из хвои сосны обыкновенной, а также вытяжки из листьев яблони домашней и черёмухи обыкновенной в концентрации 10 г листьев на 100 мл воды). Для полевицы тонкой ингибирование всхожести семян отмечено для вариантов с вытяжкой из хвои сосны обыкновенной в концентрации 5 и 10 г хвои на 100 мл воды (табл. 1).

Таблица 1.

Влияние водной вытяжки листьев древесных растений на всхожесть семян газонных трав

Масса листьев (г) на 100 мл воды	Всхожесть семян (%)											
	райграса пастбищного			мятлика лугового			овсяницы красной			полевицы тонкой		
	5	7,5	10	5	7,5	10	5	7,5	10	5	7,5	10
Вариант опыта												
Контроль	97,5	97,5	97,5	71,0	71,0	71,0	49,5	49,5	49,5	71,0	71,0	71,0
Яблоня домашняя	94,0*	91,5	88,5	69,0	66,5	67,5	48,5	48,5	46,5	75,5	71,0	67,0
Черёмуха обыкновенная	93,5	92,0	92,5	70,5	67,5	67,0	50,0	47,0	46,5	73,5	69,0	66,5
Сосна обыкновенная	90,5	86,5	84,0	65,5	64,5	65,5	46,0	44,5	41,0	73	61,8	64,5
НСР ₀₅	3,24			1,83			2,42			5,48		

*серым цветом в таблице обозначены результаты, достоверно отличающиеся от контрольных значений.

В тоже время по определению степени чувствительности к фитонцидам прорастающих семян, выраженной в процентах по отношению всхожести семян по вариантам опыта к всхожести семян контрольного варианта, мы отметили низкое аллелопатическое влияние вытяжки листьев всех рассмотренных древесных растений на всхожесть семян газонных трав (табл. 2).

Таблица 2.

Аллелопатическое влияние вытяжки листьев древесных растений на всхожесть семян газонных трав

Масса листьев (г) на 100 мл воды	Всхожесть семян по вариантам опыта к всхожести семян контрольного варианта (%)											
	райграса пастбищного			мятлика лугового			овсяницы красной			полевицы тонкой		
	5	7,5	10	5	7,5	10	5	7,5	10	5	7,5	10
Вариант опыта												
Контроль	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Яблоня домашняя	96,4 -3,6	93,8 -6,2	90,7 -9,3	97,2 -2,8	93,7 -6,3	95,1 -4,9	98,0 -2	98,0 -2	93,9 -6,1	106,3 +6,3	100 0	94,4 -5,6
Черёмуха обыкновенная	95,9 -4,1	94,4 -5,6	94,8 -5,2	99,3 -0,7	95,1 -4,9	94,4 -5,6	101,0 +1	94,9 -5,1	93,9 -6,1	103,5 +3,5	97,2 -2,8	93,7 -6,3
Сосна обыкновенная	92,8 -7,2	88,7 -11,3	86,2 -13,8	92,2 -7,8	90,8 -9,2	92,2 -7,8	92,9 -7,1	89,9 -10,1	82,8 -17,2	102,8 +2,8	87,0 -13	90,8 -9,2

Во всех вариантах опыта нами отмечено негативное влияние фитонцидов на развитие корней райграса пастбищного по сравнению с контролем и не обнаружено их воздействие на развитие корней мятлика лугового.

Ингибирующее воздействие на развитие корней овсяницы красной выявлено для варианта с вытяжкой из хвои сосны обыкновенной, приготовленной из 10 г хвои на 100 мл воды, по сравнению с контрольным вариантом (соответственно 22,3 5 и 25,3 мм). Ингибирующее воздействие на развитие корней полевицы тонкой оказали вытяжки из хвои сосны обыкновенной (7,5 г хвои на 100 мл воды) и черёмухи обыкновенной (7,5 и 10 г листьев на 100 мл воды) (соответственно 10,0; 9,8 и 11 мм; в контрольном варианте 10,8 мм).

Степень ингибирования (стимулирования) роста корней нами определялась по вариантам опыта к показателям контрольного варианта (табл. 3), при этом выявлено слабое влияние, ниже 20%, во всех вариантах за исключением воздействия черёмухи обыкновенной на развитие корней райграса пастбищного при использовании вытяжки 10 г листьев на 100 мл воды, где снижение длины корней составило 22,6 % (т.е. наблюдается средняя степень ингибирования развития корня – от 22,6%) (табл. 3).

Таблица 3.

Определение снижения (увеличения) длины корней проростков по вариантам опыта к показателям контрольного варианта

Масса листьев (г) на 100 мл воды	Снижение (увеличение) длины корней проростков (%) к показателям контрольного варианта для											
	райграса пастбищного			мятлика лугового			овсяницы красной			полевицы тонкой		
	5	7,5	10	5	7,5	10	5	7,5	10	5	7,5	10
Вариант опыта	5	7,5	10	5	7,5	10	5	7,5	10	5	7,5	10
Контроль	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Яблоня домашняя	88,3 -11,7	86,7 -13,3	84,5 -15,5	102,1 +2,1	100 0	97,9 -2,1	99,8 -0,2	98,8 -1,2	94,9 -5,1	97,2 -2,8	92,6 -7,4	90,3 -9,7
Черёмуха обыкновенная	89,8 -10,2	83,7 -16,3	77,6 -22,6	104,2 +4,2	106,3 6,3	104,2 4,2	97,8 -2,2	95,8 -4,2	99,8 -0,2	97,2 -2,8	90,3 -9,7	101,8 +1,8
Сосна обыкновенная	93,9 -6,1	89,8 10,2	91,8 -8,2	106,3 +6,3	102,1 2,1	102,1 2,1	97,8 -2,2	95,8 -4,2	87,9 -12,1	94,9 -5,1	92,6 -7,3	94,9 -5,1

Таким образом, все изучаемые виды древесных растений оказывают влияние в разной степени на всхожесть семян газонных трав и развитие зародышевого корня. Наибольшее негативное влияние выявлено для развития семян райграса пастбищного.

Литература

Бойко В.В., Данилец Р.А., Пospelов С.В., Загорюлько С.П. Аллелопатическое влияние семян василька синего (*Centaurea cyanus* L.) на злаковые культуры при прорастании // Материалы второй Международной научно-практической интернет-конференции "Лекарственное растениеводство: от опыта прошлого к современным технологиям. – Полтава, 2013. – С. 25–28.

Бударин С.Н. Морфофизиологические взаимоотношения борщевика сосновского (*Heracleum Sosnowskyi* Manden) с культурными и сорными растениями: дис. ... канд. биол. наук: 03.01.05. – М., 2015. – 143 с.

Глубшева Т.Н., Ткаченко И.К. Аллелопатическое влияние настоя бархатцев на набухание семян горчицы // Научные ведомости. Серия Естественные науки. – 2011. – № 3 (98). – Выпуск 14/1. – С. 352–354

ГОСТ 12038-84. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести (с Изменениями N 1, 2) – Введ. 1986–01–07. – Москва: Издательство стандартов, 1986. – 30 с.

Гродзинский А.М., Кострома Е.Ю., Шроль Т.С., Хохлова И.Г. Прямые методы биотестирования почвы и метаболитов микроорганизмов // Аллелопатия и продуктивность растений: Сб. науч. тр. – Киев: Наукова думка, 1990. – С. 121–124.

Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). – М.: Агропром-издат, 1985. – 351 с.

Ерёменко Ю.А., Ремпе Е.Х., Воронина Л.П. Аллелопатические свойства адвентивных видов древесно-кустарниковых растений // Промышленная ботаника. – 2012. – Вып. 12. – С. 188–193

Минеев В.Г. Биотест для определения экологических последствий применения химических средств защиты // Доклады ВАСХНИЛ. – 1991. – № 7. – С. 5–9.

Стаценко А.П., Гришин Г.Е., Чернышов В.Е. Пат. № 2181238 Российская Федерация, МПК7 А 01 G 7/00. Способ оценки почвоутомления (заявитель и патентообладатель Пензенская государственная сельскохозяйственная академия). – № 2000125132/13; заявл. 04.10.2000; опубл. 20.04.2002, Бюл. № 16. – 4 с.

Приступа И.В., Москалёв А.П. Влияние аллелопатически активных веществ при совместном выращивании разных видов льна // Актуальні питання біології, екології та хімії. – 2015. – Т. 9, № 1. – С.4–16.

Симагина Н.О. Аллелопатический потенциал древесных растений // Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2013. – Т. 26, № 1. – С. 186–193.

Osipova I. Аллелопатические свойства калины обыкновенной (*Viburnum opulus* L.) – ценного декоративного, лекарственного и плодового растения // Proceedings of 9th International Conference of Horticulture, September 3th– 6th 2001 Lednice, Czech Republic, ISBN 80-7157-524-0, V. 1. – P. 146–152.

PHYTONCIDE ACTIVITY OF SOME WOOD PLANTS BY THE BIOTEST SYSTEM

E.N. Zhidkova, A.A. Novozhilov

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Lipetsk State Pedagogical P. Semenov-Tyan-Shansky University», Lipetsk, Russia, zhidkova_helen@mail.ru

Abstract. The allelopathic effect of extract from the leaves of the *Malus domestica* Borkh, *Padus avium* Mill. and *Pinus sylvestris* L. were studied on seed germination and the development of the germinal root of lawn grasses of *Lolium perenne* L., *Poa pratensis* L., *Festuca rubra* L. and *Agrostis capillaris* L.. The degree of sensitivity to phytoncide of wood plant of seeds growing was determined in relation to the germination rate and root length in the experimental and control variants expressed in percentage terms

Keywords: allelopathy, lawn grass, laboratory germination, leaves, inhibitory effect

ВЛИЯНИЕ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ УСЛОВИЙ СРЕДЫ НА СОСТАВ И СОДЕРЖАНИЕ В РАСТЕНИЯХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ С ОЧЕНЬ ДЛИННОЙ ЦЕПЬЮ

А.В. Жуков

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия, zhukov_anatolij@list.ru

Аннотация. Обнаружена зависимость изменений в качественном составе и относительном содержании жирных кислот с очень длинной цепью липидов некоторых растений от степени ухудшения условий их произрастания. Количество суммы насыщенных, а иногда и ненасыщенных жирных кислот с очень длинной цепью возрастает в условиях заражения патогенами, дефицита воды, засоления и воздействия отрицательных температур.

Ключевые слова: *стресс у растений, жирные кислоты с очень длинной цепью*

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-332-335

Жирные кислоты с очень длинной цепью (ЖКОДЦ) – это молекулы с углеводородной цепью, имеющей от 20 до 28 атомов С и более, как насыщенные, так и ненасыщенные. ЖКОДЦ служат субстратами для ферментов, синтезирующих воска и кутин, и являются также компонентами полярных липидов плазматических мембран высших растений [Cassagne et al., 1994]. Известно, что растения отвечают на водный, осмотический или инфекционный стресс рядом защитных реакций, к которым можно отнести и активацию синтеза восковых эфиров, содержащих ЖКОДЦ; в дальнейшем эти эфиры покрывают поверхность кутикулы. Молекулы насыщенных и мононенасыщенных ЖКОДЦ необходимы для синтеза эпикутикулярных восков, кутина и суберина растений и входят в состав этих соединений. Таким образом, ЖКОДЦ участвуют в защите растений от стрессовых воздействий, таких, как потеря воды или заражение патогенами. Так, при заражении проростков пшеницы возбудителем гельминтоспориозной корневой гнили *Bipolaris sorokiniana* относительное содержание ЖКОДЦ в суммарных липидах побегов и корней превышало контроль в 2-4 раза. Поскольку большую часть этих ЖКОДЦ составляли насыщенные кислоты (20:0 и 22:0), было необходимо проконтролировать, каким образом изменяется при заражении содержание насыщенных ЖК обычной длины и, в первую очередь, пальмитиновой кислоты (16:0), поскольку количество 14:0 и 18:0 в растительных тканях, как правило, незначительно. Результаты опытов показали, что относительное содержание 16:0 при заражении также несколько возросло. Увеличение количества ЖКОДЦ при заражении представляло собой, вероятно, адаптивную реакцию растений на инфекционный стресс, выражающуюся в усилении биосинтеза эпикутикулярных восков, препятствующих прорастанию спор гриба и образованию апрессориев, которое может осуществляться только на влажной поверхности [Жуков и др., 2001]. Иммунный ответ растения на атаку патогенов включает реакцию сверхчувствительности – форму запрограммированной смерти клеток в местах инвазии. Известна модель, согласно которой транскрипционный фактор MYB30 у арабидопсиса модулирует передачу сигнала о клеточной смерти путем увеличения синтеза ЖКОДЦ в эндоплазматическом ретикулуме. В мутантах с выключенным MYB30 и в линиях с его сверхэкспрессией резко изменялось накопление производных ЖКОДЦ – компонентов восков листового эпидермиса [Raffaele et al., 2009].

Показано, что в условиях дефицита воды в липидах мембран митохондрий проростков гороха значительно увеличивалось относительное содержание насыщенных ЖК обычной длины (16:0 и 18:0) и возрастало в 1,5-2,5 раза содержание насыщенных ЖКОДЦ (20:0, 22:0 и 24:0); при этом количество ненасыщенных ЖКОДЦ (20:1^{Δ7}, 20:1^{Δ9} и 20:2) уменьшалось [Жигачева и др., 2013].

Сравнение между собой осевых корней 5 сортов винограда, обладающих разной степенью противостояния накоплению хлоридов в листьях этого растения, показало, что если расположить их в ряд по количеству аккумулированных хлоридов (от 1,4 до 19,8 мэкв/Сl/100 г сухого веса), то общее относительное содержание ЖКОДЦ 22:0 и 24:0 от общего количества ЖК в суммарных липидах корней этих сортов составляло 11,9; 11,8; 4,6; 1,9 и 1,3%. Можно сделать вывод, что растения, корни которых не пропускают в листья хлориды, содержат в липидах этих корней больше ЖКОДЦ. В то же время, относительное содержание в корнях суммы двух классов фосфолипидов - фосфатидил-этаноламинов и -холинов изменялось в 4-х сортах винограда также в сторону уменьшения – от 34 до 10%. Можно предположить, что ЖКОДЦ участвуют в регулировании проницаемости мембран как составные части фосфолипидов. Данные общего относительного содержания кислот 22:0 и 24:0 в сумме фосфатидил-этаноламинов и -холинов корней трех сортов винограда из приведенного ряда показывают, что эта величина также падает, как и в случае суммарных липидов. Сравнение относительного содержания насыщенных ЖКОДЦ с аналогичной величиной для насыщенных ЖК обычной длины (16:0) показало, что содержание последней в сумме двух классов фосфолипидов в этом ряду сортов винограда закономерно увеличивалось (почти в 1,5 раза). Следовательно, в данной работе относительное содержание насыщенных ЖКОДЦ изменялось в разном направлении по сравнению с таковым для 16:0 [Kuiper, 1968]. Таким образом, растения реагируют на хлоридное отравление, так же как и на водный дефицит, увеличением синтеза насыщенных ЖКОДЦ. При этом если в первом случае одновременно возрастало относительное содержание и насыщенных ЖК обычной длины, то во втором – эта величина уменьшалась.

Влияние NaCl на растения, характеризующиеся высокой устойчивостью к засолению, приводит к изменениям в составе и содержании ЖКОДЦ в липидах надземных органов и корней. Так, при помещении галофита из сем. Маревых *Suaeda altissima* в питательный раствор с концентрациями NaCl 1мМ, 250 мМ (оптимальная для растения концентрация) или 750 мМ было обнаружено, что при 250 мМ в надземных частях ЖКОДЦ отсутствовали, а в корнях их содержание составляло 1,7%. Интересно, что в условиях очень малого засоления или солевого стресса (750 мМ) растения сведы в отношении ЖКОДЦ ведут себя одинаково; их содержание возрастает в 13 раз в надземных органах (до 4% от суммы ЖК), и в 4 раза – в корнях (до 7%). При этом содержание 16:0 в надземных органах изменяется аналогично ЖКОДЦ; как при малом, так и наиболее сильном засолении эта величина возрастает от 9% (при 250 мМ) до 23% [Цыдендамбаев и др., 2013]. При выращивании одноклеточной зеленой водоросли *Dunaliella salina*, считающейся высокосолеустойчивой, на 0,5 М растворе NaCl в липидах микросом этих клеток содержание единственной ЖКОДЦ (22:1) составило 4,4% от суммы жирных кислот. При переносе клеток в 3,5 М раствор ее концентрация увеличивалась до 7,7%, а также образовывались еще три вида ЖКОДЦ – 20:0, 20:3 и 22:0, общее содержание которых составило 3,3% [Azachi et al., 2002]. Известно, что галофиты отличаются от гликофитов пониженным содержанием ненасыщенных жирных кислот в мембранах клеток, а рост концентрации соли во внешней среде может вызывать дальнейшее падение ненасыщенности суммы этих кислот и рост содержания ЖКОДЦ в глицеролипидах вегетативных органов галофитов.

Эти изменения можно считать адаптивной реакцией, направленной на поддержание роста растений в условиях солевого стресса [Иванова и др., 2009]. Возможно, увеличение насыщенности суммы жирных кислот, а также и длины их цепей при засолении вызывает снижение текучести мембран, приводя к уменьшению проницаемости последних для солей.

При исследовании состава и содержания жирных кислот липидов корней 6-недельного табака (*Nicotiana tabacum* L.) при низкотемпературном закаливании было обнаружено, что перед опытом они содержали ЖКОДЦ C₂₀₋₂₄, в том числе ди- и триненасыщенные. Если до закаливания (8 °С, 6 суток) количество ЖКОДЦ составляло 18,6% от общего содержания жирных кислот, то после него эта величина возросла до 24,7%, причем появлялись новые ЖКОДЦ 22:2 и 22:3. Можно отметить, что закаливание приводило к некоторому росту в корнях относительного содержания кислот 16:0 и 18:0 [Попов и др., 2012]. При изучении сезонных изменений в жирнокислотном составе отдельных классов фосфолипидов и гликолипидов *Laminaria japonica* было обнаружено, что в зимний период в фосфатидилэтаноламинах накапливалось очень большое количество ЖКОДЦ 20:4 и 20:5 (45 и 18% соответственно). В летнее время эти величины составляли значительно менее – 27 и 2,3% соответственно. Подобное снижение для летнего времени отмечено и для 20:5 в дигалактозилдиацилглицеринах (33% – зимой и 3,4% – летом), в сульфополипидах (10% – зимой и 1,% – летом) и в фосфатидилхолинах (18% – зимой и 7,5% – летом) [Sanina et al., 2003]. Таким образом, низкие температуры зимнего периода провоцируют значительное повышение относительного содержания ЖКОДЦ в клетках этих водорослей.

Вероятно, ЖКОДЦ принимают участие в виде компонентов полярных и высокополярных липидов в построении мембран растительной клетки, а также в микроокружении каких либо ферментов. Не исключено, что при построении мембран клеткой часто требуется уменьшить их текучесть не только включением в полярные липиды большего количества насыщенных кислот обычной длины, но и включением ЖКОДЦ, тем более, что в случае некоторых стрессовых ситуаций в тканях возрастает количество именно насыщенных ЖКОДЦ. Кроме того, ЖКОДЦ, возможно, востребованы мембранами клетки вследствие их большей, чем обычно, длины и способностью находиться одновременно в обоих слоях бислоевой мембраны, скрепляя ее, тем самым, в наиболее ответственных ситуациях, что, в частности, и происходит при стрессе. Обращает на себя внимание тот факт, что увеличение относительного содержания ЖКОДЦ в клетках растений при неблагоприятных условиях среды часто совпадает с увеличением аналогичной величины у насыщенных ЖК с обычной длиной цепи. Для насыщенных ЖКОДЦ такая реакция понятна, но и ненасыщенные часто ведут себя аналогично. Возможно, причина в том, что и те и другие ЖКОДЦ включаются при биосинтезе глицеролипидов в одно и то же положение при глицерине, поскольку другое, как правило, занимают ненасыщенные кислоты обычной длины.

Приведенные примеры изменения содержания ЖКОДЦ в условиях заражения патогенами, дефицита воды, засоления и воздействия отрицательных температур продемонстрировали, что указанные виды стресса влияют на эти показатели в сторону их увеличения, а также и на появление новых ЖКОДЦ. В настоящее время недостаточно экспериментальных данных для сравнения вектора изменений содержания ЖКОДЦ с обычными насыщенными кислотами в растениях при разных видах стресса; можно предположить, что обе эти величины возрастают одновременно. Кроме того, интересно сравнить в условиях стресса состояние двух групп ЖКОДЦ – насыщенных и ненасыщенных, будет ли количество ЖКОДЦ одновременно возрастать в обеих группах или возрастать в одной и уменьшаться в другой.

Литература

Жигачева И.В., Бурлакова Е.Б., Мишарина Т.А., Теренина М.Б., Крикунова Н.И., Генерозова И.П., Шугаев А.Г., Фаттохов С.Г. Жирнокислотный состав липидов мембран и энергетика митохондрий проростков гороха в условиях дефицита воды // Физиология растений. – 2013. – Т.60, № 2. – С. 205–213.

Жуков А.В., Лебедева У.В., Верещагин А.Г. Влияние гельминтоспориозной корневой гнили на состав ацилсодержащих липидов а проростках пшеницы // Физиология растений. – 2001. – Т. 48, № 2. – С. 214–222.

Иванова Т.И., Мясоедов Н.А., Пчелкин В.П., Цыдендамбаев В.Д., Верещагин А.Г. Повышенное содержание жирных кислот с очень длинной цепью в липидах вегетативных органов галофитов // Физиология растений. – 2009. – Т. 56, № 6. – С. 871–878.

Попов В.Н., Антипина О.В., Пчелкин В.П., Цыдендамбаев В.Д. Изменения содержания и жирнокислотного состава липидов листьев и корней табака при низкотемпературном закаливании // Физиология растений. – 2012. – Т. 59, № 2. – С. 203–208.

Цыдендамбаев В.Д., Иванова Т.И., Халилова Л.А., Куркова Е.Б., Мясоедов Н.А., Балнокин Ю.В. Жирнокислотный состав липидов вегетативных органов галофита *Suaeda altissima* при разном уровне засоления // Физиология растений. – 2013. – Т. 60. – С. 700–711.

Azachi M., Sadka A., Fishtr M., Goldshlag P., Gokhman I., Zamir A. Salt induction of fatty acid elongase and membrane lipid modification in the extreme halotolerant alga *Dunaliella salina* // Plant Physiol. – 2002. – V. 129. – P. 1320–1329.

Cassagne C., Lessire R., Bessoule J.J., Moreau P., Creach A., Schneider F., Sturbois B. Biosynthesis of very long chain fatty acyd in higher plants // Prog. Lipid Res. – 1994. – V. 33, № 2. – P. 55–69.

Kuiper P.J.C. Lipids in grape roots in relation to chloride transport // Plant Physiol. – 1968. –V. 43. – P. 1367–1371.

Raffaele S., Leger A., Roby D. Very long chain fatty acid and lipid signaling I the response of plants to pathogens // Plant Signal Behav. – 2009. – V. 4. – P. 94–99.

Sanina N.M., Goncharova S.N., Kostaskey E.Y. Seasonal changes in thermotropic behavior of phospho- and glycolipids from *Laminaria japonica* / In: Murata N. et al. (eds). Advanced Reseach on Plant Lipids. – Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2003. – P. 385–388.

THE CHANGES IN COMPOSITION AND CONTENT OF VERY LONG-CHAIN FATTY ACIDS IN PLANTS GROWING IN STRESS CONDITIONS

A.V. Zhukov

K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia,
Zhukov_anatolij@list.ru

Abstract. The spectrum and the relative content of very long-chain fatty acids in lipids of several plant species was shown to qualitatively respond to worsening of their growth conditions. The total content of saturated and, in some instances, unsaturated very long-chain fatty acids was higher when plants experienced pathogen attacks, water deficit, salt stress or freezing temperatures.

Keywords: *plant stress, very long-chain fatty acids*

КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ ИЗМЕНЕНИЕ СКОРОСТИ РОСТА КОРНЯ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ

Н.В. Жуковская, Е.И. Быстрова, Н.Ф. Лунькова, В.Б. Иванов

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

Аннотация. Изменение скорости роста корня – один из четко выраженных показателей стресса. Выяснение механизмов, определяющих размер меристемы, является одной из наиболее актуальных задач в изучении роста корней на клеточном уровне, как при оптимальных условиях, так и при стрессе. Проведенные нами анализы показали, что различия в скоростях роста корней разных видов зависят от различий в числе клеток в меристеме и длине закончивших рост клеток.

Ключевые слова: корень, рост, меристема, митотический цикл, стресс

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-336-339

При различных стрессовых воздействиях скорость роста корней существенно меняется. Это определяется не только тем, что во многих случаях вредные соединения поступают в растения через почву, но и тем, что в корнях клетки растут и делятся с более высокими относительными скоростями, чем в надземных частях. Однако до сих пор количественные точные данные о том, как растут и делятся клетки в корнях, получены на очень ограниченном числе видов. Изменение скорости роста – один из четко выраженных показателей стресса. Для того чтобы понять, почему реакция корней разных видов на стресс различается, важно выяснить, как происходит рост корней у них на клеточном уровне. Хотя это является не единственной причиной их разного ответа на стресс, но имеет очень важное значение и исследовано недостаточно.

Рост корня происходит в результате образования новых клеток и их растяжения. Эти процессы существенно различаются по чувствительности к разным воздействиям.

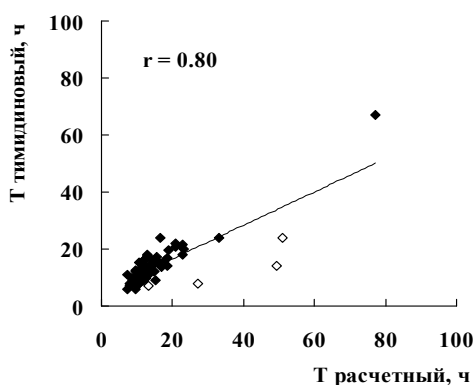


Рис. 1. Т, полученные расчетным и тимидиновым методами (73 вида) (белыми точками обозначены виды (*Tropaeolum majus*, *Lilium longiflorum*, *Ornithogalum umbelatum*, *Epilobium hirsutum*), у которых разница в Т составила больше 70%).

На протяжении ряда лет нами была определена продолжительность митотических циклов (Т), число клеток в меристеме (N_m) и зоне растяжения и относительные скорости роста в корнях проростков 35 видов однодольных и 62 двудольных растений, а также в придаточных корнях 22 видов однодольных, полученных при проращивании луковиц или корневищ. Для определения Т был использован разработанный нами простой метод [Иванов, 1974; Ivanov, Dubrovsky, 1997]. Сравнение результатов определения Т этим методом с опубликованными данными, полученные более

сложным тимидиновым методом, показали, что для подавляющего числа видов получаются очень близкие результаты [Zhukovskaya et al., 2018] (рис. 1).

Средние значения, полученные тимидиновым и расчетным методами, были довольно близкими (13.9 ± 0.9 и $15,4 \pm 1.2$ ч). Коэффициент корреляции (r) между методами составил 0.80. За исключением нескольких видов (*Tropaeolum majus*, *Lilium longiflorum*, *Ornithogalum umbelatum*, *Epilobium hirsutum*), у которых разница в T составила более 70%, r составил 0.93.

Корни разных видов растут с разными скоростями. До сих пор остается малоисследованным, в какой мере это обусловлено различиями в скоростях деления клеток и их растяжения. В литературе такие данные имеются приблизительно для десятка видов. Нами были изучено 120 видов. Оказалось, что различия в скоростях роста корней (V) слабо зависят от T (рис. 2). Гораздо заметнее скорости роста корней разных видов зависели от N_m (рис. 3).

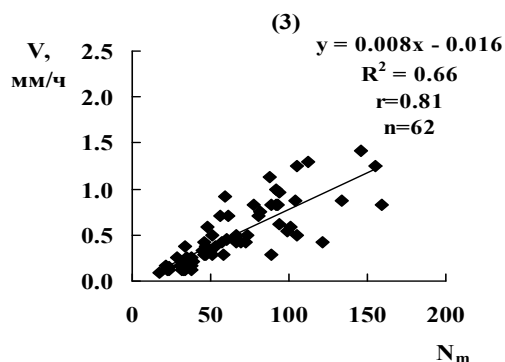
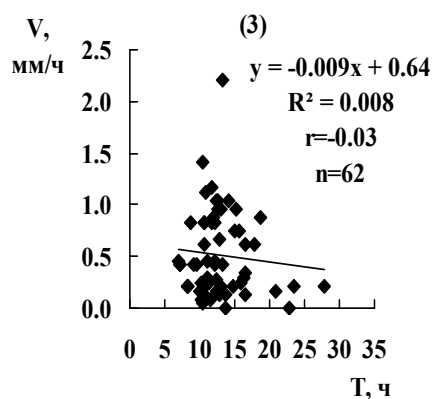
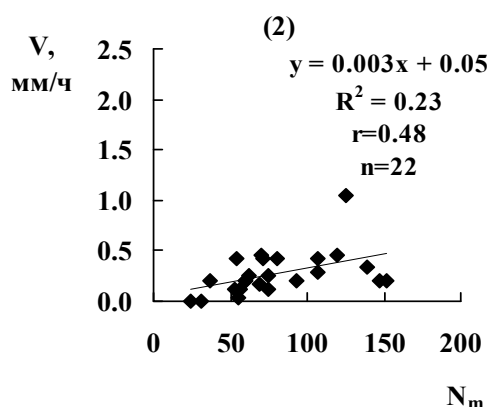
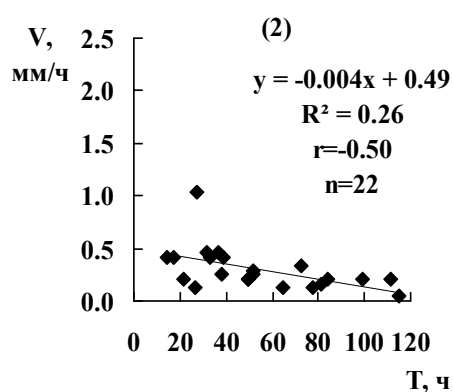
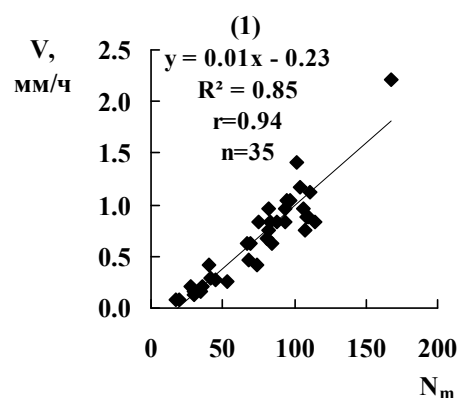
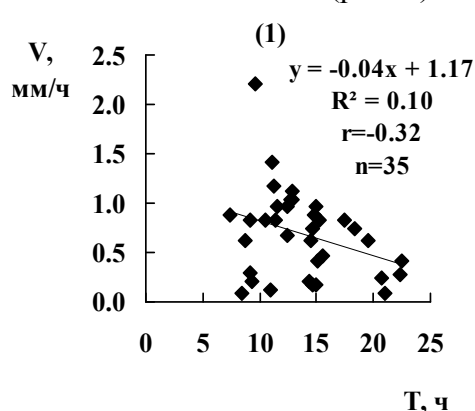


Рис. 2. Зависимость V от T для корней однодольных (1), для придаточных корней однодольных (2) и двудольных (3).

Рис. 3. Зависимость V от N_m для корней однодольных (1), для придаточных корней однодольных (2) и двудольных (3).

Величина N_m тесно коррелировала с диаметром корня [Быстрова и др., 2018], тогда как T и относительные скорости растяжения (k_e) слабо зависели от диаметра корня.

Скорость роста корня зависела от длины зоны растяжения (L_e) и k_e . Однако оказалось, что они слабо связаны, и V зависит от скорости образования клеток и длины закончивших рост клеток. Это позволяет вычислить V по измерениям T (тимидиновым методом) и подсчета N_m и измерениям длины закончивших рост клеток. Полученные результаты близко совпадают с измеренными (рис. 4).

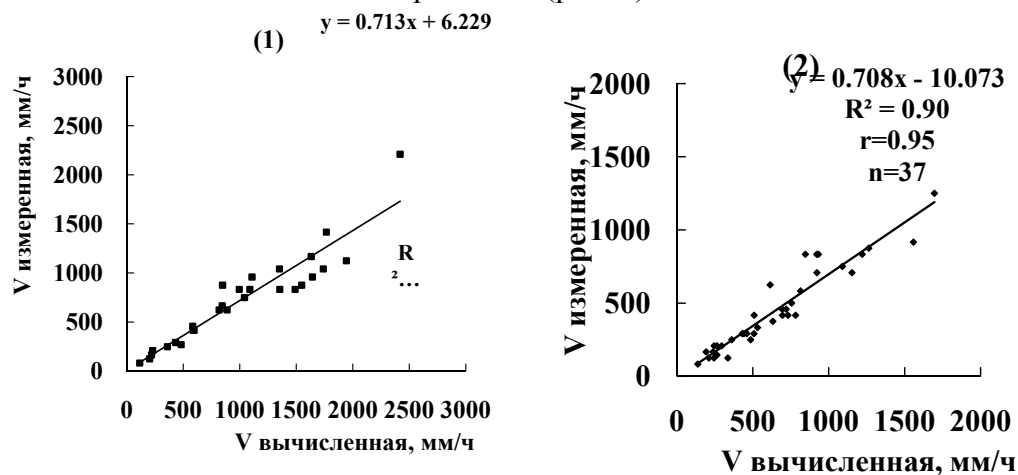


Рис. 4. Корреляция между измеренной и вычисленной скоростями роста у корней однодольных (1) и двудольных (2).

Проведенные нами анализы показали, что различия в скоростях роста корней разных видов зависят от различий в длине закончивших рост клеток и числе клеток в меристеме. Последнее оказывает существенное значение на величину скорости роста. Выяснение механизмов, определяющих размер меристемы, является одной из наиболее актуальных задач в изучении роста корней на клеточном уровне, как в норме, так и при различных воздействиях. В докладе будут обсуждены воздействия ингибиторов роста на длительность митотического цикла, длину меристемы и число клеток меристемы у корней видов, различающихся по длительности митотического цикла.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Гранта РФФИ № 18-04-00918.

Литература

- Быстрова Е.И., Жуковская Н.В., Иванов В.Б. Зависимость процессов роста и деления клеток в корне от его диаметра. // Онтогенез. – 2018. – Т. 49, № 2. С. 91–100.
- Иванов В.Б. Клеточные основы роста растений. – Москва: Наука, 1974. – 202 с.
- Ivanov V.B, Dubrovsky J.G. Estimation of the cell-cycle duration in the root apical meristem: a model of linkage between cell-cycle duration, rate of cell production, and rate of root growth // International Journal of Plant Sciences. – 1997. – V. 158. – P. 757–763.
- Zhukovskaya N.V., Bystrova E.I., Dubrovsky J.G., Ivanov V.B. Global analysis of an exponential model of cell proliferation for estimation of cell cycle duration in the root apical meristem of angiosperms. // Ann. Bot. – 2018. <https://doi.org/10.1093/aob/mcx216>.

CELLULAR MECHANISMS DETERMINING CHANGES IN ROOT GROWTH RATE IN VARIOUS EFFECTS

N.V. Zhukovskaya, E.I. Bystrova, N.F. Lunkova, V.B. Ivanov

K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia,
ivanov_vb@mail.ru, nataliazhukovskaya@mail.ru

Abstract. The change of the root growth rate is one of the most important indicators of stress. The identification of the mechanisms determining the meristem size is one of the most important problems in the study of root growth at the cellular level, under both optimal conditions and stress. Our studies showed that the differences in the root growth rates of different species depend on the differences in the number meristematic cells and the length of fully elongated cells.

Keywords: *root, growth, meristem, mitotic cycle, stress*

ВЛИЯНИЕ АДДУКТА ФУЛЛЕРЕНА C₆₀ С ТРЕОНИНОМ НА ПРОДУКТИВНОСТЬ, ЭЛЕМЕНТНЫЙ И БИОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ ЗАСУХИ

М.А. Журавлева¹, Т.А. Банкаина¹, Е.В. Канаш², К.Н. Семенов¹, Н.А. Чарыков³, Л.М. Аникина², О.Р. Удалова², Ю.В. Хомяков², В.Е. Вертебный², А.С. Журавлева², Г.Г. Панова²

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия, *k.semenv@spbu.ru; bankinaagro@mail.ru*

²Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Агрофизический научно-исследовательский институт», Санкт-Петербург, Россия, *gaiane@inbox.ru*

³Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)», Санкт-Петербург, Россия, *ncharykov@yandex.ru*

Аннотация. Исследовательская работа посвящена изучению влияния некорневой обработки раствором аддукта фуллерена C₆₀ с треонином на развитие последствий стрессового действия почвенной засухи на физиологическое состояние, продуктивность, элементный и биохимический состав яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Показано его выраженное положительное влияние на устойчивость растений к моделируемому абиотическому и сопутствующему биотическому стрессам, что обусловлено комплексным регуляторным воздействием данного вещества на активность работы фотосинтетического аппарата, антиоксидантных систем растений, транспорта и перераспределения элементов питания по их органам.

Ключевые слова: аддукт фуллерена C₆₀ с треонином, растения яровой пшеницы, продуктивность, химический состав, дефицит почвенной влаги

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-340-345

Создание новых экологически безопасных биodeградируемых высокоэффективных препаратов для повышения продуктивности и устойчивости агро- и экосистем – актуальная задача современной науки. В качестве перспективных форм рассматриваются углеродные наноструктуры – водорастворимые производные фуллеренов C₆₀ и C₇₀, широко применяемых в биомедицине и фармакологии вследствие их способности проникать через биомембраны, благодаря липофильности и наноразмерам, транспортировать лекарственные вещества к клеткам-мишеням, антиоксидантным свойствам [Пиотровский, 2007; Корнев и др., 2013 и др.]. Однако о механизмах влияния водорастворимых производных фуллеренов на растения и процессы в агро- и экосистемах известно крайне мало [Andreev et al., 2008; Kole et al., 2013; Panova et al., 2016].

Ранее была выявлена способность водорастворимых аминокислотных производных фуллерена C₆₀ и фуллеренола повышать устойчивость растений к окислительному стрессу, вызванному облучением УФ-В радиацией, засолением и другим стрессовым воздействиям, что, по всей видимости, обуславливалось антиоксидантными свойствами указанных веществ [Panova et al., 2016; Панова и др., 2018]. Показано, в частности, что обработка семян растворами разной концентрации фуллеренола способствовала уменьшению содержания активных форм кислорода (АФК) и предотвращала субапикальное утолщение корней при УФ-В облучении проростков ярового ячменя [Panova et al., 2016]; а некорневая обработка аминокислотными производными фуллерена C₆₀ способствовала активизации работы

антиоксидантных систем растений и повышению эффективности работы фотосинтетического аппарата [Панова и др., 2018].

Цель данной работы заключалась в изучении влияния некорневой обработки растений раствором аддукта фуллерена C_{60} с треонином на развитие последствий стрессового действия почвенной засухи на физиологическое состояние, продуктивность, элементный и биохимический состав яровой пшеницы (*Triticum aestivum L.*).

Аддукт фуллерена C_{60} с треонином был получен методом одностадийного синтеза из индивидуальных фуллеренов, фуллереновой смеси или фуллереновой сажи при помощи водного раствора щелочи и межфазного катализатора (ТВАН) [Семенов и др. 2013]. Объектами исследований служили растения яровой пшеницы (*Triticum aestivum L.*) сорта Ленинградская 6. В вегетационном эксперименте с моделированием дефицита почвенной влаги растения выращивали в сосудах с 3,4 кг дерново-подзолистой супесчаной почвы (слой Апах.) в условиях постоянно проветриваемой поликарбонатной теплицы при естественных освещенности, температуре и влажности воздуха. Количество растений в сосуде – 5. Повторность опыта – 25-30 растений. Некорневую обработку растений раствором фуллерена C_{60} с треонином, а также раствором треонина осуществляли 3 раза с периодичностью 7 дней в период кущения-выход в трубку. Концентрация фуллерена C_{60} с треонином составляла 0,1 мг/л, раствора аминокислоты треонина – 0,057 мг/л.

Для создания стрессовых условий через 3 сут после последней некорневой обработки наносоставами влажность в части сосудов доводили до уровня 25-30% от полной влагоемкости и поддерживали дефицит влаги на указанном уровне в течение 14 дней, после чего повышали уровень влажности в этих вариантах до 60% от полной влагоемкости. Контролем служили обработанные водой растения, выращиваемые в почве с благоприятным уровнем влажности – 60% от полной влагоемкости. Растения убраны в фазу полной спелости и доведены до воздушно-сухого состояния.

Для оценки изменений в работе антиоксидантной системы растений определяли интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) – по накоплению в растениях малонового диальдегида (МДА), активность супероксиддисмутазы (СОД) – методом, основанным на ее способности конкурировать с нитросиним тетразолием за супероксидные радикалы, генерацию активных форм кислорода (АФК) – по превращению адреналина в адренохром, оптическую плотность которого измеряли при $\lambda=480$ нм.

Спектральные характеристики отраженной от поверхности листьев радиации регистрировали в диапазоне от 400 до 1100 нм с шагом 0,3 нм с помощью оптоволоконной спектрорадиометрической системы («Ocean Optics», США) с оптическим разрешением 0,065 нм. Рассчитывали индексы отражения, позволяющие оценить содержание в тканях листьев хлорофиллов, флавоноидов, антоцианов и другие характеристики активности фотосинтетического аппарата [Kanash et al., 2013].

Анализ элементного состава зерна пшеницы проводили общепринятыми методами, путем сухого озоления навески и растворения в соляной кислоте. В солянокислом растворе определялись фосфор, калий, кальций и магний, азот – в отдельной навеске по Кьельдалю.

Физическое моделирование почвенной засухи привело к существенному снижению зерновой продуктивности в контрольных вариантах (на 38%), где растения обрабатывались водой (таблица). Следует отметить, что летний сезон, в котором проводился описываемый эксперимент, характеризовался повышенным количеством осадков при температуре выше 20 °С, что способствовало массовому поражению злаковых культур мучнистой росой. На фоне действия двойного стресса – поражения растений во всех вариантах указанным патогеном и почвенной засухи – особенно

Таблица.
Продуктивность и вынос основных элементов зерном яровой пшеницы сорта Ленинградская 6 при некорневой обработке ее вегетирующих растений раствором аддукта фуллерена C₆₀ с треонином или раствором треонина в благоприятных и стрессовых условиях по содержанию почвенной влаги

Вариант	Масса семян,		Масса соломы		Масса соломы/масса зерна	Вынос элементов зерном яровой пшеницы, мг/растение				
	г/растение Г, М±m	отклонение от контроля, %	г/растение Г, М±m	отклонение от контроля, %		азот	фосфор	калий	кальций	магний
Влажность почвы на благоприятном уровне - 60-70% от полной влагоемкости										
Вода (контроль)	0,55	100	3,64	100	6,6	11,14	5,08	5,32	6,50	4,80
Раствор треонина	0,64*	116*	3,25	89	5,1	20,48*	7,16*	5,76	6,72	4,80
Раствор C ₆₀ -треонина	0,68*	124*	2,96*	81*	4,4*	17,34*	5,84*	4,96	6,46	3,54*
Дефицит почвенной влаги (влажность почвы - 25-30% от полной влагоемкости)										
Вода (контроль)	0,34*	62*	2,76*	76*	8,1*	8,02*	2,34*	2,32*	1,56*	0,78*
Раствор треонина	0,59	107	2,80*	77*	4,8*	14,76*	3,42*	3,96*	2,40*	1,98*
Раствор C ₆₀ -треонина	1,08*	196*	2,38*	65*	2,2*	30,88*	9,62*	6,38*	4,64*	2,82*

Примечание: * - значение достоверно отличается от контрольного на 5%-ном уровне значимости.

интересным и впечатляющим были результаты протекторного влияния аддукта фуллерена C₆₀ с треонином.

Некорневая предстрессовая обработка растений раствором фуллерена C₆₀ с треонином полностью нивелировала негативное действие дефицита почвенной влаги на яровую пшеницу и, более того, способствовала формированию зерновой продуктивности, превышающей на 96% таковую у контрольных растений, не подвергавшихся действию стресса. Следует отметить, что обработка растений раствором треонина также обеспечивала повышение их устойчивости к дефициту почвенной влаги (зерновая продуктивность на 7% выше контрольных значений), но выраженность эффекта была существенно ниже по сравнению с влиянием раствора фуллерена C₆₀ с треонином.

Такое положительное воздействие раствора фуллерена C₆₀ с треонином на растения может быть связано с выявленным его влиянием на активность работы фотосинтетического аппарата и антиоксидантных систем яровой пшеницы. Так, в листьях растений, обработанных раствором фуллерена C₆₀ с треонином, и подвергшихся стрессовому воздействию дефицита почвенной влаги, отмечается более высокие содержание хлорофилла (на 12%), значение фотохимического индекса отражения (на 4%), более значимый прирост содержания флавонолов (на 12%), более низкое содержание антоцианов (на 7%) по сравнению со значениями этих показателей у контрольных растений, подвергавшихся и не подвергавшихся стрессовому действию дефицита почвенной влаги. Увеличение содержания флавонолов, потенциально способных устранять активные формы кислорода и свободные радикалы, возникшие в клетках, после обработки раствором фуллерена C₆₀ с треонином, косвенно свидетельствует об увеличении адаптивности растений к действию окислительного стресса, что подтверждается данными анализа работы антиоксидантных систем растений.

В листьях растений, предобработанных раствором фуллерена C₆₀ с треонином и раствором треонина, в условиях дефицита почвенной влаги происходит существенное уменьшение (на 28% и 16%, соответственно) эффекта ингибирования активности фермента СОД и некоторое повышение интенсивности ПОЛ (на 11% и 37%, соответственно) по сравнению с наблюдаемым в контрольных вариантах.

Таким образом, треонин и, особенно, аддукт фуллерена C₆₀ с треонином обеспечивали неспецифическую устойчивость растений к действию стресса, вызванного дефицитом почвенной влаги и фитопатогеном. Такое положительное влияние аддукта фуллерена C₆₀ с треонином на устойчивость растений к действию дефицита почвенной влаги и других стрессоров, может быть, предположительно, связано с более универсальным использованием треонина в качестве промежуточного продукта в различных путях синтеза защитных веществ при действии стрессоров. Так, известно, что в ходе превращения треонина в лейцин или валин образуется пируват [Azevedo et al., 2006; и др.], который в аэробных условиях трансформируется в ацетил-кофермент А, выступающий в свою очередь в качестве основного субстрата для серии реакций, известных как цикл Кребса, или дыхательный цикл, цикл трикарбоновых кислот с последующим образованием различных вторичных метаболитов с протекторными, сигнальными и другими функциями.

Анализ соотношения массы соломы и массы зерна яровой пшеницы, а также элементного состава соломы и зерна показал, что некорневая обработка раствором фуллерена C₆₀ с треонином обеспечивает перераспределение пластических веществ и минеральных элементов питания в зерно (таблица). Этот эффект особенно выражен в условиях воздействия стрессора (засухи). Усвоение зерном пшеницы азота в этом варианте по сравнению с таковым в контроле без стресса и в контроле со стрессом выше

в 2,8 и 3,9 раз, соответственно; фосфора – в 1,9 и 4,1 раз; калия – в 1,2 и 2,8 раз. В отношении кальция и магния некорневая обработка раствором фуллерена C₆₀ с треонином не обеспечивает полное нивелирование действия стресса на содержание в зерне и соломе данных элементов, однако по сравнению с контрольными растениями, подвергшихся стрессовому действию дефицита почвенной влаги, она способствует существенно более значимому снабжению кальцием и магнием зерна (в 3,0 и 3,6 раз выше, соответственно). Более высокое снабжение зерна азотом у растений, обработанных раствором фуллерена C₆₀ с треонином или раствором треонина, способствовало, очевидно, большему содержанию (в 3-14 раз) в нем небелкового азота и меньшему содержанию (в 1,1-1,4 раз) белкового азота по сравнению с таковым в зерне контрольных вариантов.

Полученные результаты демонстрируют явно выраженное положительное влияние аддукта фуллерена C₆₀ с треонином на устойчивость растений к моделируемому действию почвенной засухи и естественному развитию заболевания, вызванного мучнистой росой, что обусловлено его комплексным регуляторным воздействием на активность работы фотосинтетического аппарата, антиоксидантных систем растений, транспорта и перераспределения элементов питания по их органам. В совокупности это указывает на перспективность дальнейшего изучения механизмов влияния аддукта фуллерена C₆₀ с треонином на почвенно-растительную систему и на пути усовершенствования состава композиций на его основе с целью создания экологически безопасных, эффективных в низких концентрациях препаратов комплексного положительного действия на растения.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 15-29-05837 офу_м).

Литература

Корнев А.Б., Трошина О.А., Трошин П.А. Биологически активные производные фуллеренов, методы их получения и применение в медицине. В кн.: Органические и гибридные наноматериалы: тенденции и перспективы (ред. В.Ф. Разумова, М.В. Ключева). – Иваново, 2013. – С. 392-485.

Панова Г.Г., Канаш Е.В., Семенов К.Н., Чарыков Н.А., Хомяков Ю.В., Аникина Л.М., Артемьева А.М., Корнюхин Д.Л., Вертебный В.Е., Синявина Н.Г., Удалова О.Р., Куленова Н.А., Блохина С.Ю. Производные фуллерена стимулируют продукционный процесс, рост и устойчивость к окислительному стрессу у растений пшеницы и ячменя // Сельскохозяйственная биология. – 2018. – Т. 53, № 1. – С. 38–49.

Пиотровский Л.Б. Фуллерены в дизайне лекарственных веществ // Российские нанотехнологии. – 2007. – № 2(7-8). – С. 6–18.

Семёнов К.Н., Чарыков Н.А., Кескинов В.А., Кескинова М.В., Сафьянников Н.М., Шубина В.А. Способ получения фуллеренолов. Патент РФ на изобретение RU 2481267 С2. Заявл. 11.02.2011. Оpubл. 10.05.2013. Бюл. № 13.

Andreev I., Petrukhina A., Garmanova A., Babakhin A., Andreev S., Romanova V., Troshin P., Troshina O., DuBuske L. Penetration of fullerene C₆₀ derivatives through biological membranes // Fullerenes, Nanotubes, and Carbon Nanostructures. – 2008. – V. 16. – P. 89–102.

Azevedo R.A., Lancien M., Lea P. J. The aspartic acid metabolic pathway, an exciting and essential pathway in plants // Amino Acids. – 2006. – V. 30. – P. 143–162.

Kanash E.V., Panova G.G., Blokhina S.Yu. Optical criteria for assessment of efficiency and adaptogenic characteristics of biologically active preparations // Acta Horticulturae. – 2013. – V. 1009. – P. 37–44.

Kole C., Kole P., Randunu K.M., Choudhary P., Podila R., Ke P.C, Rao A.M., Marcus R.K. Nanobiotechnology can boost crop production and quality: first evidence from increased plant biomass, fruit yield and phytomedicine content in bitter melon (*Momordica charantia*) // BMC Biotechnology. – 2013. – V. 13. –P. 37–58.

Panova G.G., Ktitorova I.N., Skobeleva O.V., Sinjavina N.G., Charykov N.A., Semenov K.N. Impact of polyhydroxy fullerene (fullerol or fullerenol) on growth and biophysical characteristics of barley seedlings in favourable and stressful conditions // Plant Growth Regulation. – 2016. –V. 79. –P. 309–317.

INFLUENCE OF FULLERENE C₆₀ ADDUCT WITH THREONINE ON PRODUCTIVITY, ELEMENTAL AND BIOCHEMICAL COMPOSITION OF WHEAT IN DROUGHT CONDITIONS

M.A. Zhuravleva¹, T.A. Bankina¹, E.V. Kanash², K.N. Semenov¹, N.A. Charykov³, L.M. Anikina², O.R. Udalova², Yu.V. Khomyakov², V.E. Vertebnyi², A.S. Zhuravleva², G.G. Panova²

¹Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Saint-Petersburg State University», St. Petersburg, Russia, *k.semenov@spbu.ru; bankinaagro@mail.ru*

²Agrophysical Research Institute, St. Petersburg, Russia, *gaiane@inbox.ru*

³Saint-Petersburg State Institute of Technology, St. Petersburg, Russia, *ncharykov@yandex.ru*

Abstract. The research work is devoted to the study of the influence of foliar treatment with a solution of the fullerene C₆₀ adduct with threonine on the development of the effects of the soil drought stress on the physiological state, productivity, elemental and biochemical composition of spring wheat (*Triticum aestivum* L.). It is shown that it has a pronounced positive effect on plant resistance to simulated abiotic and accompanying biotic stresses, which is due to the complex regulatory impact of this substance on the activity of the photosynthetic apparatus, plants antioxidant systems, transport and redistribution of nutrients to their organs.

Keywords: fullerene C₆₀ adduct with threonine, spring wheat plants, productivity, chemical composition, soil moisture deficiency

ПОВЫШЕННАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ К БИОТИЧЕСКИМ И АБИОТИЧЕСКИМ СТРЕССАМ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ РАПСА С ГЕНОМ АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА ЦЕКРОПИНА P1

Н.С. Захарченко¹, С.В. Пиголева¹, О.В. Фурс¹, В.Д. Креславский², А.А. Кособрюхов², О.В. Дьяченко¹, Я.И. Бурьянов¹, Т.В. Шевчук¹

¹Филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.Овчинникова Российской академии наук, Пущино, zachar@bibch.ru

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук, Пущино, Россия, kosobr@rambler.ru

Аннотация. Исследование растений рапса (*Brassica napus* L.) с искусственным геном антимикробного пептида цекропина P1 показало их повышенную устойчивость к фитопатогенным микроорганизмам *Erwinia carotovora*, *Fusarium oxysporum*, *Sclerotinia sclerotiorum* и окислительному стрессу по сравнению с нетрансформированными растениями.

Ключевые слова: *Brassica napus*, цекропин P1, устойчивость к болезням, фотосинтетическая активность

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-346-349

Повышение устойчивости растений к фитопатогенам является одним из важных факторов, определяющих высокий урожай сельскохозяйственных культур и его стабильность. Перспективным методом повышения устойчивости растений к фитопатогенным бактериям и грибам является использование генов антимикробных пептидов (AMP) [Montesinos, 2007]. Так, например, цекропин А, экспрессируемый в рисе, придавал ему устойчивость к грибам *Magnaporthe grisea*, *Fusarium verticillioides* и *Dickeya dadantii* [Coca et al., 2006; Bundo et al., 2014]. Отмечено, что экспрессия AMP в трансгенных растениях способствует не только устойчивости к фитопатогенам, но и смягчает реакцию окислительного стресса [Goyal et al., 2013].

Целью нашей работы было исследование эффекта экспрессии искусственного гена цекропина P1 (*cecP1*) [Martemyanov et al., 1997], кодирующего 31-членную аминокислотную последовательность, в трансгенных растениях рапса на их устойчивость к биотическому и абиотическому стрессу, вызванному фитопатогенами и ультрафиолетом.

В работе использовали полученные ранее трансгенные растения рапса с геном антибактериального пептида цекропина P1 [Захарченко и др., 2013]. Исследуемые растения поколения F₁ проявляли повышенную устойчивость к бактериальным (*Erwinia carotovora*, *Pseudomonas syringae*) и грибным (*Fusarium oxysporum*, *Sclerotinia sclerotiorum*) фитопатогенам. Уже через сутки на контрольных листьях, зараженных бактериальными штаммами отмечаются признаки пожелтения и некроза. На контрольных листьях, зараженных грибами *F. oxysporum* и *S. sclerotiorum*, признаки повреждения в виде пожелтения листьев проявлялись через 7-10 сут. В то же время, листья трансгенных растений оставались зелеными и неповрежденными. Аналогичные результаты наблюдались при заражении целых растений. Контрольные растения погибали в течение месяца, в то время как у трансгенных растений признаки повреждения оставались незначительными.

Проводился анализ фотосинтетической активности растений после заражения *E. carotovora* и УФ облучения. Растения облучали УФ-В с помощью лампы ЛЭ-30-1, излучающей в диапазоне длин волн 280-380 нм (максимум 315 нм). Интенсивность УФ-

излучения на уровне листьев – 12 Вт м⁻², время облучения 30 мин.

Анализ фотосинтетической активности растений по параметрам CO₂ газообмена и скорости транспирации показал, что интенсивность фотосинтеза при бактериальном заражении патогеном *E. carotovora* снижалась уже через 24 часа (табл. 1).

Таблица 1.

Скорость фотосинтеза, транспирации, эффективности использования воды и устьичной проводимости растений рапса после облучения растений УФ радиацией

Вариант	P _n μmol m ⁻² s ⁻¹	E mmol m ⁻² s ⁻¹	P _n /E	g _s mmol m ⁻² s ⁻¹
Контроль - УФ	7,8±0,4	4,0±0,2	1,95	580±40
Контроль + патоген - УФ	5,5±0,3	3,9±0,2	1,64	490±25
Трансгенное растение - УФ	9,1±0,6	2,9±0,1	3,14	310±20
Трансгенное растение+патоген - УФ	7,2±0,3	2,7±0,1	2,66	270±10
Контроль + УФ	6,2±0,2	4,2±0,2	1,48	450±15
Контроль + патоген + УФ	3,9±0,1	2,6±0,1	1,5	270±10
Трансгенное растение + УФ	7,6±0,3	3,6±0,2	2,11	310±15
Трансгенное растение + патоген +УФ	6,4±0,3	3,8±0,2	1,68	400±25

Эксперимент: через 24 часа после заражения. Интенсивность света при измерении фотосинтеза 100 мкмоль м⁻²с⁻¹. Представлены средние арифметические ошибки и их стандартные ошибки.

Для трансгенных растений это снижение составило 20,9%, в то время как для контрольных растений (нетрансформированных) снижение составляло 29,5%. Скорость транспирации трансгенных растений и в контроле различалась незначительно, что способствовало большей эффективности использования воды *secPI*-растениями. Облучение ультрафиолетом приводило к снижению фотосинтетической активности растений в контроле и опыте в среднем на 16-20%. Имело место некоторое увеличение скорости транспирации и снижение эффективности использования воды растениями, особенно в контроле. В условиях совместного действия заражения и ультрафиолета у контрольных растений наблюдалось снижение скорости фотосинтеза почти на 50%, в то время как у трансгенных растений – на 29,7%. (табл. 2).

Таблица 2.

Влияние совместного действия заражения и УФ облучения на скорость фотосинтеза растений рапса (снижение в %)

Вариант/обработка	Контрольное растение	Трансгенное растение
Действие УФ облучения по сравнению с необлученным растением	20,5	16,5
Действие патогена по сравнению с незараженным растением	29,5	20,9
УФ + патоген по сравнению с необлученным и незараженным растением	50	29,7
УФ на фоне зараженного растения	39,1	11,1

Следует отметить, что полученные данные отражают общую картину влияния заражения и действия УФ облучения на работу фотосинтетического аппарата в условиях данного эксперимента, т.е. действие патогена в течение суток и 30 минутного облучения под УФ лампой.

Для оценки активности первичных световых процессов фотосинтеза использовали метод замедленной флуоресценции (ЗФл) хлорофиллала *a*, который является быстрым и чувствительным тест-методом оценки состояния активности первичных фотосинтетических процессов в стрессорных и неблагоприятных условиях [Bigler, Schreiber, 1990; Veselovskii, Veselova, 1990; Goltsev et al., 2005; Biel et al., 2009]. На основе индукционных кривых рассчитывали относительную амплитуду медленной компоненты ЗФл $(I_m - D)/D$, где I_m максимум медленной компоненты кривой, а D – минимум на индукционной кривой. Отношение $(I_m - D)/D$ характеризует фотоиндуцированное изменение ΔpH на мембранах тилакоидов и, как следствие, изменение скорости электронного транспорта. Анализ активности фотосистемы II, оцениваемой по параметрам замедленной флуоресценции (табл. 3), показывает, что в условиях заражения активность фотосистемы II снижается в контроле, но мало отличается в трансгенных растениях.

Таблица 3.

Отношения относительных максимумов быстрой $(I_1-D)/D$ и медленной компонент $(I_m-D)/D$ ЗФл у дикого типа и трансгенных незараженных и зараженных растений после обработки ультрафиолетом. Даны средние арифметические величины $(I_1-D)/D \pm SE$ на основе измерений ЗФл у 6, 7 листьев из 2-3 растений

Вариант	$(I_1-D)/D$	$(I_m-D)/D$
1. Контроль	0.53±0.14	2.5±0.1
2. Трансген	0.50±0.08	2.9±0.12
Контроль (зараженный)	0.54±0.06	1.8±0.24
Трансген (зараженный)	0.50±0.05	2.7±0.1
1. Контроль+УФ	0.0±0.04	0.8±0.2
2. Трансген+УФ	0.06±0.02	1.4±0.06
Контроль (зараженный)+УФ	0.04±0.03	0.55±0.06
Трансген (зараженный)+УФ	0.03±0.01	1.13±0.13

Эти данные характеризуют фотосинтетический аппарат трансгенных растений, как более устойчивый к окислительному стрессу, развиваемому при биотическом и абиотическом стрессе в условиях заражения фитопатогенами и облучения ультрафиолетом, по сравнению с нетрансформированными растениями. Полученные результаты указывают на возможность включения гена цекропина P1 в интегральную антистрессовую защитную систему растений.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ № 18-08-00752, № 16-04-00623 и ГЗ № 0101-2014-0046, № РК 01201352439.

Литература

Захарченко Н.С., Бурьянов Я.И., Лебедева А.А., Пиголева С.В., Ветошкина Д.В., Локтюшов Е.В., Чепурнова М.А., Креславский В.Д., Кособрюхов А.А. Физиологические особенности трансгенных растений рапса, экспрессирующих ген антимикробного пептида цекропина P1 // Физиология растений. – 2013. – Т. 60, № 3. – С. 424-433. doi: 10.7868/S0015330313030160

Biel K.Ya., Fomina I.R., Kreslavski V.D., Allakhverdiev S.I. Methods for assessment of activity and stress acclimation of photosynthetic machinery in cyanobacteria and symbiotic microalgae // Protocols on Algal and Cyanobacterial Research (W. Kliner, Nath Bogchi S., Mohanty P. Eds.). Narosa Publishing House, New Delhi, Chapter. – 2009. – V. 13. – 20 p.

Bigler W., Schreiber U. Chlorophyll luminescence as an indicator of stress-induced damage to the photosynthetic apparatus. Effects of heat-stress in isolated chloroplasts //

Photosynth Res. – 1990. – V. 25. – P. 161–171. doi: 10.1007/BF00033158. PubMed: 24420347

Bundo M., Montesinos L., Izquierdo E., Campo S., Mieulet D., Guiderdoni E., Rossignol M., Badosa E., Montesinos E., San Segundo B., Coca M. Production of cecropin A antimicrobial peptide in rice seed endosperm // BMC Plant Biology. – 2014. – V. 14. – P. 102. doi: 10.1186/1471-2229-14-102.

Coca M., Penas G., Gomez J., Campo S., Bortolotti C., Messeguer J. Segundo B.S. Enhanced resistance to the rice blast fungus *Magnaporthe grisea* conferred by expression of a cecropin A gene in transgenic rice // Planta. – 2006. – V. 223. – P. 392–406. PubMed: 16240149

Goltsev V., Chernev P., Zaharieva I., Lambrev P., Strasser R.J. Kinetics of delayed chlorophyll a fluorescence registered in milliseconds time range // Photosynth. Res. – 2005. – V. 84. – P. 209–215. PubMed: 16049776

Goyal R.K., Hancock R.E.W., Mattoo A.K., Misra S. Expression of an engineered heterologous antimicrobial peptide in potato alters plant development and mitigates normal abiotic and biotic responses // PLoS ONE. – 2013. – V. 8, № 10. e77505. PubMed: PMC3797780

Martemyanov K.A., Spirin A.S., Gudkov A.T. Direct expression of PCR products in a cell-free transcription/translation system: synthesis of antibacterial peptide cecropin // FEBS letters. – 1997. – V. 414, № 2. – P. 268–70. PubMed: 9315699

Montesinos E. Antimicrobial peptides and plant disease control // FEMS Microbiol Lett. – 2007. – V. 270. – P. 1–11. PubMed: 17371298

Veselovskii V.A., Veselova T.V. Plant Luminescence. – Moscow: Nauka, 1990. – 200 p.

ENHANCED RESISTANCE TO BIOTIC AND ABIOTIC STRESS OF TRANSGENIC RAPESEED WITH GENE OF ANTIMICROBIAL PEPTIDE CECROPIN P1

N.S. Zakharchenko¹, S.V. Pigoleva¹, O.V. Furs¹, A.A. Kosobryukhov², V.D. Kreslavski², O.V. Dyachenko¹, Ya.I. Buryanov¹, T.V. Shevchuk¹

¹Branch of Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia, znata_2004@rambler.ru

²Institute of Fundamental Problems of Biology of the RAS, Pushchino, Russia, kosobr@rambler.ru

Abstract. A study of the plants rapeseed (*Brassica napus* L.) with artificial gene antimicrobial peptide cecropin P1 has shown enhanced resistance of transgenic plants to phytopathogenic microorganisms *Erwinia carotovora*, *Fusarium oxysporum*, *Sclerotinia sclerotiorum* and oxidative stress, as compared to the nontransformed plants.

Keywords: *Brassica napus*, cecropin P1, disease resistance, photosynthetic activity

ПОЛУЧЕНИЕ БИОБЕЗОПАСНЫХ БЕЗМАРКЕРНЫХ РАСТЕНИЙ *CAMELINA SATIVA* С ПОВЫШЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ФИТОПАТОГЕНАМ

Н.С. Захарченко, О.В. Фурс, О.В. Дьяченко, Я.И. Бурьянов, Т.В. Шевчук

Филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Пущино, zachar@bibch.ru

Аннотация. Получены безмаркерные растения камелины (*Camelina sativa* (L.)), с геном антимикробного пептида цекропина P1. Для трансформации растений был использован вектор, не содержащий селективных генов устойчивости к антибиотикам и гербицидам. Скрининг безмаркерных трансформантов проводили методами детектирования цекропина P1 в клетках растений, основанными на определении антибактериальной активности растительных экстрактов и иммуноферментном анализе. Полученные растения были устойчивы к фитопатогенам.

Ключевые слова: *Camelina sativa*, цекропин P1, генетическая трансформация, биобезопасность

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-350-353

Камелина (*Camelina sativa* (L.) Crantz) – масличное растение семейства капустных (Brassicaceae) известно как рыжик посевной, немецкий кунжут, ложный лен [Васильченко, 1939]. Это однолетнее травянистое растение, семена которого имеют уникальный состав жирных кислот. Ценность камелинового масла заключается в высоком содержании полиненасыщенных жирных кислот (до 90%), причем доля ω -3 ненасыщенных жирных кислот составляет 35-40% [Pilgeram et al., 2007; Putnam et al., 1993]. Масло этого растения отличается также высоким содержанием жирорастворимых каротиноидов, превышающим их количество в подсолнечном, соевом и других маслах, богато витамином E, который является мощным антиоксидантом (105 мг на 100 мл масла), что в 2,5 раза больше, чем в масле рапса, и в 7 раз больше, чем в масле льна [Zubr, 1997]. Камелина выращивается, в основном в Северной Америке, в Австралии и в некоторых районах Европы. В России камелина выращивается как культура для поддержания севооборота под подсолнечником и зерновыми культурами. Для производства масла ее культивируют в ограниченном количестве в Орловской, Волгоградской и Саратовской областях. Проводятся исследования, направленные на получение трансгенных растений камелины как продуцента ценных биотехнологических продуктов [Kuvshinov et al., 2009; Nguyen et al., 2011]. Несмотря на свою общую повышенную устойчивость, камелина чувствительна к бактериальным и грибным фитопатогенам, вызывающим увядание (*Fusarium*), ложную мучнистую росу (*Peronospora*) и корневую гниль (*Pythium*). Одним из методов повышения устойчивости растений к фитопатогенам может быть трансформация растений генами антимикробных пептидов, обладающих широким спектром антибиотической и фунгицидной активности. Для отбора трансгенных растений традиционно используют селективные гены устойчивости к антибиотикам и гербицидам или гены репортеры [Angenon et al., 1994]. Полученные с помощью селективных маркеров трансгенные растения представляют потенциальную биологическую опасность, связанную с присутствием в их геноме этих генов и с возможностью их неконтролируемого переноса другим растениям и микроорганизмам. Перспективным направлением создания биобезопасных биотехнических растений является получение безмаркерных растений, не содержащих в своем геноме селективных генов устойчивости к антибиотикам и гербицидам.

Целью настоящей работы было получение биобезопасных безмаркерных растений *Camelina sativa*, с повышенной устойчивостью к фитопатогенам за счет экспрессии гена антимикробного пептида цекропина P1 [Захарченко и др., 2005; Martemyanov et al., 1996].

Для трансформации использовали полученную ранее генетическую конструкцию [Захарченко и др. 2009]. Трансформацию камелины проводили методом агроинфильтрации незрелых цветочных почек [Захарченко и др., 2013]. Для этого сосуды с растениями помещали в герметичную камеру и погружали цветочные почки в суспензию агробактерий LBA 4404(pAL4404), pBM::*cecP1*). В камере создавали вакуум – 0.8 атм на 5 мин. При этом агробактерии легко проникали в растительные ткани. После процесса агроинфильтрации растениям создавали условия покоя, и они сутки находились в горизонтальном положении между слоями влажной фильтровальной бумаги. Затем в теплице растения культивировали в теплице до цветения и получения семян. Семена стерилизовали и проращивали в чашках Петри на среде МС. Для поиска трансформированных растений брали по одному листовому экспланту у каждого из 50 проростков, их объединяли в группы (всего 40 групп) и использовали для приготовления исходных тестируемых образцов растительного экстракта. В этих экспериментах проанализировали 2000 растений. Прямой поиск в этих группах индивидуальных растений, синтезирующих антимикробный пептид цекропин P1, проводили методом вестерн-блот анализа. В экстрактах некоторых групп растений был обнаружен искомый пептид с молекулярной массой 3,3 кДа, соответствующий зрелой форме цекропина P1. В каждой из исследованных групп с положительным сигналом было выявлено от одного до трех цекропин P1-положительных растений. Чувствительность метода позволяет детектировать в образцах экстрактов трансгенных растений цекропин P1 в количестве 1–10 нг. Присутствие гена *cecP1* в трансгенных растениях подтверждено методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с праймерами к гену *cecP1* 5'-CGGGATCCATGGGCTCTTG-3' и 5'-CGAGATCTCTACTTAGCGCGGC-3'. Размер амплифицированных фрагментов ДНК (102 п.н.) соответствовал полному размеру гена цекропина P1, кодирующего зрелую форму этого пептида.

Антибактериальную активность исследуемого экстракта оценивали также по наличию зоны отсутствия роста бактерий *Erwinia carotovora* на агаризованной среде вокруг лунок, куда был добавлен растительный экстракт с одинаковым количеством белка из листьев трансгенных и нетрансгенных растений. Экстракты полученных растений обладали повышенной антибактериальной активностью по отношению к бактериям *E. carotovora* по сравнению с контрольными экстрактами из нетрансформированных растений. Количественную оценку содержания цекропина P1 в экстрактах трансгенных растений проводили сравнением с калибровочными экспериментами, где в качестве стандарта использовали известные концентрации синтетического цекропина P1 (“Sigma”, США). Содержание цекропина P1 в трансгенных растениях составляло 0,006% от общего растворимого белка листьев растений.

Полученные *cecP1*-растения проявляли повышенную устойчивость к фитопатогенным микроорганизмам: бактериям *Erwinia carotovora* и грибам *Fusarium graminearum*. Заражение проводили, делая укол поверхности черешка иглой, смоченной суспензией бактерий или нанося кусочки мицелия гриба на черешки листьев. Анализ трансгенных растений показал значительное повышение их устойчивости к бактерии *E. carotovora*. Уже через несколько часов после заражения на листьях контрольных растений были заметны следы повреждения – начинающееся от места заражения отмирание ткани. На вторые сутки происходило полное отмирание листа. Аналогичные результаты были получены при заражении листьев трансформированных растений

грибным патогеном *F. graminearum*. Степень повреждения растений оценивали спустя 10-15 сут после заражения. К концу второй недели на листьях контрольных растениях был замечен некроз ткани и отмирание, в то время как листья трансгенных растений оставались без признаков повреждения. Полученные на основе гена антимикробного пептида цекропина P1 безмаркерные растения камелины, могут найти применение в сельском хозяйстве. Семена этих растений могут быть использованы как источник ценного масла, содержащего полиненасыщенные жирные кислоты, в том числе ω -3 ненасыщенные жирные кислоты.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ № 18-08-00752, № 16-04-00623 и ГЗ № 0101-2014-0046, № РК 01201352439.

Литература

Васильченко И.Т. Род 687. Рыжик – *Camelina Crantz* // Флора СССР. В 30-ти томах / Главный редактор акад. В. Л. Комаров; Редактор тома Н. А. Буш М.Л.: Издательство Академии Наук СССР. – 1939. – Т. VIII. – С. 596–602.

Захарченко Н.С., Рукавцова Е.Б., Гудков А.Т., Бурьянов Я.И. Повышенная устойчивость к фитопатогенным бактериям у трансгенных растений табака с синтетическим геном антимикробного пептида цекропина P1 // Генетика. – 2005. – Т. 41, № 11. – С. 1445–1452.

Захарченко Н.С., Пиголева С.В., Юхманова А.А., Бурьянов Я.И. Использование гена антимикробного пептида цекропина P1 для получения безмаркерных трансгенных растений. // Генетика. – 2009. – Т. 45, № 8. – С. 1061–1066.

Захарченко Н.С., Каляева М.А., Бурьянов Я.И. Экспрессия гена цекропина P1 повышает устойчивость растений *Camelina sativa* L. к микробным фитопатогенам // Генетика. – 2013. – Т. 49, № 5. – С. 609–616.

Angenon G., Dillen W., van Montagu M. Antibiotic-resistance markers for plant transformation // plant molecular biology manual / Eds. Gelvin S.B., Schilperoort R.A. Dordrecht: Kluwer Acad. Publ., 1994. – С1. – P. 1–13.

Kuvshinov V., Kanerva A., Koivu K., Kuvshinova S., Pehu E. Transformation system for *Camelina sativa* // Patent number: 20090151023 (US). – 2009.

Martemyanov K.A., Spirin A.S., Gudkov A.T. Synthesis, cloning and expression of genes for antibacterial peptides: cecropin, magainin, and bombinin // Biotechnology Lett. – 1996. – V. 18. – P. 1357–1362.

Nguyen T., Liu X., Derocher J. Floraldip method for transformation of *Camelina* // Patent number: 2011/0145950 (US). – 2011.

Pilgeram A. L., Sands D. C., Boss D., Dale N., Wichman D., Lamb P., Lu C., Barrows R., Kirkpatrick M., Thompson B., Johnson D. *Camelina sativa*, a montana omega-3 and fuel crop // Reprinted from: Issues in new crops and new uses. J. Janick and A. Whipkey (eds.). – Alexandria: ASHS Press, Alexandria, VA. – 2007.

Putnam D.H., Budin J.T., Field L.A., Breene W.M. *Camelina*: A promising low-input oilseed // New Crops. J.E. Simon, Editor. – Wiley: New York. – 1993.

Zubr J. Oil-seed crop: *Camelina sativa* // Ind Crop Prod. – 1997. – V. 6. – P. 113–119.

PRODUCING BIOLOGICALLY SAFE MARKER-FREE CAMELINA SATIVA WITH INCREASED RESISTANCE TO PHYTOPATHOGENS

N.S. Zakharchenko, O.V. Furs, O.V. Dyachenko, Ya.I. Buryanov, T.V. Shevchuk

Branch of Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia, znata_2004@rambler.ru

Abstract. The marker-free *Camelina sativa* (L.) plants carrying a gene encoding the antimicrobial peptide cecropin P1 were generated. The vector, free of any plant selective genes of resistance to antibiotics or herbicides, was used for transformation. The transformants were screened by detecting cecropin P1 in plant cells according to the antibacterial activity of plant extracts and enzyme immunoassay. The resulting marker-free plants displayed a considerably increased resistance to phytopathogens.

Keywords: *Camelina sativa*, cecropin P1, genetic transformation, biosafety

ПОЛУЧЕНИЕ И БИОХИМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА РЕГЕНЕРАНТОВ САХАРНОЙ СВЁКЛЫ С УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ЭДАФИЧЕСКИМ ФАКТОРАМ

О.А. Землянухина¹, Н.Н. Черкасова², Т.П. Жужжалова², В.Н. Калаев¹

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия, oz54@mail.ru

²Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свеклы и сахара им. А.Л. Мазлумова (ВНИИСС), Воронежская область, п. ВНИИСС, Россия, biotechnologiya@mail.ru

Аннотация. На основе селективного отбора в условиях *in vitro* разработан способ получения устойчивых регенерантов сахарной свеклы разных генотипов. Стрессовыми факторами являлись одновременное пониженное содержание влаги и повышенная кислотность (использование соли алюминия) питательной среды Гамборга. Первый этап включает культивирование *in vitro* зрелых зародышей семян с добавлением в питательную среду селективного агента сорбита в концентрации 0.45 М при кислотности рН 3.5. На данной среде проводят первичный и повторный отборы регенерантов с устойчивостью к эдафическим факторам. Дана биохимическая характеристика отобранного устойчивого материала.

Ключевые слова: сахарная свекла, комплексные эдафические факторы, устойчивость, ферменты

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-354-357

Использование селективных сред при культивировании в условиях *in vitro* позволяет имитировать естественные стрессовые условия, что обеспечивает экспрессию генов устойчивости и позволяет проводить отбор толерантных форм на клеточном уровне. При этом за более короткие сроки создается исходный материал с высокими адаптивными свойствами для дальнейшей селекции. Ранее было изучено раздельное влияние кислотности среды и пониженного содержания влаги на рост и развитие микрорастений сахарной свеклы [Землянухина и др., 2009; Zemlianukhina et al., 2017]. Стрессовое воздействие эдафических (почвенных) факторов при культивировании *in vitro* представляет как научный, так и практический интерес, в связи с чем разработка условий для отбора толерантных к засухе и повышенной кислотности форм для использования их в селекции является одним из перспективных и важных направлений в биотехнологии растений и представляется актуальным.

Целью работы явилось создание линий сахарной свёклы с комплексной устойчивостью к эдафическим факторам (к повышенной кислотности и недостатку влаги (осмотическому стрессу)).

Материалы и методы. В качестве растительных материалов использовали стерильные зародыши компонентов гибридов сахарной свёклы лаборатории исходного материала ФГБНУ ВНИИСС им. А.Л. Мазлумова: генотип №1 - мужскостерильный компонент гибрида; № 2 - фертильная линия гетерозисного опылителя; генотип № 3 - закрепитель мужской стерильности.

Основной питательной средой для проведения селективных экспериментов была классическая среда Гамборга, дополненная ростовыми гормонами. Условия недостатка влаги достигались добавлением неионного и неметаболизируемого осмотика сорбита в концентрации 0.40-0.45 М, условия пониженной кислотности - добавлением 0.02 или 0.05% $AlCl_3$, что создает рН 3.8 и 3.5, соответственно.

Для получения ферментативных препаратов растения сахарной свеклы растирали со стеклянным песком в 0.1 М трис-НС1-буфере, рН 7.5 и центрифугировали в

эппендорфах в течение 7 минут при 20000 g, 4 °С, на центрифуге CM50 ELMi (Латвия). Надосадочные жидкости в процессе работы сохраняли в твердотельном термостате BIOSAN CH-100 (Латвия) при -3 °С. Анализировали следующие ферменты: глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназа (гл.-6-Ф-ДГ; КФ 1.1.1.49), пероксидаза (ПО; КФ 1.11.17), изоцитратлиаза (ИЦЛ; КФ 4.1.3.1), малик-энзим (NAD-МЭ; КФ 1.1.1.39). Активность ферментов определяли с использованием коэффициента экстинкции, а единица активности определена как количество фермента, превращающего 1 мкм субстрата в 1 мин при 25 °С. Все измерения проведены на спектрофотометра UNICO 2800 (США). Содержание белка определяли по стандартному методу Bradford, в качестве стандарта использовали бычий сывороточный альбумин (Sigma).

Измерения активности ферментов и содержания белка проводили в 4-х биологических повторностях. Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета статистических программ «Stadia». Процедура группировки данных и их обработка изложены в работе Калаевой [2016]. Влияние генотипа и типа эксперимента (недостаток влаги и пониженная кислотность) на активность ферментов устанавливали с использованием двухфакторного дисперсионного анализа. Силу влияния фактора вычисляли по Снедекору (в %). Кластерный анализ проводили с использованием метрики нормированный Эвклид, стратегия классификации – группового соседа. При кластеризации в матрицу данных вносили значения активностей ферментов и содержание белка в образцах. Достоверность разделения на группы в кластерном анализе определяли с помощью дискриминантного анализа на основании критерия Махаланобиса.

Результаты и обсуждение. Получение адаптированных микроклонов сахарной свеклы. Проращение стерильных семян на селективных средах с двумя стрессовыми факторами (сорбит 0.45 М, рН 3.5) составляет 7.3-8.6 % при последующей выживаемости и сохранения регенерационной способности регенерантов 3.7-4.3 %. Добавление бензиламинопурина (БАП) в концентрации 0.2 мг/л приводит к повышению выживаемости семян до 15.0-22.7 % и регенерантов – до 6.0-8.6 %, что в 1.6-2.3 раза выше контрольных значений (различия достоверны (P<0.05)). В течение активного формирования листового аппарата и побегов используют селективную питательную среду, дополненную БАП, кинетином и гиббереллином в концентрации 0.2 мг/л каждый. Регенерация на данной среде проводится в два пассажа продолжительностью каждый в 25-30 суток, после чего растения переносятся на селективные среды. После этого проводится отбор устойчивых клонов по высоте и способности образовывать адвентивные побеги. При повторном отборе регенерантов в селективных условиях обнаруживается высокая толерантность к эдафическим стрессам, где количество устойчивых регенерантов варьирует от 58.0 до 66.0 % в зависимости от генотипа. При этом наблюдается образование нормальных черешковых листьев с цельной пластинкой, тупой верхушкой и клиновидным основанием. После адаптации к нестерильным тепличным условиям были получены небольшие корнеплоды - штеклинги, используемые в дальнейшем для получения семенного потомства (рисунок).

Биохимический отбор регенерантов. Механизмы адаптации растений к стрессовым факторам включают изменения в экспрессии генов, которые приводят к повышению или снижению активности целого ряда ферментов основных циклов клетки, общего белка, изменению изоферментного спектра. Поэтому использование биохимических методов для оценки регенерантов может способствовать более эффективному отбору генотипов с устойчивостью к стрессам. Результаты по измерению активности ферментов представлены в таблице.

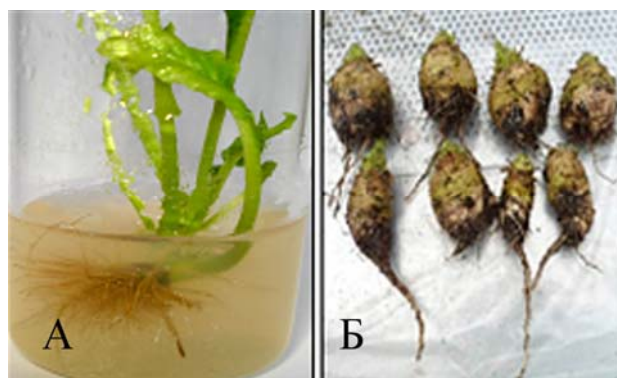


Рисунок. Развитие адаптированных микроклонов сахарной свеклы: А - формирование корней в селективных условиях при pH 4.0 и содержании сорбита 0.35 М; Б - образование штеклингов в условиях теплицы.

Таблица.

Удельные активности ферментов в контрольных и устойчивых регенерантах сахарной свеклы

Генотип №	Условия опыта	Удельная активность (мкм/мин/мг)			
		Гл.-6.-Ф-ДГ, $\times 10^{-3}$	ИЦЛ, $\times 10^{-3}$	МЭ, $\times 10^{-3}$	ПО
1	контроль	57.27±3.86	6.56±0.56	28.09±1.53	6.48±0.38
	устойч.	34.60±5.70*	6.56±0.56	20.25±3.47*	5.21±1.94
2	контроль	45.48± 4.21	9.26±0.30	30.12±3.77	6.27±0.83
	устойч.	44.12±4.14	12.21±2.30	41.61±3.98*	8.63±0.88*
3	контроль	44.01±1.61	11.69±0.38	32.56±0.57	8.02±0.60
	устойч.	50.19±3.62*	17.20±1.86*	40.73±0.87*	5.71±0.43*

* - различия с контролем достоверны ($P < 0.05$).

Результаты показывают, что адаптация к эдафическим факторам сопровождается достоверным снижением у двух из трех генотипов активности глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы – ключевого фермента пентозо-фосфатного цикла. Двухфакторный дисперсионный анализ выявил влияние генотипа (сила влияния – 15.7 % ($P < 0.05$)) и совместное влияние генотипа и типа эксперимента (сила влияния – 15.6 % ($P < 0.05$)) на активность глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы. Как ранее было показано [Zemlianukhina et al., 2017], водный дефицит и условия засоления приводят к уменьшению K_M от 0.15 до 0.12 mM для разных генотипов сахарной свеклы, т.е. повышается сродство фермента к субстрату ($NADP^+$). Некоторым исследователями показано, что изменение активности фермента связано с защитными функциями растений от действия стрессовых факторов [Pugin et al, 1997].

Одной из первых реакций на неблагоприятный фактор является активация ферментов окислительного стресса, к которым относится пероксидаза. Выявлено влияние типа эксперимента (сила влияния – 23.4 % ($P < 0.01$)) на активность пероксидазы. Считается, что в стрессовых условиях активность энзима повышается. Однако в данном случае активность её увеличивается только у генотипа № 2 в 1.4 раза, для генотипов №1 и №2, наоборот, наблюдалось снижение в 1.4 раза.

Установлено влияние генотипа (сила влияния – 12,5 % ($P < 0,05$)) и типа эксперимента (сила влияния – 10,7 % ($P < 0,001$)) на активность ИЦЛ. Активность цитоплазматической изоцитратлиазы (ИЦЛ) увеличилась в 1.5 раза лишь у генотипа № 3. Ранее было показано, что в условиях водного дефицита (при добавлении сорбитола) K_M фермента увеличивается почти в 8 раз, что говорит о конформационных изменениях в активном центре молекулы [Землянухина и др., 2009].

Показано влияние генотипа (сила влияния – 7.1 % (P<0.01)) и влияние типа эксперимента (сила влияния – 11.2 % (P<0.001)) на активность МЭ. Показано достоверное увеличение активности одного из четырех ферментов малатдегидрогеназного комплекса – малик энзима (МЭ) у опытных растений генотипа № 2 примерно в 1.4 раза. Для генотипа № 3 наблюдается такой же эффект: увеличение активности МЭ у устойчивых растений в 1.3 раза.

Кластерный анализ показал, что ферменты образуют два кластера. В первый входят глюкозо-6-Ф-дегидрогеназа и малик энзим, во второй - ИЦЛ и пероксидаза, к ним примыкает белок.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что биохимические изменения, выражающиеся в активации или ингибировании синтеза ферментов целого ряда метаболических циклов: ЦТК, пентозо-фосфатного, цитоплазматической изоцитратлиазы, а также фермента окислительного стресса – пероксидазы позволяют отбирать регенеранты с повышенной устойчивостью к эдафическим факторам. Проведённые исследования позволили разработать способ получения устойчивых к двум эдафическим факторам регенерантов с высокой регенерационной способностью, которые в дальнейшем будут изучены и использованы для создания линий в селекционных испытаниях.

Литература

Землянухина О.А., Черкасова Н.Н., Жужжалова Т.П. Метаболическая адаптация растений сахарной свеклы *in vitro* к условиям водного дефицита // Организация и регуляция физиологических и биохимических процессов. – Воронеж: изд-во ВГУ, 2009. – Вып. 11. – С. 96–102.

Калаева Е.А., Артюхов В.Г., Калаев В.Н. Теоретические основы и практическое применение математической статистики в биологических исследованиях и в образовании: учебник. – Воронеж: Издательский дом ВГУ, 2016. – 284 с.

Pugin A., Frachisse J. M., Tavernier E., Bligny R., Gout E., Douce R., Guern J. Early events induced by the elicitor cryptogein in tobacco cells: involvement of plasma membrane NADPH oxidase and activation of glycolysis and the pentose phosphate pathway // *Plant Cell* – 1997. – V. 9, № 11 – P. 2077–2091.

Zemlianukhina O.A., Cherkasova N.N., Zhuzhzhhalova T.P., Kalaev V.N. Biochemical and morphological characteristics of acid-resistant regenerants of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) // *Journal of Agricultural Science and Technology A*. – 2017. – V. 7. – P. 383–392, doi: 10.17265/2161-6256/2017.06.003

OBTAINING AND BIOCHEMICAL EVALUATION OF SUGAR BEET REGENERANTS WITH RESISTANCE TO EDAPHIC FACTORS

O.A. Zemlyanuhina¹, N.N. Cherkasova², T.P. Zhuzhzhhalova², V.N. Kalaev¹

¹Voronezh State University, Voronezh, Russia, oz54@mail.ru

²The A.L. Mazlumov All-Russian Research Institute of Sugar Beet and Sugar (VNIISS), vil. VNIISS, Voronezh region, Russia, biotechnologiya@mail.ru

Abstract. Based on stress selection, a method to obtain resistant sugar beet regenerants of different genotypes under *in vitro* conditions has been developed. Stress factors are low moisture content and high acidity level (use of chloraluminite) of Gamborg's nutrient medium. First stage includes *in vitro* cultivation of mature seed embryos with addition of the selective agent sorbite in concentrations of 0.45 M and with pH 3.5 to nutrient medium. Original and secondary selections of regenerants with resistance to edaphic factors are carried out on this medium. Biochemical evaluation of the selected resistant material is conducted.

Keywords: sugar beet, complex edaphic factors, resistance, enzymes

ОБРАТИМОСТЬ ПОВРЕЖДЕНИЙ МЕМБРАН КЛЕТОК ЛИСТЬЕВ ПШЕНИЦЫ ПОСЛЕ КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ ВОДНО-СОЛЕВОГО СТРЕССА

А.А. Иванов, А.А. Кособрюхов

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук, Пущино, Россия, *demfarm@mail.ru*

Аннотация. Исследовали проводимость клеточных мембран и содержание малонового диальдегида в листьях пшеницы в условиях двойного водно-солевого стресса, а также возможность восстановления растений после окончания стрессового воздействия. Обнаружена прямая зависимость проводимости мембран от накопления МДА или степени развития окислительного стресса. При этом молодые листья обладали большей устойчивостью к стрессу по сравнению со старыми листьями.

Ключевые слова: *стресс, проводимость мембран, малоновый диальдегид*

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-358-361

В последнее время наблюдается сокращение пахотных земель с достаточным водным снабжением, что сопровождается увеличением засоленности почвы и является одной из главных причин снижения урожайности сельскохозяйственных культур. В связи с этим, повышенное внимание уделяется сельскохозяйственным культурам, способным переносить экстремальные условия произрастания. В реальных условиях выращивания растений водный стресс неизбежно сопровождается солевым стрессом вследствие концентрирования солей при уменьшении содержания воды в почве. Нарушение водного режима растения при засухе и засолении приводит к развитию окислительного стресса и, в частности, к образованию малонового диальдегида (МДА) вследствие перекисного окисления липидов мембран клеток. Выяснение механизмов адаптации растений к стрессам, вызывающим снижение урожайности культур приобретает первостепенное значение. Одной из причин выживания растений в экстремальных условиях может быть высокая стабильность мембран клеток к действию повышенных концентраций ионов. Поэтому в наших экспериментах мы исследовали проницаемость мембран и содержание МДА в старых и молодых листьях проростков пшеницы с целью оценки стресс-устойчивости и возможности восстановления тканей, подвергнутых водному стрессу при различном содержании NaCl в почве.

В наших экспериментах растения пшеницы выращивали на хорошо отмытом песке в условиях полной влагоёмкости субстрата и при отсутствии минерального питания в течение 10 суток. Для опытов использовали два типа листьев, находящихся на разных стадиях онтогенетического развития: старые – закончившие рост, и молодые – активно растущие. Эксперимент начинали внесением в субстрат NaCl в различных концентрациях, после чего прекращали полив. В качестве контроля использовали вариант без добавления соли в условиях развивающейся засухи. По достижении влажности почвы около 5% возобновляли полив растений. Измерение проницаемости мембран (оценивая выход электролитов) и содержание МДА проводили согласно [Lutts et al., 1996].

С момента прекращения полива листья прекращали накапливать биомассу уже на следующий день проведения эксперимента во всех вариантах и при различных концентрациях NaCl [Ivanov, 2015]. В отсутствие стресса выход электролита всегда был несколько выше у молодых, чем у старых листьев. Присутствие NaCl в почвенном растворе вызывало увеличение выхода электролита, а, следовательно, и проницаемости

мембран клеток. Причём выход электролита увеличивался с продолжительностью воздействия стресса и был более выражен в старых, чем в молодых листьях. Однако проницаемость мембран клеток растений продолжительное время оставалась достаточно низкой даже в условиях пониженного содержания воды в почве в процессе развивающейся засухи, как в контроле, так и в вариантах с низким содержанием соли (0,05 – 0,1 М). Изменения проницаемости мембран начинали проявляться только при глубоком водном стрессе или при высоком (более 0,1 М) содержании соли в почве. Молодые листья, находящиеся в стадии активного роста, дольше сохраняли свою жизнеспособность во времени, в сравнение со старыми, окончившими рост органами. Однако в варианте с 0,1 М NaCl проницаемость мембран оставалась низкой даже при сильном обезвоживании тканей листьев. По-видимому, наличие в субстрате низких концентраций NaCl способствовало выживаемости растений во время засухи.

Повышенная стресс-устойчивость молодых листьев может быть тесно связана с репарационными возможностями растения после окончания стрессового воздействия. После возобновления полива растений, при концентрации соли в почве, не превышающей некоторый критический уровень (0,1 М) величина проницаемости мембран очень быстро восстанавливалась практически до исходного уровня. Причём способностью к восстановлению обладали только молодые листья. Старые листья вариантов H₂O, 0,05 и 0,1 М NaCl, несмотря на то, что сразу после возобновления полива способны были к восстановлению RWC, в дальнейшем всё равно погибали. При концентрации NaCl в почве выше 0,1 М растения подвергались сильному солевому стрессу, сопровождающемуся резким увеличением проницаемости мембран задолго наступления момента начала заметного влияния водного стресса. Растения этих вариантов уже не восстанавливались после прекращения действия засухи с началом полива (рисунок).

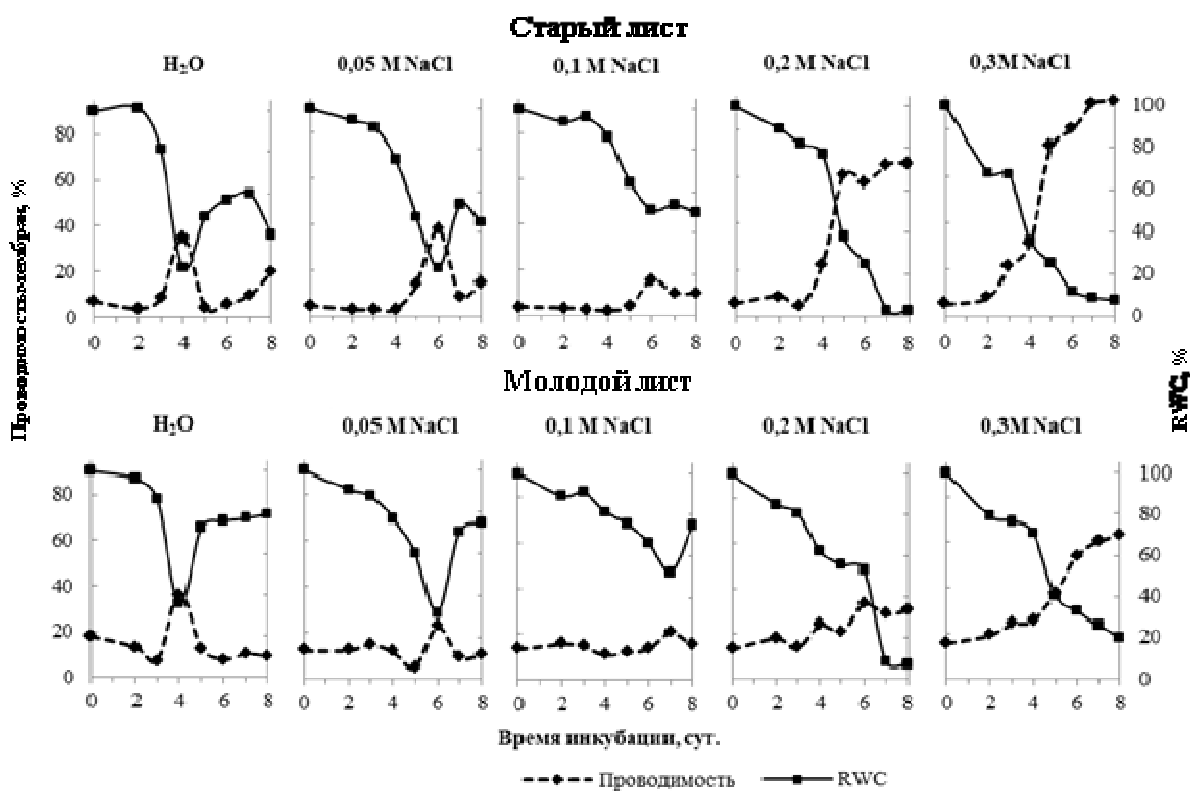


Рисунок. Зависимость между проводимостью мембран клеток и относительным содержанием воды в листьях при комбинированном водно-солевом стрессе.

Нами была обнаружена значительная положительная корреляция между концентрацией МДА и величиной выхода электролита. Эта зависимость была аналогичной как для старых, так и для молодых листьев, что указывает на прямую зависимость между образованием малонового диальдегида при перекисном окислении липидов и уровнем стабильности мембран клеток листьев.

Различия между старыми и молодыми листьями регистрировали на протяжении всего эксперимента даже в отсутствие стресса. Выход электролита и концентрация МДА были выше у старых листьев. В старых листьях во время водно-солевого стресса наблюдалось постепенное накопление МДА с пиком при наименьшей оводнённости тканей, в то время как в молодых листьях заметные изменения уровня МДА начинали происходить лишь при критическом падении RWC. С возобновлением полива концентрация МДА уменьшалась только в молодых листьях в вариантах до 0,1 М NaCl.

Характер метаболических модификаций, вызванных солевым стрессом, оказался похожим на естественные процессы старения, степень изменений которых может быть различной в зависимости от положения листа на растении. Различие свойств старых и молодых листьев можно объяснить тем, что накопление Na^+ и Cl^- при солевом стрессе происходит главным образом в самых старых листьях [Lutts et al., 1996]. Такая компартментализация определяет долгосрочный эффект засоления в листьях, обусловленный, главным образом, патологическими последствиями накопления токсических ионов. Данный эффект должен отличаться от первоначального снижения роста растения из-за ограничения подачи воды [Yeo et al., 1991].

Изменение проницаемости мембраны является одним из первых симптомов старения, вызванного стрессом. Действительно, значительное увеличение выхода электролита регистрировали в листьях после 8 дней воздействия стресса (рисунок). Следует отметить, что индуцированное NaCl сильное снижение стабильности клеточной мембраны напрямую не связано с уменьшением концентрации белка, связанного с мембраной [Lutts et al., 1996]. Высокая корреляция между значениями выхода электролита и МДА также подтверждает гипотезу о том, что изменение мембраны, зарегистрированное после кратковременного воздействия стресса, может быть приписано перекисному окислению ненасыщенных жирных кислот, а не к мембранным белкам.

Согласно нашим предыдущим исследованиям [Иванов, 2013; Ivanov, 2015], при водном стрессе в клетках растений накапливаются большие количества осмотически активных веществ, например, пролина. По нашим данным, в варианте с отсутствием соли в почве в процессе развивающейся засухи пролин синтезировался лишь в незначительных количествах и только при сильном обезвоживании тканей листа. Не исключено, что наблюдаемый синтез пролина связан с увеличением концентрации малых количеств соли в клетке при сильном обезвоживании тканей. Присутствие даже незначительных количеств соли в почве значительно усиливает аккумуляцию пролина, который начинает синтезироваться ещё до достижения точки устойчивого завядания листьев. При этом в молодых листьях синтез пролина происходил значительно активнее, чем в старых.

С началом полива количество пролина быстро уменьшается. Однако восстановление оводнённости и функциональной активности наблюдалось только у листьев, находящихся до стрессового воздействия в фазе активного роста. Закончившие рост старые листья не восстанавливались. Эти процессы были характерны только для вариантов с концентрацией NaCl в почве, не превышающей 0,1 М до начала эксперимента. В вариантах с 0,2 – 0,3 М NaCl инициация синтеза пролина происходила задолго до начала отрицательного действия водного стресса. Однако, несмотря на накопление значительных количеств пролина, растения в этих условиях, по-видимому,

находились под действием сильного солевого стресса и быстро теряли функциональную активность.

Таким образом, учитывая наши предыдущие исследования, можно сделать вывод, что в отличие от закончивших развитие органов, листья, находящиеся в стадии активного онтогенетического роста, проявляли большую стресс-устойчивость к негативному действию засухи. Это выражалось в сохранении высокой функциональной активности фотосинтетического аппарата, поддержании водного баланса клеток, связанного с выработкой больших количеств пролина [Иванов, 2013], а также высоких репарационных возможностей тканей после прекращения стрессового воздействия. При этом функциональное восстановление тканей листа во многом может быть связано с быстрой репарацией мембран после повреждающего влияния стресса. Можно предположить, что стабильность клеточных мембран стрессированных тканей можно рассматривать в качестве показателя стресс-устойчивости растений. Совместное действие водного и солевого стрессов носит неаддитивный характер, что выражалось в нарушении линейности физиолого-метаболического ответа растения на равномерно усиливающееся стрессовое воздействие. Присутствие низких концентраций NaCl в среде выращивания оказывало парадоксально положительное влияние, увеличивая время выживания проростков пшеницы в условиях развивающейся засухи без серьезных изменений функциональной активности.

Литература

Иванов А.А. Совместное действие водного и солевого стрессов на фотосинтетическую активность листьев пшеницы разного возраста // Физиология и биохимия культурных растений. – 2013. – Т. 45, № 2, – С. 155–163.

Ivanov A.A. Response of wheat seedlings to combined effect of drought and salinity. Stress Responses in Plants. Mechanisms of toxicity and tolerance. – Springer International Publishing, 2015. – P. 159–199.

Lutts S., Kinet J.M., Bouharmont J. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance // Annals of Botany. – 1996. – V. 78, No. 3. – P. 389–398.

Yeo A.R., Lee K.S., Izard P., Boursier P.J., Flowers T.J. Short- and long-term effects of salinity on leaf growth in rice (*Oryza sativa* L.) // Journal of Experimental Botany. – 1991. – V. 42. – P. 881–889.

REVERSIBILITY DAMAGE CELL MEMBRANES OF WHEAT LEAVES AFTER THE COMBINED ACTION OF WATER-SALT STRESS

A.A. Ivanov, A.A. Kosobryukhov

Institute of Fundamental Problems of Biology of the RAS, Pushchino, Russia, demfarm@mail.ru

Abstract. The conductivity of cell membranes and the content of malondialdehyde in wheat leaves under conditions of double water-salt stress, as well as the possibility of plant recovery after stress exposure were studied. It was found a direct dependence of conductivity of the membranes from the accumulation of MDA or the degree of development of oxidative stress. At the same time the young leaves were more resistant to stress than old leaves.

Keywords: stress, membrane permeability, malondialdehyde

РОЛЬ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ТИОЛОВ В ПРОЦЕССАХ ФОРМИРОВАНИЯ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ СИМБИОТИЧЕСКОГО КЛУБЕНЬКА ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM* L.)

К.А. Иванова, О.А. Кулаева, П.Г. Кусакин, А.В. Цыганова, В.Е. Цыганов

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», Санкт-Петербург, Россия, *kivanova@arriam.ru*

Аннотация. Глутатион и его гомолог гомоглутатион – тиоловые трипептиды, различающиеся одной аминокислотой и участвующие в процессах развития и адаптации бобовых растений к стрессам. С использованием серии растительных симбиотических мутантов, иммунолокализации, ПЦР в реальном времени и хроматографии, совмещенной с масс-спектрометрическим анализом, были выявлены некоторые закономерности локализации, синтеза и соотношений между тиолами в тканях симбиотических клубеньков и корней гороха.

Ключевые слова: бобово-ризобийный симбиоз, тиолы, глутатион, гомоглутатион

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-362-365

Пластичность растений обеспечивается их способностью воспринимать сигналы окружающей среды и, передавая их по скоординированным путям трансдукции, запускать соответствующие ответные реакции. Одним из таких трансдукторов является тиоловый трипептид глутатион (GSH), присутствующий в клетке в двух состояниях – восстановленном и окисленном. Вероятно, локальные изменения количества фитогормонов, связанные с программами развития и (или) влиянием окружающей среды, могут регулировать синтез GSH. Взаимодействуя с активными формами кислорода, изменяя редокс-состояние клетки и ее компартментов или тиол-дисульфидный статус белков, напрямую или косвенно GSH участвует в большинстве физиологических процессов, связанных с развитием растений, формированием новых органов, взаимодействием с симбиотическими микроорганизмами, защитными реакциями при патогенной атаке, адаптацией к абиотическим стрессам [Noctor et al., 2012]. Такой синергизм фитогормонов и окислительного стресса позволяет избежать нежелательного расхода энергии, отделяя защитные механизмы от процессов деления и дифференцировки клеток [May et al., 1998].

Симбиотический недетерминированный клубенек Бобовых является уникальной моделью, где можно проследить ход и взаимодействие всех этих процессов: дедифференцировка клеток внутренней коры корня, их митотическая реактивация, пролиферация клеток меристемы клубенька, дифференцировка инфицированных клеток, ассоциированная с повторяющимися раундами эндоредупликации, развитие защитных реакций и их подавление при совместимых взаимодействиях, необратимая дифференцировка бактерий под действием растительных факторов в особую, специализированную для фиксации атмосферного азота форму, – бактериоиды [Tsyganova et al., 2018; Ivanova et al., 2015]. В регулирование всех этих процессов, вероятно, вовлечен GSH, а также его гомолог – уникальный для семейства Бобовые трипептид гомоглутатион (hGSH). Несмотря на отличие всего лишь в одну аминокислоту, экспрессия генов биосинтеза этих тиолов по-разному регулируется в ответ на сигнальные молекулы или стрессовые условия, что может указывать на наличие у них различающихся функций [Clemente et al., 2012].

В рамках настоящей работы были выявлены некоторые закономерности локализации, синтеза и соотношения между тиолами в тканях симбиотических клубеньков и корней гороха посевного. Были использованы растения дикого типа SGE

на сроке 3 недели после инокуляции и линии гороха, мутантные по генам:

– *sym40* (ортолог гена *Medicago truncatula EFD*, регулирующего работу негативного регулятора цитокининового ответа в клубеньках). Клубеньки характеризуются образованием гипертрофированных инфекционных капель, неполной дифференцировкой бактериоидов и преждевременной деградацией симбиотических структур [Tsyganov et al., 1998; Nemankin, 2011].

– *sym33* (ортолог генов *M. truncatula IPD3* и *Lotus japonicus CYCLOPS*, кодирующих ключевой транскрипционный фактор, активирующий процесс органогенеза клубенька). В клубеньках не наблюдается выход бактерий в цитоплазму растительных клеток из «запертых» суберенизированных инфекционных нитей [Tsyganov et al., 1998; Ovchinnikova et al., 2011; Ivanova et al., 2015].

В клубеньках и неинокулированных корнях исследуемых линий была исследована экспрессия генов, кодирующих ферменты синтеза GSH и hGSH: *GSH1* (γ -глутамилцистеин синтетаза), *GSHS* (глутатион синтетаза) и *hGSHS* (гомоглутатион синтетаза). В клубеньках гороха дикого типа ген *GSHS* экспрессировался на более высоком уровне, чем ген *hGSHS*. В то же время, как в неинокулированных корнях, так и в клубеньках мутантных линий с «запертыми» инфекционными нитями, уровень экспрессии гена *hGSHS* был выше по сравнению с диким типом и мутантом по гену *sym40*. При этом было показано, что наибольший уровень экспрессии гена *GSHS* среди всех исследуемых генотипов был характерен для мутанта по гену *sym40*.

Далее был проведен количественный анализ содержания тиолов (тотальный пул) в клубеньках и неинокулированных корнях исследуемых линий методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, совмещенной с масс-спектрометрическим анализом, с использованием дитиотрейтола в качестве восстанавливающего агента. В клубеньках дикого типа концентрация GSH и отношение [GSH:hGSH] было максимальным среди исследуемых генотипов. Противоположные результаты были получены для неинокулированных корней – самые низкие уровни GSH и [GSH:hGSH]. У мутанта по гену *sym33-2* рост инфекционных нитей блокирован уже в коре клубенька, при этом уровень GSH был выше, чем в неинокулированных корнях, однако, его содержание и значение [GSH:hGSH] было самым низким среди клубеньков других генотипов. В то же время, уровень hGSH был сходным с уровнем этого тиола в клубеньках дикого типа. Другой аллельный мутант *sym33-3* проявляет нечетко выраженный (leaky) фенотип и выход бактерий в цитоплазму можно обнаружить в некоторых клетках [Voroshilova et al., 2001], однако, бактериоиды все равно остаются не дифференцированными. В клубеньках этого мутанта уровень GSH был довольно высоким, сопоставимым с таковым у дикого типа, но количество hGSH также увеличивалось, что приводило к уменьшению значения [GSH:hGSH]. У мутанта по гену *sym40* содержание GSH было ниже, чем у дикого типа и мутанта *sym33-3*, но при этом разница в количестве обоих тиолов была меньше, чем у дикого типа, но больше, чем у мутантов по гену *sym33*. Таким образом, каждый из исследуемых генотипов, проявляющий уникальный фенотип, демонстрировал свою композицию тиолов в клубеньках. Основным тиолом в клубеньках гороха дикого типа является GSH. Для формирования эффективного азотфиксирующего клубенька с растительными клетками, содержащими полностью дифференцированные бактериоиды, необходимо увеличение тотального пула как GSH, так и hGSH, однако, разница в содержании этих тиолов должна быть минимум 4-х кратной. Изменение значения [GSH:hGSH] по сравнению с неинокулированными корнями, вероятно, необходимо для дедифференцировки клеток внутренней коры корня, а увеличение количества GSH – для формирования апикальной меристемы клубенька и ее пролиферации, а также для дифференцировки инфицированных растительных клеток, ассоциированной с

повторяющимися раундами эндоредупликации, так как известно, что GSH напрямую вовлечен в регуляцию клеточного цикла [Vernoux et al., 2000; Pasternak et al., 2014]. Кроме того, высокий уровень тиолов в эффективных клубеньках может быть связан непосредственно с их антиоксидантными свойствами и процессом фиксации азота. Снижение количества обоих тиолов, как у мутанта по гену *sym40*, ассоциировано с быстрой инактивацией меристемы и отсутствием полностью дифференцированных растительных клеток, содержащих зрелые бактериоды, с развитием окислительного стресса в клубеньках и преждевременной деградацией симбиотических структур. В клубеньках мутантов, заблокированных на более ранних стадиях, наблюдалось накопление hGSH и снижение значения [GSH:hGSH], что коррелировало с блоком нормального роста инфекционных нитей и подавлением инфекционного процесса. Таким образом, hGSH может быть вовлечен в регуляцию защитных реакций, проявляющихся при нарушении в программе развития симбиоза на стадии инфицирования клубенькового примордия и до начала работы продукта гена *Sym40*.

Методом иммунолокализации с использованием антител против восстановленной формы GSH в клубеньках дикого типа было показано присутствие метки в клетках меристемы, зоны инфекции и зоны азотфиксации, а также в клетках, содержащих гранулы крахмала. При этом во всех изученных вариантах наиболее интенсивный сигнал наблюдался вокруг ювенильных бактериодов, что свидетельствует о важной роли GSH на стадии выхода бактерий из инфекционных капель в растительную клетку и в процессе их дальнейшей дифференцировки.

Таким образом, с использованием исходной линии SGE и полученных на ее основе мутантов, заблокированных на последовательных стадиях развития симбиотического клубенька, было продемонстрировано участие низкомолекулярных тиолов в процессах формирования и дифференцировки клубенька гороха.

Работа поддержана Российским научным фондом (17-76-30016) и Российским фондом фундаментальных исследований (16-34-60132_мол_а_дк).

Литература

Clemente M. R., Bustos-Sanmamed P., Loscos J., James E.K., Pérez-Rontomé C., Navascués J., Gay M., Becana M. Thiol synthetases of legumes: immunogold localization and differential gene regulation by phytohormones // *Journal of Experimental Botany*. – 2012. – V. 63, No. 10. – P. 3923–3934.

Ivanova K.A., Tsyganova A.V., Brewin N.J., Tikhonovich I.A., Tsyganov, V. E. Induction of host defences by *Rhizobium* during ineffective nodulation of pea (*Pisum sativum* L.) carrying symbiotically defective mutations *sym40* (*PsEFD*), *sym33* (*PsIPD3/PsCYCLOPS*) and *sym42* // *Protoplasma*. – 2015. – V. 252, No. 6. – P. 1505–1517.

May M.J., Vernoux T., Leaver C., Montagu M. V., Inze D. Glutathione homeostasis in plants: implications for environmental sensing and plant development // *Journal of Experimental Botany*. – 1998. – V. 49, No. 321. – P. 649–667.

Nemankin N.F. Analysis of pea (*Pisum sativum* L.) genetic system, controlling development of arbuscular mycorrhiza and nitrogen-fixing symbiosis. – Dissertation Saint-Petersburg State University (in Russian), 2011.

Noctor G., Mhamdi A., Chaouch S., Han Y.I., Neukermans J., Marquez-Garcia B., Queval G., Foyer C.H. Glutathione in plants: an integrated overview // *Plant, Cell and Environment*. – 2012. – V. 35, No. 2. – P. 454–484.

Ovchinnikova E., Journet E.P., Chabaud M., Cosson V., Ratet P., Duc G., et al. IPD3 controls the formation of nitrogen-fixing symbiosomes in pea and *Medicago* Spp // *Molecular Plant-Microbe Interactions*. – 2011. – V. 24, No. 11. – P. 1333–1344.

Pasternak T., Asard H., Potters G., Jansen M.A. The thiol compounds glutathione and homoglutathione differentially affect cell development in alfalfa (*Medicago sativa* L.) // *Plant Physiology and Biochemistry*. – 2014. – V. 74. – P. 16–23.

Tsyganov V.E., Morzhina E.V., Stefanov S.Y., Borisov A.Y., Lebsky V.K., Tikhonovich I.A. The pea (*Pisum sativum* L.) genes *sym33* and *sym40* control infection thread formation and root nodule function // *Molecular and General Genetics*. – 1998. – V. 259, No. 5. – P. 491–503.

Tsyganova A.V., Kitaeva A.B., Tsyganov V.E. Cell differentiation in nitrogen-fixing nodules hosting symbiosomes // *Functional Plant Biology*. – 2018. – V. 45, No. 2. – P. 47–57.

Vernoux T., Wilson R.C., Seeley K.A., Reichheld J.P., Muroy S., Brown S. et al. The *ROOT MERISTEMLESS1/CADMIUM SENSITIVE2* gene defines a glutathione-dependent pathway involved in initiation and maintenance of cell division during postembryonic root development // *The Plant Cell*. – 2000. – V. 12, No. 1. – P. 97–109.

Voroshilova V.A., Boesten B., Tsyganov V.E., Borisov A.Y., Tikhonovich I.A., Prierer U.B. Effect of mutations in *Pisum sativum* L. genes blocking different stages of nodule development on the expression of late symbiotic genes in *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* // *Molecular Plant-Microbe Interactions*. – 2001. – V. 14, No. 4. – P. 471–476.

THE ROLE OF LOW-MOLECULAR-WEIGHT THIOLS IN SYMBIOTIC PEA NODULE DEVELOPMENT AND DIFFERENTIATION

K.A. Ivanova, O.A. Kulaeva, P.G. Kusakin, A.V. Tsyganova, V.E. Tsyganov

Federal State Budget Scientific Institution All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, St. Petersburg, Russia, kivanova@arriam.ru

Abstract. Glutathione and its homologue homoglutathione are thiol tripeptides, which differ only in one amino acid and are involved in the development processes and adaptation to stress in Legumes. Using a series of plant symbiotic mutants, immunolocalization, real-time PCR and high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, some patterns of localization, synthesis, and ratio of thiols in the tissues of symbiotic pea root nodules were revealed.

Keywords: *Rhizobium-legume symbiosis, thiols, glutathione, homoglutathione*

ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ СУММАРНЫХ ЛИПИДОВ ХВОЙНЫХ В УСЛОВИЯХ ВЕГЕТАЦИИ

М.В. Иванова, Г.Г. Суворова

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия, *omaria-84@yandex.ru*

Аннотация. Изучали состав и динамику суммарных липидов хвои *Pinus sylvestris*, *Picea obovata*, и *Larix gmelinii*, а также содержание хлорофиллов и воды в хвое в условиях вегетации. Показаны видоспецифические различия во взаимообусловленности динамики содержания ЖК с содержанием пигментов и особенностями водного статуса хвои у исследуемых видов.

Ключевые слова: жирные кислоты, условия вегетации, хвойные, хлорофилл, оводненность хвои, адаптация

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-366-369

В основе механизмов адаптации растительных организмов к специфическим условиям произрастания лежат структурно-функциональные преобразования клеточных мембран. Важную роль в процессах адаптации растений к климатическим условиям среды играют насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты липидов биологических мембран клеток, динамические преобразования которых направлены на сохранение активности фотосинтетического аппарата [Лось, 2001; Алаудинова, Миронов, 2009]. Несмотря на большое внимание, уделяемое в настоящее время изучению мембранных липидов растительных клеток, многие вопросы межвидовых различий ЖК состава, изменения его от факторов среды и взаимосвязи липидного обмена у растений с их фотосинтетической активностью остаются малоизученными. В Сибирском регионе преобладают экосистемы с доминированием видов хвойных, которые отличаются высокой устойчивостью к неблагоприятным условиям среды. Предполагается, что преобразования липидного обмена лежат в основе формирования видоспецифической устойчивости фотосинтетического аппарата хвойных к природно-климатическим условиям произрастания. В связи с этим, целью работы являлось сравнительное изучение состава и динамики жирных кислот липидов хвои, динамики содержания хлорофилла и водного статуса хвои у доминирующих видов хвойных Восточной Сибири - сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.) и лиственницы Гмелина (*Larix gmelinii* Rupr.) в период вегетации.

Материал для изучения ЖК состава липидов хвои, содержания пигментов и оводненности хвои отбирался в экспериментальном насаждении хвойных пород заложенном на территории СИФИБР СО РАН. Метилловые эфиры ЖК получали по методу [Christie, 1993]. Анализ метиловых эфиров ЖК проводили методом газожидкостной хроматографии с использованием хромато-масс-спектрометра 5973N/6890N MSD/DS AgilentTechnologies (США). Параллельно проводили наблюдения за факторами среды. Содержание пигментов определяли по методу [Шлык, 1971], оводненность хвои по [Гусев, 1960].

Наибольший суммарный вес в составе ЖК суммарных липидов хвои исследуемых видов составляли пальмитиновая (C16:0) (12-28% от суммы всех ЖК), олеиновая (C18:1 ω 9) (5-17%), линолевая (C18:2 ω 6) (7-22%) и α -линоленовая (C18:3 ω 3) (14-45%). Особое внимание обращает на себя содержание в суммарных липидах хвои α -линоленовой кислоты (рис. 1). В хвое *L. gmelinii* ее содержалось в 1,5-2 раза больше, чем в хвое *P. sylvestris* и *P. obovata*. Для *P. sylvestris* было отмечено постепенное увеличение α -линоленовой кислоты с апреля по август, а затем ее снижение с августа

по октябрь. Для *P. obovata* была зафиксирована более сложная динамика содержания α -линоленовой кислоты: обнаружено три периода повышенного содержания в мае, августе и октябре. Подобную динамику мы наблюдали раньше в своих исследованиях [Макаренко, 2014; Иванова, Суворова, 2014, Иванова, 2018]. Для *L. gmelinii* отмечено увеличение содержания α -линоленовой кислоты в июле и сентябре. Известно, что от соотношения насыщенных и ненасыщенных ЖК в липидах мембран зависит степень их текучести, чем определяется как работа локализованных в них ферментов и рецепторов, так и устойчивость клеток к действию неблагоприятных факторов среды [Лось, 2001]. Таким образом, в течение периода вегетации содержание ненасыщенных ЖК, в частности, α -линоленовой кислоты, обусловлено в весенний и осенний периоды низкими температурами воздуха, а в летний период активными биохимическими процессами в клетках мезофилла хвои.

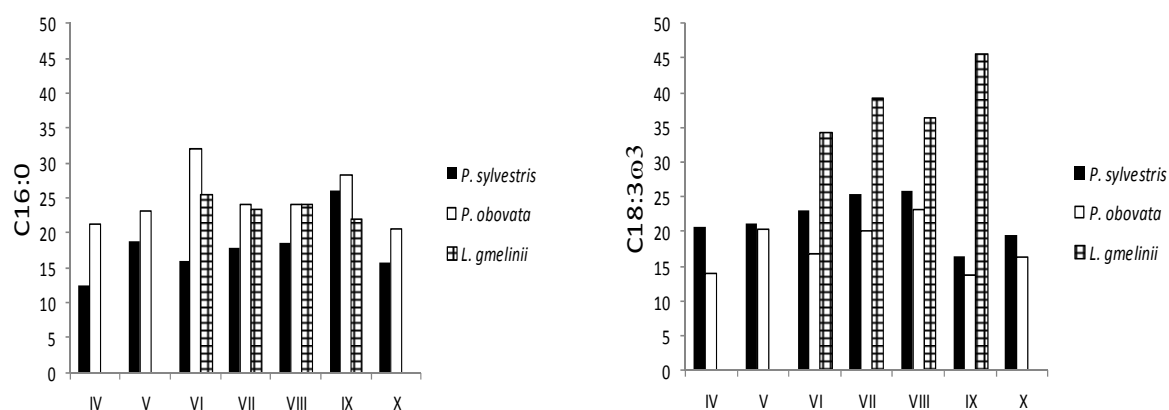


Рис. 1. Сезонная динамика содержания ЖК липидов хвои в период вегетации.

Анализ сезонной динамики содержания $\Delta 5$ UPIFA у исследуемых видов в период вегетации показал, что наибольшее их содержание в хвое *P. sylvestris* и *P. obovata* наблюдалось в весенний и осенний периоды вегетации, в летний период происходило отчетливое снижение (рис. 2). Для *L. gmelinii* было показано наибольшее содержание $\Delta 5$ UPIFA в августе и сентябре. Высокое содержание этих кислот в липидах хлоропластных мембран хвои сосны и ели обычно связывают с адаптацией растений к низким температурам [Kargiotidou et. al., 2008; Roman et. al., 2012].

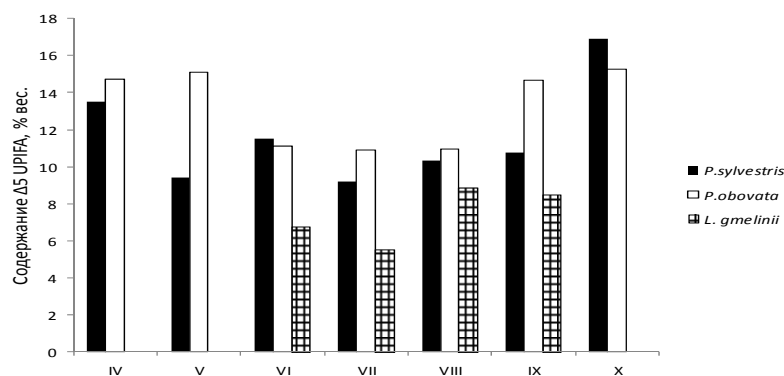


Рис. 2. Сезонная динамика содержания $\Delta 5$ UPIFA липидов хвои в период вегетации.

Дальнейшее исследование показало характерные особенности динамики содержания пигментов и оводненности хвои у исследуемых видов хвойных. Обращает на себя внимание сходство динамики содержания пальмитиновой ЖК (C16:0), Хл *a* и *b* и содержания хлорофилла в ССК у сосны с апреля по июль. Вероятно, это объясняется тем, что сосна является ксерофитом и очень чувствительна к уровню солнечной радиации, поэтому в весенний и летний периоды вегетации ее фотосинтетический

аппарат настраивается на максимальное использование солнечного света путем усиления работы ССК. Вероятно, важное значение при этом имеет содержание пальмитиновой кислоты в липидах мембран хлоропластов.

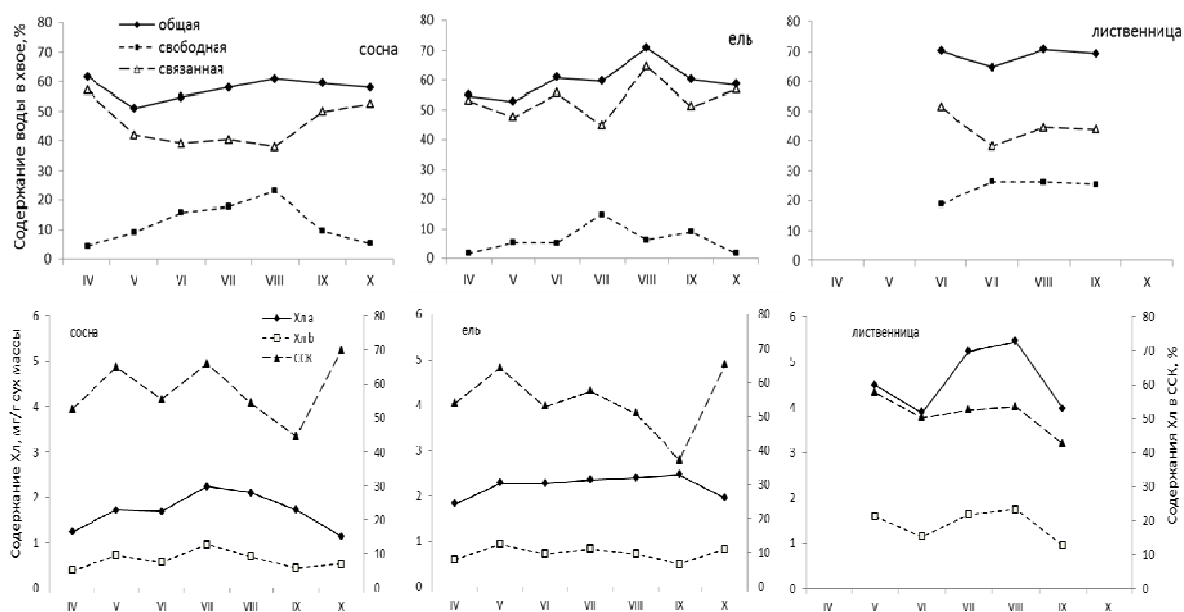


Рис. 3. Динамика содержания хлорофиллов и воды в хвое в период вегетации.

Для ели важной особенностью является совпадение максимума содержания пальмитиновой кислоты и связанной воды и увеличения уровня общей оводненности хвои в июне. Это является, по видимому, отличительной характеристикой ели как выраженного мезофита очень чувствительной к содержанию воды почве и воздухе, а также к сохранению оптимального уровня оводненности хвои в наиболее активный период вегетации [Суворова, 2009; Иванова, Суворова, 2014].

Для *L. gmelinii* отмечается одновременное увеличение содержания общей воды, Хл *a* и *b* и $\Delta 5$ UPIFA в августе. Фотосинтетический аппарат *L. gmelinii* не обладает таким широким спектром приспособительных и адаптивных механизмов, как у ели и сосны, ввиду того, что *L. gmelinii* сбрасывает хвою при наступлении холодов. В августе, при высоком содержании Хл и оводненности хвои, начинается постепенное снижение температуры воздуха, что вероятно и объясняет увеличение содержания $\Delta 5$ UPIFA. Изменения в содержании $\Delta 5$ -UPIFA в липидах хвои могут быть связаны с формированием устойчивости фотосинтетического аппарата лиственницы к низким температурам [Mongrand, 2001].

Полученные результаты позволяют предположить важное участие ЖК липидов хвои в адаптации фотосинтетического аппарата хвойных к климатическим условиям юга Восточной Сибири. Взаимосвязь содержания ЖК липидов хвои, хлорофилла, содержания воды в хвое свидетельствует о высокой пластичности фотосинтетического аппарата исследуемых видов хвойных в условиях вегетации, что способствует обеспечению устойчивости и высокой биологической продуктивности этих видов на территории Юга Восточной Сибири.

Литература

Алаудинова Е.В., Миронов П.В. Липиды меристем лесообразующих хвойных пород Центральной Сибири в условиях низкотемпературной адаптации. 2. Особенности метаболизма жирных кислот фосфолипидов меристем *Larix sibirica* Ledeb., *Picea obovata* Ledeb, *Pinus sylvestris* L. // Химия растительного сырья. – 2009. – № 2. – С. 71–76.

Гусев Н.А. Некоторые методы исследования водного режима растений. – Л., 1960. – 21 с.

Иванова М.В., Макаренко С.П., Суворова Г.Г. Жирнокислотный состав суммарных липидов хвои *Picea obovata* в весенний период вегетации // Сибирский экологический журнал. – 2018. – Т. 2. – С. 239–247. DOI 10.15372/SEJ20180208

Иванова М.В., Суворова Г.Г. Структура и функция фотосинтетического аппарата хвойных в условиях юга Восточной Сибири. – Иркутск: Изд-во Института географии СО РАН им. В.Б. Сочавы СО РАН, 2014. – 82 с.

Лось В.А. Структура, регуляция экспрессии и функционирование десатураз жирных кислот // Успехи биол. химии. – 2001. – Т. 41. – С. 163–198.

Макаренко С.П., Коненкина Т.А., Суворова Г.Г., Оскорбина (Иванова) М.В. Сезонные изменения жирнокислотного состава липидов хвои *Pinus sylvestris* // Физиология растений. – 2014. – Т. 61, № 1. – С. 129.

Суворова Г.Г. Фотосинтез хвойных деревьев в условиях Сибири. – Новосибирск: Изд-во «Гео». 2009. – 194 с.

Шлык А.А. Определение хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев // Биохимические методы в физиологии растений. – М.: Наука, 1971. – С. 154–169.

Christie W.W. Preparation of ester derivatives of fatty acids for chromatographic analysis // Advances in lipid methodology – Dundee: Two Oily Press, 1993. – P. 69–111.

Kargiotidou A., Deli D., Galanopoulou D., Tsaftaris A., Farmaki T. Low' temperature and light regulate delta-12 fatty acid desaturases (FAD2) at a transcriptional level in cot ton (*Gossypium iirsutum*) // J. Exp. Bot. – 2008. – V. 59. – P. 2043–2056.

Mongrand S., Badoc A., Patouille B., Lacomblez C., Chavent M., Cassagne C., Bessoule J.-J. Taxonomy of Gymnospermae: Multivariate Analyses of Leaf Fatty Acid Ccomposition // Phytochemistry. – 2001. – V. 58. – P. 101–115.

Roman A., Andrea P., Hernandez M.L., Lagunas B., Picoret R., Martinez-Rivas J.M., Alfonso M. Contribution of the different omega -3 fatty acid dcsaturase genes to the cold response in soybean // J. Exp. Bot. – 2012. – V. 63. – P. 4973–4982.

FATTY ACID COMPOSITION OF TOTAL LIPIDS OF CONIFERS IN THE CONDITIONS OF VEGETATION

M. Ivanova, G. Suvorova

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, Irkutsk, Russia, omaria-84@yandex.ru

Abstract. The composition and dynamics of the total lipids of *Pinus sylvestris*, *Picea obovata*, *Larix gmelinii* needles and the content of chlorophyll and water in the needle under growth conditions were studied. Species-specific differences in the relationship between the dynamics of the FA content with the content of pigments and the features of the aquatic status of needles in the studied species are shown.

Keywords: fatty acids, vegetation conditions, coniferous, chlorophyll, water content of needles, adaptation

ОСОБЕННОСТИ ПЛОДОВ МУШМУЛЫ (*MESPILUS GERMANICA*) В СВЯЗИ С АДАПТАЦИЕЙ К ГОРНЫМ УСЛОВИЯМ ПРОИЗРАСТАНИЯ

Т.В. Иванова¹, А.С. Воронков^{1,2}, Э.И. Кузнецова¹, Т.Х. Кумахова³

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия, itv_2006@mail.ru

²Государственное образовательное учреждение высшего образования Московской области «Государственный гуманитарно-технологический университет», Орехово-Зуево, Россия, voronkov_as@mail.ru

³Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева», Москва, Россия, tkumachova@yandex.ru

Аннотация. Изучены структурные и функциональные особенности плодов *Mespilus germanica* L., произрастающих в горах Северного Кавказа на разных высотах (500, 800, 1200 м) над уровнем моря. Выявлены некоторые физиолого-биохимические приспособления к условиям произрастания в горных экосистемах с разными экологическими составляющими.

Ключевые слова: *Mespilus germanica*, жирные кислоты, конденсированные полифенолы
DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-370-374

Многие дикорастущие виды растений отличаются высокой экологической пластичностью, что позволяет им успешно произрастать в разных экосистемах, в том числе и в горных. Эта особенность позволяет растениям выживать в условиях повышающегося антропогенного прессинга и изменяющихся условий их обитания. К группе таких видов растений относится мушмула германская (*Mespilus germanica* L.), широко распространенная в горных экосистемах южных регионов России и на сопредельных территориях. Поэтому цитологическое и физиологическое исследование репродуктивных органов *M. germanica* представляет большой интерес.

M. germanica – листопадный кустарник или небольшое деревце (высотой 1,5–6 м), принадлежит монотипному роду Мушмула (*Mespilus* L.) подсемейства Яблоневые (*Maloideae*) семейства Розоцветные (*Rosaceae*). Известны два экотипа дикорастущей мушмулы германской: ксерофильный, приуроченный к открытым местообитаниям, и мезофильный, лесной [Жуковский, 1971; Камелин, 2006; Растительные ресурсы России, 2009]. Ценность мушмулы известна с глубокой древности. Как витаминоносное и лекарственное растение она широко вошла в культуру многих стран Передней и Малой Азии, Восточного Средиземноморья и Западной Европы. В настоящее время в вегетативных и репродуктивных органах *M. germanica* найдены тритерпеноиды, фенолкарбоновые кислоты, флавоноиды, катехины, органические кислоты и их производные, алифатические альдегиды, высшие жирные кислоты (ЖК), до 10% жирного масла в семенах [Буданцев, 2009]. Интерес к *M. germanica* в последние годы стабильно растет, что можно объяснить выраженными антиоксидантными свойствам ее плодов, благодаря которым они могут быть использованы в пищевой, фармацевтической и других отраслях промышленности.

Материалы и методы. Образцы зрелых плодов дикорастущей *M. germanica* собирали из средней части кроны трех модельных деревьев с высот ~ 500 м, ~ 800 м, и ~ 1200 м над уровнем моря, произрастающих в предгорной и лесогорной зонах Северного Кавказа.

Гистохимические исследования околоплодника проводили на микроскопе AxioImager D1 (Carl Zeiss, Германия) в проходящем свете. Поперечные срезы

изготавливали с помощью микротомы «Thermo Scientific, Microm HM 650V» с вибрирующим лезвием (толщина срезов – 50 мкм). Для выявления лигнифицированных (одревесневших) клеточных стенок срезы обрабатывали флороглюцином и соляной кислотой (HCl). Суданом III выявляли липофильные компоненты. Микрофотографии получены с помощью камеры Canon A650 IS. Редактирование микрофотографий производили в программе ZEN lite 2012.

Для определения состава ЖК липидов наружные ткани и паренхимную часть околоплодника плодов *M. germanica* фиксировали по отдельности в кипящем изопропаноле (предварительно смыв поверхностные воска хлороформом), содержащем 0,001% ионола, и гомогенизировали. Абсолютное содержание и ЖК-состав суммарных липидов в полученных гомогенатах определяли, как описано ранее [Сидоров и др., 2012]. Идентификацию и определение количественного содержания метиловых эфиров ЖК (МЭЖК) выполняли с помощью ГЖХ-МС на приборе Agilent 7890A GC (США). Для оценки уровня ненасыщенности ЖК в липидах околоплодника рассчитывали индекс ненасыщенности (ИН). Абсолютное содержание липидов выражали в микромолях этерифицированных ЖК в расчёте на 1 г сырой массы [Иванова и др., 2016].

Результаты и обсуждение. В околоплоднике *M. germanica* выявлены покровная и паренхимная зоны (рис. 1).

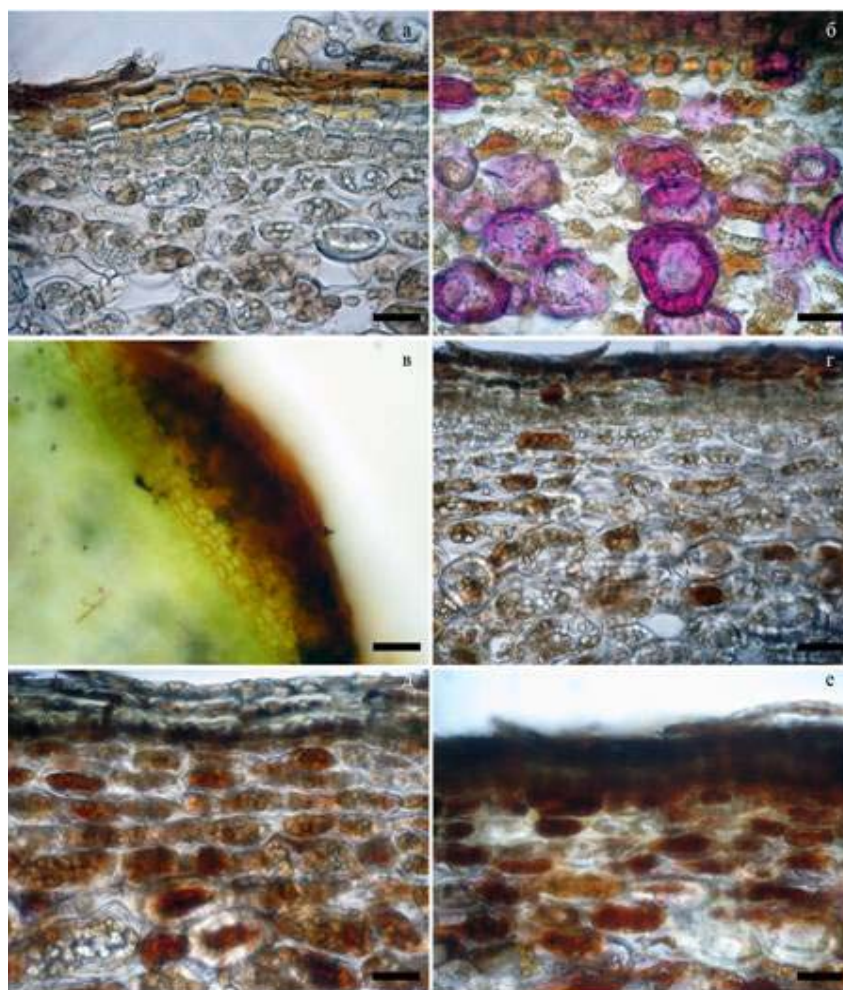


Рис. 1. Поперечные срезы околоплодника *Mespilus germanica* при гистохимическом исследовании: а – контрольный (неокрашенный); б – склереиды; в – суберинизированные стенки клеток и чечевичка; г, д, е – конденсированные полифенолы в клетках плодов с высот 500, 800 и 1200 м над уровнем моря, соответственно. Бар=20 мкм.

Гистохимические исследования тканей околоплодника *M. germanica* (рис. 1) выявили многочисленные крупные клетки – склереиды с одревесневшими стенками малиново-красного цвета, локализованные, главным образом, в паренхимной части (рис. 1б). При окрашивании срезов Суданом III выявлены суберинизированные стенки клеток наружной зоны (4–5 слоев) и многочисленных чечевичек (рис. 1в). Помимо суберина, в клетках околоплодника обнаружены и иные липофильные компоненты.

Состав ЖК суммарных липидов плодов *M. germanica*, произрастающих на разных высотах приведен в табл. 1. В липидах плодов мушмулы со всех трех исследуемых высот (500, 800 и 1200 м) содержалось 23 индивидуальных вида C₁₂-C₂₄-ЖК, главными из которых были пальмитиновая (C_{16:0}), стеариновая (C_{18:0}), олеиновая (C_{18:1}) и линолевая (C_{18:2}) кислоты. В паренхимной части плода из этих же образцов, а также в наружном слое на высоте 1200 м одной из главных ЖК была α-линоленовая (C_{18:3}) кислота.

Таблица 1.

ЖК липидов плодов *Mespilus germanica* на разных высотах, % от суммы МЭЖК

ЖК	Наружные слои			Паренхима			Семена ¹		
	500 м	800 м	1200м	500 м	800 м	1200м	500 м	800 м	1200м
C _{12:0}	0,3	0,3	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1
C _{14:0}	2,4	1,5	1,1	1,1	2,0	1,6	0,4	0,3	0,5
C _{15:0}	0,7	0,7	0,5	0,3	0,5	0,6	0,1	0,2	0,3
C _{16:0}	38,5	38,2	30,6	27,7	24,2	24,0	11,8	10,6	12,2
Δ7-C _{16:1}	0,3	0,7	0,6	0,2	0,1	0,4	0,2	0,2	0,4
Δ9-C _{16:1}	0,6	0,5	0,5	0,5	0,1	0,3	0,1	0,1	0,2
C _{18:0}	21,1	15,1	12,1	12,7	24,0	16,3	3,6	4,2	4,1
Δ7-C _{18:1}	0,1	0,3	0,2	–	0,3	0,3	–	0,4	0,3
Δ9-C _{18:1}	15,6	11,3	7,7	3,0	5,4	8,0	28,8	32,0	32,6
Δ11-C _{18:1}	1,1	1,0	0,6	0,6	0,6	0,7	0,8	0,8	0,7
Δ9,12-C _{18:2}	4,2	23,0	23,3	41,7	29,9	31,1	51,1	48,1	46,2
C _{19:0}	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,3	0,3	0,2	0,2
Δ9,12,15-C _{18:3}	0,1	0,9	18,2	10,6	11,9	14,8	0,5	0,3	0,3
C _{20:0}	6,2	3,6	2,6	0,9	0,8	1,0	1,4	1,6	1,3
Δ11-C _{20:1}	0,1	0,2	0,2	–	–	–	0,5	0,6	0,4
C _{21:0}	сл.	0,1	сл.	–	–	0,1	сл.	сл.	сл.
C _{22:0}	6,1	1,9	1,3	0,3	–	0,2	0,2	0,2	0,1
C _{24:0}	2,4	0,4	0,1	–	–	сл.	сл.	сл.	–
ИН	0,265	0,627	1,110	1,195	1,020	1,164	1,342	1,313	1,280
ΣЖКОДЦ	14,8	6,2	4,2	1,2	0,8	1,3	2,1	2,4	1,8

¹содержались также C_{13:0} (следы) и Δ10-C_{17:1} (0,1%).

Из данных табл. 1 видно, что различия качественного и количественного состава ЖК в липидах паренхимы и семян *M. germanica* на всех высотах незначительны, а явные различия были обнаружены лишь в наружных слоях плодов. С повышением высоты произрастания *M. germanica* до 1200 м имеет место заметное увеличение величины ИН по сравнению с высотой 500 м. Это увеличение объясняется повышением содержания в наружных слоях *M. germanica* C_{18:2} и C_{18:3} кислот. Что касается содержания липидов, включающих ЖК с очень длинной цепью (ЖКОДЦ), то их доля снижается с 14,8% на высоте 500 м до 6,2 и 4,4% на 800 и 1200 м соответственно. Известно, что рост ненасыщенности ЖК и длины их цепей вызывает падение текучести мембраны, тем самым обуславливая адаптационный эффект снижения проницаемости мембран [Иванова и др., 2009]. Вероятно, этот механизм позволяет, несмотря на разные

условия на разных высотах произрастания, поддерживать оптимальную проницаемость мембран в клетках околоплодника.

Абсолютное содержание суммарных липидов в покровной и паренхимной зонах околоплодника возрастало с высотой произрастания *M. germanica*. В наружных слоях наблюдается увеличение содержания липидов в 1,4 раза, в то время как в паренхиме данный показатель практически не изменяется (табл. 2).

Таблица 2.

Абсолютное содержание липидов в околоплоднике *M. germanica* с разных высот (микромоль этерифицированных ЖК в расчёте на 1 г сырой массы).

Высота над уровнем моря	500 м	800 м	1200 м
Топографические зоны			
Наружная	7,390	9,920	10,510
Паренхимная	3,805	3,529	4,186

Таким образом, можно заключить, что адаптация плодов *M. germanica* в горных экосистемах происходит как за счет структурных, так и физиолого-биохимических изменений в наружной зоне околоплодника, которая непосредственно контактирует с динамично изменяющимися, зачастую суровыми условиями окружающей среды. Поскольку паренхима плода и генетический материал *M. germanica*, заключенный в её семенах, не подвергаются прямому воздействию специфических, порой неблагоприятных, эколого-климатических факторов, то их качественные и количественные показатели остаются без существенных изменений на всех исследуемых высотах.

Литература

- Жуковский П. М. Культурные растения и их сородичи. – Л.: Колос, 1971. – 750 с.
- Иванова Т.В., Майорова О.В., Орлова Ю.В., Кузнецова Э.И., Халилова Л.А., Мясоедов Н.А., Балнокин Ю.В., Цыдендамбаев В.Д. Ультраструктура и жирнокислотный состав липидов клеток вегетативных органов *Chenopodium album* L. в условиях солевого стресса // Физиология растений. – 2016. – Т. 63, № 6. – С. 783–795.
- Иванова Т.В., Мясоедов Н.А., Пчёлкин В.П., Цыдендамбаев В.Д., Верещагин А.Г. Повышенное содержание жирных кислот с очень длинной цепью в липидах вегетативных органов галофитов // Физиология растений. – 2009. – Т. 56, № 6. – С. 871–878.
- Камелин Р.В. Розоцветные (*Rosaceae*). – Барнаул: АГУ, 2006. – 100 с.
- Буданцев А.Л. (ред). Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Санкт-Петербург, Москва: Товарищество научных изданий КМК, 1989. – Т. 2. – 513 с.
- Сидоров Р. А., Жуков А. В., Верещагин А. Г., Цыдендамбаев В. Д. Низшие алкиловые эфиры жирных кислот из плодов бересклета // Физиология растений. – 2012. – Т. 59, № 3. – С. 362–368.

FEATURES OF *MESPILUS GERMANICA* FRUIT IN CONNECTION WITH THE ADAPTATION TO MOUNTAIN ECOSYSTEMS

T.V. Ivanova¹, A.S. Voronkov^{1,2}, E.I. Kuznetsova¹, T.H. Kumakhova³

¹K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia, *itv_20006@mail.ru*

²Moscow Regional Institution of Higher Education "University for Humanities and Technologies", Orekhovo-Zuyevo, Russia, *voronkov_as@mail.ru*

³Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Russian Timiryazev State Agrarian University", Moscow, Russia, *tkumachova@yandex.ru*

Abstract. We have studied the structural and functional features of *Mespilus germanica* L. fruit which grow in the mountains of North Caucasus at height of 500, 800 and 1200 m above sea level. Our group has identified some physiological and biochemical adapts to environmental conditions in mountains ecosystems with different ecological components.

Keywords: *Mespilus germanica*, fatty acids, condensed polyphenols

ПЛОДЫ *CYDONIA OBLONGA* В УСЛОВИЯХ ВЫСОТНОЙ ПОЯСНОСТИ

Т.В. Иванова¹, А.С. Воронков^{1,2}, Т.Х. Кумахова³, Э.И. Кузнецова¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия, itv_2006@mail.ru

²Государственное образовательное учреждение высшего образования Московской области «Государственный гуманитарно-технологический университет», Орехово-Зуево, Россия, voronkov_as@mail.ru

³Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева», Москва, Россия, tkumachova@yandex.ru

Аннотация. Проведены гистохимические и биохимические исследования плодов *Cydonia oblonga* Mill., произрастающих в предгорной (500 м) и лесогорной (700 м) зонах Северного Кавказа. Обнаружены различия в толщине и характере распределения кутикулы, а также составе жирных кислот суммарных липидов наружных слоев плодов *C. oblonga*. Эти особенности, вероятно, являются одними из основных адаптационных механизмов к условиям высотной поясности.

Ключевые слова: кутикула, жирные кислоты, высотная поясность, *Cydonia oblonga*

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-375-379

В ходе эволюции покрытосеменные растения выработали многочисленные механизмы адаптации к различным факторам окружающей среды, которые обеспечивают их благополучное распространение во многих климатических зонах. К настоящему времени в изучении физиолого-биохимических механизмов адаптации растений к макроэкологическим условиям произрастания достигнут определенный успех. Однако, адаптивные возможности растений к условиям высотной поясности, где наряду с макроклиматическими создаются и специфические микроклиматические условия изучены пока недостаточно. Между тем, эти показатели имеют важное значение при разработке методологических подходов для сохранения биоразнообразия, интродукции и адаптивного сельского хозяйства [Кумахова, 2003].

Айва (*Cydonia oblonga* Mill.) – светолюбивое и жароустойчивое покрытосеменное растение принадлежит роду айва (*Cydonia* Mill.) подсемейства яблоневые (*Maloideae*, или *Pomoideae*) семейства розоцветные (*Rosaceae*). Она обладает высокой экологической пластичностью к условиям произрастания, особенно почвенным, может произрастать на песчаных, аллювиальных, черноземных и других типах почв. Продолжительность жизни айвы порой достигает до 50–60 лет [Камелин, 2006].

В России встречаются дикорастущая и культурная формы айвы. Культурная форма *C. oblonga* находит широкое распространение, как ценное плодовое и декоративное растение в южных регионах, в частности в Кабардино-Балкарии, Ингушетии и Дагестане, а также на побережье Черного моря и в Крыму. Основной район произрастания дикорастущей айвы – Северный Кавказ, южная часть Дагестана (низинные места, ближе к берегам реки Терек, по склонам гор, до 1400 м над уровнем моря) [Жуковский, 1971].

Материалы и методы. Объектом исследования служили образцы зрелых плодов *C. oblonga*, собранные с растений из средней части кроны трех модельных деревьев, произрастающих в предгорной и лесогорной зонах Северного Кавказа (Кабардино-Балкарская республика и Республика Ингушетия, на ~500 и ~700 м над уровнем моря, соответственно).

Микроскопические исследования клеток околоплодника *C. oblonga* проводили на микроскопе AxiImager D1 (Carl Zeiss, Германия) в проходящем свете. Препараты срезов околоплодника изготавливали с помощью микротомы с вибрирующим лезвием (Thermo Scientific, Microm HM 650V), толщина срезов 50 мкм. Срезы обрабатывали Суданом III (для визуализации липофильных компонентов, в частности кутикулы), флороглюцином и HCl (для выявления лигнифицированных клеточных стенок). Микрофотографии получены с помощью камеры Canon A650 IS. Изображения обрабатывали с помощью программы ZEN lite 2012.

Для определения состава жирных кислот (ЖК) липидов наружные (покровные) ткани (эпидерма и гиподерма) и паренхимную часть околоплодника плодов *C. oblonga* фиксировали по отдельности в кипящем изопропиловом спирте (предварительно смыв поверхностные воска хлороформом), содержащем 0,001% ионола. Абсолютное содержание и ЖК-состав суммарных липидов определяли, как описано ранее [Сидоров, 2012]. Идентификацию и определение количественного содержания метиловых эфиров ЖК (МЭЖК) выполняли с помощью ГЖХ-МС на приборе Agilent 7890A GC (США). Для оценки уровня ненасыщенности ЖК в липидах клеток наружной зоны и паренхимной части околоплодника рассчитывали индекс ненасыщенности (ИН). Абсолютное содержание липидов выражали в микромолях этерифицированных ЖК в расчёте на 1 г сырой или сухой массы [Иванова, 2016].

Результаты и обсуждение. На поперечных срезах околоплодника айвы с обеих высот выражены наружная (покровная) «кожистая» зона, представленная плотно прилегающими друг к другу столбчатыми (радиально вытянутыми) клетками эпидермы (1–2 слоя) и тангенциально вытянутыми толстостенными клетками (3–4 слоя) гиподермы (рисунок).

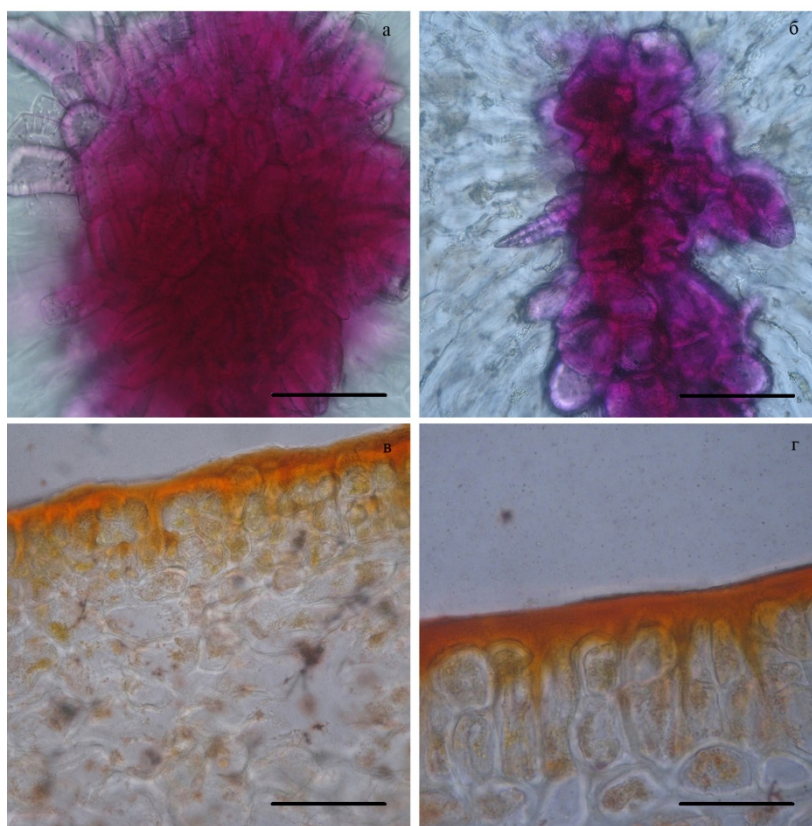


Рисунок. Гистохимическое окрашивание срезов околоплодника *Cydonia oblonga*, произрастающей на разных высотах над уровнем моря (500 м – а, в; 700 м – б, г). а, б – окрашивание флороглюцин+HCl; в, г – окрашивание Судан III. Бар=50 мкм.

Глубже расположена паренхимная (сочная), граничащая с пергаментовидным эндокарпием зона, составленная более крупными рыхло расположенными клетками почти округлой формы (данные не представлены).

Гистохимические исследования образцов *C. oblonga*, взятых с высот 500 и 700 м, выявили в паренхимной части околоплодника айвы многочисленные малиново-красные каменные клетки (склереиды) с сильно одревесневшими стенками (окрашивание флороглюцином с HCl). Зачастую они собираются в комплексы по несколько клеток, формируя крупные скопления – агрегаты размером в несколько миллиметров (рисунок, а, б).

На поперечных срезах околоплодника *C. oblonga* с высоты 500 м (рисунок, в) и 700 м (рисунок, г) окрашивание Суданом III выявило заметные различия в морфологии (характере распространения кутикулы) и общей толщине кутикулы. У плодов с высоты 700 м толщина кутикулы на поверхности эпидермальных клеток превышала аналогичный параметр в образце с высоты 500 м в два с половиной раза (8,70 и 22,58 мкм, соответственно). С увеличением высоты произрастания *C. oblonga* кутикулизация клеток наружного слоя околоплодника распространяется на радиальные и внутренние тангенциальные стенки эпидермальных клеток, а в некоторых случаях даже на оболочки субэпидермальных клеток – до 40 мкм (рисунок, г). Помимо кутикулы, Судан III выявил липофильные компоненты и в клетках околоплодника (рисунок, в, г).

По результатам анализа ЖК-состава, в липидах клеток наружной зоны околоплодника *C. oblonga* с высот 500 и 700 м содержалось 22 и 19 индивидуальных видов C₁₂-C₂₄-ЖК, соответственно, главными из которых были пальмитиновая (C_{16:0}), олеиновая (C_{18:1}) и линолевая (C_{18:2}) кислоты (табл. 1). В паренхимной зоне околоплодника *C. oblonga* с обеих высот было идентифицировано по 17 индивидуальных видов C₁₂-C₂₂-ЖК, главными из которых были C_{16:0}, C_{18:1}, C_{18:2} и α-линоленовая (C_{18:3}) кислоты.

Таблица 1.
Состав ЖК липидов плодов *C. oblonga* на разных высотах (мас. % от суммы МЭЖК)

ЖК	Наружная зона ¹		Паренхимная зона	
	500 м	700 м	500 м	700 м
C _{12:0}	0,4	1,0	0,3	0,4
C _{14:0}	1,2	0,9	1,0	0,9
C _{15:0}	0,4	0,2	0,6	0,5
C _{16:0}	27,4	18,1	24,3	24,5
Δ7-C _{16:1}	0,6	0,3	0,7	0,5
Δ9-C _{16:1}	0,5	0,3	0,2	0,1
Δ9,12-C _{17:2}	0,8	0,4	0,2	0,3
C _{18:0}	4,5	3,0	3,4	2,6
Δ7-C _{18:1}	5,3	1,8	–	–
Δ9-C _{18:1}	11,3	5,4	4,3	4,0
Δ11-C _{18:1}	1,4	1,6	1,6	1,3
Δ9,12-C _{18:2}	41,9	63,0	57,9	60,4
C _{19:0}	0,1	0,2	0,3	0,2
Δ9,12,15-C _{18:3}	1,5	2,1	4,6	3,7
C _{20:0}	0,6	0,5	0,6	0,4
C _{22:0}	0,2	0,2	следы	0,1
ИИ	1,109	1,435	1,368	1,384

¹содержались также Δ11-C_{16:1}, Δ10-C_{17:1}, Δ13-C_{18:1}, и Δ11-C_{20:1} ЖК.

Уровень ненасыщенности ЖК липидов в клетках наружной зоны (эпидерма и гиподерма) в образце с высоты 700 м был выше, чем с высоты 500 м (ИН=1,435 и 1,109, соответственно), в то время как в липидах клеток паренхимной части он был практически одинаковым (ИН=1,384 и 1,368, соответственно).

Содержание липидов в паренхимной части околоплодника *C. oblonga* с изученных высот произрастания различалось незначительно, а клетки наружной зоны плодов, собранных с 500 м содержали на ~30% больше липидов. И в том, и в другом варианте суммарное количество липидов в наружной части плода было выше, чем в паренхиме, в расчете, как на сухой, так и на сырой вес (табл. 2).

Таблица 2.

Абсолютное содержание липидов в околоплоднике *Cydonia oblonga*, произрастающей на разных высотах (микромоль этерифицированных ЖК)

Высота над уровнем моря	500 м	700 м
Топографические зоны околоплодника		
В расчете на 1 г сырой массы		
Наружная зона	7,89	5,45
Паренхимная зона	1,99	1,97
В расчете на 1 г сухой массы		
Наружная зона	30,26	21,06
Паренхимная зона	11,93	12,35

Высотная поясность обуславливает изменение почвенно-климатических условий произрастания растительных организмов. Нами были выявлены некоторые анатомо-физиологические и биохимические особенности плодов айвы, произрастающей на различных высотах, имеющие, вероятно, приспособительный характер к горным условиям произрастания. В частности, плоды *C. oblonga* покрыты мощной кутикулой, которая изолирует глубоко лежащие ткани плода и предохраняет их от потери влаги, тем самым, защищая цитоплазму от сильного обезвоживания, позволяет задерживать и снижать интенсивность солнечной радиации. У плодов *C. oblonga*, собранных на высоте 700 м над уровнем моря, кутикула в 2,5 раза толще и она намного глубже проникает в верхние слои околоплодника, чем у плодов с высоты 500 м. Столь мощная кутикула, покрывающая стенки поверхностных клеток предохраняет плод *C. oblonga* от потери влаги в горах, что свидетельствует об успешной ее приспособленности к условиям высотной поясности.

Литература

- Жуковский П. М. Культурные растения и их сородичи. – Л.: Колос, 1971. – 750 с.
- Иванова Т.В., Майорова О.В., Орлова Ю.В., Кузнецова Э.И., Халилова Л.А., Мясоедов Н.А., Балнокин Ю.В., Цыдендамбаев В.Д. Ультраструктура и жирнокислотный состав липидов клеток вегетативных органов *Chenopodium album* L. в условиях солевого стресса // – Физиология растений. – 2016. – Т. 63, № 6. – С. 783–795.
- Камелин Р. В. Розоцветные (*Rosaceae*). – Барнаул: АГУ, 2006. – 100 с.
- Кумахова Т.Х. Некоторые особенности анатомии плодов *Malus domestica* (*Rosaceae*) в зависимости от высоты культивирования в горах // Ботанический журнал. – 2003. – Т. 88, № 6. – С. 75–84.
- Сидоров Р.А., Жуков А.В., Верещагин А.Г., Цыдендамбаев В.Д. Низшие алкиловые эфиры жирных кислот из плодов бересклета // Физиология растений. – 2012. – Т. 59, № 3. – С. 362–368.

FRUIT OF *CYDONIA OBLONGA* IN CONDITIONS OF ALTITUDE ZONATION

T.V. Ivanova¹, A.S. Voronkov^{1,2}, T.H. Kumakhova³, E.I. Kuznetsova¹

¹K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia, itv_20006@mail.ru

²Moscow Regional Institution of Higher Education " University for Humanities and Technologies", Orekhovo-Zuyevo, Russia, voronkov_as@mail.ru

³Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Russian Timiryazev State Agrarian University", Moscow, Russia, tkumachova@yandex.ru

Abstract. We have done histochemical and biochemical researcher of *Cydonia oblonga* fruit which grow in foothill (500 m) and mountain forests (700 m) of North Caucasus. The differences in the thickness of cuticle and in total lipids fatty acid composition of the outer layers of quince fruit reflect the *C. oblonga* adaptation of the conditions of altitude zonation.

Keywords: *cuticle, fatty acids, altitude zonation, Cydonia oblonga*

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ВЫРАЩИВАНИЯ НА ФОРМИРОВАНИЕ КАЧЕСТВА В ЗЕРНЕ ГОЛОЗЕРНОГО ОВСА

Ю.С. Иванова, М.Н. Фомина

Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Северного Зауралья – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра Тюменского научного центра Сибирского отделения Российской академии наук, пос. Московский, Тюменской области, Россия, *averyasova-uliy@mail.ru*

Аннотация. В условиях лесостепной зоны Тюменской области проведена оценка 213 образцов зерна голозерных сортов овса по основным показателям качества, содержанию белка, жира и крахмала. Установлено влияние метеорологических факторов на формирование биохимических показателей в зерне голозерных сортов овса в различные периоды роста и развития растений. В результате оценки коллекционных образцов выделен новый исходный материал для селекции голозерных сортов овса, которые могут быть использованы в селекции на улучшение качественных показателей зерна голозерных сортов овса.

Ключевые слова: голозерный овес, метеорологических факторы, белок, жир, крахмал

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-380-383

Овес – культура универсального использования и широко используется как на кормовые, так и продовольственные цели. Зерно овса является ценным сырьем для изготовления различных продуктов питания: различных видов круп, толокна, кондитерских изделий, а также муки [Peterson, 2004; Баталова и др., 2008; Комарова и др., 2012]. Особенно ценны в этом отношении голозерные формы, так как они могут быть использованы на пищевые цели без предварительной обработки [Ганичев, 2007]. Кормовые и пищевые достоинства овса определяются наличием в нем таких жизненно важных веществ как белок, жир и крахмал. В зерне распространенных сортов содержится 10-15% белка, 4-6% жира, 40-55% крахмала [Богачков, 1986; Баталова, 2010; Борисова, 2007]. Содержание их в зерне во многом зависит от метеорологических условий года. Большое количество осадков и оптимальная температура воздуха в период налива зерна способствовали хорошему наливу зерна и обеспечивали формирование высоких качественных показателей.

Результаты изучения коллекционных образцов в условиях северной лесостепи Тюменской области в течение четырех лет (2012-2015 гг.) показали максимальное количество белка (среднее по опыту – 20,07%) было отмечено в условиях жесткой засухи (2012 г.), минимальное его содержание (среднее по опыту – 15,20%) было в условиях недостатка тепла и избытка влаги (2014 г.). Содержание жира максимальное (10,34%) было отмечено в условиях 2015 года, минимальное его содержание (3,11%) было в засушливых условиях (2012 г.). Содержание крахмала у изучаемых сортов овса в среднем варьировало от 41,72 (2012 г.) до 62,00 % (2014 г.).

Отмечено влияние метеорологических факторов в период роста и развития растений на формирование в зерне голозерных сортов овса белка, жира и крахмала в различные периоды роста и развития растений. Положительную роль в формировании белка в зерне голозерных сортов овса играли осадки ($r=0,74-0,93$) и сумма эффективных температур периода «всходы-выметывание» ($r=0,78-0,93$), а также сумма эффективных температур за весь период вегетации ($r=0,31-0,52$) и среднесуточная температура воздуха в период «выметывание-восковая спелость» ($r=0,52-0,93$). При формировании жира эффективно использовались осадки первой ($r=0,24-0,86$) и второй половины вегетации ($r=0,48-0,99$). Существенная положительная связь была

установлена также между содержанием жира и гидротермическим коэффициентом в эти межфазные периоды ($r_1=0,46-0,78$; $r_2=0,25-0,85$). Тесная положительная корреляция была отмечена между содержанием крахмала и суммой эффективных температур в период «всходы-выметывание» ($r=0,39-0,81$). Положительную роль в формировании крахмала играли также гидротермический коэффициент (ГТК) периода «выметывание-восковая спелость» ($r=0,76-0,89$) и среднесуточная температура от всходов до восковой спелости ($r=0,68-0,79$).

При оценке влияния продолжительности вегетационного периода на формирование в зерне голозерного овса белка, жира и крахмала была отмечена положительная связь содержания белка с периодом от всходов до восковой спелости ($r=0,26-0,90$). Однако связь продолжительности межфазных периодов с содержанием белка была не так прямолинейна. Положительное влияние первого межфазного периода («всходы-выметывание») на формирование белка ($r=0,84$) было отмечено лишь в засушливых условиях 2012 г., второго («выметывание-восковая спелость») – в условиях холодной влажной погоды 2014 г. ($r=0,82$). Формирование жира в зерне голозерных образцов овса в условиях северной лесостепи Тюменской области было тесно связано с продолжительностью периода «всходы-выметывание» ($r=0,61-0,95$). Удлинение периода «выметывание-восковая спелость» способствовало накоплению сырого жира лишь в благоприятных условиях 2013 г. ($r=0,89$). Удлинение вегетационного периода в целом способствовало существенному накоплению жира только в условиях засухи (2012 г.). Анализ взаимосвязи периодов роста и развития растений с содержанием крахмала показал положительную роль продолжительности второго межфазного периода («выметывание-восковая спелость»). Удлинение периода «всходы-выметывание» и периода вегетации в целом чаще всего отрицательно сказывалось на формировании крахмала в зерне голозерных сортов овса (табл. 1).

Таблица 1.

Влияние продолжительности межфазных периодов и вегетационного периода в целом на формирование белка, жира и крахмала в зерне голозерных образцов овса, Тюмень, 2012 – 2015 гг.

Годы	Коэффициент корреляции ($r \pm S_r$)		
	период «всходы-выметывание»	период «выметывание-восковая спелость»	период «всходы-восковая спелость»
Содержание белка			
2012	0,84±0,06*	-0,85±0,06*	0,90±0,05*
2013	-0,04±0,12	-0,01±0,12	0,84±0,06*
2014	-0,91±0,04*	0,82±0,05*	0,26±0,08*
2015	-0,46±0,11*	-0,33±0,11*	0,32±0,11*
Содержание жира			
2012	0,61±0,08*	-0,19±0,10	0,81±0,06*
2013	-0,07±0,12	0,89±0,05*	0,21±0,12
2014	0,84±0,05*	0,03±0,09	0,04±0,09
2015	0,95±0,04*	-0,37±0,11*	0,07±0,12
Содержание крахмала			
2012	-0,18±0,10	0,21±0,10*	-0,19±0,10
2014	0,32±0,08*	0,34±0,08*	-0,44±0,08*
2015	-0,73±0,08*	-0,21±0,12	0,56±0,10*

*достоверно на уровне 5%.

Многолетняя оценка коллекционных образцов голозерного овса по содержанию в зерне основных биохимических компонентов позволила выделить ряд перспективных форм, которые могут быть использованы в селекции на улучшение качественных

показателей: с высоким содержанием белка (17,69-18,91%) – к-11278, Успех (Ленинградская область); к-15117, Помор (Кемеровская область); к-12563, местный (Норвегия); к-15089, MF 9224-106 (США); к- 2299, POLARD (Канада); к-1926, HULL-LESS (Китай) и другие; с высоким содержанием жира (6,99-7,78%) – к-10765, Тулунский голозерный (Иркутская область); к-15063, Сибирский голозерный (Омская область); к-15117, Помор (Кемеровская область); к-14437, Avoine pueue poise (Франция); к-1984, местный (США); к-1930, Naked (Китай) и другие; с высоким содержанием крахмала (57,92-58,75%) – к-15234, Litovsij nagij (Литва); к-1795, местный (США); к-15225, MF9521-196 (США); к-15227, MF9521-196 (США) и другие.

В результате изучения выделен перспективный исходный материал с высокими биохимическими показателями качества зерна для использования в селекционной практике (табл. 2). В этом плане большой интерес представляют: к-15132 (местный, Франция); к-14944 (местный, Нидерланды); к-2353 (местный, США).

Таблица 2.

Перспективные источники с высокими биохимическими показателями качества зерна. Тюмень, 2012 – 2015 гг.

№ ката- лога ВИР	Сорт	Происхождение	Содержание, %		
			белок	жир	крахма л
14784	Тюменский голозерный	Тюменская область	20,76	5,85	57,47
15132	Местный	Франция	20,12	7,01	58,07
14944	Местный	Нидерланды	18,25	7,53	57,70
2353	Местный	США	21,53	7,33	56,87
2299	Polard	Канада	20,44	6,23	58,21
НСР ₀₅			3,41	0,85	2,25

В условиях лесостепной зоны Тюменской области проведена оценка 213 образцов зерна голозерных сортов овса на продовольственные цели по основным показателям качества, содержание белка, жира и крахмала. Установлено влияние метеорологических факторов на формирование биохимических показателей в зерне голозерных сортов овса в различные периоды роста и развития растений.

Выделены перспективные источники, которые могут быть использованы в селекции на улучшение качественных показателей зерна как голозерных, так и пленчатых сортов овса: к-15132 (Франция); к-14944 (Нидерланды); к-2353 (США) и другие.

Литература

Баталова Г.А., Лисицын Е.М., Русакова И.И. Биология и генетика овса. – Киров: Зональный НИИСХ Северо-Востока, 2008. – 456 с.

Баталова Г.А. Формирования урожая и качества зерна овса // Достижение науки и техники АПК. – 2010. – № 11. – С. 10–13.

Богачков В.И. Овес и Сибири и на Дальнем Востоке. – М., 1986. –126 с.

Борисова Ю.В. Изменчивость некоторых количественных признаков продуктивности у голозерных сортов овса // VI Международная научно-практическая конференция: Наука и инновация агропромышленного комплекса. – Кемерово, 2007. – С. 69–71.

Ганичев Б.Л. Селекция голозерного овса в свете идей Н.И. Вавилова // Генетические ресурсы культурных растений в XXI в.: состояние, проблемы, перспективы : Тезисы докладов II Вавиловской междунар. конференции (Санкт – Петербург, 26-30 ноября 2007 г.). – СПб.: ВИР, 2007. – С. 439

Комарова Г.Н., Сорокина А.В., Овчинников В.П. Влияние метеорологических условий на технологические качества овса в таежной зоне Томской области // Современ. проблемы селекции и семеноводства с.-х. культур : Сиб. науч.-исслед. ин-т растениеводства и селекции. – Новосибирск, 2012. – С. 77–82.

Peterson, D.M. Oat – a multifunctional grain // Proc. 7th International Oat Conference. – MTT Agrifood Research Finland, 2004. – P. 21–26.

INFLUENCE OF GROWTH CONDITIONS ON FORMATION OF QUALITY OF GRAIN HULLLESS OATS

U.S. Ivanova, M.N. Fomina

Scientific Research Institute of Agriculture for Northern Trans-Ural Region– branch of Federal state budgetary institution of science of the Federal research center of the Tyumen scientific center of SB RAS, Tyumen, Russia, *averyasova-ulyiy@mail.ru*

Abstract. In the conditions of the forest-steppe zone of the Tyumen region, 213 samples of grain of holeriferous oat varieties were evaluated for the main quality indicators, protein, fat and starch content. The influence of meteorological factors on the formation of biochemical indicators in the grain of holeriferous oat varieties in different periods of plant growth and development is established. As a result of the evaluation of collection samples, a new source material for the selection of holeriferous oat varieties has been identified, which can be used in breeding to improve the quality parameters of grain of holeriferous oat varieties.

Keywords: *holographic oats, meteorological factors, protein, fat, starch*

ВЛИЯНИЕ КРАТКОВРЕМЕННЫХ ПЕРИОДИЧЕСКИХ ПОНИЖЕНИЙ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ПУТИ ДЫХАНИЯ ТЕПЛОЛЮБИВЫХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ

Е.Н. Икконен¹, О.И. Грабельных², Е.Г. Шерудило¹, Т.Г. Шибалева¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Россия, likkonen@gmail.com

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, grolga@sifibr.irk.ru

Аннотация. Изучали влияние кратковременных понижений температуры (ДРОП) на активность путей дыхания растений огурца, томата и перца. Показано, что действия ДРОП могут вызывать изменения в энергетическом метаболизме митохондрий, затрагивающие активность цитохромного (ЦП) и альтернативного (АП) путей дыхания. При этом АП в большей степени, чем ЦП зависит от изменений температуры, что может отражать преобладающий вклад ЦП в формирование устойчивости дыхания теплолюбивых видов к действию низкой температуры.

Ключевые слова: пути дыхания, температура, теплолюбивые растения

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-384-388

В растительных митохондриях различают два пути транспорта электронов с пула убихинона – цитохромный (ЦП), заканчивающийся на цитохром *c* оксидазе, и альтернативный (АП), связанный с активностью альтернативной цианид-резистентной оксидазы. Гипотермия вызывает преобразования в дыхательном метаболизме растительных клеток [Головко, 1999], которые могут сопровождаться изменением активности и доли путей дыхания, при этом степень активизации путей дыхания зависит от длительности и напряженности температурного фактора [Гармаш, Головко, 2011]. У растений, длительное время растущих в низкотемпературных условиях, отмечено повышение интенсивности митохондриального дыхания [Gorsuch et al., 2010], что может быть связано со стимулированием АП дыхания [Грабельных и др., 2011]. Кратковременные ежесуточные понижения температуры (ДРОП-воздействия, от англ. *drop* – падение) также могут усиливать интенсивность дыхания теплолюбивых видов растений [Икконен и др., 2018], однако не ясно, за счет активизации какого из путей дыхания происходит данное усиление. Задачей исследования являлась оценка влияния ДРОП-воздействий на активность, соотношение и температурную зависимость ЦП и АП дыхания на примере трех теплолюбивых видов (огурец, томат и сладкий перец).

Растения огурца (*Cucumis sativus* L., гибрид Кураж F1), томата (*Solanum lycopersicum* L., гибрид Верлиока F1) и сладкого перца (*Capsicum annuum* L., с. Нежность) выращивали при температуре воздуха 23/20°C день/ночь, 300 мкмоль/(м² с) ФАР, фотопериоде 16 ч. Растения, начиная с возраста 7-ми суток, ежедневно в течение 13 суток переносили в конце темного периода на 2 ч в камеру с температурой 12°C (вариант ДРОП12), 8°C (ДРОП8), 4°C (ДРОП4) или 1°C (ДРОП1). Также часть растений огурца в возрасте 14 суток была перенесена на 6 суток в камеру с температурой 12°C (НТ). Интенсивность дыхания определяли полярографически с использованием электрода Кларка (Oxygraph System Plus, Hansatech, UK). Интенсивность поглощения кислорода растительным материалом в буферном растворе 100 мМ НЕРЕС (рН 7.5), не содержащем ингибитора альтернативного пути дыхания (30 мМ салицилгидроксамовой кислоты, SHAM), была принята за общее дыхание (V_t), а в буферном растворе, содержащем SHAM – за совместное цитохромное и остаточное

дыхание (V_{cyt}). Остаточное, немитохондриальное дыхание, как правило, не превышает 10% от общего [Garmash et al., 2015] и не является температурозависимым [Atkin et al., 2002], поэтому предполагаем, что изменения параметра V_{cyt} в результате низкотемпературных воздействиях, использованных в данной работе, отражают в основном реакцию ЦП, а не остаточного дыхания, которое в данной работе игнорировали. Различия в скоростях поглощения кислорода из буфера, не содержащего и содержащего SHAM, рассчитывали как скорость АП дыхания (V_{alt}). Долю АП в общем дыхании листьев растений определяли как V_{alt}/V_t . С целью исследования температурной зависимости общего, ЦП и АП дыхания измерения проводили при температуре буферного раствора 15°, 25° и 35°C. Температурную чувствительность дыхания выражали посредством величины Q_{10} , показывающей во сколько раз изменяется скорость процесса при изменении температуры на 10°C.

Таблица 1.

Доля альтернативного пути в общем дыхании листьев огурца, томата и перца, не подвергавшихся (Контроль) и подвергавшихся кратковременному (2 ч) ежедневному понижению температуры до 12°C (ДРОП12), 8°C (ДРОП8), 4°C (ДРОП4), 1°C (ДРОП1) или продолжительному действию низкой температуры (НТ)

	Контроль	ДРОП12	ДРОП8	ДРОП4	ДРОП1	НТ
Огурец 15°C	0.33	0.31	0.26	0.25	0.30	0.24
25°C	0.38	0.35	0.38	0.50	0.22	0.19
35°C	0.63	0.57	0.56	0.46	0.30	ns
Томат 25°C	0.28	0.15	0.32	0.27	–	–
Перец 25°C	0.26	0.34	0.34	0.31	–	–

Примечание: ns означает отсутствие достоверности различий средних значений дыхания без и с ингибитором SHAM при уровне значимости $P < 0.05$ и, следовательно, отсутствие потока электронов по альтернативному пути транспорта; – означает отсутствие данных.

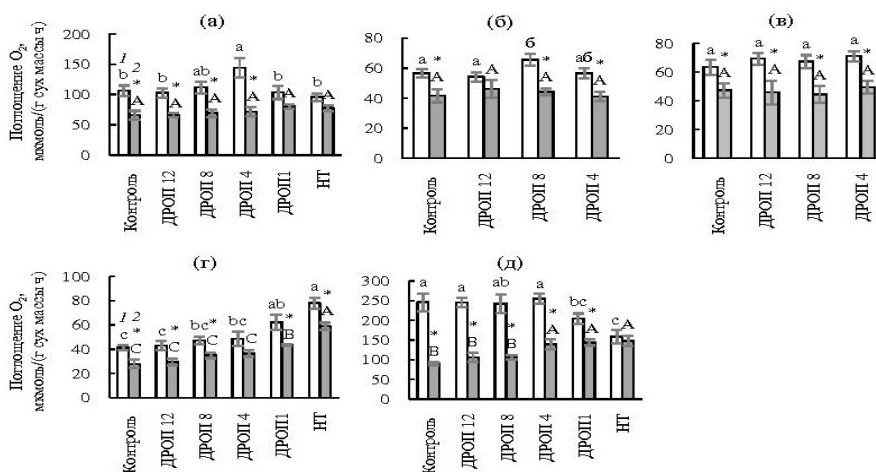


Рисунок. Темновое дыхание листьев огурца (а, г, д), томата (б) и перца (в) без ингибитора (1) и с ингибитором (2) альтернативного пути дыхания (SHAM), не подвергавшихся (Контроль) и подвергавшихся кратковременному (2 ч) ежедневному (13 суток) понижению температуры до 12°C (ДРОП12), 8°C (ДРОП8), 4°C (ДРОП4) и 1°C (ДРОП1) и продолжительному (6 суток) действию низкой (12°C) температуры (НТ). Измерения выполнены при температуре листа 15°C (г), 25°C (а, б, в) и 35°C (д). В пределах каждого параметра разные буквы указывают на достоверность различий средних значений при уровне значимости $P < 0.05$. * означает достоверность различий средних значений дыхания без ингибирования и с ингибированием SHAM альтернативного пути дыхания для каждого варианта опыта отдельно.

При температуре измерения 25°C действие ДРОП на растения не повлияло на $V_{\text{сут}}$ листьев независимо от вида растений, но могло вызывать повышение V_t (рис.) за счет усиления потока электронов по АП с увеличением доли данного пути в общем дыхании (табл. 1). Влияние низкой температуры разной интенсивности на дыхание и соотношение путей дыхания в листьях огурца проявлялось в большей степени при температурах, отличных от оптимальной. При температуре измерения 15°C величина V_t последовательно возрастала в ряду ДРОП12–ДРОП8–ДРОП4–ДРОП1–НТ, достигая в варианте НТ превышения контрольных значений на 90% (рис. г). При этом чувствительность дыхания растений данного ряда к ингибитору SHAM изменялась незначительно, и усиление общего дыхания осуществлялось за счет повышения скорости $V_{\text{сут}}$. При 15°C растения вариантов ДРОП12, ДРОП8 и ДРОП4 демонстрировали только тенденцию к увеличению $V_{\text{сут}}$, но в листьях вариантов ДРОП1 и НТ данные значения превышали контрольные в 1.5 и 2 раза, соответственно. С повышением температуры измерения до 35°C чувствительность дыхания листьев огурца к ингибитору SHAM существенно возрастала (рис. д), то есть возрастала доля АП в общем дыхании (табл. 1). Однако в высокотемпературных условиях доля АП снижалась у растений, подвергавшихся ранее действию низкой температуры, причем степень данного снижения была прямо пропорциональна напряженности низкотемпературного фактора (табл. 1). В отличие от продолжительного действия низкой температуры, в результате которого температурная чувствительность (Q_{10}) ЦП и АП существенно снижалась, ДРОП-воздействия мало повлияли на отклик путей дыхания на изменение температуры (табл. 2). Величина Q_{10} была выше у АП, чем ЦП дыхания независимо от температуры ДРОП за исключением варианта снижения температуры до 1°C.

Таблица 2.

Величина Q_{10} общего, ЦП и АП дыхания листьев огурца, не подвергавшихся (Контроль) и подвергавшихся кратковременному (2 ч) ежесуточному (13 суток) понижению температуры до 12°C (ДРОП12), 8°C (ДРОП8), 4°C (ДРОП4), 1°C (ДРОП1) или продолжительному (6 суток) действию низкой (12°C) температуры (НТ)

	Контроль	ДРОП12	ДРОП8	ДРОП4	ДРОП1	НТ
Общее дыхание	2.1	2.0	1.9	2.0	1.4	0.8
ЦП + ост.	1.4	1.5	1.3	1.6	1.4	1.0
АП	2.8	2.7	2.8	2.7	1.3	ns

Примечание: ns сообщает об отсутствии достоверности различий средних значений дыхания без и с ингибитором SHAM при уровне значимости $P < 0.05$, что означает отсутствие потока электронов по альтернативному пути транспорта.

Результаты показали, что у теплолюбивых видов растений даже при оптимальных условиях роста наряду с ЦП дыхания функционирует АП, который, возможно, используется как быстрый механизм защиты от понижений температуры и для поддержания внутриклеточного тепла. Кратковременные периодические понижения температуры вызывали изменения в энергетическом метаболизме митохондрий, которые затрагивали активность как цитохромного, так и альтернативного путей транспорта электронов в ЭТЦ. Непродолжительные и незначительные понижения температуры могли стимулировать активизацию АП у теплолюбивых видов растений, но повышение напряженности или длительности низкотемпературного воздействия ингибировало активность альтернативной оксидазы и снижало долю АП в общем дыхании. Стимуляция ЦП дыхания у листьев огурца действиями ДРОП проявлялась в основном при температурах, отличных от оптимальной. При низкой температуре растения, подвергавшиеся действию ДРОП, усиливали дыхание за счет повышения

митохондриального транспорта электронов по ЦП. При высоких температурах активизация ЦП у листьев, испытывавших ранее ДРОП-воздействия, компенсировалась снижением активности АП без изменения интенсивности общего дыхания. У растений, подвергавшихся кратковременным понижениям температуры до значений, близких к нулю, или испытывавших длительное действие низкой температуры, при высокой температуре общее дыхание снижалось из-за частичного или даже полного прекращения потока электронов по АП, несмотря на повышение активности ЦП. Результаты данной работы выявили различие в отклике АП и ЦП дыхания у теплолюбивых видов растений на изменение температуры, что может влиять на смещение их соотношения в общем дыхании и играть важную роль в формировании температурной чувствительности дыхания, а, следовательно, и устойчивости процесса к действию низкой температуры. Альтернативный окислительный путь, как было определено, в большей степени, чем цитохромный зависит от изменений температуры, что может отражать преобладающий вклад ЦП в формирование устойчивости дыхания теплолюбивых видов к действию низкой температуры. Таким образом, у теплолюбивых видов растений АП играет важную роль в дыхательном метаболизме клетки и, вероятно, участвует в ее быстрой защите при изменении условий, однако основным механизмом повышения устойчивости дыхания к температурному стрессу, видимо, является ЦП.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (0221-2017-0051) и частично за счет РФФИ (14-04-00840а). Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр РАН».

Литература

Гармаш Е. В., Головки Т. К. Влияние скорости роста ячменя, выращиваемого при разных температурах и обеспеченности минеральным питанием, на активность альтернативного пути дыхания растений // Физиология и биохимия культурных растений. – 2011. – Т. 43, № 2. – С. 113–121.

Головки Т. К. Дыхание растений. Физиологические аспекты. – С-Пб.: Наука, 1999. – 229 с.

Грабельных О. И., Побежимова Т. П., Корзун А. М., Возненко С. А., Королева Н. А., Павловская Н. С., Боровик О. А., Войников В. К. Участие цианид-резистентного дыхания в термогенерации и антиокислительной защите клетки в проростках озимой пшеницы при холодом воздействии // Journal of Stress Physiology & Biochemistry. – 2011. – V. 7, N. 4. – P. 447–456.

Икконен Е. Н., Шибалева Т. Г., Титов А. Ф. Влияние кратковременных ежесуточных понижений температуры на соотношение дыхания и фотосинтеза у теплолюбивых растений // Физиология растений. – 2018. – Т. 65, № 1. – С. 45–51.

Atkin O. K., Zhang Q., Wiskich J. T. Effect of temperature on rates of alternative and cytochrome pathway respiration and their relationship with the redox poise of the quinone pool // Plant Physiol. – 2002. – V. 128. – P. 212–222.

Garmash E. V., Grabelnych O. I., Velegzhaniniv I. O., Borovik O. A., Dalke I. V., Voinikov V. K., Golovko T. K. Light regulation of mitochondrial alternative oxidase pathway during greening of etiolated wheat seedlings // Journal of Plant Physiology. – 2015. – V. 174. – P. 75–84.

Gorsuch P. A., Pandey S., Atkin O. K. Temporal heterogeneity of cold acclimation phenotypes in *Arabidopsis* leaves // Plant Cell Environ. – 2010. – V. 33. – P. 244–258.

EFFECT OF A SHORT-TERM DAILY TEMPERATURE DROP ON THE PATHWAYS OF RESPIRATION IN CHILLING SENSITIVE PLANTS

E.N. Ikkonen¹, O.I. Grabelnykh², E.G. Sherudilo¹, T.G. Shibaeva¹

¹Institute of Biology, Karelian Research Center of RAS, Petrozavodsk, Russia,
likkonen@gmail.com

²Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, Siberian Branch of RAS,
Irkutsk, Russia, *grolga@sifibr.irk.ru*

Abstract. The effect of a short-term daily temperature drop (DROP) on the activity of the respiratory pathways in cucumber, tomato and sweet pepper plants has been studied. It is shown that DROP treatments may cause changes in the energy metabolism of mitochondria, affecting the activity of cytochrome (CP) and alternative (AP) respiratory pathways. The AP depends on temperature changes stronger than the CP, which may reflect the predominant contribution of the CP to the resistance of the respiration to low temperature in chilling-sensitive plant.

Keywords: *respiratory pathways, temperature, chilling-sensitive plants*

ОЦЕНКА ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО ОТКЛИКА *ALLIUM SEPA* L. НА СОДЕРЖАНИЕ ШУНГИТА В ПОЧВЕ

Е.Н. Икконен, В.А. Сидорова, Т.Г. Шибаета, М.Г. Юркевич

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Россия, likkonen@gmail.com

Аннотация. На примере *Allium sepa* L. исследовали физиологическое состояние растений при произрастании их на почвах, содержащих уникальную горную породу – шунгит. Показано, что количество шунгита в почве в большей степени, чем его дисперсность влияет на многие физиологические параметры растений. Как отклик на содержание шунгита в почве у растений может увеличиться доля корней в общей биомассе, количество листьев, ассимиляции углерода и эффективность использования света и воды на фотосинтез.

Ключевые слова: шунгитовые почвы, биомасса, фотосинтез

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-389-391

Под названием «шунгит» объединяются обычные для Карелии протерозойские сланцы, содержащие варьирующее количество слабо оструктуренного графитообразного углерода. Шунгитовые породы, широко распространенные в Карелии, являются уникальными образованиями ввиду особенности структуры входящего в их состав углерода и структуры самих пород. Почвы, сформировавшиеся на шунгитах и используемые в Карелии для нужд сельского хозяйства, отличаются повышенным плодородием, но однозначных объяснений данному явлению пока нет. Предполагается, что благоприятное воздействие содержания шунгита в почве на растения возможно из-за их более высокой теплоаккумулирующей способности и, соответственно, более благоприятному тепловому режиму почв [Борисов, 1956]. Также предполагается, что повышенное содержание микроэлементов, в частности, меди, цинка, кобальта, молибдена может способствовать повышению плодородия почв на шунгитовых породах [Тойкка и др., 1969]. Поскольку влияние шунгита на физиологическое состояние растений не изучено, а работы, посвященные исследованию влияния содержания шунгита в почве на рост, развитие и продуктивность растений единичны [Тимейко, Кузнецова, 2010, 2016; Тимейко и др., 2017], целью данной работы ставилось выявление особенностей реакции растений, на примере лука репчатого (*Allium sepa* L.), на присутствие в почве шунгитовой крошки.

Результаты показали, что наличие шунгитовой крошки в дерново-подзолистой суглинистой почве в пропорции 10 и 20 г на кг почвы ингибировало рост в длину первых трех листьев растений независимо от дисперсности шунгита (диаметр крошки 0.5 мм или 2–4 мм). По мере роста растений длина последующих листьев опытных вариантов выравнивалась с контролем и даже превышала таковую у контрольных растений, выращенных в почве без шунгита. Содержание шунгита в почве способствовало повышению количества листьев у лука. Независимо от дисперсности частиц наличие шунгита в почве, особенно в концентрации 20 г/кг, существенно снижало скорости накопления растениями сухой надземной биомассы, но слабо отражалось на накоплении биомассы корневой системой растений, что влияло на распределение биомассы по органам. Так, при содержании 10 и 20 г шунгита в 1 кг почвы доля корней повышалась соответственно на 32 и 20%. Следует отметить, что у растений лука корневая система развита слабо, поэтому он является культурой, требовательной к влаге и хорошо реагирующей на орошение. Формирование у опытных растений более мощной корневой системы, способной лучше справляться с периодами низкой влагообеспеченности, приводящей к деформации лукович, главным

образом их удлинению, может быть рассмотрено как положительный эффект содержания в почве шунгита.

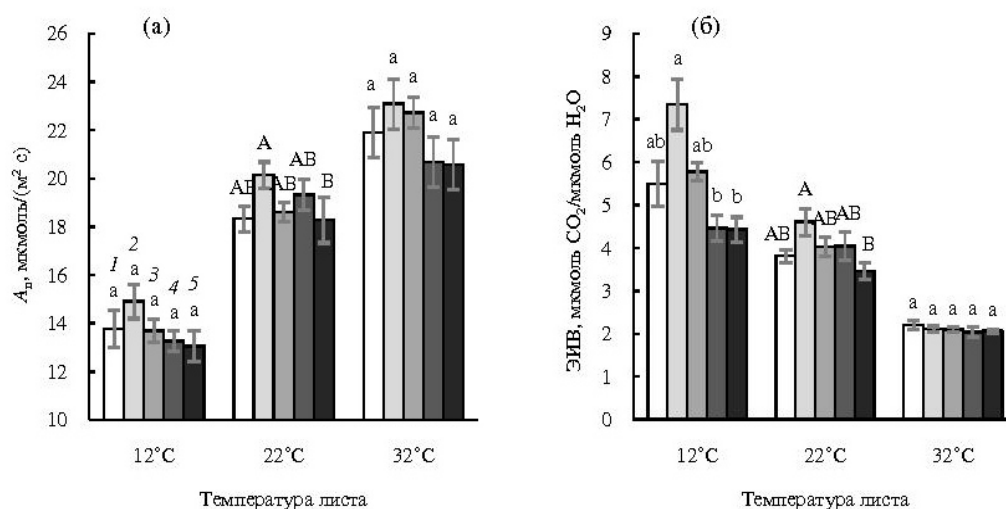


Рисунок. Видимый фотосинтез (A_n , а) и эффективность использования воды (ЭИВ, б) в листьях лука при выращивании в дерново-подзолистой суглинистой почве с шунгитовой крошкой в концентрации 0 г/кг почвы (1), 10 г/кг, фракция 0.5 мм (2), 10 г/кг, фракция 2–4 мм (3), 20 г/кг, фракция 0.5 мм (4), 20 г/кг, фракция 2–4 мм (5).

В пределах каждого параметра измерения различные буквы указывают на достоверность различий средних значений при уровне значимости $P < 0.05$.

Наличие в почве шунгитовой крошки повлияло на фотосинтетический аппарат растений лука. Содержание хлорофилла в листьях лука снизилось под воздействием исследуемой породы незначительно при ее концентрации 10 г/кг, но значительно (до 10%) при содержании шунгита 20 г/кг почвы. Уменьшение величины потенциального квантового выхода фотохимической активности ФС II в листьях лука, выращенных в почве с повышенным содержанием шунгита (20 г/кг) свидетельствует об определенных нарушениях в ее работе. Величина видимого квантового выхода фотосинтеза, отражающая эффективность использования световой энергии в темновых реакциях фотосинтеза, возросла на 10% в варианте с мелкодисперсным шунгитом при его концентрации 10 г/кг и снижалась при 20 г/кг. Уменьшение величины видимого квантового выхода фотосинтеза могло быть обусловлено изменениями в пигментном комплексе растений, выращиваемых в почве с шунгитом и/или уменьшением размера или количества антенн в светособирающем комплексе. Понижение эффективности использования световой энергии у растений могло быть связано с защитными реакциями растений на избыточное содержание исследуемой породы в почве, которое, возможно, повлияло на снижение скоростей биохимических реакций в листьях лука, что в свою очередь могло вызывать дисбаланс между поглощением световой энергии и ее использованием в метаболизме. Содержание шунгитовой породы в почве слабо отразилось на видимом фотосинтезе растений лука независимо от температуры измерения (рис. а). Незначительное (до 10%) увеличение скорости фотосинтеза зафиксировано при наличии частиц породы диаметром 0.5 мм в объеме 10 г/кг почвы. Наличие в почве шунгитовой крошки не вызывало значимых изменений параметров транспирации и устьичной проводимости листьев лука, однако эффективность использования воды на фотосинтез (ЭИВ) возросла при росте растений в почве с мелкодисперсным шунгитом при его содержании 10 г/кг почвы, особенно при действии

на растения низкой температуры (рис. б). В наших опытах растения, выращиваемые при данной концентрации шунгита в почве, помимо повышенной ЭИВ имели более высокие значения доли биомассы корней по сравнению с контрольными растениями. Этот результат согласуется с утверждением, что развитие корневой системы часто ассоциируется с увеличением ЭИВ [Bacon, 2004]. Можно предположить, что повышение доли корней и фотосинтетической способности растений данного варианта обуславливали рост эффективности использования воды на фотосинтез на уровне листа.

На примере растений лука репчатого показано, что наличие шунгита в почве в изученных концентрациях ингибирует ростовые процессы и накопление биомассы на начальных этапах роста растения, причем степень ингибирования зависит в основном от количества породы в почве, а не от ее дисперсности. Выращивание лука в почве, содержащей шунгит, повлияло на распределение биомассы по органам, увеличив долю корней, и повысило количество листьев, что может способствовать росту урожайности. Как отклик на содержание шунгита в почве у растений лука может происходить усиление ассимиляции углерода на единицу площади листа, увеличение эффективности использования света и воды на фотосинтез.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (0221-2017-0047и 0221-2017-0051). Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук».

Литература

Борисов П.А. Карельские шунгиты. Петрозаводск: Госиздат Карело-Финской ССР, – 1956. – 92 с.

Тимейко Л.В., Кузнецова Л.А. Использование отходов переработки минерала шунгит в картофелеводстве Карелии // Наука на рубеже столетий. – 2010. – № 9. – С. 59-60.

Тимейко Л.В., Кузнецова Л.А. Эффективность добавления в среду Мурасиге-Скуга измельченного шунгита при выращивании микрорастений картофеля // Вестн.защиты растений. – 2016. – № 3. – С. 164-165.

Тимейко Л.В., Кузнецова Л.А. Голубева О.А. К вопросу использования шунгитов в сельскохозяйственном производстве // Черноземы центральной России: Генезис, Эволюция и Проблемы рационального использования. – 2017. – С. 233–237.

Тойка М.А., Левкина Т.И., Перевозчикова Е.М. Содержание микроэлементов в почвах Карелии и применение микроудобрений. – Петрозаводск: Карелия, 1969. – 60 с.

Bacon M. Water Use Efficiency in Plant Biology. In Bacon M (ed) Water Use Efficiency in Plant Biology. Oxford, Blackwell Publishing Ltd. – 2004. – P. 1-26.

EVALUATION OF THE PHYSIOLOGICAL RESPONSE OF *ALLIUM CEPA* L. ON SHUNGITE IN THE SOIL

E.N. Ikkonen, V.A. Sidorova, T.G. Shibaeva, M.G. Yurkevich

Institute of Biology, Karelian Research Center of RAS, Petrozavodsk, Russia,
likkonen@gmail.com

Abstract. The physiological state of *Allium cepa* plants grown on soil containing a unique rock - shungite was studied. It is shown that the content of shungite in the soil has stronger effect on plants than its dispersion. Among plant responses to shungite in the soil there were recorded higher root weight ratio, greater number of leaves, higher rate of carbon assimilation, and the efficiency of the light and water use for photosynthesis can increase.

Keywords: *shungite soils, biomass, photosynthesis*

ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ БОБОВОГО РАСТЕНИЯ С РАЗЛИЧНЫМИ ШТАММАМИ КЛУБЕНЬКОВЫХ И ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ НА УРОВНЕ ОТДЕЛЬНЫХ КОМПОНЕНТОВ КАЛЬЦИЕВОЙ И NO-СИНТАЗНОЙ СИГНАЛЬНЫХ СИСТЕМ

А.А. Ищенко, А.К. Глянько

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской Академии наук, Иркутск, Россия, aspt25@yandex.ru

Аннотация. Изучали начальные этапы взаимодействия бобового растения с симбиотическими и патогенными бактериями с целью сравнения активности отдельных компонентов кальциевой и NO-синтазной сигнальных систем.

Ключевые слова. Симбиоз, кальций, активные формы азота

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-392-396

В биологии накоплен большой объем информации о симбиотической фиксации атмосферного азота с различных научных позиций: физиологических, биохимических, генетических, морфологических, агрономических и других [Проворов, Воробьев, 2012]. Однако существуют невыясненные вопросы, требующие своего разрешения. К ним можно отнести: устойчивость бобового растения к проникновению ризобий и участие врожденных иммунных систем растения в процессах инфекции и азотфиксации; роль ризобиальных Nod-факторов (NF) в подавлении защитных систем растения-хозяина [Глянько, Ищенко, 2017]. Растения, как и животные, воспринимают приходящие из окружающей среды сигналы различной природы и с помощью генетического аппарата реагируют на них. Бактериальный NF-сигналинг тесно взаимодействует с растительными сигнальными системами: кальциевой, NO-синтазной, НАДФН-оксидазной [Глянько, Ищенко, 2017]. Экспрессия симбиотических ядерных генов растения-хозяина осуществляется с участием указанных сигнальных систем и их компонентов (АФК, АФА, Ca^{2+}). Доказано, что система кальциевых осцилляций – высоко консервативная часть симбиотического сигнального пути, которая определяет роль кальция в генетическом влиянии на формирование бобово-ризобиального симбиоза (БРС) [Granqvist et al., 2015]. В свою очередь вход ионов Ca^{2+} в цитоплазму оказывает влияние на генерацию активных форм азота (АФА), которые функционируют как многоцелевой регулятор различных механизмов симбиотического процесса [Nichi et al., 2015]. Однако роль АФА в процессах формирования и функционирования БРС одна из наименее изученных сторон. При изучении этого вопроса основное внимание уделяется NO-молекуле, обладающей широким спектром биологического действия [Meilhoc et al., 2011]. Оксид азота (NO) обнаруживается уже в первые часы после взаимодействия ризобий и бобового растения в инфекционных нитях, тканях клубеньковой меристемы, в азотфиксирующих клубеньках [Vaudouin et al., 2006; Meilhoc et al., 2011]. Есть данные, что NO может участвовать в регуляции образования клубеньков на корнях бобовых [Herouart et al., 2002], но высокие концентрации NO препятствуют инфицированию растений ризобиями и микоризой [Meuer et al., 2005]. NO взаимодействует с другими биологическими молекулами, например, фитогормонами и АФК [Колупаев, Карпец, 2009; Nichri et al., 2015].

В данной работе в краткосрочных опытах с этиолированными проростками гороха изучали влияние активатора (300 мкМ амиадорон) и ингибитора (400 мкМ $LaCl_3$) кальциевых каналов на временную динамику (в течение 60 мин, с интервалом в 10 мин) генерации оксида азота (NO) в норме (экспозиция на воде) и на фоне действия

биотических факторов инокуляция клубеньковыми (штаммы *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* 245a и 248б) и патогенными (*Pseudomonas syringae* pv. *pisii*) бактериями.

Объект исследований – корни двухсуточных этиолированных проростков гороха (30-40 мм) сорта Ямальский. Содержание NO в тканях корня определяли с использованием флуоресцентного зонда 4,5-диаминофлуоресцеин-диацетата (DAF-2DA).

В результате проведенных экспериментов были получены следующие результаты. В нормальных условиях наблюдались колебания в уровне NO (рис. 1а), которые проявлялись в виде увеличения уровня NO через 10, 30 и 50 мин и снижения его через 20, 40 и 60 мин. Активатор кальциевых каналов – амиадорон (АМД) при добавлении его в среду инкубации вызывал увеличение интенсивности флуоресценции оксида азота по сравнению с контрольным вариантом на протяжении всего эксперимента. Кроме того, также следует отметить отсутствие характерных для нормальных условий флуктуаций в уровне оксида азота (рис. 1а). Ингибитор кальциевых каналов снижал уровень интенсивности флуоресценции оксида азота по сравнению с контролем на протяжении всего эксперимента (рис. 1б). Кроме того, также следует отметить, что на фоне хлорида лантана мы не наблюдали характерных для нормальных условий флуктуаций в уровне NO.

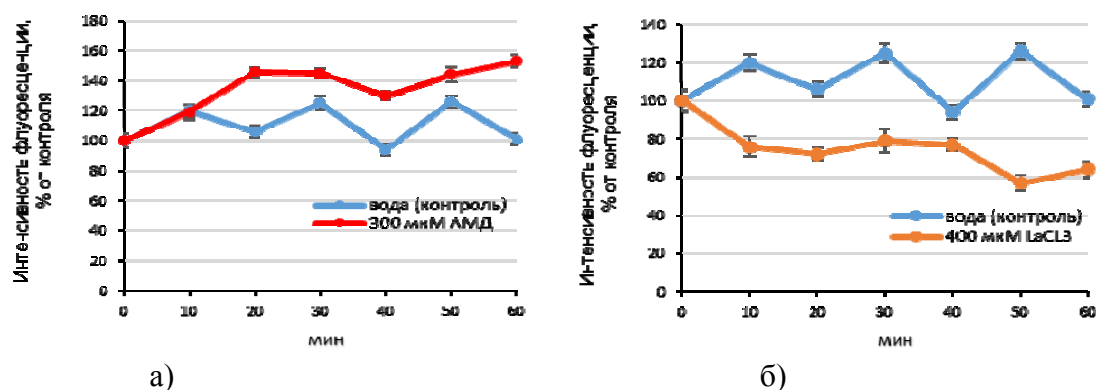


Рис. 1. Влияние активатора (а) и ингибитора (б) кальциевых каналов на динамику интенсивности флуоресценции оксида азота в корнях этиолированных проростков гороха на фоне воды.

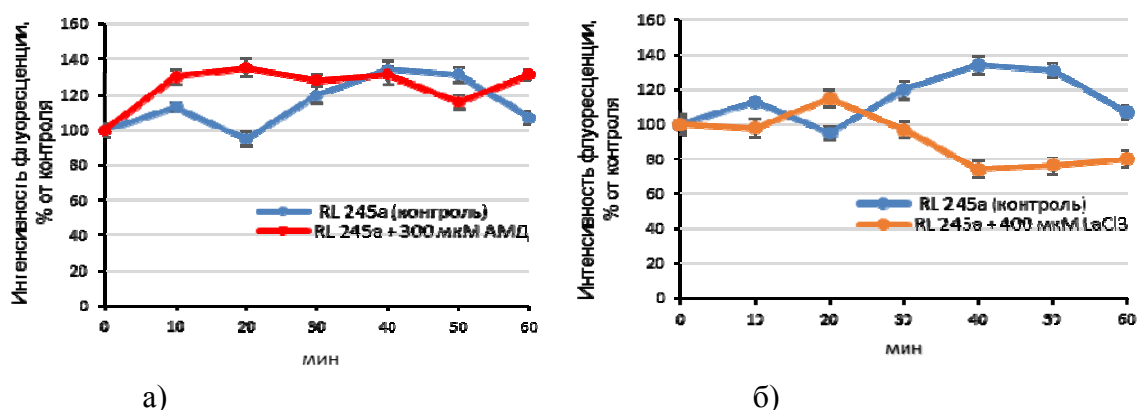


Рис. 2. Влияние активатора (а) и ингибитора (б) кальциевых каналов на динамику интенсивности флуоресценции оксида азота в корнях этиолированных проростков гороха на фоне взаимодействия с эффективным производственным штаммом клубеньковых бактерий.

На фоне действия эффективного штамма клубеньковых бактерий активатор кальциевых каналов нивелировал интенсивность флуоресценции NO по сравнению с контрольным вариантом. При этом уровень NO был выше или достоверно не отличался от контрольного (рис. 2а). При добавлении хлорида лантана в среду инкубации с клубеньковыми бактериями наблюдалось прямо противоположное, по сравнению с контролем, изменение динамики уровня флуоресценции NO. Т.е., так же, как и в контроле можно выделить два этапа изменения уровня оксида азота, но только в данном случае следует отметить тенденцию к снижению уровня NO (рис. 2б).

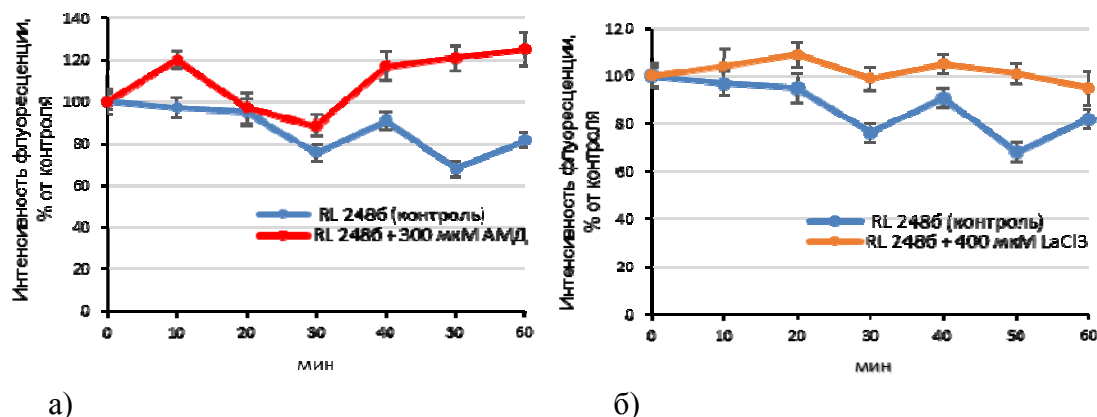


Рис. 3. Влияние активатора (а) и ингибитора (б) кальциевых каналов на динамику интенсивности флуоресценции оксида азота в корнях этиолированных проростков гороха на фоне взаимодействия с неэффективным производственным штаммом клубеньковых бактерий.

При добавлении амиадорона в среду инкубации с неэффективным штаммом ризобий интенсивность флуоресценции NO в корнях проростков гороха в целом была выше контрольной. Но в отличие от предыдущих вариантов можно выделить два временных отрезка, в которых происходило увеличение интенсивности флуоресценции оксида азота, а именно 0 – 30 и 30 – 60 мин (рис. 3а). Затем такой же эксперимент мы провели с неэффективным производственным штаммом ризобий. В результате была получена следующая динамика уровня NO (рис. 3б). В данном варианте при ингибировании кальциевых каналов уровень оксида азота оставался на постоянном уровне и достоверно не изменялся в течение эксперимента.

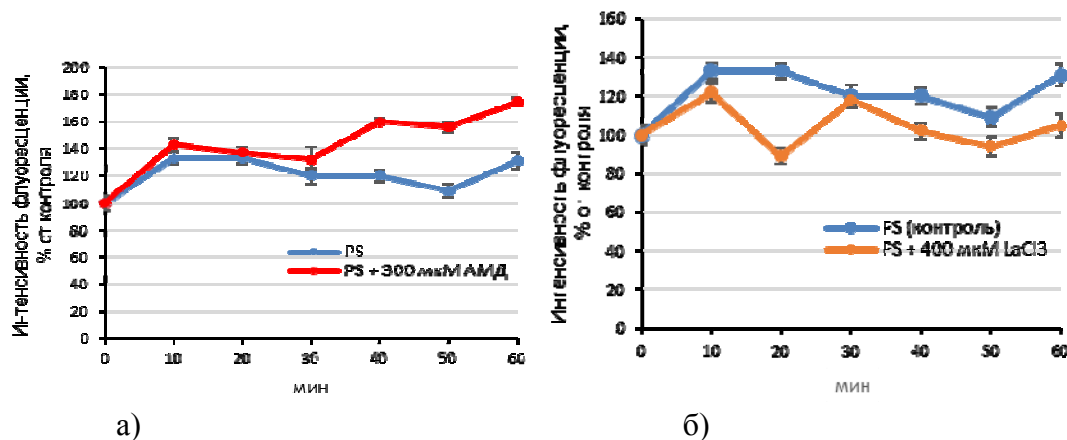


Рис. 4. Влияние активатора (а) и ингибитора (б) кальциевых каналов на динамику интенсивности флуоресценции оксида азота в корнях этиолированных проростков гороха на фоне взаимодействия с патогенными бактериями *Pseudomonas syringae* pv. *psis*.

При действии амиадорона на фоне патогенных бактерий уровень интенсивности

флуоресценции оксида азота в корнях проростков гороха (как и в двух первых вариантах) был выше контрольного и имел тенденцию к увеличению на протяжении всего эксперимента (рис. 4а). При добавлении хлорида лантана в среду инкубации с патогеном, также как и во всех предыдущих вариантах, в которых действие биотического фактора вызывало увеличение уровня NO, мы наблюдали тенденцию к его снижению при ингибировании кальциевых каналов (рис. 4б).

Таким образом, подводя итог проделанной работы, можно выявить следующие закономерности.

1. Биотические факторы по-разному влияют на динамику уровня оксида азота в корнях этиолированных проростков гороха, что может использоваться, как своеобразный код для передачи сигнала о природе действующего фактора.

2. Выше описанные процессы, по-видимому, зависят от активности кальциевых каналов, и, соответственно, уровня кальция, т.к. ингибирование последних без инокуляции вызывает снижение, а активация – увеличение уровня интенсивности флуоресценции оксида азота в корнях проростков гороха. Следует отметить отсутствие выраженных флуктуаций в уровне NO на фоне действия как $LaCl_3$, так и амиадорона.

3. Тенденция к снижению уровня NO также наблюдается при действии биотических факторов. В связи с этим можно предположить, что подобный механизм используют ризобии не эффективного производственного штамма, отличающиеся более агрессивной способностью колонизировать корневую систему растения-хозяина, о чем может свидетельствовать отсутствие реакции на ингибитор кальциевых каналов.

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (молодежный грант №18-34-00221\18 мол_а).

Литература

Глянько А.К., Ищенко А.А. Иммуитет бобового растения, инфицированного клубеньковыми бактериями // Прикладная биохимия и микробиология. – 2017. – Т. 53. – С. 136–145.

Глянько А.К. Фитогормоны и клубенькообразование у бобовых растений // Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2015. – Вип. 3 (36). – С. 6–19.

Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В. Участие оксида азота (NO) в трансдукции сигналов абиотических стрессоров у растений // Вестник ХНАУ. Серия Биология. – 2009. – Вып. 3 (18). – С. 6–19.

Проворов Н.А., Воробьев Н.И. Генетические основы эволюции растительно-микробного симбиоза. – СПб: Информ-Навигатор, 2012. – 400 с

Baudouin E., Pieuchot L., Engler G., Pauly N., Puppo A. Nitric oxide is formed in *Medicago truncatula* –*Sinorhizobium meliloti* functional nodules // Mol. Plant-Microbe Interac. – 2006. – V. 19. – P. 970–975.

Granqvist E., Sun J., den Camp R. O., Pujic P., Hill L., Normand P., Morris R.J., Downie J.A., Geurts R., Oldroyd G.E.D. Bacterial-induced calcium oscillations are common to nitrogen-fixing associations of nodulating legumes and non-legumes // New Phytol. – 2015. – V. 207. – P. 551–558.

Hichri I., Bosscari A., Castella C., Rovere M., Puppo A., Brouquisse R. Nitric oxide: a multifaceted regulator of the nitrogen-fixing symbiosis // J. Exp. Bot. – 2015. – V. 66. – P. 2877–2887.

Herouart D., Baudouin E., Frenco P., Harrison J., Santos R., Jamet A., Van de Sype G., Touati D., Puppo A. Reactive oxygen species, nitric oxide and glutathione: key role in the establishment of the legume-Rhizobium symbiosis // Plant Physiol. Biochem. – 2002. – V. 40. – P. 619–624.

Meilhoc E., Boscan A., Bruand C., Puppo A., Brouquisse R. Nitric oxide in legume-rhizobium symbiosis // Plant Science. – 2011. – V. 181. – P. 573–581.

PECULIARITIES OF INTERACTION OF THE FOREST PLANT WITH VARIOUS STAMMS OF CLUB AND PATHOGENIC BACTERIA AT THE LEVEL OF SEPARATE COMPONENTS OF CALCIUM AND NO-SYNTATIC SIGNAL SYSTEMS

A.A. Ishchenko, A.K. Glyanco

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia, *aspt25@yandex.ru*

Abstract. The initial stages of interaction between a legume plant and symbiotic and pathogenic bacteria were studied in order to compare the activity of individual components of the calcium and NO synthase signaling systems.

Keywords: *Symbiosis, pathogenesis, calcium, active forms of nitrogen*

ОПТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЛИСТЬЕВ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ И ОТЗЫВЧИВОСТИ НА ВНЕСЕНИЕ АЗОТНЫХ УДОБРЕНИЙ

Е.В. Канаш, Г.В. Мирская, Д.В. Русаков, Ю.В. Чесноков

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Агрофизический научно-исследовательский институт», Санкт-Петербург, Россия, ykanash@yandex.ru

Аннотация. Методом неинвазивной спектроскопии определены оптические показатели, характеризующие активность фотосинтетического аппарата, и изучена их связь с зерновой продуктивностью яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) при двух уровнях азотного питания. Обнаружено, что изученные показатели могут быть надежными критериями при фенотипировании на эффективность использования азота и отзывчивость на его внесение, а также могут быть использованы при оценке взаимодействия генотип-среда.

Ключевые слова: пшеница, фенотипирование, оптические характеристики, азот

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-397-401

Фенотипирование хозяйственно-ценных признаков, таких как продуктивность, качество урожая и толерантность к действию биотических и абиотических стрессоров, является трудоемкой и технически сложной задачей, поскольку требует испытания во многих условиях среды в течение нескольких сезонов и существенных материальных затрат. Современные методы фенотипирования, такие как методы неинвазивной визуализации, контактной или дистанционной спектроскопии, анализа изображений и высокопроизводительных вычислений, обладают высокой пропускной способностью, а их применение не приводит к разрушению или уничтожению растений. Хотя связь характеризующих активность фотосинтетического аппарата индексов отражения с другими физиологическими признаками и обсуждается в ряде публикаций [Graef et al. 2001; Kanash et al., 2013; Yakushev et al., 2017], сведения об их использовании для высокоскоростного фенотипирования и выявления перспективных генотипов с желательными хозяйственно-ценными признаками практически отсутствуют.

В этой связи, целью настоящей работы была оценка неинвазивными контактными и дистанционными методами физиологических показателей, определяющих активность фотосинтетического аппарата яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), и выявление признаков, связанных с высокой эффективностью использования азота и отзывчивостью на внесение азотных удобрений.

Объектом исследования служили рекомбинантные инбредные линии картирующей популяции ITMI (International Triticeae Mapping Initiative) яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) [Чесноков и др. 2018].

Выращивание и оценка растений выполнена в контролируемых условиях биополигона ФГБНУ «Агрофизический научно-исследовательский институт». При культивировании растений основные параметры жизнеобеспечения были постоянными: температура - 25-26°C - день/ 20-21°C - ночь, фотопериод - 16 часов, облученность на уровне верхних листьев - 50±0.5 Вт/м² ФАР. Растения выращивали в вегетационных сосудах объемом 2 л (по 2 растения в каждом). Повторность для каждой линии и каждой родительской формы – 2-кратная.

В качестве корнеобитаемой среды использовали дерново-подзолистую легко суглинистую почву. Опыт включал два варианта, отличающихся по уровню азотного питания: вариант 1 – азотные удобрения во время вегетации растений не вносили, вариант 2 – выполнена 2-кратная подкормка мочевиной перед посевом и в фазу онтогенеза «выход в трубку» до измерения оптических характеристик растений. Всего

в два приема при удобрении было внесено 0,321 мг мочевины на кг почвы. На протяжении всего периода вегетации растений влажность почвы поддерживали равной 70-80% от полной влагоемкости при ежедневном поливе водой.

Спектральные характеристики диффузного отражения листьев и площадь листовой ассимилирующей поверхности определяли на стадии «выход в трубку». Спектры отраженной радиации регистрировали *in situ* с помощью оптоволоконной спектрометрической системы фирмы Ocean Optics (США), с шагом 0,3 нм в диапазоне от 400 до 1100 нм. В среднем у каждой линии регистрировали не менее 15 спектров. Записанные спектры в цифровой форме переносили в программу Excel 2013, где рассчитывали средние значения коэффициентов отражения для каждой длины волны и индексы отражения, характеризующие активность фотосинтетического аппарата. Расчетные формулы индексов отражения (хлорофилла – ChlRI, отношения суммы каротиноидов к сумме хлорофиллов – SIPI, фотохимической активности – PRI, антоцианов – ARI, флавонолов – FRI, показателя рассеяния света, зависящего от структуры листа – R_{800}) и их связь с физиологическим статусом растений приведены в работах [Kanash et al., 2013; Yakushev et al., 2017].

Для определения площади листовой ассимилирующей поверхности (ALAS) с помощью цифровой камеры Canon G7X получали фотографии листьев на эталонной пластине белого цвета с известной площадью. По полученным цифровым изображениям в программе Photoshop CS4 Portable определяли долю экранируемой листьями поверхности эталонной пластины от площади данной пластины и в дальнейшем переводили полученную величину в см².

Для классификации изучаемых линий пшеницы по эффективности использования и отзывчивости на внесение азота применена система, согласно которой сорта в зависимости от реакции на наличие действующего вещества делили на 4 группы: (1) эффективные, отзывчивые (быстро реагирующие); (2) неэффективные, отзывчивые; (3) эффективные, не отзывчивые; (4) не эффективные, не отзывчивые [Gerloff, 1977]. Эффективный сорт (в нашем случае – линия) дает более высокий урожай, чем другие сорта (линии) при низком уровне питания, тогда как сорт (линия) отзывчивый более продуктивен при высоком уровне питания. В конце вегетации определяли зерновую продуктивность (число семян с колоса – NSeNr и массу 1000 семян – TGW).

Анализ оптических характеристик и продуктивности линий пшеницы популяции ITMI показал их существенное разнообразие. Площадь листовой ассимилирующей поверхности выше средней-очень высокая (4-6 баллов), обнаружена у 3% линий в варианте без внесения дополнительного азота и у 42% линий при внесении азотных удобрений. У линий с ALAS 4-6 баллов содержание хлорофилла также зависело от обеспеченности растений азотом. В варианте 1 у 46% линий величина ChlRI превышала средние значения по популяции ITMI, в то время как в варианте 2 - у 86% линий индекс хлорофилла был существенно выше средних значений (4-6 баллов). Внесение азота сопровождалось уменьшением SIPI у растений большего числа линий, что вероятно связано с увеличением содержания хлорофилла. После внесения азота доля линий, у которых величина SIPI была ниже средней по популяции, достигла 86%, что на 23% больше, чем в варианте 1, где растения азотом не удобряли. Внесение азота сопровождалось также увеличением доли линий, которые характеризовались низкими значениями PRI, что свидетельствует о снижении тепловой диссипации. На распределение линий по величине показателя R_{800} внесение удобрений не оказало достоверного влияния. Средние значения всех изученных показателей, кроме R_{800} и TGW, в вариантах 1 и 2 достоверно отличались ($p > 0.05$). По результатам дисперсионного анализа сила влияния (η^2) азотной подкормки, выполненной на стадии «выход в трубку», на NSeNr была равна 23% ($p \leq 0.0001$). Размер зерен (TGW) не

зависел от уровня азотного питания. Наибольший положительных эффект ($\eta^2=32\%$, $p \leq 0.0001$) от азотной подкормки наблюдали при сравнении ALAS 1 и 2 вариантов. Сила факторного влияния на другие оптические показатели, характеризующие активность фотосинтетического аппарата, была равна 21-23% ($p \leq 0.0001$).

В варианте 1, когда растения выращивали при более низком уровне азота, чем в варианте 2, не выявлено достоверной взаимосвязи между числом семян в колосе главного побега, массой 1000 семян и всеми индексами отражения, которые были использованы в этой работе. Однако обнаружено, что число семян, сформированных в колосе главного побега, и их абсолютная масса тесно связаны с площадью листовой ассимилирующей поверхности, которая была сформирована к началу стадии «выход в трубку». В варианте 2 статистически значимая взаимосвязь между спектральными характеристиками диффузного отражения листьев, измеренными на стадии «выход в трубку», и массой 1000 семян отсутствовала. Однако была обнаружена достоверная корреляционная связь между числом семян, сформированных в колосе главного побега, индексами отражения и площадью листьев.

Линии пшеницы популяции ITMI были разделены на 4 группы, отличающиеся по реакции на уровень азотного питания. В таблице 1 приведены значения некоторых показателей для растений 4 групп пшеницы, отличающиеся по эффективности использования азота и отзывчивости на его внесение. У эффективных по использованию азота линий содержание хлорофилла (ChlRI), площадь листовой ассимилирующей поверхности (ALAS) и число зерен в колосе (NSeNp) имеют наибольшую величину. Диапазоны значений изучаемых показателей в варианте 1 (без дополнительного внесения азота) у эффективных и неэффективных линий существенно различались. Растения отзывчивых линий в ответ на дополнительное внесение азота (вариант 2) на 50-140% увеличивали число семян в колосе главного побега, тогда как неотзывчивых - лишь на 15-36%. ALAS у растений отзывчивых линий на стадии «выход в трубку» была на 60-255% больше, чем в варианте 1, тогда как у неотзывчивых линий возрастала лишь на 12-25%. Такая же закономерность характерна и для содержания хлорофилла в листьях: высокие значения индекса хлорофилла эффективных линий после выполнения азотных подкормок увеличивались на 7-63%.

Таблица

Оптические характеристики и продуктивность линий пшеницы популяции ITMI в зависимости от эффективности использования азота и отзывчивости на его внесение

Показатель*	Диапазон варьирования величины измеряемого показателя							
	Эффективные, отзывчивые		Эффективные, не отзывчивые		Не эффективные, отзывчивые		Не эффективные, не отзывчивые	
	Вар. 1	Вар.2	Вар. 1	Вар.2	Вар. 1	Вар.2	Вар. 1	Вар.2
NSeNp	27-36	37-58	26-35	30-40	10-20	32-40	12-17	17-21
ALAS	205-345	350-532	210-230	210-284	76-158	305-525	97-116	103-161
ChlRI	0,55-0,67	0,60-0,69	0,54-0,67	0,55-0,67	0,27-0,37	0,52-0,57	0,27-0,38	0,37-0,44

*- NSeNp – число зерен в колосе главного побега, шт; ALAS – площадь листовой ассимилирующей поверхности, см²; ChlRI – индекс хлорофилла, отн.ед. Вар.1 – удобрения не вносили, Вар.2 – выполнена 2-кратная подкормка мочевиной перед посевом и в начале стадии «выход в трубку».

Растения линий пшеницы картирующей популяции ITMI существенно отличались как по продуктивности, так и по оптическим характеристикам листьев и площади листовой ассимилирующей поверхности, сформированной к началу стадии «выход в трубку». Обнаружена статистически достоверная корреляционная связь между числом семян в колосе главного побега и измеряемыми контактно или дистанционно

характеристиками листьев. Все использованные в данной работе индексы отражения листьев были апробированы нами ранее [Kanash et al., 2013; Yakushev et al., 2017] при оценке ответной реакции растений на действие стрессовых факторов среды (УФ-В радиации, почвенной засухи, дефицита азотного питания) и показали свою хорошую разрешающую способность в случаях, когда необходимо выявить угнетенные растения, оценить необходимость и возможность оптимизации условий их выращивания и устранения последствий действия стрессоров. В данной работе показатели активности фотосинтетического аппарата (площадь листовой ассимилирующей поверхности – ALAS и индекс хлорофилла – ChlRI), измеренные в период перехода растений от вегетативного к генеративному развитию (стадия «выход в трубку»), были использованы для выявления в изучаемой популяции яровой пшеницы линий, отличающихся высокой эффективностью использования азота, и линий, отзывчивых на внесение азотных удобрений. Разделение популяции на такие же классы по числу семян, сформированных в колосе главного побега, показало хорошее совпадение результатов, свидетельствуя, что оптические характеристики растений могут быть надежными критериями при фенотипировании на эффективность использования азота, проводимому на ранних этапах онтогенеза. Также с большой вероятностью можно предположить, что они могут применяться при анализе эффективности использования других элементов питания, оценке взаимодействия генотип-среда и фенотипировании растений на толерантность к действию различных абиотических и биотических факторов среды.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ 16-04-00311а.

Литература

Чесноков Ю. В., Мирская Г. В., Канаш Е. В., Кочерина Н. В., Русаков Д. В., Ловассер У., Бёрнер А. Идентификация и картирование QTL у яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) в контролируемых условиях агроэкобиополигона в отсутствие и при внесении азотного удобрения // Физиология растений. – 2018. – Т. 65, № 1. – С. 80–93.

Graeff S., Steffens D., Schubert S. Use of reflectance measurements for the early detection of N, P, Mg, and Fe deficiencies in *Zea mays* L. // Journal of Plant Nutrition and Soil Science. – 2001. – V. 164. – P. 445–450.

Gerloff S. Plant efficiencies in the use of N, P and K // In: Plant adaptation to mineral stress in problem soils. Wright, MJ. (Ed.). - Cornell University Press: New York, 1977. – P. 161–174.

Kanash E.V., Panova G.G., Blokhina S.Yu. Optical criteria for assessment of efficiency and adaptogenic characteristics of biologically active preparations // Acta Horticulturae. – 2013. – V. 1009. – P. 37-44.

Yakushev V., Kanash E., Rusakov D., Blokhina S. Specific and non-specific changes in optical characteristics of spring wheat leaves under nitrogen and water deficiency // Advances in Animal Biosciences: Precision Agriculture (ECPA 2017). – 2017. – V. 8, No. 2. – P 229–232.

OPTICAL CHARACTERISTICS OF SPRING WHEAT LEAVES DEPENDING ON NITROGEN USE EFFICIENCY AND RESPONSIVENESS TO FERTILIZER APPLICATION

E.V. Kanash, G.V. Mirskaya, D.V. Rusakov, Yu.V. Chesnokov

Research Institute of Agrophysics, St. Petersburg, Russia, *ykanash@yandex.ru*

Abstract. Non-invasive spectroscopy was used to determine optical indices associated with activity of photosynthetic apparatus and to study their relation to grain productivity of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) at two levels of nitrogen nutrition. It was found that the studied parameters can be reliable criteria for phenotyping on nitrogen use efficiency and responsiveness to its application, and can also be used in assessing genotype-environment interactions.

Keywords: *wheat, phenotyping, optical characteristics, nitrogen*

ЭНДОГЕННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ФОТОСИНТЕЗА ЛИСТЬЕВ ХЛОПЧАТНИКА ПРИ КОРНЕВОЙ ГИПОКСИИ

И.С. Каспарова¹, З.Б. Давлятназарова¹, К. Алиев¹, Б.Х. Расулов²

¹Институт ботаники, физиологии и генетики растений Академии наук Республики Таджикистан, Душанбе, *lab.gen@mail.ru*

²Институт молекулярной биологии Тартуского университета, Тарту, Эстония

Аннотация. Показано, что регуляция скорости углекислотного газообмена листьев хлопчатника при затоплении корневой зоны происходило за счет изменения акцептирующей способности куста. При этом иницирующая роль в цепи событий при затоплении корневой системы, несомненно, принадлежит ростовым процессам. Наблюдаемые изменения скорости видимого фотосинтеза сопровождались изменением проводимости устьиц CO_2 -поток. Основной причиной уменьшения скорости фотосинтеза является снижение эффективности реакции карбоксилирования в условиях корневого анаэробноза, вследствие изменения концентрации активных центров карбоксилазы, связанных с РБФ.

Ключевые слова: хлопчатник, гипоксия, фотосинтез, карбоксилирование

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-402-405

При воздействии неблагоприятных факторов среды, в том числе нарушениях газового режима в зоне корневой системы изменяется обеспеченность корней ассимилятами и снижается интенсивность фотосинтеза, что в конечном итоге ведет к снижению продуктивности сельскохозяйственных растений. Хлопчатник относится к орошаемым культурам, и нарушение режимов полива может привести к переувлажнению почвы в зоне корней.

Было изучено влияние гипоксии, как следствия затопления корневой зоны растений. Объектом исследования служили растения хлопчатника *Gossypium hirsutum* L. (сорт 108-Ф), выращенные в вегетационных сосудах при естественном освещении с использованием метода песчаной гидропоники.

Как видно из приведенных на рис. 1 данных, затопление корневой зоны уже в первый день приводило к снижению на 22% величины видимого фотосинтеза.

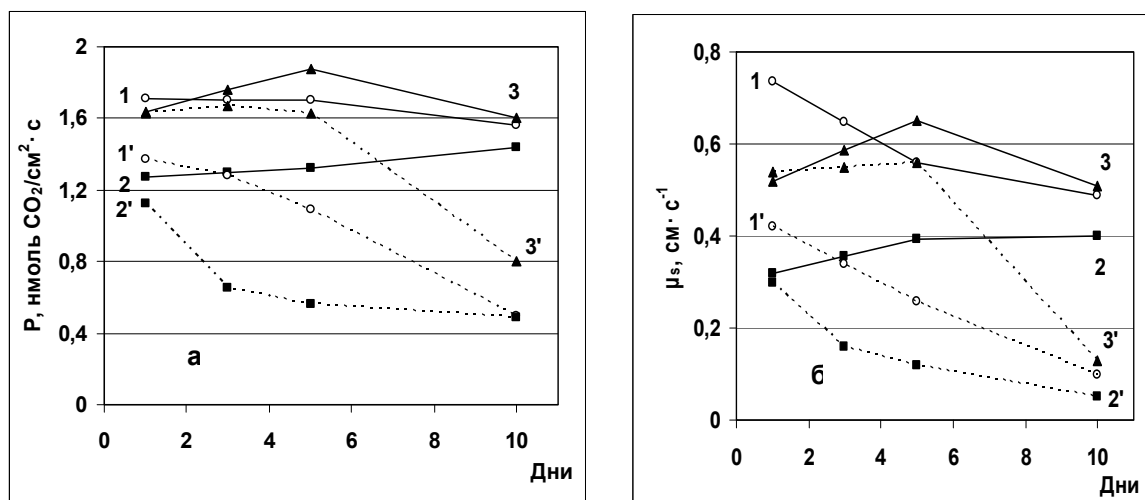


Рис. 1. Влияние затопления корневой системы на углекислотный газообмен (а) и проводимость устьиц CO_2 -поток (б) листьев хлопчатника сорта 108-Ф. Фаза начало плодоношения. 1 – контроль, 2 – удаление точек роста и плодозементов, 3 – частичная дефолиация, 1' – контроль+затопление, 2' - удаление точек роста и плодозементов+затопление, 3' - частичная дефолиация+затопление.

Увеличение продолжительности затопления корневой зоны до 5-ти дней приводит к снижению скорости видимого фотосинтеза у контрольных растений на 40% по отношению к листьям растений с нормальной аэрацией.

Уменьшение скорости CO_2 -газообмена в условиях корневого анаэробноза могло происходить как за счет снижения устьичной проводимости, так и в результате падения фотосинтетической способности клеток мезофилла, а также за счет усиления процессов декарбоксилирования. Реализация этих механизмов могла осуществляться путём непосредственного влияния некоторых факторов, поступающих из затопленной корневой системы, так и опосредованного – через изменение целостной системы растения.

По полученным нами данным (рис. 1 б), наблюдаемые изменения скорости видимого фотосинтеза сопровождались изменением проводимости устьиц CO_2 -поток. Закрывание устьиц могло быть вызвано рядом факторов: повышением содержания АБК и крахмала в листьях в ответ на корневой анаэробноз, развитием водного дефицита в листе в ответ на затопление корневой системы. Однако, по имеющимся в литературе данным, обработка листьев экзогенным АБК вызывала закрывание устьиц и снижение углекислотного газообмена, но при этом не вызывала снижения функциональной активности клеток мезофилла.

На снижение функциональной способности фотосинтезирующих клеток мезофилла указывают полученные нами данные (рис. 2 а) о влиянии корневого анаэробноза на скорость реакции карбоксилирования ($F_{\text{ист.}}$). Уменьшение скорости реакции карбоксилирования в наших экспериментах не являлось следствием увеличения относительной доли фотодыхания в фотосинтетическом газообмене листа.

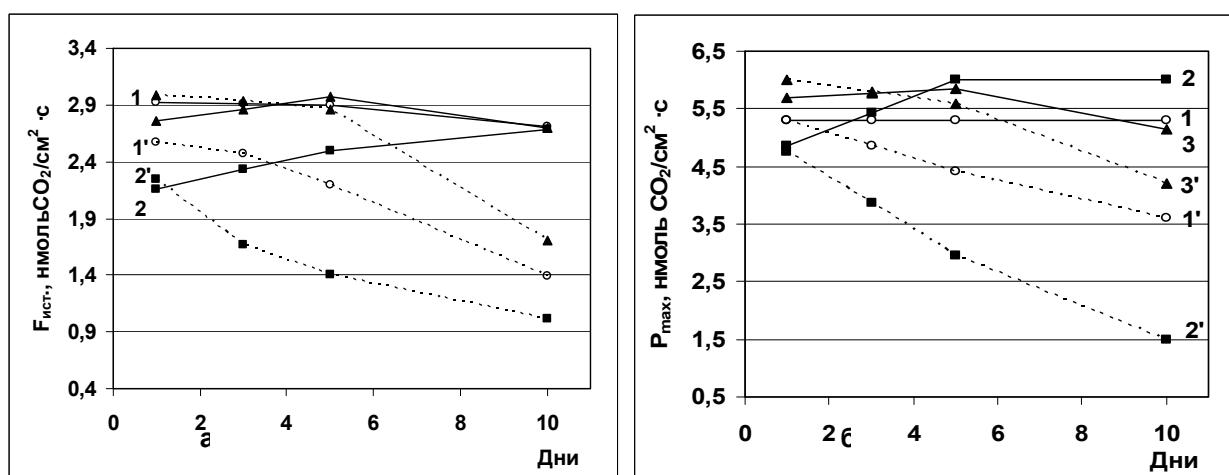


Рис. 2. Влияние затопления корневой системы на истинный фотосинтез (а) и CO_2 -насыщенный фотосинтез (б) листьев хлопчатника сорта 108-Ф. Фаза начало плодоношения. Обозначения те же, что на рис. 1.

Выявленное отсутствие существенных изменений внутриклеточной концентрации CO_2 и приведенные на рис. 3 данные о зависимости проводимости мезофилла от фонда «ассимиляционного заряда» дает основание предположить, что наиболее вероятной причиной изменения эффективности реакции карбоксилирования в условиях корневого анаэробноза явилось изменение концентрации активных центров карбоксилазы, связанных с РБФ. Это могло быть обусловлено уменьшением количества РБФКО в хлоропластах, либо наличием ингибитора, оказывающего влияние на количество активных центров фермента.

Другой причиной наблюдаемого изменения (μ_{ml}) могло быть изменение фонда РБФ, ресинтез которого в условиях корневого затопления мог быть обусловлен изменением синтеза АТФ.

Результаты измерения CO_2 -насыщенного фотосинтеза приведены на рис. 2 б. Учитывая, что изменения P_{\max} определяются процессами ресинтеза РБФ, в которых ключевую роль занимает концентрация энергетического метаболита – АТФ, можно предположить, что регуляция CO_2 -насыщенного фотосинтеза в условиях затопления осуществляется посредством изменения синтеза АТФ.

Для выяснения роли донорно-акцепторных отношений в регуляции CO_2 -газообмена листьев при затоплении корневой системы нами были проведены опыты по искусственному разбалансу донорно-акцепторных отношений в системе целого растения путем удаления части листьев (дефолиация) или потребляющих ассимиляты органов (точки роста, бутоны, цветки, плодоземеленты).

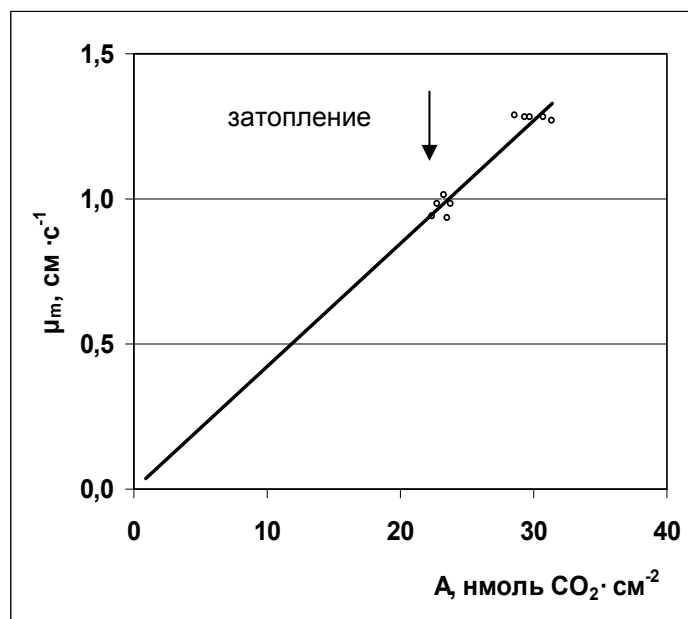


Рис. 3. Зависимость проводимости мезофилла (μ_m) от ассимиляционного заряда (А) при адаптации растений хлопчатника к затоплению корневой системы.

Анализ данных (рис. 1, 2) показал, что характер изменения результирующего газообмена и определяющих его параметров существенно зависел от нагрузки на фотосинтетический аппарат. CO_2 -газообмен листьев контрольных растений, подвергнутых затоплению, был близок к значениям, наблюдаемым у листьев незатопленных растений, но с искусственно уменьшенной нагрузкой на фотосинтетический аппарат (рис. 1, кривые 1', 2). В то же время корневой анаэробизм не вызвал существенных изменений скорости видимого фотосинтеза у растений с усиленной нагрузкой на фотосинтетический аппарат (частичная дефолиация). При этом CO_2 -газообмен листьев контрольных растений совпадал со значениями, наблюдаемыми у листьев дефолированных растений, но подвергнутых затоплению (рис. 1, кривые 1, 3').

То есть, усиление ростовой функции растений (частичная дефолиация) по крайней мере, в течение 5-ти дней воздействия нивелировало действие корневого анаэробизма.

Увеличение продолжительности эксперимента до 10-ти дней привело к снижению интенсивности видимого фотосинтеза в варианте с затоплением корневой зоны и сглаживанию различий между растениями, отличающимися по нагрузке на фотосинтетический аппарат, как в варианте нормальной аэрации, так и в варианте с затопленной корневой системой.

На основании полученных данных можно предположить, что регуляция скорости углекислотного газообмена листьев хлопчатника при затоплении корневой зоны

происходила за счет изменения акцептирующей способности куста. При этом иницирующая роль в цепи событий при затоплении корневой системы, несомненно, принадлежит ростовым процессам.

Одной из причин угнетения ростовой функции при затоплении корневой системы может служить снижение экспорта цитокининов из корневой системы, что является следствием нарушения метаболических процессов в корневой зоне при затоплении, связанного не только с дефицитом молекулярного кислорода, в результате чего ассимиляты не могут быть вовлечены в нормальный аэробный метаболизм, но и нарушением транспорта ассимилятов к корням быстрым истощением запасов органических веществ в клетках корня, некомпенсируемым притоком ассимилятов из надземной части. Таким образом, снижение ростовой функции и уменьшение аттрагирующей способности целого растения хлопчатника в условиях затопления корневой системы привело к накоплению избыточного фонда ассимилятов в листьях, уменьшению скорости регенерации РБФ, снижению количества активных центров фермента и снижению скорости углекислотного газообмена листа.

ENDOGENOUS REGULATION OF PHOTOSYNTHESIS OF COTTON LEAVES IN ROOT HYPOXIA

I.S. Kasparova¹, Z.B. Davlyatnazarova¹, K. Aliev¹, B.Kh. Rasulov²

¹Institute of botany, plant physiology and genetics of Academy Science of the Republic of Tajikistan, Dushanbe, Tajikistan, *lab.gen.@mail.ru*

²Institute of Molecular Biology, University of Tartu, Tartu, Estonia

Abstract. It is shown that the regulation of the rate of carbon dioxide gas exchange of cotton leaves during flooding of the root zone was due to a change in the accepting capacity of the bush. In this case, the initiating role in the flooding of the root system belongs to the growth processes. The observed changes in the rate of visible photosynthesis were accompanied by a change in the conductance of the stomata by the CO₂ flux. The main reason for the decrease in the rate of photosynthesis is a decrease in the efficiency of carboxylation under the conditions of root anaerobiosis due to a change in the concentration of active carboxylase centers associated with RBP.

Keywords: *cotton, hypoxia, photosynthesis, carboxylation*

РЕГУЛЯЦИЯ РАЗВИТИЯ СИМБИОТИЧЕСКИХ СТРУКТУР ПРИ БОБОВО-РИЗОБИАЛЬНОМ СИМБИОЗЕ С УЧАСТИЕМ LYSM-РЕЦЕПТОРА K1

А.Н. Кириенко, Е.А. Долгих

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», Санкт-Петербург, Россия, *kirienkoann@yandex.ru*, *dol2helen@yahoo.com*

Аннотация. У гороха LysM-содержащая рецептор подобная киназа K1 контролирует выход бактерий из инфекционных нитей при симбиозе с ризобиями. K1 управляет этим процессом через регуляторы везикулярного транспорта семейства VAMP721. Кроме того, K1 может регулировать развитие защитных реакций при эндоцитозе бактерий. Нарушение функции K1 снижает устойчивость растений к патогенам. K1 может играть ключевую роль в формировании симбиотических структур при симбиозе и регулировать восприимчивость к заражению.

Ключевые слова: бобово-ризобийный симбиоз, LysM-содержащие рецепторы, инфекционный процесс, устойчивость к заражению

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-406-409

Высшие растения находятся под влиянием различных абиотических и биотических факторов. Существенную роль в регуляции развития растений при постоянно меняющихся условиях внешней среды играет способность воспринимать поступающие извне сигналы. Одной из наиболее важных является способность растений различать сигналы, поступающие от потенциально полезных и вредных микроорганизмов. Бобовые растения способны вступать во взаимодействие как с полезными микроорганизмами – ризобийными бактериями и грибами арбускулярной микоризы, а также эффективно различать патогенные микроорганизмы. При этом начальные этапы взаимодействия бобовых растений с симбиотическими и патогенными микроорганизмами имеют много общего. Так, и при патогенезе, и при развитии симбиоза происходит активация защитных систем растений. Однако при симбиозе эта активация носит кратковременный характер, что позволяет бактериям проникать в клетки растений. Существенную роль в развитии взаимодействий с растениями играют сигнальные молекулы микроорганизмов, которые содержат в своем составе N-ацетилглюкозамин. В частности, муреин, хитин и их низкомолекулярные производные обладают иммуногенной активностью, а липохитоолигосахариды Nod-факторы и Мус-факторы (от англ. *nodulation* – клубенькообразование; *mycorrhization* - микоризация) индуцируют развитие симбиозов. У растений в узнавание таких, схожих по структуре молекул, вовлечены белки - рецептор-подобные киназы, содержащие LysM домен во внеклеточном участке (LysM-ППК).

У объекта наших исследований – гороха посевного (*Pisum sativum* L.), несколько LysM-ППК *PsSym10*, *PsSym37*, *PsK1* контролируют процесс узнавания растением сигнальных молекул Nod-факторов [Madsen et al., 2003; Zhukov et al., 2008; Kirienko et al., 2018]. На начальных этапах развития симбиоза может активироваться комплекс, представленный двумя LysM-ППК - SYM10 и K1, тогда как развитие инфекционных нитей контролирует другой рецепторный комплекс, представленный LysM-ППК SYM10 и SYM37. Вместе с тем, анализ мутантов по гену *k1* показал, что этот рецептор может работать не только на начальных этапах развития симбиоза, но и контролирует выход бактерий из инфекционных нитей. Анализ линии *k1-2* показал, что у данного мутанта формируются sac-подобные (от англ. sac – сумка) инфекционные нити, из которых не происходит выход бактерий [Kirienko et al., 2018]. Однако, как именно K1

контролирует выход бактерий из инфекционных нитей оставалось неясным.

Для модельного бобового *M. truncatula* была показана важная роль регуляторов везикулярного транспорта из семейства VAMP721 белков, а также компонентов сигнального пути, активируемого Nod-факторами (рецепторной киназы SymRK, кальций, кальмодулин-зависимой киназы и транскрипционных факторов ERN1) в контроле выхода бактерий и формировании симбиосом [Caroen et al., 2005; Limpens et al., 2005; Yano et al., 2008]. В связи с этим в нашей работе был проведен анализ экспрессии генов, кодирующих *VAMP721* и *ERN1* у мутанта по гену *kl*. Уровень экспрессии ERN1 оставался одинаковым как у растений дикого типа, так и у мутантной линии по гену *kl*. Однако, в отличие от растений дикого типа, у мутанта по гену *kl* не увеличивалась в ответ на инокуляцию экспрессия гена *VAMP721e*, кодирующего мембранный белок, ассоциированный с мембранами везикул. Полученные результаты свидетельствуют об участии рецептора K1 в активации пути, регулирующего формирование симбиотических структур при выходе бактерий из инфекционных нитей.

Действительно, у мутантов *M. truncatula* и гороха по гену *IPD3* нарушается выход бактерий из инфекционных нитей – бактерии остаются «запертыми» внутри инфекционных нитей, окруженных толстой растительной клеточной стенкой [Voroshilova et al., 2001, 2009; Ovchinnikova et al., 2011]. У данных мутантов наблюдалось увеличение уровня экспрессии генов, участвующих в развитии защитных реакций (кодирующих пероксидазу, маркер гиперчувствительной реакции и белок PR10 [Ivanova et al., 2015]. В связи с этим было выдвинуто предположение, что некоторые мутации ведут к тому, что растение распознает ризобию не как партнера-симбионта, а как патоген, вследствие чего у растений включаются защитные механизмы, препятствующие проникновению ризобий внутрь. Схожий фенотип мутантной линии *kl-2*, характеризующейся развитием гипертрофированных сас-подобных нитей, откуда не происходит выход бактерий, позволяет предположить, что у данного мутанта также происходит развитие защитных реакций при попытке проникновения ризобий. Для изучения влияния рецептор-подобной киназы K1 на развитие защитных реакций при формировании симбиоза мы провели анализ уровня экспрессии генов – *PR1* и *PR10* (от англ. *pathogenesis-related* – связанные с патогенезом) у растений линии *kl-2*. Анализ показал небольшое увеличение уровня экспрессии генов *PR1* и *PR10* в корнях растений дикого типа в ответ на инокуляцию на 1 и 2 сутки. Однако при этом у растений мутантной линии *kl-2* наблюдали существенное увеличение уровня экспрессии этих генов. Это позволяет сделать вывод о том, что из-за мутации в гене *kl* данные растения воспринимают ризобию как патоген, а значит K1 может регулировать активацию защитных реакций при формировании симбиоза.

Кроме того, гистологический анализ мутантных линий со схожим фенотипом у люцерны и гороха мутантов позволил выявить откладывание каллозы и суберина в инфекционных нитях, накопление неэстерифицированного пектина в клеточных стенках инфекционных нитях [Ivanova et al., 2015], что также свидетельствует об активации защитных реакций. В дальнейшем планируется проведение гистологического анализа корней мутантной линии *kl-2* для оценки возможности накопления данных веществ.

Недавно у *M. truncatula* были выявлены два гена, необходимых для подавления защитных реакций в ходе развития инфекционных нитей, выходе бактерий из них и формирования симбиосом – *DNF2* (от англ. *Does Not fix nitrogen* – не фиксирующий азот) и *SymCRK* (от англ. *symbiotic cysteine-rich receptor-like kinase* – симбиотическая цистеин-богатая рецептор-подобная киназа). Эти гены кодируют фосфатидилинозитол специфичную фосфолипазу C и цистеин-богатую рецептор-подобную киназу

соответственно [Bourcy et al., 2013; Berrabah et al., 2014]. Для изучения влияния рецептор-подобной киназы K1 на развитие защитных реакций при формировании симбиоза мы также провели анализ уровня экспрессии генов – *DNF2* и *SymCRK* у растений дикого типа и мутантной линии *κ1-2*. Анализ выявил значительное увеличение экспрессии *DNF2* и *SymCRK* в клубеньках растений дикого типа. Напротив, в корнях растений мутантной линии *κ1-2* изменений в экспрессии *DNF2* и *SymCRK* не наблюдали. Полученные данные по изучению экспрессии двух этих генов у мутантной линии *κ1-2* позволяют предположить, что LysM-ППК K1 в процессе развития симбиоза может активировать сигнальный путь, который подавляет развитие защитных реакций со стороны растений. У мутанта такого блокирования не происходит, вследствие чего растение воспринимает ризобии как патоген, что препятствует их проникновению.

Таким образом, были получены доказательства того, что LysM-ППК K1 гороха контролирует выход бактерий из инфекционных нитей посредством регуляции экспрессии основных компонентов везикулярного транспорта. Кроме того, K1 участвует в регуляции развития защитных реакций при формировании симбиоза.

Для некоторых рецепторов модельных бобовых растений была показана их необходимость и для контроля устойчивости растений к заражению фитопатогенными микроорганизмами [Rey et al., 2013]. Для изучения роли K1 при патогенезе было проведено заражение растений гороха мутантной линии *κ1-2* фитопатогенным грибом *Fusarium culmorum*. Через 16 дней после заражения у мутантной линии были выявлены более выраженные признаки заражения, происходило угнетение развития растений (более короткие корни и менее развитая надземная часть) по сравнению с диким типом. Таким образом, можно сделать вывод о том, что K1 может участвовать в контроле развития защитных реакций со стороны растений и регулировать процесс проникновения микроорганизмов.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что LysM-ППК K1 может участвовать в контроле развития инфекционного процесса при формировании симбиоза, а также регулирует устойчивость растений к заражению фитопатогенами.

Работа поддержана грантом РФФИ 16-16-10043.

Литература

Berrabah F., Bourcy M., Eschstruth A. et al. A nonRD receptor-like kinase prevents nodule early senescence and defense-like reactions during symbiosis // *New Phytologist*. – 2014. – V. 203. – P. 1305–1314.

Bourcy M., Brocard L., Pislariu C.I. et al. *Medicago truncatula* DNF2 is a PI-PLC-XD-containing protein required for bacteroid persistence and prevention of nodule early senescence and defense-like reactions // *New Phytologist*. – 2013 – V. 197. – P. 1250–1261.

Capoen W., Den Herder J., Rombauts S. et al. Comparative transcriptome analysis reveals common and specific tags for root hair and crack-entry invasion in *Sesbania rostrata* // *Plant Physiology*. – 2007. – V. 144, № 4. – P. 1878–1889.

Ivanova K.A., Tsyganova A.V., Brewin N.J. et al. Induction of host defences by *Rhizobium* during ineffective nodulation of pea (*Pisum sativum* L.) carrying symbiotically defective mutations *sym40* (*PsEFD*), *sym33* (*PsIPD3/PsCYCLOPS*) and *sym42* // *Protoplasma*. – 2015. – V. 252. – P. 1505–1517.

Kirienko A., Porozov Y., Malkov N., Akhtemova A., Le Signor C., Thompson R., Saffray C., Dalmais M., Bendahmane A., Tikhonovich I., Dolgikh E. Role of a receptor-like kinase K1 in pea *Rhizobium* symbiosis development // *Planta*. – 2018. – в печати.

Limpens E., Mirabella R., Fedorova E. et al. Formation of organelle-like N₂-fixing symbiosomes in legume root nodules is controlled by *DMI2* // *PNAS*. – 2005. – V. 102, № 29. P. 10375–10380.

Madsen E.B., Madsen L.H., Radutoiu S. et al. A receptor kinase gene of the LysM type is involved in legume perception of rhizobial signals // *Nature*. – 2003. – V. 425, № 6958 – P. 637–640.

Miyata K., Kozaki T., Kouzai Y. et al. The bifunctional plant receptor, *OsCERK1*, regulates both chitin-triggered immunity and arbuscular mycorrhizal symbiosis in rice // *Plant Cell Physiol*. – 2014. – V.55, № 11. – P. 1864–1872.

Rasmussen S.W., Füchtbauer M. et al. Intraradical colonization by arbuscular mycorrhizal fungi triggers induction of a lipochitooligosaccharide receptor // *Scientific Reports*. – 2016. – V. 6. – Article number: 29733.

Tsyganov V.E., Morzhina E.V., Stefanov S.Y. et al. The pea (*Pisum sativum* L.) genes *sym33* and *sym40* control infection thread formation and root nodule function // *Molecular and General Genetics*. – 1998. – V. 256. – P. 491–503.

Voroshilova V.A., Boesten B., Tsyganov V.E. et al. Effect of mutations in *Pisum sativum* L. genes (*sym13*, *sym31*, *sym33*, *sym40*) blocking different stages of nodule development on the expression of late symbiotic genes in *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* // *Molecular Plant–Microbe Interactions*. – 2001. – V.14. – P. 471–476.

Voroshilova V.A., Demchenko K.N., Brewin N.J. et al. Initiation of legume nodule with an indeterminate meristem involves proliferating host cells that harbour infection threads // *New Phytologist*. – 2009. – V. 181. – P. 913–923.

Yano K., Yoshida S., Müller J. et al. CYCLOPS, a mediator of symbiotic intracellular accommodation // *PNAS*. – 2008. – V. 105. – P. 20540–20545.

Zhukov V., Radutoiu S., Madsen L.H., Rychagova T., Ovchinnikova E., Borisov A., Tikhonovich I., Stougaard J. The Pea *Sym37* receptor kinase gene controls infection-thread initiation and nodule development // *Molecular Plant-Microbe Interactions*. – 2008. – V. 21, № 12. – P. 1600–1608.

REGULATION OF THE INFECTIOUS PROCESS WHEN THE PLANT RECOGNIZES PEA SYMBIONTS AND PATHOGENS WITH THE PARTICIPATION OF THE LYSM RECEPTOR K1

A.N. Kirienko, E.A. Dolgikh

Federal State Budget Scientific Institution All-Russian Research Institute for
Agricultural Microbiology, St. Petersburg, Russia, kirienkoann@yandex.ru,
dol2helen@yahoo.com

Abstract. In pea LysM receptor-like kinases K1 kinase controls the release of bacteria from infectious filaments in symbiosis with rhizobia. K1 controls this process through regulators of vesicular transport of the VAMP721 family. In addition, K1 can regulate the development of defense reactions in bacteria endocytosis. Disorder of K1 function reduces the resistance of plants to pathogens. K1 can play a key role in the formation of symbiotic structures in symbiosis and regulate sensitivity to infection.

Keywords: *legume-rhizobial symbiosis, LysM-containing receptors, infectious process, resistance to infection*

ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АДАПТАЦИИ СОРТОВ ЯБЛОНИ С РАЗЛИЧНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ПАРШЕ В УСЛОВИЯХ ВЫСОКОТЕМПЕРАТУРНОГО СТРЕССА

Г.К. Киселева, Н.И. Ненько, А.В. Караваева, Е.В. Ульяновская

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия», Краснодар, Россия, *galina-kiseleva-1960@mail.ru*

Аннотация. Высокие критические температуры летнего периода и засуха ограничивают получение стабильных урожаев яблони в условиях юга России. Выявлены физиолого-биохимические параметры, обеспечивающие метаболические механизмы адаптации иммунных и не иммунных к парше сортов яблони к высокотемпературному стрессу. Метаболическими маркерами адаптации являются содержание катионов кальция, пролина, каротиноидов, аскорбиновой, хлорогеновой, кофейной кислот, активность пероксидазы.

Ключевые слова: яблоня, парша, высокотемпературный стресс, кальций, пролин

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-410-413

В южной зоне садоводства Российской Федерации получение высоких стабильных урожаев яблони ограничивается участвовавшими в последнее время эпифитотиями парши и засухами на фоне высоких критических температур летнего периода [Ненько, 2018]. В связи с этим, выявление особенностей метаболической адаптации сортов яблони с различной устойчивостью к парше в условиях высокотемпературного стресса является особо актуальным.

Цель настоящей работы – выявить физиолого-биохимические параметры, обеспечивающие метаболические механизмы адаптации иммунных и не иммунных к парше сортов яблони к высокотемпературному стрессу в условиях Северо-Кавказского региона Российской Федерации.

Исследования проводили в 2016-2017 гг. на базе опытного хозяйства «Центральное» в г. Краснодаре. Объектами исследования служили иммунные к парше сорта яблони, обладающие геном устойчивости к парше *Vf*: Рассвет, Фортуна, Союз (селекции СКЗНИИСиВ, Россия), Дейтон (селекции США) и не иммунные к парше: Родничок (селекции СКЗНИИСиВ, Россия), Эрли Мак (селекции США), Пирос (селекции Германии) на подвое М 9 при схеме посадки 2 x 5.

Для анализа отбирали сформированные листья со средней части однолетних побегов в течение летнего вегетационного периода. Содержание катионов кальция, пролина, аскорбиновой, хлорогеновой, кофейной кислот определяли методом капиллярного электрофореза на приборе «Капель» 104 Р; каротиноидов и активность пероксидазы спектрофотометрическим методом на базе ЦКП «Приборно-аналитический» и лаборатории физиологии и биохимии растений ФГБНУ СКФНЦСВВ [Ненько, 2015]. Полученные экспериментальные данные обрабатывали с помощью общепринятых методов вариационной статистики [Доспехов, 1979].

Максимальные температуры воздуха отмечены в августе +37-39 °С; минимальное количество выпавших осадков в августе 2016 г. – 33,5 мм; в 2017 г. – 12 мм. Устойчивость к высокотемпературному стрессу является важной составляющей адаптивного потенциала сортов яблони. Высокотемпературное воздействие сказывается, прежде всего, на текучести мембран, в результате чего происходит увеличение их проницаемости. При этом увеличивается выход катионов кальция из клеточных стенок в цитоплазму, в результате чего возрастает ее вязкость. Повышение концентрации ионов кальция в цитозоле является одной из наиболее ранних реакций

клетки на стрессовые воздействия [Кошкин, 2010]. Содержание катионов кальция у иммунных к парше сортов яблони Рассвет, Фортуна, Союз, Дейтон составляло 0,285-0,997 мг/г сырой массы вещества; у не иммунных к парше Родничок, Эрли Мак, Пирос 0,424-1,886 мг/г сырой массы вещества, что характеризует их как неустойчивые к высокотемпературному стрессу.

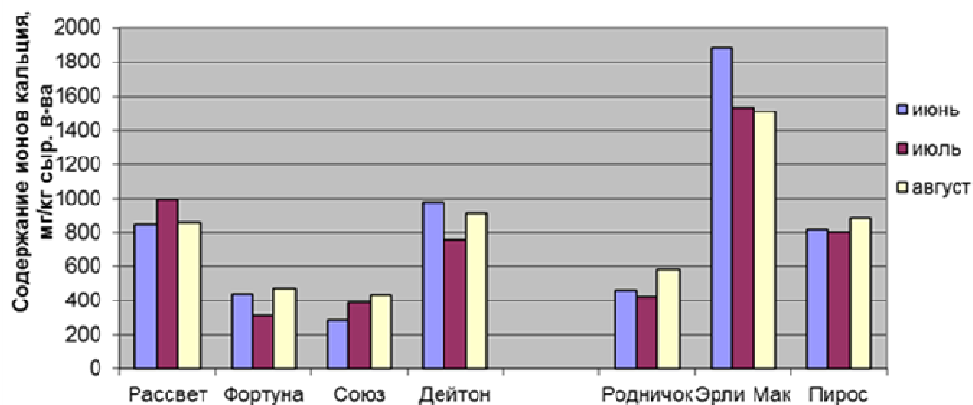


Рис. 1. Содержание катионов кальция в листовом аппарате яблони в летний вегетационный период 2016-2017 гг.

Повышение концентрации внутриклеточного кальция обеспечивает реализацию комплекса реакций, приводящих к адаптации к засухе. Во многих работах показано, что увеличение концентрации кальция в цитозоле приводит к усилению образования активных форм кислорода (АФК) в растительных клетках. Повысившийся уровень АФК в клетке активизирует сигнальные пути, обуславливающие активацию транскрипции соответствующих генов и усиление антиоксидантной системы защиты (АОС), включающей различные соединения (пролин, каротиноиды) [Барабой, 1991].

Пролин оказывает стабилизирующее действие на мембраны, уменьшает осмотический стресс, защищает белки от денатурации, участвует в передаче стрессового сигнала, регулирует редокс-потенциал клетки [Hossain, 2014]. Содержание свободного пролина у иммунных к парше сортов яблони составляло 120,0-285,2 мг/г сырого вещества, у не иммунных к парше – 11,7-273,1 мг/г сырого вещества.

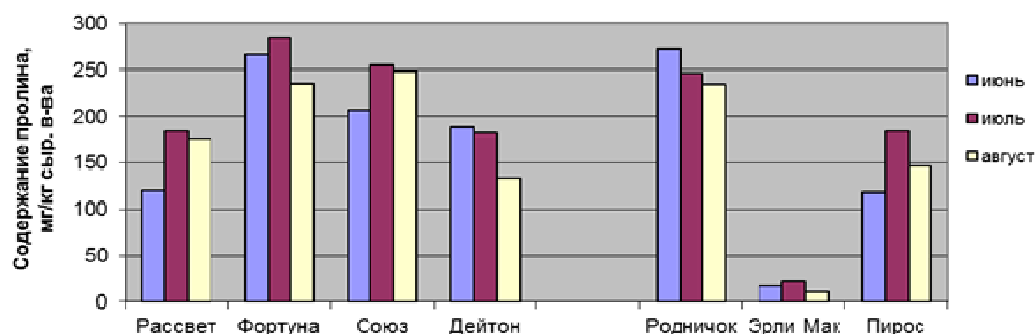


Рис. 2. Содержание свободного пролина в листовом аппарате яблони в летний вегетационный период 2016-2017 гг.

Еще одним важнейшим не ферментативным антиоксидантным звеном в системе защиты являются каротиноиды. Выступая в роли антиоксидантов, каротиноиды защищают чувствительные ткани и лабильные соединения от окисления. Наибольшие количественные показатели каротиноидов отмечены у сортов Фортуна, Союз, Родничок и составляли 1,9-2,4 мг/г сухой массы вещества. Наименьшие количественные

показатели каротиноидов отмечены у не иммунных к парше сортов яблони Эрли Мак и Пирос – 1,1-1,4 мг/г сухой массы вещества.

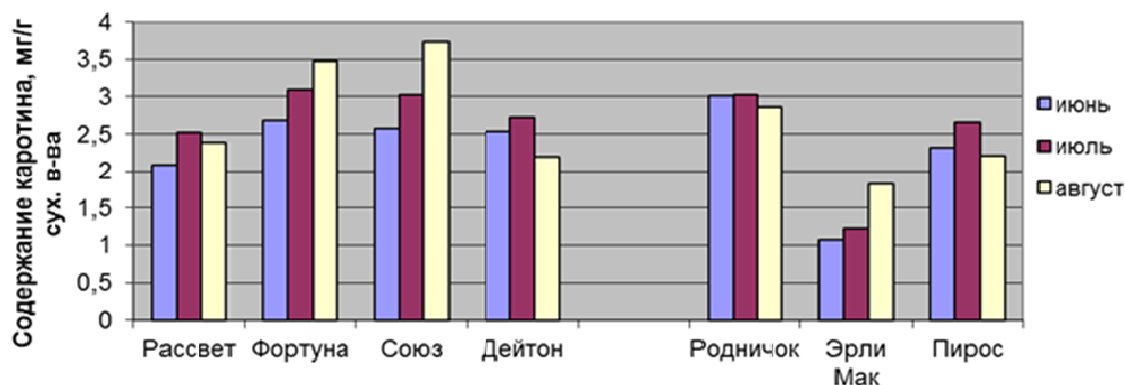


Рис. 3. Содержание каротиноидов в листовом аппарате яблони в летний вегетационный период 2016-2017 гг.

Антиоксидантный защитный механизм представляет собой неотъемлемый элемент адаптации к высокотемпературному стрессу, и его сила коррелирует с жароустойчивостью [Барабой, 1991]. Отмечена прямая корреляционная связь между жаростойкостью и содержанием каротиноидов ($r=+0,95$).

Особое место среди стрессовых метаболитов занимают пероксидаза, аскорбиновая кислота, фенольные соединения. В последние годы появляются работы, в которых авторы предлагают использовать пероксидазы как диагностический признак для оценки степени устойчивости растений к действию стрессовых факторов [Zaharah, 2009; Šircelj et al., 2007]. Более высокий уровень активности пероксидаз наблюдался в листьях неустойчивых к повышенным температурам сортов яблони. У иммунных сортов Рассвет, Фортуна, Союз, Дейтон выявлена обратная корреляционная зависимость между активностью пероксидазы и устойчивостью к повышенным температурам ($r=-0,88$).

Пероксидазы катализируют реакции восстановления перекиси водорода при участии различных субстратов: фенольных соединений, аскорбиновой кислоты. Фенольные соединения проявляют антиоксидантное действие: связывают ионы тяжелых металлов в устойчивые комплексы, лишая их каталитического действия; служат акцепторами образующихся при аутооксидации свободных радикалов и поэтому способны гасить свободно радикальные цепи; хинонные формы фенолов особенно энергично взаимодействуют с белками [Dixo, 1995]. Содержание суммы фенолкарбоновых кислот (хлорогеновой, кофейной), стабилизирующих клеточные мембраны у иммунных сортов Рассвет, Фортуна, Союз, Дейтон коррелировало с повышением температуры в течение летнего вегетационного периода ($r=+0,91$).

Аскорбиновая кислота, являясь антиоксидантом не ферментативного звена, участвует с помощью различных механизмов в ингибировании перекисного окисления липидов [Чупахина, 1997]. В ответ на засуху активность пероксидазы и содержание аскорбиновой кислоты увеличивалось в большей степени у устойчивых сортов яблони, что служило надежным биохимическим маркером засухи [Shunca et al., 2011]. В наших исследованиях содержание аскорбиновой кислоты у иммунных сортов Рассвет, Фортуна, Союз, Дейтон коррелировало с повышением температуры в течение летнего вегетационного периода ($r=+0,95$).

Таким образом, выявлены физиолого-биохимические параметры, обеспечивающие метаболические механизмы адаптации иммунных и не иммунных к парше сортов яблони к высокотемпературному стрессу в условиях Северо-Кавказского

региона Российской Федерации. Метаболическими маркерами адаптации к высокотемпературному стрессу являются содержание катионов кальция, пролина, каротиноидов, аскорбиновой, хлорогеновой, кофейной кислот, активность пероксидазы.

Поддержано грантом №16-44-230077 р_юг_а Российского фонда фундаментальных исследований и администрации Краснодарского края.

Литература

Барабой В.А. Механизмы стресса и перекисное окисление липидов // Успехи современной биологии. – 1991. – Т. 111, № 6. – С. 923–932.

Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). – М., 1979. – 463 с.

Кошкин Е.И. Физиология устойчивости сельскохозяйственных культур. – Москва: Дрофа, 2010. – 638 с.

Ненько Н.И., Ульяновская Е.В., Киселева Г.К. Устойчивость яблони к экстремальным температурам и низкой влагообеспеченности // Вестник РАСХН. – 2018. – № 1. – С. 27–30.

Ненько Н.И., Ильина И.А., Воробьева Т.Н. и др. Современные инструментально-аналитические методы исследования плодовых культур и винограда / Под общей редакцией Н.И. Ненько. – Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2015. – 115 с.

Чупахина Г. Н. Система аскорбиновой кислоты растений: монография. – Калининград: Калинингр. ун-т, 1997. – 350с.

Dixo R.A. Stress-induced phenylpropanoid metabolism // Plant Cell. – 1995. – No. 7. – P. 1085–1097.

Hossain M. A., Hoque M. A., Burritt D. J., Masayuki F. Proline protects plants against abiotic oxidative stress: biochemical and molecular mechanisms // Oxidative Damage to Plants. – 2014. – No. 5. – P. 477–522.

Šircelj H., Michael Tausz M., Grill D., Batič F. Detecting different levels of drought stress in apple trees (*Malus domestica* Borkh.) with selected biochemical and physiological parameters // Scientia Horticulturae. – 2007. – No. 113. – P. 362–369.

Shunca Wang, Dong Liang, Chao Li, Yonglu Hao, Fengwang Ma, Huairui Shu. Influence of drought stress on the cellular ultrastructure and antioxidant system in leaves of drought-tolerant and drought-sensitive apple rootstocks // Plant Physiology and Biochemistry. – 2012, No. 51. – P. 81–89.

Zaharah S., Razi I. Growth, stomata aperture, biochemical changes and branch anatomy in mango (*Mangifera indica*) cv. *Chokanan* in response to root restriction and water stress. // Scientia Horticulturae. – 2009. – No. 123. – P. 58–67.

FEATURES OF METABOLIC ADAPTATION OF APPLE VARIETIES WITH DIFFERENT RESISTANCE TO SCAB IN CONDITIONS OF HIGH TEMPERATURE STRESS

G.K. Kiseleva, N.I. Nenko, A.V. Karavaeva, E.V. Ulyanovskaya

Federal State Budget Scientific Organization "North Caucasian Regional Research Institute of Horticulture and Viticulture", Krasnodar, Russia, galina-kiseleva-1960@mail.ru

Abstract. High critical temperatures of the summer period and drought limit the production of stable harvests of apple trees in the conditions of the south of Russia. The physiological and biochemical parameters that provide the metabolic mechanisms of the scab- immune and non immune apple tree varieties to high-temperature stress are revealed. Our study pointed out cations of calcium, proline, carotenoid, ascorbic, chlorogenic, caffeic acid, peroxidase activity as the high temperature stress markers in apple trees.

Key words: *apple, scab, high-temperature stress, calcium, proline*

ОПРЕДЕЛЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ПЛОДОВЫХ РАСТЕНИЙ К КИСЛОТНОМУ СТРЕССУ

О.Е. Клименко, Н.И. Клименко

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Ордена трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН, Ялта, Россия, olga.gnbs@mail.ru

Аннотация. Оксиды серы и азота вызывают загрязнение воздуха и производят значительный окислительный эффект. Растения способны противостоять этому явлению, что связано с активностью антиокислительной системы, которая ингибирует процесс свободнорадикального окисления. Аскорбиновая кислота и глутатион являются важными компонентами этой системы в организме растений, так как они способны к окислительно-восстановительным реакциям. Но роль этих веществ и степень их изменения в тканях плодовых растений при условии загрязнения воздуха недостаточно изучены. В связи с нами мы исследовали изменения содержания аскорбиновой кислоты, глутатиона и общей ред-окс активности в листьях персиковых растений в условиях искусственного кислотного стресса. Кислотное воздействие моделируется путем распыления раствора H_2SO_4 с $pH = 2$ на ветви деревьев. Ранее мы установили, что эта концентрация H_2SO_4 является токсичной для устойчивых сортов персика. Негативное воздействие проявляется в повреждении листьев, снижении роста и продуктивности до 50% по сравнению с $pH = 6$ (контроль). В исследование были включены 11 сортов персика (*Prunus persica* L. (Batsch)) на миндалевом подвое (*Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb.) и 9 сортов абрикоса на подвое абрикос обыкновенный (*Prunus armeniaca* L.). Сорта отбирали по содержанию аскорбиновой кислоты в плодах и различной реакции на кислотный стресс по внешним симптомам. Установлены значительные изменения элементов антиоксидантной системы под влиянием кислотного стресса. Была обнаружена различная реакция сортов в этих условиях. Рано созревающие сорта были более чувствительны к кислотным осадкам. Рассчитаны относительные показатели состояния системы антиоксидантной защиты растений. Была проведена относительная оценка чувствительности изученных сортов к кислотному стрессу с помощью этих показателей. Мы предлагаем использовать показатель ред-окс активности ткани листа в качестве тестового для оценки различных сортов плодовых растений рода *Prunus* L. к кислотному стрессу.

Ключевые слова: персик, абрикос, кислотный стресс, показатель редокс активности

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-414-417

Загрязнение окружающей среды воздушными поллютантами часто проявляется в виде выпадения кислотных дождей. Поллютанты, как и другие стрессоры, способствуют образованию активных форм кислорода, нарушающих нормальное функционирование клетки, вызывая разрушение хлоропластов, белков, ДНК, перекисное окисление липидов [Mitteler, 2009; Scandalios, 2005]. Для устранения повреждающего действия оксидантов во всех растительных клетках существует защитная антиоксидантная система, состоящая из целого ряда соединений гидрофильной и гидрофобной природы. Это низкомолекулярные метаболиты, проявляющие антиоксидантные свойства: аскорбиновая кислота (АК), глутатион (ГТ), пролин, полифенолы, каротиноиды и ферменты оксидоредуктазы: каталаза, пероксидазы, супероксиддисмутаза и др. Они защищают клетку от разнообразных экстремальных воздействий, в том числе и от загрязняющих воздух кислот [Безсонова и др., 2010].

Устойчивость и адаптивные способности растения к окислительному стрессу зависят от активности его АОС, которая обусловлена генетически. Степень ее изменения при стрессе у разных генотипов может указывать на способность растения противостоять или повреждаться стресс-фактором. Плодовые растения признаны

чувствительными к кислотным газам [Bell, Treshow, 2002; Singh et al., 1994]. Однако компоненты АОС у древесных (в том числе плодовых) растений в условиях кислотного стресса (КС) изучены недостаточно [Виноградова, 2013; Гарифзянов и др., 2009; Клименко и др., 2008].

В связи с этим целью исследования было изучить изменения общей редокс-активности ткани у наиболее распространенных на юге страны плодовых растений в условиях КС для использования его как тест-фактора оценки устойчивости деревьев к этому неблагоприятному явлению.

Исследования проводили в условиях модельного полевого эксперимента в лаборатории степного садоводства НБС – НИЦ (с. Новый Сад Симферопольского района). Искусственный кислотный дождь (ИКД) создавали путем опрыскивания ветвей первого порядка плодоносящих деревьев персика (*Prunus persica* (L.) Batsch) и абрикоса (*P. armeniaca* L.) раствором H_2SO_4 с pH 2 в дозе 2 мм дождя на протяжении трех часов. Листья отбирали через три дня после обработки кислотой. Контролем служили деревья, опрыснутые дистиллированной водой с pH≈6. В исследование были включены 11 сортов персика и 9 сортов абрикоса, различающихся по срокам созревания, устойчивости к абиотическим стрессам [Клименко и др., 2008].

В листьях определяли общую редокс-активность (ОРА) методом Петта в модификации Прокошева [Практикум..., 1972].

Наши исследования показали, что при воздействии кислотного стресса ОРА снижалась у одних сортов и оставалась неизменной или повышалась у других (рис. 1).

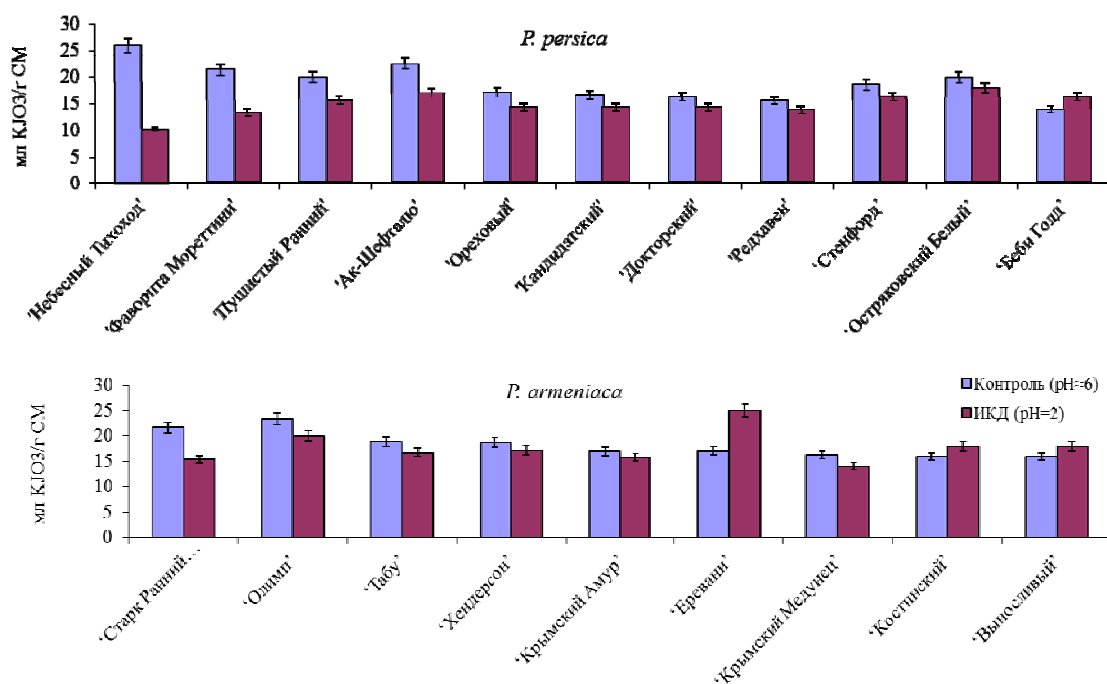


Рис. 1. Изменение ОРА ткани листа растений *Prunus persica* (L.) Batsch и *P. armeniaca* L. под воздействием ИКД.

Установлено, что рано созревающие сорта *P. persica* и *P. armeniaca*, ('Небесный Тихоход', 'Фаворита Мореттини', 'Пушистый Ранний', 'Старк Ранний Оранжевый', 'Олимп') отличались высокими значениями ОРА, но резко снижали их при стрессе. Это свидетельствует о том, что значительная доля антиоксидантов расходовалась в реакциях детоксикации активных форм кислорода, образующихся при стрессе, и не восполнялась в постстрессовый период. У сортов среднего и позднего сроков

созревания ОРА была ниже и при кислотном стрессе либо незначительно снижалась ('Ореховый', 'Кандидатский', 'Докторский', и др.), либо увеличивалась ('Беби Голд', 'Еревани', 'Костинский', 'Выносливый').

А так как ранее по морфологическим показателям и продуктивности было установлено, что рано созревающие сорта, как правило, являются более чувствительными к стрессу, то, следовательно, степень изменения ОРА подтверждает эти данные и может характеризовать степень устойчивости сорта к кислотному стрессу. В связи с этим, впервые предложен показатель антиоксидантной активности (ПАОА), отражающий степень изменения ОРА ткани листа при воздействии кислотного стресса по сравнению с оптимальными условиями. Чем выше этот показатель, тем большей способностью противостоять стрессу обладает АОС.

Показатель ПАОА использован нами как критерий оценки относительной устойчивости сортов рода *Prunus* к КО. Если ПАОА был ниже или равен 70, то растения отнесены в группу неустойчивых (это ранние сорта *P. persica* и *P. armeniaca*: 'Фаворита Мореттини', 'Пушистый Ранний', 'Старк Ранний Оранжевый' и др.), табл. 1. К слабоустойчивым отнесены сорта с ПАОА в пределах 71–100. Это в основном сорта среднего срока созревания: 'Докторский', 'Кандидатский', 'Крымский Амур', 'Крымский Медунец' и др.), К среднеустойчивым сортам с ПАОА 101–150 отнесены сорта *P. persica*: 'Беби Голд' и *P. armeniaca*: 'Еревани' и 'Костинский'.

Таблица 1.

Относительная устойчивость плодовых растений к КС

Сорт	Срок созревания	ПАОА	Группа устойчивости
<i>P. persica</i>			
'Небесный Тихоход'	3 / VII	39	неустойчивые
'Фаворита Мореттини'	1 / VII	62	неустойчивые
'Пушистый Ранний'	2 / VII	65	неустойчивые
'Ак-Шефталю'	2 / IX	76	слабоустойчивые
'Ореховый'	3 / VII	84	слабоустойчивые
'Кандидатский'	1 / VIII	86	слабоустойчивые
'Докторский'	1 / VIII	88	слабоустойчивые
'Редхавен'	1 / VIII	88	слабоустойчивые
'Стенфорд'	2 / VIII	88	слабоустойчивые
'Остряковский Белый'	2 / VIII	91	слабоустойчивые
'Беби Голд'	2 / VIII	118	среднеустойчивые
<i>P. armeniaca</i>			
'Старк Ранний Оранжевый'	1 / VII*	71	неустойчивые
'Крымский Медунец'	2 VII	86	слабоустойчивые
'Олимп'	2 VII	86	слабоустойчивые
'Табу'	2–3 / VII	89	слабоустойчивые
'Хендерсон'	3 / VII	91	слабоустойчивые
'Крымский Амур'	3 / VII	93	слабоустойчивые
'Выносливый'	3 / VII –1 / VIII	97	слабоустойчивые
'Костинский'	2 / VII	112	среднеустойчивые
'Еревани'	2 VII	146	среднеустойчивые
* Декада / месяц; сроки созревания сортов приведены для степной зоны Крыма			

Таким образом, показатель ПАОА отражает относительную устойчивость сортов к КС. Чем он выше, тем активнее АОС организма способна преодолевать стресс. Этот показатель может быть использован в селекционном процессе для оценки устойчивости

полученных гибридов к кислотному стрессу на стадии сеянцев, а также для подбора сортимента устойчивых и относительно устойчивых сортов персика и абрикоса при размещении их в районах с повышенным содержанием поллютантов в воздухе.

Литература

Безсонова В.П., Дубова О.В., Иванченко О.Є. Вплив забруднення довкілля SO₂ і H₂S на вміст аскорбинової кислоти та глутатіону в корі пагонів різних за морозостійкістю троянд в осінньо-зимовий період // Труды ДДАУ. – 2010. – № 2. – С. 6–10.

Виноградова Е.Н. Активность свободной и ионносвязанной фракций пероксидазы в листьях *Populus bolleana* Louche насаждений крупного индустриального города // Промышленная ботаника. – 2013. – Вып. 13. – С. 174–179.

Гарифзянов А.Р., Горелова С.В., Иванищев В.В., Музафаров Е.Н. Сравнительный анализ активности компонентов антиоксидантной системы древесных растений в условиях техногенного стресса // Изв. Тульского гос. ун-та. естеств. наук. – 2009. – Вып. 1. – С. 166–178.

Клименко О.Є., Клименко М.І., Горіна В.М. Вплив кислотних опадів на плоді культури // Донецький вісн. наук. товариства ім. Шевченка. – 2008. – Т. 20. – С. 208–225.

Практикум по физиологии растений / Под. ред. проф. И.И. Гунара. – М.: Колос, 1972. – 168 с.

Bell J.N.B., Treshow M. Air pollution and plant life. – England: J. Wiley & Sons, 2002. – 465 p.

Mittler R., Oxidative Stress, Antioxidants and Stress Tolerance // Trends in Plant Science. – 2009. – V. 32. – P. 497–508.

Scandalios J.G., Oxidative Stress: Molecular Perception and Transduction of Signals Triggering Antioxidant Gene Defenses // Braz. J. Med. and Biol. Res. – 2005. – V. 38. – No. 7. – P. 995–1014.

Singh J., Agrawal M., Narayan G. Relative susceptibility of two species of tropical fruit to thermal power plant emission // Trop. Ecol. – 1994. – V. 35. – No 1. – P. 83–96.

DETERMINATION OF FRUIT PLANTS STABILITY TO ACID STRESS

O.E. Klimenko, N.I. Klimenko

FSBIS "Orders of the Labor Red Banner Nikitsky Botanical Gardens - National Science Center of the Russian Academy of Sciences", Yalta, Russian Federation, olga.gnbs@mail.ru

Abstract. Oxides of sulfur and nitrogen cause air pollution and produce a significant oxidative effect. Plants are able to resist this phenomenon, which is due to the activity of the antioxidant system, which inhibits the process of free radical oxidation. Ascorbic acid and glutathione are important components of this system in the plant organism, since they are capable of redox reactions. But the roles of these substances and the degree of their change in the tissues of fruit plants under the condition of air pollution have not been sufficiently studied. In connection with this we investigated the changes in the content of ascorbic acid, glutathione and total redox activity in the leaves of peach and apricot plants under conditions of artificial acid stress. The acid effect is modeled by spraying a H₂SO₄ solution with pH = 2 on the tree branches. Previously we found that this concentration of H₂SO₄ is toxic to resistant varieties of peach. Negative effects are manifested in leaf damage, reduced growth and productivity up to 50% compared to pH = 6 (control). 11 varieties of peach (*Prunus persica* L. (Batsch) on almond rootstock (*Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb.) and 9 apricot varieties (*Prunus armeniaca* L.) were included in the study. The varieties were selected for ascorbic acid content in fruits and for various reactions to acid stress on external symptoms. Significant changes in the elements of the antioxidant system under the influence of acid stress have been established. The different reaction of varieties under these conditions was found. The early maturing varieties were more sensitive to acid precipitation. Relative indicators of the state of the system of antioxidant protection of plants are calculated. The relative sensitivity of the studied varieties to acid stress was measured with the help of these indicators. We propose to use the index of the activity of leaf tissue as a test for the evaluation of various varieties of fruit plants of the *Prunus* L. genus to acid stress.

Keywords: peach, apricot, acid stress, indicator of redox activity

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ *PINUS SYLVESTRIS* L. В КОНТРАСТНЫЕ ПО МЕТЕОУСЛОВИЯМ ГОДЫ

Е.С. Клушевская

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики, селекции и биотехнологии», Воронеж, ekogenlab@gmail.com

Аннотация. Проведено исследование адаптивного потенциала сосны обыкновенной *Pinus sylvestris* в зависимости от генотипа модельных деревьев *ex situ*. Изучена норма реакции и ее сдвиги по параметрам водного режима на фоне контрастных по метеоусловиям лет. Обсуждаются механизмы устойчивости сосны к абиотическому стрессу.

Ключевые слова: Сосна обыкновенная, адаптация, водный режим

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-418-422

Физиологические исследования древесных, мониторинг тест-объектов позволяют оценивать степень влияния биотических и абиотических факторов на жизненное состояние растений. На территории Воронежской области погодные условия последних лет существенно отклонялись от региональной нормы [www.pogodaiklimat.ru], что, несомненно, оказало негативное влияние на растительные сообщества. Сосна обыкновенная *Pinus sylvestris* L. является относительно неприхотливым и в достаточной степени устойчивым к стрессу видом [Бикмуллин и др., 2011]. Широкий диапазон варьирования признаков позволяет ей чутко реагировать на внешние изменения и эффективно приспосабливаться к колебаниям окружающей среды.

В качестве объекта исследования был выбран Ступинский тест-объект (Воронежская область, Рамонский район). Это типичное для ЦЧР по семенной и вегетативной продуктивности насаждение сосны, произрастающее вблизи Воронежского биосферного заповедника, где уровень эмиссионной нагрузки вдвое ниже среднего показателя по области [Куролоп и др., 2010]. Лесорастительные условия отвечают биологии вида, что позволяет использовать данное насаждение в качестве эталонного. Для изучения устойчивости сосны к погодному стрессу в свежетобранных образцах хвои второго года жизни в течение трех лет (2013, 2014, 2015 гг.) определяли показатели водного режима в начале вегетационного сезона. Анализировались две группы растений: устойчивые и чувствительные к засухе, отобранные Кузнецовой Н.Ф. по признакам семенной продуктивности. Показатели водного режима растений (общее содержание влаги, количество коллоидно-связанной воды) определяли по общепринятой методике Починка [Починок, 1976]. Статистическую обработку проводили используя программный продукт Statistica 6.

Водный режим является одним из наиболее значимых и репрезентативных параметров оценки жизненного состояния растения. По сути, мы имеем дело с интегральной характеристикой, отражающей влияние разных внутренних и внешних факторов. Это климатические, эдафические, биотические, антропогенные и техногенные воздействия. Растения, в силу прикрепленного образа жизни, вынуждены оперативно реагировать на них, направляя усилия на сохранение постоянства внутренней среды - гомеостатического состояния для поддержания метаболических процессов на необходимом уровне вне зависимости от изменяющихся условий.

Погода в 2013 г. на момент отбора проб стояла жаркая с превышением более чем на 5°C среднесуточной температуры и полным отсутствием осадков в течение предшествующих 2-х недель. Весной 2014 г. температурный режим был близким к

региональной норме, после 2-х недельного засушливого периода за несколько дней до сбора образцов выпало 90% месячной нормы осадков. Осенью 2014 г. в Воронежской области произошла засуха на фоне резкого падения уровня грунтовых вод. За три осенних месяца в регионе выпало менее 20% нормы месячных осадков. Погодные условия 2015 г. близки к средним региональным показателям.

Анализ водного режима показал, что содержание влаги в хвое модельных деревьев соответствует литературным данным [Тарханов, 2011]. При погодичном сравнении образцов выявлено достоверное отличие значений, полученных в 2014 г. В целом область распределения признака для всех трех лет исследования совпадает только на 22.3%. Данные представлены на рисунке 1.

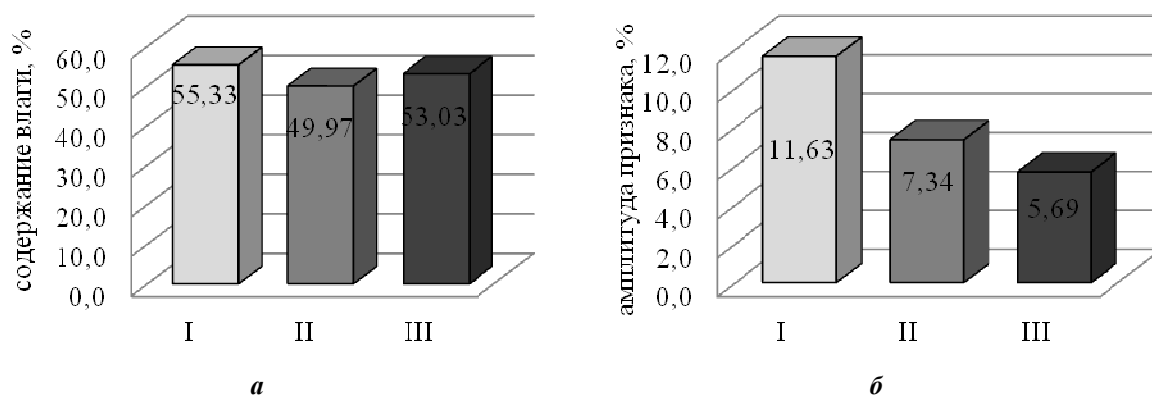


Рис. 1. Содержание влаги в хвое сосны обыкновенной (а) и амплитуда изменения признака (б) в годы исследования. I, II, III, – образцы 2013, 2014, 2015 гг.

Поскольку исследования проводились на одних и тех же растениях, то можно предположить, что наблюдаемые отличия содержания влаги во многом являются следствием осенней засухи и длительного весеннего засушливого периода. К колебаниям температурного режима (в определенных рамках) деревья достаточно устойчивы, о чем могут свидетельствовать сходные значения содержания влаги в 2013 и относительно благоприятном 2015 годах. Двухнедельное отсутствие осадков 2013 г. компенсировалось запасом влаги в почве, благодаря достаточному увлажнению в предшествующие зимние месяцы.

П.А. Генкель [Генкель, 1982] при изучении механизмов засухоустойчивости выявил ряд причин разной резистентности растений к гидротермическому стрессу: генетические особенности организма, его состояние на момент действия стресса, экологическая ситуация, а так же природа и интенсивность раздражителя. Согласно литературным данным, любой стресс расширяет границы изменчивости признаков растений. При этом их отклик на воздействие дополнительной нагрузки существенно уменьшается, что предохраняет генетический материал от разрушения [Кузнецова, Машкина, 2011; Клушевская, Кузнецова, 2016]. Наиболее широкие пределы варьирования признака в 2013 г. могут свидетельствовать об определенной стрессовой нагрузке, поиске адаптационных возможностей. Но ответить однозначно, с чем связано сужение границ варьирования признака в 2014 г. – выпадением обильных осадков или же, наоборот, изнуряющим недостатком влаги в течение длительно времени – не представляется возможным.

Общее содержание влаги – эколого-зависимый признак, характеризующий жизненное состояние растения и его генотип-средовую зависимость. Здоровые растения способны использовать всю доступную влагу, и, произрастая в сходных условиях, должны содержать сходное количество влаги с несущественными отличиями, в силу индивидуальных особенностей каждого растения [Исаева, Черепнин, 1988]. Способность растения удерживать влагу (за счет повышения количества связанной

воды на достаточном для роста и развития уровне) во многом определяется наследственными причинами, но в то же время тесно связана с условиями произрастания [Наквасина, 2002]. Анализ содержания коллоидно-связанной воды представлен на рисунке 2.

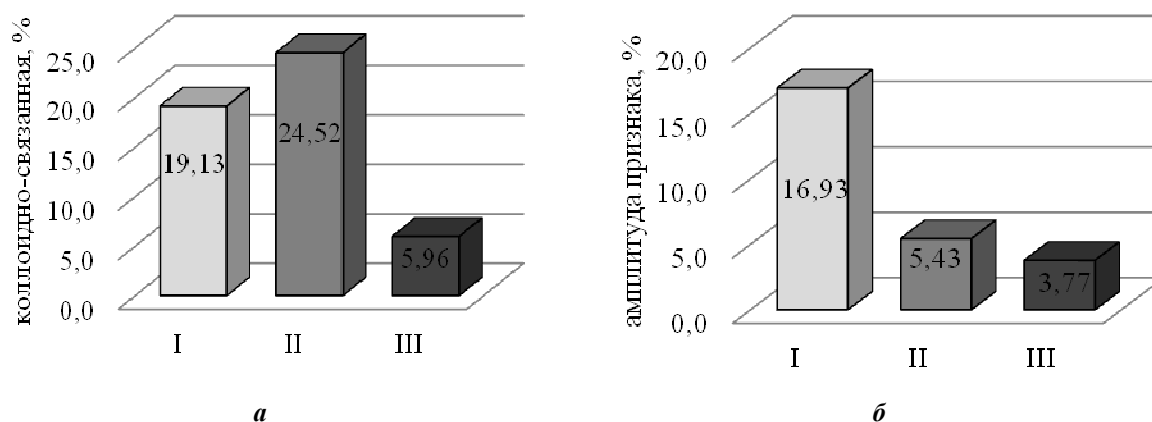


Рис. 2. Содержание коллоидно-связанной воды в хвое сосны обыкновенной (а) и амплитуда изменения признака (б) в годы исследования. I, II, III, – образцы 2013, 2014, 2015 гг.

В свежесобранной хвое уровень коллоидно-связанной воды у всех растений относительно невысокий. Однако по годам данные достоверно отличаются. В 2015 г., для которого характерны наиболее низкие значения, показатель определялся только у 30% исследованных образцов. Область распределения признака не перекрывается с образцами двух других лет. Самый широкие границы изменчивости наблюдались в 2013 г., полностью включая в себя значения 2014 г., когда происходит сужение пределов варьирования за счет значительного (более чем вдвое) повышения минимальных значений. Минимум в 2013 г. составил 10,8, а в 2014 г. - 22,2%. Необходимо отметить, что повышение содержания коллоидно-связанной воды является адаптивным механизмом, способствующим удержанию влаги и сохранению жизнеспособности растения [Кузнецов, Дмитриева, 2006; Клушевская, Кузнецова, 2016]. При анализе диапазона изменчивости признака по годам мы наблюдаем изменения аналогичные общему содержанию влаги: максимальный размах амплитуды в 2013 и минимальный в 2015 г.

При сопоставлении данных анализа содержания коллоидно-связанной воды и общего количества влаги наблюдается несколько иной характер взаимосвязи (рис. 3).

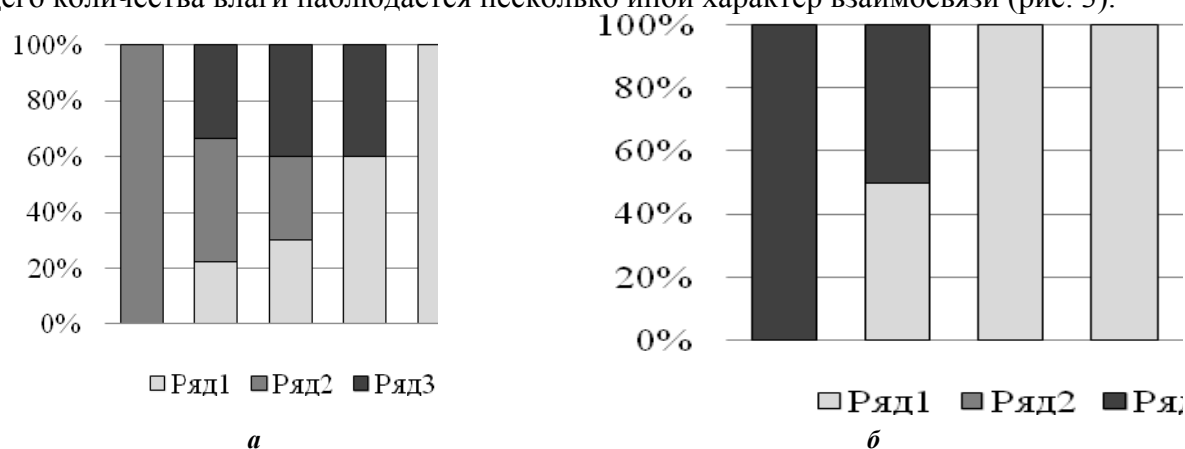


Рис. 3. Содержание влаги (а) и коллоидно-связанной воды в хвое сосны обыкновенной (б) в годы исследования, в процентном соотношении по рангам. Ряд 1, ряд 2, ряд 3 – образцы 2013, 2014, 2015 гг.

Средним и высоким значениям содержания влаги в 2013 г. соответствуют средние и низкие значения коллоидно-связанной воды. Повышенные значения коллоидно-связанной воды сопряжены с пониженными значениями влаги в 2014 г. А средним показателям влаги 2015 г. отвечает низкий уровень связанной воды.

Таким образом, полученные данные отражают, с одной стороны адаптивный характер исследуемых признаков, а с другой, механизмы поддержания гомеостатического состояния сосны в ответ на неблагоприятные погодные условия вегетационного сезона 2014 г.

Достоверных отличий между группами устойчивых и чувствительных растений в исследованные годы выявить не удалось. Вероятно, это обусловлено включением защитных механизмов, направленных на поддержание внутренней среды при изменении внешней, и нивелирующих последствия неблагоприятных погодных воздействий. Ранее показано, что у сосны подобные отличия дифференцируются в интервале «доза-эффект» только в зоне ингибирования [Кузнецова, 2012].

В целом, данные признаки водного режима являются информативными. Они позволяют судить о состоянии сосновых лесов лесостепной зоны и их экологическом потенциале в условиях усиливающейся аридизации регионального климата.

Литература

Бикмуллин Р.Х., Ямалеев Р.Х., Кулагин А.А. Оценка состояния древостоев сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в пределах казанского промышленного центра // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2011. – Т. 13, № 1 (4). – С. 964 – 970.

Генкель П.А. Физиология жаро- и засухоустойчивости растений. Москва: Наука, 1982. – 280с.

Исаева Л.Н., Черепнин В.Л. Качество древесины географических культур сосны обыкновенной в средней сибире // Лесоведение. – 1988. – №2. – С. 80–83.

Клушевская Е.С., Кузнецова Н.Ф. Изменение нормы реакции физиолого-биохимических параметров при исследовании устойчивости сосны обыкновенной к техногенному стрессу / Сигнальные системы растений: от рецептора до ответной реакции организма: матер. конф. Санкт-Петербург, 2016. – С. 229–230.

Клушевская Е.С., Кузнецова Н.Ф. Оценка устойчивости сосны обыкновенной к засухе по физиологическим характеристикам хвои // Лесоведение. – 2016. – № 3. – С. 216–222.

Кузнецов Вл.В., Дмитриева Г.А. Физиология растений: учебник. – Москва: Высшая школа, 2006. – 742 с.

Кузнецова Н.Ф. Особенности семеношения сосны обыкновенной на территории ЦЧР в засуху 2010г. // Хвойные бореальной зоны. – 2012. – XXX, № 3 – 4. – С. 1–7.

Кузнецова Н.Ф., Машкина О.С. Реакция на стресс и ее последствие у сосны обыкновенной в онтогенезе и при смене поколений // Хвойные бореальной зоны. – 2011. – XXVIII, № 1 – 2. – С. 83–90.

Куролуп С.А., Нестеров Ю.А., Епринцев С.А. Типизация территории Воронежской области по уровню техногенного воздействия на среду обитания // Вестник ВГУ. Серия: География. Геоэкология. – 2010. – № 1. – С. 5–11.

Наквасина Е.Н. Дегидратация хвои сосны обыкновенной в географических культурах Архангельской области // Лесной журнал. – 2002. – № 6. – С. 16–21.

Починок Х.Н. Методы биохимического анализа растений // Методы исследования водного режима растений. – Киев: «Наукова думка», 1976. – 334 с.

Тарханов С.Н. Индивидуальная изменчивость биохимических признаков и состояние форм сосны обыкновенной в условиях аэротехногенного загрязнения // Лесоведение. – 2011. – № 2. – С. 62–69.

<http://www.pogodaiklimat.ru>

**VARIABILITY OF PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF SCOTS PINE
PINUS SYLVESTRIS L. IN VARIOUS TYPES OF METEOROLOGICAL YEARS**

E.S. Klushevskaya

FGBI "All-rusRIFGGB" (All-Russian Research Institute of Forest Genetics, Breeding and Biotechnology), Voronezh, Russia, *ecogenlab@gmail.com*

Abstract. The *ex situ* study of the Scotch pine adaptive capacity depending on the genotype of the model trees has been carried out. The reaction norm and its change by the parameters of the water regime during various types of meteorological years are analyzed. The mechanisms of pine abiotic stress resistance are being discussed.

Keywords: *Scotch pine, adaptation, water regime*

РОЛЬ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ И ЛЦО-ПОДОБНОЙ ГЛИКОЛАТОКСИДАЗЫ В АДАПТИВНОЙ РЕАКЦИИ КЛЕТОЧНОГО МЕТАБОЛИЗМА В РАСТЕНИЯХ ПРИ ЗАТОПЛЕНИИ ИХ КОРНЕВОЙ СИСТЕМЫ

Н.Р. Комарова, Т.В. Сорокина, М.И. Фалалеева, А.Т. Епринцев

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия, bc366@bio.vsu.ru

Аннотация. Изучена динамика изменения активности ферментов лактатдегидрогеназы и L-лактат-цитохром-с-подобной гликолатоксидазы в листьях устойчивого к дефициту кислорода сорго и неустойчивого к гипоксии гороха, культивируемых в условиях затопления. На основании анализа полученных результатов предлагается механизм адаптивной реакции клеточного метаболизма с участием ферментов ЛДГ и ЛЦО-подобной гликолатоксидазы, замедляющих закисление цитоплазмы, в корнях у сорго и гороха при их затоплении.

Ключевые слова: лактадегидрогеназа, L-лактат-цитохром-с-подобная гликолатоксидаза, гипоксия, адаптация

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-423-426

Гипоксия – патологическое состояние, наступающее при недостаточном снабжении тканей кислородом или нарушении его утилизации в процессе биологического окисления [Новиков, 2002]. При затоплении или заболачивании почвы воздух вытесняется из нее водой. Диффузия же его в воде происходит примерно в 104 раза медленнее, чем в газовой среде. Поэтому особенность местообитания затопляемых растений состоит в выраженной в той или иной степени гипоксии или даже аноксии. В то же время, у разных по устойчивости к гипо- и аноксии растений (или их органов) могут быть неодинаковые потребности в кислороде [Чиркова, 2002].

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) – внутриклеточный гликолитический фермент, который участвует в обратимом превращении лактата в пируват и одним из первых активируется в ответ на гипоксию. Фермент гликолатоксидаза относится к флавиновым оксидазам, который в качестве кофермента содержит флавинмоноклеотид и переносит электроны с субстрата непосредственно на молекулярный кислород с образованием пероксида водорода. При этом ГО окисляет гликолиевую кислоту с образованием глиоксалиевой кислоты и пероксида водорода, который в присутствии каталазы расщепляется на водород и кислород, окисляя ряд других веществ (этиловый спирт, лактат, нитриты, и д.р.) [Скурихин, 1991]. Известно, что у растений *Arabidopsis Thaliana* [Engqvist, 2015] обнаружены три изоформы гликолатоксидазы, предпочтительным субстратом одной из которых является лактат. В работе Engqvist исследователи предполагают инициацию исследуемого фермента при выходе растений из гипоксии, когда большие порции кислорода являются опасными для перешедшего на бескислородный метаболизм лактата растения. На основании этих данных мы предполагаем взаимосвязь в работе исследуемых ферментов, у растений, находящихся в условиях гипоксии, когда лактат утилизируется лактатдегидрогеназой в бескислородных условиях и ЛЦО-подобной гликолатоксидазой – в кислородных.

Растительный материал. В качестве объекта исследований использовали листья 40-дневных растений гороха и сорго (*Pisum sativum* L., сорт Амброзия и *Sorghum sudanense* L., сорт Воронежское соответственно), инкубированных 4 суток в камере для роста растений LabTech в контролируемых условиях: 12/12 ч свет/темнота, при температуре 25°C погруженными в воду на 2-3 см выше корневой шейки, для имитации

словий дефицита кислорода (опыт). Контрольная часть растений оставалась при нормальном увлажнении [Комарова, 2017].

Приготовление гомогената и ферментативных экстрактов. Исследуемые листья гомогенизировали в охлажденном 50 мМ Tris-HCl-буфере, pH 7.4, содержащем 2М KCl и 1 мМ MgCl₂. Гомогенаты центрифугировали при 5000 g в течение 15 мин на центрифуге “Eppendorf 5804” (Германия).

Спектрофотометрическое измерение активности ферментов. Активность ферментов измеряли спектрофотометрически, при 340 нм на спектрофотометре ЛОМО СФ-56 (Россия) по скорости окисления NADH для ЛДГ (КФ 1.1.1.27). Реакционная среда состояла из 2 мл 50 мМ Tris-HCl-буфера (pH 8.0), 0.06 мМ NADH, 1 мМ пирувата натрия. Реакцию запускали добавлением пирувата натрия [Sweetlove, 2000]. Для измерения активности ЛЦО-подобной ГО реакционная среда содержала 2 мл 50 мМ Tris-HCl-буфера, (pH 7.5), 4 мМ лактат натрия/гликолат натрия, 0.5 мМ ЭДТА, 0.01 мМ флавиномононуклеотид, 5 мМ MgCl₂ и 4 мМ фенилгидразин. Реакцию инициировали внесением ферментного препарата. Об активности ЛЦО-подобной ГО судили по увеличению поглощения при 324 нм, обусловленному образованием комплекса глиоксилата (продукта реакции) с фенилгидразином [Engqvist, 2015].

В листьях гороха и сорго активность фермента ЛДГ и ЛЦО-подобной гликолатоксидазы в контрольных вариантах оставалась практически неизменной относительно исходной точки на протяжении всего эксперимента. В условиях гипоксии, в течение всего времени эксперимента, наблюдалась активация ферментов ЛДГ и ЛЦО-подобной гликолатоксидазы. В листьях обоих растений активность ЛДГ превышала контрольные показатели на протяжении всего эксперимента и достигла максимума уже спустя одни сутки: до 8 раз для растений гороха и до 4 раз – для сорго относительно контрольных образцов (рис. 1). Также, для растений гороха активность ЛДГ, по-сравнению с растениями, сорго оставалась более высокой на протяжении всего эксперимента.

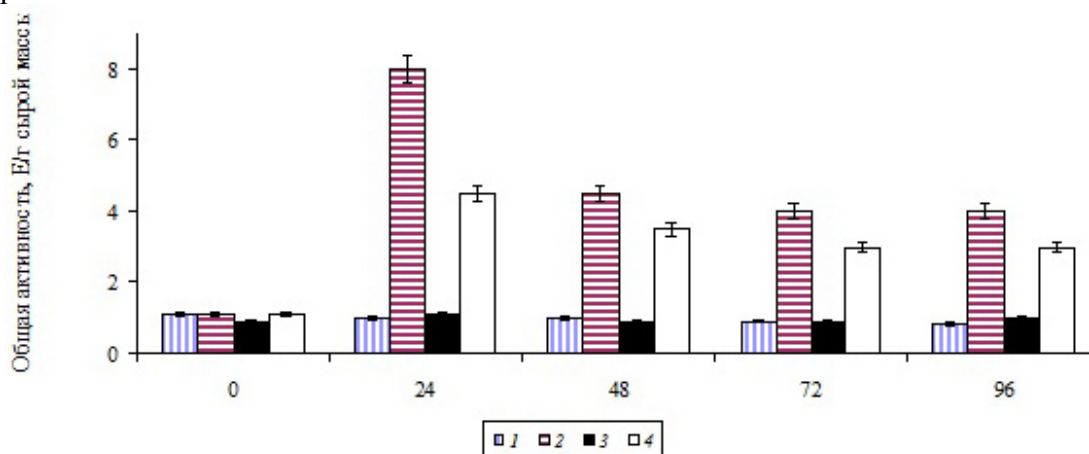


Рис. 1. Динамика активности ЛДГ в листьях гороха и сорго: 1 – контрольные образцы листьев гороха, 2 – опытные образцы листьев гороха, 3 – контрольные образцы листьев сорго, 4 – опытные образцы листьев сорго.

Несколько иная картина наблюдалась в работе фермента ЛЦО-подобной гликолатоксидазы. Активность его в листьях гороха в целом имела те же тенденции, что и для ЛДГ, хотя максимум его работы проявлялся только на вторые сутки и превышал контрольные показатели в 3 раза (рис. 2), а в листьях сорго уже спустя 24 часа произошла активация фермента и показатели его работы превысили контрольные значения в 16 раз, сохраняя свои высокие значения до окончания эксперимента.

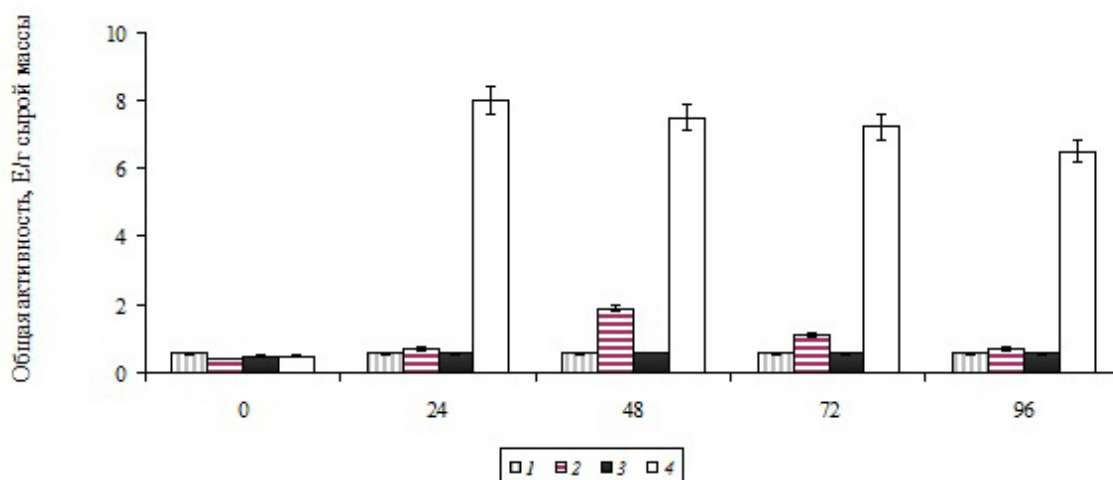


Рис. 2. Динамика активности ЛЦО-подобной гликолатоксидазы в листьях гороха и сорго: 1 - контрольные образцы листьев гороха, 2 – опытные образцы листьев гороха, 3 – контрольные образцы листьев сорго, 4 – опытные образцы листьев сорго.

Таким образом, в результате проведенных исследований можно предположить, что при гипоксии, накапливающийся в клетках лактат, стимулирует работу ЛДГ, утилизирующей молочную кислоту губительную для клеток. Активность ЛЦО-подобной гликолатоксидазы индуцируется в момент перехода растений от гипоксии к условиям достаточного кислородного насыщения, обеспечивая защиту клетки. Высокие показатели работы данного фермента, как мы полагаем, могут объяснить устойчивость растений сорго, ввиду более эффективной работы обоих адаптационных механизмов, обуславливающих выживание растений в стрессовых условиях.

Литература

- Комарова Н.Р., Морозова Ю.А., Сорокина Т.В., Фалалеева М.И., Епринцев А.Т. Динамика изменения активности ключевых ферментов метаболизма пирувата в листьях гороха и сорго // Организация и регуляция физиолого-биохимических процессов: ВГУ. Межрег. сб. науч. работ. - 2017г. - Выпуск 19. - С.120–125.
- Новиков В.Е., Катунина Н.П. Фармакология и биохимия гипоксии (Обзор) // Гос. Мед. академия, Смоленск; Гос. Ун-т, Брянск. - 2002. - Т. 1. № 2. - С. 73–87.
- Скурихин И.М., Нечаев А.П. Все о пище с точки зрения химика. - М.: Высшая шк., 1991. - С. 130–132.
- Чиркова Т.В. Физиологические основы устойчивости растений. - СПб.: Изд-во СПб. ун-та, 2002. - С. 34-35.
- Engqvist M., Schmitz J., Gertzmann A., Florian A., Jaspert N., Arif M., Balazadeh S., Mueller-Roeber B., Fernie A.R., Maurino V.G. Glycolate oxidase3, a glycolate oxidase homolog of yeast L-lactate cytochrome c oxidoreductase, supports L-lactate oxidation in roots of Arabidopsis // Plant Physiol. - 2015. - V. 169. - P. 1042–1061.
- Sweetlove L.J., Dunford R., Ratcliffe R.G., Kruger N.J. Lactate metabolism in potato tubers deficient in lactate dehydrogenase activity // Plant Cell Environ. - 2000. - V. 23. - P. 873–881.

**THE ROLE OF LACTATE DEHYDROGENASE AND LCO-LIKE GLYCOLATE OXIDASE
IN THE ADAPTIVE REACTION OF CELLULAR METABOLISM IN PLANTS
DURING FLOODING OF THEIR ROOT SYSTEM**

N.R. Komarova, T.V. Sorokina, M.I. Falaleeva, A.T. Eprintsev

Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation, *bc366@bio.vsu.ru*

Abstract. The dynamics of changes in the activity of lactate dehydrogenase enzymes and L-lactate-cytochrome c-like glycolate oxidase in leaves resistant to oxygen deficiency sorghum and unstable to hypoxia pea cultivated under flood conditions was studied. Based on the results of the analysis, a mechanism is proposed for the adaptive response of the cellular metabolism involving the enzymes LDH and LCO-like glycolate oxidase, which slow down the acidification of the cytoplasm, in the roots of sorghum and pea during flooding.

Keywords: *lactate dehydrogenase, L-lactate-cytochrome-c-like glycolate oxidase, hypoxia, adaptation*

МИТОХОНДРИАЛЬНЫЕ ДЕГИДРИНЫ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА: ЛОКАЛИЗАЦИЯ И НАТИВНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ В НОРМЕ И ПРИ ГИПОТЕРМИИ

М.А. Кондакова, И.В. Уколова, Г.Б. Боровский, В.К. Войников

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия, *kondakova-marina@mail.ru*

Аннотация. Методами одномерного и двумерного голубого нативного электрофореза (1D BNE, 2D BNE/SDS) с последующей иммунохимической детекцией при помощи антител от разных производителей (фирмы Agrisera и предоставленные профессором Т. J. Close) изучены полиморфизм, нативная организация, и локализация митохондриальных дегидринов проростков гороха *Pisum sativum* L. в оптимальных условиях и при гипотермии.

Ключевые слова: митохондриальные дегидрины, гипотермия, *Pisum sativum* L.

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-427-429

Дегидрины являются высокогидрофильными термостабильными белками, которые относятся ко второй группе белков позднего эмбриогенеза (LEA II) или семейству LEA-D11. Данные полипептиды накапливаются после действия различных стрессоров, приводящих к дегидратации, и выполняют следующие функции: протекция мембран, криозащита ферментов, а также защита от АФК либо путем прямого взаимодействия с опасными молекулами, либо при помощи связывания свободных ионов металлов – катализаторов синтеза АФК [Hanin et al., 2011]. Для дегидринов характерно наличие высоко консервативных последовательностей K, S, и Y, а также мало консервативного Ф-сегмента. Последний обогащен полярными аминокислотными остатками и вносит неупорядоченность в структуру этих белков. В зависимости от наличия консервативных сегментов различают пять видов дегидринов: K_n , SK_n , K_nS , Y_nK_n , Y_nSK_n [Close, 1996].

В клетке дегидрины локализуются в разных компартментах. Они обнаружены в клеточной стенке, цитоплазме, митохондриях, хлоропластах, вакуолях, эндоплазматическом ретикулуме, ядре. Причем в разных компартментах локализуются разные типы дегидринов. Так, например, SK_n чаще встречается в плазматической мембране, K_nS – в митохондриальной фракции, Y_nK_n – обнаружен в цитоплазме и в ядре [Graether, Boddington, 2014]. Кроме того, показано, что наличие большого количества K-сегментов является определяющим фактором при защите от замерзания, а при засухе и солевом стрессе наблюдается индукция синтеза Y-сегментов [Graether, Boddington, 2014].

Накопление дегидринов при стрессе в митохондриях вполне закономерно, поскольку эти органеллы играют важную роль в регуляции метаболизма клетки. Ранее в нашей лаборатории было установлено, что в ответ на действие холода, обезвоживания и обработку АБК в митохондриях проростков озимой пшеницы, ржи и кукурузы происходит накопление дегидринов [Borovskii et al., 2002]. При помощи электронной иммуноцитохимии клеток тканей проростков озимой пшеницы было отмечено увеличение их содержания в период холодовой адаптации в кристах митохондрий [Романенко и др., 2010].

В данной работе мы изучили субмитохондриальную локализацию и нативное состояние дегидринов в оптимальных условиях, а также исследовали влияние гипотермии на содержание LEA-D11 в проростках гороха.

В работе использовали этиолированные проростки гороха (*Pisum sativum* L., сорт Аксайский Усатый 55). Контрольные проростки выращивали в течение 6 суток при +20 °С. Низкотемпературные обработки были следующие: закаливание (+7 °С, 7 суток), мягкий (+2 °С, 7 суток) и жесткий (-7 °С, 1,5 ч) стрессы. Все эксперименты проводили с использованием фракции митохондрий, очищенных на ступенчатом градиенте перколла.

В результате исследований обнаружено, что используемые антитела детектируют разные спектры дегидринов в митохондриях проростков гороха. Так, антитела фирмы Agrisera (Швеция) реагируют с мажорным полипептидом 52 кДа и минорными белками с массами 70, 39 и 35 кДа, тогда как антитела, любезно предоставленные профессором Т. J. Close (Калифорнийский университет, США), детектируют белки 85, 67, 61, 47 и 42 кДа. Известно, что К-сегмент не является абсолютно консервативным и возможны некоторые замены аминокислот в его последовательности [Hanin et al., 2011]. По-видимому, различия в детекции между антителами связаны с вариабельностью К-сегмента, используемого для синтеза антител. Вероятно, антитела двух производителей обнаруживают дегидрины различных видов.

Изучение внутримитохондриальной локализации дегидринов 70 и 52 кДа при помощи антител фирмы Agrisera выявило преимущественно их матриксное расположение. Дегидрин массой 35 кДа, по-видимому, является белком внутренней мембраны, а дегидрин 39 кДа – белком межмембранного пространства. Минорное количество дегидрина 39 кДа обнаружено на второй мере 2D BNE/SDS в области комплекса I. Это позволяет предположить его возможную ассоциацию с дыхательным ферментом с внешней стороны внутренней мембраны. Изучение нативной организации дегидринов при помощи 2D BNE/SDS с последующим иммуноблоттингом впервые показало, что дегидрин 52 кДа имеет нативную массу в пределах 200 кДа. Это может указывать либо на олигомерную, предположительно, гомотетрамерную структуру нативного дегидрина, либо на его ассоциацию с другими митохондриальными белками.

Антитела от Т. J. Close также детектировали дегидрины, преимущественно, имеющие матриксную локализацию. В отличие от дегидринов «Agrisera» белок с массой 85 кДа обнаружен в районе суперкомплекса I+NDA+III₂+IV и в области АТФ синтасомы Va+NDA+NDB+AOX, что говорит о возможной ассоциации дегидрина с этими структурами.

Показано, что при гипотермии различной интенсивности происходит накопление дегидринов «Close», в то время как содержание дегидринов «Agrisera» значительно не изменяется в изучаемых условиях. Интересно, что дегидрины как «Close», так и «Agrisera» сохраняют свою нативную массу и локализацию в условиях гипотермии.

Таким образом, можно предположить, что в митохондриях проростков гороха присутствуют разные типы дегидринов, которые функционально отличаются друг от друга. Так, дегидрины «Close» могут выполнять криопротекторную функцию и защищать как мембраны, так и ферменты от возможных повреждений при гипотермии. Дегидрины «Agrisera» могут предохранять ферменты, в частности комплекс I дыхательной цепи митохондрий, а также митохондриальные мембраны от возможного вредного воздействия АФК в оптимальных условиях развития.

Исследования структуры и функций белков семейства LEA-D11 ведутся уже более тридцати лет, однако их физиологическая роль и механизмы повышения стрессоустойчивости растений все еще до конца не изучены. Дальнейшее всестороннее исследование LEA II поможет разобраться в этом вопросе.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, проект № 14-04-01233 а.

Литература

Романенко А. С., Боровский Г. Б., Уколова И. В., Ломоватская Л. А. Субклеточная локализация дегидринов в проростках растений пшеницы при низкотемпературной адаптации // Биологические мембраны. – 2010. – Т. 27, № 2. – С. 156–165.

Borovskii G. B., Stupnikova I. V., Antipina A. I., Vladimirova S. V., Voinikov V. K. Accumulation of dehydrin-like proteins in the mitochondria of cereals in response to cold, freezing, drought and ABA treatment // BMC Plant Biology. – 2002. – V. 2. – P. 5.

Close T. J. Dehydrins: emergence of a biochemical role of a family of plant dehydration proteins // Physiol. Plant. – 1996. – V. 97. – P. 795–803.

Graether S. P., Boddington K. F. Disorder and function: a review of the dehydrin protein family // Front. Plant Sci., 2014. – V.5. – P. 1–12.

Hanin M., Brini F. E., Ebel C., Toda Y., Takeda S., Masmoudi K. Plant dehydrins and stress tolerance: Versatile proteins for complex mechanisms // Plant signal. Behav. – 2011. – V. 6. – P. 1503–1509.

MITOCHONDRIAL DEHYDRINS OF PEA SEEDLINGS: LOCALIZATION AND NATIVE ORGANIZATION UNDER OPTIMAL CONDITIONS AND AFTER HYPOTHERMIA

M.A. Kondakova, I.V. Ukolova, G.B. Borovskii, V.K. Voinikov

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia, *kondakova-marina@mail.ru*

Abstract. The polymorphism, native organization and localization of mitochondrial dehydrines in pea (*Pisum sativum* L.) shoot mitochondria were studied under optimal conditions and after hypothermia treatment by one- and two-dimensional blue native polyacrylamide gel electrophoresis (1D BNE, 2D BNE/SDS) with following immunochemical detection with antibodies of two manufacturers (Agrisera and antibodies kindly provided by Prof. T. J. Close).

Keywords: *mitochondrial dehydrins, hypothermia, Pisum sativum* L.

РОЛЬ ОМИЧЕСКОЙ И СИСТЕМНОЙ БИОЛОГИИ В ПОНИМАНИИ ОТВЕТНЫХ АБИОТИЧЕСКИХ СТРЕССОВЫХ РЕАКЦИЙ У РАСТЕНИЙ

М.Н. Кондратьев, Ю.С. Ларикова

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет-МСХА имени К.А. Тимирязева», Москва, Россия, minikondr39@mail.ru

Аннотация. Обсуждается роль омической и системной биологии в раскрытии механизмов устойчивости растений к неблагоприятному воздействию абиотических факторов среды. Подчёркивается особая роль технологий Omics (транскриптомики, протеомики, метаболомики), а также взаимодействий ДНК-белок, белок-белок в обеспечении понимания функций генов при их влиянии на фенотипические изменения в конкретном биологическом контексте. Глобальный анализ данных, полученных с помощью технологий Omics, должен интегрироваться на базе биоинформатики. Выявлена специфика ответных реакций растений на абиотические стрессы, так как реакция молекулярных механизмов растений включает взаимодействия со многими обменными процессами. Растения, испытывающие воздействие засухи, в большей степени индуцируют процессы, необходимые для осмотической корректировки и защите от АФК и фотоингибирования, тогда как действие засоления в большей степени активизирует реакции, связанные с энергетическим обменом, переносом ионов, синтезом и обменом белков. Отмечается, что, хотя имеются определённые достижения в исследовании действия стрессирующих факторов на молекулярном, субклеточном, клеточном уровнях, их явно недостаточно при выявлении эффекта абиотического стресса на уровне целого растения и в растительных сообществах, что является прерогативой системного подхода в биологии.

Ключевые слова: абиотический стресс, omics, транскриптомика, протеомика, метаболомика

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-430-434

В течение последнего десятилетия подходы «редукционистской» молекулярной биологии и функциональной биологии постепенно заменяются «целостным» подходом системной биологии. Однако молекулярная биология и системная биология являются фактически взаимозависимыми и взаимодополняющими способами изучения и понимания сложных явлений живых организмов [Cramer et al., 2011]. В настоящее время использование и разработка постгеномных методологий, таких как глобальный анализ транскриптов, протеомов и метаболитов, интегрированных на базе биоинформатики, заметно изменило наши знания и целостное понимание различных функций растений, включая реакцию на абиотические стрессы [Mochida, Shinozaki, 2011]. Системный анализ может включать в себя несколько уровней сложности, начиная от отдельных органелл или клеток, тканей, органов до целых организмов. Эти переменные могут сочетаться с несколькими этапами развития и взаимодействиями окружающей средой, что ещё более усложняет описание ответных реакций растений на действие абиотических стрессов [Cramer et al., 2011].

Прорыв в технологиях Omics привел к разработке новых экспериментов, которые обеспечивают глубокое понимание функции генов, а также их влияние на фенотипические изменения в конкретном биологическом контексте [Jogaiah et al., 2012]. Подходы к системной биологии могут обойти некоторые барьеры, которые ранее блокировали получение знаний, полученных от модельных растений, таких как *Ambidopsis thaliana* и *Medicago truncatula*, к другим экономически важным видам растений в свете текущего прогресса в создании новых последовательностей генома и функциональных ресурсов генома. Предполагается, что эта тенденция сохранится и в

следующем десятилетии в свете текущих изменений в функциональных ресурсах сельскохозяйственных культур и ввиду экспоненциального числа публикаций, опубликованных по исследованиям абиотических стрессов в растениях, использующих подходы к системной биологии [Cramer et al., 2011].

Большинство подходов в системной биологии растений основываются на трех основных направлениях: транскриптомике, протеомике и метаболомике. Помимо этого, для идентификации регуляторных белков, участвующих в комплексных реакциях целого растения, успешно используются взаимодействия между ДНК-белок и белок-белок [Zhang, 2010]. Решающее значение во всех аспектах исследований, основанных на Omics, для эффективного управления различными типами наборов данных генома и получения ценной информации, облегчения обмена знаниями с другими модельными организмами, имеет биоинформатика [Mochida, Shinozaki, 2011].

Транскриптом обозначают полный набор транскриптов в данном организме или специфический набор транскриптов (молекул РНК), представленный в клетках определённого типа. Транскриптомика, называемая профилированием экспрессии, фиксирует пространственную и временную экспрессию гена в тканях растений или популяциях клеток в конкретном биологическом контексте (например, генотип, рост или состояние окружающей среды). Во многих случаях транскриптомический анализ используется для скрининга генов-кандидатов для программ смягчения абиотического стресса [Shinosaki, 2009] или для предсказания предполагаемой функции гена путем ассоциации экспрессированных или совместно выраженных генов в связи с изменением фенотипа растения [Franki et al., 2012]. Транскриптомические подходы должны включать высокоспецифичные, чувствительные и количественные измерения в большом динамическом диапазоне с целью идентификации изменений в структурах и последовательностях транскриптов [Lister et al., 2009]. В качестве примеров успешного использования транскриптомического анализа можно привести исследования с кассавой (*Manihot esculenta* Crantz) [Huang, et al., 2005] и нутом (*Cicer arietinum*) [Gunes et al., 2006].

Протеомику можно определить как науку, которая изучает протеом, то есть, количество белков, содержащихся в данной клетке, ткани, органе, организме или популяциях. Протеомика обычно ассоциируется с двумя типами исследований: 1) характеристика протеома, в которой идентифицированы все белки, выраженные в данной клетке, ткани, органе, организме или популяциях; и 2) дифференциальная протеомика, в которой протеом, например растение в условиях контроля, сравнивают с протеомом того же растения в условиях исследования, таким как воздействие дефицита тяжелого металла или воды, или, в другом примере, сравнение экспрессии белковых профилей между различными сортами пшеницы. Протеомика, преимущественно, использует два лабораторных метода: электрофорез белков (в частности, двумерный электрофорез и DIGE - разницу в гелевом электрофорезе) и идентификацию белка с использованием масс-спектрометрии. Протеомика (особенно дифференциальная протеомика) широко применяется для изучения влияния нескольких абиотических стрессов на органы и ткани растений. Так, как транскриптомика, так и протеомика использовались для изучения эффектов холодовых и солевых стрессов на листьях картофеля (*Solanum tuberosum*) [Evers, 2012]. Результаты позволили выявить ряд дифференцированных генов и белков при действии обоих стрессов. Интересно, что результаты воздействия солей показали сильную понижающую регуляцию генов, участвующих в первичном метаболизме, детоксикационном аппарате и трансдукции сигнала, тогда как при холодном воздействии гены с повышением и понижением уровнем действия были одинаковыми. Напротив, анализ протеома указывал на увеличение экспрессии почти каждого белка, за исключением тех, которые

функционируют в фотосинтетическом аппарате. Результаты этого исследования указывают не только на различия между экспрессией транскриптома и протеома под действием холодового и солевого стрессов, но также показывают, что анализ протеома имеет тенденцию быть более полным, чем анализ транскриптома.

Метод DIGE использовался для изучения эффектов высокого уровня УФ-излучения на листовой протеом артишока (*Cynara*), характеризующегося накоплением высокой концентрации индуцируемых антиоксидантов [Falvo et al., 2012]. Авторы наблюдали в общей сложности 145 белковых зон, из которых 111 были идентифицированы. Большинство белков были дифференциально модулированы, располагались в хлоропластах, принимали участие в фотосинтезе, метаболизме сахаров, в изменении структуры белков и стрессовых реакциях, что открывало новые возможности для понимания физиологических и метаболических изменений, вызванных воздействием ультрафиолетового излучения.

Эти и другие примеры [Farina et al., 2011] демонстрируют преимущества использования (дифференциальной) протеомики для изучения эффектов различных абиотических стрессов, таких как дефицит воды, температура или ультрафиолетовое облучение. Результаты показывают, что большое количество белков и метаболические пути, в которых они принимают участие, находятся под негативным воздействием абиотических стрессов. Преимущества протеомики еще больше подчеркиваются возможностью изучения пост-трансляционных модификаций (PTM), имеющих ключевое значение в физиологических и биохимических реакциях растений на стресс.

Метаболомика в отличие от обычных биохимических подходов использует методики, позволяющие анализировать практически всю совокупность метаболических реакций и продуктов. Растения имеют несколько метаболических путей, ведущих к образованию десятков тысяч вторичных метаболитов, способных эффективно реагировать на стрессовые ситуации, вызванные биотическими и абиотическими факторами. Эти пути, образуемые из продуктов основных процессов первичного метаболизма при первоначальном дублировании генов, часто ограничиваются конкретными таксономическими группами и играют важную роль при взаимодействии растений и окружающей среды [Nascimento, Fett-Neto, 2010]. Очевидно, что различные условия роста растений должны оказывать существенное влияние на синтез и накопление в их органах продуктов вторичного метаболизма. Наиболее серьезными угрозами для сельскохозяйственного производства, при воздействии на растения абиотических стрессовых факторов, являются засуха и засоление. Как правило, растения обладают способностью приспосабливать свой метаболизм к изменениям в окружающей среде. При произрастании в нормальных условиях они синтезируют комплекс вторичных продуктов, однако несколько факторов стресса могут привести к увеличению их производства. Установлено [Kleinwachter, Selmar, 2015], что в условиях стресса возникает значительный избыток восстановительных эквивалентов ($\text{НАДФ}\cdot\text{Н} + \text{Н}^+$), при этом количество вторичных метаболитов выше в растениях, сильно пострадавших от абиотического стресса, чем в растениях, выращенных в оптимальных условиях. Чтобы уменьшить повреждение АФК, $\text{НАДФ}\cdot\text{Н} + \text{Н}^+$ повторно окисляется с помощью фотодыхания и виолаксантинового цикла.

Реакции растений на абиотические стрессы являются динамическими и сложными и подразделяются на обратимые и необратимые. Одним из самых ранних метаболических ответов на действие абиотического стресса и последующее торможение роста является ингибирование синтеза белка [Good, Zaplachinski, 1994], нарушение третичной и четвертичной структуры белковых молекул [Liu, Howell, 2010]. По мере нарастания действия стресса также нарушается углеводный и липидный обмен

[Cramer et al., 2007]. Таким образом, существуют постепенное и комплексное изменение метаболизма в ответ на нарастающее действие стресса.

Реакция молекулярных механизмов растений на абиотические стрессы включает взаимодействия со многими обменными процессами. Одним из самых ранних сигналов при действии многих абиотических стрессов являются АФК (ROS) и активные виды азота (RNS), которые модифицируют активность ферментов и регуляцию генов [Mittler, et al., 2011]. ROS и RNS образуют согласованный комплекс, который регулирует многие реакции растений на окружающую среду. Существует большое количество исследований окислительных эффектов ROS на реакции растений в ответ на абиотические стресс, но имеются лишь единичные работы, в которых описываются нитрозативные эффекты RNS [Molassiotis, Fotopoulos, 2011].

Интеграция данных транскриптомики и метаболомики позволяет идентифицировать различия в ответных реакциях на тот или иной абиотический стресс. Было выявлено, растения, испытывающие воздействие засухи, в большей степени индуцируют процессы, необходимые для осмотической корректировки и защите от АФК и фотоингибирования. Действие засоления в большей степени активирует реакции, связанные с энергетическим обменом, переносом ионов, синтезом и обменом белков [Cramer et al., 2007].

Сопоставление ответных реакций при действии различных абиотических факторов обеспечило новое понимание механизмов их протекания в растительной клетке. Тем не менее, требуется гораздо больше исследований для составления полной картины реакции растений на абиотический стресс. Характер и способы ответов будут в сильной степени зависеть от вида, органа, изучаемых тканей, типа клеток, этапа развития растения, а также от вида стресса (стрессов), действующего на растение, его уровня и продолжительности. Несмотря на огромное количество исследований, посвящённых абиотическому стрессу в последнее десятилетие, в наших знаниях по-прежнему существуют значительные пробелы. Как следует из настоящего обзора, есть определённые достижения в исследовании действия стрессирующих факторов на молекулярном, субклеточном, клеточном уровнях, но их явно недостаточно при выявлении эффекта абиотического стресса на уровне целого растения и в растительных сообществах.

Литература

Cramer G., Ergul A., Grimplet J., Tillett R., Tattersall A., Bohlman M., Vincent D., Sonderegger J., Evans J., Osborne C., Quilici D., Schlauch K., Schooley D., Cushman J. Water and salinity stress in grapevines: early and late changes in transcript and metabolite profiles // *Funct. Integr. Genomics*. – 2007. – V. 7. – P. 111–134.

Cramer G.R., Urano K., Delrot S., Pezzotti M., Shinozaki K. Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective // *BMC Plant Biology*. – 2011. – V. 11. – P. 163.

Falvo S., Di Carli M., Desiderio A., Benvenuto E., Moglia A., America T., Lanteri S., Acquadro A. 2-D DIGE analysis of uv-c radiation-responsive proteins in globe artichoke leaves // *Proteomics*. – 2012. – V. 12. – P. 448–460.

Farinha A.P., Irar S., de Oliveira E., Oliveira M.M., Pages M. Novel clues on abiotic stress tolerance emerge from embryo proteome analyses of rice varieties with contrasting stress adaptation // *Proteomics*. – 2011. – V. 11. – P. 2389–2405.

Francki M.G., Crawford A.C., Oldach K. Transcriptomics, proteomics and metabolomics: integration of latest technologies for improving future wheat productivity // In: Benkeblia N. (ed.) *Sustainable Agriculture and New Technologies*. – Boca Raton: CRC Press, 2012. – P. 425–452.

Good A., Zaplachinski S. The effects of drought stress on free amino acid accumulation and protein synthesis in *Brassica napus* // *Physiol Plant*. – 1994. – V. 90. – P. 9–14.

Gunes A., Cicek N., Inal A., Alpaslan M., Eraslan F., Guneri E., Guzelordu T. Genotypic response of chickpea (*dear arietinum* l.) cultivars to drought stress implemented at pre- and post-anthesis stages and its relations with nutrient uptake and efficiency // Plant and Soil Environment. – 2006. – V. 52. – P. 368–376.

Huang L., Ye Z., Bell R.W., Dell B. Boron nutrition and chilling tolerance of warm climate crop species // Annals of Botany. – 2005. – V. 96. –P. 755–767.

Jogaiah S., Govind S.R., Tran L.S.P. Systems biology-based approaches toward understanding drought tolerance in food crops // Critical Reviews in Biotechnology. – 2012. *In Press* (DOI: 10.3109/07388551.2012.659174).

Kleinwachter M., Selmar D. New insights explain that drought stress enhances the quality of spice and medicinal plants: potential applications // Agron. Sustain. Dev. – 2015. – V. 35. – P. 121.

Lister R., Gregory B.D., Ecker J.R. Next is now: new technologies for sequencing of genomes, transcriptomes and beyond // Current Opinion in Plant Biology. – 2009. – V. 12. – P. 107–118.

Liu J., Howell S. Endoplasmic reticulum protein quality control and its relationship to environmental stress responses in plants // Plant Cell. – 2010. – V. 2. – P. 2930–2942.

Mochida K., Shinozaki K. Advances in omics and bioinformatics tools for systems analyses of plant functions // Plant Cell Physiology. – 2011. – V. 52. – P. 2017–2038.

Mittler R., Vanderauwera S., Suzuki N., Miller G., Tognetti V., Vandepoele K., Gollery M., Shulaev V., Van B. ROS signaling: the new wave? // Trends Plant Sci. – 2011. – V. 16. – P. 300.

Molassiotis A., Fotopoulos V. Oxidative and nitrosative signaling in plants: two branches in the same tree? // Plant Signal Behav. – 2011. – V. 6. – P. 210–214.

Nackimento N., Fett-Neto A. Plant secondary metabolism and challenges in modifying its operation: an overview // Methods Mol Biol. – 2010. – V. 54. – P. 1–13.

THE ROLE OF OMICS AND SYSTEM BIOLOGY IN UNDERSTANDING THE RESPONSE OF ABIOTIC STRESS REACTIONS IN PLANTS

M.N. Kondratyev, Yu.S. Larikova

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Russian Timiryazev State Agrarian University”, Moscow, Russia, *minikondr39@mail.ru*

Abstract. The role of omic and system biology in revealing the mechanisms of plant resistance to the adverse effects of abiotic environmental factors is discussed. The special role of Omics technologies (transcriptomics, proteomics, metabolomics), as well as DNA-protein, protein-protein interactions in providing understanding of gene functions in their influence on phenotypic changes in a particular biological context is emphasized. Global analysis of data obtained by Omics technologies should be integrated on the basis of bioinformatics. The specificity of plant responses to abiotic stresses is revealed, since the reaction of molecular mechanisms of plants includes interactions with many metabolic processes. Plants experiencing drought, to a greater extent induce the processes required for osmotic adjustment and protection against ROS and photoinhibition, whereas the effect of salinity to a greater extent activates reactions related to energy metabolism, ion transport, synthesis and metabolism of proteins it is Noted that, although there are certain achievements in the study of the action strassenmusik factors at the molecular, subcellular, and cellular levels, they are clearly insufficient in identifying the effect of abiotic stress at the level of the whole plant and in plant communities, that is the prerogative of the system approach in biology.

Keywords: *abiotic stress, omics, transcriptomics, proteomics, metabolomics*

ДЕГИДРИНЫ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ И ЕЛИ СИБИРСКОЙ В СЕЗОННОМ ЦИКЛЕ

Н.Е. Коротаева, М.В. Иванова, Г.Г. Суворова, Г.Б. Боровский

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия, knev73@yandex.ru

Аннотация. Сопоставляли количество и сезонную динамику дегидринов (ДГ) хвои сосны обыкновенной (ксерофит) и ели сибирской (мезофит). В разные периоды года хвоя сосны содержала на 1-2 ДГ больше. С наступлением холодного сезона происходил рост содержания ДГ с различными молекулярными массами, но эти белки не были «уникальными» для каждого вида. Слабые различия в полиморфизме ДГ говорят в пользу того, что для сосны и ели приспособленность к определенным условиям среды не определяется разнообразием ДГ хвои.

Ключевые слова: *Pinus sylvestris L.*, *Picea obovata Ledeb.*, хвоя, дегидрины, сезонная холодовая акклимация

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-435-439

Изучение факторов адаптации к неблагоприятным условиям среды является актуальной задачей физиологии растений. Белки-дегидрины (ДГ) известны как факторы сезонной холодовой акклимации, их накопление способствует приобретению устойчивости к стрессам, сопряженным с потерей влаги [Welling, 2006]. ДГ хвойных деревьев остаются слабо изученными, хотя вечнозеленые таежные растения Сибири произрастают в суровых условиях, хорошо адаптированы к смене сезонов и могут быть удачным объектом для изучения ДГ. Различные виды хвойных деревьев отличаются по своим экологическим характеристикам, пределам и оптимумам реализации физиологических функций и границам адаптивного потенциала. Так, сосна требовательна к температуре почвы и светолюбива, тогда как ель теневынослива, требовательна к влажности и богатству почвы, но не требовательна к теплу [Суворова, 2009]. В хвое сосны более выражены черты ксероморфности, чем в хвое ели [Иванова, 2014]. Логично было бы предположить, что растения, принадлежащие к различным экологическим группам, могут различаться по сезонной динамике и составу ДГ. Наличие или отсутствие таких различий могло бы позволить сделать вывод о месте ДГ среди адаптаций, позволяющих представителям вида занимать определенные экологические ниши. Целью данной работы было сопоставление состава ДГ хвои ксерофита (сосны обыкновенной) и мезофита (ели сибирской) в сезонном цикле.

Климатические условия в период исследования были благоприятными для вегетации хвойных: уровень солнечной радиации незначительно отличался от среднегодовых значений; среднемесячная температура воздуха была выше среднегодовых значений; среднемесячная температура почвы на глубине 20 см была ниже среднегодовых значений из-за высокого уровня влажности на протяжении всего вегетационного периода. В апреле, мае и июле общее количество осадков значительно превышало среднегодовые значения этого периода и имело оптимальный уровень в другие месяцы. Для работы использовали хвою второго года сосны обыкновенной и ели сибирской, произрастающих на опытном участке института (возрастом 30 лет). Общий белок, выделенный из хвои, использовали для электрофоретического фракционирования в ПААГ с SDS в системе Mini-Protean (Bio-Rad) с последующим Вестерн-блотом. Содержание ДГ определяли с помощью программы Gel analysis после инкубирования с первичными (Agrisera) и вторичными антителами, конъюгированными со щелочной фосфатазой (Sigma).

В хвое сосны за период исследования было обнаружено восемь ДГ с массами 130, 120, 72, 70, 55, 47, 26 и 14,5 кД, из них содержание белков с массами 120, 72 и 14,5 кД преобладало в пробе по сравнению с другими ДГ (Рисунок, А). В хвое ели были обнаружены ДГ с массами 55, 47, 40, 38, 34 и 14,5 кД (Рисунок, Б). Из них наибольшее содержание отмечалось для белков с массами 55 и 47 кД. ДГ с массами 72, 55, 47 и 14,5 кД были обнаружены в хвое обоих деревьев, остальные белки оказались «уникальными» для каждого вида. В феврале содержание ДГ в хвое сосны было повышено по сравнению с содержанием в октябре.

Содержание ДГ в хвое сосны изменялось по мере изменения сезона года (рисунок, Б). Наибольшее содержание ДГ отмечалось в мае и октябре. При этом ДГ с массами 72 и 70 кД присутствовали в хвое постоянно, остальные белки обнаруживались только в период смены сезонов года (май и октябрь). Эти результаты совпадают с нашими прежними данными [Korotaeva, 2012], однако, массы белков немного отличаются. Мы связываем эти различия, во-первых, с погрешностями определения молекулярной массы белка по пробегу, во-вторых, с использованием в данной работе других антител против ДГ (Agrisera). Содержание ДГ ели также изменялось в зависимости от этапа вегетационного периода: белки с массами 55 и 47 кД присутствовали в хвое в период наблюдений постоянно, тогда как остальные – только в мае-июне и октябре. Белки с массами 53, 35 и 33 кД, похожими на обнаруженные нами ДГ 55, 38 и 34 кД, были ранее обнаружены в работе Kjellsen с соавторами [2013]. Повышенное содержание ДГ в хвое сосны и ели весной и осенью объясняется холодной акклимацией и связью ДГ с ней. Необходимость накопления dhn может быть обусловлена значительной дегидратацией внутриклеточной среды в период подготовки к зиме и в зимний период, связанной с необходимостью избежать образования внутриклеточного льда [Welling, 2006]. При этом ДГ препятствуют слипанию белков обезвоженных клеток, утративших гидратную оболочку [Cuevas-Velazquez, 2014] и способны связывать активные формы кислорода [Sun, 2010], образующиеся в хвое при охлаждении на свету [Kamińska-Rożek, 2005]. Возможно, накопление отдельных ДГ (120 кД весной и 48 кД осенью) обусловлено необходимостью связывать повышенное количество свободных радикалов в клетках хвои в эти периоды.

У сосны нами было обнаружено восемь ДГ, в хвое ели – шесть. В октябре у сосны интенсивно накапливались три ДГ 120, 72 и 14,5 кД, тогда как у ели – два белка 55 и 47 кД. Возможно, большее разнообразие ДГ в хвое сосны связано с ее большей ксерофитностью. Известно, что накопление ДГ тесно связано с приобретением засухоустойчивости [Cuevas-Velazquez, 2014]. Их функции при этом заключаются в связывании воды и защите белков от агрегации при обезвоживании внутриклеточной среды. Однако различия в разнообразии ДГ хвои у сосны и ели невелики. Таким образом, для древесного растения, имеющего значительные ресурсы для переживания неблагоприятных периодов, вероятно, роль ДГ для формирования способности к переживанию недостатка влаги и/или сезонной холодной акклимации не столь велика, как может быть для травянистых растений. В частности, для хвои важную роль могут играть такие факторы, как толщина клеточных стенок, объем мезофилла, соотношение количества мезофилла и защитных и проводящих структурных элементов. С другой стороны, большое разнообразие ДГ у ели может объяснять ее нетребовательность к теплу.

Примечательно, что и у ели, и у сосны обнаружены ДГ, которые присутствуют в хвое постоянно, независимо от смены условий сезона года, хотя количество этих ДГ в летние месяцы все-таки немного меньше. У сосны это белки 70 и 72 кД, у ели – 55 кД (Рисунок, Б). Похожие результаты были получены для ДГ 69, 66, 64 кД из почек березы

плосколистной, произрастающей в Якутии [Пономарев, 2014]. Роль такого постоянного присутствия ДГ пока не ясна, хотя авторы ассоциируют его с ростом и развитием растений в летний период [Пономарев, 2014].

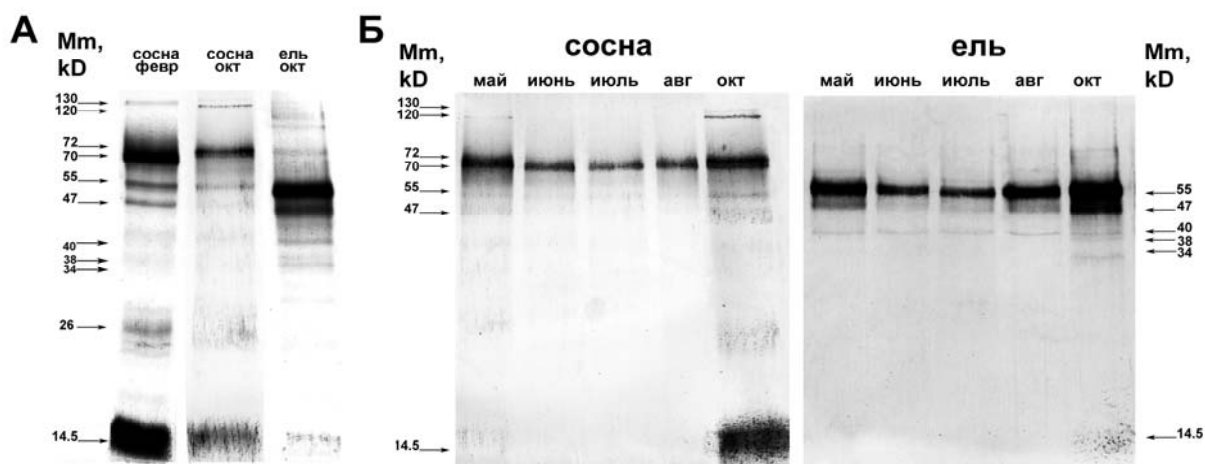


Рисунок. Дегидрины хвои сосны обыкновенной и ели сибирской в октябре (А) и в период вегетации (Б). Молекулярные массы дегидринов приведены слева (А) и справа и слева от рисунка (Б).

В хвое ели впервые показано на протеомном уровне накопление в холодное время года низкомолекулярного (нм) ДГ с массой 14,5 кД. Белок похожей массы был обнаружен ранее в хвое сосны [Korotaeva, 2012; Петров, 2011], березы плосколистной [Пономарев, 2012, 2013] и березы повислой [Татарина, 2013]. Также он был выявлен в сосновой хвое в данной работе. Нм ДГ определялся у зимующих деревьев исключительно в холодные месяцы (февраль-март и октябрь), что говорит в пользу его тесной связи с сезонной холодной акклимацией и того, что он позволяет адаптироваться клеткам хвои к условиям холода. Ряд фактов подтверждает такое предположение. Например, содержание нм ДГ в почках акклиматизированной к холоду березы плосколистной уменьшалось при искусственном раззакаливании [Пономарев, 2012]; накопление нм ДГ хвои сосны Мг 16 кД тесно коррелировало с приобретением морозоустойчивости [Chang, 2016]. Перечисленные факты убедительно говорят в пользу тесной связи между морозоустойчивостью и накоплением нм ДГ. Для генов нм ДГ *Picea glauca* было показано, что их экспрессия возрастала в ответ на дефицит влаги [Sena, 2017], таким образом, можно предположить, что необходимость в их появлении в хвое в период сезонной акклимации к холоду может быть обусловлена зимним обезвоживанием клеток.

Таким образом, при характеристике сезонного цикла ДГ хвои сосны и ели удалось обнаружить как общие черты (сезонная динамика, наличие мажорных и «конститутивных» ДГ), так и различия, связанные с разнообразием и количественным соотношением ДГ у мезофитной ели по сравнению с ксерофитной сосной. Нм ДГ 14,5 кД, который, по литературным данным, связан с развитием холодостойкости и обладает криопротекторными свойствами, обнаружен в хвое обоих деревьев и содержится в хвое сосны в октябре в большем количестве по сравнению с хвоей ели. Большое содержание некоторых ДГ в хвое сосны по сравнению с хвоей ели позволяет предположить, что накопление ДГ может быть одним из факторов, который делает ксерофитность благоприятствующей распространению вида в широких климатических пределах характеристикой. Кроме того, это подтверждает концепцию, согласно которой эволюция развития фотосинтезирующих органов у сосны пошла по пути наращивания

защитных и приспособительных реакций [Суворова, 2009]. С другой стороны, различия в разнообразии ДГ у хвой сосны и ели не были яркими. Вероятно, ДГ, по крайней мере, для древесного растения, не являются компонентом, определяющим занимаемую экологическую нишу, для этого важен комплекс физиологических приспособлений.

Литература

Иванова М.В., Суворова Г.Г. Структура и функция фотосинтетического аппарата хвойных в условиях юга Восточной Сибири. – Иркутск: Изд-во ин-та Географии СОРАН, 2014. – 102 с.

Петров К.А., Софронова В.Е., Бубякина В.В., Перк А.А., Татарина Т.Д., Пономарев А.Г., Чепалов В.А., Охлопкова Ж.М., Васильева И.В., Максимов Т.Х. Древесные растения Якутии и низкотемпературный стресс // Физиология растений. – 2011. – Т.58, № 6. – С. 866–874.

Пономарев А.Г., Татарина Т.Д., Перк А.А., Васильева И.В., Бубякина В.В. Особенности белков, ассоциированных с формированием морозоустойчивости у двух популяций *Betula platiphylla* Якутии // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 1 – С. 341–350.

Пономарев А.Г., Татарина Т.Д., Перк А.А., Васильева И.В., Бубякина В.В. Дегидрины, ассоциированные с формированием морозоустойчивости березы плосколистной // Физиология растений. – 2014. – Т. 61, № 1. – С. 114–120.

Суворова Г.Г. Фотосинтез хвойных деревьев в условиях Сибири. – Новосибирск: Академическое изд-во «Гео», 2009. – 195 с.

Татарина Т.Д., Перк А.А., Бубякина В.В., Пономарев А.Г., Ветчинникова Л.В., Васильева И.В. Дегидрины в почках *Betula pendula* ROTН.: особенности сезонной динамики // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2013. – Т. 15, № 3. – С. 799–801.

Chang C.Y., Fréchet E., Unda F., Mansfield S.D., Ensminger I. Elevated temperature and CO₂ stimulate late-season photosynthesis but impair cold hardening in pine // Plant Physiol. – 2016. – V. 172, № 2. – P. 802–818.

Cuevas-Velazquez C.L., Rendón-Luna D.F., Covarrubias A.A. Dissecting the cryoprotection mechanisms for dehydrins // Frontiers in Plant Science. – 2014. – V. 5. – P. 1–6.

Kamińska-Rożek E., Pukacki P.M. Effect of freezing desiccation on cold hardiness, ROS, membrane lipid levels and antioxidant status in spruce seedlings // Acta Societatis Botanicorum Poloniae. – 2005. – V. 74, No. 3. – P. 219–228.

Kjellsen T.D., Yakovlev I.A., Fossdal C.G., Strimbeck G.R. Dehydrin accumulation and extreme low-temperature tolerance in Siberian spruce (*Picea obovata*) // Tree Physiol. – 2013. – V. 33, No. 12. – P. 1354–1366.

Korotaeva N.E., Oskorbina M.V., Kopytova L.D., Suvorova G.G., Borovskii G.B., Voinikov V.K. Variations in the content of stress proteins in the needles of common pine (*Pinus sylvestris* L.) within an annual cycle // Journal of Forest Research. – 2012. – V. 17, No. 1. – P. 89–97.

Sena J.S., Giguère I., Rigault P., Bousquet J., Mackay J. Expansion of the dehydrin gene family in the *Pinaceae* is associated with considerable structural diversity and drought-responsive expression // Tree Physiology. – 2017. – V. 38, No. 3. – P. 1–15.

Sun X., Lin H.-H. Role of plant dehydrins in antioxidation mechanisms // Biologia. – 2010. – V. 65. – P. 755–759.

Welling A., Palva E.T. Molecular control of cold acclimation in trees // Physiologia Plantarum. – 2006. – V. 127. – P. 167–181.

THE DEHYDRINES OF COMMON PINE AND SIBERIAN SPRUCE WITHIN AN ANNUAL CYCLE

N.E. Korotaeva, M.V. Ivanova, G.G. Suvorova, G.B. Borovskii

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia, knev73@yandex.ru

Abstract. Dehydrins (Dhn) from common pine (xerophyte) and Siberian spruce (mesophyte) needles were compared. In different year periods pine contained 1-2 Dhn more than spruce. With the onset of the cold season there was an increase in the content of Dhn of different molecular masses, but these proteins were not "unique" for each species. Weak differences in the Dhn polymorphism speak in favor that for pine and spruce the fitness for certain environment is not determined by the variety of Dhn in the needles.

Keywords: *Pinus sylvestris L., Picea obovata Ledeb., хвоя, дегидрины, сезонная холодовая акклимация*

ДИНАМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ АКТИВНОСТИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ПРИ ИЗМЕНЕНИИ ОТНОШЕНИЯ СИНЕГО ДИАПАЗОНА СПЕКТРА ФАР К КРАСНОМУ

А.А. Кособрухов^{1,2}, Ю.Ц. Мартиросян^{2,3}, В.Д. Креславский¹, В.В. Мартиросян²

¹Федеральное государственное учреждение науки Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пушкино, Московской обл., Россия, kosobr@rambler.ru

²Федеральное государственное учреждение науки «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия, yumart@yandex.ru

³Федеральное государственное учреждение науки Институт биохимической физики РАН, 119334, Москва, Россия, yumart@yandex.ru

Аннотация. Проведена оценка действия разных спектральных световых режимов с использованием светодиодных облучателей на функциональные характеристики фотосинтетического аппарата растений картофеля, длительно выращиваемых в условиях полного спектрального облучения в области фотосинтетически активной радиации (ФАР) с преобладающим синим (ФАР+СС) или красным облучением (ФАР+КС). Оценена динамика переходных процессов при переносе растений с ФАР+КС на ФАР+СС или с ФАР+СС на ФАР+КС облучение.

Ключевые слова: *картофель, фотосинтетический аппарат, светодиоды*

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-440-442

При постановке эксперимента мы моделировали соотношение красного (КС) и синего (СС) света на фоне полного спектра в соответствии с естественными условиями в различные периоды светового дня, а также возможные динамические процессы при изменении соотношения КС/СС в течение дня. В задачу работы входила оценка динамики переходных процессов фотосинтетического аппарата при переносе растений с ФАР+КС на ФАР+СС или с ФАР+СС на ФАР+КС облучение.

В фитотроне № 1 была увеличена интенсивность облучения растений светодиодами синего света (СД СС). При этом были выключены СД красного цвета (СД КС). В фитотроне №2 повышена доля облучения растений СД красного света (при этом выключены СД СС). В результате отношение СС/КС (при сравнении интенсивностей облучения в двух камерах фитотрона) составляло около 0,7.

Растения, выращенные в условиях полного спектра с большим облучением красным светом, имели меньшую скорость фотосинтеза по сравнению с растениями, выращенными при большем облучения синим светом, как при интенсивности 400 мкмоль/м²с), так и при насыщающей интенсивности света (1200 мкмоль/м²с).

Наблюдаемые скорости фотосинтеза сопоставимы с имеющимися в литературе данными о меньшей активности фотосинтетического аппарата при облучении растений монохроматическим КС [Aksenova et al., 1994; Matsuda et al., 2004]. В нашем случае преимущественно красное или синее облучение растений не приводило к изменениям максимального и эффективного квантового выхода фотосинтеза, скорости электронного транспорта, а также скорости нефотохимического тушения. Более значимые изменения активности фотосинтетического аппарата имели место при смене спектрального светового режима выращивания. Так изменение режима с преимущественно красного на синий приводило к более чем двукратному повышению скорости фотосинтеза при световых условиях выращивания. При световом насыщении скорость фотосинтеза не изменялась. Наблюдалось повышение скорости темнового дыхания, квантовой эффективности фотосинтеза, интенсивности света при насыщении

световой кривой фотосинтеза. Изменение с ФАР+СС на ФАР+КС приводило к снижению скорости процесса как при 400 так и 1200 мкмоль м⁻²с⁻¹, а также снижению скорости темнового дыхания, квантовой эффективности фотосинтеза, интенсивности радиации насыщения световой кривой. Значительное снижение скорости электронного транспорта в ЭТЦ хлоропластов наблюдалось при изменении спектра с ФАР+СС на ФАР+КС. Снижение скорости электронного транспорта и, в результате, снижение скорости синтеза АТФ [Farquhar et al., 1980; Foyer, 1990] может способствовать уменьшению активности Рубиско [Maxwell et al., 1999; Portis et al., 2008]. В этом случае снижение скорости нефотохимического тушения флуоресценции (NPQ), т.е. непроизводительных трат энергии, может уменьшить отрицательный эффект снижения активности реакций первичной стадии фотосинтеза

Выявленные особенности действия синего и красного участков спектра, на активность первичных процессов и скорость фотосинтеза в условиях длительного действия факторов среды на растения, а также в динамике изменения спектрального состава позволяют лучше понять характер приспособления растений в естественных условиях произрастания и должны позволить направленно использовать светодиодные облучатели различного спектрального состава в условиях контролируемого выращивания растений с учетом длительности действия преимущественно синей или красной составляющей спектра облучения.

Литература

Aksenova N.P., Konstantinova T.N., Sergeeva L.I., Machackova I., Golyanovskaya S.A. Morphogenesis of potato plants in vitro. Effect of light quality and hormones // J. Plant Growth Reg. – 1994. – V. 13. – P. 143–146.

Farquhar G.D., von Caemmerer S., Berry J.A. A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ plants // Planta – 1980. – V. 149. – P. 78–90.

Foyer C., Furbank R., Harbinson J., Horton P. The mechanisms contributing to photosynthetic control of electron transport by carbon assimilation in leaves // Photosynth. Res. – 1990. – V. 25. – P. 83–100.

Matsuda R., Ohashi-Kaneko K., Fujiwara K., Goto E., Kurata K. Photosynthetic characteristics of rice leaves grown under red light with or without supplemental blue light // Plant Cell Physiol. – 2004. – V. 45. – P. 1870–1874.

Maxwell K., Borland A.M., Haslam R.P., Helliher B.R., Roberts A., Griffiths H. Modulation of Rubisco activity during the diurnal phases of the Crassulacean Acid Metabolism plant *Kalanchoë daigremontiana* // Plant Physiol. – 1999. – V. 121. – P. 849–856.

Portis A.R., Li, C.S., Wang D.F., Salvucci M.E. Regulation of Rubisco activase and its interaction with Rubisco // J. Exp. Bot. – 2008. – V.59. – P. 1597–1604.

DYNAMIC CHARACTERISTICS OF PHOTOSYNTHETIC APPARATUS ACTIVITY AT CHANGING THE RELATIONSHIP OF THE BLUE RANGE OF THE SPECTRUM OF PAR TO THE RED

A.A. Kosobryukhov^{1,2}, Y. Ts. Martirosyan^{2,3}, V.D. Kreslavski¹, V.V. Martirosyan²

¹Institute of Basic Biological Problems, RAS, Pushchino, Russia, *kosobr@rambler.ru*

²All-Russian Scientific Research Institute of Agricultural Biotechnology, Moscow, Russia, *yumart@yandex.ru*

³Institute of Biochemical Physics, RAS, Moscow, Russia, *yumart@yandex.ru*

Abstract. The effect of different light regimes with the use of LED irradiators on the functional characteristics of the photosynthetic apparatus of potato plants, grown for a long time under conditions of complete spectral irradiation in the region of photosynthetically active radiation (PAR) with predominant blue (PAR + BL) or red irradiation (FAR + RL), was evaluated. The dynamics of transient processes during transfer of plants from PAR + RL to PAR + BL or with PAR + BL on PAR + RL irradiation is estimated.

Keywords: *potato, photosynthetic apparatus, LED*

РОЛЬ ГИББЕРЕЛЛИНОВ В КОРРЕЛЯТИВНОМ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ ПОБЕГОВ У РАСТЕНИЙ ГОРОХА

Л.М. Котова, А.А. Котов

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия, kotov_andrei-62@mail.ru

Аннотация. Взаимодействие побегов в связи с транспортом ИУК и цитокининов было изучено у растений гороха с. *Адагумский* с выраженным апикальным доминированием (*АД*) и карликового с. *Порта* с ослабленным *АД*. В модельной системе двухпобеговых проростков побеги с. *Адагумский* коррелятивно подавляли рост друг друга и ИУК-экспортирующую активность (*ИЭА*), что коррелировало с уровнем ксилемных цитокининов (*Х-СК*), тогда как у с. *Порта* *Х-СК* не регулировали этот процесс. Обработка ГК₃ усиливала *АД* и индуцировала взаимодействие между побегами у с. *Порта*, делая его сходным с с. *Адагумский*.

Ключевые слова: *Pisum sativum*, коррелятивное ингибирование, цитокинины, ИУК, гиббереллины

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-443-447

Введение. Ранее нами было продемонстрировано, что основой коррелятивного взаимодействия побегов в модельной системе двухпобеговых (*2-В*) проростков гороха является взаимодействие между ИУК побегов и *Х-СК* [Kotov and Kotova, 2018]. С одной стороны, цитокинины (*СК*) способны активировать рост побегов и экспорт из них ИУК [Li et al., 1995; Kotov and Kotova, 2018], а с другой стороны, содержание *СК* в ксилемном соке (*КС*) подвержено негативному контролю со стороны ИУК из побегов [Li et al., 1995; Котова и др., 2004; Tanaka et al., 2006; Котов и Котова, 2015; Kotov and Kotova, 2018]. Результаты сравнения для одно- (*1-В*) и *2-В* растений показали наличие гомеостаза ИУК в гипокотиле, поддерживаемого с помощью *СК*: уменьшение содержания ИУК ниже некоторого порога являлось сигналом включения синтеза *СК*, которые, переходя в ксилемный пул, активировали экспорт ИУК из побега, тем самым вновь отключая синтез *СК* [Kotov and Kotova, 2018]. В данной модели снижение ИУК в гипокотиле при удалении одного из побегов активировало в нём синтез *СК* до тех пор, пока их содержание в ксилеме не становилось достаточным для индукции экспорта ИУК из оставшегося побега до уровня, ранее суммарно производимого двумя побегами, что объясняет принцип межпобегового взаимодействия. Нами было обнаружено, что карликовые сорта, которые являются обычно гиббереллин-дефицитными и обладают повышенным ветвлением, отличаются от высоких сортов отсутствием взаимодействия побегов в *2-В* системе. Для изучения данного явления в настоящей работе был проведен сравнительный анализ транспорта и содержания ИУК и *СК* в сортах *Адагумский* (полукарликовый) и *Порта* (карликовый).

Материалы и методы. Семена гороха (*Pisum sativum* L.) сортов *Адагумский* и *Порта* проращивали, как описано ранее [Котов и Котова, 2015]. Для получения *2-В* растений у 4-дневных проростков удаляли эпикотиль и растения культивировали на воде при 20 ± 1 °С, с уровнем света 10 клк и режимом 14 ч свет/10 ч темнота. У части 8-дневных *2-В* проростков удаляли один или оба побега, получая *1-В* или безпобеговые (*0-В*) растения. Через 2 дня проводили сбор проб *КС*, тканей гипокотилия и диффузатов из побегов. У *2-В* и *1-В* проростков с помощью микроскопа МБС 10 в течение 3 дней ежедневно измеряли длину побегов и вычисляли средний суточный прирост ($\Delta L/L$) для 9 проростков \pm SE.

ИЭА побегов определяли диффузатным методом [Kotov and Kotova, 2000]. Значение *ИЭА* для каждого опытного варианта находили как среднее 5 проб из 6

растений \pm SE. Обработку БАП 8-дневных 2-В растений проводили, пропуская через гипокотиль хлопковую нить, конец которой был опущен в эппендорф с 1.5 мл 1 или 10 μ М БАП. Гиббереллином (ГК) обрабатывали, выращивая растения с 8-го дня на водной культуре с добавлением 10 (20) μ М ГК₃. Для обеих обработок через 2 дня проводили определение ИЭА побегов.

Сбор КС проводили вакуумизацией 30 мин при -0.6 (-0.8) МПа [Котов и Котова, 2015]. КС собирали из корня с гипокотилем или только из корня, обрезая проросток непосредственно под семядолями или ниже их на 1.5 см, соответственно. Содержание СК Z-типа определяли методом ELISA [Котов и Котова, 2015]. По результатам 12-18 проб, каждая из 2-4 растений, в SigmaPlot 11 для Windows 7 строили линейную регрессию зависимости между скоростью подъема сока и содержанием в нем СК Z-типа, и по экстраполяции для нулевой точки транспорта сока вычисляли ожидаемый уровень концентрации Z-СК в ксилеме \pm SE.

Пробы тканей гипокотилия собирали, отсекая 2 мм сегмент гипокотилия, отступив приблизительно на 2–3 мм под семядольным узлом. Для каждого опытного варианта брали по 4 пробы (10 сегментов 150 – 250 мг сыр. в. в каждой) и их экстракцию, очистку и ELISA проводили по Kotov and Kotova [2018].

Результаты и обсуждение. Базальные почки у карликового с. *Порта* были более развиты, особенно 2-я, чем у полукарликового с. *Адагумский*, что свидетельствует об ослаблении АД в первом случае (рис. 1). Корневая обработка проростков с. *Порта* 20 μ М ГК₃ незначительно активировала отрастание 1-й и 3-й почки, однако значительно ослабляла отрастание 2-й, в целом делая рост базальных пазушных почек близким к с. *Адагумский*. Данный факт подтверждает, что ослабление АД у с. *Порта* вероятно связано с дефицитом ГК.

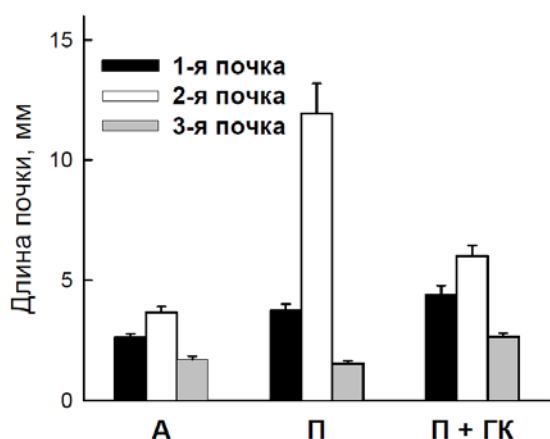


Рис. 1. Длина пазушных почек 12-дневных проростков гороха сортов *Адагумский* (А), *Порта* (П) и *Порта*, выращенных на 20 μ М ГК₃ с 6-го дня (П+ГК).

Удаление одного из побегов у 10-дневных 2-В проростков стимулировало усиление роста оставшегося побега (рис. 2а) и увеличение его ИЭА (рис. 2б) у с. *Адагумский*, тогда как у с. *Порта* не отмечалось ни ростового, ни ауксин-транспортного взаимодействия между побегами. Обработка с. *Порта* 10 μ М ГК₃ индуцировала взаимодействие между побегами на уровне экспорта ИУК, делая с. *Порта* сходным с с. *Адагумский* (рис. 2б), что подтверждает ранее сделанное предположение о дефиците ГК у с. *Порта*.

У с. *Адагумский* введение в гипокотиль 1 μ М БАП увеличивало ИЭА побегов в 2-В растениях до ИЭА 1-В побегов (рис. 3), а анализ ксилемного сока показал, что различие роста и ИЭА побегов в 2-В и 1-В проростках обусловлено разным уровнем Х-СК (рис. 4). Таким образом, для данного сорта результаты свидетельствовали о ключевой роли СК во взаимодействии побегов. При сравнении сортов *Адагумский* и *Порта*, в последнем уровне Х-СК 2-В и 1-В проростков практически не отличались и были в 2 раза ниже, чем в 1-В проростках с. *Адагумский* (рис. 4), ИЭА побегов которых было даже немного ниже, чем у с. *Порта* (рис. 2б). Принимая во внимание сходную чувствительность к СК у обоих сортов (рис. 3), очевидно, что уровень Х-СК у с. *Порта*

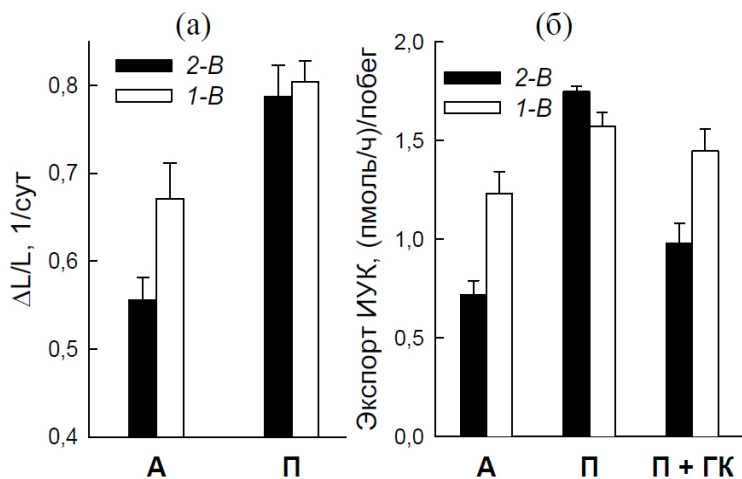


Рис. 2. Относительный суточный прирост ($\Delta L/L$) побегов у 9-дневных 2-В и 1-В проростков (а) и (б) экспорт ИУК из побегов 10-дневных проростков сортов *Адагумский* (А), *Порта* (П) и *Порта*, выращенных на 10 μM ГК₃ с 8-го дня (П+ГК).

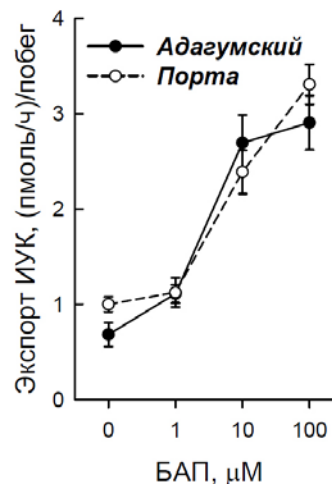


Рис. 3. Действие введения раствора БАП в гипокотиль на экспорт ИУК из побегов 10-дневных 2-В растений сортов *Адагумский* и *Порта*.

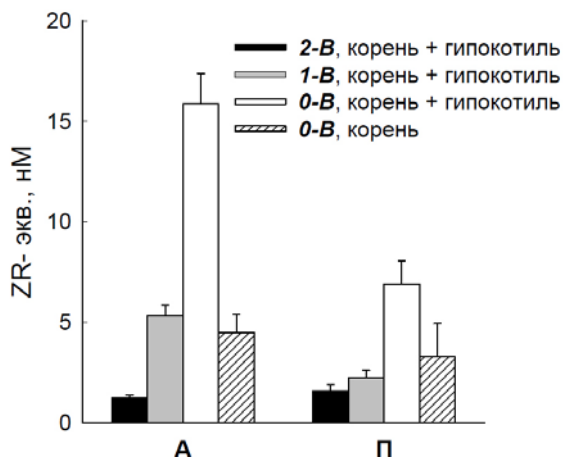


Рис. 4. Концентрация СК Z-типа в КС 10-дневных растений сортов *Адагумский* (А) и *Порта* (П).

не соответствовал наблюдаемой ИЭА побегов, и в данном случае X-СК не могли являться регуляторами ИЭА и роста побегов. Одним из предположений является то, что побеги у с. *Порта*, возможно, способны автономно синтезировать СК, что объясняло бы независимость их роста и ИЭА друг от друга и отсутствие ответа на введение в гипокотиль 1 μM БАП (рис. 3), однако данное предположение нуждается в проверке и подтверждении возможной роли ГК в данном процессе.

Данные по содержанию гормонов в гипокотиле, который является наиболее вероятном местом контроля синтеза X-СК ауксином, экспортируемым из побегов [Kotov and Kotova, 2018] для 1-В и 2-В растений с. *Адагумский* свидетельствовали о наличии гомеостаза

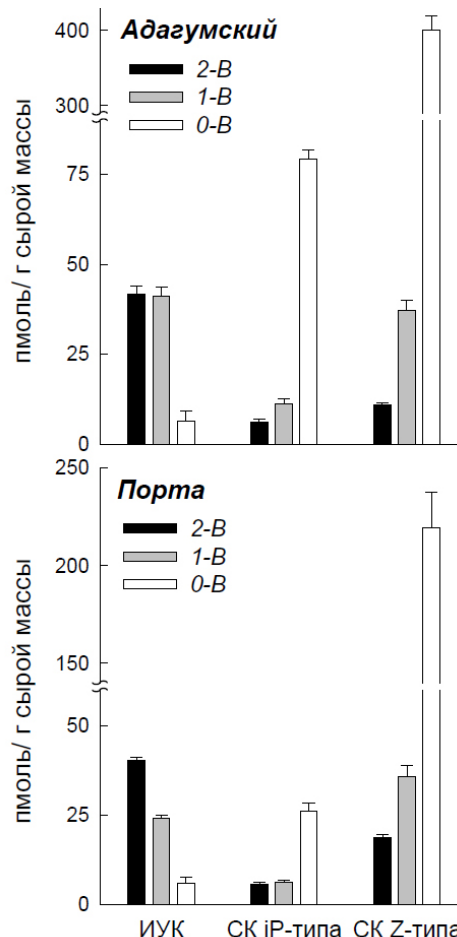


Рис. 5. Содержание ИУК и СК Z- и iP-типа в гипокотиле 2-В, 1-В и 0-В 10-дневных проростков.

ИУК в гипокотиле (рис. 5), поддерживаемым СК через активацию экспорта ИУК из побегов согласно ранее описанной динамической модели [Kotov and Kotova, 2018]. Как уже отмечалось, у с. *Порта*, видимо, нарушена связь между экспортом ИУК из побегов и Х-СК, и, таким образом, ИУК-СК баланс в гипокотиле у 1-В и 2-В растений качественно отличался от с. *Адагумский*. У с. *Порта* меньшему содержанию ИУК соответствовал больший уровень СК (рис. 5), что согласуется с положением о негативной регуляции синтеза СК ауксинами [Tanaka et al., 2006]. В этом случае, однако, становится неясен механизм, отключающий синтез и определяющий верхнюю границу содержания СК, который в модели для с. *Адагумский* контролируется отрицательной обратной связью с экспортом ИУК из побегов [Kotov and Kotova, 2018]. Предположительно, существует авторегуляция синтеза СК, которые способны стимулировать экспрессию TIR/AFB ауксиновых рецепторов [Kolachevskaya et al., 2017], тем самым увеличивая чувствительность к ИУК и активируя ее негативный эффект на синтез СК, однако данная гипотеза требует экспериментального подтверждения.

Литература

Котов А.А., Котова Л.М. Роль акропетального водного транспорта в регуляции уровня цитокининов в стеблях проростков гороха // Физиология растений. – 2015. – Т. 62, № 3. – С. 420–431.

Котова Л.М., Котов А.А., Кара А.Н. Изменение баланса фитогормонов в стеблях и корнях гороха после декапитации проростков // Физиология растений. – 2004. – Т. 51, № 1. – С. 121–125.

Li C., Bangerth F. Stimulatory effect of cytokinins and interaction with IAA on the release of lateral buds of pea plants from apical dominance. // J. Plant Physiol. – 2003. – V. 160, № 9. – P. 1059-1063.

Li C.-J., Guevara E., Herrera J., Bangerth F. Effect of apex excision and replacement by 1-naphthylacetic acid on cytokinin concentration and apical dominance in pea plants // Physiol. Plant. – 1995. – V. 94, № 3. – P. 465–469

Kolachevskaya O.O., Sergeeva L.I., Floková K., Getman I.A., Lomin S.N., Alekseeva V.V., Rukavtsova E.B., Buryanov Y.I., Romanov G.A. Auxin synthesis gene *tms1* driven by tuber-specific promoter alters hormonal status of transgenic potato plants and their responses to exogenous phytohormones // Plant Cell Rep. – 2017. – V. 36, № 3. – P. 419–435.

Kotov A.A., Kotova L.M. The contents of auxins and cytokinins in pea internodes as related to the growth of lateral buds // J. Plant Physiol. – 2000. – V. 156, № 4. – P. 438–448.

Kotov A.A., Kotova L.M. Auxin-cytokinin interactions in regulating correlative inhibition in two-branched pea seedlings // J Exp. Bot. – 2018. –

Tanaka M., Takei K., Kojima M., Sakakibara H., Mori H. Auxin controls local cytokinin biosynthesis in the nodal stem in apical dominance // Plant J. – 2006. – V. 45, № 6. – P. 1028–1036

THE ROLE OF GIBBERELLINS IN CORRELATIVE INTERACTIONS BETWEEN THE SHOOTS OF PEA PLANTS

L.M. Kotova, A.A. Kotov

K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia, *kotov_andrei-62@mail.ru*

Abstract. The interactions of shoots in relation to the transports of IAA and cytokinins were studied in pea plants of cv. *Adagumsky* having a strong apical dominance (*AD*) and a dwarf cv. *Porta* with a weakened *AD*. In a model system of two-branched seedlings, the shoots of cv. *Adagumsky* competitively suppressed the growth and IAA export activity (*IEA*) of each other, and that correlated with the levels of xylem cytokinins (*X-CK*), while *X-CK* did not participate in this process in cv. *Porta*. The treatment with GA₃ enhanced *AD* and induced the shoot interaction in cv. *Porta*, making it similar to cv. *Adagumsky*.

Keywords: *Pisum sativum*, correlative inhibition, cytokinins, IAA, gibberellins

АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ ЭКСТРАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ЛИСТЬЕВ КАРТОФЕЛЯ НА *BACILLUS THURINGIENSIS*

А.В. Крыжко, Л.Н. Кузнецова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма», Симферополь, Россия, solanum@ukr.net

Аннотация. На сохранность энтомопатогенных бактерий *B. thuringiensis* на поверхности обработанных листьев растений влияют различные экологические факторы, среди которых и экстрактивные вещества растений. Установлено, что экстрактивные вещества картофеля сорта Невский оказывают антибактериальное действие на штаммы *B. thuringiensis* 994, 787 и 0371, что является дополнительным экологическим фактором, который влияет на динамику сохранности спор *B. thuringiensis* на поверхности листьев обработанных растений.

Ключевые слова: *Bacillus thuringiensis*, экстрактивные вещества, картофель антибактериальное действие

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-448-449

Использование препаратов на основе энтомопатогенных бактерий *B. thuringiensis* в агроценозах картофеля против колорадского жука является одним из перспективных методов защиты растений, что обеспечивает выход качественной, экологически безопасной продукции. Однако на сохранность энтомопатогенов на поверхности обработанных листьев растений влияют различные экологические факторы. Среди биотических факторов значительное влияние могут оказывать экстрактивные вещества растений, которые способны не только подавлять рост бактерий *B. thuringiensis*, но и влиять на их развитие [Кузнецова, 1986] и образование энтомоцидных кристаллов [Кольчевский, 1981]. Известно также, что картофель имеет экстрактивные вещества белковой природы, обладающие антибиотическими свойствами против *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis* [Pannu et al., 2012].

Исходя из вышесказанного, целью исследований было изучение влияния экстрактивных веществ картофеля сорта Невский на рост и развитие бактерий штаммов *B. thuringiensis* 994, 787, 0371 и 0411.

Исследования проводили в лабораторных условиях на мясо-пептонном агаре (МПА) [Данини, 1952]. Оценку действия экстрактивных веществ – по зоне задержки роста бактерий и непосредственно по количеству колоний на чашках Петри.

Установлено, что экстрактивные вещества картофеля сорта Невский на разных фазах развития растений характеризуются разным бактериостатическим действием в отношении исследуемых патогенов.

Анализируя влияние экстрактивных веществ картофеля в фазе всходов, отмечено, что размер зоны задержки роста бактерий в чашках на МПА в варианте со штаммом 994 достигал 2,5 мм, в варианте со штаммом 787 – 4,5 мм. В вариантах со штаммами 0371 и 0411 задержки роста бактерий замечено не было. Количество колоний, которые формировались в чашках в вариантах с исследуемыми штаммами, равнялась количеству колоний контрольного варианта, кроме вариантов со штаммами 787 и 0371, где наблюдали уменьшение количества колоний относительно контроля, соответственно в 2,8 и 1,3 раз. При микроскопировании таких колоний на стадии развития вегетативных клеток (через 8-10 часов) отмечали разницу в численности клеток в цепочках бактерий опытных и контрольных вариантов. Так, в варианте со штаммом 787 количество клеток в цепочках опытных вариантов достигала 14-18

клеток, в контрольных – 11-13 клеток. В дальнейшем, через двое суток культивирования установлено ускорение роста бактерий на стадиях вегетативных клеток и спорообразования в сравнении с контролем.

На фазе бутонизации размер стерильной зоны на чашках в варианте со штаммом 994 достигал 1,5 мм, в варианте со штаммом 787 – 3,5 мм. Количество колоний в таких вариантах была в 1,5 раз меньше, чем в контроле. В вариантах со штаммами 0371 и 0411 существенного влияния экстрактивных веществ картофеля на бактерии не отмечено.

На фазе цветения экстрактивные вещества картофеля не вызывали образование стерильной зоны в варианте со штаммами 994, 0371 и 0411, а в варианте со штаммом 787 стерильная зона достигала 2,8 мм. Количество колоний на чашках в вариантах со штаммами 994 и 0371 была в 1,2 раза меньше, чем в контроле, а в варианте со штаммом 787 – в 2,8 раз.

На фазе созревания влияния экстрактивных веществ картофеля на развитие культур исследуемых штаммов *B. thuringiensis* не установлено.

Таким образом, показано, что экстрактивные вещества картофеля сорта Невский оказывают антибактериальное действие на энтомопатогенные штаммы бактерии *B. thuringiensis* 994, 787 и 0371, что является дополнительным экологическим фактором, который влияет на динамику сохранности спор *B. thuringiensis* на поверхности листьев обработанных растений.

Литература

Данини Е.М. Элементарные методики изучения антибактериальных свойств фитонцидов высших растений // Фитонциды, их роль в природе и значение для медицины. – М.: Изд-во АМН СССР, 1952. – 330 с.

Кольчевский А.Г. Влияние фитонцидов растений, произрастающих в биоценозах капустных и картофельных полей на *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* шт. 202 // Бюл. ВНИИ с.-х. микробиологии. – 1981. – № 33. – С. 57–60.

Кузнецова Л.Н. Циркуляция и сохранность *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* в очагах американской белой бабочки как основа рационального применения битоксибациллина: – Автореф. дис. ...канд. биол. наук. Л., 1986. – 17 с.

Pannu J.S., Kapoor R.K. and Yadav R. Comparative antibiotic potential of different varieties of potato tubers // Int. J. Pharm. Sci. Res. – 2014. – № 5(12). – P. 5389-93. doi: 10.13040/IJPSR.0975-8232.5 (12).5389-93

ANTIMICROBIAL ACTION OF POTATO LEAVES VOLATILE EXTRACTIVES ON *BACILLUS THURINGIENSIS*

A.V. Kryzhko, L.N. Kuznetsova

Federal State Budget Scientific Institution «Research Institute of Agriculture of Crimea», Simferopol, Crimea, Russia, solanum@ukr.net

Abstract. The safety of *B. thuringiensis* entomopathogenic bacteria on the surface of the treated plant leaves is influenced by the various environmental factors, including plant volatile extractives. It was found that the volatile extractives of potato Nevsky variety have an antibacterial effect on the *B. thuringiensis* 994, 787 and 0371 strains. This fact affects the dynamics of bacteria spores preservation on the surface of treated plants leaves.

Keywords: *Bacillus thuringiensis*, volatile extractives, potato, antimicrobial action

МОДУЛЯЦИЯ УРОВНЯ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА И КОМПОНЕНТОВ АДЕНИЛАТЦИКЛАЗНОЙ СИГНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ В КОРНЯХ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЭФФЕКТИВНОСТИ ШТАММОВ *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM* BV. *VICEAE*

О.В. Кузакова, Л.А. Ломоватская, А.С. Романенко

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия, titanic87@list.ru

Аннотация: Изучали динамику изменений уровней цАМФ и H_2O_2 в зонах корня проростков гороха, отличающихся разной чувствительностью к ризобиальной инфекции, при инокуляции их *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* с разной симбиотической эффективностью и конкурентоспособностью. Установлено, что зоны корня неодинаково реагируют на инокуляцию бактериями. Предполагается, что различия в степени модуляции уровней сигнальных молекул в ответ на инфицирование контрастными по степени эффективности штаммами могут быть связаны с выделением последними МАРPs разного состава.

Ключевые слова: *Pisum sativum* L., *Rhizobium leguminosarum*, цАМФ, H_2O_2 , бобово-ризобиальный симбиоз

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-450-453

Симбиотическое взаимодействие между бобовыми растениями и клубеньковыми бактериями рода *Rhizobium leguminosarum* (*Rlv*) во многом зависит от нодуляционной эффективности последних [Глянько, 2017]. Эффективные штаммы бактерий способны образовывать крупные, азотфиксирующие клубеньки, в то время как неэффективные штаммы инициируют образование мелких, белых клубеньков [Lohar et al., 2006].

Известно, что на всех этапах контакта симбионтов происходит синтез и обмен различными сигнальными молекулами, в результате которого запускаются процессы, определяющие специфичность взаимодействия [Gourion et al., 2015; Nelson, Sadowsky, 2015]. Такой обмен приводит к модуляции активности сигнальных систем как растений, так и бактерий и определяет дальнейший ход событий. Так, у гороха в зоне молодых корневых волосков при инфицировании *Rhizobium leguminosarum* изменяется активность НАДФН-оксидазы, что приводит к изменению уровня АФК [Bindschedler et al., 2001]. H_2O_2 , в частности, регулирует кальциевый статус клетки путем прямого или опосредствованного влияния на поступление ионов Ca^{2+} в цитозоль. Показана роль H_2O_2 в установлении гормонального статуса клеток, в модуляции активности МАП-киназной сигнальной системы, запуске факторов транскрипции. Однако, до конца не ясна роль вторичных мессенджеров других сигнальных систем.

Поэтому целью данного исследования являлось выявление особенностей динамики уровней цАМФ и H_2O_2 в зонах корня гороха под воздействием различающихся по эффективности штаммов *Rlv*, в связи с интенсивностью их сорбции.

В работе использовали следующие штаммы *Rhizobium leguminosarum*: 1022 – эффективный; 1064 – неэффективный, высоконкурентный; 1065 – неэффективный по азотфиксации.

Инокуляцию трехсуточных стерильных проростков гороха *Rlv* проводили в течение 360 мин. Уровень цАМФ определяли методом иммуноферментного анализа [Lomovatskaya et al., 2011]. Концентрацию H_2O_2 выявляли при помощи FOX-метода, основанного на изменении окраски ксиленолового оранжевого [Galletti, 2008].

Известно, что у бобовых растений участки корня по-разному восприимчивы к проникновению бактерий. Для анализа использовали пять зон корня: 1 – меристема,

2мм; 2 – зона без корневых волосков, 2-7мм; 3 – зона, содержащая зачатки корневых волосков, 7-12 мм; 4 – зона молодых корневых волосков, 12-17 мм; 5 – зона сформированных корневых волосков, 17-22мм от кончика корня; 6 – эпикотиль.

Проведенные исследования показали, что различные по эффективности штаммы *Rlv* различались между собой как по интенсивности сорбции, так и по реакции вторичных мессенджеров в различных участках корня (рис. 1-3).

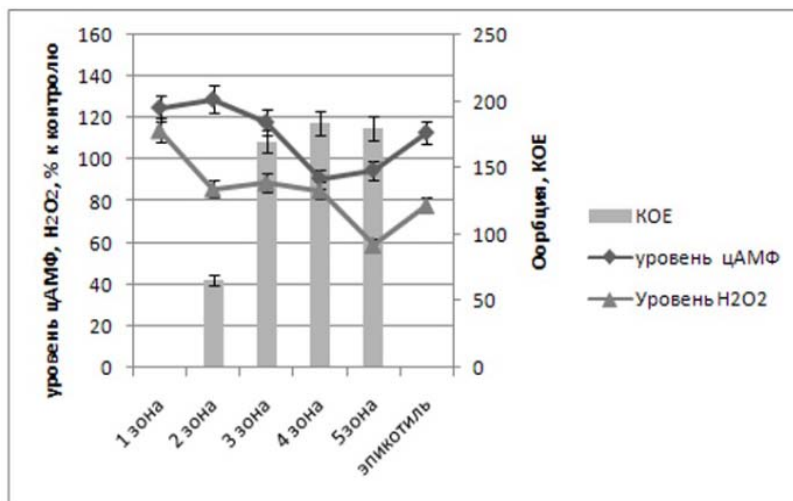


Рис. 1. Интенсивность сорбции *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* 1022, изменение концентрации цАМФ, H₂O₂ в различных зонах корня проростка гороха.

Наибольшее количество колониеобразующих единиц (КОЕ) эффективного 1022 и неэффективного 1064 штаммов было зафиксировано в 3-5 зонах (120-190 КОЕ) (рис. 1, 2).

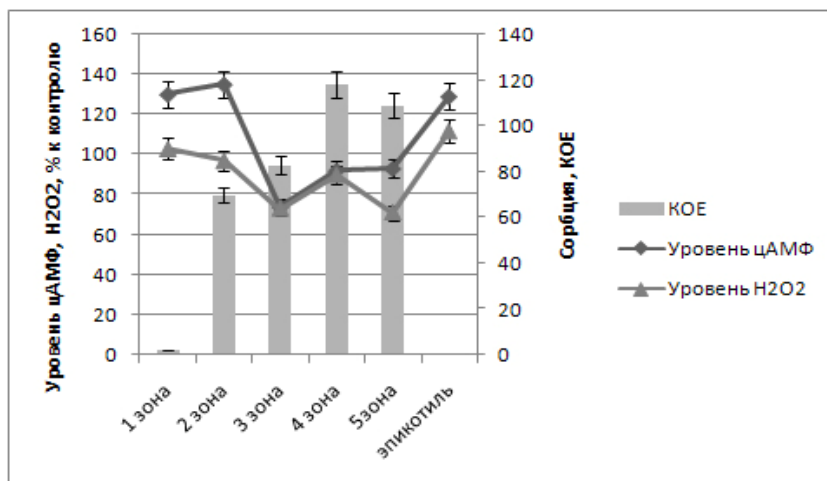


Рис. 2. Интенсивность сорбции *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* 1064, изменение концентрации цАМФ, H₂O₂ в различных зонах корня проростка гороха.

Наибольшее проникновение неэффективного штамма 1065 наблюдалось в 5 зоне (32 КОЕ) (рис. 3). Различия в адгезии бактерий разными зонами корня может быть связано с длиной корневых волосков, находящихся в этих участках. Таким образом, 3-5 зоны имеют большую площадь для проникновения микрочастички.

Высокий уровень цАМФ и H₂O₂ в 1-2 зонах корня гороха (130-140% от контроля),

при инфицировании всеми штаммами *Rlv* на фоне сниженной сорбции свидетельствует об активной защитной функции сигнальных систем, продуцирующих сигнальные молекулы, что создает препятствие для проникновения микросимбионтов в клетки корня.

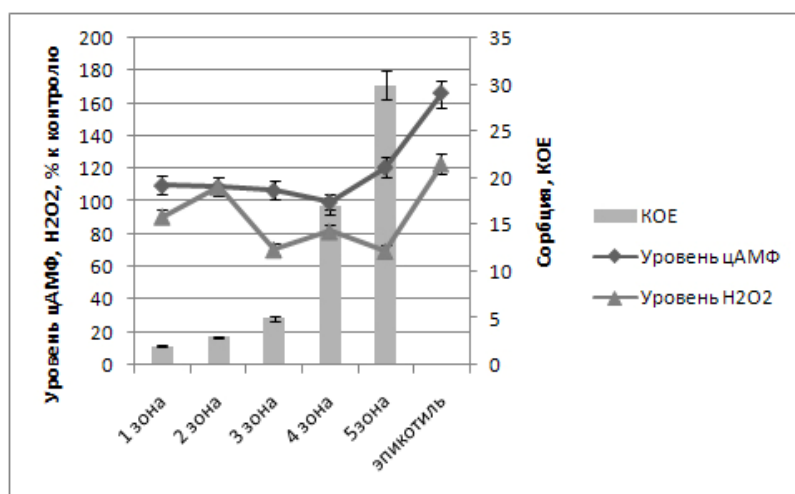


Рис. 3. Интенсивность сорбции *Rhizobium leguminosarum* bv.viceae 1065, изменение концентрации цАМФ, H₂O₂ в различных зонах корня проростка гороха.

Следует отметить высокий уровень вторичных мессенджеров и в эпикотиле, где сорбция отсутствовала (рис. 1-3). В зонах молодых и зрелых корневых волосков (3-5 зоны) цАМФ, H₂O₂ подавляют защитные механизмы растений, что, в свою очередь, приводит к установлению симбиотических взаимоотношений.

Основываясь на полученных результатах, можно предположить, что аденилатциклаза выполняет регуляторную функцию, запуская процессы, приводящие к установлению или блокированию симбиотических взаимоотношений между *Rhizobium leguminosarum* и бобовыми растениями [Ломоватская и др., 2010].

Различия в степени модуляции уровней сигнальных молекул в ответ на инфицирование контрастными по степени эффективности штаммами ризобий могут быть связаны с выделением последними MAMPs (microbial-associated molecular patterns) [Saeki, 2011]. В состав паттернов входят экзополисахариды, липополисахариды, адгезины, глюкан.

Эти вещества способны активировать различные сигнальные системы растений с помощью трансмембранных рецепторов PRRs (pattern recognition receptors). Кроме того, *Rhizobium leguminosarum* отличаются и по составу липохитоолигосахаридов [Fliegmann, Bono, 2015]. Можно предположить, что они способны модулировать активность сигнальных систем в различных зонах корня гороха через специфические рецепторы к определенным компонентам MAMPs.

Кроме того, известно, что MAMPs способны вызывать «кальциевую волну», приводя к повышению концентрации внутриклеточного Ca²⁺ [Galletti, 2008]. Всплеск этого вторичного мессенджера в клетках растений модулирует как уровень пероксида водорода, так и, возможно, активность растворимой и трансмембранной форм аденилатциклазы, являющимися кальций-зависимыми формами фермента [Jeandroz et al., 2013].

Таким образом, можно предположить, что нодуляционные свойства бактерий оказывают различное влияние на уровень цАМФ и пероксида водорода в клетках корня гороха.

Литература

Глянько А.К. Иммуитет бобового растения, инфицированного клубеньковыми бактериями *Rhizobium* spp. F. // Прикладная биохимия и микробиология. – 2017. – Т. 53. – С. 136–145.

Ломоватская Л.А., Романенко А.С., Филинова Н.В. Аденилатциклазы и устойчивость растений к стрессам. – Иркутск: Изд-во Института географии СО РАН, 2010. – С. 87–91.

Bindschedler L.V., Minibayeva F., Gardner S.L., Gerrish C., Davies D.R., Bolwell G.P. Early signalling events in the apoplastic oxidative burst in suspension cultured French bean cells involve cAMP and Ca²⁺ // *New Phytol.* – 2001. – V. 151. – P. 185–194.

Fliegmann J., Bono J-J. Lipo-chitooligosaccharidic nodulation factors and their perception by plant receptors // *Glycoconj. J.* – 2015. – V. 32. – P.455–464.

Galletti R. The AtrbohD-Mediated Oxidative Burst Elicited by oligogalacturonides in *Arabidopsis* is dispensable for the activation of defense responses effective against *Botrytis cinerea* // *Plant Physiol.* – 2008. – V. 148. – P. 1695–1706.

Gourion B., Berrabah F., Ratet P., Stacey G. Rhizobium-legume symbioses: the crucial role of plant immunity // *Trends Plant Sci.* – 2015. – V. 20. – P. 186–194.

Jehandroz S., Lamotte O., Astier J., Rasul S., Trapet P., Besson-Bard A., Bourque S., Nicolas-Frances V., Berkowitz G.A., Wendehenne D. There's more to the picture than meets the eye: nitric cross talk with Ca²⁺ signaling // *Plant Physiol.* – 2013. – V. 163. – P. 459–470.

Lohar D.P., Sharopova N., Endre G., Penuela S., Samac D., Town C., Silverstein K.A.T., Vanden Bosch K.A. Transcript analysis of early nodulation events in *Medicago truncatula* // *Plant Physiol.* – 2006. – V.140. – P. 221–234.

Lomovatskaya L.A., Romanenko A.S., Filinova N.V., Dudareva L.V. Determination of cAMP in plant cells by a modified enzyme immunoassay method // *Plant Cell Rep.* – 2011. – V. 30. – P. 125–132.

Nelson M.S., Sadowsky M.J. Secretion systems and signal exchange between nitrogen-fixing rhizobia and legumes // *Front. Plant Sci.* – 2015. – V. 6. – P. 491–496.

Saeki K. Rhizobial measures to evade host defense strategies and endogenous threats to persistent symbiotic nitrogen fixation: a focus on two legume rhizobium model systems // *Cel. Mol. Life Sci.* – 2011. – V. 68. – P. 1327–1339.

MODULATION OF THE HYDROGEN PEROXIDE LEVEL AND COMPONENTS OF THE ADENYLATE CYCLASE SIGNALING SYSTEM IN ROOTS OF PEA SEEDLINGS DEPENDING ON THE EFFECTIVENESS OF *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM* BV. *VICEAE* STRAINS

O.V. Kuzakova, L.A. Lomovatskaya, A.S. Romanenko

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia, titanic87@list.ru

Abstract. The dynamics of changes in the levels of cAMP and H₂O₂ in root zones of pea seedlings which differ in their sensitivity to the rhizobial infection while being inoculated by *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* with different symbiotic efficiency and competitiveness was studied. The root zones have been established to react unequally to the bacterial inoculation. The differences in the degree of modulation of the levels of signaling molecules in response to the infecting with the contrasting strains are supposed to be associated with the release of MAMPs of a various composition by the latter.

Keywords: *Pisum sativum* L., *Rhizobium leguminosarum*, cAMP, H₂O₂, legume-rhizobial symbiosis

ВЛИЯНИЕ ФЕРУЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА ФЕНОЛОКСИДАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ АЗОСПИРИЛЛ

М.А. Купряшина, В.Е. Никитина

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук, Саратов, Россия, *kupryashina_m@mail.ru*

Аннотация. Показано, что бактерии рода *Azospirillum* способны к деградации феруловой кислоты. Детектировано повышение активности внеклеточных лигнин- и Mn-пероксидаз азоспирилл в присутствии феруловой кислоты в среде культивирования.

Ключевые слова: *Azospirillum*, феруловая кислота, Mn-пероксидаза, лигнин-пероксидаза

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-454-457

На сегодняшний день не теряют свою актуальность исследования механизмов взаимодействия симбиотических микроорганизмов с растениями в зоне ризосферы. Известно, что на начальных этапах становления растительно-микробной ассоциации особую роль играют вторичные метаболиты макропартнера [Narula, 2009]. Вещества этой группы являются активаторами или ингибиторами многих обменных процессов, а также наиболее распространенными токсинами. Так, феруловая кислота – вторичный метаболит растений, участвующий в аллелопатических взаимодействиях, оказывает угнетающее действие на почвенную микрофлору, ингибируя бактериальные β-галактозидазы, нитратредуктазы, α-глюкозидазы и другие ферменты [Borges, 2013; Singh, 2014]. По-прежнему одними из наиболее исследуемых модельных объектов ассоциативного симбиоза являются рост-стимулирующие бактерии рода *Azospirillum* [Fibach-Paldi, 2012]. Ранее нами была обнаружена способность бактерий рода *Azospirillum* к синтезу фенолоксиляющих ферментов [Никитина, 2010; Купряшина, 2012]. Мы предположили, что продукция фенолоксидаз, благодаря кинетическим свойствам данных ферментов, может не только опосредовать проникающую способность эндофитных штаммов бактерий в ткани растения, но и быть связана с механизмами адаптации, повышающими выживаемость, конкурентоспособность ассоциативной бактерии, благодаря возможности окислять и нейтрализовать токсичные фенольные соединения.

Целью данной работы явилось исследование влияния феруловой кислоты на активность пероксидаз фенолоксидазного комплекса почвенных микроорганизмов рода *Azospirillum*.

В качестве объектов были выбраны штаммы *A. brasilense* Sp245 и Sp7 из коллекции ризосферных микроорганизмов ИБФРМ РАН. Бактерии выращивали на малатно-солевой среде, в опытных вариантах при засеве культуры в среду вносили феруловую кислоту в концентрациях 0,1, 0,5 и 1 мМ. Через 24 и 36 ч отбирались пробы для определения ферментативной активности. Активность ферментов определяли спектрофотометрически: Mn-пероксидазы по скорости окисления 2,6-диметоксифенола ($\epsilon=30,5 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$) при 30 °С [Paszczynski, 1988], лигнин-пероксидазы по скорости окисления вератрилового спирта до вератрилового альдегида при длине волны 310 нм ($\epsilon=9,3 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$) [Orth, 1993]. Реакцию начинали добавлением H_2O_2 . За единицу активности принимали количество фермента, катализирующего превращение 1 мкМ субстрата за 1 минуту. Удельную активность выражали в единицах на 1 мг белка.

О деградации феруловой кислоты судили по результатам измерений в полистироловых 96-ти луночных планшетах при длине волны 310 нм [Pan, 2002] на иммуноферментном анализаторе Multiskan Ascent с последующей обработкой

результатов с помощью программы Ascent Software for Multiskan Ascent в Центре коллективного пользования научным оборудованием в области физико-химической биологии и нанобиотехнологии «Симбиоз» ИБФРМ РАН.

В ходе проведения работы установлено, что оба исследуемых штамма окисляли феруловую кислоту в диапазоне концентраций: 0,1 мМ, 0,5 мМ и 1 мМ. Уже через восемнадцать часов культивирования отмечался процесс биодegradации феруловой кислоты, о чем свидетельствовали изменения, вызванные накоплением продуктов реакции окисления, подтверждаемые спектрофотометрически.

При изучении динамики активности внеклеточных лигнин- и Мп-пероксидаз при внесении феруловой кислоты в среду культивирования бактерий обнаружено достоверное увеличение активности как лигнин, так и Мп-пероксидазы (рис. 1, 2).

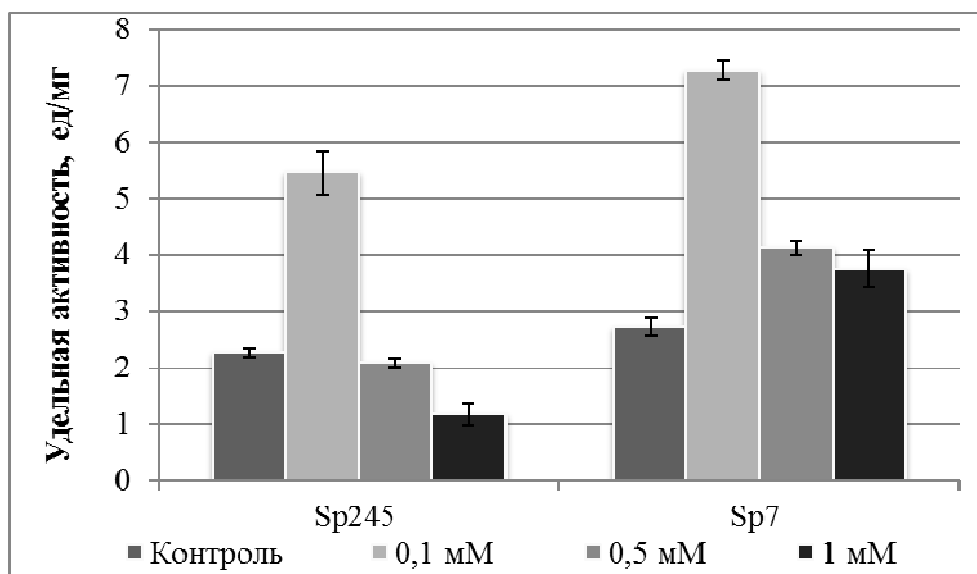


Рис. 1. Удельная Мп-пероксидазная активность (ед/мг) в культуральной жидкости *A. brasilense* Sp245 и *A. brasilense* Sp7 в присутствии феруловой кислоты.

Минимальная из взятых в эксперимент концентрация феруловой кислоты 0,1 мМ стимулировала продукцию внеклеточной Мп-пероксидазы более, чем в два раза. В тоже время увеличение концентрации данного соединения в среде культивирования не оказывало стимулирующего эффекта на ферментативную активность, при этом более высокие концентрации даже ингибировали Мп-пероксидазную активность штамма *A. brasilense* Sp245.

Лигнин-пероксидазная активность как *A. brasilense* Sp245, так и Sp7, повышалась при внесении феруловой кислоты в среду культивирования в концентрациях 0,5 и 1 мМ, при этом существенных штаммовых различий мы не отмечаем (рис. 2).

Таким образом, в результате проведенного исследования было показано, что бактерии рода *Azospirillum* способны к деградации феруловой кислоты, при этом существенных различий между *A. brasilense* Sp7 и Sp245 не выявлено. Показано повышение активности внеклеточных лигнин- и Мп-пероксидаз в присутствии феруловой кислоты в среде культивирования. Анализируя полученные данные, можно предположить, что продукция внеклеточных пероксидаз функционально значима не только для бактерии и позволяет преодолеть фенольный барьер, возникающий в ризосфере, но и для растения-хозяина. Лигнин- и Мп-пероксидазы за счет окислительных реакций могут опосредовать снижение токсичного действия аллелохимических веществ, аккумулирующихся в почве. Известно, что феруловая

кислота ингибирует прорастание семян, рост корней и побегов, деление клеток, уменьшает содержание хлорофилла листьев, ингибирует фотосинтез, вызывает закрытие устьиц за счет снижения тургора и осмотического давления [Esmaeili, 2012; Singh, 2014].

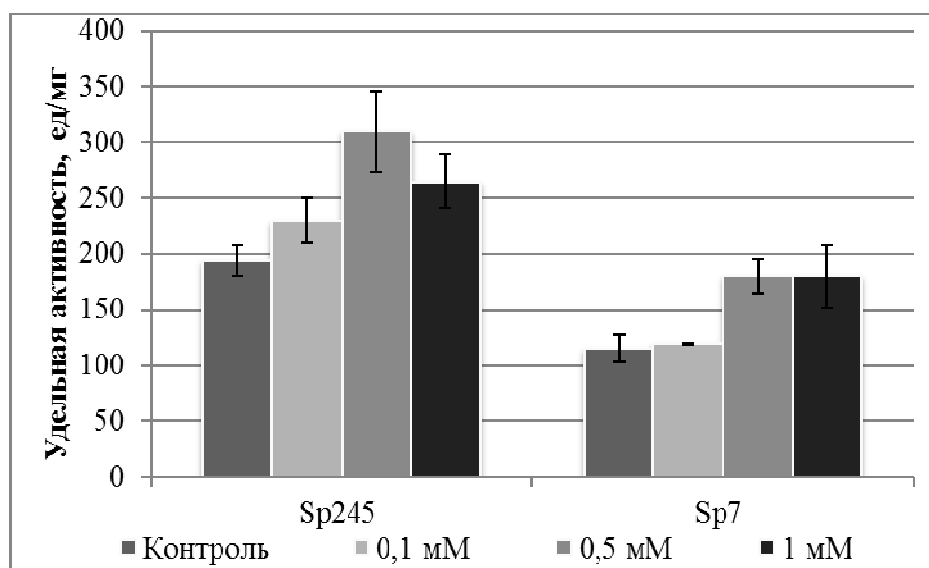


Рис. 2. Удельная лигнин-пероксидазная активность (ед/мг) в культуральной жидкости *A. brasilense* Sp245 и *A. brasilense* Sp7 в присутствии феруловой кислоты.

Литература

Купряшина М.А., Селиванов Н.Ю, Никитина В.Е. Выделение и очистка Мп-пероксидазы *Azospirillum brasilense* Sp245 // Прикладная биохимия и микробиология. – 2012. – Т. 48, № 1. – С. 23–26.

Никитина В.Е., Ветчинкина Е.П., Пономарева Е.Г., Гоголева Ю.В. Фенолоксидазная активность бактерий рода *Azospirillum* // Микробиология. – 2010. – Т. 79, № 3. – С. 344–351.

Borges A., Ferreira C., Saavedra M.J., Simoes M. Antibacterial activity and mode of action of ferulic and gallic acids against pathogenic bacteria // Microb. Drug. Resist. – 2013. – V. 19. – P. 256–265.

Esmaeili M., Heidarzade A., Pirdashti H., Esmaeili F. Inhibitory activity of pure allelochemicals on barnyardgrass (*Echinochloa crusgalli* L.) seed and seedling parameters // Int. J. Agri. Crop. Sci. – 2012. – V.4. – P.274–279.

Fibach-Paldi S., Burdman S., Okon Y. Key physiological properties contributing to rhizosphere adaptation and plant growth promotion abilities of *Azospirillum brasilense* // FEMS Microbiol. Lett. – 2012. – V. 326. – P. 99–108.

Narula N., Kothe E., Kumar R., Behl R. Role of root exudates in plant–microbe interactions // J. Appl. Botany Food Qual. – 2009. – V. 82. – 122–130.

Orth A.B., Royse D.J., Tien M. Ubiquity of lignin-degrading peroxidases among various wood-degrading fungi // Appl. Envir. Microb. – 1993. – V. 59. – P. 4017–4023.

Pan G.X., Thomson C.I., Leary G.J. Uv–vis. spectroscopic characteristics of ferulic acid and related compounds // J. of Wood Chem. and Technol. – 2002. – V. 22, No. 2-3. – P. 137–146.

Paszczynski R., Crawford V.B. Huynh Manganese peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium*: purification // Methods Enzymol. – 1988. – V. 161. – P. 264–270.

Singh H.P., Kaur S., Batish D.R., Kohli R.K. Ferulic acid impairs rhizogenesis and root growth, and alters associated biochemical changes in mung bean (*Vigna radiata*) hypocotyls // J. Plant Interact. – 2014 – V. 9, No. 1. – P. 267–274.

INFLUENCE OF FERULIC ACID ON THE PRODUCTION OF PHENOL OXIDASE BY AZOSPIRILLA

M.A. Kupryashina, V.E. Nikitina

Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms Russian Academy of Sciences, Saratov, Russia, *kupryashina_m@mail.ru*

Abstract. It was shown that bacteria of the genus *Azospirillum* have ability of degrading ferulic acid. We were detected that activity of azospirilla's extracellular lignin- and Mn-peroxidases of increase in the presence of ferulic acid in the culture medium.

Keywords: *Azospirillum*, *ferulic acid*, *Mn-peroxidase*, *lignin-peroxidase*

ДЕЙСТВИЕ ОБРАБОТКИ ПРОДУКТАМИ ПОВЕРХНОСТНОГО РАЗРЯДА СЕМЯН ОЗИМОЙ РЖИ НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ И АНТИОКСИДАНТНЫЕ ФЕРМЕНТЫ ПРОРОСТКОВ

А.В. Лазукин^{1,2}, Ю.А. Сердюков¹, Л.Т. Саидова¹, А.И. Лилиенберг^{1,3}, Е.А. Кауер², С.А. Кривов²

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия, magnitbio@ifr.moscow

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Национальный исследовательский университет «МЭИ», Москва, Россия, lazukin_av@mail.ru

³Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия, mrrr@yandex.ru

Аннотация. Изучали действие продуктов поверхностного диэлектрического барьерного разряда на длину ростка, корневой системы, энергию прорастания, активность супероксиддисмутазы и пероксидазы трехсуточных проростков озимой ржи (*Secale cereale* L.). Показана зависимость как от длительности экспозиции семян в плазме барьерного диэлектрического разряда, так и от его частоты. Наибольший стимулирующий эффект проявляется при экспозициях 60-120 с, а спектр наиболее эффективных частот лежит в диапазоне 15-25 кГц.

Ключевые слова: рожь, диэлектрический барьерный разряд, супероксиддисмутаза, пероксидаза

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-458-461

Изучали действие продуктов поверхностного диэлектрического барьерного разряда на длину ростка, длину корневой системы, энергию прорастания, а также активность супероксиддисмутазы и пероксидазы трехсуточных проростков озимой ржи (*Secale cereale* L., сорта «Чулпан»). Работа выполнена с использованием семян из коллекций ЦКП «Биоресурсный центр» Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН (г. Иркутск).

Поверхностный диэлектрический барьерный разряд развивался вдоль поверхности твердого диэлектрика при атмосферном давлении, без принудительного потока газа через зону обработки. Электронная система, использованная при обработке семян, состояла из девяти полосовых электродов шириной 1 мм, расположенных на расстоянии 5 мм друг от друга. Обратный электрод-подложка заземлен. Диэлектрический барьер — керамическая пластина толщиной 1 мм. Семена размещались на металлическом заземленном электроде на расстоянии 10 мм до плоскости барьера. К полосовым электродам прикладывалось синусоидальное напряжение 2,5 кВ действующего, частотой 5, 15, 23-25, 80 кГц. Время воздействия от 10 секунд до 7 минут. Выдержка семян между обработкой и проращиванием — не более суток. Семена проращивались в термостатируемых условиях (24 °С) в темноте трое суток. На третьи сутки контролировались морфологические характеристики проростков (длина ростка и корневой системы) и энергия прорастания. Активность ферментов определялась спектрофотометрически по методикам Beauchamp, Fridovich [1971] для супероксиддисмутазы и Шевяковой с соавт. [2003] для пероксидаз.

Кратковременная (до 60 с) обработка продуктами газового разряда в широком диапазоне частот не оказала какого-либо негативного действия (рис. 1). Ни в одном из

вариантов длина ростка, корневой системы и энергия прорастания значимо не отличались от контроля за исключением 10 с обработки при 15 кГц, которая несколько стимулировала длину ростка и энергию прорастания.

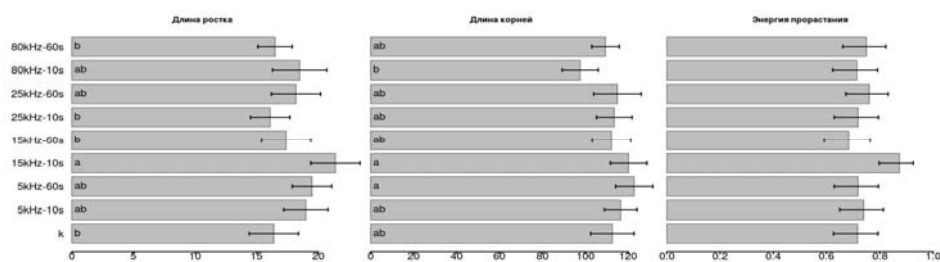


Рис. 1. Морфологические показатели и энергия прорастания проростков озимой ржи под действием продуктов газового разряда генерируемого током различной частоты (Здесь и далее бары отражают доверительный интервал для $P < 0,05$; варианты, отмеченные одним индексом, не имеют значимых различий).

Растворимая фракция пероксидазы (ПО; рис. 2) демонстрирует более выраженную картину. В coleoptilyах при 60 с обработке с 5кГц наблюдается тенденция к росту активности и 20-25% снижение в вариантах 25 кГц 60 с и 80 кГц 10 с. В корнях, как и в coleoptilyах обработка 5 кГц в течении 60 с вызывала значимое увеличение активности на ~20%. При дальнейшем увеличении частоты и экспозиции активность фермента постепенно снижалась, достигая минимума (75% от контроля) при 60 с и 80 кГц. Ионсвязанная ПО, будучи ферментом, ассоциированным в первую очередь не с антиоксидантной системой клетки, а с системой биосинтеза клеточной стенки, не угнеталась использованными обработками, в той или иной степени активируясь под их действием. Значимое увеличение активности наблюдается в coleoptilyах при обработке 15 кГц в течении 60 с и в корнях при 15 кГц в течении 10 с, что не противоречит данным по морфологии проростков. Ковалентносвязанная ПО (рис. 3.), также участвующая в формировании клеточной стенки значительно стимулировалась в coleoptilyах обработкой 15 кГц в течение 10 с, что приводило к почти двукратному увеличению ее активности по сравнению с контролем. Тенденция к стимуляции также проявилась при обработках 15 кГц в корнях.

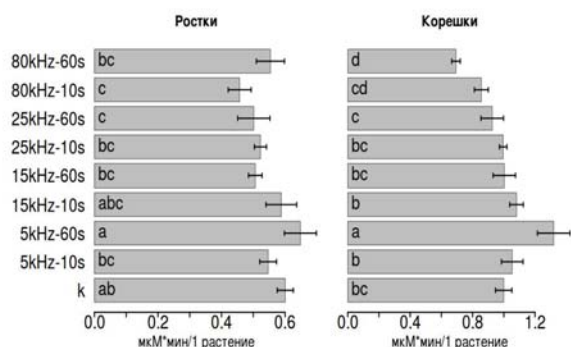


Рис. 2. Активность растворимой фракции пероксидазы под действием продуктов газового разряда генерируемого током различной частоты.

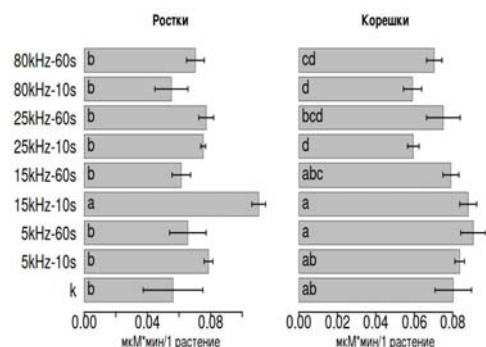


Рис. 3. Активность ковалентно-связанной фракции пероксидазы под действием продуктов газового разряда генерируемого током различной частоты.

Для оценки влияния величины экспозиции обработки на биологический эффект была выбрана частота 23 кГц. При данных условиях наибольший стимулирующий эффект на длину ростка (рис. 4.) оказала обработка с экспозицией 300 с (~120%), тогда как короткие экспозиции (10-60 с) демонстрировали тенденцию к снижению. На длину корневой системы и энергию прорастания обработки не оказали значимого влияния.

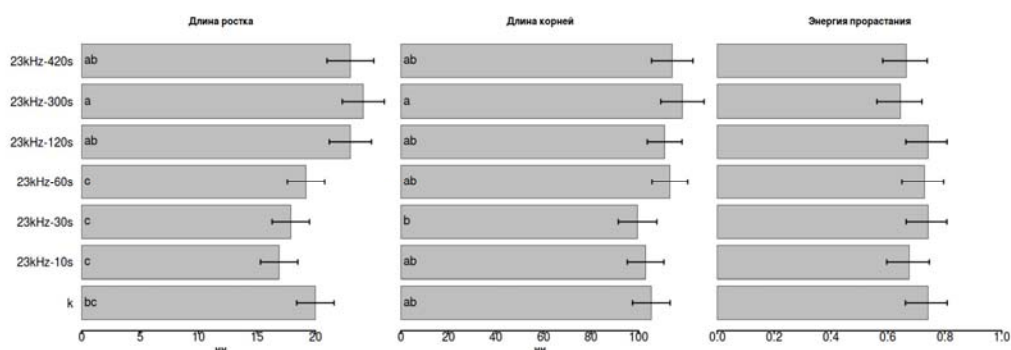


Рис. 4. Морфологические показатели и энергия прорастания проростков озимой ржи под действием продуктов газового разряда с различной экспозицией.

Значимых отличий в активности супероксиддисмутазы (рис. 5) по сравнению с контролем не обнаружено, хотя имеются тенденции к увеличению таковой в coleoptilyах при экспозициях 60 и 120 с и в корнях при 120-420 с, а так же к снижению при 10 и 30 с в обоих случаях. Растворимая фракция ПО активировалась с ростом экспозиции, достигая максимума при 120-секундной обработке, как в coleoptilyах, так и в корнях (~ на 50 и 40% соответственно).

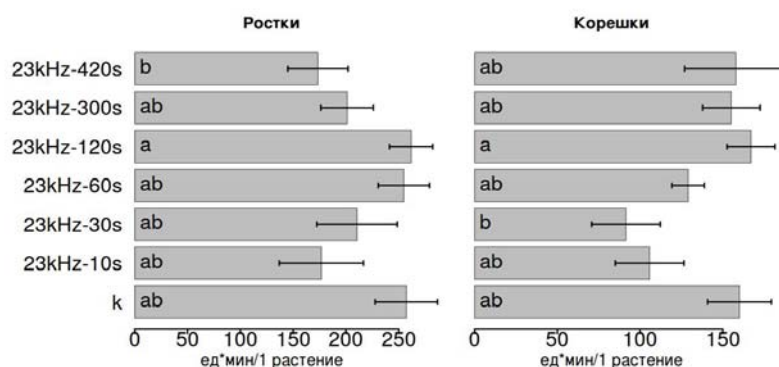


Рис. 5. Активность супероксиддисмутазы проростков озимой ржи под действием продуктов газового разряда с различной экспозицией.

Таким образом, наблюдается зависимость как от длительности экспозиции семян в плазме барьерного диэлектрического разряда, так и от его частоты. Наибольший стимулирующий эффект проявляется при экспозициях 60-120 с, а спектр наиболее эффективных частот лежит в диапазоне 15-25 кГц.

Литература

Beauchamp C., Fridovich I. Superoxide dismutase improved assay and an assay applicable to acrylamide gels // *Analytical Biochemistry*. – 1971. – V. 44. – P. 267-287.

Шевякова Н.И., Нетронина И.А., Аронова Е.Е., Кузнецов Вл.В. Распределение Cd и Fe в растениях *Mesembryanthemum crystallinum* при адаптации к Cd-стрессу // *Физиология растений* – 2003. – Т.50. – С.756-763.

EFFECT OF PROCESSING OF SURFACE DISCHARGE OF SEEDS OF WINTER RYE ON MORPHOLOGICAL INDICATORS AND ANTIOXIDANT ENZYMES OF SEEDS BY PRODUCTS

A.V. Lazukin^{1,2}, Y.A. Serdyukov¹, L.T. Saidova¹, A.I. Lilienberg^{1,3}, E.A. Kauer², S.A. Krivov²

¹К.А. Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia, *magnitbio@ifr.moscow*

²Federal State Budget Educational Institution of Higher Education National research university «МПЕИ», Moscow, Russia, *lazukin_av@mail.ru*

³Federal State Budget Educational Institution of Higher Education M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia, *mrrrr@yandex.ru*

Abstract. The effect of surface dielectric barrier discharge products on the length of the germ, the root system, the germination energy, the activity of superoxide dismutase and peroxidase of three-day-old seedlings of winter rye (*Secale cereale* L.) was studied. Dependence is shown both on the duration of seed exposure in the barrier dielectric discharge plasma and on its frequency. The greatest stimulating effect is manifested with exposures of 60-120 s, and the spectrum of the most effective frequencies lies in the range 15-25 kHz.

Keywords: rye, dielectric barrier discharge, superoxiddismutase, peroxidase

УЧАСТИЕ ГЕТЕРОТРИМЕРНЫХ G-БЕЛКОВ В СИГНАЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ РАСТЕНИЙ ГОРОХА С СИМБИОТИЧЕСКИМИ И ПАТОГЕННЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ

И.В. Леппянен, А.Д. Бовин, Е.А. Долгих

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, *leppyanen_irina@rambler.ru*, *andy-piter2007@mail.ru*, *dol2heen@yahoo.com*

Аннотация. Рецепторная киназа *PsLYK9* необходима для узнавания растениями гороха хитоолигосахаридов (ХОС) с разной степенью полимеризации. *PsLYK9* выполняет у гороха двойную функцию – при узнавании ХОС5 контролирует развитие симбиоза с грибами арбускулярной микоризы (АМ), но вместе с тем способна контролировать развитие защитных реакций при узнавании олигомеров хитина с более высокой степенью полимеризации (ХОС8). Остается далеким от понимания, как один и тот же рецептор способен различать столь сходные по структуре молекулы, но вызывающие совершенно противоположные реакции со стороны растений. Мы предположили, что узнавание разных по структуре ХОС происходит при объединении *PsLYK9* с разными ко-рецепторами, что приводит в активации различных сигнальных каскадов у гороха. Для поиска регуляторов сигнальных путей был проведен дифференциальный анализ протеомов корней гороха сорта Frisson, обработанных ХОС5 и ХОС8. Эти исследования необходимы для изучения молекулярных механизмов, с помощью которых растения различают хитоолигосахаридные сигналы, поступающие от симбиотических и фитопатогенных микроорганизмов. В результате выполненных исследований были выявлены несколько новых регуляторов (β -субъединица G-белка, фосфолипаза C), которые могут быть необходимы при передаче сигнала в процессе развития симбиоза или при активации защитных реакций.

Ключевые слова: бобово-ризобияльный симбиоз, протеомный анализ, дифференциальный 2-D электрофорез, бета субъединица G-белка

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-462-465

Бобовые растения взаимодействуют с широким спектром почвенных микроорганизмов, как симбиотических, так и патогенных. Как известно, в основе таких взаимодействий лежит обмен сигналами между партнерами. Важную роль в развитии взаимодействий растений с микроорганизмами играют хитоолигосахаридные сигнальные молекулы. Хитоолигосахариды со степенью полимеризации $n=5$ (ХОС5), а также липохитоолигосахариды, Nod-факторы и Мус-факторы, выделяемые симбиотическими микроорганизмами (клубеньковыми бактериями ризобиями и грибами арбускулярной микоризы) необходимы для развития симбиозов. Напротив, при взаимодействии растений с фитопатогенными грибами в среду выделяется смесь ХОС в результате разрушения клеточных стенок грибов, и эти соединения со степенью полимеризации $n = 6 - 8$ являются сильными элиситорами защитных реакций у растений. Представляет большой интерес выяснение того, как растения различают сходные по структуре сигнальные молекулы, но вызывающие разные ответные реакции.

У модельных растений арабидопсиса и риса выявлены рецепторные белки *AtCERK1* и *OsCERK1*, контролирующие узнавание коротких и длинных ХОС, выделяемых микроорганизмами, а также развитие ответных реакций [Kaku et al., 2006; Miya et al., 2007; Shimizu et al., 2010; Miyata et al., 2014]. Недавно нами был выявлен гомолог *CERK1* у гороха посевного *Pisum sativum* L – LysM-рецепторная киназа *LYK9*. Оказалось, что рецепторная киназа *PsLYK9* выполняет двойную функцию – при

узнавании ХОС5 контролирует развитие симбиоза с грибами арбускулярной микоризы (АМ), но вместе с тем способна контролировать развитие защитных реакций при узнавании олигомеров хитина с более высокой степенью полимеризации (ХОС8) [Leppuinen et al., 2018]. Однако остается далеким от понимания, как один и тот же рецептор способен различать столь сходные по структуре молекулы, но вызывающие совершенно противоположные реакции со стороны растений. Мы предположили, что узнавание разных по структуре ХОС происходит при объединении *PsLYK9* с разными ко-рецепторами, что приводит в активации различных сигнальных каскадов у гороха.

Основной целью нашей работы явились поиск и изучение компонентов путей передачи сигнала при узнавании растениями гороха ХОС с разной степенью полимеризации. Эти исследования необходимы для изучения молекулярных механизмов, с помощью которых растения различают хитоолигосахаридные сигналы, поступающие от симбиотических и фитопатогенных микроорганизмов.

Для поиска регуляторов сигнальных путей был проведен дифференциальный анализ протеомов корней гороха сорта Frisson, обработанных ХОС5 и ХОС8. Кроме того, интерес представлял анализ мутанта гороха P54 (*sym9*), дефектного по гену кальций, кальмодулин-зависимой киназы, необходимой для формирования симбиоза с грибами АМ. Для выявленных потенциальных регуляторов был проведен анализ экспрессии кодирующих генов в процессе развития симбиоза с грибами АМ, а также в ответ на обработку разными по структуре ХОС с помощью количественной полимеразной цепной реакции, совмещенной с обратной транскрипцией (кОТ-ПЦР).

При анализе протеомов корней гороха, обработанных ХОС5, были выявлены ферменты, контролирующие синтез аминокислот и белка, что соотносится с литературными данными [Marx et al., 2016]. Нами были выявлены белки, играющие важную роль в развитии защитных реакций у растений (халкон-флаванонизомераза, липоксигеназа, PR10), белки теплового шока и ферменты, контролирующие синтез этилена. Большой интерес для нас представляли белки, которые могут выполнять роль сигнальных регуляторов: β -субъединица G-белка, фосфолипаза C, аннексин D8, кальмодулин-зависимая киназа, протеинкиназа, взаимодействующая с кальцинерином В и другие.

Ранее участие G-белков и фосфолипазы C и D было показано в регуляции развития симбиоза бобовых растений с клубеньковыми бактериями [Peleg-Grossman et al., 2007]. Более того, подавление экспрессии одной из форм G-белка вызывало существенное снижение количества формирующихся клубеньков у бобового растения сои при инокуляции клубеньковыми бактериями [Choudhury, Pandey, 2015]. В наших экспериментах было выявлено увеличение уровня синтеза β -субъединицы G-белка в ответ на обработку ХОС5 (сигнальная молекула, выделяемая грибами АМ), но не в ответ на обработку ХОС8. Таким образом, гетеротримерный G-белок у гороха может являться тем регулятором, на уровне которого происходит разделение сигнальных путей, ведущих к развитию симбиозов или активации защитных реакций при патогенезе.

Известно, что в клетках животных G-белки активируют фосфолипазы C и D, которые контролируют образование вторичных мессенджеров – инозитол-1,4,5-трифосфата и диацилглицерола, регулирующие содержание внутриклеточного кальция [Harden, 1990; Brandenburg et al., 2014]. Для изучения возможного участия G-белков, фосфолипазы C и D в передаче сигнала при узнавании растениями ХОС5, нами был проведен анализ экспрессии генов, кодирующих эти регуляторы у трансгенных растений гороха с подавленной с помощью РНК-интерференции экспрессии гена рецептора *PsLyk9*.

Таким образом, на основании анализа протеомов корней гороха, обработанных ХОС с разной степенью полимеризации, были выявлены несколько новых регуляторов, которые могут быть необходимы при передаче сигнала в процессе развития симбиоза или при активации защитных реакций.

Литература

Brandenburg L-O., Pufe T., Koch T. Role of phospholipase D in G-protein Coupled receptor function // *Membranes (Basel)*. – 2014. – V. 4(3). – P. 302–318.

Choudhury S.R., Pandey S. Phosphorylation-dependent regulation of G-protein cycle during nodule formation in Soybean // *Plant Cell*. – 2015. – V. 27(11). –P. 3260–3276.

Harden T.K. G protein-dependent regulation of phospholipase C by cell surface receptors // *Am Rev Respir Dis*. – 1990. – V. 141(3 Pt 2). – P. S119–S122.

Kaku H., Nishizawa Y., Ishii-Minami N., Akimoto-Tomiyama C., Dohmae N., Takio K., Minami E., Shibuya N. Plant cells recognize chitin fragments for defense signaling through a plasma membrane receptor // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 2006. – V. 103. – P. 11086–11091.

Leppyanen I.V., Shakhnazarova V.Y., Shtark O.Y., Vishnevskaya N.A., Tikhonovich I.A., Dolgikh E.A. Receptor-like kinase LYK9 in *Pisum sativum* L. is the CERK1-like receptor that controls both plant immunity and AM symbiosis development // *Int. J. Mol. Sci.* – 2018. – V. 19. – P. 1–18.

Marx H., Minogue C.E., Jayaraman D., Richards A.L., Kwiecien N.W., Siahpirani A.F., Rajasekar S., Maeda J., Garcia K., Del Valle-Echevarria A.R., Volkening J.D., Westphall M.S., Roy S., Sussman M.R., Anñ J.M., Coon J.J. A proteomic atlas of the legume *Medicago truncatula* and its nitrogen-fixing endosymbiont *Sinorhizobium meliloti* // *Nat Biotechnol.* – 2016. – V. 34(11). – P. 1198–1205.

Miya A., Albert P., Shinya T., Desaki Y., Ichimura K., Shirasu K., Narusaka Y., Kawakami N., Kaku H., Shibuya N. CERK1, a LysM receptor kinase, is essential for chitin elicitor signaling in *Arabidopsis* // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 2007. – V. 104. – P. 19613–19618.

Miyata K., Kozaki T., Kouzai Y., Ozawa K., Ishii K., Asamizu E., Okabe Y., Umehara Y., Miyamoto A., Kobae Y., Akiyama K., Kaku H., Nishizawa Y., Shibuya N., Nakagawa T. The bifunctional plant receptor, *oscerk1*, regulates both chitin-triggered immunity and arbuscular mycorrhizal symbiosis in rice // *Plant Cell Physiol.* – 2014. – V. 55. – P. 1864–1872.

Peleg-Grossman S, Volpin H, Levine A. Root hair curling and *Rhizobium* infection in *Medicago truncatula* are mediated by phosphatidylinositide-regulated endocytosis and reactive oxygen species // *J. Exp. Bot.* – 2007. – V. 58. – P. 1637–1649.

Shimizu T., Nakano T., Takamizawa D., Desaki Y., Ishii-Minami N., Nishizawa Y., Minami E., Okada K., Yamane H., Kaku H., Shibuya N. Two Lys M receptor molecules, CEBiP and OsCERK1, cooperatively regulate chitin elicitor signaling in rice // *Plant J.* – 2010. – V. 64. – P. 204–214.

ROLE OF HETEROTRIMERIC G-PROTEINS IN THE SIGNAL REGULATION OF LEGUME PLANTS AND SIMBIOTIC AND PATHOGENIC MICROORGANISMS INTERACTION

I.V. Leppyanen, A.D. Bovin, E.A. Dolgikh

Federal State Budget Scientific Institution All-Russian Research Institute for Agricultural Microbiology, St. Petersburg, Pushkin, Russia, *leppyanen_irina@rambler.ru*, *andy-piter2007@mail.ru*, *dol2heen@yahoo.com*

Abstract. The receptor kinase *PsLYK9* is necessary for the recognition of chitooligosaccharides (COs) with different degree of polymerization by pea plants. *PsLYK9* performs a double function - when recognizing CO5 it controls the development of symbiosis with arbuscular mycorrhizal (AM) fungi, but at the same time it is able to control the development of defense reactions when recognizing chitin oligomers with a higher degree of polymerization (CO8). It remains far from understanding how the same receptor is able to distinguish molecules with similar structure, but causing completely opposite reactions in the plants. We assumed that the recognition of different structure of the COs occurs when *PsLYK9* is combined with different co-receptors, which leads to the activation of different signaling cascades in pea. To search for signal regulators, a differential analysis of the proteomes of the Frisson pea roots treated with CO5 and CO8 was carried out. These studies are necessary to find out the molecular mechanisms by which plants distinguish the chitooligosaccharide signals coming from symbiotic or phytopathogenic microorganisms. As a result of the performed studies, several new regulators (β -subunit of G-protein, phospholipase C), which may be necessary for signal transmission in the course of symbiosis development or in the activation of defense reactions, were detected.

Keywords: *legume-rhizobium symbiosis, proteomic analysis, 2-D differential electrophoresis, beta-subunit of G-protein*

АКТИВНОСТЬ НИТРАТРЕДУКТАЗЫ, ПЕРОКСИДАЗЫ И СОДЕРЖАНИЕ ПРОЛИНА В ЛИСТЬЯХ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ ПРИ ИЗБЫТКЕ МАРГАНЦА В СРЕДЕ

С.С. Лисник, Ю.Л. Корецкая

Институт генетики, физиологии и защиты растений АН Молдовы, Кишинев, Республика Молдова, *slisnic@rambler.ru*

Аннотация. В стрессовых условиях увлажнения (35% ПВ) умеренные дозы Mn в почве (50 мг/кг) приводят к стимулированию первичного процесса восстановления нитратов, незначительному снижению активности пероксидазы и содержанию пролина в листьях, а также к увеличению вегетативной массы растений, что указывает на более полную реализацию адаптивного потенциала растений в таких условиях. Избыток Mn в почве (дозы 600-1200 мг/кг) снижает активность нитратредуктазы, повышает активность пероксидазы и содержание пролина в листьях.

Ключевые слова: марганец, сахарная свекла, нитратредуктаза, пероксидаза, пролин

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-466-470

Сбалансированное обеспечение сельскохозяйственных культур питательными элементами может способствовать, по меньшей мере, частичному предотвращению засух, активно участвуя в нескольких защитных механизмах, таких как осморегуляция и антиоксидантные системы [Diego et al., 2014]. Микроэлементы, на фоне оптимальных доз основного удобрения (NPK) в почве, повышая их доступность для растений, способствуют также более эффективному использованию воды растениями, в частности, при недостатке влаги в почве [Karim, Rahman, 2015]. При этом у растений гипераккумуляторов тяжелых металлов проявляются гипераккумулирующие механизмы для поддержания элементного баланса и окислительно-восстановительного гомеостаза с избытком Mn [Zhao et al., 2012]. Было установлено также, что некорневая обработка растений разными концентрациями сульфата цинка и марганца оказывает существенное влияние на физиологические и биохимические процессы в растениях, с последующим накоплением вегетативной массы растений как в нормальных условиях увлажнения почвы, так и при засухе [Khan et al., 2016]. С другой стороны, показано, что при загрязнении среды тяжёлыми металлами, засолении или водном стрессе применение Mn имеет лишь роль в смягчении неблагоприятного воздействия на окружающую среду [Pandya et al., 2005]

Цель исследования – выявить закономерности в содержании пролина (как осмолит), активности нитратредуктазы, пероксидазы и содержании Mn, Zn, Fe и Cu в листьях сахарной свеклы в зависимости от возрастающих доз марганца в условиях водной и почвенной культур и в зависимости от кратковременного водного стресса.

Кратковременные опыты с сахарной свеклой (гибрид Вилия) проводились с использованием водной и почвенной культур и с применением возрастающих доз Mn на ранних фазах роста растений (5-7 листьев). Масса почвы (чернозём карбонатный) в каждом сосуде составляла 1000 г. В каждом сосуде вносили основные удобрения (NPK - 100 мг активного вещества/кг почвы). В условиях водной культуры возрастающие дозы Mn вносили на фоне питательной смеси Белоусова. Для изучения эффекта возрастающих доз Mn в почве и кратковременного водного стресса (10 дней) проводились вегетационные опыты в сосудах емкостью 6 кг почвы. В каждом сосуде вносили основные удобрения (NPK - 300 мг активного вещества/кг почвы). Растения подверглись кратковременному водному стрессу в фазе интенсивного роста растений (35% ПВ, 10 дней). Варианты представлены в таблицах 1, 2, 3. Активность

нитратредуктазы в листьях определяли *in vivo* по Mulder [Ермаков и др., 1987], активность пероксидазы – по Бояркину [Бояркин, 1951], содержание пролина - по Bates [Bates et al., 1973], содержание Mn, Zn, Cu и Fe в листьях – на AAS -1.

На ранней фазе развития растений (5-7 листьев) доза 50 мг Mn/кг почвы способствовала повышению накопления вегетативной массы растений на 18,2% в то время как дозы 600 и, особенно, 1200 мг/кг – к значительному снижению накопления растительной массы на 9,82 и соответственно 45,9%. В условиях водной культуры наибольшая масса растений выявлена при дозе 1 мкмоль Mn/л. Добавление в питательную среду 50 мкмоль Mn/л значительно уменьшало накопление массы растений, а при дозе 200 мкмоль Mn/л – визуальные симптомы токсичности.

Таблица 1.

Содержание пролина (мкмоль / г сырого вещества) в листьях в зависимости от применения возрастающих доз Mn в питательном растворе Белоусова (мкмоль /л) и в почве (мг/кг)

Водная культура		Почвенная культура	
Варианты	Пролин, мкмоль / г с.в.	Варианты	Пролин, мкмоль / г с.в.
Контроль	0,51 ± 0,04	Контроль	0,81 ± 0,05
Mn - 1 мкмоль /л	0,66 ± 0,07	Mn – 50 мг/кг почвы	0,91 ± 0,04
Mn - 50 мкмоль /л	0,75 ± 0,05	Mn - 300 мг/кг почвы	0,98 ± 0,04
Mn - 100 мкмоль /л	0,74 ± 0,04	Mn- 600 мг/кг почвы	1,21 ± 0,02
Mn - 200 мкмоль /л	1,21 ± 0,03	Mn-1200 мг/кг почвы	1,47 ± 0,01

Увеличение концентрации Mn в питательном растворе Белоусова привело к усилению накопления пролина в листьях (табл. 1). Следует отметить, что при концентрации Mn в диапазоне 50-100 мкмоль Mn/л содержание пролина практически не изменялось и составило 0,75 мкмоль / г с.в. и значительно повысилось при дозе 200 мкмоль Mn/л (1,21 мкмоль / г с.в.). В условиях почвенной культуры возрастающие дозы Mn в диапазоне 50 – 300 мг Mn/кг почвы незначительно повлияли на накопление пролина в листьях. Как видно из данных таблицы 1, несмотря на внесение сверхвысоких доз Mn в почву (600 и 1200 мг/кг) содержание пролина в листьях повысилось незначительно. Таким образом, из представленных данных (табл. 1) следует отметить отсутствие корреляции между степени загрязнения почвы Mn и накоплением пролина в листьях.

Дефицит воды в почве в течение 10 дней (35% ПВ) в фазе интенсивного роста растений привел к резкому увеличению содержания пролина в листьях во всех вариантах опыта (табл. 2). Так, если в контрольном варианте при оптимальных условиях увлажнения почвы (70% ПВ) содержание пролина в листьях составила 2,62 мкмоль/г с.в., то при недостатке влаги в почве (35% ПВ) его содержание повысилось до 6,31 мкмоль/г с.в. В варианте с внесением 50 мг Mn/кг почвы отмечено некоторое снижение содержания пролина в листьях как при оптимальных условиях увлажнения, так и при недостатке влаги в почве. Однако дальнейшее возрастание доз марганца способствовало незначительному аккумулярованию пролина в листьях, что свидетельствует о высокой толерантности растений сахарной свеклы к избыточным дозам марганца в почве.

После действия кратковременного водного стресса растения переносились в оптимальных условиях увлажнения. Через десять дней роста растений в оптимальных условиях увлажнения определяли содержание пролина в листьях. Выявлено, что у таких растений содержание пролина в листьях практически выровнялась с его содержанием в листьях, у растений выращенных только в оптимальных условиях

увлажнения. При этом данные таблицы 2 показывают некоторое снижение содержания пролина в листьях при дозе 50 мг Mn/кг почвы. По-видимому, данное количество марганца явилось оптимальной для роста и развития растений, как в оптимальных, так и стрессовых условиях увлажнения почвы.

Одновременно выявлены изменения в активности нитратредуктазы в листьях. Доза 50 мг Mn/кг почвы, как правило, способствовала стимулированию первичного процесса восстановления нитратов в листьях как при оптимальных, так и при стрессовых условиях увлажнения почвы. Избыток Mn приводил к снижению активности нитратредуктазы во всех вариантах опыта независимо от влажности почвы.

Таблица 2.

Содержание пролина(мкмоль / г сырого вещества) в листьях сахарной свеклы в зависимости от применения возрастающих доз Mn в почве, действия и последствия кратковременного водного стресса

Вариант	После 10-го дня водного стресса, 70% ПВ		После 10-ти дней оптимального увлажнения	
	70% ПВ	35% ПВ	70% ПВ	35% ПВ
Контроль	2,62± 0,02	6,31± 0,31	1,21± 0,05	1,05± 0,07
Mn - 50 мг	2,38± 0,14	6,15± 0,25	0,95± 0,09	1,02± 0,04
Mn-600 мг	2,74 ±0,02	6,43± 0,17	1,17± 0,11	1,54± 0,06
Mn-1200 мг	2,97± 0,08	6,61± 0,08	1,92 ±0,05	2,35± 0,12

При этом более низкая активность фермента отмечено как при избытке марганца в среде, так и при недостаточном обеспечении растений влагой (табл.3). В оптимальных условиях увлажнения почвы (70% ПВ) избыток марганца незначительно повлиял на активность пероксидазы, что свидетельствует о высокой толерантности растений сахарной свёклы к повышенным концентрациям данного микроэлемента в почве. Следует отметить, что при дефиците влаги в почве активность пероксидазы выше во всех вариантах опыта независимо от внесенного марганца в среде. Вместе с тем, возрастающие дозы марганца, включая высокие и даже сверхвысокие (600-1200 мг/кг), не приводили к значительному повышению активности фермента, что свидетельствует об устойчивости растений сахарной свеклы к избытку этого тяжелого металла в почве.

Таблица 3.

Активность нитратредуктазы (мкг NO₂⁻ / г с.вещества, 30 мин.) и пероксидазы (относит. ед./г с. вещества/мин) в листьях сахарной свеклы после кратковременного водного стресса (10 дней) в зависимости от возрастающих доз Mn в почве.

Вариант	Активность нитратредуктазы		Активность пероксидазы	
	70% ПВ	35% ПВ	70% ПВ	35% ПВ
Контроль	12,92±0,52	11,29±0,81	3,22± 0,12	4,71± 0,15
Mn - 50 мг	13,14±0,17	11,93±0,41	3,12± 0,12	4,49 ±0,21
Mn - 600 мг	11,45±0,66	10,86±0,71	3,25± 0,09	4,22± 0,12
Mn - 1200 мг	11,32±0,18	10,27±0,38	3,55± 0,15	4,91± 0,12

Это подтверждается и тем, что загрязнение почвы сульфатом марганца незначительно повлияло на накопление вегетативной массы растений. Даже при стрессовых условиях увлажнения сверхвысокая доза (1200 мг Mn / кг почвы), масса одного растения составила 207 г) и снизилась по сравнению с массой одного растения контрольного варианта на 9,6%.

Содержание Mn, Zn, Cu и Fe в листьях значительно изменялось под воздействием возрастающих доз марганца в почве и в меньшей степени – под влиянием водного стресса. Так, при дозе Mn-50 мг/кг почвы содержание Mn в листьях увеличивалось по сравнению с контролем на 144,2 мг/кг сухого вещества (в контроле – 262,4 мг/кг) или на 54,9% в оптимальных условиях увлажнения почвы и в меньшей степени – при дефиците влаги в почве – соответственно на 49,6 мг/кг сухого вещества (в контроле – 246,5 мг/кг) и 20,1%. При максимальной дозе Mn - 1200 мг/кг почвы его содержание в листьях составила 728,1 мг/кг, т.е. увеличивалось на 465,7 мг/кг или на 177,5% в оптимальных условиях увлажнения почвы и соответственно на 718,9 мг/кг, 452,4 мг/кг и 169,8% - при дефиците влаги в почве. При умеренной дозе марганца (50 мг /кг) отмечен синергизм в накоплении Mn, Zn и Fe и антагонизм - в накоплении Cu. При более высоких дозах марганца, как правило, отмечен антагонизм между Mn и Zn, Cu и Fe.

Таким образом, на ранних фазах развития сахарной свеклы (6-7 листьев) умеренные дозы Mn в почве (50 мг/кг) способствуют стимулированию активности нитратредуктазы, незначительному снижению активности пероксидазы и содержания пролина в листьях. Избыток Mn (600 и 1200 мг/кг) в почве и (100 - 200 мкмоль /л) в условиях водной культуры приводит к увеличению содержания пролина в листьях, но отсутствует корреляция между возрастающими дозами марганца в среде и изменениями в содержании пролина, активности нитратредуктазы и пероксидазы в листьях.

В стрессовых условиях увлажнения (35% ПВ) умеренные дозы Mn в почве (50 мг/кг) приводят к стимулированию первичного процесса восстановления нитратов, незначительному снижению активности пероксидазы и содержанию пролина в листьях, а также к увеличению вегетативной массы растений, что указывает на более полную реализацию адаптивного потенциала растений в таких условиях. Избыток Mn в почве снижает активность нитратредуктазы, повышает активность пероксидазы и содержание пролина в листьях. При этом масса растений незначительно снижается, что свидетельствует о высокой толерантности сахарной свеклы к избытку этого тяжелого металла в среде.

Литература

Бояркин А.Н. Быстрый метод определения активности пероксидазы // Биохимия. – 1951. – Т. 16. – С. 352 – 355.

Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П., Перуанский Ю.В., Луковникова Г.А., Иконникова М.И. // Методы биохимического анализа растений. Ленинград. – 1987. – 430 с.

Bates L.S., Walden R.T., Tarse I.D. Rapid determination of free proline for water stress studies // Plant and Soil. – 1973. – V. 39, № 1. – P. 205–207.

Diego M., Fischer G., Mewis I., Rohn S., Ulrichs C. Salinity effects on proline accumulation and total antioxidant activity in leaves of the cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) // Journal of Applied Botany and Food Quality. – 2014. – V. 87. – P. 67–73.

Karim R., Rahman M. A. Drought risk management for increased cereal production in Asian Least Developed Countries // Weather and Climate Extremes. – 2015. – V. 7. – P. 24–35.

Khan R., Gul S., Hamayun M., Shah M., Sayyed A., Hussan I., Begum A., Gul H. Effect of foliar application of zinc and manganese on growth and some biochemical constituents of Brassica Juncea // American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci. – 2016. – V. 16, № 5. – P. 984-997.

Pandya D.H., Mer R.K., Pandey A.N. Effect of salt stress and manganese. Supply on growth of barley seedlings // Journal of Plant Nutrition. – 2005. – V. 27, № 8 – P. 1361-1369.

Zhao H., Wu L., Chai T., Zhang Y., Tan J., Ma S. The effects of copper, manganese and zinc on plant growth and elemental accumulation in the manganese-hyperaccumulator *Phytolacca Americana* // J. Plant Physiol. – 2012. – V. 169. – P. 1243–1252.

ACTIVITY OF NITRATREDUCTASE, PEROXIDASE AND PROLINE CONTENT IN LEAVES OF SUGAR BEET UNDER EXCESS OF MANGANESE IN ENVIRONMENT

S.S. Lisnic, Yu.L. Koretskaya

Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection, Academy of Sciences of Moldova, Chisinau, Moldova, *slisnic@rambler.ru*

Abstract. Under stress conditions of humidification (35% total moisture in soil), moderate doses of Mn in soil (50 mg / kg) lead to stimulation of primary nitrate reduction process, slight decrease in peroxidase activity and proline content in leaves, as well as increase in vegetative mass of plants. It all indicates to a fuller adaptive potential of plants under such conditions. Excess of Mn in soil (doses 600 – 1200 mg/kg) reduces activity of nitrate reductase, increases activity of peroxidase and rises content of proline in leaves.

Keywords: *manganese, sugar beet, nitrate reductase, peroxidase, proline*

МЕХАНИЗМ СНИЖЕНИЯ КИСЛОРОД-ВЫДЕЛЯЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ ФОТОСИСТЕМЫ 2 ПРИ КИСЛЫХ pH

Е.Р. Ловягина, Б.К. Сёмин

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», Москва, Россия, *Elena.Lovyagina@gmail.com*

Аннотация. В представленной работе исследован механизм ингибирующего действия кислых pH на активность кислород-выделяющего комплекса (КВК) мембранных препаратов фотосистемы 2 (ФС2). Полученные результаты показывают, что при обработке препаратов ФС2 средой с кислыми pH в интервале 3,5 – 5,0 наряду с необратимыми нарушениями происходит обратимая диссоциация двух периферических белков PsbP и PsbQ и экстракция катиона Ca^{2+} из КВК. Активность КВК может быть восстановлена путем изменения pH среды инкубации препаратов ФС2 на оптимальное (pH 6,4–6,5) в присутствии диссоциировавших периферических белков, либо путем добавления экзогенного Ca^{2+} при оптимальных pH.

Ключевые слова: фотосистема 2, кислород-выделяющий комплекс, pH

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-471-474

Введение. pH зависимость выделения кислорода мембранными препаратами фотосистемы 2 (ФС2) была исследована в ряде работ и достаточно хорошо описана [Damoder, Dismukes, 1984; Vass, Styring, 1991; Haddy et al., 1999; Schiller, Dau, 2000; Bernat et al., 2002; Semin et al., 2004]. Кривая pH зависимости имеет колоколообразную форму с максимумом в области 6,0 – 6,5. При увеличении (область щелочных pH) или уменьшении pH (кислотная область) эффективность работы кислород-выделяющего комплекса (КВК) уменьшается, достигая нулевых значений при величине pH около 4,0 и около 8,0, соответственно [Schiller, Dau, 2000]. Однако механизм влияния pH на реакцию фотолиза воды и синтеза молекулярного кислорода практически не исследован. Предполагается, что в щелочной среде нарушается функционирование анионов хлора в КВК [Schiller, Dau, 2000]. В кислой среде ингибирование активности ФС2 может быть частично связано с экстракцией катиона Ca^{2+} из КВК [Krieger, Weis 1992]. В представленной работе мы исследовали механизм ингибирующего действия кислых pH на активность КВК.

Материалы и методы. Исследования проводили на мембранных препаратах ФС2 с активным КВК, выделенных из шпината согласно методике [Ghanotakis et al., 1984]. Препараты хранили при температуре $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ в буфере А, содержащем 15 мМ NaCl, 400 мМ сахарозу и 50 мМ Mes-NaOH, pH 6,5. В этом же буфере проводили все измерения. Инкубацию препаратов ФС2 в буфере с исследуемым pH проводили следующим образом. ФС2 с концентрацией хлорофилла 50 мкг/мл помещали в прогретый до $22\text{ }^{\circ}\text{C}$ буфер, содержащий 15 мМ NaCl, 400 мМ сахарозу и 50 мМ Mes-NaOH (интервал pH 4,0 – 6,5) либо в 15 мМ цитратный буфер, содержащий 15 мМ NaCl, 400 мМ сахарозу (pH 3,0). Препараты инкубировали в течение 15 мин в темноте, затем резко охлаждали во льду 3 мин, центрифугировали при 16000 g 15 мин и суспендировали в буфере А. Скорость выделения кислорода измеряли амперометрически с помощью закрытого платинового электрода Кларка при $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. В качестве акцептора электронов использовали 2,6-дихлор-*n*-бензохинон (200 мкМ). Концентрация хлорофилла составляла 10 мкг/мл.

Результаты и обсуждение. Исследования эффекта pH среды на реакцию выделения кислорода ФС2 с нативным кислород-выделяющим комплексом стандартным методом, когда скорость выделения O_2 измеряется в буфере с

исследуемым рН, указывают на значительный ингибирующий эффект кислых рН по сравнению с оптимальными для выделения кислорода рН 6,0–6,5. При рН 4,5 кислород-выделяющая активность препаратов ФС2 снижается до ~ 30% [Ловягина, Семин, 2017], а при рН 4,0 исчезает полностью [Schiller, Dau, 2000].

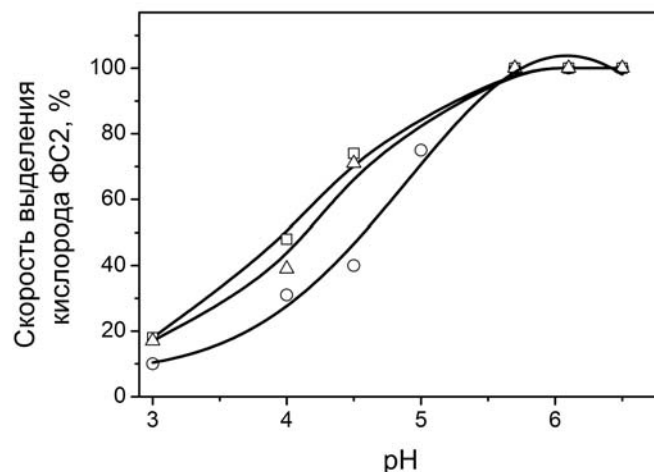


Рис. 1. pH-зависимости скорости выделения кислорода нативными препаратами ФС2.

—○— ФС2 инкубировали в буфере с заданным рН в течение 15 мин при 22 °С в темноте, затем переводили в буфер с рН 6,5 посредством центрифугирования;

—Δ— ФС2 инкубировали в буфере с заданным рН при тех же условиях, затем переводили в буфер с рН 6,5 путем пятикратного разбавления;

—□— ФС2 инкубировали в буфере с заданным рН при тех же условиях, затем переводили в буфер с рН 6,5 посредством центрифугирования и инкубировали 10 мин с 30 мМ CaCl₂. Все измерения проводили в буфере с рН 6,5. 100% равно 500 мкМ O₂/мг хл. в час.

В то же время зависимость скорости выделения кислорода от рН, измеренная другим способом (см. материалы и методы), когда после инкубации в среде с исследуемым рН препараты ФС2 переносят в буфер с рН 6,5 с помощью центрифугирования и выполняют все измерения в этом буфере, претерпевает некоторые изменения (рис. 1, кривая —○—). В области кислых рН скорость выделения кислорода по-прежнему снижается, но не так критично. После инкубации при рН 4,0 препараты ФС2 сохраняют до ~ 30% своей максимальной способности к выделению кислорода, и даже после инкубации при рН 3,0 активность не ингибируется полностью (остаточная активность составляет ~10%).

Следует отметить, что эффект рН, измеряемый непосредственно в буфере обработки, определяется как обратимыми, так и необратимыми изменениями в структуре кислород-выделяющего комплекса ФС2. Если же после инкубации в буфере с исследуемым рН препарат возвращается в буфер с оптимальным рН путем переосаждения, то измеряется эффект только необратимых изменений, индуцируемых рН. Скорость выделения кислорода препаратами ФС2, измеренная обоими способами, при понижении рН буфера ингибируется сходным образом, что позволяет заключить, что в области кислых рН происходит преимущественно необратимая инактивация КВК.

Можно предположить, что инактивация КВК в кислых средах связана с диссоциацией белков, формирующих КВК. Действительно, рК периферических белков PsbP, PsbQ и Mn-стабилизирующего белка PsbO равны, соответственно, 5,0, 4,1 и 3,6 [Shen, Inoue, 1991]. Кроме того, известно, что обработка препаратов ФС2 кислой средой

приводит к удалению катиона Ca^{2+} из КВК [Ono, Inoue, 1988]. Для выяснения механизма обратимого снижения кислород-выделяющей активности препаратов ФС2 при кислых рН мы исследовали эффект рН среды на скорость выделения кислорода ФС2 следующим образом. Препараты ФС2 инкубировали в буфере с исследуемым рН в течение 15 мин при комнатной температуре при концентрации хлорофилла 50 мкг/мл, затем быстро охлаждали во льду и разбавляли буфером с рН 6,5 в 5 раз, после чего выполняли измерения скорости выделения кислорода при оптимальном рН 6,4–6,5. Такая постановка эксперимента позволила нам изменить рН среды на оптимальное без центрифугирования и удаления предположительно диссоциировавших в кислой среде белков КВК. Результаты, представленные на рис. 1 (кривая $-\Delta-$), показывают, что активность ФС2, измеренная таким способом, существенно увеличивается в интервале рН 3,5–5,0. Максимальное восстановление активности (более чем на 30%) наблюдается при рН 4,5. Эти данные свидетельствуют, что при кислых рН происходит диссоциация двух периферических белков PsbP, PsbQ, которые при переводе препаратов в буфер с рН 6,4–6,5 способны вновь связаться с донорной стороной ФС2. Отрыв этих белков обычно сопровождается удалением катиона Ca из КВК, и добавление экзогенного кальция к препаратам, обработанным кислыми рН и переведенными в среду с рН 6,5 с помощью центрифугирования, тоже должно приводить к восстановлению кислород-выделяющей активности ФС2. Действительно, результаты, приведенные на рис. 1 (кривая $-\square-$), демонстрируют восстановление активности ФС2 после обработки кислым рН и центрифугирования при измерении скорости выделения кислорода на фоне 30 мМ экзогенного добавленного CaCl_2 .

Таким образом, полученные результаты прямо показывают, что при обработке препаратов ФС2 средой с кислыми рН наряду с необратимыми нарушениями происходит обратимая диссоциация двух периферических белков PsbP и PsbQ и экстракция катиона Ca^{2+} из КВК. Обратимая часть деструкции КВК может быть устранена путем изменения рН среды инкубации препаратов ФС2 на оптимальное (рН 6,4–6,5) в присутствии диссоциировавших периферических белков, либо путем добавления экзогенного Ca^{2+} при оптимальных рН.

Литература

Ловягина Е.Р., Семин Б.К. рН-зависимые обратимые и необратимые изменения в кислород-выделяющем комплексе фотосистемы 2 // Актуальные вопросы биологической физики и химии. – 2017. – Т. 2, № 1. – С. 44–48.

Bernat G., Morvaridi F., Feyziyev Y., Styring S. pH dependence of the four individual transitions in the catalytic S-cycle during photosynthetic oxygen evolution // Biochemistry. – 2002. – V. 41, No. 18. – P. 5830–5843.

Damoder R., Dismukes G.C. pH dependence of the multiline, manganese EPR signal for the 'S2' state in PS II particles // FEBS Lett. – 1984. – V. 174. – P. 157–161.

Ghanotakis D.F., Babcock G.T., Yocum C.F. Calcium reconstitutes high rates of oxygen evolution in polypeptide depleted photosystem II preparations // FEBS Lett. – 1984. – V. 167. – P. 127–130.

Haddy A., Hatchell J.A., Kimel R.A., Thomas R. Azide as a competitor of chloride in oxygen evolution by photosystem II // Biochemistry. – 1999. – V. 38. – P. 6104–6110.

Krieger A., Weis W. Energy-dependent quenching of chlorophyll-a-fluorescence: the involvement of proton-calcium exchange at photosystem II // Photosynthetica. – 1992. – V. 27. – P. 89–98.

Ono T., Inoue Y. Discrete extraction of the Ca atom functional for O_2 evolution in higher plant photosystem II by a simple low pH treatment // FEBS Lett. – 1988. – V. 227. – P. 147–152.

Schiller H., Dau H. Preparation protocols for high-activity photosystem II membrane particles of green algae and higher plants, pH dependence of oxygen evolution and comparison of the S₂-state multiline signal by X-band EPR spectroscopy // J. Photochem. Photobiol. B: Biol. – 2000. – V. 55. – P. 138–144.

Semin B.K., Davletshina L.N., Aleksandrov A.Yu., Lanchinskaya V.Yu., Novakova A.A., Ivanov I.I. pH dependence of the efficiency of binding of iron cations to the donor side of photosystem II // Biochemistry (Moscow). – 2004. – V. 69, No. 3. – P. 331–339.

Shen J.R., Inoue Y. Low pH-induced dissociation of three extrinsic proteins from O₂-evolving Photosystem II // Plant Cell Physiol. – 1991. – V. 32, No. 3. – P. 453–457.

Vass I., Styring S. pH-dependent charge equilibria between tyrosine-D and the S states in photosystem II. Estimation of relative midpoint redox potentials // Biochemistry. – 1991. – V. 30, No 3. – P. 830–839.

MECHANISM OF PHOTOSYSTEM II OXYGEN EVOLUTION ACTIVITY DECREASE AT ACIDIC pH

E.R. Lovyagina, B.K. Semin

Federal State Budget Educational Institution of Higher Education M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia, *Elena.Lovyagina@gmail.com*

Abstract. The mechanism of acid pH inhibition effect on the activity of oxygen-evolving complex (OEC) of photosystem II (PSII) membranes preparations was investigated in the presented study. Obtained results demonstrate that incubation of PSII preparations in acid buffer with pH 3.5 – 5.0 provide irreversible dissociation of two extrinsic proteins PsbP and PsbQ and extraction of Ca²⁺ from the OEC that is accompanied by significant inhibition of OEC efficiency. Activity of OEC can be restored either by the adjusting of pH incubation medium to optimum values (pH 6.4 – 6.5) in the presence of extrinsic proteins PsbP and PsbQ or by addition of exogenous Ca²⁺ cation at optimal pH.

Keywords: *photosystem II, oxygen-evolving complex, pH*

ТОКСИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ ТЕРБИЯ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ФОТОСИСТЕМЫ 2 ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

А.В. Локтюшкин, Е.Р. Ловягина, Б.К. Семин

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», Москва, Россия, *Elena.Lovyagina@gmail.com*

Аннотация. Исследовано влияние ионов Tb^{3+} на функциональную активность частиц фотосистемы 2 *Spinacia oleracea* L. Показано, что Tb^{3+} приводит к снижению скорости выделения кислорода и скорости восстановления акцептора электронов фотосистемы 2 феррицианида калия на свету. Максимальное снижение скорости электронного транспорта от воды к акцептору (примерно на 80%) наблюдалось при концентрации ионов Tb^{3+} 2 мМ. Концентрации половинного ингибирования для выделения кислорода и восстановления акцептора составили 249 мкМ и 269 мкМ, соответственно. Снижение активности может быть связано с взаимодействием Tb^{3+} с донорной стороной фотосистемы 2.

Ключевые слова: фотосистема 2, кислород-выделяющий комплекс, транспорт электронов, тербий.

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-475-478

Введение. Тербий (Tb) – лантаноид, который наряду со скандием и иттрием относится к группе редкоземельных элементов (РЗЭ). Благодаря своим особым физико-химическим свойствам РЗЭ широко применяются в промышленности. Относительно низкая токсичность для человека позволила использовать некоторые РЗЭ как контрастные вещества для медицинской визуализации. Ионы РЗЭ обладают сильной люминесценцией в видимом диапазоне, что оказалось важным не только для создания высокотехнологичных люминесцентных материалов, но и для получения нанозондов для изучения биологических систем на молекулярном и клеточном уровне. Интересно, что в 70-е годы прошлого века некоторые РЗЭ стали применяться в сельском хозяйстве. Было установлено, что использование удобрений, содержащих соединения РЗЭ, позволяет добиться увеличения продуктивности некоторых сельскохозяйственных культур на 5–15% [Hu et al., 2004].

Несмотря на название группы, содержание РЗЭ в земной коре составляет примерно 0,015%, что сравнимо с содержанием таких микроэлементов как медь и цинк. Кроме того, в результате деятельности человека наблюдается накопление РЗЭ в окружающей среде в некоторых областях Земли. Уже сейчас РЗЭ относят к группе основных загрязнителей окружающей среды в некоторых странах Азии, например в Китае [Wang et al., 2009].

Установлено, что в высоких концентрациях РЗЭ угнетают рост растений [Diatloff et al., 1995]. Фотосинтез – ключевой биохимический процесс в растительном организме, обеспечивающий его рост и развитие. В некоторых работах в основном китайских исследователей изучалось влияние ионов РЗЭ на фотосинтетический аппарат растений [Wang et al., 2009; Zeng et al., 2000; Fashui, 2004]. Однако влияние ионов Tb^{3+} на выделенные препараты пигмент-белковых комплексов фотосистем высших растений ранее детально не исследовалось. В настоящей работе показано, что ионы Tb^{3+} взаимодействуют с фотосистемой 2 (ФС2) и ингибируют транспорт электронов от воды на искусственную акцепторную пару 2,6-дихлоро-*n*-бензохинон (ДХБХ) – феррицианид калия (ФЦ).

Материалы и методы. Частицы ФС2 (ВВУ-типа) получали из рыночного шпината *Spinacia oleracea* L. путем солиubilизации тилакоидных мембран детергентом

Тритон X-100 [Ghanotakis et al., 1984a]. Измерения проводили в буфере, содержащем 400 мМ сахарозу, 15 мМ NaCl, 50 мМ 2-(*N*-морфолино)этансульфоновую кислоту, pH 6,5. Функциональную активность частиц ФС2 оценивали в присутствии промежуточного акцептора электронов ДХБХ (200 мкМ) по скорости восстановления конечного акцептора ФЦ (2 мМ) и по скорости выделения кислорода при фотоокислении воды (также в присутствии 2 мМ ФЦ). Кинетику фотоиндуцированного восстановления ФЦ регистрировали фотометрически на спектрофотометре Spcorder UV-VIS (Германия) при длине волны 420 нм ($\epsilon_{420}(\text{ФЦ})=1020 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$). Кинетику фотоиндуцированного выделения кислорода регистрировали амперометрически с помощью закрытого электрода Кларка при температуре 25 °С. Суммарную концентрацию хлорофиллов *a* и *b* определяли согласно [Pogra et al., 1989]; при измерении функциональной активности частиц ФС2 она составляла 10 мкг/мл. Источниками возбуждающего света были светодиоды L XK2-PD12_R00 (красный, при измерении фотовосстановления ФЦ) и CREE XBDR0Y (синий, при измерении выделения кислорода). Tb³⁺ добавляли к частицам ФС2 в виде раствора сульфата металла в буфере непосредственно перед измерением функциональной активности.

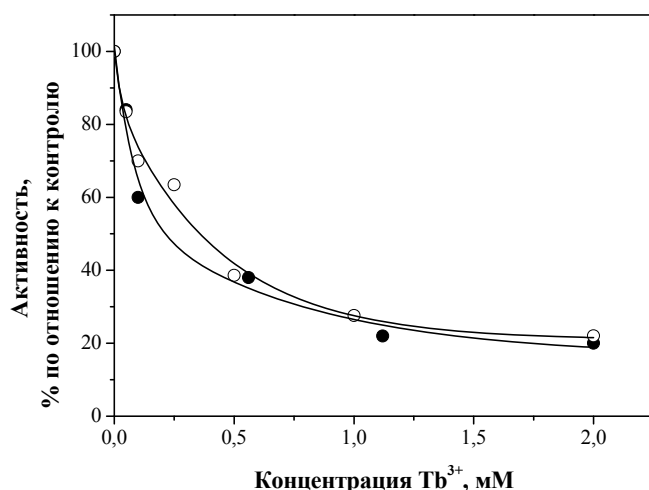


Рис. 1. Влияние Tb³⁺ на скорости восстановления ФЦ (-○-) и выделения кислорода (-●-) частицами ФС2. Условия измерений описаны в «Материалах и методах». 100% соответствуют скорости выделения O₂ 430 мкмоль / мг хлорофилла в час и скорости восстановления ФЦ 1700 мкмоль / мг хлорофилла в час.

Результаты и обсуждение. При включении возбуждающего света наблюдалось линейное снижение оптической плотности при 420 нм (образующийся при фотоиндуцированном восстановлении ФЦ ион ферроцианида [Fe(CN)₆]⁴⁻ практически не поглощает свет при данной длине волны) и линейное нарастание тока электрода Кларка в течение как минимум 30 с как в отсутствие Tb³⁺, так и в его присутствии в использованных концентрациях (50 мкМ – 2 мМ). Активность контрольных препаратов ФС2, рассчитанная по скорости восстановления ФЦ, составила 1706 мкмоль ФЦ/(мг хлорофилла · ч). Активность, рассчитанная по скорости выделения кислорода, составила 432 мкмоль O₂/(мг хлорофилла · ч). Таким образом, соотношение активностей (≈4:1) соответствовала стехиометрии процесса $4[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 4[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-} + 4\text{H}^+ + \text{O}_2$. В присутствии Tb³⁺ снижалась как скорость восстановления ФЦ, так и скорость выделения O₂ на свету (рисунок). При максимальной использованной концентрации Tb 2 мМ активность снижалась примерно на 80% по сравнению с контролем. Концентрации половинного ингибирования выделения кислорода и восстановления акцептора были примерно равны и составили 249 мкМ и 269 мкМ, соответственно. Полученные нами результаты в целом согласуются с данными, приведенными в работе [Wang et al., 2009]. Авторы обнаружили, что обработка Tb³⁺ приводит к значительному снижению суммарной

скорости фотосинтеза у растений хрена *Armoracia rusticana* (Lam.) Gaerth. Снижение скорости электронного транспорта, вызванное действием на фотосинтетический аппарат других ионов РЗЭ, также было показано ранее. В частности, было установлено, что обработка хлоридом лантана приводит к снижению скорости выделения кислорода и восстановления искусственного акцептора электронов 2,6-дихлорофенолиндофенола хлоропластами огурца *Cucumis satives* L. [Zeng et al., 2000].

Следует отметить, что интерес к изучению действия РЗЭ на биологические системы связан также с тем, что эти металлы способны специфически замещать ионы Ca^{2+} в их центрах связывания в белках. При этом в некоторых случаях реализуется функциональный изоморфизм РЗЭ и кальция, когда замещение не приводит к потере функциональной активности. В других случаях наблюдается «антиизоморфизм», при котором ион РЗЭ блокирует функцию Ca^{2+} [Золин, Коренева, 1980]. Известно, что водоокисляющий комплекс ФС2 содержит ион Ca^{2+} , удаление которого приводит к ингибированию кислород-выделяющей функции [Ghanotakis et al., 1984b; Semin et al., 2008]. Можно предположить, что ингибирование активности ФС2 ионами Tb^{3+} связано с нефункциональным замещением иона Ca^{2+} в водоокисляющем комплексе.

Литература

Золин В.Ф., Коренева Л.Г. Редкоземельный зонд в химии и биологии. – Москва: Наука, 1980. – 350 с.

Diatloff E., Smith F.W., Asher C.J. Rare earth elements and plant growth: I. Effects of lanthanum and cerium on root elongation of corn and mungbean // J. Plant Nutr. – 1995. – V. 18. – P. 1963–1976.

Fashui H. Effect of Eu^{3+} on characterization of photosystem II particles from spinach by spectroscopy // Biol. Trace Elem. Res. – 2004. – V. 97. – P. 279–288.

Ghanotakis D.F., Babcock G.T., Yocum C.F. Calcium reconstitutes high rates of oxygen evolution in polypeptide depleted photosystem II preparations // FEBS Lett. – 1984a. – V. 167. – P. 127–130.

Ghanotakis D.F., Babcock G.T., Yocum C.F. Water-soluble 17 and 23 kDa polypeptides restore oxygen evolution activity by creating a high-affinity binding site for Ca^{2+} the oxidizing side of photosystem II // FEBS Lett. – 1984b. – V. 170. – P. 169–173.

Hu Z., Richter H., Sparovek G., Schnug E. Physiological and biochemical effects of rare earth elements on plants and their agricultural significance: A Review // J. Plant Nutr. – 2004. – V. 27. – P. 183–220.

Porra R.J., Thompson W.A., Kriedemann P.E. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy // Biochim. et Biophys. Acta – 1989. – V. 975. – P. 384–394.

Semin B.K., Davletshina L.N., Ivanov I.I., Rubin A.B., Seibert M. Decoupling of the processes of molecular oxygen synthesis and electron transport in Ca^{2+} -depleted PSII membranes // Photosynth. Res. – 2008. – V. 98. – P. 235–249.

Wang L., Zhou Q., Huang X. Photosynthetic responses to heavy metal terbium stress in horseradish leaves // Chemosphere. – 2009. – V. 77. – P. 1019–1025.

Zeng F., An, Y., Ren L., Deng R., Zhang M. Effects of lanthanum and calcium on photoelectron transport activity and the related protein complexes in chloroplast of cucumber leaves // Biol. Trace Elem. Res. – 2000. – V. 77. – P. 83–91.

TOXIC EFFECT OF TERBIUM ON THE HIGH PLANT PHOTOSYSTEM II FUNCTION

A.V. Loktyushkin, E.R. Lovyagina, B.K. Semin

Federal State Budget Educational Institution of Higher Education M.V.Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia, *Elena.Lovyagina@gmail.com*

Abstract. Effect of Tb³⁺ ions on the activity of PSII membranes prepared from *Spinacia oleracea* L. leafs was investigated. It was found that Tb³⁺ cations inhibit the reactions of O₂ evolution and the reduction of ferricyanide electron acceptor under illumination. Maximal decrease of the rate electron transport from water to electron acceptor (about 80%) was observed at Tb³⁺ concentration 2 mM. Concentrations of half inhibition of oxygen evolution and exogenous acceptor reduction were 249 μM and 269 μM respectively. The decrease of PSII activity resulted due to the terbium addition possibly can be determined by interaction of Tb³⁺ with donor side of PSII membranes.

Keywords: *photosystem II, oxygen-evolving complex, electron transport, terbium*

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ СТРЕССОВЫХ МЕТАБОЛИТОВ КСИЛОТРОФНЫХ БАЗИДИОМИЦЕТОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ МИКРООРГАНИЗМОВ

Е.А. Лощина, В.Е. Никитина

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук, Саратов, Россия, *loshchinina@yandex.ru*

Аннотация. Проведено сравнительное исследование изменений в содержании стрессовых соединений в глубинном мицелии базидиомицетов *L. edodes* и *G. frondosa* при совместном культивировании с ростостимулирующими бактериями рода *Azospirillum* и конкурентными микромицетами *Trichoderma*. При росте с азоспириллой и триходермой в мицелии базидиомицетов наблюдалось увеличение содержания стрессового маркера малонового диальдегида и протекторного углевода трегалозы, значительно более выраженное при совместном росте с конкурентными микромицетами.

Ключевые слова: ксилотрофные базидиомицеты, совместное культивирование, биотический стресс, трегалоза, малоновый диальдегид

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-479-483

Стрессовые состояния играют важнейшую роль в жизнедеятельности базидиомицетов. Особое значение в метаболизме грибов при стрессорных воздействиях принадлежит протекторным соединениям, защищающим основные клеточные биополимеры и липиды от повреждений [Феофилова, 1994; Osun et al., 2007]. Одним из наиболее распространенных протекторных соединений у грибов является дисахарид трегалоза, принимающий участие в защите грибных клеток от негативного влияния повышенных температур, а также других абиотических факторов, включая окислительный, осмотический, химический стрессы, голодание, обезвоживание. При стрессовых воздействиях трегалоза стабилизирует белки и мембранные липиды, защищая их от разрушения [Сергеева и др., 2010]. К числу биомолекул, наиболее сильно подверженных окислительному стрессу, относятся липиды, основным продуктом перекисного окисления которых является малоновый диальдегид [Del Rio et al., 2005]. Этот высокотоксичный альдегид служит биомаркером уровня окислительного стресса [Draper, Hadley, 1990; Mendes et al., 2009].

Среди различных внешних воздействий, которым подвергаются базидиальные грибы, важное место занимают биотические факторы – воздействие бактерий, плесневых грибов и других микроорганизмов, с которыми базидиомицеты сосуществуют в естественных условиях. Одни из этих микроорганизмов могут оказывать благоприятное влияние, стимулируя рост базидиомицетов за счет фиксации атмосферного азота, синтеза биологически активных веществ, подавления патогенной микрофлоры, другие, напротив, выступают в роли патогенов и конкурентов за питательные субстраты. Механизмы адаптационных процессов, протекающих при контакте базидиальных грибов с антагонистической и мутуалистической микрофлорой, до сих пор исследованы недостаточно.

Низкая устойчивость съедобных базидиомицетов к посторонней микрофлоре представляет серьезную проблему для промышленного грибоводства. Одними из наиболее распространенных контаминантов культивируемых грибов являются микроскопические грибы рода *Trichoderma* [Stamets, Chilton, 1983; Savoie, Mata, 1999]. Эффективным биотехнологическим приемом для получения быстрорастущего, устойчивого к микробной контаминации посевного мицелия может быть выращивание

грибов в двойной культуре с ростостимулирующими бактериями, которое позволило бы повысить урожайность грибов и ускорить процесс формирования плодовых тел. Ризосферные бактерии рода *Azospirillum* принадлежат к числу микроорганизмов, способных благоприятно воздействовать на растения за счет азотфиксации, гормональной регуляции, улучшения минерального питания, способности подавлять рост фитопатогенных грибов и бактерий [Цавкелова и др., 2006; Red'kina, 1990; Bashan, de-Bashan, 2010]. Симбиотические взаимодействия между бактериями и базидиальными грибами также известны исследователям, хотя механизмы, ответственные за благоприятное воздействие бактерий на базидиомицеты, до сих пор мало изучены. К числу азотфиксирующих микроорганизмов, вступающих в ассоциации с высшими грибами, относятся бактерии рода *Azospirillum* [Tilak et al., 1989; Li, Strzelczyk, 2000; Dahm et al., 2005].

В связи с вышеизложенным, целью настоящей работы явилось исследование соединений стресса, индуцированного у ксилотрофных базидиомицетов под воздействием биотических факторов – почвенных ассоциативных бактерий рода *Azospirillum* и микромицетов *Trichoderma*.

В работе были использованы культуры *Lentinus edodes* (Berk.) Pegler, штамм F-249, и *Grifola frondosa* (Dicks.) Gray, штамм 0917. Для изучения совместного культивирования *L. edodes* и *G. frondosa* с ассоциативными и антагонистическими микроорганизмами в работе были использованы бактерии *Azospirillum brasilense*, штамм Sp7 и микромицеты *Trichoderma* sp. Базидиомицеты выращивали при 26 °С в условиях жидкофазного погруженного культивирования на среде с глюкозой и L-аспарагином в течение 7 сут, затем к ним подсевали культуры *A. brasilense* (48-часовая культура, $2 \cdot 10^7$ клеток/мл) или *Trichoderma* sp. Образцы отбирали в динамике роста грибов. Мицелий отделяли от культуральной жидкости фильтрованием, промывали, механически измельчали, экстрагировали дистиллированной водой, центрифугировали в течение 10 мин при 12000 g и отбирали супернатант. Экстракты мицелия и культуральные жидкости пропускали через мембранные фильтры "Dugapore", 0,22 мкм ("Millipore", Ирландия) и анализировали на наличие трегалозы и малонового диальдегида. Спектрофотометрические измерения проводили на фотометре Multiskan Ascent ("ThermoLabsystems", Финляндия) в Центре коллективного пользования научным оборудованием в области физико-химической биологии и нанобиотехнологии "Симбиоз" Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук (ИБФРМ РАН). Содержание трегалозы в составе мицелия и культуральных жидкостей *L. edodes* и *G. frondosa* определяли трегалазным методом [Kienle et al., 1993]. Трегалозу гидролизуют до глюкозы с использованием трегалазы (ЕС 3.2.1.28) ("Sigma", США), а затем определяют изменение уровня глюкозы в образцах с использованием Glucose (GO) Assay Kit ("Sigma", США). Содержание малонового диальдегида определяют реакцией с тиобарбитуровой кислотой ("Aldrich", США) [Fernandez et al., 1997].

Азоспириллы являются ассоциативными бактериями-азотфиксаторами и обладают способностью стимулировать рост растений. Нами было показано, что на базидиомицеты *L. edodes* и *G. frondosa* бактерии рода *Azospirillum* также оказывают положительное влияние, вызывая увеличение накопления биомассы глубинной культуры грибов на 50 и 40% соответственно. В отличие от азоспирилл, микроскопические грибы рода *Trichoderma* являются антагонистами данных базидиомицетов и одними из основных контаминантов съедобных грибов при их искусственном культивировании, вызывая поражение грибных субстратов зеленой плесенью и подавляя плодоношение. При исследованных нами условиях выращивание *L. edodes* и *G. frondosa* совместно с триходермой приводило к ингибированию

накопления мицелиальной биомассы базидиомицетов на 30–35%. Таким образом, два биотических фактора окружающей среды, изученных в данной работе, – влияние азоспирилл и триходермы при совместном культивировании базидиомицетов с этими микроорганизмами, – принципиально различаются по характеру воздействия. Триходерма проявляет антагонизм в отношении изученных базидиомицетов, тогда как азоспириллы оказывают ростостимулирующее влияние.

Анализ изменений концентрации малонового диальдегида в составе мицелия, а также в фильтратах культуральных жидкостей глубинных культур *L. edodes* и *G. frondosa*, происходящих под влиянием совместного культивирования с *A. brasilense* Sp7 и *Trichoderma* sp., показал, что культуральная жидкость обоих видов базидиомицетов на протяжении всего времени выращивания содержала лишь незначительные количества малонового диальдегида как в монокультуре, так и при совместном культивировании с *A. brasilense* Sp7 и *Trichoderma* sp. При этом различий в содержании стрессового маркера в культуральных жидкостях между ростостимулирующими бактериями *Azospirillum* и плесневыми грибами-антагонистами *Trichoderma* не наблюдалось. В то же время в мицелии *L. edodes* и *G. frondosa* уровень малонового диальдегида был достаточно высоким и повышался по мере роста культур. При совместном культивировании с азоспириллой концентрация малонового диальдегида в мицелии базидиомицетов возрастала на 50–65%, а с триходермой – в 2–3 раза. Можно заключить, что совместное культивирование с обоими микроорганизмами является для исследованных базидиомицетов стрессорным фактором, однако в случае с триходермой это влияние выражено значительно сильнее, на что указывает более высокий уровень стрессового маркера – малонового диальдегида.

Как и в случае с малоновым диальдегидом, культуральная жидкость обоих видов базидиомицетов на протяжении всего времени выращивания содержала незначительные количества трегалозы как в монокультуре, так и при совместном росте с ростостимулирующими бактериями *Azospirillum* и микроскопическими грибами *Trichoderma*. Совместное культивирование обоих видов исследованных макромицетов с азоспириллой и триходермой вызывало повышение содержания трегалозы в мицелии базидиальных грибов на 30–35 и 45–55% соответственно. Изменение уровня малонового диальдегида и трегалозы в мицелии *L. edodes* и *G. frondosa* указывает на активацию протекторных механизмов при совместном выращивании базидиомицетов с ассоциативной и конкурентной микрофлорой.

Таким образом, мы провели анализ изменений в содержании малонового диальдегида и трегалозы у глубинных культур базидиомицетов *L. edodes* и *G. frondosa* при стрессе, индуцированном воздействием биотических факторов – почвенных ассоциативных бактерий рода *Azospirillum* и макромицетов рода *Trichoderma*. При совместном культивировании с азоспириллой концентрация малонового диальдегида в мицелии базидиомицетов возрастала на 50–65%, а при росте с триходермой – в 2–3 раза. Совместное культивирование обоих видов исследованных макромицетов с азоспириллой и триходермой также вызывало повышение содержания трегалозы в мицелии базидиальных грибов на 30–35 и 45–55% соответственно. В отличие от мицелия, в культуральной жидкости *L. edodes* и *G. frondosa* содержалось незначительное количество изучаемых метаболитов как в монокультуре, так и при совместном росте с микроорганизмами. Изменение уровня стрессовых метаболитов в мицелии указывает на активацию окислительных процессов и протекторных механизмов при совместном выращивании базидиомицетов с ассоциативной и конкурентной микрофлорой.

Изучение стрессовых метаболитов при адаптации грибов к различным внешним факторам необходимо не только для расширения сведений о ростовых процессах и

метаболизме базидиомицетов, их взаимодействиях с патогенами и симбионтами, но также имеет практическое значение для искусственного выращивания съедобных и лекарственных грибов и предотвращения их контаминации конкурентной микрофлорой. Необходимость исследования биохимических процессов, происходящих при совместном культивировании съедобных высших грибов с различными микроорганизмами, определяется большой важностью разработки методов повышения урожайности базидиомицетов и их защиты от контаминирующих микроскопических грибов при получении плодовых тел и мицелиальной биомассы в промышленном грибоводстве.

Литература

- Сергеева Я.Э., Галанина Л.А., Феофилова Е.П. О новой функции трегалозы и об особенностях липидообразования у мицелиальных грибов // Микробиология. – 2010. – Т. 79, № 4. – С. 470–474.
- Феофилова Е.П. Биохимическая адаптация грибов к температурному стрессу // Микробиология. – 1994. – Т. 63, № 5. – С. 757–776.
- Цавкелова Е.А., Климова С.Ю., Чердынцева Е.А., Нетрусов А.И. Микроорганизмы – стимуляторы роста растений и их практическое применение (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. – 2006. – Т. 42, № 2. – С. 133–143.
- Bashan Y., de-Bashan L.E. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth – a critical assessment // *Advances in Agronomy*. – 2010. – V. 108. – P. 77–136.
- Dahm H., Wrotniak W., Strzelczyk E., Li C.Y., Bednarska E. Diversity of culturable bacteria associated with fruiting bodies of ectomycorrhizal fungi // *Phytopathol. Pol.* – 2005. – V. 38. – С. 51–62.
- Del Rio D., Stewart A.J., Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress // *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*. – 2005. – V. 15. – P. 316–328.
- Draper H.H., Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation // *Methods in Enzymology*. – 1990. – V. 186. – P. 421–431.
- Fernández J., Páirez-Blvarez J.A., Fernández-Lopez J.A. Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat // *Food Chemistry*. – 1997. – V. 59, № 3. – P. 345–353.
- Kienle I., Burgert M., Holzer H. Assay of trehalose with acid trehalase purified from *Saccharomyces cerevisiae* // *Yeast*. – 1993. – V. 9, № 6. – P. 607–611.
- Li C.Y., Strzelczyk E. Belowground microbial processes underpin forest productivity // *Phyton*. – 2000. – V. 40, № 4. – P. 129–134.
- Mendes R., Cardoso C., Pestana C. Measurement of malondialdehyde in fish: A comparison study between HPLC methods and the traditional spectrophotometric test // *Food Chemistry*. – 2009. – V. 112. – P. 1038–1045.
- Ocyn A., Hampp R., Requena N. Trehalose turnover during abiotic stress in arbuscular mycorrhizal fungi // *New Phytologist*. – 2007. – V. 174. – P. 879–891.
- Red'kina T.V. Fungistatic activity of bacteria of the genus *Azospirillum* // *Agrokemia es Talajtan (Agrochemistry and Soil Science)*. – 1990. – V. 39, № 3–4. – P. 465–468.
- Savoie J.-M., Mata G. The antagonistic action of *Trichoderma* sp. hyphae to *Lentinula edodes* hyphae changes lignocellulolytic activities during cultivation in wheat straw // *World Journal of Microbiology & Biotechnology*. – 1999. – V. 15. – P. 369–373.
- Stamets P., Chilton J.S. *The mushroom cultivator: A practical guide to growing mushrooms at home* – Olympia, Washington: Agaricon Press, 1983. – 416 p.
- Tilak K.V.B.R., Li C.Y., Ho I. Occurrence of nitrogen-fixing *Azospirillum* in vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi // *Plant and Soil*. – 1989. – V. 116, № 2. – P. 286–288.

CHANGES IN THE STRESS METABOLITES CONTENT IN THE XYLOTROPHIC BASIDIOMYCETES UNDER THE INFLUENCE OF MICROORGANISMS

E.A. Loshchinina, V.E. Nikitina

Institute of Biochemistry and Physiology of Plant and Microorganisms Russian Academy of Sciences, Saratov, Russia, loshchinina@yandex.ru

Abstract. A comparative study of the changes in the stress compounds content in the submerged mycelium of the basidiomycetes *L. edodes* and *G. frondosa* grown in co-culture with growth-promoting bacteria *Azospirillum* and competitive micromycetes *Trichoderma* was conducted. Growth with *Azospirillum* and *Trichoderma* resulted in the increase of the stress marker malonic dialdehyde and the protecting carbohydrate trehalose in the basidiomycetes mycelium, which was significantly more pronounced in the co-culture with competitive micromycetes.

Keywords: *xylotrophic basidiomycetes, co-cultivation, biotic stress, trehalose, malonic dialdehyde*

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ БИОХИМИЧЕСКИХ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ ИСХОДНОЙ И ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ ЛИНИЙ ТАБАКА *IN VITRO* НА ДЕЙСТВИЕ ТЕМПЕРАТУРНОГО СТРЕССА

А.С. Лукаткин¹, Т.А. Лукшина¹, О.А. Ведяшкина¹, Л.В. Куренина²,
А.А. Гулевич², Е.Н. Баранова²

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарёва», Саранск, Россия, aslukatkin@yandex.ru

²Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», Москва Россия, greenpro2007@rambler.ru

Аннотация. На трех линиях табака (*Nicotiana tabacum* L.) – исходной (Wt, сорт Самсун) и двух трансформированных, выращиваемых в культуре *in vitro*, изучали реакцию на кратковременное действие пониженных (5 °С) и повышенных (40 °С) температур. Более сильные нарушения структуры и функционирования мембран и фотосинтетического аппарата выявлены после температуры 40 °С. Самыми чувствительными к температурным воздействиям оказались растения-регенеранты Wt, а устойчивыми – трансформанты по гену Fe-SOD.

Ключевые слова: табак, трансформанты, температурный стресс, состояние мембран, флуоресценция хлорофилла

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-484-487

Создание трансгенных растений является одним из основных направлений интенсификации мирового сельского хозяйства. Это эффективный и перспективный путь, позволяющий направленно изменять как генотип, так и фенотип сельскохозяйственных растений [Кулуев и др., 2016]. При этом можно использовать различные способы генетической трансформации в зависимости от целей и задач данной конструкции. В связи с интенсивным развитием биоинформационных технологий в настоящее время известно много целевых генов, модификация которых позволит повысить продуктивность и устойчивость культурных растений. Наряду с прикладными задачами, трансгенные растения являются удобными модельными объектами при изучении реакции на различные абиотические стрессы, поскольку позволяют вычленять отдельные звенья метаболизма, где эффективно изменено функционирование, и оценить роль этих изменений при действии неблагоприятных факторов.

Одним из ключевых факторов в формировании высокой продуктивности сельскохозяйственных растений является их устойчивость к абиотическим и биотическим стрессорным факторам. Среди абиотических факторов ведущую роль играет температура. Неблагоприятные температуры снижают урожай культурных растений на 50% и более, вызывают повреждения структуры, нарушения физиологических и биохимических процессов в растениях [Лукаткин, 2002]. Поэтому исследование температурной устойчивости создаваемых сортов и селекционных образцов культурных растений необходимо на каждом этапе селекционного процесса.

Для исследования функций определенных генов используют различные модельные растения, среди которых особое место занимает *Nicotiana tabacum* L.; этот вид относительно легко трансформируется и может быть использован для получения большого количества линий трансгенных растений, которые затем анализируются по многим параметрам, в том числе – на устойчивость к действию неблагоприятных факторов среды.

При оценке влияния абиотических факторов необходимо детальное понимание морфологических, физиологических и биохимических особенностей трансформированных линий (в отличие от исходной линии – Wild type, Wt). В настоящее время известно много линий табака (*Nicotiana tabacum* L.), трансформированных по различным генам. Так, во ВНИИ сельскохозяйственной биотехнологии создано несколько линий, экспрессирующих Fe-СОД из *Arabidopsis thaliana* (преимущественно хлоропластной локализации), и показано, что интродукция гена Fe-СОД повышает стабильность фотосинтетического аппарата при действии окислительного стресса. Трансгенные растения табака имели измененную ультраструктуру клеточных компартментов (хлоропластов), повышенную активность СОД по сравнению с Wt-растениями [Baranova et al., 2010]. В Ягеллонском университете (Краков, Польша) проведена трансформация *Nicotiana tabacum* L. сорта Самсун с использованием штамма LVA 4404 *Agrobacterium tumefaciens*, содержащего бинарную плазмиду pBI 121, в которую введен ген, кодирующий слитый белок, состоящий из усеченного человеческого пластана и smGFP (пластин-GFP), под контролем промотора 35S вируса мозаики цветной капусты. Посредством такой трансформации стала возможной визуализация актинового цитоскелета, изменяющегося при различных воздействиях [Anielska-Mazur et al., 2009].

Целью данного исследования было сравнительное изучение реакции на температурный стресс Wt-линии табака (*Nicotiana tabacum* L., сорт Самсун) и нескольких трансформированных линий, культивируемых *in vitro*. В работе использовали линию 6214, стабильно экспрессирующую пластин-GFP (семена растений были получены из Малопольского центра биотехнологии, Краков, Польша) и введенную в культуру *in vitro*, а также пробирочные растения линии 29, сверхэкспрессирующие Fe-СОД. Клонально размножаемые растения высаживали на агаризованные среды с минеральной основой по Мурасиге-Скугу и выращивали 30–40 дней в культуре *in vitro* при температуре 20–24 °С и 16-часовом фотопериоде. Регенеранты подвергали 18-часовому воздействию высоких (40 °С) или пониженных (5 °С) температур (контроль выдерживали при 23 °С), сразу после температурного воздействия 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 состояние фотосинтетического аппарата (ФСА) по параметрам флуоресценции хлорофилла (ФХ) (на флуориметре Junior PAM, Walz, Germany) [Лукаткин, 2002; Лукаткин, Тютяев, 2017]. Статистическую обработку проводили по стандартным биометрическим методам, с использованием пакетов программ Microsoft Excel.

Морфометрический анализ показал, что растения-регенеранты табака (как Wt, так и трансформанты) проявляли некоторые различия по скорости роста побега. Обычно побегообразование и ризогенез лучше протекали у Wt-линии табака; однако существенной разницы по количеству листьев и узлов между Wt и трансформированными линиями не наблюдалось. Трансформированные линии (6214 и 29) проявляли сходную динамику изменений ростовых параметров и органогенеза при культивировании *in vitro*. Поскольку габитус и морфогенез трансформированных линий не отличался значительно от Wt-растений, их можно использовать при оценке температурной устойчивости растений табака, культивируемых *in vitro*.

Выявлено, что при действии неблагоприятных температур существенно изменялись все измеряемые параметры, указывающие на нарушения структуры и функционирования мембран (показано как по изменениям выхода электролитов из высечек листьев, так и по интенсивности ПОЛ). Более сильные повреждения растений

табака выявлены после воздействия высокой температуры. Сравнение растений-регенерантов табака разных линий показало несколько различающуюся в количественном аспекте реакцию (по индексам повреждения) на неблагоприятные температуры, при этом самыми чувствительными к температурным воздействиям оказались растения, а самыми устойчивыми – трансформанты по гену Fe-SOD. Так, величина коэффициента повреждаемости (КП), рассчитанная на основе выхода электролитов [Лукаткин, 2002], для Wt варьировала от 46 до 54% (для разных температур), тогда как у линии 6214 КП составил 34–36%, а у линии 29 – после воздействия температуры 5 °С лишь 2,5%. Максимальное возрастание интенсивности ПОЛ также было у регенерантов Wt (от 40 до 154% к контролю), в то время как у трансформированных линий (особенно у линии 29) это увеличение было существенно ниже (не превышало 64% для линии 6214 и 15% для линии 29).

Состояние и активность ФСА играют существенную роль при адаптации к неблагоприятным условиям, поэтому определение параметров ФХ считается одним из наиболее быстрых и точных методов оценки реакции растений на воздействие стрессорных факторов. После высоко- и низкотемпературного воздействия в листьях табака наблюдали изменения параметров ФХ, которые указывают на нарушения функционирования фотосистемы II (ФСII). Параметр Fv/Fm (максимальный квантовый выход фотохимии ФСII) в растениях-регенерантах Wt снижался на 18–23%; однако у линий 6214 эти изменения были в пределах 4–16%, а у линии 29 – 10–17%. Параметр, оценивающий фотохимическое использование энергии возбуждения в ФСII – эффективный квантовый выход флуоресценции ФС II, Y(II), снижался в растениях Wt на 21–57%, в линии 6214 – на 11–31%, а в растениях линии 29 – на 10–18%. Сходная тенденция отмечена и для коэффициентов фотохимического тушения флуоресценции qP и qL. В то же время параметры, указывающие на интенсивность нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла (qN, NPQ, Y(NO), Y(NPQ)), возрастали при действии неблагоприятных температур, сильнее в вариантах с регенерантами Wt, и слабее – в случае растений линии 29. Это свидетельствует о более высокой стабильности работы ФСА при температурных стрессах у линии табака, трансформированной по гену Fe-SOD.

Таким образом, анализ температурной чувствительности растений-регенерантов нескольких линий табака показал более высокую устойчивость трансформантов, особенно линии 29, относительно дикого типа (Wt). При этом линия, трансформированная по гену Fe-SOD, оказалась более устойчивой к действию пониженной положительной температуры, по сравнению с действием высокой.

Литература

Кулуев Б.Р., Князев А.В., Бережнева З.А., Михайлова Е.В., Постригань Б.Н., Чемерис А.В. Трансгенные растения табака как модельный объект при исследовании продуктивности и стрессоустойчивости // Трансгенные растения: технологии создания, биологические свойства, применение, биобезопасность: Сборник статей по материалам VI Всероссийского симпозиума. – М., 2016. – С. 105–108.

Лукаткин А.С. Холодовое повреждение теплолюбивых растений и окислительный стресс. – Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2002. – 208 с.

Лукаткин А.С., Тютяев Е.В. Определение состояния фотосинтетического аппарата высших растений при неблагоприятных воздействиях. – Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2017. – 64 с.

Anielska-Mazur A., Bernas T., Gabrys H. *In vivo* reorganization of the actin cytoskeleton in leaves of *Nicotiana tabacum* L. transformed with plastin-GFP. Correlation with light-activated chloroplast responses // BMC Plant Biology. – 2009. – V.9. – Art. 64. doi:10.1186/1471-2229-9-64

Baranova E.N., Serenko E.K., Balachnina T.I., Kosobruhov A.A., Kurenina L.V., Gulevich A.A., Maisuryan A.N. Activity of the photosynthetic apparatus and antioxidant enzymes in leaves of transgenic *Solanum lycopersicum* and *Nicotiana tabacum* plants, with FeSOD1 gene // Russian agricultural sciences. – 2010. – V. 36. – P. 242–249.

COMPARATIVE ANALYSIS OF BIOCHEMICAL AND PHYSIOLOGICAL REACTIONS TOBACCO OF WILD TYPE AND TRANSFORMED LINES *IN VITRO* AFFECTED BY TEMPERATURE STRESS

A.S. Lukatkin¹, T.A. Lukshina¹, O.A. Vedyashkina¹, L.V. Kurenina², A.A. Gulevich², E.N. Baranova²

¹Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «National Research Ogarev Mordovia State University», Saransk, Russia, aslukatkin@yandex.ru

²All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology, Moscow, Russia, greenpro2007@rambler.ru

Abstract. Three tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) lines, namely Wt (Samsun cultivar) and two transformed lines, were cultivated *in vitro* and reaction was studied for short-term effects of chilling (5 °C) and heat (40 °C) temperatures. More severe damage to the structure and functioning of membranes and photosynthetic apparatus was detected after a temperature of 40 °C. Regenerated Wt plants were most sensitive to stressful temperatures, but transformed plants with gene of FeSOD were most resistant.

Keywords: tobacco, transformed lines, temperature stress, membrane state, chlorophyll fluorescence

ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТАВА ФТАЛАТОВ В КОРНЕВЫХ ЭКССУДАТАХ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА, ИНОКУЛИРОВАННЫХ *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM* BV. *VICEAE* И *PSEUDOMONAS SYRINGAE* PV. *PISI* ПРИ РАЗНЫХ ТЕМПЕРАТУРАХ

Л.Е. Макарова, А.С. Мориц, Н.А. Соколова, И.С. Нестеркина

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия, makarova@sifibr.irk.ru

Аннотация. Методом ГХ-МС-анализа исследовали состав фталатов в корневых экссудатах проростков гороха, инокулированных бактериями *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* и *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*, росших при температурах 21 и 9 °С на водной среде, содержащей набор необходимых для роста микроэлементов. Результаты указывают на влияние температуры среды и на возможность изменений в составе фталатов в ризосфере гороха под влиянием ризобий.

Ключевые слова: *корневые экссудаты, температура, фталаты, Rhizobium, Pseudomonas*
DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-488-491

В экссудатах бобового растения среди многообразия представленных в них ароматических соединений имеются компоненты не только стимулирующие, но и подавляющие рост и развитие микрофлоры и даже некоторых высших растений. В число таких компонентов у бобовых растений наряду с фитоалексинами изофлавоноидного происхождения, по-видимому, входят N-фенил-2-нафтиламин и фталаты, обнаруженные нами ранее у этих растительных культур [Макарова et al., 2012, 2016]. Судя по появившимся в последние годы сообщениям [Семенов и др., 2016], фталаты присутствуют в тканях более широкого круга представителей растительного мира. Во внешнюю сферу фталаты могут секретировать и многие виды бактерий, способные катаболизировать полициклические ароматические соединения по фталатному пути [Keyser et al., 1976]. Некоторые виды сложноэфирных соединений о-фталевой кислоты могут подавлять рост определенных видов бактерий [Al-Bari et al., 2006], то есть участвовать в селекции состава микробиомы в ризосфере растения.

Ранее нами сообщалось [Макарова и др., 2016] о способности *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* и *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* подвергать деструкции с образованием фталатов N-фенил-2-нафтиламин, присутствие которого в корневых экссудатах растения гороха, как отмечено выше, установлено нами ранее. Деструктирующая активность перечисленных видов бактерий в отношении N-фенил-2-нафтиламина, как мы полагаем, может способствовать изменениям в составе, и, не исключено, что и в общем количестве фталатов в ризосфере их растения-хозяина. Исходя из сказанного, мы поставили цель – сравнить состав фталатов в экссудатах растений гороха после появления в его ризосфере указанных видов бактерий, один из которых является мутуалистом, другой патогеном для растений гороха, и выяснить при этом влияние температуры среды (21 и 9 °С). Контролем в экспериментах служили неинокулированные проростки, также росшие, соответственно, при 21 и 9 °С.

Для исследований использовали 2-хсуточные этиолированных проростков гороха сорта Торсдаг, полученные в термостате с температурой 21 °С. Бактерии вносили в водную среду одновременно с помещением в нее корней проростков гороха. Через 1 сут экспозиции при постоянно действующей температуре (21 или 9 °С), освещении (81 $\mu\text{M}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{сек}^{-1}$) и фотопериоде 16/8 ч (день/ночь) фенольные соединения экстрагировали при помощи этилацетата из водной среды, куда они секретировались из корневых

клеток проростков. Полученные экстракты сгущали до минимального объема, соединения в них подвергали силилированию, и затем состав присутствующих в экстрактах соединений исследовали методом ГХ-МС - анализа. Следует заметить, что фталаты и N-фенил-2-нафтиламин не образовывали связи с атомами кремния силилирующих агентов, силилированию подвергалась только *o*-фталевая кислота, которая была представлена на хроматограмме в виде очень маленького пика. Зато в составе экстрактов выявлен ряд свободных жирных кислот и их эфиров, которые, по-видимому, легко подвергались силилированию, а пики, к ним относящиеся, доминировали по площади и высоте над фенольными соединениями в составе исследуемых экстрактов.

Полученные нами результаты исследования состава фталатов представлены в таблице. Данные показывают, что вне зависимости от температурных условий и воздействующего на растения гороха вида бактерий в его ризосфере неизменно присутствующими компонентами были дибutilфталат и диизооктилфталат. Но температура, по-видимому, определяет синтез в клетках корня гетерорадикального бутил - тетрадецил фталата и диизононилфталата. Первый из них в среде роста корней присутствовал только в условиях действия температуры 21 °С, второй обнаружен при 9 °С. Очевидно, это может быть прямым свидетельством изменений в биосинтезе сложноэфирных соединений *o*-фталевой кислоты в зависимости от температуры среды. Характерно, что появление двух перечисленных выше фталатов в составе экссудатов не было связано с инокуляцией изучаемыми видами бактерий.

Таблица.

Состав фталатов в ризосфере проростков гороха, росших при 21 и 9 °С

Соединения, обнаруженные в экстрактах после их обработки силилирующими реагентами (ГМДС и БСА)	Показатели ГХ- МС-анализа		Контроль		Инокуляция <i>Rhizobium</i>		Инокуляция <i>Pseudomonas</i>	
	t _{уд.} , мин	% вероят- ности	21 °С	9 °С	21 °С	9 °С	21 °С	9 °С
<i>o</i> -Фталевая к-та, бис- триметилсилиловый эфир	16,41	7,2%	-	-	-	+	-	-
Бутил тетрадециловый эфир <i>o</i> -фталевой кислоты	19,70	16,6%	+	-	+	+	+	-
Дибутилфталат	21,56	25%	+	+	+	+	+	+
Диизооктилфталат	31,49	60%	+	+	+	+	+	+
Диизононилфталат	34,72	73,8%	-	+	-	+	-	+

Обозначения в таблице: t_{уд.} – время выхода пика; % вероятности – степень вероятности для идентифицируемого соединения; «+» и «-» - соответственно отмечено наличие или отсутствие вещества.

При сравнении с растениями контроля замечено, что влияние бактерий *Pseudomonas* на состав фталатов в ризосфере проростков гороха при обоих температурных режимах отсутствует. При инокуляции ризобиями состав фталатов в ризосфере контроля и инокулированных проростков при оптимальной температуре был одинаков, однако пониженная температура способствовала появлению в среде роста инокулированных корней бутил-тетрадецил фталата и с низкой вероятностью - *o*-фталевой кислоты (таблица). При изучении деструктирующей активности обоих видов бактерий в отношении N-фенил-2-нафтиламина (напомним, он является компонентом корневых экссудатов бобовых растений) мы не находили бутил-тетрадецил фталат в среде их роста. Однако данное соединение в относительно небольшом количестве было обнаружено в культуральной среде ризобий при замене N-фенил-2-нафтиламина на

дибутилфталат. Поэтому можно предположить, что в условиях пониженной температуры появление при инокуляции ризобиями в ризосфере проростков гороха бутил-тетрадецил фталата обусловлено усилением активности этих бактерий в преобразовании до бутил-тетрадецил фталата дибутилфталата, который выделяется в экссудаты корневыми клетками этого растения в довольно большом количестве [Makarova, Dudareva, 2016].

Итак, полученные нами данные говорят о том, что синтез некоторых видов фталатов в корневых клетках растения, которые секретируются ими во внешнюю среду, зависит от температуры среды. Вклад в изменение содержания фталатов в ризосфере растения могут вносить и виды бактерий, которые отличаются способностью подвергать катаболизму полициклические соединения по фталатному пути. А при этом изменения в составе фталатов при участии бактерий, вероятно, обуславливаются их способностью заменять, или, возможно, преобразовывать путем изменения длины углеводородной цепочки и образования разветвленных углеводородных структур у спиртовых группировок, которые связаны с *о*-фталевой кислотой эфирными связями по ее карбоксильным группам. Исходя из полученных нами данных, мы можем отметить разницу между двумя симбионтами гороха – *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* (мутуалист) и *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (антагонист) - по их влиянию на состав фталатов в ризосфере своего растения-хозяина при пониженной температуре. Эти данные показывают, что, несмотря на то, что оба вида бактерий одинаково способны катаболизировать нафталиновые группировки *N*-фенил-2-нафтиламина до *о*-фталевой кислоты с последующей образованием ее фталатов, влияние первого вида сказывается на компонентном составе фталатов, а второй вид не вызвал изменений в составе последних. Причем, это влияние проявилось в условиях пониженной температуры.

Литература

Макарова Л.Е., Мориц А.С., Васильева Г.Г. Влияние бактерий мутуалистического и антагонистического типа взаимодействия на содержание негативных аллелопатических соединений в составе корневых экссудатов растений гороха // Факторы устойчивости растений и микроорганизмов в экстремальных природных условиях и техногенной среде: Материалы Всероссийской научной конференции с международным участием и школы молодых ученых (Иркутск, 12–15 сентября 2016 г.). – Иркутск: Изд-во Института географии им. В.Б. Сочавы СО РАН, 2016. – С. 127–128.

Семенов А.А., Еникеев А.Г., Снеткова Л.В., Пермяков А.В., Соколова Н.А., Дударева Л.В. Сложные эфиры орто-фталевой кислоты из культуры *Aconitum baicalense* Turcz. ex Rapaics 1907 // Докл. Академии наук. – 2016. – Т. 471. – № 3. – С. 366–367.

Al-Bari M.A.A., Sayeed M.A., Rahman M.S., Mossadik M.A. Characterization and Antimicrobial Activities of a Phthalic Acid derivative Produced by *Streptomyces bangladeshensis* A Novel Species Collected in Bangladesh // Research Journal of Medicine and Medical Sciences. – 2006. – V. 1 (2). – P. 77–81.

Keyser P., Pujar B.G., Eaton R.W., Ribbons D.W. Biodegradation of the Phthalates and Their Esters by Bacteria // Environmental Health Perspectives. – 1976. – V. 18. – P. 153–166.

Makarova L.E., Smirnov V.I., Klyba L.V., Petrova I.G., Dudareva L.V. Role of allelopathic compounds in the regulation and development of legume-rhizobial symbiosis // Applied Biochemistry and Microbiology. – 2012. – V. 48. – P. 355–362.

Makarova L.E., Dudareva L.V., Petrova I.G., Vasil'eva G.G. Secretion of phenolic compounds into root exudates of pea seedlings upon inoculation with *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* or *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* // Applied biochemistry and Microbiology. – 2016. – V. 52. – No. 2. – P. 205–209.

STUDY OF THE PHTHALATES COMPOSITION IN THE PEA SEEDLINGS ROOT EXUDATES INOCULATED WITH *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM* BV. *VICEAE* AND *PSEUDOMONAS SYRINGAE* PV. *PISI* AT DIFFERENT TEMPERATURES

L.E. Makarova, A.S. Morits, N.A. Sokolova, I.S. Nesterkina

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, Siberian Division, Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia, makarova@sifibr.irk.ru

Abstract. The composition of phthalates in root exudates of pea seedlings inoculated with *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* and *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*, grown at temperatures of 21 and 9 °C on an aqueous medium containing a set of microelements necessary for growth was studied by GC-MS analysis. The results indicate the effect of environmental temperature and the possibility of changes in the composition of phthalates in the pea plant rhizosphere under the influence by rhizobia.

Keywords: *root exudates, temperature, phthalates, Rhizobium, Pseudomonas*

ОСОБЕННОСТИ УГЛЕРОДНОГО И ВОДНОГО ЦИКЛОВ ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМ КРИОЛИТОЗОНЫ В КОНТЕКСТЕ ГЛОБАЛЬНОГО ИЗМЕНЕНИЯ КЛИМАТА

Т.Х. Максимов^{1,2}, А.В. Кононов^{1,2}, А.П. Максимов¹, Р.Е. Петров¹,
М.П. Терентьева¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологических проблем криолитозоны Сибирского отделения Российской академии наук, Якутск, Россия, *t.c.maximov@ibpc.ysn.ru*

²Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Северо-восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова», Россия, *tcmx@mail.ru*

Аннотация. Представлены результаты многолетних исследований по изучению основных компонентов углеродного и водного циклов мерзлотных репрезентативных лесных экосистем на Северо-востоке России. Небольшая биомасса хвои при низком листовом ассимилирующем индексе (до 2,0) и укороченный период фотосинтетической деятельности обусловили пониженную чистую первичную продуктивность ($NPP=3,1\pm 0,3$ т га⁻¹ год⁻¹) основной лесообразующей породы Центральной и Южной Якутии – лиственницы. Рост и развитие древесных растений в Якутии за короткий вегетационный период обеспечиваются высокими уровнями фотосинтеза и транспирации при сравнительно низких темновых и ночных дыхательных затратах на рост и поддержание. Годовой сток углерода в лиственничных лесах Южной Якутии составляет $2,43\pm 0,23$ т С га⁻¹ год⁻¹, а в Центральной Якутии – $2,12\pm 0,34$ т С га⁻¹ год⁻¹. По результатам исследований нами составлены схематические модели годового бюджета углерода и воды в мерзлотных лесных экосистемах, которые могут быть использованы в качестве фактического материала для верификации и оценки углеродного пула России и для разработки адекватных моделей регионального и глобального баланса углерода и воды в растительных сообществах.

Ключевые слова: многолетняя мерзлота, изменение климата, лес, углерод, вода

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-492-495

Основной сферой деятельности физиолога является растение в природных экосистемах и задачи экологической физиологии включают количественные исследования энерго-, массообмена в природных экосистемах, экологию растений-эдификаторов в природных ценозах, вопросы защиты генофонда и другие проблемы [Мокроносков, 1983]. В природной среде сосредоточено около 80-90% всего хлорофилла биосферы и около 250 тысяч видов растений.

Начиная с шестидесятых годов прошлого века, основное внимание экологов было направлено на фотосинтетическую деятельность сельскохозяйственных и лесных растений. Увеличение объема работ и улучшение приборного обеспечения в течение последних 25 лет позволили проводить комплексные измерения микрометеорологических и экофизиологических параметров, не нарушая целостности растительного организма и экосистемы в целом. Результаты этих исследований могут быть использованы в создании и совершенствовании современных экологических моделей регионального и континентального бюджета углерода и воды в условиях глобального изменения климата.

Территория Якутии (3,1 млн. км²), занимающей значительную часть пространства Севера, играет важную роль в климатической системе планеты и является свободным резервом биосферы в пределах Единого циркумполярного экологического пространства. При глобальном потеплении климата именно в этом регионе рост температуры наибольший, и ответное воздействие криосферы на атмосферу более

значительное, чем где-либо. Здесь представлены все основные биотические и абиотические компоненты Севера, дающие отклик на изменения климата: Северный Ледовитый океан, многолетняя мерзлота, северная граница лесов, северные популяции растений и животных [Максимов, 2007].

Многолетние исследования проводились с 2000 по 2017 гг. в Центральной Якутии (62 °с.ш., 129 °в.д.) и в Южной Якутии (60 °с.ш., 133 °в.д.) в средне- и высокопродуктивных лиственничных лесах, соответственно. Для общего анализа чистого углекислотного газообмена экосистем (NEE) нами использованы автоматические системы эдди-корреляции как закрытого, так и открытого типов (частота измерений 30 Гц), установленные на разных высотах от 3 до 34 метров. Фотосинтетическую и дыхательную способность растений определяли общепринятыми методами с помощью инфракрасных газоанализаторов KIP-9010 (Japan), ADC-Shimadzu (UK) и Li-Cor LI-6400 (USA). Почвенное дыхание измерено с помощью двух систем – автоматической системы почвенного дыхания с четырьмя затемненными камерами с интервалом 15 минут (PP system, UK) и ручными газоанализаторами EGM-4 (PP system, UK). Поток биогенных летучих органических соединений (БЛОС) измерен системой эдди-ковариации с масс-спектрометром PTR-MS (Ionicon, Austria).

Основной стратегией растений криолитозоны является выживание и воспроизводство семян даже в ущерб высокой продуктивности. В условиях таежной зоны Центральной и Южной Якутии древесные растения имеют сравнительно небольшую биомассу фотосинтезирующих органов. Так, масса хвои лиственницы в Центральной Якутии (1,68 т га⁻¹) в 1,5 раза ниже, чем в регионах с влажным климатом. Небольшая биомасса хвои при низком листовом ассимилирующем индексе (до 2,0) и укороченный период фотосинтетической деятельности обусловили пониженную чистую первичную продуктивность (NPP=3,1±0,3 т га⁻¹ год⁻¹) основной лесообразующей породы Центральной Якутии – лиственницы.

Рост и развитие древесных растений в Якутии за короткий вегетационный период обеспечиваются высокими уровнями физиологических процессов (фотосинтеза и транспирации) при сравнительно низких темновых и ночных дыхательных затратах на рост и поддержание. Большая межгодовая вариабельность процесса фотосинтеза и темного дыхания у растений *Larix cajanderi* свидетельствует о прекрасной ее приспособленности к своеобразным климатическим условиям криолитозоны.

Наши многолетние наблюдения показали, что в течение короткого, но теплого вегетационного периода (конец мая – конец первой декады сентября) мерзлотные лесные экосистемы являются стоком углекислого газа с максимальной поглотительной способностью до 6,1 кг С га⁻¹ сут⁻¹. Несмотря на краткость периода «нетто-поглощение» (июнь, июль и август), древесные растения Якутии используют от 1,5 до 4,0 т С га⁻¹ сезон⁻¹. Высокая фотосинтетическая активность древесных растений в условиях недостатка доступной влаги в почве и атмосфере обеспечивается усвоением влаги надмерзлотных слоев почвы, благодаря невысокой устьичной проводимости и высокого ксилемного потенциала.

Главенствующим фактором повышения продуктивности лесов криолитозоны при потеплении климата будет направленность педотурбационных процессов, напрямую воздействующих на круговорот основных органогенов в экосистеме. Продукционный процесс якутских популяций деревьев в условиях потепления климата будет в основном лимитирован эндогенными факторами – устьичной проводимостью, а также экзогенными – обеспеченностью растений влагой и минеральными органогенами, особенно азотом.

Высококчувствительные экосистемы криолитозоны могут быть не только значительными стоками углекислого газа атмосферы, предотвращающими глобальное

потепление климата, но также источниками, в зависимости от сезона года, климатических факторов и интенсивности лесных пожаров [Максимов и др., 2005; Максимов, 2007].

Главным фактором, влияющим на интенсивность дыхания почв лиственных лесов Якутии, является температура почвы. Кривая суточных колебаний дыхания почв в целом имеет U-образную форму, с максимумом в вечерние и ночные часы. В сезонном ходе эмиссии CO₂ почвами максимум отмечают с середины июля до середины августа, когда температура почвы достигает наибольших значений.

Во влажные годы интенсивность дыхания почвы возрастает в 1,2-1,7 раз, достигая 5,2±0,2 т С га⁻¹ сезон⁻¹. Приблизительно 50 мм воды поступает в почву после весеннего снеготаяния. Количество летних дождевых осадков является наиболее важным фактором, определяющим внутригодовое колебание влажности и интенсивности дыхания почвы. Годовая эмиссия углерода из почв Южной Якутии за исследованные годы была в среднем вдвое выше, чем в Центральной Якутии – 7.91 т С га⁻¹ и 3.54 т С га⁻¹, соответственно.

Величина чистого углекислотного газообмена экосистем (NEE) в таежных экосистемах Южной Якутии превышает таковую Центральной в 1,5 раза. По многолетним эдди-корреляционным данным, годовой сток углерода в лиственных лесах Южной Якутии составляет 2,43±0,23 т С га⁻¹ год⁻¹, а в лиственном лесу Центральной Якутии – 2,12±0,34 т С га⁻¹ год⁻¹.

Леса криолитозоны превышают по стоку углерода луга и тундры России в среднем 1,5 и 4,5 раза, соответственно. В дальневосточных лиственных лесах Сибири ежегодно аккумулируется от 0,4 до 1,0 млрд. тонн С, что сопоставимо с данными по европейским и тропическим лесам.

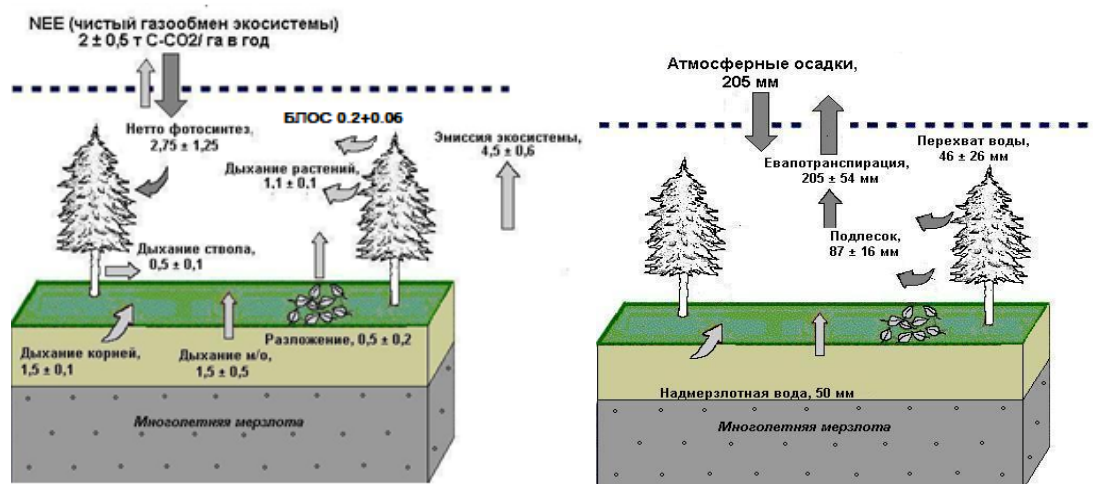


Рисунок. Годовой бюджет основных компонентов углеродного и водного циклов лиственных лесов криолитозоны.

По результатам многолетних исследований нами составлена схематическая модель годового бюджета углерода и воды лиственных лесов (рисунок). Составленные схематические модели годового бюджета углерода и воды лиственных лесов криолитозоны свидетельствуют в пользу возрастающего дефицита влаги в условиях потепления мерзлотных почв и расхода запасенной в них влаги. Учитывая значительное уменьшение аккумуляции углекислоты в засушливые и увлажненные годы, повышенную частоту лесных пожаров и площади увеличения перестойных лесов, можно с большой уверенностью говорить о существенном изменении баланса в круговороте углерода и воды в мерзлотных

экосистемах при прогнозируемом потеплении климата. Эти данные могут быть использованы в качестве фактического материала для верификации и оценки углеродного пула России и для разработки адекватных моделей регионального и глобального баланса углерода и воды в растительных сообществах.

Литература

Мокронос А.Т. Фотосинтетическая функция и целостность растительного организма. – М.: Наука, 1983. – 63 с.

Максимов Т.Х. Круговорот углерода в лиственных лесах якутского сектора криолитозоны // Автореф. докт. дисс. – Якутск, 2007. – 46 с.

Максимов Т.Х., Долман А.Й., Мурс Э.Й., Ота Т., Сугимото А., Иванов Б.И. Параметры круговоротов углерода и воды в лесных экосистемах криолитозоны // Доклады РАН. – 2005. – Т. 408, № 8. – С. 684–686.

FEATURES OF CARBON AND WATER CYCLES OF FOREST PERMAFROST ECOSYSTEMS IN THE CONTEXT OF GLOBAL CLIMATE CHANGE

T.C. Maximov^{1, 2}, A.V. Kononov^{1,2}, A.P. Maksimov¹, R.E. Petrov¹, M.P. Terentyeva¹

¹Institute for Biological Problems of Cryolithozone Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Yakutsk, Russia, *t.c.maximov@ibpc.ysn.ru*

²M.K Ammosov North-Eastern Federal University, Yakutsk, Russia, *tcmx@mail.ru*

Abstract. The results of long-term investigations on the main components of the carbon and water cycles of permafrost representative forest ecosystems in the North-East of Russia are presented. Low biomass of needles with a low leaf area index (up to 2.0) and a shorted period of photosynthetic activity led to a decreased net primary productivity ($NPP=3.1\pm 0.3 \text{ t ha}^{-1} \text{ year}^{-1}$) of larch, the main forest-forming species in Central Yakutia. In Yakutia during a short growing season the growth and development of woody plants are provided by high levels of photosynthesis and transpiration with relatively low dark and night respiration expenses for growth and maintenance. The annual carbon sink in the larch forests of South Yakutia is $2.43\pm 0.23 \text{ t C ha}^{-1} \text{ yr}^{-1}$, and in the larch forest of Central Yakutia is $2.12\pm 0.34 \text{ t C ha}^{-1} \text{ year}^{-1}$. Based on the results of long-time research, we have compiled the schematic models of the annual carbon and water budget of larch forests, these models can be used as an exclusive data for verification and assessment of the Russian carbon pool and for developing adequate models of regional and global balance of carbon and water in plant communities.

Keywords: *permafrost, climate change, forest, carbon, water*

РЕАКЦИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА РАЗНОВОЗРАСТНЫХ КЛЕТОК МЕЗОФИЛЛА ЯЧМЕНЯ НА ТЕМПЕРАТУРНОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ

М.Г. Малева¹, О.С. Синенко¹, И.С. Киселева¹, Д. Латовски², К. Стржалка^{2, 3}

¹Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», Екатеринбург, Россия, *maria.maleva@mail.ru*

²Факультет биохимии, биофизики и биотехнологии, Ягеллонский университет, Краков, Польша, *dariuszlatowski@gmail.com*

³Малопольский центр биотехнологии, Ягеллонский университет, Краков, Польша, *kazimierzstrzalka@gmail.com*

Аннотация. Приведены данные по ответным реакциям фотосинтетического аппарата разновозрастных клеток листа *Hordeum vulgare* L. на кратковременное действие низкой (4 °С) и умеренно высокой (37 °С) температуры. Наилучшее использование световой энергии в процессе фотосинтеза достигается в зоне дифференцированных клеток и сформированных пигментных систем хлоропластов. Более молодые клетки мезофилла используют световую энергию менее эффективно, что приводит к дисбалансу в работе фотосинтетического аппарата.

Ключевые слова: фотосинтетические пигменты, флуоресценция хлорофилла, виолоксантиновый цикл, температурный стресс

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-496-500

Среди абиотических факторов среды колебания температуры менее всего поддаются регуляции. На ранних этапах формирования фотосинтетического аппарата растений эти факторы могут быть критическими для выживания растений [Rodrigues et al., 2015]. В обзоре [Hasanuzzaman et al., 2014] приведены многочисленные данные по изменению содержания фотосинтетических пигментов при низко- и высокотемпературном воздействии у растений. Показано, что даже кратковременное действие неблагоприятной температуры может приводить к существенному снижению содержания хлорофиллов. Кроме того, происходит изменение параметров флуоресценции хлорофилла, свидетельствующее о снижении эффективности работы электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) хлоропластов [Гольцев и др., 2016].

Часто изменению температурного режима сопутствуют и другие стрессовые факторы, например, повышение или снижение уровня освещенности. Известно, что даже относительно слабый свет может подавлять активность фотосинтетического аппарата в условиях холодого или теплого стресса. Степень фотоингибирования определяется преимущественно инактивацией реакционного центра фотосистемы II (РЦ ФС II), но причины и механизмы, вызывающие эти изменения, могут существенно различаться [Креславский и др., 2007].

Виолоксантиновый цикл (ВКЦ) является одним из наиболее важных фотозащитных механизмов, работающих у высших растений [Latowski et al., 2005]. При высокой интенсивности света результатом активной работы ЭТЦ фотосинтеза является закисление люмена тилакоидов и активация фермента виолоксантин деэпоксидазы. Происходит восстановление эпоксидных групп виолоксантина (Вио) через образование антероксантина (Ант) до зеаксантина (Зеа), который и выполняет фотопротекторную функцию [Latowski et al., 2005; Креславский и др., 2007].

Целью работы было изучить ответные реакции разновозрастных клеток ячменя (*Hordeum vulgare* L.) на кратковременное действие низкой (4 °С) и умеренно высокой (37 °С) температуры: изменение содержания фотосинтетических пигментов,

соотношения пигментов виолоксантинового цикла и параметров флуоресценции хлорофилла.

Работа выполнена на 7-дневных проростках ярового ячменя (*Hordeum vulgare* L.) сорта «Ача», выращенных в контролируемых условиях на водопроводной воде при интенсивности ФАР 250 ± 50 мкмоль/(м²с), фотопериоде 14/10 (день/ночь), температуре 24 ± 1 °C/ 20 ± 1 °C (день/ночь) и относительной влажности воздуха 55/70% (день/ночь). Первый лист ячменя освобождали от колеоптиля и формирующегося второго листа и разделяли на 3 зоны: (I) деления, (II) растяжения и (III) дифференцированных клеток. Выделенные зоны помещали в чашки Петри с водопроводной водой и подвергали в течение 6 часов действию разных температур: 4 °C, 24 °C и 37 °C (± 1 °C) при интенсивности освещения 350 ± 50 мкмоль/(м²с). Параметры фотосинтетического аппарата определяли сразу после деления на зоны и через 6 часов температурного воздействия.

Содержание хлорофиллов (Хл *a*, Хл *b*), и каротиноидов (Кар) определяли спектрофотометрически на Jasco V-650 (“Jasco Inc.”, США) в ацетоновых экстрактах (80%). Расчет содержания Хл и Кар проводили согласно [Lichtenthaler, 1987]. Расчет содержания протехлорофиллида (Пхлд) проводили согласно [Brouers and Michel-Wolwertz, 1985]. Содержание пигментов ВКЦ оценивали с помощью жидкостной хроматографии высокого давления с обращенной фазой (HPLC, Agilent 1260 Infinity Diode Array и Multiple Wavelength Detector), как описано [Latowski et al., 2005]. Измерения проводили в 3-4 биологических повторностях.

Для измерения параметров флуоресценции хлорофилла использовали флуориметр Hansatech Pocket PEA (“Hansatech Instruments”, Великобритания). Листья предварительно адаптировали в темноте в течение 15-20 минут. Были определены параметры ОЛР-теста: максимальная фотохимическая эффективность ФС II (*Fv/Fm*), тотальный индекс производительности (*PI_{total}*) и поток энергии, поглощаемый одним реакционным центром (ABS/RC). Измерения проводили в 12 биологических повторностях.

Достоверность различий между вариантами оценивали по непараметрическому критерию Манна-Уитни при 5% уровне значимости. На рисунках и в таблице представлены средние арифметические значения и их стандартные ошибки.

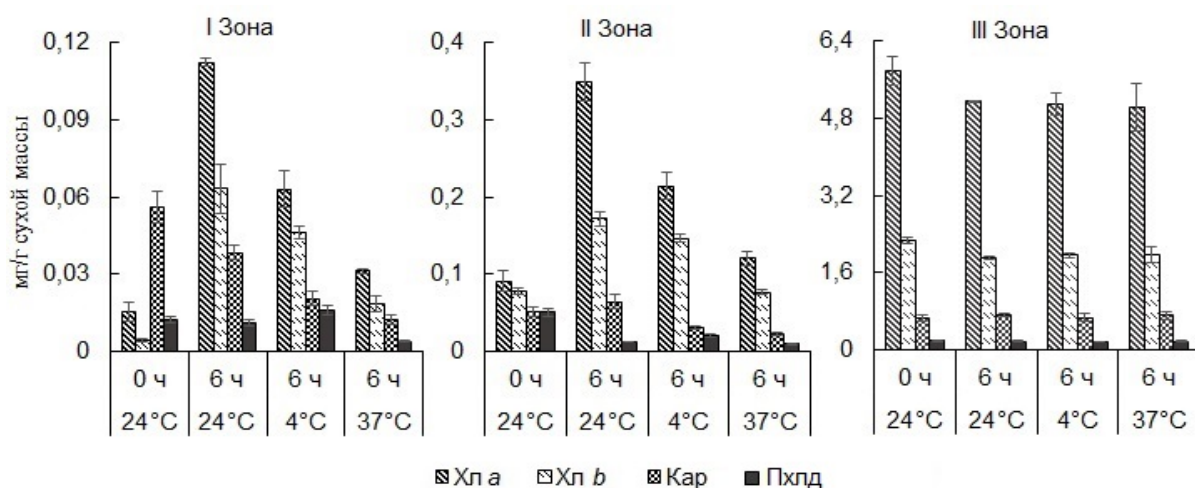


Рис. 1. Содержание фотосинтетических пигментов в разновозрастных клетках мезофилла ячменя при кратковременном действии низкой положительной и умеренно высокой температуры.

После 6 часов освещения при 24 °С (контроль) наблюдалось резкое увеличение содержания хлорофиллов в I и II зонах (в 8,8 и 5,5 раз, соответственно), при этом во II зоне содержание Пхлд снижалось в 4,3 раза, а в I зоне практически не изменялось (рис. 1). Вероятно, во II зоне происходило быстрое превращение ранее синтезированного Пхлд в Хл *a*, тогда как в зоне I увеличение содержания хлорофиллов могло быть обусловлено превращением *de novo* синтезированного Пхлд.

Содержание каротиноидов достоверно снижалось в I зоне, тогда как во II практически не изменялось. При действии 4 °С скорость синтеза хлорофиллов и каротиноидов в I и II зонах замедлялась в сравнении с контрольным вариантом. При этом содержание Пхлд возрастало (в 1,3 и 1,6 раз, соответственно). Температура 37 °С еще больше замедляла синтез фотосинтетических пигментов, включая Пхлд (рис. 1). Таким образом, даже кратковременное действие низкой и умеренно высокой температуры серьезным образом нарушали синтез фотосинтетических пигментов в пропластидах зоны делящихся клеток и в формирующихся хлоропластах клеток на стадии растяжения. В зрелых хлоропластах клеток мезофилла (III зона) температурный стресс практически не вызывал достоверных изменений в содержании пигментов.

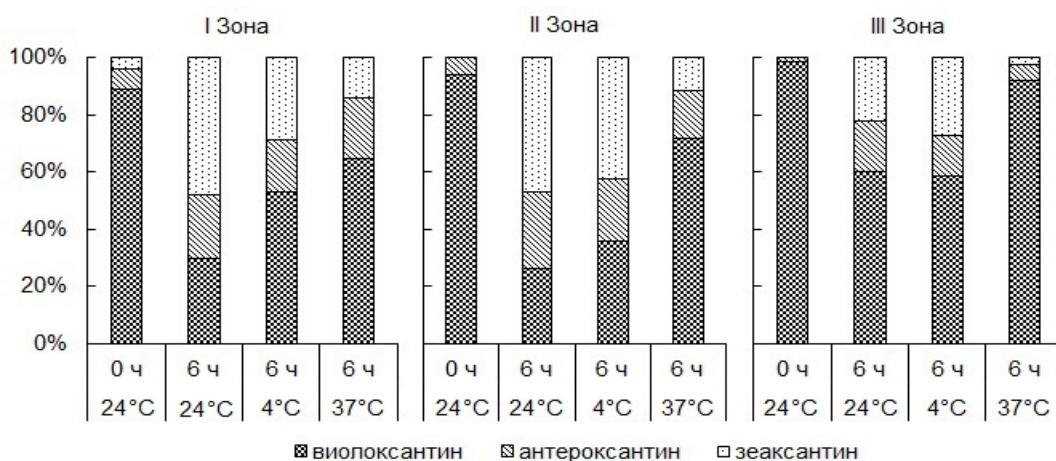


Рис. 2. Изменение соотношения пигментов виолоксантинового цикла в разновозрастных клетках мезофилла ячменя при кратковременном действии низкой положительной и умеренно высокой температуры.

Во всех вариантах опыта добавочный свет в течение 6 часов мог оказывать дополнительное фотоингибирующее действие на фотосинтетический аппарат, особенно в молодых формирующихся клетках. Свидетельством этого является изменение соотношения пигментов ВКЦ (рис. 2).

Снижение уровня Вио можно рассматривать как показатель снижения эффективности фотосинтеза при преобразовании света в энергию химических связей [Latowski et al., 2005; Креславский и др., 2007]. Сильное дезоксидирование Вио, наблюдаемое в I и II зоне, свидетельствует о том, что у более молодых и не завершивших свой рост клеток мезофилла, фотосинтетический аппарат еще не готов к эффективному преобразованию энергии света. В зоне дифференцированных клеток (III) дезоксидирование Вио было выражено слабее, что свидетельствует о более эффективном использовании света в ФС. Данные свидетельствуют о том (рис. 2), что низкая положительная температура (4 °С) вызывала более сильное фотоокисление в сравнении с умеренно высокой (37 °С). Это также подтверждается изменением параметров флуоресценции (таблица).

При низкой температуре, в сравнении с контролем, эффективный квантовый выход ФС II (Fv/Fm) и тотальный индекс производительности (PI_{total}), характеризующий функциональную активность ФС I, ФС II и ЭТЦ, достоверно снижались в I и II зонах. При этом поток энергии, поглощаемый одним активным РЦ (ABS/RC), в этих зонах возрастал, что свидетельствует об уменьшении количества свободных РЦ. При умеренно высокой температуре достоверных изменений этих параметров относительно контроля не выявлено. В зоне зрелых клеток и хлоропластов (III) показатели флуоресценции после 6-часовой экспозиции в разных температурных условиях достоверно не отличались (таблица).

Таблица.

Параметры флуоресценции хлорофилла в разновозрастных клетках мезофилла ячменя при кратковременном действии низкой положительной и умеренно высокой температур

Условия эксперимента	Зоны	Fv/Fm	PI_{total}	ABS/RC
24 °С, 0 ч (контроль)	I	0,742±0,014 b	0,493±0,067 c	2,711±0,137 d
	II	0,756±0,016 b	0,514±0,068 c	2,572±0,148 d
	III	0,825±0,001 a	3,236±0,159 a	1,466±0,018 e
24 °С, 6 ч	I	0,618±0,019 de	0,403±0,052 cd	3,370±0,359 bc
	II	0,644±0,018 de	0,418±0,049 cd	3,217±0,168 bcd
	III	0,786±0,003 ab	2,401±0,123 b	1,509±0,021 e
4 °С, 6 ч	I	0,368±0,031 g	0,056±0,006 e	5,977±0,509 a
	II	0,522±0,020 f	0,287±0,052 d	4,053±0,208 b
	III	0,754±0,010 b	2,425±0,165 b	1,776±0,047 e
37 °С, 6 ч	I	0,620±0,022 de	0,177±0,025 d	3,689±0,217 b
	II	0,691±0,019 cd	0,431±0,072 cd	2,707±0,199 d
	III	0,797±0,004 ab	2,632±0,273 b	1,441±0,027 e

Разными буквами обозначены достоверные различия между вариантами при $p < 0,05$.

Таким образом, результаты исследования показали, что эффективность фотосинтеза зависит как от стадии развития клеток мезофилла ячменя, так и от температурного воздействия. Наилучшее использование световой энергии в процессе фотосинтеза достигается в зоне дифференцированных клеток и сформированных пигментных систем хлоропластов. Более молодые клетки мезофилла, еще не обладающие полностью сформированным фотосинтетическим аппаратом, используют световую энергию менее эффективно, что приводит к дисбалансу в его работе.

Работа поддержана Министерством образования и науки Российской Федерации, соглашение № 02.А03.21.0006.

Литература

Гольцев В.Н., Каладжи Х.М., Паунов М., Баба В., Хорачек Т., Мойски Я., Коцел Х., Аллахвердиев С.И. Использование переменной флуоресценции хлорофилла для оценки физиологического состояния фотосинтетического аппарата растений // Физиология растений. – 2016. – Т. 63, № 6. – С. 881–907.

Креславский В.Д., Карпентьер Р., Климов В.В., Мурата Н., Аллахвердиев С.И. Молекулярные механизмы устойчивости фотосинтетического аппарата к стрессу // Биологические мембраны. – 2007. – Т. 24, № 3. – С. 195–217.

Brouers M., Michel-Wolwertz M.-R. Estimation of protochlorophyll(ide) contents in plant extracts; re-evaluation of the molar absorption coefficient of protochlorophyll(ide) //

Photosynthesis Research. –1983. – V. 4. – P. 265–270.

Hasanuzzaman M., Nahar K., Fujita M. Alteration in chlorophylls and carotenoids in higher plants under abiotic stress condition. *In: Golovko T.K., Gruszecki W.I., Prasad M.N.V., Strzałka K.J. (Eds.) Photosynthetic Pigments: Chemical structure, biological function and ecology.* – Komi Sci. Centre Ural Branch RAS, Syktyvkar, 2014. – P. 272–319.

Latowski D., Kruk J., Strzałka K. Inhibition of zeaxanthin epoxidase activity by cadmium ions in higher plants // *J. Inorg. Biochem.* – 2005. – V. 99. – P. 2081–2087.

Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic membranes // *Methods in Enzymology.* – 1987. – V. 148. – P. 350–382.

Rodrigues V.M., Soengas P., Alonso-Villaverde V., Sotelo T., Cartea M.E., Velasco P. Effect of temperature stress on the early vegetative development of *Brassica oleracea* L. // *BMC Plant Biology.* – 2015. – V. 15. – P. 145–153.

REACTION OF PHOTOSYNTHETIC APPARATUS TO TEMPERATURE STRESS IN BARLEY MESOPHYLL CELLS OF DIFFERENT AGE

M.G. Maleva¹, O.S. Sinenko¹, I.S. Kiseleva¹, D. Latowski², K. Strzałka^{2,3}

¹Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education “Ural Federal University named after the First President of Russia B.N. Yeltsin”, Ekaterinburg, Russia, maria.maleva@mail.ru

²Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology, Jagiellonian University, Krakow, Poland, dariuszlatowski@gmail.com

³Malopolska Centre of Biotechnology, Jagiellonian University, Krakow, Poland, kazimierzstrzalka@gmail.com

Abstract. The data on the responses of photosynthetic apparatus in *Hordeum vulgare* L. mesophyll cells of different age to short-term action of low (4 °C) and moderately high (37 °C) temperature are presented. The most efficient use of light energy in photosynthesis is achieved in differentiated cells with fully developed pigment systems. Young mesophyll cells use light energy less efficiently, that leads to an imbalance in the photosynthetic apparatus.

Keywords: *photosynthetic pigments, chlorophyll fluorescence, violaxanthin cycle, temperature stress*

ХАРАКТЕРИСТИКА КОРНЕВОЙ СИСТЕМЫ И СКРИНИНГ НА ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТЬ ДИКИХ СОРОДИЧЕЙ ПШЕНИЦЫ

А.С. Масимгазиева¹, А.И. Абугалиева¹, А.И. Моргунов², К. Кожаметов¹

¹Казахский научно-исследовательский институт земледелия и растениеводства, Алматы, Казахстан, *miss.masimgazieva@mail.ru*

²СИММУТ, Анкара, Турция

Аннотация. В настоящее время вопросы по изучению развития корневой системы пшеницы, их морфологии, генетических особенностей, связанных с адаптивностью, засухоустойчивостью и продуктивностью весьма актуальны в селекционных программах. В связи с этим была изучена корневая система интрогрессивной пшеницы с участием диких сородичей, среди которых выделились генотипы Эритроспермум 350 х *T.kiharae*, Жетысу х *T.militinae*, Жетысу х *T.timopheevii*.

Ключевые слова: интрогрессивные пшеницы, дикие сородичи, засухоустойчивость, корневая система

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-501-505

В настоящее время большинство районированных сортов имеют существенные недостатки, в значительной степени поражаются различными видами ржавчины, головни, мучнистой росой, в них наблюдается низкое содержание белка, а также зимостойкость и засухоустойчивость не отвечают требованиям производства. Причиной этого является то, что большинство возделываемых сортов создано методом внутривидовой гибридизации в пределах вида *T. aestivum*. Запас генофонда данного вида по указанным признакам довольно ограничен и не позволяет решать многие актуальные задачи современной селекции. Потому, наряду с использованием классических методов селекции, отбора и гибридизации, внутривидового скрещивания пшеницы применяются также селекционно-генетические, цитогенетические методы с использованием представителей близких родов и видов пшеницы *Aegilops*, *Agropyron*, *Secale*, *T. timopheevii*, *T. dicoccum*, *T. kiharae* и других геноносителей признаков и свойств [Nevo, 2006; Давоян, 2006; Размахнин, 2012; Matsuoka, 2011; Dvorak, 2012].

Основной путь наращивания производства зерна при стабильности посевных площадей – повышение урожайности. Большое значение в повышении урожайности пшеницы, особенно в регионах с недостаточным увлажнением, придают корневой системе. Поэтому в настоящее время вопросы по изучению развития корневой системы пшеницы, их морфологии, генетических особенностей, связанных с наследованием и изменчивостью признаков корневой системы, сопряженности корневой системы с элементами продуктивности весьма актуальны [Dunbabin, 2004; Inagaki, 2010; Pandey, 2010].

В качестве объектов для поиска устойчивой гермоплазмы избраны: 1) представители *Aegipos cylindrica*, *Ae. triaristata*, *T. kiharae*, *T. militinae* и *T.t imopheevi*; 2) линии пшенично-чужеродных гибридов (с участием вышеназванных) как переходный «мост» и отдельный объект селекции (2015-2017 гг.); 3) сорта-стандарты озимой пшеницы (*T. aestivum*).

Цель – изучение физиологических основ продуктивности и засухоустойчивости интрогрессивной пшеницы с участием диких сородичей.

Анализ изучаемых показателей устойчивости диких, культурных и интрогрессивных форм озимой пшеницы проводился на селекционном материале Казахского НИИ земледелия и растениеводства. Полученные в результате многолетних селекционных испытаний интрогрессивные формы идентифицированы

цитологическими, селекционными методами, отобраны по гомозиготности, оценены по урожайности и качеству зерна, приспособленности к местным условиям выращивания.

Характеристика корневой системы с использованием WinRHIZO осуществлена по следующим параметрам: длина корней (см), площадь, РА, объем, средний диаметр, концы, разветвление, переходы, масса (свежие листья) и масса корней на 3 уровнях: 8-10 дневных проростков; надземная часть срезана через три недели; надземная часть не срезана.

Длина корней 8-10 дневных проростков варьировала для переходных форм озимой пшеницы от 159,9 см (Стекловидная 24 х *T. timopheevii*-1676) до 306,2 см (Безостая 1 х *Ae. triaristata*-231) и 304,1 см (Жетысу х *T. timopheevii* (1674) и 291,9 см (Эритроспермум 350 х *T. kihara* -1727).

Площадь корней варьировала от 28,4 см² (Стекловидная 24 х *T. timopheevii*-1676) до 47,7 см² (Жетысу х *T. timopheevii*-1674 и Безостая 1 х *Ae. triaristata*-231) при среднем для всего блока 40,8 см² и относительно сорта-стандарта Карахан (31,8 см²). По другим объемным (см³) и площадным (РА см²) характеристикам отмечено преобладание тех же генотипов, в диапазоне 0,39-0,64 см³ и 8,8-15,2 м² соответственно.

Средний диаметр корней колебался в незначительных пределах (к-изменчивости 1,26) в сравнении с другими параметрами корневой системы: от 0,46 мм для генотипа 1825 Стекловидная 24 х *Ae. cylindrica*, до 0,58 мм для генотипа 1718 (Безостая 1 х *Ae. cylindrica*). Количество концов (побегов), напротив, варьировало, как и количество переходов и разветвлений в несколько (2-4) раз: от 213 до 590, от 20 до 75,5 и от 275 до 672, соответственно, для генотипа 1676 – Стекловидная 24 х *T. timopheevii* в минимальных значениях и для генотипа 231 – (Безостая 1 х *Ae. triaristata*) х Карлыгаш в максимальных значениях по всем трем параметрам.

Наиболее мощной корневой системой с максимальной степенью по 7 из 10 проанализированных признаков выделяется генотип 231 – (Безостая 1 х *Ae. triaristata*) х Карлыгаш; по 4 из 10 признакам выделяются гибридные комбинации: 1674 – Жетысу х *T. timopheevii* (длина, площадь, РА и объем корней). По 3 из 10 1671 – Жетысу х *T. militinae* (масса корней, свежих листьев, разветвления).

Таким образом, в стартовых условиях выделены генотипы 231 – (Безостая 1 х *Ae. triaristata*) х Карлыгаш, 1674 – (Жетысу х *T. timopheevii*), 1671 – (Жетысу х *T. militinae*) и 1727 – (Эритроспермум 350 х *T. kiharae*).

Заклучения по сравнительной характеристике корневой системы синтетиков позволяет констатировать более высокий уровень в целом для синтетических пшениц относительно культурных форм, в данном случае сорта-стандарта Карахан.

Генотипы специфично вели себя в системе динамики: 8-10 проростки→31 день (без среза)→31 день (срез). Изменения характеристик корневой системы анализировались по этим трем этапам и относительно друг друга: 1) 8-10 этап проростки – контроль (К-1); 2) прирост относительно проростков для а) нормального развития (НР); б) стрессового развития (СР); 3) потери/прирост в стрессовых условиях относительно благоприятных (К-2).

По длине корней на уровне 8-10 дневных проростков генотипы дифференцируются на стартовом этапе развития, но когда соотношение побеги/корни сопоставимо. Высокое значение длины корней на более поздних стадиях развития сохранялось у двух генотипов в абсолютных значениях.

Самый высокий прирост (в % к исходному) к 30-ому дню развития отмечен для других генотипов – 1676 (Стекловидная 24 х *T. timopheevii*) (87%) и 1721-9 (Безостая 1 х *T. militinae*) х *T. militinae*-9 (84%).

Для опыта со срезанием надземной части по абсолютным значениям длины корней выделены три генотипа: 1727 (Эритроспермум 350 х *T. kiharae*) (рисунок); 1671

(Жетысу х *T. militinae*); 1674 (Жетысу х *T. timopheevii*), отмеченные и на стадии 8-10 дневных проростков, соответственно, с высоким 82-87% прироста относительно этой стадии развития. По относительным параметрам также выделяется генотип 1676 (Стекловидная 24 х *T. timopheevii*) (86% прироста) на фоне сорта-стандарта Карахан (18%). Сравнение генотипов по длине корней после стресса (К-2) позволило обнаружить как потери относительно нормального развития от 9% для генотипа 1676 (Стекловидная 24 х *T. timopheevii*) до 78,5% (стандарт Карахан) и 1712 (Эритроспермум 350 х *T. militinae*) (53%), так и прирост от 14,4% (1674 – (Жетысу х *T. timopheevii*); 1721-6 (Безостая 1 х *T. militinae*) х *T. militinae*-6) до 38,5-58,1% для генотипов 1671 (Жетысу х *T. militinae*) и 1727 (Эритроспермум 350 х *T. kiharae*). Два последних генотипа после срезания надземной части отреагировали на данный стресс развитием корневой системы на 40-60% более мощной относительно режима без стресса.

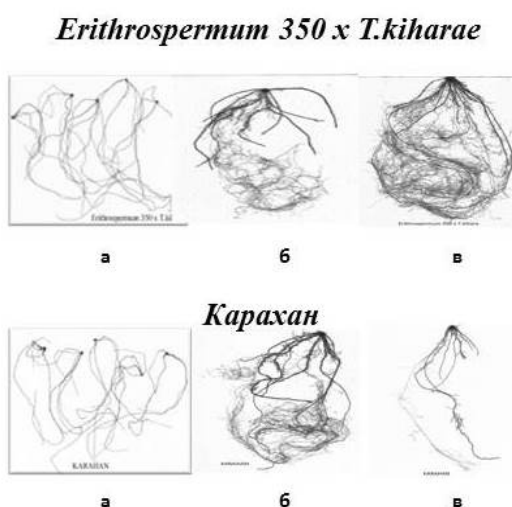


Рисунок. Корневая система а) 8-10 дневные проростки; б) надземная часть не срезана; в) надземная часть срезана через три недели.

По площади корней на уровне 8-10 дневных проростков выделяются аналогичный набор генотипов, как и по длине корней: 1674 (Жетысу х *T. timopheevii*), 231 ((Безостая 1 х *Ae. triaristata*) х Карлыгаш) и 1712 (Эритроспермум 350 х *T. militinae*). В фазе 30 дневных растений к последним двум добавляется 1721-9 ((Безостая 1 х *T. militinae*) х *T. militinae*-9) по абсолютным максимальным значениям и номер 1825 (Стекловидная 24 х *Ae. cylindrica*) с относительно высоким 85% прироста, сравним с предыдущими тремя генотипами с 85-90% прироста.

После срезания надземной части генотипы 1727 (Эритроспермум 350 х *T. kiharae*) и 1671 (Жетысу х *T. militinae*) характеризовались не только ростом длины корней, но также и увеличением площади 84-85% прироста относительно 8-10 дневных проростков и приростом относительно благоприятного режима 110% и 29% соответственно. Для всех остальных уровень снижения площади корней после стресса составил от 18% для генотипа 1674 (Жетысу х *T. timopheevii*) до 80% (стандарт – Карахан) и 76% для генотипа 1712 (Эритроспермум 350 х *T. militinae*).

По объему корней на уровне 8-10 дневных проростков максимальные значения отмечены для генотипов 1718 (Безостая 1 х *Ae. cylindrica*); 1674 (Жетысу х *T. timopheevii*); 1721-4 ((Безостая 1 х *T. militinae*) х *T. militinae*-4); 231 ((Безостая 1 х *Ae. triaristata*) х Карлыгаш) и 1712 (Эритроспермум 350 х *T. militinae*). По абсолютным значениям на более поздних фазах выделены 2 номера: 1721-9 ((Безостая 1 х *T.*

militinae) x *T. militinae*-9) и 231 ((Безостая 1 x *Ae. triaristata*) x Карлыгаш) плюс по относительному приросту 1676 (Стекловидная 24 x *T. timopheevii*) (89%).

После срезания надземной части восстановленная корневая система генотипов 1727 (Эритроспермум 350 x *T. kiharae*); 1671 (Жетысу x *T. militinae*) и 1674 (Жетысу x *T. timopheevii*) характеризовалась максимальным значением объема корней, как и по всем предыдущим параметрам. Прирост относительно проростков составил 79-83%, тогда как уровень сорта-стандарта 7% и 11%, т.е. минимально для синтетиков 1718 (Безостая 1 x *Ae. cylindrica*).

По диаметру корней на уровне 8-10 дневных проростков максимальными значениями выделялись генотипы 1718 (Безостая 1 x *Ae. cylindrica*) (0,58 мм) и 1676 (Стекловидная 24 x *T. timopheevii*) (0,55 мм). В процессе развития изменение диаметра корней отмечено как в сторону утолщения, так и утончения. С диапазоном вариации для 30-дневных растений от 0,47 мм до 0,78-0,80 мм. При этом прирост составил 2% (1727 (Эритромспермум 350 x *T. kiharae*) – 35% (231 ((Безостая 1 x *Ae. triaristata*) x Карлыгаш), 1721-9 ((Безостая 1 x *T. militinae*) x *T. militinae*-9), потери в диаметре колебались от 4% (Карахан, 1721-6 (Безостая 1 x *T. militinae*) x *T. militinae*-6) до 9-11% (1718 ((Безостая 1 x *Ae. cylindrica*) и 1721-4 (Безостая 1 x *T. militinae*) x *T. militinae*-4).

Срезание надземной массы привело к истончению корней как относительно 8-10 дневных проростков от 10-20% до 45%, так и относительно нормального развития от 8-24% до 50-59% соответственно.

Литература

Давоян Р.О., Бебякина И.В. Новые линии озимой мягкой пшеницы с генетическим материалом *Aegilops speltoides* // Вестн. Рос. Акад. С.-х. наук. – 2006. – № 6. – С. 46–47.

Размахнин Е.П., Размахнина Т.М., Козлов В.Е., Гончаров Н.П., Вепрев С.Г. Применение методов биотехнологии и отдаленной гибридизации для улучшения пшеницы. // Докл. и сообщения XI Межд. генетико-селекционной школы-семинара «Современное состояние и приоритетные направления развития генетики, эпигенетики, селекции и семеноводства сельскохозяйственных культур», (9-13 апреля 2012 г., Новосибирск), 2012. – С. 213–220.

Dvorak J., Deal K., Luo M., You F.M., Barstel K., Dehghani H. The origin of spelt and free-threshing hexaploid wheat // J. Hered. – 2012. – V. 103, No. 3. – P. 426–441.

Dunbabin V., Rengel Z., Diggles A.J. Simulating form and function of root systems: efficiency of nitrate uptake is dependent on root system architecture and the spatial and temporal variability of nitrate supply // Functional Ecology. – 2004. – V. 18. – P. 204–211.

Inagaki M., Naghit M.M. Association of root water-uptake with drought adaptation in wheat // Proceeding of 8-th International Wheat Conference, (June 1-4, St. Petersburg, Russia), 2010. – P. 162–163.

Matsuoka Y. Evolution of polyploid *Triticum* wheats under cultivation: the role of domestication, natural hybridization and allopolyploid speciation in their diversification // Plant Cell Physiol. – 2011. – V. 52. – P. 750–764.

Nevo E. Genome evolution of wild cereal diversity and prospects for crop improvement // Plant Genet. Resour.: Charact. And Util. – 2006. – V. 4, No. 1. – P. 36–46.

Pandey M., Paudel A., Link K., Friedt W. Possibility of using growth angles as a trait for enhanced drought tolerance in wheat // Proceeding of 8-th International Wheat Conference, (June 1-4, St. Petersburg, Russia), 2010. – P. 182.

FEATURE ROOT SYSTEM AND SCREENING FOR DROUGHT-RESISTANT WILD RELATIVES OF WHEAT

A.S. Massingaziyeva¹, A.I. Abugaliyeva¹, A.I. Morgunov², K. Kozhakhmetov¹

¹Kazakh Research Institute of Agriculture and Plant Growing, Almalybak, Kazakhstan,
miss.masimgazieva@mail.ru

²CIMMYT, Ankara, Turkey

Abstract. At present, questions on studying the development of the root system of wheat, their morphology, genetic features associated with adaptability and drought-resistance productivity are very relevant in breeding programs. In this regard, the root system of introgressive wheat with the participation of wild relatives was studied, among which the genotypes *ErythrospERMum* 350 x *T. kharae*, Zhetysu x *T. militinae*, Zhetysu x *T. timopheevii* were distinguished.

Keywords: *introgressive wheat, wild relatives, drought resistance, root system*

ВЛИЯНИЕ NO НА СОСТОЯНИЕ КОМПОНЕНТОВ ГЛУТАТИОНОВОГО КОМПЛЕКСА В УСЛОВИЯХ ЗАСОЛЕНИЯ

Д.Р. Масленникова, Ч.Р. Аллагулова, А.А. Плотников, Ф.М. Шакирова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа, Россия, shakirova@anrb.ru

Аннотация. В данной работе было обнаружено, что в реализации протекторного действия SNP на растения пшеницы вносит его способность позитивно регулировать накопление глутатиона восстановленного (GSH), активность глутатионредуктазы и глутатион-S-трансферазы в условиях нарушения водного режима.

Ключевые слова: *Triticum aestivum L.*, глутатион, глутатионредуктаза, глутатион-S-трансфераза, хлорид натрия

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-506-509

Оксид азота (NO) является внутриклеточной сигнальной молекулой, вовлекаемой в регуляцию фундаментальных физиологических процессов, протекающих на всех этапах жизненного цикла растений [Nawas et al., 2017]. Наряду с этим оксид азота играет важную роль в формировании устойчивости растений к стрессовым факторам абиотической и биотической природы [Liu et al., 2013; Nawas et al., 2017]. На разных растительных объектах четко продемонстрировано проявление защитных свойств NO при воздействии засухи и осмотиков, засоления тяжелых металлов, изменения температурного режима, УФ-излучения [Liu et al., 2013], однако механизмы, лежащие в основе защитного действия NO на растения, пока в полной мере не изучены [Lie et al., 2013; Масленникова др., 2017]. В ходе предыдущих исследований нами было выявлено, что предобработка проростков SNP в условиях засоления способствует предотвращению вызываемого 2% NaCl падению концентрации цитокининов в растениях пшеницы [Масленникова и др., 2017]. Важный вклад в формирование устойчивости растений к стрессам вносит неферментативный антиоксидант клетки – глутатион и основные ферменты глутатионового комплекса – глутатионредуктаза (ГР) и глутатион – S-трансфераза (ГСТ), в регуляцию синтеза и активности которых, как известно, вовлекается оксид азота [Mello et al., 2012; Shan, Dong et al., 2017]. Известно, что в условиях засоления опрыскивание растений турецкого гороха SNP способствует значительному накоплению GSH и дополнительной активации глутатионредуктазы, что выражается в снижении уровня окислительного стресса в листьях этих растений [Sheokand et al., 2010], вместе с тем в литературе имеются сведения о снижении активности ГР в корнях предобработанных SNP проростков пшеницы в условиях кадмиевого стресса [Singh et al., 2008]. Это свидетельствует о том, что оксид азота способен в зависимости от используемых концентраций вызывать как стимуляцию, так и ингибирование активности антиоксидантных ферментов, а также уровня экспрессии кодирующих их генов [Карпец, 2017].

Цель данной работы состояла в выявлении роли компонентов глутатионового комплекса в проявлении защитного действия SNP на проростках пшеницы в условиях натрий хлоридного засоления.

Работу проводили на корнях 4-суточных проростков пшеницы *Triticum aestivum L.* сорта Салават Юлаев. Семена после стерилизации 96% этанолом проращивали в кюветах на фильтровальной бумаге в течение 3 суток (16-часовой световой фотопериод, 15 клк, 22-24 °С). После отделения эндосперма часть 3-суточных проростков помещали в стаканы с 2% раствором сахарозы, содержащим 200 мкМ SNP

на 24 ч, другая часть изолированных проростков инкубировали на растворе 2% сахарозы. Далее 4-сут необработанные и обработанные SNP проростки переносили на смесь 2% сахарозы и 2% NaCl на разные промежутки времени. Контролем во всех опытах служили проростки, инкубированные на растворе 2% сахарозы.

Содержание восстановленной (GSH) и окисленной (GSSG) форм глутатиона из одной растительной навески определяли с помощью спектрофлуорометрического метода, основанного на получении флуоресцирующего продукта *o*-фталевого альдегида в зависимости от pH среды [Шалыго и др., 2007]. Активность глутатионредуктазы и глутатион-S- трансферазы определяли согласно [Акулов и др., 2012]. Содержание белка определяли по методу Бредфорд [Bradford, 1976]. На рисунках представлены данные средних арифметических двух – трех независимых опытов, каждый из которых проведен в трех биологических повторностях, и стандартные ошибки средних.

Воздействие 2% NaCl приводило к развитию окислительного стресса и значительному истощению восстановленной формы глутатиона и преобладанию его окисленной формы, о чем свидетельствует обнаруженное двукратное падение показателя соотношения GSH/GSSG в корнях проростков пшеницы (рис. 1).

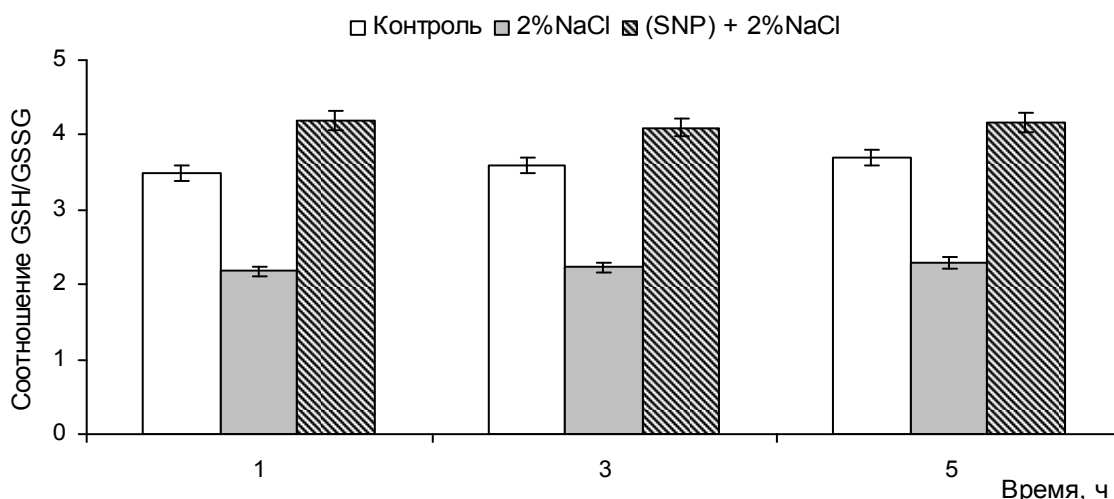


Рис. 1. Показатель соотношения GSH/GSSG в корнях предобработанных в течение 24 ч SNP 4-сут проростков в ходе воздействия 2% NaCl.

Предобработка проростков SNP в условиях засоления способствовала не только поддержанию соотношения GSH/GSSG в корнях, но и дополнительному накоплению GSH на протяжении всего опыта (рис. 1). Полученные результаты указывают на способность SNP поддерживать повышенное содержание GSH при стрессе, вероятно, посредством регуляции активности глутатионредуктазы, ключевого фермента, участвующего в НАДФ(Н)-зависимой реакции восстановления GSSG в GSH в стрессовых условиях [Sheokand et al., 2010]. Воздействие натрий хлоридного засоления привело к увеличению активности ГР более, чем в два раза (рис. 2), тогда как предобработанные SNP растения характеризовались дополнительной, на 30-35%, активацией этого фермента относительно необработанных проростков в этих условиях, что свидетельствует о способности SNP позитивно регулировать активность этого фермента в условиях стресса (рис. 2).

Таким образом, накопление GSH и дополнительная активация фермента ГР в предобработанных SNP проростках в условиях засоления способствует поддержанию в клетке восстановленной формы глутатиона, вносящей важный вклад в снижение уровня повреждающего действия натрий хлоридного засоления на растения.

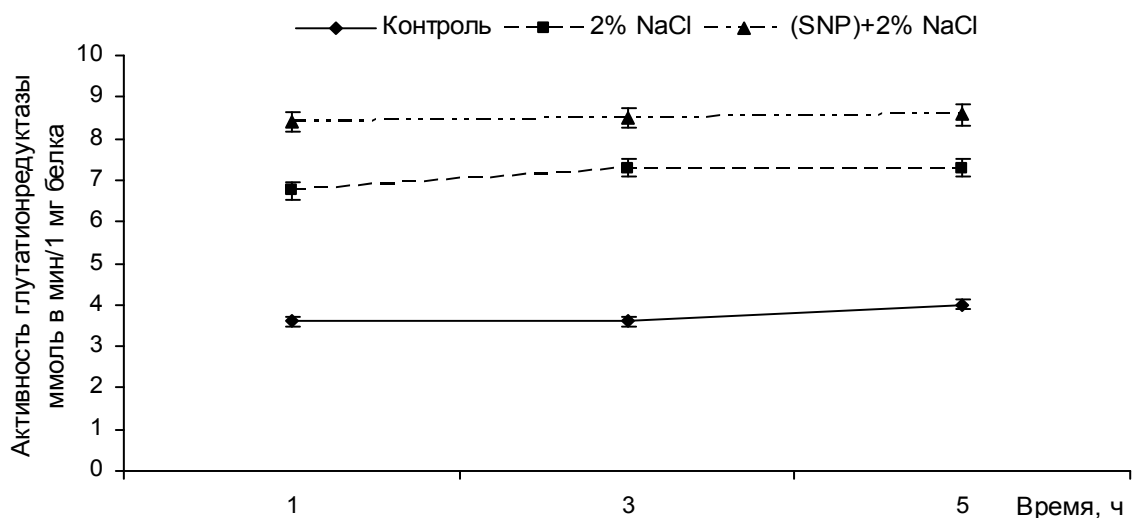


Рис. 2. Активность глутатионредуктазы в корнях предобработанных в течение 24 ч SNP 4-дневных растений в ходе воздействия 2% NaCl.

Известно, что глутатион-S-трансфераза играет ключевую роль в защите растений от окислительного стресса [Карпец, 2017].

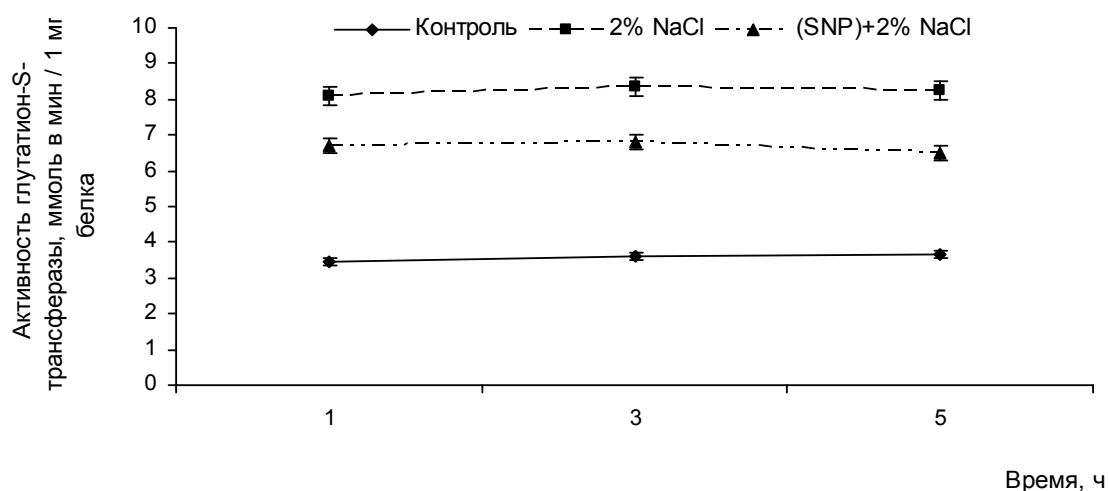


Рис. 3. Активность глутатион-S-трансферазы в корнях предобработанных в течение 24 ч SNP 4-дневных растений в ходе воздействия 2% NaCl.

Анализ активности глутатион-S-трансферазы в необработанных SNP проростках пшеницы в условиях засоления выявил более чем двукратную активацию этого фермента (рис. 3). В корнях предобработанных SNP проростков активность глутатион-S-трансферазы поддерживалась на заметно меньшем уровне, что служит показателем меньшей степени повреждающего действия стресса на эти проростки.

Полученные данные свидетельствуют об эффективности обработки растений донором оксида азота с целью повышения устойчивости пшеницы к натрий хлоридному засолению, в формировании которой важный вклад вносит способность SNP позитивно регулировать соотношение GSH/GSSG, активность глутатионредуктазы и глутатион-S-трансферазы.

Работа выполнена в рамках госзадания (№ темы АААА-А16-116020350029-1) с привлечением приборного парка ЦКП «Биомика» (Отделение биохимических методов исследований и нанобиотехнологии РЦКП «Агидель») и УНУ «КОДИНК».

Литература

Акулов А.Н., Гумерова Е.А., Костюкова Ю.А., Никанорова Н.А., Румянцева Н.И., Сибгатуллина Г.В., Хаертдинова Л.Р. Методы определения редокс-статуса культивируемых клеток растений. – Казань: Казанский университет, 2012. – 51 с.

Карпец Ю.В. Роль ионов кальция и активных форм кислорода в индуцировании антиоксидантных ферментов и теплоустойчивости растительных клеток донором оксида азота // Вестник Харьковского Национального Аграрного Университета. – 2017. – Вып. 3, № 4. – С. 52–61.

Масленникова Д.Р., Аллагулова Ч.Р., Федорова К.А., Плотников А.А., Авальбаев А.М., Шакирова Ф.М. Вклад цитокининов в реализацию рост-стимулирующего и протекторного действия оксида азота на растения пшеницы // Физиология растений. – 2017. – Т. 64, № 5. – С. 355–363.

Шальго Н.В., Щербakov Р.А., Доманская И.Н., Радюк М.С. Спектрофлуориметрический метод определения окисленного и восстановленного глутатиона в растениях // Физиология и биохимия культурных растений. – 2007. – Т. 39, № 3. – С. 264–270.

Bradford M.M. A rapid and sensitive methods for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding // Anal. Biochem. – 1976. – P. 248–254.

Liu W.-Z., Kong D.-D., Gu X.-X., Gao H.-B., Wang J.-Z., Xia M., Gao Q., Tiana L.-L., Xu Z.-H., Bao F., Hu Y., Ye N.-S., Pei Z.-M., He Y.-K. Cytokinins can act as suppressors of nitric oxide in Arabidopsis // PNAS. – 2013. – V. 110, No. 4. – P. 1548–1553.

Mello C.S., Hermes V.S., Guerra M.P., Arisi A.C.M. Sodium nitroprusside modulates gene expression involved in glutathione synthesis in *Zea mays* leaves // Biologia Plantarum. – 2012. – V. 6, No. 2. – P. 383–388.

Nawaz F., Shabbir R.N., Shabbaz M., Majeed S., Raheel M., Hassan W., Sohail M.A. Phytohormones – signaling mechanisms and crosstalk in plant development and stress responses // Intech. – 2017. – P. 117–141.

Shan C., Dong N. Nitric oxide donor SNP regulates the ascorbate and glutathione metabolism in *Agropyron cristatum* leaves through MEK1/2 // Biologia Plantarum. – 2017. – V. 61, No. 4. – P. 774–778.

Sheokand S., Bhankar V., Sawhney V. Ameliorative effect of exogenous nitric oxide on oxidative metabolism in NaCl treated chickpea plants // Brazilian Society of Plant Physiology. – 2010. – V. 22, No. 2. – P. 81–90.

Singh H.P., Batish D. R., Kaur G., Arora K., Kohli R. K. Nitric oxide (as sodium nitroprusside) supplementation ameliorates Cd toxicity in hydroponically grown wheat roots // Environmental and Experimental Botany. – 2008. – V. 63. – P. 158–167.

EFFECT OF NO ON THE CONDITION OF THE COMPONENTS OF THE GLUTATHION COMPLEX UNDER SALINITY

D.R. Maslennikova, Ch.R. Allagulova, A.A. Plotnikov, F.M. Shakirova

Institute of Biochemistry and Genetics of Ufa Science Centre RAS, Ufa, Russia,
shakirova@anrb.ru

Abstract. In this work it was founded that in the realization protected SNP effect on wheat plants contributes its ability to positively regulate the accumulation of reduced glutathione, glutathione reductase and glutathione-S-transferase activity under salinity.

Keywords: wheat, nitric oxide, glutathione reductase, glutathione-S-transferase, salinity

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ МЕТИЛЖАСМОНАТА И 6-БЕНЗИЛАМИНОПУРИНА НА АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ ОБЕЗВОЖИВАНИИ

Д.Р. Масленникова¹, А.Р. Лубянова¹, А.А. Плотников¹, Г.Ш. Казыханова²,
Ч.Р. Аллагулова¹, Ф.М. Шакирова¹

¹Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия, shakirova@anrb.ru

²Башкирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия, Afadita@mail.ru

Аннотация. Сравнительный анализ влияния 100 нМ метилжасмоната и 44 нМ цитокинина на содержание супероксид аниона, аскорбата, показатель соотношения GSH/GSSG, активность СОД, глутатионредуктазы и глутатион-S-трансферазы в корнях пшеницы при действии 12% ПЭГ, продемонстрировал сопоставимый по уровню защитный эффект исследуемых фитогормонов на антиоксидантную систему, что свидетельствует в пользу важной роли эндогенных цитокининов в реализации защитного действия МеЖ на растения пшеницы.

Ключевые слова: цитокинины, метилжасмонат, устойчивость, пшеница, антиоксидантная система

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-510-511

Проведен сравнительный анализ влияния предобработки проростков пшеницы *Triticum aestivum* L. сорта Салават Юлаев растворами 100 нМ метилжасмоната (МеЖ) и 44 нМ 6-бензиламинопурина в течении 24 ч на содержание аскорбата, показатель соотношения восстановленного (GSH) и окисленного (GSSG) глутатиона - GSH/GSSG, генерацию супероксид аниона и активность антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы, глутатионредуктазы и глутатион-S-трансферазы в условиях обезвоживания, которое моделировали 12%-ным полиэтиленгликолем (ПЭГ). Ранее нами было обнаружено, что предобработка МеЖ и БАП оказывает сопоставимый по уровню защитный эффект на ростовые процессы проростков, подвергнутых воздействию 12%-ного ПЭГ, о чем судили по сырой и сухой массе проростков, а также митотическому индексу апикальной меристемы корней пшеницы. Выявленное почти двукратное транзиторное накопление цитокининов под влиянием МеЖ позволило предположить, что эндогенные ЦК могут служить гормональными интермедиатами в реализации защитного действия МеЖ при стрессе. Сопоставимый по уровню защитный эффект МеЖ и БАП на рост и гормональную систему пшеницы в условиях стресса позволяет ожидать, что предобработка этими фитогормонами может оказать сходное по уровню протекторное действие на состояние компонентов про- и антиоксидантной системы. С целью выявления роли эндогенных цитокининов в проявлении защитного действия МеЖ на растения пшеницы проведен сравнительный анализ влияния МеЖ и БАП на состояние основных компонентов про- и антиоксидантной системы при действии 12%-ного ПЭГ, моделирующего нарушение водного режима. Воздействие 12%-ного ПЭГ привело к развитию сильно выраженного окислительного стресса, о чем судили по двукратному накоплению супероксид аниона, падению содержания аскорбата и показателя GSH/GSSG, которое сопровождалось значительной активацией СОД, глутатионредуктазы (ГР) и глутатион-S-трансферазы (ГСТ). Предобработка

растений МеЖ и БАП в условиях стресса в равной степени способствовала стабилизации антиоксидантного статуса проростков. Так, в условиях засухи предобработанные фитогормонами проростки пшеницы характеризовались значительно меньшим уровнем генерации супероксид аниона, повышенным на 25-30% относительно контроля содержанием аскорбата и показателем соотношения GSH/GSSG на протяжении всего опыта. Поддержание и дополнительное накопление восстановленной формы глутатиона в предобработанных МеЖ и БАП проростках, по всей вероятности, связано со способностью каждого из исследованных фитогормонов позитивно регулировать активность ГР, что выражается в дополнительной на 30-35% активации этого фермента и, соответственно, в дополнительном накоплении аскорбата, являющегося важным антиоксидантом растительной клетки. Сходный по уровню защитный эффект МеЖ и БАП на антиоксидантную систему проростков выявился в ходе анализа активности СОД и ГСТ. Предобработка фитогормонами способствовала значительному уменьшению активности этих ферментов в условиях стресса, которая составила 80-90% от контрольного уровня, что свидетельствует о меньшей степени повреждающего действия 12%-ного ПЭГ на эти проростки, о чем также свидетельствуют результаты оценки содержания аскорбата и показателя соотношения GSH/GSSG в этих растениях.

Полученные результаты демонстрируют сопоставимую по уровню регуляторную роль МеЖ и БАП в активации редокс - метаболизма, лежащего в основе проявления их защитного эффекта, и указывают в пользу важной роли эндогенных цитокининов в реализации антистрессового действия метилжасмоната на растения пшеницы.

Работа выполнена в рамках госзадания (№ темы АААА-А16-116020350029-1) при частичной поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 17-04-01853_а) с привлечением приборного парка ЦКП «Биомика» (Отделение биохимических методов исследований и нанобиотехнологии РЦКП «Агидель») и УНУ «КОДИНК».

A COMPARATIVE ANALYSIS OF THE METHYL JASMONATE AND 6-BENZYLAMINOPURINE ON THE ANTIOXIDANT STATUS OF WHEAT PLANTS UNDER DROUGHT

D.R. Maslennikova¹, A.R. Lubynova¹, A.A. Plotnikov¹, G.Sh. Kazykhanova², Ch.R. Allagulova¹, F.M. Shakirova¹

¹Institute of Biochemistry and Genetics - Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, *shakirova@anrb.ru*

²Bashkir Scientific Research Institute of Agriculture - Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, *Afadita@mail.ru*

Abstract. A data comparative analysis of the effects of methyl jasmonate MeJA and cytokinin BAP on content superoxide anion, ascorbate, ratio GSH/GSSG, activity SOD, glutathione reductase and glutathione-S-transferase in wheat roots under 12% PEG showed a comparable in protective effect of the investigated phytohormones on antioxidant system, which indicate to the important role of endogenous cytokinins in realization of the protective effect of MeJA on wheat plants.

Keywords: *phytohormones, resistance, drought, wheat, antioxidant system*

ЛАЗЕРНАЯ ДИАГНОСТИКА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ РАСТЕНИЙ ТОМАТА ПРИ ОЦЕНКЕ ИХ УСТОЙЧИВОСТИ К ТОКСИНАМ БАКТЕРИИ *CLAVIBACTER MICHIGANENSIS*

М.В. Маслова¹, Е.В. Грошева¹, А.В. Будаговский^{1,2}, О.Н. Будаговская^{1,2}

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Мичуринский государственный аграрный университет, Мичуринск, Россия, marinamaslova2009@mail.ru, ekaterina2687@mail.ru, budagovsky@mail.ru

²Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Федеральный научный центр им И.В. Мичурина, Мичуринск, Россия, budagovsky@mail.ru

Аннотация. Проведена оценка степени поражения и фотосинтетической активности листьев томата после инкубации в растворах культурального фильтрата бактерии *S. michiganensis*. В вариантах с концентрацией метаболитов 10% выявлено значительное увеличение степени поражения тканей листа (на 72,2 балла) и снижение их фотосинтетической активности (на 18,8%) по сравнению с контролем. Данные показатели рекомендовано использовать совместно, так как в ряде случаев стимуляция физиологической активности может наблюдаться у пораженных тканей.

Ключевые слова: томат, *Clavibacter michiganensis* pv. *michiganensis*, функциональная активность, лазерная диагностика

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-512-516

В последнее время резко возросла доля бактериальных болезней томата. Среди них наибольшей вредоносностью характеризуется бактериальный рак, вызываемый *Clavibacter michiganensis* pv. *michiganensis*. (Cmm). Признаками данной болезни является сосудистое поражение при котором увядают отдельные побеги или листья на растениях. На плодах образуются мелкие светлые пятна с темным центром («птичий глаз»), на стебле появляются продольные темные полосы, на срезе видны потемневшие сосуды [Котляров, 2008].

Cmm встречается в России и некоторых зонах Европейского союза. Патоген в основном распространяется зараженными семенами и рассадой. Эпифитотия в теплице может быть вызвана всего лишь несколькими зараженными растениями. Томат является основным растением-хозяином, но в некоторых случаях естественная инфекция также может поражать перец, баклажан, картофель [Корнев, 2009].

Микроорганизмы при культивировании в контролируемых лабораторных условиях способны синтезировать вещества фитогормональной и антибиотической природы, которые диффундируют в питательную среду. Данные соединения находятся в культуральной жидкости и даже при отсутствии живых клеток продуцента способны стимулировать развитие растений и ингибировать фитопатогены. В связи с этим в качестве активного компонента в биопрепаратах используются не только суспензии живых клеток и спор микроорганизмов, но и их метаболиты, экстракты культуральных фильтратов [Бурова, 2012; Киприанова, 2014].

На картофеле обнаружены штаммы Cmm, вызывающие симптомы поражения у томатов и картофеля. Признаки некроза и увядания проявлялись после искусственного заражения растений томата и картофеля. Так как среди Cmm встречаются штаммы, способные поражать картофель, в естественных условиях он может выступать в роли резерватора патогена [Игнатов, 2014].

В сложившихся условиях весьма актуальна разработка методов, позволяющих объективно оценить характер влияния микроорганизмов, ассоциированных с растением для выявления наиболее вредоносных объектов, инициирующих патогенез,

а также микроорганизмов-антагонистов патогенов, стимулирующих рост растений, что позволит в дальнейшем использовать их в качестве агентов биологического контроля болезней.

Важную роль в оценке значимости какого-либо микроорганизма в сельскохозяйственной практике играет определение характера влияния его метаболитов на растения. В связи с тем, что микроорганизмы способны образовывать в жидкой питательной среде комплекс токсических метаболитов, принимающих участие в патогенезе и влияющих на развитие растения-хозяина, а также различных антибиотических, ростовых веществ, витаминов и др., весьма актуальна разработка приемов оценки характера влияния микроорганизмов на растение без применения инфекционных фонов. Использование в качестве селективного агента культурального фильтрата патогенов является также одним из способов ускорения селекционного процесса на устойчивость к болезням. Данный метод позволяет разделить сорта и формы по степени восприимчивости к метаболитам микроорганизмов. Этот способ широко используется исследователями, так как экспериментально установлена корреляция между восприимчивостью к поражению возбудителем болезни и чувствительностью растений к его токсинам [Говоров, 2000; Корня, 2008].

С целью определения характера воздействия выделенной эндофитной бактерии *Stm* на растения томата проводили оценку влияния ее культурального фильтрата на фотосинтезирующие ткани листа визуально и с использованием метода индукции флуоресценции хлорофилла.

Изучение характера воздействия токсических метаболитов патогенной бактерии *Stm* на фотосинтезирующие ткани листа томата проводили с использованием культурального фильтрата, который был получен в результате культивирования бактерии на жидкой питательной среде в течение месяца с последующей стерилизацией. Листья помещали срезом в раствор культурального фильтрата *Stm* с концентрациями 2,5%; 5%; 10%. Контролем служили листья, поставленные в воду. Оценка поражения тканей листа томата проводили по пятибалльной шкале:

0 - поражение отсутствует;

1 - поражение очень слабое, единичные хлорозные или некротические пятна;

2 - поражение слабое, до 10% поверхности листа занимает некроз или до 25% - хлороз;

3 - поражение среднее, до 25% - некроз или до 50% хлороз;

4 - поражение сильное, до 50% - некроз, хлороз более 50%;

5 - поражение очень сильное, некроз более 50%.

Токсическую активность культурального фильтрата рассчитывали по формуле:

$$At = 100 - P_0/P_k * 100\%, \text{ где}$$

At – степень токсичности (в %);

P_0 – состояние листьев в опыте (в баллах);

P_k – состояние листьев в контроле (в баллах).

О функциональном состоянии тканей томата после воздействия метаболитов микроорганизмов судили по их удельной фотосинтетической активности, которую выражали в условных единицах и определяли по динамическим характеристикам кривой Каутского. Оценка параметров медленной индукции флуоресценции хлорофилла проводили с помощью портативного хлорофиллфлуориметра LPT [Патент РФ №2592574, 2016].

При визуальной бальной оценке состояния листьев после 6-суточной инкубации в

растворах культурального фильтрата бактерии *Smm* наиболее значительные симптомы увядания, хлорозности и некрозности листьев выявлены в вариантах с концентрацией метаболитов 10% (средний балл поражения листьев – 2,75 балла). В растворе культурального фильтрата с концентрацией 5% значение этого показателя было вдвое ниже (1,33 балла). Состояние листьев, инкубируемых в растворе метаболитов бактерии *Smm* в концентрации 2,5%, оказалось на уровне контроля и составило 0,83 балла, при этом в контроле степень поражения была оценена на 0,75 балла. (рис. 1).

Параллельно нами проводилась оценка фотосинтетической активности листьев, инкубируемых в растворах токсических метаболитов. По мере экспозиции, начиная с 3 дня после постановки опыта, наблюдали снижение фотосинтетической активности тканей листа томата относительно ее начальных значений по каждому варианту опыта.

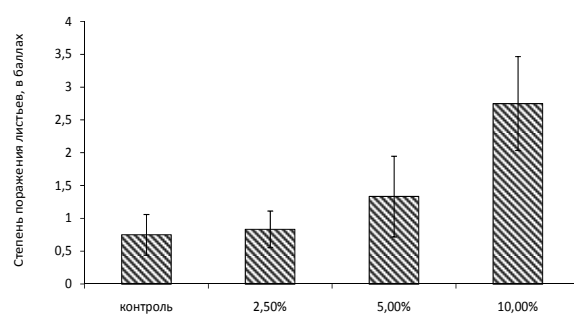


Рис. 1. Степень пораженности листьев после 6-суточной инкубации в растворах разной концентрации метаболитов бактерии *C. michiganensis*.

Было установлено, что даже на 9-е сутки инкубации листьев в растворах метаболитов бактерии *Smm* в концентрации 2,5 и 5% отмечено стимулирующее влияние на фотосинтез исследуемых тканей растений, удельная фотосинтетическая активность составила 0,445 и 0,461 усл. ед. соответственно, при значении этого показателя 0,431 усл. ед. в контроле. Это возможно связано с таким часто распространенным явлением, как активизация фотосинтетической деятельности растительных тканей на начальных этапах патогенеза или при слабой форме течения болезни [Рубин, 1975].

Ингибирование фотосинтетической активности было отмечено при воздействии на ткани листа раствора культурального фильтрата бактерии *Smm* с концентрацией 10%. В данном варианте опыта удельная фотосинтетическая активность составила 0,350 усл. ед. (табл. 1).

Таблица 1.

Влияние растворов метаболитов *C. michiganensis* с различной концентрацией на степень пораженности листьев и их фотосинтетическую активность

Концентрация ФКЖ <i>C. michiganensis</i> , %	Фотосинтетическая активность, усл.ед.
0 (контроль)	0,431±0,016
2,5	0,445±0,018
5,0	0,461±0,023
10,0	0,350±0,023

Использование 10% раствора метаболитов патогенной бактерии *Stm* в качестве селективирующего агента можно рекомендовать для проведения ранжирования сортов и форм томата по степени устойчивости к данному патогену. Параметры медленной индукции флуоресценции хлорофилла служат важным диагностическим признаком не только при оценке биологического эффекта, возникающего после воздействия дестабилизирующих факторов, но и для оценки характера влияния метаболитов микроорганизмов на растение-хозяина.

Диагностику функционального состояния растений по фотосинтетической активности хлорофиллсодержащих тканей необходимо проводить параллельно с оценкой их степени некрозности, так как в ряде случаев стимуляция фотосинтетической активности может наблюдаться у пораженных растительных тканей.

Литература

Бурова Ю.А., Ибрагимова С.А., Ревин В.В. Получение бактериальной суспензии *Pseudomonas aureofaciens* 2006 на мелассе и изучение некоторых ее свойств // Вестник ОГУ. – 2012. – №10 (146). – С. 61-65.

Говоров Д.Н. Совершенствование защиты земляники от вертициллезного увядания: автореф. дис. ... канд. б.н. М., 2000. – 16 с.

Игнатов А.Н. Распространение возбудителей опасных бактериозов растений в российской федерации // Защита картофеля. – 2014. – №2. – С. 53-57.

Киприанова Е.А., Варбанец Л.Д., Шепелевич В.В., Войчук С.И. Противовирусная активность липополисахаридов *Pseudomonas chlororaphis subsp. aureofaciens* // Biotechnol. acta. – 2013. – №2. – С. 15-17.

Котляров В.В. Бактериальные болезни культурных растений. Краснодар: КубГАУ, 2008. – 324 с.

Патент РФ №2592574 на изобретение «Оптический способ оценки функционального состояния растений» / Авторы: Будаговская О.Н., Будаговский А.В., Гончаров С.А. – Заявка № 2014148848 от 03.12.2014. – Оpubл.27.07. – 2016. - Бюл. – №16. Патентовладелец – МичГАУ.

Корнев К.П., Игнатов А.Н., Матвеев Е.В. и др. Раса Р (potato) бактерий *Clavibacter michiganensis sbsp. michiganensis* – новый патоген картофеля // Бактериальные болезни – глобальная проблема современности: матер. Всеросс. науч.-практ. конф., - Краснодар: КубГАУ, 2009. – С. 139-152.

Рубин Б.А., Арциховская Е.В., Аксенов В.А. Биохимия и физиология иммунитета растений. - М.: Высшая школа, 1975. – 315 с.

Корня Т.М., Игнатова С.А., Бабаянц О.В. Свойства фильтрата культуральной жидкости *Fusarium graminearum Schwabe* как селективного агента в условиях *in vitro* // Біотехнологія. Наука. Освіта. Практика: тези доповідей IV Міжнародної науково-практичної конференції, Дніпропетровськ, 11-13 листопада 2008. Дніпропетровськ. – 2008. – С. 163-164.

**LASER DIAGNOSTICS OF THE FUNCTIONAL STATE
PLANTS OF TOMATO IN THE ESTIMATION OF THEIR STABILITY
TO TOXINS OF BACTERIA CLAVIBACTER MICHIGANENSIS**

M.V. Maslova¹, E.V. Grosheva¹, A.V. Budagovsky^{1,2}, O.N. Bydagovskaya^{1,2}

¹Federal state budgetary educational institution of higher education Michurinsk State Agrarian University, Michurinsk, Russia, *ekaterina2687@mail.ru, arinamaslova2009@mail.ru, budagovsky@mail.ru*

²Federal Scientific Center named after I.V. Michurina, Michurinsk, Russia, *budagovsky@mail.ru*

Abstract. The degree of lesion and photosynthetic activity of tomato leaves was estimated after incubation in solutions of culture filtrate of *C. michiganensis* bacterium. In variants with a metabolite concentration of 10%, a significant increase in the degree of lesion of the leaf tissues (by 72.2 points) and a decrease in their photosynthetic activity (by 18.8%) compared with the control was revealed. These indicators are recommended to be used together, since in some cases stimulation of physiological activity can be observed in affected tissues.

Keywords: *tomato, Clavibacter michiganensis pv. michiganensis, functional activity, laser diagnostics*

ОТВЕТНЫЕ РОСТОВЫЕ РЕАКЦИИ ПРОРОСТКОВ *CUCUMIS SATIVUS* НА ПРЕДПОСЕВНУЮ ОБРАБОТКУ СЕМЯН ПЛАЗМОЙ БАРЬЕРНОГО РАЗРЯДА

А.С. Минич, И.Б. Минич, А.Е. Иваницкий, М.К. Верховод, И.Д. Иванова,
С.В. Гизбрехт

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Томский государственный педагогический университет», Томск, Россия, minich@tspu.edu.ru

Аннотация. Изучены посевные качества семян, обработанных плазмой барьерного разряда, и рост проростков *Cucumis sativus* L. в светокультуре. Показано, что обработка семян плазмой способствует увеличению энергии прорастания и всхожести. Использование совместной предпосевной обработки семян плазмой и микроэлементами имеет ограничение. У проростков, выращенных из таких семян, уменьшается ростовая активность, что, вероятно, связано с передозировкой микроэлементами при повышенной водопроницаемости.

Ключевые слова: *Cucumis sativus* L., предпосевная обработка, плазма барьерного разряда, микроэлементы, продуктивность

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-517-521

Для улучшения посевных качеств семян применяют метод их обработки плазмой барьерного разряда [Randeniya, de Groot, 2015]. Опубликованные результаты исследований показывают, что предпосевная обработка плазмой барьерного разряда улучшает поглощение влаги семенами, повышает их ферментативную и гормональную активность, приводит к раннему прорастанию и повышению всхожести, интенсивному росту проростков [Li et al., 2014; Stolárik et al., 2015; Минич и др., 2018]. Однако обработка семян плазмой может приводить не только к положительным, но и к отрицательным изменениям в метаболизме растений и снижению их продуктивности, что может быть связано с дополнительной обработкой семян микроэлементами [Минич и др., 2017].

Цель работы – изучить влияние предпосевной обработки семян плазмой барьерного разряда на рост и развитие проростков *Cucumis sativus*.

Материалы и методы. Объектом исследований служили растения *Cucumis sativus* L. трех гибридов. Семена гибрида Брейк были обработаны микроэлементами, гибридов Апрельский и Антошка – такой обработки не имели.

Для обработки семян плазмой использовался плазмохимический реактор с планарным расположением электродов и одним диэлектрическим барьером из стеклотекстолита толщиной 2 мм. Площадь высоковольтного электрода составила 48 м², объем разрядного промежутка – 9,6 см³, амплитуда высоковольтных импульсов напряжения – 8 кВ, частота повторения – 2 кГц, расход воздуха на входе в реактор ~ 200 мл/мин, температура реактора – 25 °С. Разрядный промежуток между электродами служит для закладки семян, в котором они равномерно располагались, занимая в среднем 2/3 от площади разрядной зоны. Время экспозиции семян в плазме барьерного разряда составляло 10, 30 и 60 с. Выбор продолжительности обработки плазмой сделан на основании опубликованных данных [Минич и др., 2017].

Семена проращивались в светокультуре на перлите под лампой ДРiЗ 150 (Рефлекс, Россия) с интенсивностью светового потока 210 Вт/м² (1055 μмоль/с*м²). Интенсивность света была выровнена по падающим квантам с использованием спектрометра AvaSpec-2048FT-2-SPU (Avantes, Нидерланды). Фотопериод составлял 16 часов, температура воздуха – 24 °С.

Оценка энергии прорастания и лабораторной всхожести семян проводилась по межгосударственному стандарту [ГОСТ 12038-84, 2011].

Определение площади ассимилирующей поверхности растений проводилось на бумажных проекциях листьев (с сохранением масштаба) с использованием программы по определению площади сложных фигур «AreaS» 2.1, разработанной сотрудниками ФГБОУ ВО «Самарская государственная сельскохозяйственная академия». Работа программы основана на сканировании фигуры с последующим расчетом ее площади при сравнении с площадью шаблона, погрешность – не более 0,001.

Сырая масса и масса сухого вещества растений определялась на аналитических весах Acculab ALC-210d4 (Acculab, USA) с точностью 0,1 мг. До взвешивания растения промывались водой. Для определения сухой массы растения высушивались в сушильном шкафу при температуре 10 °С до прекращения потери веса.

Статистическая обработка экспериментальных результатов проводилась с помощью программы «Microsoft Excel» с доверительным интервалом 0,95. На рисунках приведены средние арифметические значения с двухсторонним доверительным интервалом трех независимых экспериментов, каждый из которых проведен в трех биологических повторностях на 30 проростках. За результат анализа лабораторной всхожести и энергии прорастания принимали среднеарифметические значения данных анализа четырех проб по 100 семян в каждой при допустимом расхождении результатов, указанных в межгосударственном стандарте [ГОСТ 12038-84, 2011].

Результаты и обсуждение. Относительно контроля энергия прорастание опытных семян *Cucumis sativus* была выше на 22-56, 14-43 и 46-54% соответственно для гибрида Апрельский, Антошка и Брейк. В зависимости от продолжительности обработки семян плазмой и гибрида их лабораторная всхожесть была также выше на 7-33%, что указывает на улучшение их посевных качеств (табл. 1).

Таблица 1.

Всхожесть и энергия прорастания семян *Cucumis sativus* L. сорта, обработанных плазмой разряда атмосферного давления

Наименование гибрида F ₁	Время обработки семян, с	Энергия прорастания, %	Лабораторная всхожесть, %
Апрельский	0 (контроль)	64	78
	10	86	86
	30	100	100
	60	78	86
Антонка	0 (контроль)	70	75
	10	80	80
	30	100	100
	60	100	100
Брейк	0 (контроль)	61	72
	10	89	94
	30	89	89
	60	94	94

Такой результат согласуется с литературными данными, в которых отмечается улучшение посевных качеств семян после их обработки плазмой [Zahoranová et al., 2015] и показывает, что на прорастание семян совместная обработка плазмой и микроэлементами не влияет. Вероятно, в повышении посевных качеств семян главную роль играет плазменная обработка, изменяющая структуру семенной кожуры и улучшающая водную проницаемость [Stolárik et al., 2015].

Результаты исследования динамики накопления биомассы показывают, что первые 6 суток проростки всех исследуемых гибридов, выращиваемых из семян,

обработанных плазмой барьерного разряда, более интенсивно растут и развиваются (рис. 1-3). Достоверных изменений не выявили только у проростков гибридов Антошка и Брейк, выращенных из семян с 10-секундной плазменной обработкой.

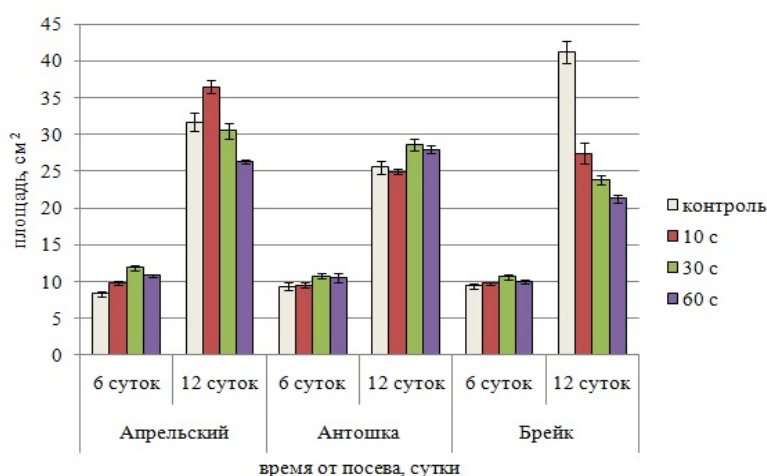


Рис. 1. Площадь поверхности листьев проростков гибридов *Cucumis sativus*, выращенных из обработанных и не обработанных (контроль) плазмой барьерного разряда семян.

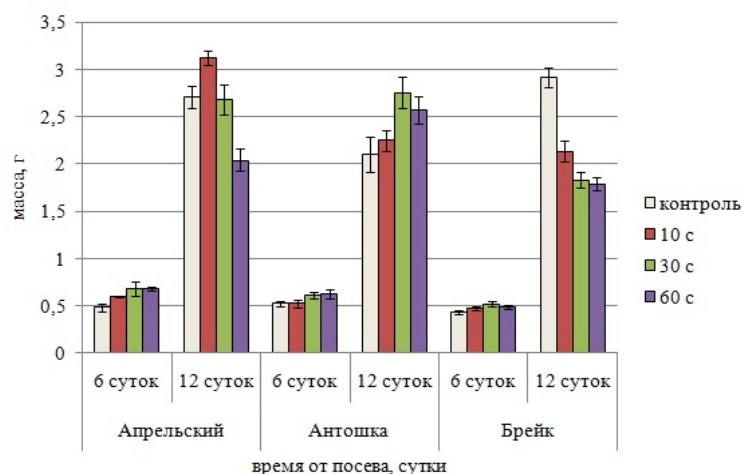


Рис. 2. Сырая биомасса проростков гибридов *Cucumis sativus*, выращенных из обработанных и не обработанных (контроль) плазмой барьерного разряда семян.

На 12 сутки максимальные темпы роста отметили у проростков гибрида Апрельский, выращенных из семян с 10-секундной плазменной обработкой, а у проростков гибрида Антошка – из семян с 30- и 60-секундной. Это указывает на то, что продолжительность обработки семян плазмой определяется не только видом растения, но и гибридной принадлежностью.

У опытных проростков гибрида Брейк на 12 сутки онтогенеза выявили торможение ростовых процессов, причем с увеличением продолжительности обработки семян плазмой ингибирование усиливалось. По нашему мнению, уменьшение ростовой активности проростков данного гибрида связано с передозировкой микроэлементами, которыми были покрыты семена, что определяется повышенной водопроницаемостью обработанных плазмой семян. Такой результат согласуется с полученными ранее

результатами на гибриде Кураж, семена которого также были обработаны микроэлементами и плазмой [Минич и др., 2017].

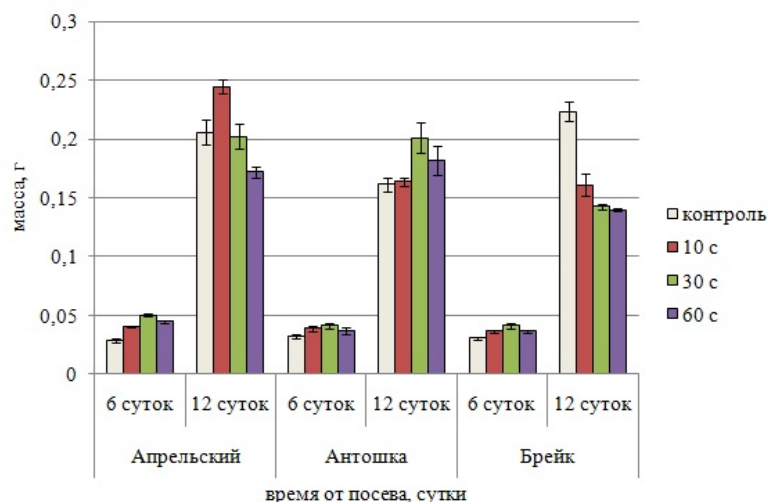


Рис. 3. Масса сухого вещества проростков гибридов *Cucumis sativus*, выращенных из обработанных и не обработанных (контроль) плазмой барьерного разряда семян.

Заключение. Предпосевная обработка семян плазмой барьерного разряда может применяться в сельском хозяйстве для улучшения посевных качеств семян, в частности *Cucumis sativus* L. Однако данная технология может использоваться для семян, не подвергающихся дополнительной обработке микроэлементами.

Литература

ГОСТ 12038-84. Межгосударственный стандарт. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. – М.: Стандартинформ, 2011. – 64 с.

Минич А.С., Минич И.Б., Домашевская А.Г., Чурсина Н.Л., Гизбрехт С.В., Кудряшов С.В. Влияние обработки семян плазмой разряда атмосферного давления на морфогенез и продуктивность *Cucumis sativus* гибрида Кураж // Материалы конференции «Экспериментальная биология растений: фундаментальные и прикладные аспекты», 18-24 сентября 2017 г., Крым, Судак. – Москва, 2017. – С. 230.

Минич А.С., Минич И.Б., Чурсина Н.Л., Кулакова В.О., Иванова И.Д., Верховод М.К., Массон К.В., Гизбрехт С.В., Кудряшов С.В. Регуляция морфогенеза и продуктивности *Lactuca sativa* L. предпосевной экспозицией семян плазмой разряда атмосферного давления // Известия Уфимского научного центра РАН. – 2018. – № 1. – С. 28–34.

Li L., Jiang J., Li J., Shen M., He X., Shao H., Dong Y. Effects of cold plasma treatment on seed germination and seedling growth of soybean // Scientific Reports. – 2014. – V. 4. – P. 1–7.

Park Y., Oh K.S., Oh J., Seok D.C., Kim S.B., Yoo S.J., Lee M.-J. The biological effects of surface dielectric barrier discharge on seed germination and plant growth with barley // Plasma Processes and Polymers. – 2016. – V. 15, I. 6. – doi.org/10.1002/ppap.201600056.

Randeniya L.K., de Groot G.J.J.B. Non-thermal plasma treatment of agricultural seeds for stimulation of germination, removal of surface contamination and other benefits: a review // Plasma Processes and Polymers. – 2015. – V. 12. – P. 608–623.

Stolárik T., Henselová M., Martinka M., Novák O., Zahoranová A., Černák M. Effect of low-temperature plasma on the structure of seeds, growth and metabolism of endogenous

phytohormones in pea (*Pisum sativum* L.) // Plasma Chemistry and Plasma Processing. – 2015. – V. 35. – P. 1–18.

Zahoranová A., Henselová M., Hudecová D., Kaliňáková B., Kováčik D., Medvecká V., Černák M. Effect of cold atmospheric plasma on the wheat seedlings vigor and on the inactivation of microorganisms on the seeds surface // Plasma Chemistry and Plasma Processing. – 2016. – V. 36. – P. 397–414.

RESPONSE GROWTH RESPONSES OF *CUCUMIS SATIVUS* PROPAGATORS FOR PRECISIONING SEEDS OF SEEDS BY BARRIER DISCHARGE PLASMA

A.S. Minich, I.B. Minich, A.E. Ivanitckii, M.K. Verhovod, I.D. Ivanova, S.V. Gizbrekht

Tomsk State Pedagogical University, Tomsk, Russia, minich@tspu.edu.ru

Abstract. Seed quality of seeds treated with barrier-discharge plasma was studied, and the growth of *Cucumis sativus* L. seedlings in light culture. It is shown that the treatment of seeds with plasma promotes an increase in the germination and germination energy. The use of joint presowing seed treatment with plasma and microelements has a limitation. In sprouts grown from such seeds, the growth activity decreases, which is probably due to overdose with trace elements with increased water permeability.

Keywords: *Cucumis sativus*, presowing treatment, barrier discharge plasma, microelements, productivity

ВЛИЯНИЕ ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО НИЗКОИНТЕНСИВНОГО УЗКОПОЛОСНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА МОРФОГЕНЕЗ И ПРОДУКТИВНОСТЬ *LACTUCA SATIVA*

И.Б. Минич, А.С. Минич, А.Е. Иваницкий, А.В. Гизбрехт, С.В. Гизбрехт

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Томский государственный педагогический университет», Томск, Россия, minich@tspu.edu.ru

Аннотация. Изучен морфогенез и продуктивность *Lactuca sativa* на комбинированном свете с использованием светофильтров с люминофорами, поглощающих УФ-А излучение и генерирующих его в СС, ЗС и КС низкой интенсивности. Показано, что излучение от светофильтров способствует активации роста и развития салата с начала вегетации, что приводит к увеличению ассимилирующей поверхности, сырой и сухой биомассы относительно контроля. Максимальные повышение продуктивности растений отмечены под СС светофильтром.

Ключевые слова: *Lactuca sativa*, свет, светофильтр, морфогенез, продуктивность
DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-522-526

Для повышения продуктивности растений в светокультуре и в защищенном грунте применяют дополнительное излучение от искусственных источников [Тихомиров и др., 2000; Liu, 2012]. Для этого используют светодиоды и лампы различного типа, а также светофильтры [Аверчева и др., 2009; Ракутько и др., 2016]. Комбинированием источников излучения и светофильтров достигаются наиболее оптимальные световые условия для роста и развития растений, что способствует интенсификации ростовых процессов и повышению их продуктивности.

Сотрудниками ФГБОУ ВО «Томский государственный педагогический университет» для повышения продуктивности растений в светокультуре предложены новые по составу светофильтры. Данные светофильтры за счет содержащихся в них люминофоров поглощают часть УФ-А радиации и генерируют низкоинтенсивное люминесцентное красное (КС), синее (СС) или зеленое (ЗС) излучение.

Цель работы – изучение возможности использования светофильтров КС, СС и ЗС для активации ростовых процессов и повышения продуктивности *Lactuca sativa*.

Материалы и методы. Объектом исследований служили растения *Lactuca sativa* L. сорта Скороспелый деликатес. Салат выращивался в светокультуре семенным способом в грунте из смеси равных количеств чернозема, перегноя и торфа. Полив производился капиллярным способом. Растения выращивались на комбинированном свете (КМС) (контроль) без светофильтров и с использованием светофильтров с фотопериодом 16 часов в 4 световых вариантах. Источником излучения служили лампа ДРiЗ 150 (Рефлекс, Россия) с интенсивностью светового потока 210 Вт/м² (1055 μмоль/с*м²) (БС) и УФ лампа PL-S 9W/08 Black Light (Philips, Нидерланды) 5,83 Вт/м². Спектральный состав излучения и интенсивность светового потока определены на спектрометре AvaSpec-2048FT-2-SPU (Avantes, Нидерланды) (табл. 1), с его использованием интенсивность света была выровнена по падающим квантам.

В качестве подложки светофильтров применялись пластины из полиметилметакрилата (ПММА) толщиной 3 мм. Светофильтры готовили методом «полива» раствора ПММА в этилацетате с гетерогенным (ЗС и СС) и гомогенным (КС) содержанием люминофора на поверхность пластины ПММА с последующей сушкой при комнатной температуре. Толщина нанесенного на подложку слоя после сушки составляла 1 мм [Иваницкий и др., 2013].

Для определения площади ассимилирующей поверхности растений использовалась бумажная проекция листьев с сохранением масштаба. Измерения площади поверхности проекций листьев проводились с использованием программы по определению площади сложных фигур «AceaS 2.1», разработанной сотрудниками ФГБОУ ВО «Самарская государственная сельскохозяйственная академия». Работа программы основана на сканировании фигуры с последующим расчетом ее площади при сравнении с площадью шаблона. Погрешность определения не превышает 0,001.

Таблица 1.

Интенсивность и спектральный состав дополнительного излучения, генерируемого светофильтрами после прохождения УФ-А излучения

Фильтр	Люминофор		Интенсивность излучения (Вт/м ²) в диапазоне длин волн (нм): в начале эксперимента (*- на 7 сутки, ** - на 28 сутки)						
	марка или формула ¹	содержание (%)	350-400	403-406	545-547	470-600	445-470	445-448	610-618
ЗС	ZS*CuClBr	2	3,80	0,14	0,03	1,50	-	-	-
			3,80*	0,14*	0,00*	1,50*	-	-	-
			3,80**	0,14**	0,02**	1,38**	-	-	-
СС	ФЛ-447	2	0,94	0,05	-	-	2,80	0,11	-
			0,95*	0,07*	-	-	1,53*	0,07**	-
			0,95**	0,07**	-	-	1,53**	0,07**	-
КС	ТТФАА Eu	1	0,20	0,04	-	-	-	-	1,08
			0,99*	0,08*	-	-	-	-	0,00*
			0,99**	0,08**	-	-	-	-	0,00**

¹Примечание: ТТФАА Eu – теноилтрифторацетилацетонат европия; ФЛ-447 – хлорфосфат стронция-бария, активированный европием; ZS*CuClBr – сульфид цинка, активированный бромидхлоридом меди

Сырая масса и масса сухого вещества растений определялась на аналитических весах Acculab ALC-210d4 (Acculab, USA) с точностью 0,1 мг. До взвешивания растения промывались водой. Для определения сухой массы растения высушивались в сушильном шкафу при температуре 105 °С до прекращения потери веса.

Статистическая обработка экспериментальных результатов проводилась с помощью программы «Microsoft Excel» с доверительным интервалом 0,95 (уровень значимости – 0,05). На рисунках приведены средние арифметические значения с двусторонним доверительным интервалом трех независимых экспериментов, каждый из которых проведен в трех биологических повторностях на 30 растениях.

Результаты и обсуждение. Результаты изменения роста, развития и продуктивности *Lactuca sativa* были сопряжены с изменением световых условий, определяемых фотофизическими свойствами светофильтров (рис. 1-3). Исследования показали, что интенсивность генерируемого светофильтрами дополнительного излучения зависит от их типа (табл. 1). Светофильтр СС практически одинаково поглощает и преобразует УФ-А излучение в течение всего периода исследований. Уменьшение на 8% отметили лишь на 28 сутки. Светопоглощающая и светопреобразующая способность светофильтра ЗС через неделю уменьшается на 45%. Светофильтр КС способен поглощать и преобразовывать УФ-А излучение лишь первые несколько дней, а через неделю люминофор в нем «выгорает».

В начале вегетации под всеми светофильтрами наблюдали более интенсивный рост и развитие растений относительно контроля. Максимальными положительными изменениями ростовых параметров характеризовались растения под КС светофильтром, что согласуется с литературными данными, в которых отмечается активация роста и развития под материалами, люминесцирующими в красной области спектра [Рогозин и др., 1998; Минич и др., 2006].

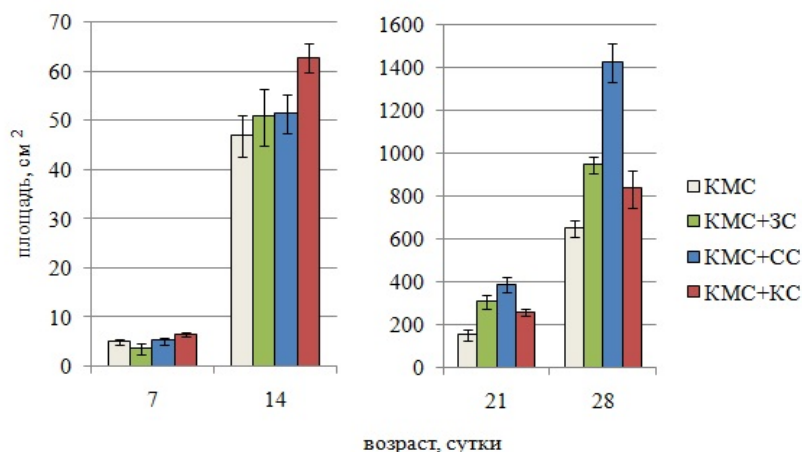


Рис. 1. Площадь поверхности листьев *Lactuca sativa*, выращенного на комбинированном свету (КМС:БС+УФ) под светофильтрами синего (СС), зеленого (ЗС) и красного света (КС).

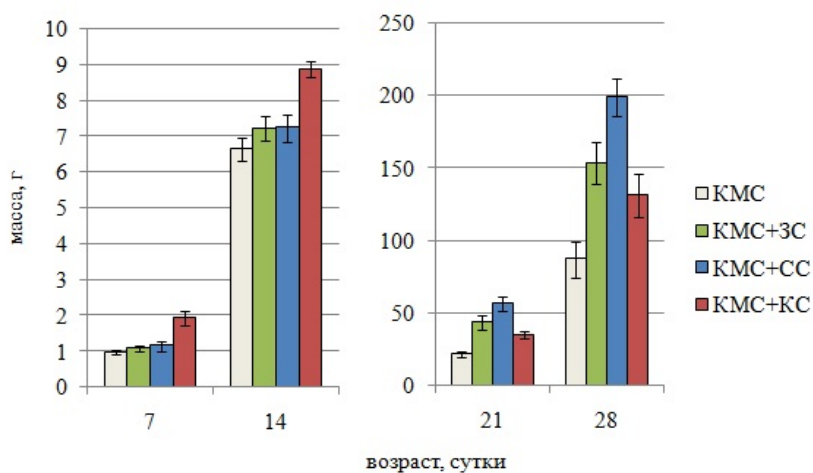


Рис. 2. Сырая масса *Lactuca sativa*, выращенного на комбинированном свету (КМС:БС+УФ) под светофильтрами синего (СС), зеленого (ЗС) и красного света (КС).

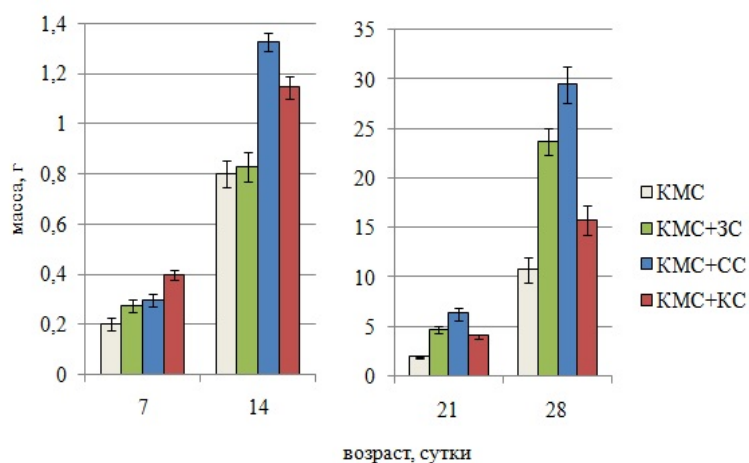


Рис. 3. Масса сухого вещества *Lactuca sativa*, выращенного на комбинированном свету (КМС:БС+УФ) под светофильтрами синего (СС), зеленого (ЗС) и красного света (КС).

Относительно контроля установили увеличение ассимилирующей поверхности, сырой и сухой биомассы на 32%, 95% и 97% соответственно. Активация ростовых процессов под КС светофильтром в начале онтогенеза позволила в дальнейшем развиваться растениям более интенсивно относительно контроля, но в меньшей степени относительно других опытных растений. Значительное торможение ростовых процессов салата под КС светофильтром связано с изменениями его фотофизических свойств – потерей поглощающей способности и люминесцентных свойств.

Под СС и ЗС светофильтрами на начальном этапе вегетации активация роста и развития *Lactuca sativa* была выражена в меньшей степени по сравнению с действием света под КС светофильтром. Отметим достоверное увеличение только массы сухого вещества – на 37 и 47% соответственно под ЗС и СС светофильтрами. В дальнейшем, особенно с 21 суток, под СС и ЗС светофильтрами наблюдали самые высокие темпы роста и развития, что способствовало максимальному повышению их продуктивности. На 28 сутки относительно контроля установили увеличение площади поверхности растений соответственно по СС, ЗС и КС светофильтрами на 119, 46 и 29%, сырой биомассы – на 128,76 и 51%, сухой биомассы – на 173, 120 и 46%.

Заключение. Использование дополнительного низкоинтенсивного узкополосного излучения от светофильтров, преобразующих УФ-А радиацию в СС, ЗС и КС, способствует активации ростовых процессов и повышению продуктивности *Lactuca sativa* L. сорта Скороспелый деликатес. Данная технология может применяться в светокультуре и защищенном грунте для повышения продуктивности сельскохозяйственных культур.

Литература

Аверчева О.В., Беркович Ю.А., Ерохин А.Н., Жигалова Т.В., Погосян С.И., Смолянина С.О. Особенности роста и фотосинтеза растений китайской капусты при выращивании под светодиодными светильниками // Физиология растений. – 2009. – Т. 56, № 1. – С. 17–26.

Иваницкий А.Е., Колчев М.Л., Буценко С.Е. Особенности люминесцентных свойств композиций полимер-люминофор с гомогенным распределением в полимерной матрице // Вестник Томского государственного педагогического университета. – 2013. – Вып. 8 (36). – С. 149–153.

Минич А.С., Минич И.Б., Зеленчукова Н.С., Карначук Р.А., Головацкая И.Ф., Ефимова М.В., Райда В.С. Роль красного люминесцентного излучения низкой интенсивности в регуляции морфогенеза и гормонального баланса *Arabidopsis thaliana* // Физиология растений. – 2006. – Т. 53, № 6. – С. 863–868.

Ракутько С.А., Маркова А.Е., Мишанов А.П., Ракутько Е.Н. Применение красных и синих светодиодов в светокультуре салата // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2016. – № 4, Ч. 6. – С. 1073–1076.

Рогозин В.И., Минич А.С., Райда В.С. Опыт использования светокорректирующих пленок на агробиостанции Томского государственного педагогического университета // В сборнике: Светокорректирующие пленки для сельского хозяйства. Сборник статей. Ред. В.С. Райда. – Томск, 1998. – С. 50–56.

Тихомиров А.А., Шарупич В.П., Лисовский Г.М. Светокультура растений. – Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2000. – 213 с.

Kim H.H., Goins G.D., Wheeler R.M., Sager J.C. Green-light supplementation for enhanced lettuce growth under red- and blue-light-emitting diodes // Hort. Sci. – 2004. – № 39. – P. 1617–1622.

Liu W. Light environmental management for artificial protected horticulture // Agrotechnology. – 2012. – № 1. – P. 1–4.

INFLUENCE OF ADDITIONAL LOW-INTENSIVE NARROW-BAND RADIATION ON MORPHOGENESIS AND PRODUCTIVITY OF *LACTUCA SATIVA*

I.B. Minich, A.S. Minich, A.E. Ivanitckii, A.V. Gizbrekht, S.V. Gizbrekht

Tomsk State Pedagogical University, Tomsk, Russia, *minich@tspu.edu.ru*

Abstract. Morphogenesis and productivity of *Lactuca sativa* in combined light were studied using phosphor filters with absorbing UV-A radiation and generating it into blue light, green light and low intensity red light was studied. It is shown that radiation from light filters contributes to activation of growth and development of lettuce from the beginning of vegetation, which leads to an increase in the assimilating surface, moist and dry biomass relative to control. The maximum increase in the productivity of plants is noted under a blue light filter.

Keywords: *Lactuca sativa*, light, light filter, morphogenesis, productivity

КАРТИРОВАНИЕ QTL, ОПРЕДЕЛЯЮЩИХ ПРОЯВЛЕНИЕ ПРИЗНАКОВ ЗЕРНОВОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ У ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM AESTIVUM* L.) ПРИ РАЗЛИЧНЫХ УРОВНЯХ АЗОТНОГО ПИТАНИЯ

Г.В. Мирская, Е.В. Канащ, Н.В. Кочерина, Н.А. Рушина, Д.В. Русаков,
Ю.В. Чесноков

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение “Агрофизический научно-исследовательский институт”, Санкт-Петербург, Россия, galinanm@gmail.com

Аннотация. С использованием картирующей популяции ITMI (International Triticeae Mapping Initiative) яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) был проведен QTL (quantitative trait loci) анализ основных признаков зерновой продуктивности при двух уровнях азотного питания в контролируемых условиях регулируемой агроэкосистемы. Для каждого изученного признака установлены QTL, эффекты действия выявленных QTL, доли фенотипической изменчивости, определяемой каждым QTL, и молекулярные маркеры, генетически сцепленные с идентифицированными QTL. Найденные молекулярные маркеры могут служить для использования в селекционных программах по улучшению существующих сортов пшеницы, адаптированных для усвоения азотных удобрений.

Ключевые слова: пшеница, QTL, генетическое картирование, продуктивность, азот

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-527-530

Определение влияния азотных удобрений на различные генотипы, является перспективным подходом для достижения высокой продуктивности у пшеницы [Bogard et al., 2011]. Растения, способные с большей отдачей поглощать и ассимилировать азотные удобрения, в перспективе могут дать больший урожай зерна с повышенным качеством белка. Эффективность усвоения азотных удобрений – сложный признак, контролируемый множеством генов. Одним из способов изучения генетической изменчивости таких признаков может служить картирование локусов количественных признаков (QTL). На сегодняшний день известно целый ряд исследований, в которых у пшеницы (*Triticum aestivum* L.), идентифицировали QTL усвоения азотных удобрений в различных условиях выращивания, провели картирование QTL урожайности и связанных с потреблением азота признаков [Guo et al., 2012; Xu et al., 2014].

Цель данной работы состояла в проведении QTL анализа и выявлении молекулярных маркеров, генетически сцепленных с QTL, определяющих проявление признаков зерновой продуктивности у картирующей популяции ITMI яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) при различных уровнях азотного питания в контролируемых условиях регулируемой агроэкосистемы.

Объектом исследования для QTL анализа служили рекомбинантные инбредные линии картирующей популяции ITMI яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) [Чесноков и др., 2018].

Выращивание и оценка растений выполнена в контролируемых условиях биополигона ФГБНУ «Агрофизический научно-исследовательский институт». При культивировании растений основные параметры жизнеобеспечения были постоянными: температура – 25-26 °С - день/ 20-21 °С ночь, фотопериод - 16 часов, облученность на уровне верхних листьев - $50 \pm 0,5$ Вт/м² ФАР. Растения выращивали в вегетационных сосудах объемом 2 л (по 2 растения в каждом). Повторность для каждой линии и каждой родительской формы – 2-кратная.

В качестве корнеобитаемой среды использовали дерново-подзолистую легко суглинистую почву. Опыт включал два варианта, отличающихся по уровню азотного

питания: вариант 1 – азотные удобрения во время вегетации растений не вносили, вариант 2 – выполнена 2-кратная подкормка мочевиной перед посевом и в фазу онтогенеза «выход в трубку». Всего в два приема при удобрении было внесено 0,321 мг мочевины на кг почвы. На протяжении всего периода вегетации растений влажность почвы поддерживали равной 70-80% от полной влагоемкости при ежедневном поливе водой. При завершении вегетационных опытов для каждого индивидуального растения определяли основные признаки зерновой продуктивности.

QTL анализ, идентификацию и локализацию на группах сцепления, установление степени варьирования признаков (R^2), которые объясняются данным QTL, для каждого признака выполняли с помощью компьютерных программ: MAPMAKER/EXP 3.0, QGENE и STATISTICA 6.0, как это было описано ранее [Чесноков и др., 2018]. Достоверность взаимосвязи между выявленными локусами полиморфизмом по тому или иному признаку оценивали на основе порогового значения логарифма шансов LOD-score (logarithmofodds) [Кочерина и др., 2011].

В результате проведенных исследований нами выявлены QTL, контролирующие изученные признаки зерновой продуктивности (таблица). Признаки “длина колоса”, “число колосьев” и “число колосков в колосе”, “число зерен в колосе и в колоске”, а также “масса зерна с колоса”, проявили зависимость от того было или нет внесено азотное удобрение.

Таблица.

QTL, выявленные у картирующей популяции ITMI в контролируемых условиях агроэкополигона, в отсутствие (Опыт 1) и при внесении (Опыт 2) азотного удобрения

Признак	Сим-вол	Опыт 1*			Опыт 2*		
		Хромосома	Маркер	R^2	Хромосома	Маркер	R^2
Длина колоса	SpL	4A (102.8)	<i>Xcdo475a</i>	12.48	4A (102.8)	<i>Xcdo475a</i>	24.98
					4A (120.7)	<i>Xbcd1670a</i>	24.81
					1B (182.7)	<i>Xbcd12</i>	15.02
Число колосков в колосе	NSpt	5A (47.3)	<i>Xabg391</i>	13.47	4A (124.4)	<i>Xmwg549b</i>	25.73
		4A (102.8)	<i>Xcdo475a</i>	9.97	4A (102.8)	<i>Xcdo475a</i>	17.71
Число зерен в колосе	NSeSpt	4B (121.9)	<i>Xgwm856</i>	14.62	1A (144.1)	<i>Xbcd1072</i>	12.59
		2D (300.0)	<i>Xcdo456d</i>	12.67	7A (154.1)	<i>Xgwm573b</i>	11.19
Число зерен в колосе	NSeSp	2D (300.0)	<i>Xcdo456d</i>	17.54	7D (60.6)	<i>Xfba204a</i>	18.61
		7B (377.0)	<i>Xgwm661</i>	12.07	3A (70.0)	<i>Xcdo638</i>	13.63
		4A (120.7)	<i>Xbcd1670a</i>	9.89	4A (120.7)	<i>Xbcd1670a</i>	10.52
Масса зерна с колоса	GMSp	2D (300.0)	<i>Xcdo456d</i>	21.35	1B (229.3)	<i>Xgwm33b</i>	18.13
		7B (377.0)	<i>Xgwm661</i>	14.92	7D (60.6)	<i>Xfba204a</i>	17.93
Масса 1000 зерен	TGW	3B (146.5)	<i>XATPaseb</i>	15.77	5D (240.7)	<i>Xmwg561c</i>	10.82
		7B (257.3)	<i>Xgwm1173</i>	13.17	3D (11.6)	<i>Xmwg11b</i>	10.67
		5D (130.8)	<i>Xbcd450a</i>	7.98	3B (245.6)	<i>Xtam61b</i>	8.89
Число колосьев	NStS	5A (89.0)	<i>Xrz395b</i>	14.92	2A (172.9)	<i>Xfba178</i>	13.86
		3D (254.8)	<i>Xgwm71c</i>	11.86	5D (140.5)	<i>Xgwm271b</i>	13.67

* жирным шрифтом выделены маркеры со значениями $LOD > 3$; обычный шрифт – маркеры с $LOD \geq 2,5 < 3$, R^2 – процент фенотипической изменчивости, определяемый данным QTL

Процент фенотипической изменчивости для этих признаков варьировал от 9.89 (признак “число зерен в колосе”) до 21.35 (“масса зерна с колоса”) в опыте без внесения

удобрения, и от 10.52 (признак “число зерен в колосе”) до 25.73 (признак “число колосков в колосе”) в опыте с внесением азотного удобрения. Признак “масса 1000 зерен” проявил стабильность идентификации, определяющих его QTL, на группах сцепления (3В и 5D), но при этом локализация выявленных QTL существенно различалась в зависимости от того вносилось или нет азотное удобрение. Так, для группы сцепления 3В QTL были определены в позиции 146.5 сМ (опыт без внесения удобрения) и в позиции 246.5 сМ (опыт с внесением удобрения), а для группы сцепления 5D – в позиции 130.8 сМ (опыт без внесения удобрения) и в позиции 240.7 сМ (опыт с внесением удобрения).

Установлено, что QTL признаков урожайности проявляли нестабильность, меняли свое месторасположение и формировали кластеры на группах сцепления в зависимости от того вносилось или нет азотное удобрение. QTL признаков “длина колоса”, “число колосьев” и “число колосков в колосе”, “число зерен в колосе и в колоске”, а также “масса зерна с колоса” в опыте без внесения азотного удобрения, были идентифицированы на 2D, 3D, 4A, 4B, 5A и 7B, а в опыте с внесением азотного удобрения – на 1A, 1B, 2A, 3A, 4A, 7A и 7D группах сцепления. Еще один признак продуктивности – “масса 1000 зерен”, в обоих экспериментах образовывал по два кластера на хромосомах 3В и 5D, но в зависимости от того добавлялось или нет азотное удобрение в разных экспериментах выявленные кластеры на этих группах сцепления располагались в разных позициях.

Поскольку линии картирующей популяции насыщены молекулярными маркерами [Ganal, Röder, 2007], то это дает возможность не только устанавливать позиции QTL, отвечающих за проявление того или иного признака, находить процент фенотипической изменчивости, определяемый каждым из идентифицированных QTL, но и выявлять молекулярные маркеры, генетически сцепленные с установленными QTL [Ganal, Röder, 2007; Чесноков и др., 2012]. Проведенное нами картирование QTL позволило установить конкретные локусы отдельных групп сцепления (молекулярные маркеры), вовлеченные в реализацию исследуемых признаков зерновой продуктивности в зависимости от того вносилось или нет азотное удобрение. В общей сложности было определено 40 маркеров, достоверно сцепленных с изученными нами признаками. Установленная взаимосвязь между идентифицированными локусами хромосом и полиморфизмом по тому или иному признаку в ответ на внесение азотного удобрения дает возможность для проведения дальнейшей маркер-опосредованной селекции у пшеницы.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ 16-04-00311а.

Литература

Кочерина Н.В., Артемьева А.М., Чесноков Ю.В. Использование лод-оценки в картировании локусов количественных признаков у растений // Доклады Россельхозакадемии. – 2011. – № 3. – С. 14–17.

Чесноков Ю.В., Гончарова Э.А., Почепня Н.В., Ситников М.Н., Кочерина Н.В., Ловассер У., Бёрнер А. Идентификация и картирование QTL физиолого-агрономических признаков яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) в градиенте доз азотного питания // Сельскохозяйственная биология. – 2012. – № 3. – С. 47–60.

Чесноков Ю.В., Мирская Г.В., Канаш Е.В., Кочерина Н.В., Русаков Д.В., Ловассер У., Бёрнер А. Идентификация и картирование QTL у яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) в контролируемых условиях агроэкобиополигона в отсутствии и при внесении азотного удобрения // Физиология растений. – 2018. – Т. 65, № 1. – С. 80–93.

Bogard M., Jourdan M., Allard V., Martre P., Perretant M. R., Ravel C., Heumez E.,

Orford S., Snape J., Griffiths S., Gaju O., Foulkes J, Le Gouis J. Anthesis date mainly explained correlations between post-anthesis leaf senescence, grain yield, and grain protein concentration in a winter wheat population segregating for flowering time QTLs // J. Exp. Bot. – 2011. – V. 62. – P. 3621–3636.

Ganal M.W., Röder M.S. Microsatellite and SNP markers in wheat breeding // Genomics Assisted Crop Improvement: Genomics Applications in Crops / Eds R.K. Varshney, R. Tuberosa. Springer. – 2007. – V. 2. – P. 1–24.

Guo Y., Kong F.-M., Xu Y.-F., Zhao Y., Liang X., Wang Y.-Y., An D.-G., Li S.-S. QTL mapping for seedling traits in wheat grown under varying concentrations of N, P and K nutrients // Theor. Appl. Genet. – 2012. – V. 124. – P. 851–865.

Xu Y., Wang R., Tong Y., Zhao H., Xie Q., Liu D. Mapping QTLs for yield and nitrogen-related traits in wheat: influence of nitrogen and phosphorus fertilization on QTL expression // Theor. Appl. Genet. – 2014. – V. 127. – P. 59–72.

QTL MAPPING THAT DETERMINE TRAITS OF GRAIN PRODUCTIVITY IN SOFT SPRING WHEAT (*TRITICUM AESTIVUM* L.) UNDER DIFFERENT LEVELS OF NITROGEN NUTRITION

G.V. Mirskaya, E.V. Kanash, N.V. Kocherina, N.A. Rushina, D.V. Rusakov,
Yu.V. Chesnokov

Agrophysical Research Institute, St. Petersburg, Russia, galinanm@gmail.com

Abstract. Quantitative trait loci (QTL) of agriculturally valuable traits of ITMI (International Triticeae Mapping Initiative) mapping population of soft spring wheat (*Triticum aestivum* L.) were mapped in two experiments with two levels of nitrogen nutrition under the controlled conditions. QTL, the effects of the actions identified by QTL, the proportion of phenotypic variability determined by each QTL, and molecular markers genetically linked to the identified QTL were determined for each studied trait. The molecular markers found can be used in breeding programs to improve the existing varieties of wheat adapted for the assimilation of nitrogen fertilizers.

Keywords: *Triticum aestivum*, QTL mapping, traits of grain productivity, nitrogen fertilizers, controlled conditions of agroecological

МЕТАБОЛИЧЕСКОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ ЛИСТЬЕВ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *PRUNUS* L. ДЛЯ ПОИСКА БИОМАРКЕРОВ УСТОЙЧИВОСТИ К КЛЯСТЕРОСПОРИОЗУ

С.М. Мотылева, В.С. Симонов, Д.В. Панищева

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Всероссийский селекционно-технологический институт садоводства и питомниководства, Москва, Россия, vstisp@vstisp.org

Аннотация. Методами спектрофотометрии и газовой хромато-масс-спектрометрии был исследован метаболит листьев представителей рода *Prunus* L. разной степени устойчивости к клястероспориозу. В листьях сортов с баллом поражения 2 и 3 водорастворимых веществ синтезируется на 10% больше, чем в листьях устойчивых сортов. Спектральные кривые неустойчивых генотипов в видимой области имеют характерные максимумы в области 480, 530 и 615 нм. В восковом слое устойчивых к клястероспориозу генотипов обнаружено в 2 раза больше веществ, обладающих антимикробным действием, по сравнению с сортами, имеющими балл поражения «2 и 3».

Ключевые слова: род *Prunus* L., лист, устойчивость, клястероспориоз, метаболомный подход

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-531-534

Негативные внешние факторы подвергают садоводство дополнительному риску - уменьшается урожайность и качество продукции. Селекционная ценность исходного материала определяется характеристиками, обеспечивающими устойчивость к биотическим и абиотическим факторам среды, заключается в комплексном подходе к разработке приемов диагностики признаков адаптации плодовых растений к стрессорам внешней среды, и выявлении механизмов адаптации по морфологическим и физиолого - биохимическим показателям листа [Гудковский и др., 2005; Еремин, 2008; Жученко, 2001]. Одним из абиотических стрессов окружающей среды, которые испытывают плодовые растения род *Prunus* L. в Центральном регионе России являются вспышки клястероспориоза [Морозова, Симонов, 2017]. Выявление адаптивных к клястероспориозу сортов сливы является важной и актуальной проблемой генетико-селекционных исследований. Использование химико - аналитических подходов остается мало используемым и плохо изученным направлением селекции. Новым направлением молекулярно-генетических исследований является метаболомика, основанная на качественном и количественном анализе метаболитов для выявления изменений в разных этапах развития организма или изменений при воздействии неблагоприятных факторов окружающей среды.

Цель работы – анализ низкомолекулярных метаболитов листьев представителей рода *Prunus* L. разной степени устойчивости к клястероспориозу и выявление маркеров устойчивости к заболеванию.

Исследования проведены в 2017 году, насаждения *Prunus* L. размещены на участке сортоизучения ФГБНУ ВСТИСП. Объектами исследований были листья 12 сортообразцов сливы, различающиеся по степени устойчивости к клястероспориозу: 5 сортов сливы *Prunus domestica* L. (Яичная синяя, Опал, Память Тимирязева – балл поражения 3: Синий дар, Скоропелка красная – балл поражения 2), сорт Скороплодная (балл поражения 0) - *Prunus salicina* L., 3 сорта *Prunus rossica* Erem. (Мара, Кубанская комета – балл поражения 0,5; Шатер – балл поражения 0) и 3 сложных гибрида (6/24, ГПТ – балл поражения 0,5; Величавая – балл поражения 2). Образцы листьев в количестве 50г (не менее чем с 10 деревьев) отбирались со средней части побега в соответствии с

методикой [Ермаков, 1987]. Аналитические исследования проводили в лаборатории физиологии и биохимии Центра генофонда и биоресурсов растений ФГБНУ ВСТИСП. Листья гомогенизировали и выделяли метаболиты дистиллированной водой и метанолом. Определяли суммарную антиоксидантную активность (АА) [Brand-Williams et al., 1995], исследовали профили спектров в диапазоне длин волн 400 - 750 нм на спектрофотометре Helios Y («Thermo Electron Corporation», США). Целые листья экстрагировали хлороформом и исследовали качественный состав метаболитов в экстракте методом газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) на масс – спектрометре JEOL JMS-Q1050GC Ultra Quad GC/MS («JEOL Ltd», Япония). Использовали капиллярную колонку DB-5HT («Agilent», США; длина 30 м, внутренний диаметр 0,25 мм, толщина пленки 0,52 мкм; газ-носитель — гелий). Температурный градиент — от 40 до 300°C, температура инжектора и интерфейса 280° С, ионного источника — 200 °С. Скорость потока газа в колонке 2,0 мл/мин, время анализа 45 мин, режим ввода с делением потока, объем вводимой пробы 1 мкл. Для определения веществ проводили дериватизацию с использованием силилирующего агента N, O-бис(триметилсилил)трифторацетамида (БСТФА) [Robbins, 2003]. Идентификацию веществ осуществляли по параметрам удерживания и масс-спектрам библиотеки NIST-5 National Institute of Standards and Technology (США). Диапазон сканирования 33-900 m/z.

Наблюдения за изменением суммарной антиоксидантной активности листьев сливы в процессе вегетации позволили выявить, что антиоксидантная активность водного экстракта листьев имеет максимальные значения в июне у всех сортов и колеблется от 76 – 84% (Скороплодная, Кубанская комета, Мара) до 90 – 93% (ГПТ и сорт Яичная синяя). За период вегетации у сортов Скороплодная, Мара и Кубанская комета отмечена тенденция снижения антиоксидантной активности в среднем на 12%, у сортов Яичная синяя и ГПТ существенных изменений АА в динамике не выявлено. АА спиртового экстракта листьев имеет максимальные значения в июле (в период налива плодов) и колеблется незначительно от 92, 88% (сорт Мара) до 93,89% (сорт Кубанская комета) и в пределах 90 - 93% (ГПТ и сорт Яичная синяя). В июне и августе антиоксидантная активность спиртовых экстрактов ниже, чем в июле в среднем на 1%. Установлено, что в листьях сортов с высоким баллом поражения (2 и 3) водорастворимых веществ синтезируется на 10% больше, чем в листьях устойчивых сортов. В спиртовых экстрактах такой зависимости не выявлено (рисунок).

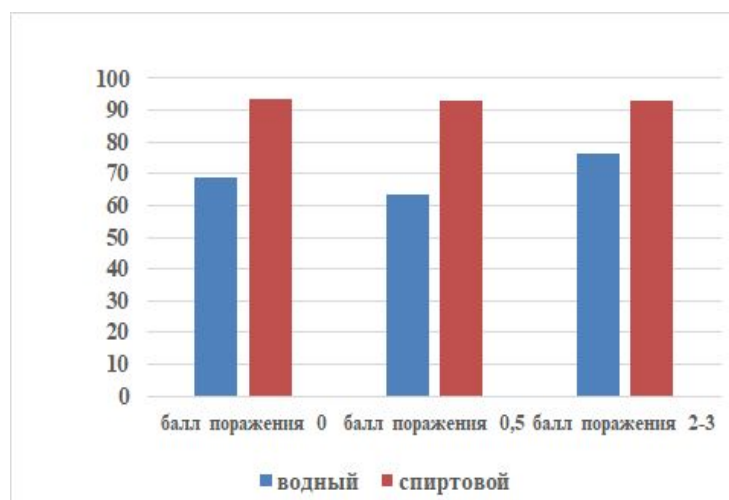


Рисунок. Антиоксидантная активность листьев сливы разной степени устойчивости к лясстероспориозу. %.

Сравнение спектральных кривых спиртовых экстрактов листьев сливы, полученных в видимой области спектра, позволило установить четко выраженные пики, характерные для хлорофиллов а (680нм) и b (656 нм). Содержание хлорофилла b у поражаемых сортов выше, чем у устойчивых. В экстрактах менее- и неустойчивых сортов отмечается наибольшее содержание фенольных соединений (в области 480нм); максимумы поглощения наблюдаются также в области 530 и 615нм.

Компонентный состав индивидуальных веществ, содержащихся в хлороформной вытяжке листьев исследован методом газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХМС). В состав эпидутикулярного воска входит 47 индивидуальных соединений, относящихся к классам: жирные кислоты, алканы, спирты, углеводороды, органические кислоты. Компонентный состав воска зависит от сорта. Общими являются 10 химических соединений: этандиовая кислота, жирные кислоты – эритропентановая, стеариновая, фталевая, пальмитиновая, миристиновая, спирты - гексаказанол, тетраказанол, кониферилловый. Наибольшее количество веществ (30 наименований), формирующих эпидутикулярный слой листьев, обнаружено у сортов Скороплодная и Кубанская комета. 10 из этих веществ обладают антимикробными свойствами (тиогликолиевая кислота, катехол, пирогалол, салициловая кислота, бензтриол, ксилоновая кислота, бутандиол, кониферилловый спирт, гидроксизокапроновая кислота).

В результате проведенных исследований обоснованы новые подходы к оценке устойчивости генотипов сливы к клястероспориозу с использованием спектрофотометрического и ГХ/МС анализа.

Литература

Гудковский В.А., Каширская Н.Я., Цуканова Е.М. Стресс плодовых растений: Монография. – Воронеж: Кварт, 2005. – 128 с.

Еремин Г.В. Физиологические особенности формирования адаптивно-сти, продуктивности и качества плодов у косточковых культур в предгорной зоне Северо-Западного Кавказа / Г.В. Еремин, Л.Г. Семенова, Т.А. Гасанова; под. общ. ред. Г.В. Еремина. – Майкоп: Адыг. респ. кн. изд-во, 2008. – 210 с., ил.

Ермаков А.И. Методы биохимического исследования растений/ А.И. Ермаков, В.В. Арасимович, Н.П. Ярош, Ю.В. Перушанский, Г.А., Луковникова, М.И. Иконникова. – Л.: Агропромиздат. Ленинг. отд-ние, 1987. – 430с., ил.

Жученко А.А. Адаптивная система селекции растений (эколого-генетические основы). – М.: Изд-во Рос. ун-та дружбы народов, ООО «Изд. Агро-рус», 2001. – Т. 1. – 780 с.

Морозова Н.Г., Симонов В.С. Новые сорта косточковых культур, выведенные в ФГБНУ ВСТИСП // Садоводство и виноградарство. – 2017. – № 2. – С. 40–46.

Brand – Williams W., Cuvelier M.E., Bersed C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity // Lebensmittel Wissenschaft und Technologic - Food and Science and Technology. – 1995. – V. 28. – P. 25–30.

Robbins R.J. Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2003. – V. 51. – P. 2866-2887 (doi: 10.1021/jf026182t).

**METABOLIC PROFILING OF LEAVES OF REPRESENTATIVES
OF THE GENUS PRUNUS L. FOR SEARCHING FOR BIOMARKERS
OF STABILITY TO CLASTEROSOROSUM**

S.M. Motyleva, V.S. Simonov, D.V. Panischeva

All-Russian Horticultural Institute for Breeding, Agrotechnology and Nursery, Moscow,
Russia, vstisp@vstisp.org

Abstract. Spectrophotometry and gas chromatography-mass spectrometry was investigated by metabolome of leaves of the genus *Prunus L.*, different degrees of resistance to clasterosporium. In the leaves of grades with a point of defeat of 2 and 3 water-soluble substances it is synthesized for 10% more, than in leaves of steady grades. Spectral curves of unstable genotypes in the visible region have characteristic maxima of 480, 530 and 615 nm. In the wax layer is resistant to clasterosporium genotypes detected in 2 times more substances with antimicrobial action, in comparison with varieties with a score of defeat "2 and 3".

Keywords: *genus Prunus L., leaf, resistance, klyasterosporiosis, metabolic genus Prunus L., leaf, resistance, klysterosporiosis, metabolic approach*

АКТИВНОСТЬ ИЗОФОРМ КАТАЛАЗЫ ПРИ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОМ ЗАКАЛИВАНИИ КОНТРОЛЬНЫХ И ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ ГЕНОМ *DES A* Δ12-АЦИЛ-ЛИПИДНОЙ ДЕСАТУРАЗЫ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ

Нарайкина Н.В., Трунова Т.И.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия, trunova@ippras.ru

Аннотация. Изучали изменения общей активности каталазы, осуществляющей энергонезависимое разложение пероксида водорода (H_2O_2) и ее изоформ при низкотемпературном закаливании картофеля, а также влияние Δ12-ацил-липидной десатуразы цианобактерий на эти процессы. В листьях трансформированных и контрольных растений выявлены две изоформы каталазы КАТ1 и КАТ2, из которых вклад КАТ1 в суммарную активность фермента был существенно выше, чем КАТ2. В процессе закаливания активность каталазы трансформантов превышала таковую у контрольных растений.

Ключевые слова: десатураза, каталаза, картофель, низкие температуры, перекись водорода, трансформированные растения, устойчивость

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-535-539

Окислительный стресс (ОС) рассматривается как один из основных факторов повреждения растений низкими температурами (особенно выраженный у чувствительных к холоду теплолюбивых растений) и приводящий к повышению уровня активных форм кислорода (АФК), в том числе и пероксида водорода (H_2O_2), что может приводить к индукции перекисного окисления липидов (ПОЛ) [Мерзляк, 1989; Лукаткин, 2002; Sharma et al., 2012 и др.]. В отличие от теплолюбивых, холодостойкие растения в условиях гипотермии более устойчивы к ОС, однако причины, препятствующие повышению у них интенсивности ОС и ПОЛ, изучены недостаточно.

Известно, что уровень ОС и ПОЛ, с одной стороны, определяется скоростью генерации АФК в электрон-транспортных цепях органелл, которая существенно зависит от текучести мембран, а, следовательно, от содержания полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) в мембранных липидах, а с другой, – емкостью антиоксидантной защитной системы, состоящей, в том числе, из ферментов, в числе которых каталаза играет важную роль в инактивации H_2O_2 . В связи с этим цель настоящей работы состояла в изучении происходящих при закаливании изменений в содержании H_2O_2 и активности нейтрализующей его каталазы и ее изоформ как у контрольных растений картофеля, так и трансформированных геном *desA* Δ12-ацил-липидной десатуразы и, следовательно, обогащенных мембранными липидами с повышенным содержанием ПНЖК [Маали и др., 2007; Демин и др., 2013]. Известно, также, что содержание ПНЖК в мембранных липидах может существенно влиять на генерацию супероксид-радикала ($O_2^{\cdot -}$) и соответственно активность субстрат-зависимого расщепляющего его фермента – супероксиддисмутазы (СОД), продуктом которого является H_2O_2 [Нарайкина и др., 2014].

Объектом исследования служили растения картофеля (*Solanum tuberosum* L., сорт Десница – контроль), трансформированные конструкцией, несущей ген *desA*, кодирующий Δ12-ацил-липидную десатуразу цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803 (*desA*-licBM3 растения). Методика конструирования экспрессионного вектора и процедура получения трансформированных растений изложены ранее [Маали и др., 2007]. Растения размножали вегетативно и выращивали 8 недель при еженедельном внесении удобрения «Кемира-Люкс» (Россия), температуре $22 \pm 0,5^\circ C$, 16-ч световом дне (освещенность 100 мкмоль квантов/($m^2 \cdot c$)). Закаливание проводили на свету при

температуре $5 \pm 0.5^\circ\text{C}$ в течение 6 суток, согласно нашим предыдущим работам [Синькевич и др., 2011].

Изменения устойчивости при закаливании растений картофеля определяли прямым методом промораживания при температурах от 0 до -3°C с разной продолжительностью действия, а также косвенным методом путем измерения выхода электролитов из клеток листьев.

Для определения общей активности каталазы, а также изоферментов каталазы с использованием нативного электрофореза выделяли белок в среде выделения, содержащей 50 мМ Трис- HCl (pH 7.6), 3 мМ ЭДТА, 250 мМ сахарозу, 3.6 мМ цистеин, 5 мМ аскорбиновую кислоту, 3 мМ MgCl_2 , 2 мМ ДТТ, 2 мМ ФМСФ. Супернатант очищали на колонках PD-10 midiTrap G-25 (“GE Healthcare”, США).

Общую активность каталазы (КФ 1.11.1.6) измеряли по скорости реакции разложения H_2O_2 , согласно методике [Kumar, Knowles, 1993]. Для определения изоферментного состава каталазы проводили электрофорез по методу [Davis, 1964] в 10% полиакриламидном геле при температуре 4°C в течение 20 ч при напряжении 80 В. Гель окрашивали по методу, основанному на восстановлении гексацианоферрата (III) калия ($\text{K}_3(\text{Fe}(\text{CN})_6)$) перекисью водорода до гексацианоферрата (II) калия ($\text{K}_4(\text{Fe}(\text{CN})_6)$) и последующей реакцией гексацианоферрата (II) калия с хлоридом железа (III) (FeCl_3) с образованием окрашенного соединения – берлинской лазури [Chandlee, Scandalios, 1983]. Поскольку каталаза разлагает H_2O_2 , в местах ее расположения окрашивания не происходит. Для визуализации изоферментов каталазы гель инкубировали в 4 мМ растворе H_2O_2 в Трис- HCl буфере (50 мМ, pH 7.6) в течение 5 мин, промывали в буферном растворе и проводили специфическое окрашивание на активность каталазы в растворе, содержащем 1% гексацианоферрата (III) калия и 1% хлорид железа (III). Гели инкубировали в растворе до появления светлых полос на зеленом фоне (примерное время реакции 5 мин). Гели сканировали, инвертировали и анализировали с помощью программы One-DScan V. 1.3 (Scanalytics, CSP Inc.). Об активности каталазы судили по степени обесцвечивания фона.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы “SigmaPlot 11” со встроенным анализом (применяли критерий Стьюдента для непарных выборок, $P = 0.05$). На графиках представлены средние значения опыта, состоящего из трех-пяти биологических повторностей и их стандартные ошибки. Аналитическая ошибка, согласно техническим паспортам приборов, не превышала 0.001.

Полученные данные показали, что холодостойкие растения картофеля в результате длительного низкотемпературного закаливания повышают устойчивость к отрицательным температурам с -2 до -3°C и обладают способностью выдерживать эту температуру более длительное время, чем незакаленные растения, по-видимому, за счет переохлаждения клеток.

Как показано в нашей работе [Нарайкина и др., 2014], до и в начале закаливания скорость генерации супероксида была почти на 40%, выше у *desA-licBM3* растений, по сравнению с контролем. Характер изменений скорости генерации в течение времени закаливания был сходным у обоих генотипов: подъем показателя к первым суткам закаливания и его снижение до уровня неохлажденных растений к третьим суткам. К шестым суткам закаливания контрольные растения превышали *desA-licBM3* растения по показателю скорости генерации почти в два раза, что свидетельствует о меньшей устойчивости их мембран к низкой температуре. Кроме того, нами было показано, что у трансформантов более эффективная антиоксидантная защита клетки, чем у контрольных растений, за счет более высокой активности СОД [Нарайкина и др., 2014].

Известно, что в результате утилизации O_2^- СОД образуется H_2O_2 . Нами было показано, что содержание H_2O_2 у обеих линий растений в незакаленном состоянии

почти не различалось (1.2 и 1.5 мкМ/г сырой массы у контрольных и *desA-licBM3* растений, соответственно). В первые сутки низкотемпературного закаливания содержание H_2O_2 в листьях контрольных растений возрастало примерно на 50%, затем к третьим суткам оно заметно снижалось, а к шестым суткам снова увеличивалось. В отличие от контроля, у *desA-licBM3* растений в начале закаливания наблюдалось существенное снижение содержания H_2O_2 , а к шестому дню оно несколько увеличилось. Таким образом, у холодостойких растений в целом к концу закаливания не наблюдалось существенного повышения содержания H_2O_2 .

Следует также учесть, что содержание H_2O_2 в клетке существенно зависит также и от активности расщепляющих его ферментов, в том числе каталазы, обладающей уникальным среди H_2O_2 -нейтрализующих ферментов свойством утилизировать H_2O_2 без участия восстановленных клеточных эквивалентов, т.е. энергоэффективным механизмом удаления H_2O_2 . В случае, когда при действии стрессорного фактора, например, низкой температуры, создается дефицит энергии, а при этом происходит быстрая генерация H_2O_2 , то его разложение каталазой может идти по энергосберегающему пути, что обеспечивает сохранение восстановленных эквивалентов и энергии, столь необходимых для синтеза протекторных белков и липидов [Scandalios et al., 1997]. Поэтому в процессе закаливания была изучена общая активность каталазы, а также оценен вклад активностей ее изоформ.

Как видно из рисунка, у контрольных и трансформированных растений в начальный период закаливания происходит повышение общей активности каталазы в 2 и 4 раза, соответственно, с последующим снижением, что соответствует изменениям содержания H_2O_2 . Согласно литературным данным, в листьях растений выявлено несколько изоформ каталазы [Anjum et al., 2016]. Для понимания их роли в утилизации H_2O_2 в период низкотемпературного закаливания растений картофеля мы попытались определить активности каждой изоформы с помощью электрофореза в неденатурирующих условиях с последующим специфическим окрашиванием для их идентификации.

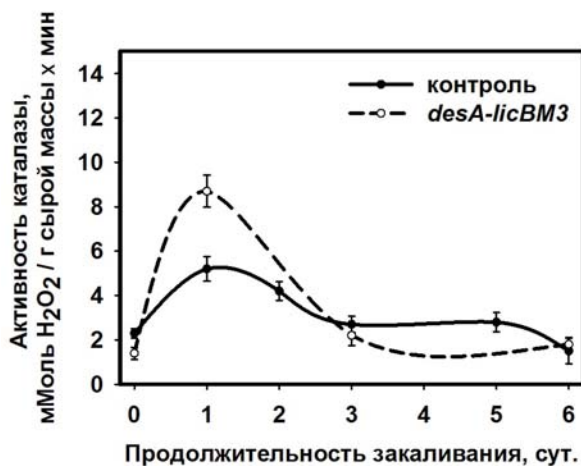


Рисунок. Изменение общей активности каталазы у контрольных и *desA-licBM3* растений картофеля в динамике закаливания при $5\pm 0,5^\circ\text{C}$ в течение 6 сут.

В листьях картофеля нами было выявлено две изоформы каталазы. Согласно данным литературы, у растений табака и арабидопсиса активность каталазы класса 1 составляет большую долю общей активности фермента [Anjum et al., 2016], поэтому полосу с большей активностью мы отнесли к каталазам класса 1 и обозначили ее как KAT1, а полосу с меньшей активностью – KAT2. Оцифровка изображения в программе One-DScan (таблица) подтвердила визуальную оценку данных о том, что в первые двое

суток низкотемпературного закаливания как контрольных, так и *desA-licBM3* растений картофеля активность изоформы каталазы КАТ1 возрастала и поддерживалась на более высоком уровне, по сравнению с активностью КАТ2, на протяжении всего периода закаливания. Полосы КАТ2 были менее интенсивно окрашены и краткосрочное усиление интенсивности окрашивания КАТ2 не приводило к существенным колебаниям общей активности каталазы, тогда как динамика изменений интенсивности окрашивания КАТ1 в целом совпадала с общей активностью. Таким образом, показано, что при закаливании обеих линий картофеля изоформа каталазы КАТ1 вносила определяющий вклад в общую активность фермента.

Таблица.

Анализ программой One-DScan активности изоформ каталазы (КАТ1 и КАТ2) в динамике низкотемпературного закаливания картофеля при 5°C, отн. ед. (данные типичного опыта)

Изоформа каталазы	Объект	Продолжительность закаливания, сутки					
		0	1	2	3	5	6
КАТ1	контроль	3.4	40.6	45.3	32.3	32.2	23.1
	<i>desA-licBM3</i>	8.1	35.0	34.4	27.9	17.9	12.1
КАТ2	контроль	14.2	13.2	17.2	8.4	5.0	15.5
	<i>desA-licBM3</i>	11.8	13.5	9.1	18.3	12.9	27.3

На основании полученных данных можно сделать заключение, что в период длительного низкотемпературного закаливания растений картофеля содержание H_2O_2 регулируется, главным образом, изоформой каталазы КАТ1. Более высокая, по сравнению с контрольными растениями, активность каталазы при закаливании *desA-licBM3* растений не только стабилизировала содержание H_2O_2 в оптимальных пределах, но даже снижала ее количество. По-видимому, вследствие модифицированного липидного состава функциональных мембран [13], *desA-licBM3* растения имели значительно большую преадаптацию к действию низкой температуры, что позволило им повысить активность антиоксидантных ферментов, в том числе и каталаз.

Авторы благодарны сотрудникам отдела биологии клетки и биотехнологии ИФР РАН за любезно предоставленные для исследований растения-регенеранты картофеля.

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (молодежный грант №18-34-00604 мол_а).

Литература

Лукаткин А.С. Холодовое повреждение теплолюбивых растений и окислительный стресс. – Саранск: изд-во Мордовск. ун-та, 2002. – 208 с.

Маали Амири Р., Голденкова-Павлова И.В., Юрьева Н.А., Пчёлкин В.П., Цыдендамбаев В.Д., Верещагин А.Г., Дерябин А.Н., Трунова Т.И., Лось Д.А., Носов А.М. Жирнокислотный состав липидов растений картофеля, трансформированных геном $\Delta 12$ -десатуразы цианобактерии // Физиология растений. – 2007. – Т. 54. – С. 678–685.

Мерзляк М.Н. Активированный кислород и окислительные процессы в мембранах растительной клетки // Итоги науки и техники. Сер. Физиология растений. – 1989. – Т. 6. – С. 1–168.

Нарайкина Н.В., Синькевич М.С., Демин И.Н., Селиванов А.А., Мошков И.Е., Трунова Т.И. Изменения активности изоформ СОД при низкотемпературной адаптации у растений картофеля (*Solanum tuberosum* L.) дикого типа и трансформированных геном $\Delta 12$ -ацил-липидной десатуразы // Физиология растений. – 2014. – Т. 61. – С. 359–366.

Синькевич М.С., Нарайкина Н.В., Трунова Т.И. Процессы, препятствующие повышению перекисного окисления липидов у холодостойких растений при гипотермии // Физиология растений. – 2011. – Т. 58. – С. 875–882.

Anium N.A., Sharma P., Gill S.S., Hasanuzzaman M., Khan E.A., Kachhar K., Mohamed A.A., Thangavel P., Devi G.D., Vasudhevan P., Sofu A., Khan N.A., Misra A.N., Lukatkin A.S., Singh H.P., Pereira E., Tuteja N. Catalase and ascorbate peroxidase – representative H₂O₂-detoxifying heme enzymes in plants // Environ. Pollut Res. – 2016. – P. 19002–19029.

Chandlee J.M., Scandalios J.G. Regulation of Cat1 gene expression in the scutellum of maize during early sporophytic development // Proc. Natl. Acad. Sci. – 1983. – V. 81. – P. 4903–4907.

Davis B.J. Disc Electrophoresis. 2, Method and application to human serum proteins // Ann. New York Acad. Sci. – 1964. – V.121. – P. 404–427.

Kumar G.N., Knowles N.R. Changes in lipid peroxidation and lipolytic and free-radical scavenging enzyme during aging and sprouting of potato (*Solanum tuberosum* L.) seed-tubers // Plant Physiol. – 1993. – V. 102. – P. 115–124.

Scandalios J.G., Guan L., Polidoros A.N. Catalases in plant: gene structure, properties, regulation and expression // Oxidative Stress and the Molecular Biology of Antioxidant Defenses. – 1997. – P. 343–406.

Sharma P., Jha A.B., Dubey R.S., Pessarakli M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions // Journal of Botany. – 2012. – 26 p.

THE ACTIVITY OF ISOFORMS OF CATALASE AT LOW TEMPERATURE HARDENING OF THE CONTROL AND TRANSFORMED GENE *DESA* Δ12-ACYL-LIPID DESATURASE POTATO PLANTS

Naraikina N.V., Trunova T.I.

Laboratory of Cold Resistance, K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, trunova@ippras.ru

Abstract. The changes in the total activity of catalase and its isoforms during potato adaptation (5°C, six days), as well as the effect of desaturase introduced into plants on these processes were studied. Two isoforms of catalase CAT1 and CAT2 were revealed in the leaves of transformed and control plants. In the process of hardening contribution CAT1 in total enzyme activity was significantly higher than that of CAT2. In the process of hardening the total activity of catalase transformers exceeded that of control plants.

Keywords: *desaturase, catalase, potatoes, low temperatures, hydrogen peroxide, transformed plants, resistance*

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ СОРТОВ ВИНОГРАДА НА ВОЗДЕЙСТВИЕ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ ЛЕТНЕГО ПЕРИОДА

Н.И. Ненько, Г.К. Киселева, Е.В. Ульяновская, А.Е. Мишко, А.В. Караваева

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Северо-Кавказский Федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия, Краснодар, Россия, *nenko.nataliya@yandex.ru*

Аннотация Изучена устойчивость сортов винограда Кристалл, Достойный и Красностоп АЗОС к засухе. На основании показателей водного режима, содержания хлорофилла (а+б), АБК, пролина, МДА, жаростойкости листьев установлено, что сорт Кристалл более устойчив к комплексу стрессоров – низкой влагообеспеченности и высокой температуре воздуха, Красностоп АЗОС – к низкой влагообеспеченности, а Достойный – к высокой температуре, что позволяет рекомендовать их для селекционного процесса на устойчивость к засухе.

Ключевые слова: виноград, сорта, устойчивость к засухе, параметры

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-540-543

Для более полной реализации биологического потенциала растений винограда в условиях аномального проявления абиотических стрессоров актуальным является изучение биологии и вовлечение в селекционный процесс сортов винограда адаптивных к нестабильным погодным условиям умеренно континентального климата юга России. При гармоничном сочетании биологических свойств и условий среды произрастания растения винограда в наибольшей степени реализуют свой агробиологический и физиолого-биохимический потенциал [Петров, 2014].

Цель работы – изучить устойчивость сортов винограда различного эколого-географического происхождения к низкой влагообеспеченности и высокой температуре воздуха в условиях летнего периода анапо-таманской зоны

Исследования проводились на базе: ампелографической коллекции ФГБНУ АЗОСВиВ, расположенной в г.-к. Анапа, квартал технических сортов винограда на черноземе южном карбонатном, центра коллективного пользования, лаборатории физиологии и биохимии ФГБНУ СКФНЦСВВ. Растения одного 1995 года посадки, подвой Кобер 5ББ. Формировка – двусторонний высокоштамбовый спиральный кордон АЗОС. Схема посадки 3 x 2,5 м. Объекты исследований – сорта винограда технического назначения: раннего срока созревания межвидовой гибрид европейско-американский – *Кристалл*, среднего срока созревания – межвидовые гибриды европейско-американской группы *Достойный* и *Красностоп АЗОС*.

Для характеристики устойчивости винограда к окислительному стрессу в условиях летнего периода определяли содержание общей, свободной и связанной воды весовым методом, хлорофилла (а+б), спектральным методом, абсцизовой (АБК) кислоты, малонового диальдегида (МДА), пролина – методом капиллярного электрофореза, жаростойкость – кондуктометрическим методом], размер замыкающих клеток устьиц по методике [Ненько, 2015]. Экспериментальные данные обрабатывали с помощью общепринятых методов вариационной статистики [Доспехов, 1979].

За летний период 2014-2016 гг. отмечалось постепенное снижение количества выпавших осадков в июне на 72,3 %, в июле – на 83,3 %, а в августе 2014 – 2015 гг. отмечалась засуха. При этом максимальная температура воздуха в июне повысилась на 7°C, в июле – на 7°C и в августе – на 4°C, соответственно.

В 2016 г. в сравнении с 2014 г. содержание воды в листьях изучаемых сортов снизилось в июне на 0,6 – 2 %, в июле - на 0,7 – 1,9 % и в августе - на 4,4 – 11,4 % (рис. 1). При этом у сорта Кристалл в июне содержание свободной воды в листьях снизилось

на 59,9 % и у сортов Достойный и Красностоп АЗОС – на 122,4 и 106,4 %, соответственно.

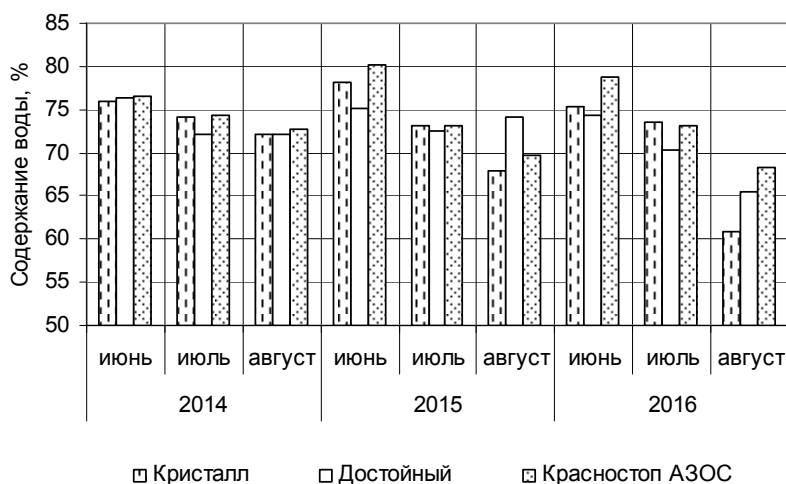


Рис. 1. Оводненность листьев сортов винограда в условиях летнего периода 2014-2016 гг. анапо-таманской зоны.

Устойчивость листьев к обезвоживанию регулируется комплексом физиологических и биохимических процессов, при этом устойчивость цитоплазмы к обезвоживанию связана с наличием в ней таких осмопротекторов, как пролин. Уменьшение содержания свободной формы воды у изучаемых сортов связано с увеличением содержания пролина в 3,7 -5,7 раза (рис. 2).



Рис. 2. Содержание пролина в листьях винограда в условиях летнего периода 2014-2016 гг. анапо-таманской зоны.

Меньшее содержание АБК в листьях сортов Кристалл и Красностоп АЗОС (2,5 и 1,3 мкг/г) и большее - у сорта Достойный (4,3 мкг/г) согласуется с большим размером замыкающих клеток устьиц у первых двух сортов (26,4 и 30,3 мкм) и меньшим – у сорта Достойный (22,1 мкм) при большем содержании свободной формы воды у последнего. Следовательно, большее содержание АБК в листьях сорта Достойный обуславливает меньший размер замыкающих клеток устьиц, что позволяет снизить потери воды в условиях засухи. Однако, при уменьшении размеров устьиц в клетках может образовываться перекись водорода, участвующая в образовании гидроксильного радикала, который, внедряясь в липидный слой клеточных мембран, запускает реакции

перекисного окисления липидов, что приводит к повреждению мембран с образованием МДА [Кошкин, 2010].

Так у сорта Кристалл содержание МДА в листьях составляет 185 мкг/г, у сорта Красностоп АЗОС –244 мкг/г и у сорта Достойный - 160 мкг/г, что согласуется с содержанием АБК и размером замыкающих клеток устьиц.

Перекисное окисление липидов нарушает процессы фотосинтеза, что согласуется с меньшим содержанием суммы хлорофиллов (а+б) и у сортов Достойный и Кристалл, чем у сорта Красностоп АЗОС в июле 2016 г. (рис. 3).

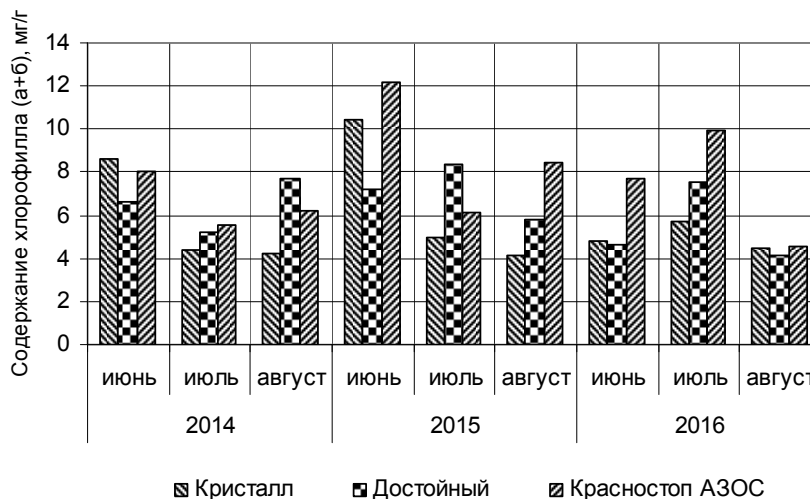


Рис. 3. Динамика содержания хлорофилла (а+б) в листьях винограда в летний период 2014 - 2016 гг.

Изменение содержания суммы хлорофиллов (а+б) в июне 2014 - 2016 гг. имеет одинаковую тенденцию, в июле 2014 г. - согласуется с августом 2015 г. и июлем 2016 г. и в августе 2014 г. - с июлем 2015 г., что согласуется с максимальной температурой в эти периоды.

Один из показателей жаростойкости растений - устойчивость клеточных мембран к разрушению (КП). Для оценки жаростойкости сортов винограда использовали метод выхода электролитов из клеток, определяющий степень повреждения клеточных мембран в условиях экстремально высоких температур (рис. 4).



Рис. 4. Коэффициент повреждения мембран листьев сортов винограда в летний период 2014-2016 гг.

В условиях засухи августа 2014 – 2016 гг. наиболее низкий коэффициент повреждения мембран отмечен у сортов Кристалл и Достойный и больший – у сорта Красностоп АЗОС.

Таким образом, по целому ряду показателей сорт Кристалл более устойчив к комплексу стрессоров летнего периода (низкой влагообеспеченности и высокой температуре воздуха), сорт Красностоп АЗОС – к низкой влагообеспеченности а сорт Достойный к высокой температуре, что позволяет рекомендовать их для селекционного процесса на устойчивость растений винограда к низкой влагообеспеченности и высокой температуре воздуха в летний период.

Литература

- Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. – М.: Колос, 1979. – 415 с.
Кошкин, Е.И. Физиология устойчивости сельскохозяйственных культур. – М.: Дрофа, 2010. – 638 с.
Петров, В.С. Научные основы устойчивого выращивания винограда в аномальных погодных условиях. Монография / В.С. Петров, Т.П. Павлюкова, А.И. Талаш // Краснодар: ГНУ СКЗНИИСиВ, 2014. – 157 с.
Ненько Н.И. Современные инструментально-аналитические методы исследования плодовых культур и винограда / под общей редакцией Н.И. Ненько.- Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2015. – 115 с.

HYSIOLOGICAL BIOCHEMICAL REACTIONS OF THE TYPES OF GRAPES TO THE ACTION OF THE ABIOTIC FACTORS OF THE SUMMER PERIOD

N.I. Nenko, G.K. Kiseleva, E.V. Ulyanovskaya, AU. Mishko, A.V. Karavaeva

North-Caucasian federal scientific centre of horticulture, viniculture and winemaking, Krasnodar, Russia, *nenko.nataliya@yandex.ru*

Abstract . The stability of the types of grapes the Krystall, Dostoiniy and Krasnostop AZOS to the drought is studied. On the basis of indicators of water regime, content of chlorophyll (a+b), ABA, Proline, MDA, heat resistance of leaves it was found that the type Krystall is more resistant to the complex of the stress factors - of low moisture receipt and the high temperature of air, Krasnostop AZOS – to the low moisture receipt, and Dostoiniy - to the high temperature, which allows to recommend them for the breeding process for drought resistance.

Keywords: *grapes, type, stability to the drought, the parameters*

РОЛЬ ЛИПИДНЫХ РАФТОВ В ЗАЩИТНЫХ МЕХАНИЗМАХ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ

И.С. Нестеркина¹, Н.В. Озолина¹, Е.В. Спиридонова¹, В.В. Гурина¹,
В.Н. Нурминский¹, А.В. Третьякова², В.Н. Нестеров³

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, *nirinka24@mail.ru*

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия

³Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт экологии Волжского бассейна РАН, Тольятти, Россия

Аннотация. В последнее время исследователями доказано участие липидных рафтов в ответе растительной клетки на биотическое и абиотическое стрессовое воздействие. Участие рафтов в защитных механизмах клетки обеспечивается как белковой, так и липидной составляющей. Доказано, что в рафтах обнаружены белки, которые задействованы в процессах: микробно-растительного взаимодействия, эндоцитоза, апоптоза и транспорта. Показано, что рафтообразующие липиды влияют на устойчивость растений к низким температурам и к засолению. В связи с чем можно сделать вывод, что липидные рафты участвуют в различных защитных механизмах растительной клетки.

Ключевые слова: *липидные рафты, защитные механизмы, растительная клетка*

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-544-548

Известно, что неблагоприятные условия среды (экстремально низкие и высокие температуры, засоление почвы и пр.) вызывают изменения в растительном организме и затрагивают клеточные мембраны, нарушая их молекулярную организацию и функциональную деятельность, что может играть ключевую роль в устойчивости растений к воздействию стрессовых факторов.

В настоящее время достигнуто понимание того, что различные мембраны клетки имеют сходство в структурной организации и химическом составе. Понимание этого позволяет рассматривать растительный организм как систему единообразных структурных элементов. Нарушение любого из факторов молекулярной организации этой хрупкой системы мембран может оказаться неблагоприятным для организма [Болдырев, 2006]. Однако, что бы этого не произошло, мембраны способны задействовать защитные механизмы, к которым кроме прочих относится изменение структурной организации липидного бислоя мембраны.

Согласно современному представлению концепция строения клеточной мембраны отражает динамическую реструктуризацию с формированием молекулярных высокоуровневых кластеров, необходимых клетке для выживания.

Важной особенностью мембраны так же является возможность образования вокруг определённых белков специфических областей, обогащенных гликофинголипидами, стеринами и липидами с насыщенными жирными кислотами. Эти области липидного бислоя клеточной мембраны, участки плотноупакованных липидов, плавающих на поверхности жидких фосфолипидов, получили название липидный рафт (от англ. lipid raft - липидный плот) [Плескова и др., 2015]. Липидные рафты можно найти во всех типах клеток, что объясняет повышенный интерес к их исследованию. В последнее время исследователями доказано участие мембранных рафтов в ответе растительной клетки на биотическое и абиотическое стрессовое

воздействие [Валитова, 2010]. Одним из доказательств участия рафтов в этих процессах является выяснение их роли в механизмах микробно-растительного взаимодействия. Особое внимание в этих исследованиях уделяется взаимодействию растение-патоген, в котором основным звеном взаимодействия являются липидные рафты [Ott, 2017]. Ранее было показано, что липидные рафты участвуют во взаимодействии микробов и вирусов с клетками живых организмов, через рафт-ассоциированные белки. Установлено, что реморин – это специфичный рафт-ассоциированный белок, который локализован в мембране растений [Raffaele et al., 2009]. Ранее функции этого белка были неизвестны, однако сейчас доказана их роль во взаимодействии растений и микроорганизмов. Показано, что реморины, ингибируют движение вируса в листьях картофеля за счет взаимодействия с белком этого вируса TGBp1 [Perraki et al., 2014]. Так же было показано, что при заражении растений бактерией семейства Rhizobiaceae наблюдается накопление рафт-ассоциированного белка реморина (MtSYMREM1) [Lefebvre et al., 2010]. Возможно, это объясняется тем, что некоторые реморины, локализуясь в липидных рафтах, способны собирать сигнальные комплексы из цитоплазматических белков и белков плазмалеммы [Jarsch and Ott, 2011].

Так же было доказано, что через рафты в клетки-хозяева вторгается широкий спектр патогенов, включая вирусы, бактерии и прионы [Bagam et al., 2017]. Процесс вторжения происходит за счет «входных» рецепторов, через которые идет процесс заражения. Доказано, что большая часть таких рецепторов локализована в липидных рафтах [Ott, 2017].

Интересен тот факт, что иммобилизации патогенов предшествуют появление подвижных цитозольных везикул - эндосом, через 6-24 часа после инокуляции [Haney et al., 2011]. Сайты взаимодействия патогена с клеткой хозяина обрастают пузырьками, которые образуются при помощи рецепторно-опосредованного эндоцитоза. Затем эндосомы с патогеном доставляются к лизосомам где и происходит их деградация [Parton, Richards, 2003]. Кроме этого известно, что эндоцитоз имеет большое значение как в нормальных условиях жизнедеятельности растения так и при стрессовом воздействии. Это объясняется тем, что кроме растительно-микробного взаимодействия эндоцитоз принимает участие в таких важных клеточных процессах как передача сигнала и поглощение питательных веществ. Недавние свидетельства доказывают, что липидные рафты задействованы в процессах эндоцитоза [Fan et al., 2015]. Например, показано участие рафт-ассоциированного белка флотиллин 1 (Flot1) в клатрин-независимом эндоцитозе в растениях *Arabidopsis thaliana* [Li, et al. 2012]. Так же на растениях было показано, что транспортные белки плазмалеммы, такие как KAT1 (K⁺) и SUT1 (сахароза) могут образовывать кластеры мембранных микродоменов. Кластеризация липидных рафтов, необходима для образования активных олигомеров, которые инициируют клеточные ответы на внеклеточные стимулы. Кроме этого, кластеризация мембранных микродоменов регулирует активность белков. Эти данные показывают, что механизм кластеризации может быть задействован в регуляции процессов эндоцитоза [Fan et al., 2015].

В настоящее время показано участие липидных рафтов и в программируемой клеточной смерти (ПКС). Большое внимание ученых к ПКС объясняется тем, что она, происходит в растениях во время таких процессов как гаметогенез, развитие эндосперма, старение. Более того, ПКС может быть индуцирована, в ответ на абиотические стрессы и патогенную атаку [Потапнев, 2014]. Участие липидных рафтов в апоптозе объясняется тем, что они включают в себя белки, которые задействованы в сигнальной (Fas/CD95 рецепторы) и деградационной (RING1 E3 убиквитинлигаза) фазе апоптоза [Lin et al., 2008].

Современные исследования показывают, что функциональные белки невозможно рассматривать в изоляции, без учета их локализации в клетке и особенностей молекулярного окружения. Так например, исследователями отмечалось, что при низкотемпературном закаливании растений арабидопсиса наблюдается увеличение доли РІР аквапоринов и АТРаз Р типа, которые были обнаружены в составе липидных рафтов [Белугин и др., 2010]. Наличие аквапоринов в липидных рафтах свидетельствует о том, что они участвуют в прохождении воды через мембрану. Водная проницаемость мембран, как известно, важна для роста и развития растения в нормальных и в стрессовых условиях.

В последние годы появляется все больше доказательств локализации определенного пула Na,K-АТФазы и Н-АТФазы в рафтах [Нестеркина и др., 2016]. В этих специализированных липидных микродоменах мембраны, Na,K-АТФаза и Н-АТФаза за счет взаимодействия с молекулярным окружением образует регуляторные мультимолекулярные комплексы и реализует, кроме основных-транспортных, новые функции, в частности сигнальную. Доказано, что липидные рафты регулируют функции белков при помощи своего липидного состава. Было установлено, что снижение уровня холестерина в плазматической мембране стимулирует эндоцитоз и деградацию $\alpha 1$ -изоформы Na,K-АТФазы через Src- и убиквитин-зависимые пути регуляции. Однако, нарушение экспрессии $\alpha 1$ -изоформы Na,K-АТФазы влияет на формирование кавеол (вид рафтов), синтез холестерина и его транспорт. Приведенные выше данные позволяют говорить о системе взаимной реципрокной регуляции между $\alpha 1$ -изоформой Na,K-АТФазы и холестерином, осуществляемой при участии кавеолина-1 [Кривой, 2014].

В ответных механизмах клетки на стресс участвует не только белки входящие в состав рафтов, но и липиды, являющиеся его основой. Последние исследования показали, что холодовая акклиматизация ведет к изменению липидного профиля рафтовых структур. В основном уменьшается доля фосфолипидов и увеличивается доля содержания сфинголипидов и стеринов. В совокупности эти результаты показывают, что холодовая акклиматизация индуцирует изменения состава липидов в рафтах, что приводит к изменениям термодинамических свойств и физиологических функций микродоменов, что, следовательно, влияет на устойчивость растений к низким температурам [Takahashi et al., 2016].

Выявлено также различие в составе рафтоспецифичных липидов у галофитов, различающихся по стратегии соленакопления, что дает основание предполагать, что функциональная роль данных структур связана с характером солеустойчивости и подтверждает участие рафтов в адаптации растений к абиотическим факторам окружающей среды [Нестеров и др., 2017].

Таким образом, показана важная роль липидных рафтов в защитных механизмах клетки при разных видах стрессового воздействия.

Литература

Болдырев А.А., Кяйвяряйнен Е.И., Илюха В.А. Биомембранология: Учебное пособие. – Петрозаводск: Изд-во Кар НЦ РАН, 2006. – 226 с.

Белугин Б. В., Жесткова И. М., Трофимова М. С. Сродство РІРаквапоринов к стерин обогащенным доменам плазмалеммы клеток этиолированных проростков гороха // Биологические мембраны. – 2010. – Т. 27, № 5. – С. 394–403.

Валитова Ю.Н., Котлова Е.Р., Новиков А.В., Шаварда А.Л., Артеменко К.А., Зубарев Р.А., Минибаева Ф.В. Связывание стеринов влияет на функционирование мембран и состав сфинголипидов в корнях пшеницы // Биохимия. – 2010. – Т. 75, № 5. – С. 644 – 653.

Кривой И.И. Функциональные взаимодействия Na,K-АТФазы с молекулярным окружением // *Биофизика*. – 2014. – Т. 59, № 5. – С. 871–882.

Нестёркина И.С., Озолина Н.В., Бадурев Б.К., Фёдорова Г.А., Нурминский В.Н., Спиридонова Е.В., Салаяев Р.К. Рафты вакуолярной мембраны столовой свёклы содержат V-H⁺-АТФазу // *Биологические мембраны*. – 2016. – Т. 33, № 6. – С. 450–453.

Нестеров В.Н., Нестёркина И.С., Розенцвет О.А., Озолина Н.В., Салаяев Р.К. Обнаружения липид-белковых микродоменов (рафтов) и изучение их функциональной роли в хлоропластных мембранах галофитов // *Доклады академии наук*. – 2017. – Т. 476, № 3. – С. 350–352.

Плескова С.Н., Крылов В.Н., Дерюгина А.В. Функциональные особенности планарных рафтов и кавеол в клеточной физиологии // *Успехи современной биологии*. – 2015. – Т. 135, № 6. – С. 590–598.

Потапнев М.П. Аутофагия, апоптоз, некроз клеток и иммунное распознавание своего и чужого // *Иммунология*. – 2014. – Т. 35, № 2. – С. 95–102.

Bagam P., Singh D.P., Inda M.E., Batra S. Unraveling the role of membrane microdomains during microbial infection // *Cell Biol Toxicol*. – 2017 – V. 33. – P. 429–455.

Fan L., Li R., Pan J., Ding Z., Lin J. Endocytosis and its regulation in plants // *Trends in Plant Science*. – 2015. – V. 20, № 6. – P. 388–397.

Haney C.H., Riely B.K., Tricoli D.M., Cook D.R., Ehrhardt D.W., Long S.R. Symbiotic rhizobia bacteria trigger a change in localization and dynamics of the *Medicago truncatula* receptor kinase LYK3 // *Plant Cell*. – 2011. – V. 23. – P. 2774–2787.

Jarsch I.K., Ott T. Perspectives on remorin proteins, membrane rafts, and their role during plant–microbe interactions // *Molecular Plant-Microbe Interactions*. – 2011. – V. 24, № 1. – P. 7–12.

Lefebvre B., Timmersa T., Mbenguea M., Moreaua S., Hervéa C., Tóthb K., Silvestreb J.B., Klausa D., Deslandesa L., Godiarda L., Murrayc J.D., Udvardic M.K., Raffaeled S., Mongrand S., Cullimorea J., Gamasa P., Niebela A., Ott T. A remorin protein interacts with symbiotic receptors and regulates bacterial infection // *PNAS*. – 2010. – V. 107, № 5. – P. 2343–2348.

Li R., Liu P., Wan Y., Chen T., Wang Q., Mettbaach U., Baluska F., Samaj J., Fang X., Lucas W.J., Lin J. A membrane microdomain-associated protein, *Arabidopsis* Flot1, is involved in a clathrin-independent endocytic pathway and is required for seedling development // *Plant Cell*. – 2012. – V. 24. – P. 2105–2122.

Lin S.S., Martin R., Mongrand S., Vandenabeele S., Chen K.C., Jang I.C., Chua N.H. RING1 E3 ligase localizes to plasma membrane lipid rafts to trigger FB1-induced programmed cell death in *Arabidopsis* // *The Plant Journal*. – 2008. – V. 56. – P. 550–561.

Ott T. Membrane nanodomains and microdomains in plant–microbe interactions // *Current Opinion in Plant Biology*. – 2017. – V. 40. – P. 82–88.

Perraki A., Binaghi M., Mecchia M.A., Gronnier J., German-Retana S., Mongrand S., Bayer E., Zelada A.M., Germain V. StRemorin1.3 hampers Potato virus X TGBp1 ability to increase plasmodesmata permeability, but does not interfere with its silencing suppressor activity // *FEBS Letters*. – 2014. – V. 588. – P. 1699–1705.

Parton R.G., Richards A.A. Lipid rafts and caveolae as portals for endocytosis: new insights and common mechanisms // *Traffic*. – 2003. – V. 4. – P. 724–738

Raffaele W.S., Bayer E., Lafarge D., Cluzet S., Retana S.G., Boubekour T., Leborgne-Castel N., Carde J., Lherminier J., Noirot E., Satiat-Jeunemaître B., Laroche-Traineau J., Moreau P., Ott T., Maule A.J., Reymond P., Simon-Plas F., Farmer E.E., Bessoule J., Mongrand S. Remorin, a Solanaceae protein resident in membrane rafts and plasmodesmata, impairs potato virus x movement // *The Plant Cell*. – 2009. – V. 21. – P. 1541–1555.

Takahashi D., Imai H., Kawamura Y., Uemura M. Lipid profiles of detergent resistant fractions of the plasma membrane in oat and rye in association with cold acclimation and freezing tolerance // *Cryobiology*. – 2016. – V.72. – P. 123 – 134.

ROLE OF LIPID RAFTS IN THE PROTECTIVE MECHANISMS OF THE PLANT CELL

I.S. Nesterkina¹, N.V. Ozolina¹, E.V. Spiridonova¹, V.V. Gurina¹, V.N. Nurminsky¹,
A.V. Tretiyakova², V.N. Nesterov³

¹Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, Irkutsk, Russia,
nirinka24@mail.ru

²Irkutsk State University, Irkutsk, Russia

³Institute of Ecology of the Volga Basin RAS, Togliatti, Russia

Abstract. Recently, researchers have demonstrated the involvement of lipid rafts in the response of a plant cell to the influence of biotic and abiotic environmental factors. The participation of rafts in the protective mechanisms of the cell is provided both by the protein and lipid components. Proved that in the rafts found proteins that are involved in the processes: microbial-plant interaction, endocytosis, apoptosis and transport. It is shown that the raft-forming lipids affect the resistance of plants to low temperatures and to salinity. It can be concluded that the lipid rafts participate in various defense mechanisms of the plant cell.

Keywords: *lipid rafts, protective mechanisms, plant cell*

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ АОС – БИОХИМИЧЕСКИЙ ИНДИКАТОР СЦЕНАРИЯ КСИЛОГЕНЕЗА ПРИ РАЗНОМ СООТНОШЕНИИ ПОДВИЖНЫХ ФОРМ АЗОТА И ФОСФОРА В ПОЧВЕ

К.М. Никерова, Н.А. Галибина, Ю.Л. Мощенская, Л.Л. Новицкая, М.Н. Подгорная, И.Н. Софронова

Институт леса – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук», Петрозаводск, Россия, knikerova@yandex.ru

Аннотация. Исследована активность ферментов АОС в разных по запасам азота и фосфора почвах у растений карельской березы. Показано, что почвенные условия оказывают воздействие на процессы ксилогенеза, способствуя образованию нормальной древесины у безузорчатых растений или усугублению процессов паренхиматизации у узорчатых растений. С увеличением запасов азота активность АОС у узорчатых растений снижается. Высокоузорчатые растения редко встречаются на почвах с высоким содержанием азота.

Ключевые слова: запасы азота и фосфора, ксилогенез, карельская береза, узорчатость, активность антиоксидантных ферментов

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-549-553

Существование древесных объектов, которые позволяют исследователям изучать формирование разных типов древесины – уникальное явление. Одним из таких объектов является береза повислая (*Betula pendula* Roth var. *pendula*), у которой формируется нормальная прямослойная древесина, и ее особая форма – карельская береза (*B. pendula* Roth var. *carelica* (Mercl.) Hämet-Ahti), древесина которой носит свилеватый характер и визуально характеризуется наличием узора в местах крупных скоплений паренхимных клеток [Коровин и др., 2003; Novitskaya, Kushnir, 2006].

Внешние визуальные отличия находят отражение в разнонаправленных стратегиях ферментов углеводного обмена и взаимосвязанных с ними цепью метаболических реакций ферментов антиоксидантной системы (АОС).

Существование прямослойной древесины описывается следующей метаболической схемой: сахароза расщепляется преимущественно сахарозосинтазным (SS) путем под контролем гена *SUS1* и сопровождается активным синтезом структурных компонентов клеточных стенок (целлюлозы) [Галибина и др., 2016б; Мощенская и др., 2017]. При образовании аномальной древесины наблюдается повышение активности апопластной инвертазы (ApInv) [Галибина и др., 2016б]. В результате повышения активности ApInv в клетке вместо УДФ-глюкозы, образующейся при расщеплении сахарозы SS, возрастает содержание свободных гексоз. Гексозы, посредством включения в пентозо-фосфатный путь и цикл Кребса [Донцов и др., 2006; Savidge et al., 1996; Couee et al., 2006; Wellen, Thompson, 2010; Borges et al., 2017], участвуют в синтезе активных форм кислорода (АФК) и фенольных соединений, приводя к повышению активности ферментов АОС [Галибина и др., 2013, 2016а; Никерова и др., 2016; Никерова, Галибина, 2017]. Глюкоза, являясь сигнальной молекулой, может инициировать активность ферментов АОС [Hu et al., 2012], а также непосредственно взаимодействовать с АФК, образуя субстраты пероксидазного окисления [Синькевич и др., 2009]. В результате происходит переключение путей утилизации сахарозы с синтеза целлюлозы (как при образовании нормальной древесины) на реакции вторичного метаболизма, что сопровождается повышением активности ферментов АОС, активность которых, кроме того, прямо пропорционально коррелирует с возрастанием степени узорчатости, что может служить основанием для

ее использования в качестве диагностического признака [Галибина и др., 2016a]. В предыдущих наших исследованиях было показано, что в тканях ксилемы у *B. pendula* var. *carelica* выше жесткость структуры клеточной стенки, по сравнению с *B. pendula* var. *pendula*, за счет увеличения доли компонентов фенольной природы, как в составе лигнина, так и в виде поперечных диферуловых мостиков [Галибина, Терехова, 2014].

Большое влияние на ксилогенез оказывают условия места произрастания дерева, а значит, методы лесовыращивания. Известно, что на процессы ксилогенеза влияют почвенные условия [Dünisch, Bauch, 1994], которые можно изменять путем внесения, прежде всего, различных доз азотных и фосфорных удобрений. Мы предполагаем, что познание различных механизмов регуляции ксилогенеза может позволить эффективно и целенаправленно управлять этим процессом не только с точки зрения увеличения выхода биомассы древесины, но и выращивания древесины с заданными свойствами.

Диапазон экологических условий, в которых произрастает карельская береза, довольно узок и определяется хорошим освещением, температурным режимом, способствующим интенсивному оттоку сахарозы из листьев, нормальным увлажнением [Новицкая, 2008]. В результате изучения мест естественного распространения карельской березы и анализа характеристик почв в пределах ее ареала Л.Л. Новицкой [2008] было высказано предположение, что карельская береза не распространяется как в области очень бедных (примитивных и горно-тундровых), так и относительно богатых почв (буроземов темноцветных).

При изучении безузорчатых и узорчатых растений карельской березы на Заонежской лесосеменной плантации в Медвежьегорском районе Республики Карелия мы обнаружили неоднородность условий в пределах подзолистых почв. Разные почвенные участки в пределах одной плантации отличались по запасам азота (N, кг/га), фосфора (P, кг/га) и отношению запасов (P/N) этих основных питательных элементов.

У исследуемых растений были определены активности SS (мкмоль сахарозы/мг белка), ArInv (мкмоль сахарозы/мг белка), супероксиддисмутазы (SOD) (усл. ед./мг белка), пероксидазы (POD) (мкмоль ТГ/мг), каталазы (CAT) (мкмоль H₂O₂/мг белка) и полифенолоксидазы (PPO) (усл. ед./мг белка). По почвенным условиям мы выделили 4 участка со следующими характеристиками: 1 – N73, P114, P/N 1.6; 2 – N76, P84, P/N 1.1; 3 – N81, P50, P/N 0.6; 4 – N123, P54, P/N 0.4. Статистическая обработка данных осуществлялась в среде Microsoft Excel. Эксперименты проводили в 10 биологических и 3 аналитических повторностях. На диаграммах приведены средние значения и их стандартные ошибки. Для нахождения корреляций использовали пакет программ для анализа данных PAST ($p \leq 0.05$ (*), $p \leq 0.01$ (**), $p \leq 0.001$ (***) и $p \leq 0.0001$ (****)).

В почвах Карелии доступный азот, в основном, представлен аммонийной формой, доступность которой обеспечивается эффективными микоризными процессами. Отметим, что при увеличении отношения P/N микоризные процессы угнетаются, что приводит к потреблению доступного азота в форме нитратов.

Результаты исследования показали, что у безузорчатых растений возрастание запасов N в почве положительно коррелирует с активностью SS, которая, в свою очередь, отрицательно коррелирует с POD и PPO. С возрастанием запасов P и увеличением P/N отношения возрастает активность CAT. Таким образом, предполагаем, что внесение дополнительных доз азота может способствовать приросту древесины у безузорчатых растений карельской березы, а внесение дополнительных доз фосфора, вероятно, может способствовать перестройке на путь синтеза лигнина (рис. 1).

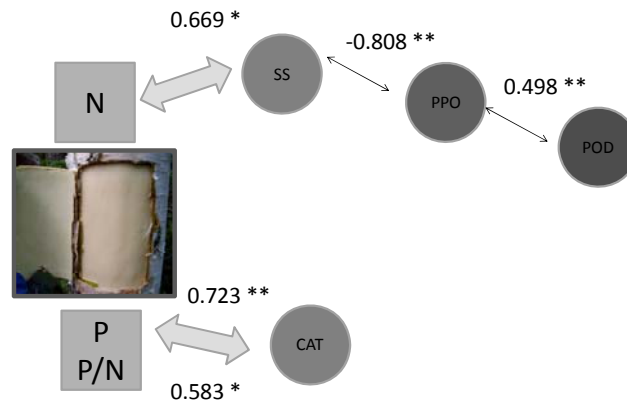


Рис. 1. Корреляционная схема запасов азота (N, кг/га), фосфора (P, кг/га) и P/N отношения и активности ферментов у безузорчатых растений. Над стрелками указаны коэффициенты корреляции и уровень значимости.

У узорчатых растений возрастание запасов N в почве отрицательно коррелировало с активностью SOD, которая, в свою очередь, была взаимосвязана с другими ферментами АОС (CAT, POD, PPO) через ApInv, которая, как отмечалось выше, запускает альтернативный путь расщепления сахарозы, который преобладает у узорчатых растений, образуя единый метаболический комплекс. Возрастание запасов P и увеличение P/N отношения у узорчатых растений отрицательно коррелировало с SS (рис. 2). Эти факты, вероятно, свидетельствуют о возможности усугубления процессов паренхиматизации при внесении дополнительных доз фосфора. Кроме того, у узорчатых растений карельской березы на участках с высоким уровнем запасов P был отмечен нами ранее высокий процент содержания паренхимы.

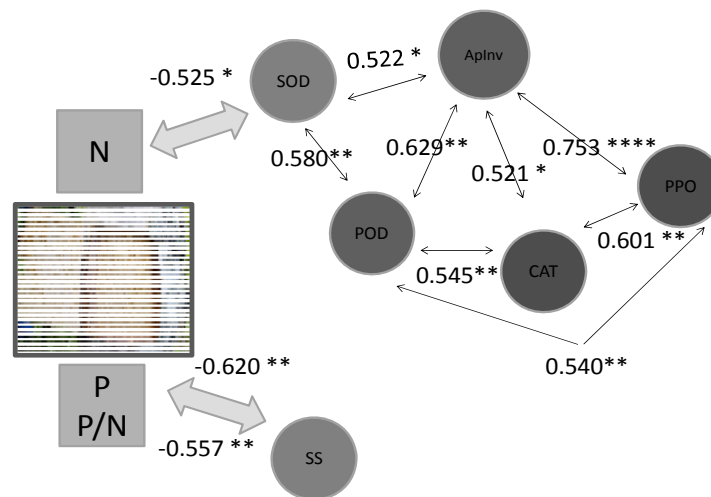


Рис. 2. Корреляционная схема запасов азота (N, кг/га), фосфора (P, кг/га) и P/N отношения с активности ферментов у узорчатых растений. Над стрелками указаны коэффициенты корреляции и уровень значимости.

Отметим, что при увеличении подвижного N в почве активность АОС у узорчатых растений имела тенденцию на снижение (рис. 3). Так, на участках с большими запасами N высокоузорчатые растения, у которых наблюдаются самые высокие значения активности ферментов АОС, как было показано нами ранее [Галибина и др., 2016а], встречались редко.

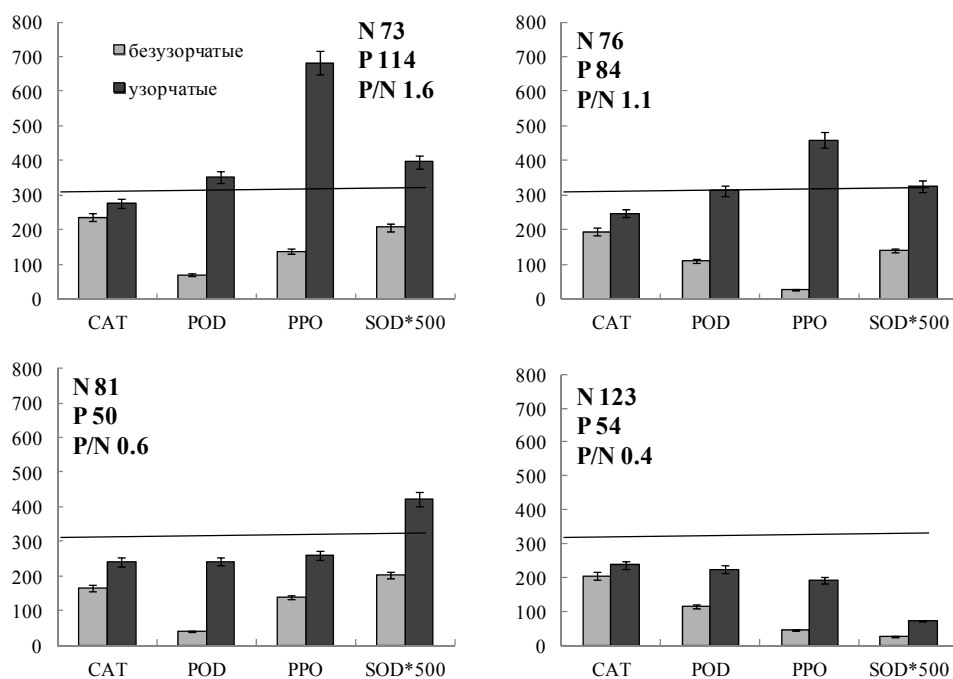


Рис. 3. Активность ферментов АОС у безузорчатых и узорчатых растений на разных по запасам азота (N, кг/га), фосфора (P, кг/га) и P/N отношения почвенных участках.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о разных метаболических стратегиях ферментов АОС у безузорчатых и узорчатых растений карельской березы. Интересным является факт количественного распределения активности изучаемых ферментов в разных почвенных условиях, который подтверждается возможностью присутствия растений карельской березы с разной степенью узорчатости.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (Институт леса КарНЦ РАН) и при финансовой поддержке РФФИ (проекты № 16-04-01191 и 16-04-100639_p_a).

Литература

- Галибина Н.А., Целищева Ю.Л., Андреев В.П., Софронова И.Н., Никерова К.М. Активность пероксидазы в органах и тканях деревьев березы повислой // Ученые записки ПетрГУ. Серия Естественные и технические науки. – 2013. – Т. 133, № 4. – С. 7–13.
- Галибина Н.А., Теребова Е.Н. Физико-химические свойства клеточных стенок тканей ствола деревьев *Betula pendula* Roth // Ученые записки ПетрГУ. Серия Естественные и технические науки. – 2014. – № 4. – С. 19–25.
- Галибина Н.А., Мошкина Е.В., Никерова К.М., Мощенская Ю.Л., Знаменский С.Р. Активность пероксидазы как индикатор степени узорчатости древесины карельской березы // Лесоведение. – 2016а. – № 4. – С. 294–304.
- Галибина Н.А., Новицкая Л.Л., Никерова К.М. Избыток экзогенных нитратов подавляет формирование аномальной древесины у карельской березы // Онтогенез. – 2016б. – Т. 47, № 2. – С. 83–91.
- Донцов В.И., Крутько В.Н., Мрикаев Б.М., Уханов С.В. Активные формы кислорода как система: значение в физиологии, патологии и естественном старении // Труды ИСА РАН. – 2006. – Т. 19. – С. 50–69.
- Коровин В.В., Новицкая Л.Л., Курносоев Г.А. Структурные аномалии стебля древесных растений. – М.: Московский гос. университет леса, 2003. – 280 с.
- Мощенская Ю.Л., Галибина Н.А., Топчиева Л.В., Новицкая Л.Л. Экспрессия генов, кодирующих изоформы сахарозсинтазы, в ходе аномального ксилогенеза карельской березы // Физиология растений. – 2017. – Т. 64, № 3. – С. 301–310.

Никерова К.М., Галибина Н.А., Мошенская Ю.Л., Новицкая Л.Л., Подгорная М.Н., Софронова И.Н. Каталазная активность в листовом аппарате у сеянцев березы повислой разных форм (*Betula pendula* Roth): var. *pendula* и var. *carelica* (Mercklin) // Труды КарНЦ РАН. Серия Экспериментальная биология. – 2016. № 11. – С. 68–77.

Никерова К.М., Галибина Н.А. Влияние нитратного азота на пероксидазную активность в тканях *Betula pendula* Roth var. *pendula* и *B. pendula* var. *carelica* (Mercklin) // Сибирский лесной журнал. – 2017. – № 1. – С. 15–24.

Новицкая Л.Л. Карельская береза: механизмы роста и развития структурных аномалий. – Петрозаводск: Verso, 2008. – 144 с.

Синькевич М.С., Дерябин А.Н., Трунова Т.И. Особенности окислительного стресса у растений картофеля с измененным углеводным метаболизмом // Физиология растений. – 2009. – Т. 56, № 2. – С. 186–192.

Borges C.V., Minatel I.O., Gomez-Gomez H.A., Lima G.P.P. Medicinal Plants: Influence of Environmental Factors on the Content of Secondary Metabolites / Medicinal Plants and Environmental Challenges. Eds. M. Ghorbanpour, A. Varma, Cham: Springer, 2017. – P. 259–278.

Couee I., Sulmon C., Gouesbet G., El Amrani A. Involvement of soluble sugars in reactive oxygen species balance and responses to oxidative stress in plants // J. Exp. Bot. – 2006. – V. 57, No. 3. – P. 449–459.

Dünisch O., Bauch J. Influence of soil substrate and drought on wood formation of spruce [*Picea abies* (L.) Karst.] under controlled conditions // Holzforschung. – 1994. – V. 48. – P. 447–457.

Hu M., Shi Z., Zhang Z., Zhang Y., Li H. Effects of exogenous glucose on seed germination and antioxidant capacity in wheat seedlings under salt stress // Plant Growth Regul. – 2012. – V. 68. – P. 177–188.

Novitskaya L.L., Kushnir F.V. The role of sucrose in regulation of trunk tissue development in *Betula pendula* Roth // J. Plant Growth Regul. – 2006. – V. 25, No. 1. – P. 18–29.

Savidge R.A. Xylogenesis, genetic and environmental regulation // JAWA J. – 1996. – V. 17, No. 3. – P. 269–310.

Wellen K.E, Thompson C.B. Cellular metabolic stress: considering how cells respond to nutrient excess // Mol. Cell. – 2010. – V. 40, No. 2. – P. 323–332.

CHANGE OF AOS ENZYME'S ACTIVITY – BIOCHEMICAL INDICATOR OF XYLOGENESIS SCENARIOS AT DIFFERENT RATIO OF MOBILE NITROGEN AND PHOSPHORUS FORMS IN THE SOIL

K.M. Nikerova, N.A. Galibina., Yu.L. Moshchenskaya, L.L. Novitskaya, M.N. Podgornaya, I.N. Sofronova

Forest Research Institute of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russia, knikerova@yandex.ru

Abstract. We investigated the activity of AOS enzymes in soils with different nitrogen and phosphorus stocks in plants of Karelian birch. It was shown that soil conditions influenced the processes of xylogenesis, contributing to the formation of normal wood in non-figured plants or aggravation of parenchymatization processes in figured plants. The AOS activity of figured plants reduced with increasing nitrogen supply. Highly figured plants were rarely found on soils with high nitrogen content.

Keywords: *nitrogen and phosphorus stocks, xylogenesis, Karelian birch, figured wood, antioxidant enzyme activity*

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОТВЕТЫ ПРОРОСТКОВ КУКУРУЗЫ НА ЗАСУХУ И РЕГИДРАТАЦИЮ

М.К. Николаева, С.Н. Маевская, П.Ю. Воронин

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия, mknikolaeva@mail.ru

Аннотация. Изучали молекулярные и физиологические ответы листьев проростков кукурузы (*Zea mays* L.) на почвенную засуху (5 суток) и последующую регидратацию (24 и 48 ч). С этой целью определяли водный статус, рост листьев, интенсивность фотосинтеза и транспирации, метаболизм углеводов и пролина, а также содержание МДА и пигментов. Обнаруженные изменения в содержании растворимых углеводов и пролина при засухе и регидратации играли важную роль в поддержании водного статуса растений и основных физиологических функций.

Ключевые слова: кукуруза, фотосинтез, засуха, регидратация

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-554-557

Изучение механизмов адаптации и устойчивости растений к засухе является одной из важных задач современных исследований. При этом необходимо изучать как физиологические, биохимические и генетические основы адаптации к засухе, так и механизмы восстановления растений при регидратации. В последние годы процесс восстановления растений от водного стресса при возобновлении полива изучается достаточно интенсивно. При исследовании сортов, характеризующихся разной устойчивостью к засухе, были обнаружены значительные различия как в ответах на водный стресс, так и в механизмах восстановления [Hayano-Kanashiro et al., 2009; Sun et al., 2016]. **Задачей настоящей работы** являлось изучение влияния засухи и последующей регидратации на величину водного потенциала (Ψ) апопласта клеток мезофилла в подустьичной полости, относительное содержание воды (ОСВ), рост листьев, активность $\text{CO}_2/\text{H}_2\text{O}$ -газообмена, метаболизм углеводов и пролина, а также содержание МДА и пигментов в листьях проростков кукурузы.

Растительный материал. Опыты проводили с проростками кукурузы (*Zea mays* L.), сорт Тройная сладость, выращенными на смеси песка и почвы (2:1) при интенсивности ФАР 200 мкмоль/(м² с)), 16-часовом фотопериоде и температуре 25/20 °С (день/ночь). Влажность почвы при выращивании контрольных растений составляла 60% от полной влагоемкости почвы (ПВП). Полив опытных растений прекращали через 8 дней после появления всходов. Длительность засухи – 5 суток. Под влиянием засухи влажность почвы снизилась до 26.3% от ПВП. Через 24 и 48 ч после возобновления полива пробы для анализа брали из средней части третьего листа. Определение Ψ апопласта клеток мезофилла в подустьичной полости листа проводили одновременно с измерением фотосинтетического $\text{CO}_2/\text{H}_2\text{O}$ -газообмена с помощью одноканального ИК-газоанализатора (LI-820, “LI-COR”, США) [Воронин и др., 2017].

Результаты. Под влиянием прогрессирующей почвенной засухи величина водного потенциала (ψ) апопласта клеток мезофилла в подустьичной полости в листьях опытных растений снижалась по сравнению с контролем (табл. 1). Через 24 ч после начала полива величина ψ в опыте не отличалась от контроля.

ОСВ в листьях опытных растений снизилось с 98.2 (контроль) до 86.9% (опыт) (табл. 1). Таким образом, в условиях наших опытов развивался умеренный водный дефицит [Hsiao, 1973]. В результате регидратации наблюдалось быстрое повышение ОСВ.

При засухе вес надземной части в расчете на одно растение уменьшился на 65%. Через 24 и 48 ч после полива различия между контрольными и опытными растениями составляли 30 и 15%, соответственно.

В листьях опытных растений интенсивность фотосинтетического CO₂-газообмена (*A*) и транспирации (*E*) снизились по сравнению с контролем, соответственно на 45 и 30% (табл. 2). В результате регидратации (через 24 ч) интенсивность *A* и *E* повысились

Таблица 1.

Изменение водного потенциала (Ψ), относительного содержания воды (ОСВ) и веса надземной части растений при засухе и регидратации

Условия опыта	Ψ (МПа)		ОСВ (%)		Сырая масса (г/растение)	
	контроль	засуха	контроль	засуха	контроль	Засуха
5 - дневная засуха	-48 ± 3.0	-91 ± 4.0	98.2 ± 1.8	86.9 ± 0.9	2.15 ± 0.08	0.76 ± 0.05
24 ч после полива	-45 ± 3.0	-45 ± 3.0	97.9 ± 2.1	96.8 ± 1.6	2.50 ± 0.10	1.76 ± 0.08
48 ч после полива	-40 ± 2.0	-40 ± 1.0	98.7 ± 1.4	97.9 ± 2.0	2.40 ± 0.12	2.05 ± 0.10

до уровня контроля. Интенсивность темнового дыхания (R_D) листьев в условиях водного дефицита превышала контроль почти в 2 раза. Через 24 ч после полива интенсивность R_D листьев была близкой к контролю. После 5-дневной засухи содержание хлорофилла было выше контроля на 19%, содержание каротиноидов достоверно не изменилось. В результате регидратации содержание хлорофилла в листьях опытных растений достигло уровня контроля.

Засуха оказала существенное влияние на метаболизм растворимых углеводов. Содержание редуцирующих сахаров (глюкозы и фруктозы) повысилось по сравнению с контролем в 5.5 раз, содержание сахарозы возросло в 2.5 раза. Через 24 ч после регидратации содержание редуцирующих сахаров и сахарозы значительно снизилось. Через 48 ч содержание сахарозы в опыте не отличалось от контроля, тогда как содержание редуцирующих сахаров оставалось выше контроля в 1.3 раза.

Таблица 2.

Влияние засухи и регидратации на интенсивность фотосинтеза (*A*), транспирации (*E*) и темнового дыхания (R_D)

Условия опыта	<i>A</i> , мкмоль/(с м ²)		<i>E</i> , моль/(с м ²)		R_D , мкмоль/(с м ²)	
	контроль	засуха	контроль	засуха	контроль	Засуха
5 - дневная засуха	13.2 ± 1.0	7.0 ± 14.0	0.65 ± 0.08	0.45 ± 0.08	0.7 ± 0.1	1.3 ± 0.1
24 ч после полива	14.0 ± 1.0	14.0 ± 1.0	0.55 ± 0.05	0.50 ± 0.08	1.2 ± 0.1	1.5 ± 0.1
48 ч после полива	14.2 ± 1.0	15.1 ± 1.0	0.90 ± 0.20	1.20 ± 0.10	0.8 ± 0.2	0.8 ± 0.2

Содержание крахмала при засухе снизилось на 22%. После возобновления полива (24 ч) содержание крахмала было близким к контролю, однако через 48 ч уменьшилось на 19%, что, вероятно, могло быть связано с его использованием в процессе репарации.

Под влиянием водного дефицита содержание пролина значительно возросло (в 13 раз). При поливе (24 ч) уровень пролина уменьшился почти в 10 раз, через 48 ч содержание пролина в контроле и опыте было одинаковым.

После 5 суток засухи содержание МДА повысилось по сравнению с контролем на 30%. Через 24 ч после начала полива содержание МДА в листьях опытных растений снизилось на 11% и через 48 ч уменьшилось до контрольного уровня.

Обсуждение. Известно, что растения кукурузы очень чувствительны к засухе [Ghannoum, 2009]. В наших опытах, 5-дневный водный дефицит вызвал умеренную засуху в листьях проростков кукурузы. Однако ОСВ и величина ψ быстро увеличивались при регидратации, что свидетельствует о восстановлении водного

потенциала. В условиях засухи биомасса надземной части растений снижалась в результате ингибирования роста молодых листьев. Торможение роста листьев является одним из ранних ответов на водный дефицит и происходит в результате снижения скорости деления клеток в меристеме [Максимов, 1939; Avramova et al., 2015].

Наши опыты показали, что при засухе интенсивность фотосинтеза понизилась почти в 2 раза, тогда как интенсивность транспирации уменьшилась на 30%. Ингибирование фотосинтеза является типичным ответом на водный стресс и на начальных стадиях засухи может быть вызвано закрыванием устьиц [Тарчевский, 2001; Chaves et al., 2009]. В ответ на засуху интенсивность темного дыхания значительно увеличивалась, что свидетельствует о повышении его роли по мере развития водного стресса. Через 24 ч после полива наблюдалось полное восстановление фотосинтетической активности, транспирации и темного дыхания.

Анализ содержания пигментов показал, что в условиях умеренного водного стресса их синтез не нарушался и фотосинтетические мембраны не повреждались.

Ингибирование фотосинтетического $\text{CO}_2/\text{H}_2\text{O}$ -газообмена сопровождалось значительными изменениями углеводного метаболизма. Увеличение содержания растворимых сахаров (сахароза + глюкоза + фруктоза) является одним из характерных ответов на засуху и имеет большое значение для регуляции осмотического приспособления [Kameli, Lösel, 1993; Hare et al., 1998]. Содержания гексоз могло увеличиваться за счет повышения активности кислой инвертазы, участвующей в расщеплении сахарозы, а также в результате гидролиза крахмала [Lawlor, Cornic, 2002]. Источником накопления гексоз являлся также фотосинтез, поскольку в условиях засухи снижался транспорт ассимилятов [Foyer et al., 1998]. Накопление в листьях опытных растений сахарозы могло быть результатом уменьшения ее оттока в аттрагирующие органы, о чем свидетельствовало снижение скорости роста. Значительное накопление пролина в листьях опытных растений могло приводить к повышению осмотического давления и тем самым увеличивать устойчивость растений к засухе [Тарчевский, 2001]. Кроме того, пролин, наряду с углеводами, защищает клетки от окислительного стресса, возникающего при водном дефиците [Кузнецов, Шевякова, 1999; Reddy et al., 2004; Nayano-Kanashiro et al., 2009]. После 24 ч регидратации содержание редуцирующих сахаров и пролина значительно снизилось, что говорит об их активном использовании в метаболизме и процессах роста. Возможно, поддержание повышенного уровня сахаров и пролина, обладающих антиоксидантными свойствами, усиливало защитную систему обезвреживания АФК в процессе регидратации.

Несмотря на существенное увеличение содержания растворимых углеводов и пролина, играющих важную роль в антиоксидантной защите клетки, в листьях опытных растений на 30% повысилось содержание МДА. Уже через 24 ч после регидратации содержание МДА заметно снизилось и через 48 ч не отличалось от контроля.

Проведенная работа показала, что изученный сорт кукурузы способен противостоять умеренной засухе и быстро восстанавливаться при возобновлении полива. Обнаруженные изменения в содержании неструктурных углеводов и пролина при засухе и регидратации играли важную роль в поддержании водного статуса растений и восстановлении основных физиологических функций.

Литература

Воронин П.Ю., Рахманкулова З.Ф., Шуйская Е.В., Маевская С.Н., Николаева М.К., Максимов А.П., Максимов Т.Х., Мясоедов Н.А., Балнокин Ю.В., Рымарь В.П., Валдайских В.В., Кузнецов Вл.В. Новый метод количественного определения водного потенциала апопласта клеток мезофилла в подустьичной полости листа // Физиология растений. – 2017. – Т. 64, № 3. – С. 235–240.

Кузнецов Вл.В., Шевякова Н.И. Пролин при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция // Физиология растений.– 1999. – Т. 46, № 2. – С. 321–336.

Максимов Н.А. Подавление ростовых процессов как основная причина снижения урожая при засухе // Успехи совр. биол. – 1939. – Т. 11. – С.124–136.

Тарчевский И.А. Фотосинтез // Метаболизм растений при стрессе. Избранные труды / под ред. А.Н. Гречкина. – Казань: ФЭН, – 2001.– С. 9–102.

Avramova V., Abdelgawad H., Zhang Z. et al. Drought induces distinct growth response, protection and recovery mechanisms in the maize leaf growth zone // Plant Physiol., – 2015. – V. 169. – P. 1382–1396.

Chaves M.M., Flexas J., Pinheiro C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell // Ann. Bot., – 2009. – V. 103, № 4. – P. 551–560.

Foyer C.H., Valadier M.H., Migge A., et al. Drought-induced effects nitrate reductase activity and RNA and on coordination of nitrogen metabolism in maize leaves // Plant Physiol. – 1998. – V. 117. – P. 283–292.

Ghannoum O. C₄ photosynthesis and water stress // Ann. Bot. – 2009. – V. 103, № 4. – P. 635– 644.

Hare P.D., Cress W.A., van Staden J. Dissecting the role of osmolyte accumulation during stress // Plant Cell Environ. – 1998. – V. 21. – P. 535–553.

Hayano-Kanashiro C., Calderón-Vázquez C., Ibarra-Laclett E. et al. Analysis of gene expression and physiological responses in three Mexican maize landraces under drought stress and recovery irrigation // PLoS One. – 2009. – V. 4, №10.: e7531.

Hsiao T.C. Plant responses to water stress // Annu. Rev. Plant Physiol. – 1973. – V. 24. – P. 519–570.

Kameli A., Lösel D.M. Carbohydrates and water status in wheat plants under water stress // New Phytol. – 1993. – V. 25. – P. 609–614.

Lowlor D.M., Cornic G. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism on relation to water deficits in higher plants // Plant Cell Environ. – 2002. – V. 25. – P. 275–294.

Reddy A.R., Chaitanya K.V., Vivekanandan M. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants // J. Plant Physiol. – 2004. – V. 161. – P. 1189–1202.

Sun C., Gao X., Chen X., Fu J., Zhang Y. Metabolic and growth responses of maize to successive drought and re-watering cycles // Agric. Water. Manag. – 2016. – V. 172. – P. 62–73.

PHYSIOLOGICAL AND MOLECULAR RESPONSES OF MAIZE (*ZEA MAYS* L.) PLANTS TO DROUGHT AND REWATERING

M.K. Nikolaeva, S.N. Maevskaya, P.Yu. Voronin

K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia,
mknikolaeva@mail.ru

Abstract. The physiological and molecular responses of maize seedlings (*Zea mays* L.) to 5-d soil drought and subsequent rewatering (24, 48 h) were studied. To this end, plant water status, leaf growth, photosynthesis and transpiration, metabolism of carbohydrates and proline, MDA and pigment content were determined. The changes observed in carbohydrate metabolism and proline content under drought and rewatering might be important mechanisms maintaining water status of plants and main physiological functions.

Keywords: *maize, photosynthesis, drought, rewatering*

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ КАМБИАЛЬНОЙ ЗОНЫ БЕРЕЗЫ ПОВИСЛОЙ НА НАРУШЕНИЕ ТРАНСПОРТА АССИМИЛЯТОВ

Л.Л. Новицкая, Н.А. Галибина, Ю.Л. Мощенская, К.М. Никерова, Т.В. Тарелкина,
М.Н. Подгорная, И.Н. Софронова, Л.И. Семенова

Институт леса – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук», Петрозаводск, Россия, nowits@krc.karelia.ru

Аннотация. В эксперименте с двойным кольцеванием ствола березы повислой (*Betula pendula* var. *pendula*) нарушали флоэмный транспорт ассимилятов. Это позволило создать градиент концентрации сахарозы по оси ствола. В зонах роста и дифференциации проводящих тканей (флоэма, ксилема) на разном расстоянии от окольцованной части ствола исследовали уровень экспрессии генов, кодирующих апопластную инвертазу (*CWIN*), ее белковый ингибитор (*Cif*), изоформы сахарозосинтазы (*Sus1*, *Sus2*) и целлюлозосинтазы (*Ces3*, *Ces7*, *Ces8*).

Ключевые слова: нарушение флоэмного транспорта, содержание сахарозы, апопластная инвертаза и ее белковый ингибитор, изоформы сахарозосинтазы и целлюлозосинтазы, экспрессия генов

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-558-562

Нисходящий транспорт сахарозы нарушали путем кольцевания ствола деревьев обычной березы повислой (*Betula pendula* var. *pendula*). Указанный методический прием широко используется для изучения камбиального роста в условиях различной обеспеченности тканей ассимилятами. Для исследования использовали 22-летние деревья березы, компактно произрастающие на одном из участков на Агробиологической станции КарНЦ РАН. Все они имели хорошо развитую крону и гладкий ровный ствол без видимых повреждений. Высота деревьев – 10 ± 0.5 м, диаметр ствола на высоте 1.3 м от земли – 10 ± 0.2 см. На стволах опытных деревьев в период активных делений в камбиальной зоне (19.06.2017 г.) было выполнено двойное кольцевание по методике [Daudet et al., 2005]: острым ножом удаляли два кольца коры вплоть до зоны формирующейся ксилемы. Нижние границы колец располагались на высоте 110 см и 125 см от земли, ширина колец составляла 5 см (рис. 1). Для предотвращения образования каллуса и восстановления транспорта ассимилятов поверхность древесины в зоне колец дополнительно зачищали ножом. Отбор тканей ствола проводили с 7 зон, различающихся по обеспеченности сахарами. Часть ствола, расположенная выше верхнего кольца, сохраняла связь с кроной и продолжала снабжаться ассимилятами, образующимися в процессе фотосинтеза. Поскольку в эксперименте полностью удаляли проводящую флоэму, мы предположили, что в этой части ствола будет накапливаться сахароза с максимумом в зоне непосредственно над верхним кольцом (1 зона) и с последующим снижением ее содержания на расстоянии 5, 10, 15 и 35 см выше границы верхнего кольца (2-5 зоны соответственно) (рис. 1). Участок ствола, расположенный между кольцами, был полностью изолирован от флоэмного притока сахаров и мог использовать только сахара, образующиеся при расщеплении запасных соединений (6 зона). Участок ствола, расположенный под нижним кольцом, мог получать углеводы, запасенные ниже по стволу и в корнях (7 зона) (рис. 1). Часть деревьев были помечены как контрольные и оставлены без каких-либо воздействий. На контрольных деревьях образцы отбирали с мест, соответствующих по высоте 1-7 зонам у окольцованных растений. В указанных

участках ствола препарировали слои тканей, соответствующие зонам роста и дифференциации флоэмы и ксилемы (в дальнейшем обозначены как флоэма и ксилема). Образцы отбирали с 5 окольцованных и 3 контрольных деревьев на 10-й день после начала эксперимента (29 июня 2017 г.).

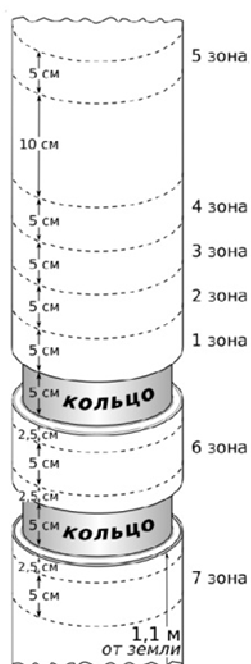


Рис. 1. Схема эксперимента с двойным кольцевидным стволом. Пояснения в тексте.

зависимости от зоны, его количество равномерно было выше в ~ 1.4 раза по сравнению с контролем (рис. 2).

Регуляция активности АпИнв, по всей видимости, происходила не только на уровне экспрессии кодирующих ее генов, но и на посттрансляционном уровне. Содержание транскриптов мРНК гена, кодирующего белковый ингибитор АпИнв, возросло у опытных растений, по сравнению с контрольными, в 1.6 и 2.6 раз во флоэме и ксилеме соответственно (рис. 2), что свидетельствует об увеличении содержания сахарозы в апопласте.

Уровень экспрессии генов, кодирующих сахарозсинтазу (СС), во флоэме опытных деревьев, по сравнению с контрольными, увеличился в 2.5 раза, а в зоне непосредственно над верхним кольцом, где, предположительно, накапливается наибольший избыток сахаров, в 5 раз. В ксилеме количество транскриптов мРНК генов сахарозсинтазного семейства (*Sus1*, *Sus2*) у опытных растений, по сравнению с контрольными, увеличилось в 1.4 раза только в 1 зоне. В ходе ксилогенеза изоформы СС регулируют количество УДФ-глюкозы, идущей на синтез микрофибрилл целлюлозы, а также участвуют в биосинтезе крахмала [Echt, Chourey, 1985; Pozueta-Romero et al., 1999; Tauberger et al., 2000; Tiessen et al., 2002; Baroja-Fernández et al., 2003; Kladnik et al., 2005; Baroja-Fernandez et al., 2012]. В тканях ствола в период камбиального роста у древесных растений основная функция СС – участие в синтезе компонентов клеточных стенок ксилемы, при этом запасание крахмала происходит слабо. Уровень экспрессии гена *Ces8*, кодирующего изоформу целлюлозсинтазы, которая принимает участие в биосинтезе вторичной клеточной стенки, снижался ~ 2

Нарушение флоэмного транспорта привело к существенному изменению уровня экспрессии генов, кодирующих АпИнв, как во флоэме, так и в ксилеме. Во флоэме количество транскриптов мРНК гена *CWIN* увеличилось, по сравнению с контролем, в 2.7, 1.9, 1.6 и 1.5 раз в 1, 2, 3 и 4 зонах соответственно (рис. 2). Полученные данные подтверждают наше предположение, что из-за нарушения нисходящего транспорта в этих местах мог образоваться избыток сахарозы, для расщепления которой потребовалось увеличение активности АпИнв. Минимальный уровень экспрессии гена *CWIN* наблюдался в 6 зоне, которая была полностью изолирована от флоэмных потоков фотоассимилятов. При этом, количество транскрипта мРНК гена *CWIN* в 7 зоне, расположенной под нижним кольцом, возросло, по сравнению с контролем, в 1.6 раз (рис. 2). Полученный результат подтверждает предположение о возможности поступления в этот участок сахаров, запасенных в нижележащей части ствола и в корнях. В ксилеме мы не наблюдали градиента в распределении транскрипта мРНК гена *CWIN* в зависимости от зоны, его количество равномерно было выше в ~ 1.4 раза по сравнению с контролем (рис. 2).

раза у опытных растений, по сравнению с контрольными. При этом относительный уровень экспрессии гена *Ces8* у окольцованных и контрольных растений был соизмерим с таковым у узорчатых и безузорчатых 25-летних растений карельской березы. Неожиданный результат был получен по экспрессии еще двух генов, кодирующих целлюлозосинтазу, – *Ces3* и *Ces7*. Так, у окольцованных растений, по сравнению с контрольными, количество транскриптов мРНК гена *Ces3* увеличилось в 3.5 раза, а гена *Ces7* – в 5.6 раз. При этом, как и в случае с геном *Ces8*, количество транскриптов мРНК генов *Ces3* и *Ces7* у контрольных растений было соизмеримо с таковым у безузорчатых 25-летних растений карельской березы. У узорчатых растений карельской березы, по сравнению с безузорчатыми, количество транскриптов мРНК генов *Ces3* и *Ces7* было в 2 раза меньше. Ген *Ces3* кодирует изоформу целлюлозосинтазы, участвующую в биосинтезе первичных клеточных стенок, и может быть связан с синтезом гомогалактуронанов, входящих в состав пектиновых веществ. Мутанты *CESA3* арабидопсиса имеют дефект целлюлозы в первичной клеточной стенке, в ксилеме этих растений тормозится клеточное растяжение и повышается лигнификация. Ген *Ces7* кодирует специфическую целлюлозосинтазу ксилемы и в основном участвует в биосинтезе вторичной клеточной стенки [Liu et al., 2012; Salojärvi et al., 2017].

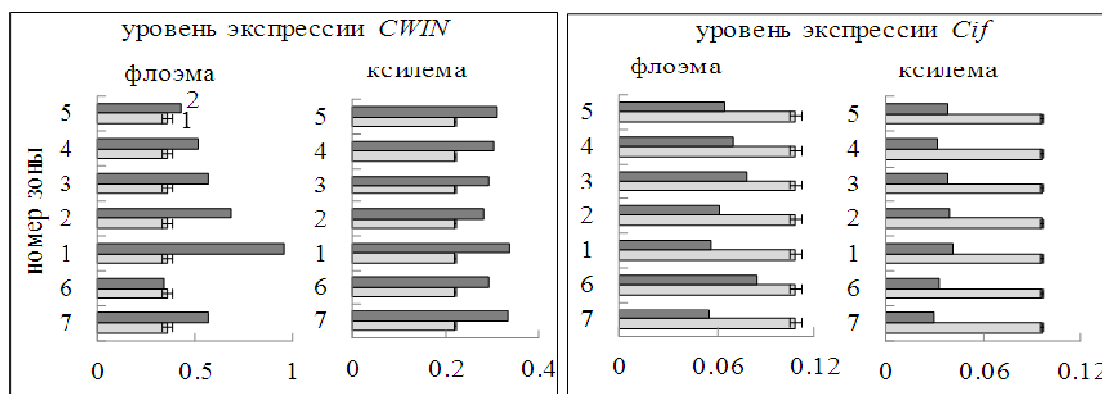


Рис. 2. Уровень экспрессии (относит. ед.) генов, кодирующих апопластную инвертазу (*CWIN*) и ее белковый ингибитор (*Cif*), в исследуемых зонах деревьев березы повислой после кольцевания ствола (темные столбики) и в контроле (светлые столбики).

Таким образом, в эксперименте с кольцеванием ствола березы повислой нарушение транспорта фотоассимилятов приводит к увеличению содержания сахарозы в апопласте флоэмы (падает уровень экспрессии гена *Cif*) в зонах над кольцом (1-5 зона) и под кольцом (7 зона), что сопровождается возрастанием метаболизации дисахарида по апопластному (возрастает уровень экспрессии гена *CWIN*) и сахарозосинтазному (возрастает уровень экспрессии генов *Sus*) пути. В ксилеме, в отличие от флоэмы, не обнаружено градиента в распределении уровня экспрессии генов, кодирующих апопластную инвертазу и ее белковый ингибитор, сахарозосинтазу и целлюлозосинтазу, по зонам. В ксилеме опытных растений увеличение содержания сахарозы в апопласте сопровождается возрастанием ее метаболизации по апопластному пути, снижением использования сахарозы на синтез компонентов вторичных клеточных стенок (снижается уровень экспрессии гена *Ces8*) и увеличением ее использования на синтез первичных клеточных стенок (возрастает уровень экспрессии гена *Ces3*). При этом повышается количество транскрипта мРНК гена *Ces7*, кодирующего специфическую целлюлозосинтазу ксилемы [Liu et al., 2012; Salojärvi et al., 2017], который в обычных условиях почти не обнаруживается.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (Институт леса КарНЦ РАН) и частично при финансовой поддержке РФФИ (проекты № 16-04-01191 и 16-04-100639_p_a).

Литература

Baroja-Fernandez E., Mucoz F.J., Saikusa T., Rodriguez-Lopez M., Akazawa T., Pozueta-Romero J. Sucrose synthase catalyzes the de novo production of ADP-glucose linked to starch biosynthesis in heterotrophic tissues of plants // *Plant and Cell Physiology*. – 2003. – V. 44, Issue 5. – P. 500–509.

Baroja-Fernandez E., Mucoz F.J., Li J., Bahaji A., Almagro G., Montero M., Etxeberria E., Hidalgo M., Sesma M.T., Pozueta-Romero J. Sucrose synthase activity in the *sus1/sus2/sus3/sus4* Arabidopsis mutant is sufficient to support normal cellulose and starch production // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. – 2012. – V. 109, No. 1. – P. 321–326.

Daudet F-A., Ameglio T., Cochard H., Archilla O., Lacoïnte A. Experimental analysis of the role of water and carbon in tree stem diameter variations // *J. Exp. Bot.* – 2005. – V. 56, No. 409. – P. 135–144.

Echt C.S., Chourey P.S. A Comparison of two sucrose synthetase isozymes from normal and *shrunk-1* maize // *Plant Physiology*. – 1985. – V. 79, No. 2. – P. 530–536.

Kladnik A., Chamusco K., Chourey P.S., Dermastia M. *In situ* detection of programmed cell death in the maize caryopsis // *Periodicum Biologorum*. – 2005. – V. 107, No. 1. – P. 11–16.

Liu X., Wang Q., Pengfei Chen P., Song F., Guan M., Jin L., Wang Y., Yang C. Four novel cellulose synthase (CESA) genes from birch (*Betula platyphylla* Suk.) involved in primary and secondary cell wall biosynthesis // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2012. – V. 13, No. 10. – P. 12195–12212.

Pozueta-Romero J., Perata P., Akazawa T. Sucrose-starch conversion in heterotrophic tissues of plants // *Critical Reviews in Plant Sciences*. – 1999. – V. 18, Issue 4. – P. 489–525.

Salojärvi J. et al. Genome sequencing and population genomic analyses provide insights into the adaptive landscape of silver birch // *Nat. Genet.* – 2017. – V. 49. – P. 904–912.

Tauberger E., Fernie A.R., Emmermann M., Renz A., Kossmann J., Willmitzer L., Trethewey R.N. Antisense inhibition of plastidial phosphoglucomutase provides compelling evidence that potato tuber amyloplasts import carbon from the cytosol in the form of glucose-6-phosphate // *Plant J.* – 2000. – V. 23. – P. 43–53.

Tiessen A., Hendriks J.H.M., Stitt M., Branscheid A., Gibon Y., Farre E.M., Geigenberger P. Starch synthesis in potato tubers is regulated by post-translational redox modification of ADP-glucose pyrophosphorylase: a novel regulatory mechanism linking starch synthesis to the sucrose supply // *Plant Cell*. – 2002. – V. 14. – P. 2191–2213.

PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL REACTIONS OF THE CAMBIAL REGION OF SILVER BIRCH TO DISTURBANCE OF ASSIMILATE TRANSPORT

L.L. Novitskaya, N.A. Galibina, Yu.L. Moshchenskaya, K.M. Nikerova, T.V. Tarelkina, M.N. Podgornaya, I.N. Sofronova, L.I. Semenova

Forest Research Institute of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russia, *nowits@krc.karelia.ru*

Abstract. In an experiment with double girdling of silver birch trunk the assimilate transport in the phloem was interrupted. This allowed to create sucrose concentration gradients along the trunk axis. In zones of growth and differentiation of conducting tissues (phloem, xylem), at different distances from the girdling zone the expression level of the genes encoding the apoplastic invertase (*CWIN*), its protein inhibitor (*Cif*), the isoforms of sucrose synthase (*Sus1*, *Sus2*) and cellulose synthase (*Ces3*, *Ces7*, *Ces8*) was studied.

Keywords: *disturbance of phloem transport, sucrose content, apoplastic invertase and its protein inhibitors, isoforms of sucrose synthase and cellulose synthase, gene expression*

ВОДНЫЙ ОБМЕН И СОЛЕУСТОЙЧИВОСТЬ СОРТОВ ХЛОПЧАТНИКА

У.Т. Норбоева

Бухарский государственный университет, Бухара, Узбекистан

Аннотация. Приведены результаты экспериментальных исследований в условиях различной засоленности почвы. Установлено, что изученные показатели водного обмена сортов хлопчатника изменялись неоднозначно в зависимости от степени засоленности почвы. Выделены сорта хлопчатника Бухара-6 и Бухара-102, имеющих лучшие показатели по признакам солеустойчивости растений.

Ключевые слова: засоление, засуха, водный обмен, солеустойчивость, транспирация

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-563-566

Географическое расположение Бухарской области в зоне пустыни, отсутствие местных источников воды для полива, кроме того, уменьшение стока реки Зарафшан еще сильнее усиливают потребности в воде. Резкое увеличение интенсивности транспирации воды с листьев и поверхности почвы по отношению к количеству осадков ведет к поднятию грунтовых вод. В результате этого усиливается степень засоленности почв.

Дефицит воды в почве (почвенная засуха), высокая температура воздуха, особенно в летний период (40-45 °С) и низкая относительная влажность (10-20%) (атмосферная засуха), засоленность почвой (физиологическая засуха) и другие условия отрицательно влияют на хлопчатник. Все вышеперечисленные стрессовые условия приходятся на критический период потребности хлопчатника в воде, а именно на период цветения [Азимов, 1973; Самиев, 1979; Ходжаев, 2004].

Из-за засоления почв Бухарской области каждый год урожай растений хлопчатника собирается намного меньше по сравнению с незасоленной почвой. И, как следствие засоления почв, понижается качество урожая [Кудратов, 2000].

В этой связи исследование физиологических особенностей, характеризующих степень устойчивости и продуктивности районированных новых сортов хлопчатника и выяснение своеобразных адаптационных ответных реакций сортов в условиях засоленных почв Бухарской области, несомненно, представляет большой научный и практический интерес.

Несмотря на достигнутые значительные успехи в изучении влияния засоленности почв на растения, некоторые аспекты такого воздействия еще слабо изучены. Один из них – это влияние почвенной засухи и засоления на особенности водообмена и продуктивности хлопчатника. Литературные данные по водообмену и продуктивности новых районированных сортов хлопчатника практически отсутствуют.

Целью исследований явилось изучение особенностей водного обмена, солеустойчивость и продуктивности сортов хлопчатника в условиях различной степени засоленности почв Бухарской области.

В качестве объектами исследований служили – средневолокнистые сорта хлопчатника Бухара-6, Бухара-102, Акдарья-6 и С-6524.

Для изучения влияния засоления почвы на водный обмен и продуктивность сортов хлопчатника были проведены лабораторные, вегетационные и полевые эксперименты. Для создания слабой, средней и сильной степени засоления почвы использовали NaCl. В полевых опытах почва характеризовалась смешанным сульфатно-хлоридным типом засоления с преобладанием хлоридного засоления, что характерно для Бухарского вилоята. Разная влажность почвы (70%, 50%, 30%) создавалась исходя из полной влагоемкости почвы (ПВ).

Как известно, транспирация является важным физиологическим процессом водного обмена растений. В регуляции водного баланса растений транспирация считается одним из основных процессов.

Выявлены изменения интенсивности испарения воды в зависимости от концентрации солей в почве и влажности у изученных сортов хлопчатника. Интенсивность транспирации у всех сортов, как в контрольных, так и опытных вариантах была низкой в утренние часы, дневное время самой высокой и в вечернее время суток снова низкой. Несомненно, такое изменение интенсивности транспирации связано с температурой воздуха.

С повышением степени засоления почвы у всех сортов наблюдалось снижение интенсивности транспирации.

В результате совместного действия засоления почвы и засухи количество испаренной воды у сортов хлопчатника было значительно ниже, по сравнению с оптимально увлажненными растениями.

В онтогенезе сортов хлопчатника самая высокая транспирация наблюдалась в фазе цветения растений. В фазу плодоношения испарение воды у изученных сортов снижается. Это является следствием понижения температуры воздуха и снижения потребности воды растениями. Обнаруженные закономерности интенсивности транспирации в фазе бутонизации прослеживаются и в периоды цветения и плодоношения. Самое главное - совместное действие засоления почвы и засухи оказывает сильное негативное влияние на водный обмен, и, как следствие, снижает интенсивность транспирации. В этих условиях сорт Бухара-6 по сравнению с другими сортами больше испаряет воды, из-за чего активируются метаболические процессы. По интенсивности транспирации сорт Акдарья-6 занимает последнее место.

Водоудерживающая способность листьев изученных сортов хлопчатника во многом зависела от засоленности почвы и степени влажности. Потеря воды у всех сортов и вариантов уменьшалась с фазы бутонизации до плодоношения, в то же время водоудерживающая способность возрастала.

В период бутонизации растения теряли через листья до 11-18% воды в первые 2 часа. В дальнейшем (3, 4 часа) потери воды постепенно уменьшались. Такая же закономерность у сортов хлопчатника наблюдалась и в фазах цветения и плодоношения. По сравнению с контролем листья растений в условиях засоления меньше теряли воду.

В фазе цветения у сортов хлопчатника во всех вариантах наблюдалось увеличение водоудерживающей способности. Это является следствием активности синтетических процессов и образованием репродуктивных органов в период цветения. В свою очередь требуется значительное количество воды для протекания этих процессов.

Данные по водоудерживающей способности листьев показывают различия изученных сортов от степени засоления. Сорт Бухара-6 отличается от других сортов высокой водоудерживающей способностью при оптимальной влажности и условиях засухи во всех стадиях развития.

В фазу бутонизации содержание свободной, метаболической и связанной воды в листьях различается в зависимости от степени засоления почвы, совместного влияния засухи и засоления. С повышением степени засоления во всех сортах наблюдается увеличение количества общей воды в обоих условиях увлажнения. Происходит уменьшение содержания метаболической воды и увеличение количества связанной воды. При совместном действии засоления и почвенной засухи у всех сортов количество связанной воды увеличивается по сравнению с растениями в вариантах 70% увлажнения.

Концентрация клеточного сока листьев у изученных сортов хлопчатника зависит от концентрации солей и степени влажности, а также биологических особенностей сортов.

Дневной и остаточный водный дефицит в листьях сортов хлопчатника во всех вариантах повышается с фазы бутонизации до плодоношения. Характерно, что вследствие совместного действия почвенной засухи и засоления величина этих показателей очень высока по сравнению с растениями в условиях оптимальной увлажненности. С повышением засоленности почвы показатели дневного и остаточного водного дефицита увеличиваются. Наблюдалась также разница по водному дефициту в листьях по сортам хлопчатника. Самый большой дневной и остаточный дефицит наблюдался в вариантах с высокой степенью засоления. С понижением степени засоления наблюдалось снижение величины этих показателей.

Самый низкий показатель был отмечен в вариантах с незасоленной почвой. Самый высокий дневной и остаточный водный дефицит наблюдался в вариантах с 30% влажностью и высокой степенью засоления. Наибольшее изменение дневного и остаточного водного дефицита наблюдалось у сорта Акдарья-6, наименьшее – у Бухара-6.

Величина водного потенциала в листьях понижается в зависимости от степени засоления и засухи. Особенно сильно снижается водный потенциал листьев при совместном действии засоления почвы и засухи у всех изученных сортов. Это, в свою очередь, приводит к затруднениям в достаточном снабжении водой сортов хлопчатника.

Определено, что водный потенциал листьев всех сортов и вариантах опыта понижается с фазы бутонизации до плодоношения. Особенно этот показатель был низким в условиях засухи почвы. Наблюдалась также различия по водному потенциалу листьев между сортами.

На основе изучения ряда физиологических показателей были определены нормы реакций новых районированных сортов хлопчатника на степень засоления почв в условиях Бухарской области. Показано уменьшение интенсивности транспирации, общей содержание воды и водный потенциал, увеличение водоудерживающей способности листьев, дефицита воды и содержание связанной воды под влиянием засоления почвы. При этом выявлена высокая устойчивость к засолению почвы сортов хлопчатника Бухара-6 и Бухара-102. Резкие изменения физиологических и биохимических показателей у изученных сортов хлопчатника наблюдались на фоне совместного действия почвенной засухи и засоления, особенно в условиях сильного засоления.

На основе полученных результатов в различной степени засоленных почвах Бухарской области для посева можно рекомендовать следующие сорта хлопчатника: Сорт Бухара-6 можно сеять на слабо, средне- и сильнозасоленных почвах вилоята и получать высокий урожай. При посеве данного сорта на сильнозасоленных почвах требуется частый полив с малой нормой воды. При посеве сортов Бухара-102 и С-6524 на слабо и средне засоленных почвах можно получать высокий урожай. С учетом низкой устойчивости сорта Акдарья-6 к стресс факторам (засоление, засуха, высокая температура) его можно сеять на незасоленных и слабозасоленных почвах и получать высокий урожай. При возделывании изученных сортов хлопчатника на площадях с различной степенью засоления необходимо соблюдать своевременное и качественное проведение региональных агротехнических мероприятий.

Литература

Азимов Р.А. Физиологическая роль кальция в солеустойчивости хлопчатника.– Ташкент: Фан, 1973. – 204 с.

Кудратов Т.У. Экологические проблемы в сельскохозяйственном производстве Бухары // Экологические проблемы в сельском хозяйстве. – Бухара: 2000. – С. 3–5.

Самиев Х.С. Водный режим и продуктивность хлопчатника. – Ташкент: Фан, 1979. – 198 с.

Ходжаев Ж.Х. Физиология растений. – Ташкент: Мехнат, 2004. – 224 с.

WATER INTERCHANGE AND SALINE TOLERANCE OF THE SORTS OF COTTON

U.T. Norboeva

Bukhara State University, Bukhara, Uzbekistan

Abstract. The results of experimental investigations were conducted in the conditions of various soil salinity. It was set up that, investigation results showed water interchange of the sorts of cotton were changed non-ambiguously on the dependence of soil salinity. There were underlined the sorts of cotton Bukhara-6 and Bukhara-102 which gave the best results in the features of saline consistence of the plants.

Keywords: *salinity, draught, water interchange, saline tolerance, transpiration*

ПОЧВЕННОЕ ЗАСОЛЕНИЕ И СОЛЕУСТОЙЧИВОСТЬ СОРТОВ ХЛОПЧАТНИКА

У.Т. Норбоева

Бухарский государственный университет, Бухара, Узбекистан

Аннотация. Проведен сравнительный анализ физиологических признаков и продуктивности средневолокнистых Бухара-6, Бухара-102, Акдарья-6 и С-6524 сортов хлопчатника в условиях различных фонов засоления. Установлено изменение физиологических параметров и продуктивности сортов хлопчатника в зависимости от степени их солеустойчивости. При воздействии засоления почвы наблюдалось снижение в разной степени адаптационного потенциала изученных сортов, что отражалось в уменьшении количества урожая хлопка-сырца и снижении его качества.

Ключевые слова: *солеустойчивость, засоление, хлопчатник, фотосинтез, адаптация*

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-567-570

Необходимость всестороннего изучения проблемы солеустойчивости растений является одной из наиболее актуальных проблем в растениеводстве. Как известно, засоление приводит к резкому снижению урожайности различных культурных растений, а значит к значительным потерям продукции. С другой стороны наблюдается разная природная устойчивость сельскохозяйственных культур к засолению. Отсюда возникают и реальные возможности снижения таких потерь.

На Земном шаре около четверти почв сельскохозяйственного назначения в той или иной мере засолены, и, по прогнозам, к 2050 году этот процесс затронет более 50% возделываемых территорий. В условиях солевого стресса замедляется рост растений, нарушается водный статус и ионный гомеостаз, сокращается площадь ассимиляционной поверхности, снижается продуктивность сельскохозяйственных культур. В связи с этим солеустойчивость растений имеет большое практическое значение для получения устойчивого урожая на засоленных почвах [Строгонов, 1976].

Засоление вызывает нарушения в обмене веществ растений, приводящие к снижению ростовой функции растительного организма. Их уровень зависит от степени и качества засоления почвы, возраста растений и их толерантности [Строгонов, 1962; Строгонов и др., 1989].

Вредное воздействие солей на растения связывают с повышением осмотического потенциала в клетке, нарушением водного режима, избыточным поглощением и накоплением ионов солей в клетках, дефицитом отдельных элементов корневого питания в результате дисбаланса ионов в почве [Гишева, 1999].

Для изучения влияния засоления почвы на водный обмен и продуктивность сортов хлопчатника были проведены лабораторные, вегетационные и полевые эксперименты. Для создания слабой, средней и сильной степени засоления почвы использовали NaCl. В полевых опытах почва характеризовалась смешанным сульфатно-хлоридным типом засоления с преобладанием хлоридного засоления, что характерно для Бухарской области. Разная влажность почвы (70%, 50%, 30%) создавалась исходя из полной влагоемкости почвы (ПВ).

В качестве объектами исследований служили средневолокнистые сорта хлопчатника Бухара-6, Бухара-102, Акдарья-6 и С-6524.

Изучение степени вязкости протоплазмы проводилось в фазах бутонизации, цветения и плодоношения в двух условиях увлажнения. У всех сортов и во всех вариантах отмечено увеличение этого показателя с фазы бутонизации до плодоношения. Степень вязкости протоплазмы сильно увеличивается под влиянием

совместного действия почвенной засухи и засоления по сравнению с растениями в условиях оптимальной увлажненности.

Содержание общего хлорофилла было высоким во всех вариантах в фазе цветения. Отмечено, что в контрольных вариантах этот показатель был выше по сравнению с опытными вариантами. С повышением степени засоления почвы содержание общего хлорофилла во всех вариантах опыта понижается. В результате отрицательного совместного действия засоления почвы и засухи (30% влажность) наблюдалось резкое уменьшение количества общего хлорофилла.

С повышением степени засоления почвы наблюдалось и повышение содержания альбуминов в листьях хлопчатника. Выявлено повышение содержания альбуминов на засоленных вариантах в обоих условиях увлажнения. Особенно резкое повышение этого показателя наблюдалось при совместном действии засоления почвы и засухи. Повышение содержания альбуминов у всех сортов хлопчатника шло параллельно с фазы бутонизации до плодоношения. По этому показателю отмечены незначительные различия у контрольных вариантов и по фазам развития хлопчатника.

По сравнению с другими фазами, интенсивность фотосинтеза в листьях у всех сортов хлопчатника была выше в фазе бутонизации. Величина этого показателя изменялась в течение суток в зависимости от степени засоления и увлажнения почвы, т.е. у всех сортов в условиях оптимальной увлажненности с повышением степени засоления интенсивность фотосинтеза снижалась. Такая закономерность прослеживалась и в условиях почвенной засухи. Во всех контрольных вариантах этот показатель был выше по сравнению с опытными вариантами.

Интенсивность фотосинтеза в листьях при совместном действии засоления почвы и почвенной засухи сильно различалась во всех вариантах по сравнению с оптимальными условиями увлажнения. Фотосинтез протекал быстрее в утренние часы, по сравнению с дневными и послеобеденными часами. В обеденное время (12 ч) снижается фотосинтез, наблюдалась его депрессия. В послеобеденные часы (15 ч) интенсивность фотосинтеза увеличивалась. Такая закономерность в фазе бутонизации прослеживается и в фазах цветения и плодоношения.

Интенсивность роста сортов хлопчатника непосредственно зависит от содержания солей в почве, т.е. степени засоления. Заметное влияние на ростовые процессы отмечено при сильном засолении и в условиях почвенной засухи. Рост опытных растений был на 13-25% ниже контроля. В вариантах с оптимальной влажностью почвы ростовые процессы протекали активнее. С повышением концентрации солей в обоих вариантах увлажнения рост растений всех сортов замедлялся. Степень засоления почвы по-разному влияет на рост растений у разных сортов. В обоих вариантах увлажнения рост растений сортов Бухара-6 и Бухара-102 был выше, по сравнению с другими сортами. В условиях почвенной засухи прослеживалось сильное отрицательное влияние солей у сорта Акдарья-6.

С повышением степени засоления наблюдалось уменьшение площади листовой поверхности у всех сортов. Такое уменьшение было сильнее в вариантах с почвенной засухой. Площадь листовой поверхности у всех сортов увеличивалась с фазы бутонизации до плодоношения. Минимальная площадь листовой поверхности наблюдалась в опытных вариантах с сильной засоленностью.

Чистая продуктивность фотосинтеза изученных сортов хлопчатника в полевых опытах зависела от степени засоления и увлажнения почвы. Увеличение степени засоления приводило к снижению фотосинтетической продуктивности у всех сортов хлопчатника. Такое понижение было больше в вариантах с почвенной засухой.

Увеличение степени засоления почвы, как следствие, ведет к уменьшению массы хлопка сырца в коробочках. Средняя масса хлопка в коробочках в вариантах с сильным

засолением была меньше (4,2 г). В вариантах с засолением и водным дефицитом была еще меньше (3,3 г). Засоление почвы также отрицательно влияет и на качество урожая: уменьшаются длина волокна и масса 1000 семян хлопчатника. Резкое ухудшение качества урожая отмечено при совместном действии засоления почвы и засухи по сравнению с вариантами оптимальной увлажненности. С увеличением засоления почвы также снижается продуктивность хлопчатника. Совместное действие засоления почвы и засухи ведет к снижению урожая в 1,5 раза.

В полевых экспериментах также было изучено влияние засоления почвы и степени обеспеченности водой на продуктивность сортов хлопчатника.

Продуктивность сортов хлопчатника различалась в зависимости от степени засоления и обеспеченности водой. Во всех опытных вариантах с влажностью почвы 70% наблюдалось снижение урожая от 3 до 30 процентов по сравнению с контролем. Такое снижение было больше в вариантах с сильным засолением почвы.

В вариантах с влажностью почвы 50% наблюдалось резкое снижение урожайности. Оно составило от 6 до 46% по сравнению с контролем у разных сортов.

Различия в величине урожая у изученных сортов в зависимости от засоления почвы связаны с биологическими особенностями этих сортов хлопчатника. Снижение количества и качества урожая у солеустойчивых сортов Бухара-6 и Бухара-102 по сравнению с другими сортами было меньше.

В условиях засоления почвы и неблагоприятного климата Бухарской области исследования роста, развития, урожайности, и, особенно, физиологических особенностей водообмена и продуктивности новых районированных и перспективных сортов хлопчатника не были проведены.

Нами выявлены зависимости интенсивности водообмена изученных сортов хлопчатника от степени засоления почвы. В условиях почвенного засоления отмечено снижение биологического и хозяйственного урожая у всех сортов. Засоление почвы во всех вариантах опыта привело к снижению интенсивности транспирации, увеличению водоудерживающей способности листьев. Под влиянием засоления почв изменяется соотношение количества общей, метаболической и связанной воды. С увеличением степени засоления повышается количество общей и связанной воды, снижается количество метаболической воды, водный дефицит листьев и концентрация клеточного сока также увеличиваются. Засоление почвы приводит к снижению водного потенциала и содержания хлорофиллов. Вязкость протоплазмы, содержание альбуминов увеличиваются во всех вариантах опыта у всех сортов хлопчатника при действии засоления почвы.

В результате опытов отмечена зависимость продуктивности сортов хлопчатника от степени засоления. Засоление почвы оказывает заметное действие на морфофизиологические особенности изученных сортов хлопчатника. Снижается рост растений у всех сортов в условиях засоления, уменьшается поверхность листьев. Чистая продуктивность фотосинтеза была значительно меньше в условиях засоления по сравнению с контролем. В итоге засоление оказало сильное влияние на урожай и его качество. Совместное действие засоления почвы и засухи, изменяя водный баланс изученных сортов хлопчатника, привело к снижению величины урожая и его качества.

В лабораторных опытах выявлено отрицательное влияние степени засоления на всхожесть, начальный рост и морфофизиологические особенности хлопчатника. В вариантах 50% влажности почвы от полной влагоемкости (ПВ) наблюдалось сильное влияние засоления на морфобиологические и физиологические показатели хлопчатника. С повышением засоленности почвы отмечены изменения морфофизиологических показателей (высоты стебля, поверхности листа, объема

корней, сырой массы проростков, содержания общей воды, тургороцентного состояния) у проростков всех изученных сортов.

Засоление почвы, отрицательно влияя на процесс водообмена у всех изученных сортов хлопчатника, изменяет физиологические и биохимические процессы. Интенсивность транспирации снижается у всех сортов под влиянием засоления. Увеличиваются водоудерживающая способность, также содержание общей и связанной воды, а количество свободной воды – уменьшается. Показано повышение дневного и остаточного дефицита воды, вязкости протоплазмы. Засоление почвы привело к снижению содержания хлорофиллов и интенсивности фотосинтеза, увеличению содержания альбуминов в листьях у всех сортов. Выявлена зависимость продуктивности и скорости водообмена у всех изученных сортов хлопчатника от степени засоления и влажности почвы. Показана обратная зависимость роста, площади листовой поверхности, чистой продуктивности фотосинтеза, урожая и его качества от степени засоления почвы. Такое резкое снижение наблюдалось при 30% влажности почвы от полной влагоемкости (ПВ).

Реакции адаптации изученных сортов хлопчатника (Бухара-6, Акдарья-6, Бухара-102, С-6524) к засолению почвы различной степени зависели от биологических особенностей этих сортов. При этом степень устойчивости сортов зависела от водного обмена и ряда физиологических процессов. При совместном воздействии засоления почвы и засухи наблюдалось снижение в разной степени адаптационного потенциала изученных сортов, что отражалось в уменьшении количества урожая хлопка-сырца и снижении его качества.

В условиях засоления почвы во всех опытах сравнительно высокий и качественный урожай получен у сортов Бухара-6 и Бухара-102. При засолении почвы, особенно его совместном действии с засухой, выявлено резкое снижение урожая и его качества у сортов С-6524 и Акдарья-6.

Литература

Гишева Н.Г., Шеуджен А.Х. Проблемы селекции риса на солеустойчивость // Вестник КНЦ АМАН. – 1999. – Вып.5. – С.10–16.

Строгонов Б.П. Физиологические основы солеустойчивости растений. – М.: Изд-во АН СССР, 1962. – 365 с.

Строгонов Б.П. Метаболизм растений в условиях засоления. – М.: Наука, 1976. – 646 с.

Строгонов Б.П., Клышев Л.К., Азимов Р.А. и др. Проблемы солеустойчивости растений. – Ташкент: ФАН, 1989. – 184 с.

SOIL SALINITY AND SALINE TOLERANCE OF THE SORTS OF COTTON

U.T. Norboeva

Bukhara State University, Bukhara, Uzbekistan

Abstract. There were conducted analysis of physiological signs and productivity of medium fibrous Bukhara-6, Bukhara-102, Akdarya-6 and C-6524 sorts of cotton in the conditions of salinity. There were set up changes of physiological parameters and productivity of the sorts of cotton on the dependence of the level of saline tolerance. On the influence of soil salinity was observed regression in various levels of adapted potentials investigated sorts that reflected on the regression of quantity and quality of the harvest cotton-raw.

Keywords: saline tolerance, salinity, cotton, photosynthesis, adaptation

РОЛЬ ПЛАЗМЕЛЕММНОЙ H^+ -АТФазы В ПРОРАСТАНИИ СЕМЯН

Н.В. Обручева, С.В. Литягина, И.А. Синькевич

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия, obroucheva@ippras.ru, n.obroucheva@mail.ru

Аннотация. Плазмалеммная H^+ -АТФаза осуществляет транспорт H^+ ионов из цитоплазмы в оболочки клеток, что приводит к их подкислению и повышению растяжимости. В различных семенах фермент при набухании приобретает нужную конформацию и переходит до начала прорастания из самоингибированной в активную форму.

Ключевые слова: прорастание семян, подкисление оболочек, плазмалеммная H^+ -АТФаза
DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-571-574

Прорастание семян реализуется в результате растяжения клеток осевых органов зародыша при поступлении воды в набухающие семена. Деление клеток начинается или одновременно с растяжением или значительно позже. Преимущество растяжения клеток заключается в гораздо более быстром увеличении размеров осевых органов, что обеспечивает контакт с фронтом почвенной влаги и возможность дальнейшего успешного развития проростка. Прорастание обычно регистрируют по проклевыванию кончика зародышевого корешка через семенную кожуру.

Растяжение клеток колеоптилей и гипокотилей обычно описывают как «кислый рост». Его механизм заключается в размягчении структуры клеточных оболочек в кислой среде, приводящей к повышению растяжимости клеток в результате активации гидролитических ферментов и белка экспансина, приводящих к частичному гидролизу полимеров и большему скольжению их цепей относительно друг друга [Шарова, 2004]. Под напором воды, поступающей в клетку по осмотическому градиенту, объем клетки начинает возрастать. Предполагается, что триггером «кислого» роста является фермент плазмалеммная H^+ -АТФаза [Nager, 2003], поскольку одна из его функций заключается в выносе H^+ ионов из цитоплазмы в апопласт через плазмалемму в обмен на ионы калия [Buch-Pederson et al., 2009]. Такая активация была описана как ответная реакция на обработку ауксинами [Шишова и др., 2012; Takahashi et al., 2012].

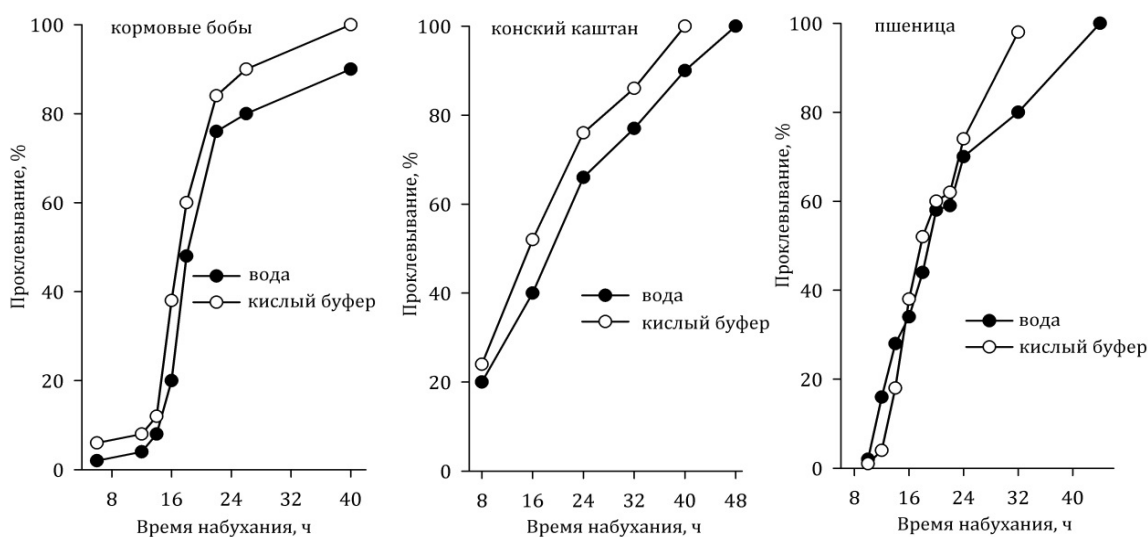


Рис. 1. Прорастание семян в кислом буфере.

В опытах с прорастающими семенами конского каштана, кормовых бобов и пшеницы нами было показано, что в осевых органах набухающих семян перед наклеванием начинается выделение H^+ ионов в апопласт в ответ на обработку кислым буфером (рис. 1, 2).

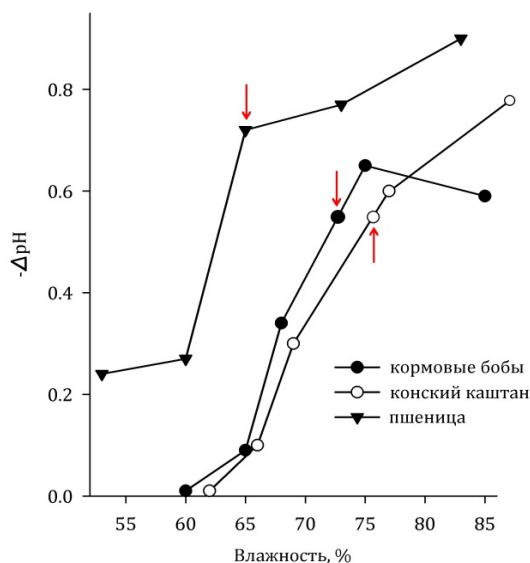


Рис. 2. Подкисление наружного раствора осевыми органами. Стрелками показано проклевание.

Подкисление наружного раствора регистрировали по изменению pH раствора, в котором инкубировали осевые органы в присутствии 10^{-4} М KCl. Такое подкисление усиливается под действием $5 \cdot 10^{-5}$ М фузикокина, активатора и стабилизатора плазмалеммной H^+ -АТФазы [Camoni et al., 2013] и ингибируется в присутствии $5 \cdot 10^{-3}$ М орто-ванадата, аналога фосфат-иона. Успешное функционирование плазмалеммной H^+ -АТФазы подтверждается тем, что фузикокин стимулирует само прорастание семян, а орто-ванадат ингибирует его (рис. 3).

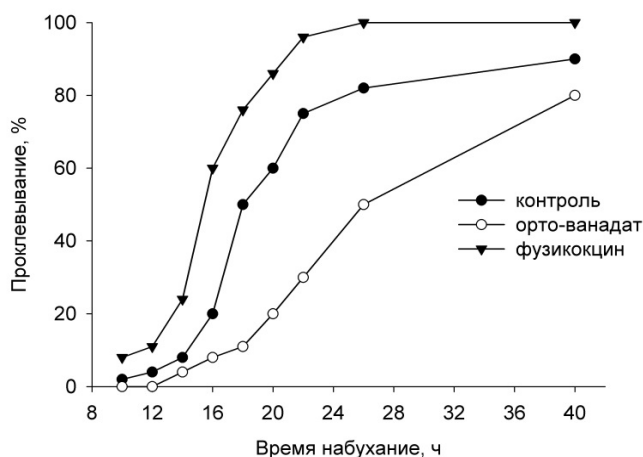


Рис. 3. Активация и ингибирование прорастания семян кормовых бобов.

Активация плазмалеммной H^+ -АТФазы в прорастающих семенах не ингибируется 10 μ М циклогексимидом, ингибитором синтеза белков, и 5 μ М α -аманитином, ингибитором транскрипции новых мРНК. Следовательно, ее активация в набухающих семенах не является результатом синтеза белка *de novo*, а образование молекул этого

фермента происходило еще в созревающих семенах на долгоживущих мРНК. Присутствие молекул фермента было показано у зародышей, выделенных из сухих семян кукурузы [Sanchez-Nieto et al., 1998], а его слабая активность в семенах, набухавших 5 часов, не сопровождалась синтезом белка [Sanchez-Nieto et al., 2011].

В наших опытах был использован иммунохимический метод идентификации белка плазмалеммной H^+ -АТФазы в микросомной фракции из осевых органов семян кормовых бобов и конского каштана с использованием специфических антител [Agrisera, Sweden]. Белок плазмалеммной H^+ -АТФазы с мол. массами 100 кД (кормовые бобы) и 95 кД (конский каштан) (рис. 4а) был обнаружен при набухании (полосы 1, 2, 5, 6), при проклевывании корешка (полосы 3, 7), и в растущих после проклевывания осевых органах (полосы 4, 8).

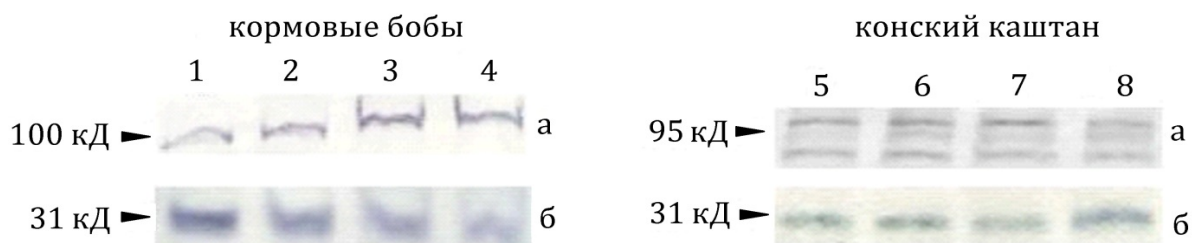


Рис. 4. Иммунохимическая идентификация белков плазмалеммной H^+ -АТФазы (а) и 14-3-3 белка (б) в набухающих, проклюнувшихся и растущих осевых органах. 1 – набухание, влажность 40%; 2 – набухание, влажность 60%; 3 – проклевывание, влажность 72-73%; 4 – рост; 5 – влажность, 62%; 6 – набухание, влажность 64-66%; 7 – проклевывание, влажность 73-74%; 8 – рост.

Можно предположить, что молекулы фермента находятся в начале набухания в самоингибированном состоянии; при поступлении воды приобретают активную конформацию [Portillo, 2000] в результате отодвигания регуляторного домена в цитоплазму, что делает его доступным для фосфорилирования. Фосфорилирование сопровождается связыванием 14-3-3 регуляторного белка, которое стабилизируется фузикококцином [Samoni et al., 2013], и фермент становится функционально активным. Недавно было показано, что в превращении фермента из самоингибированного состояния в активное принимает участие и смещение N-конца молекулы, что облегчает доступность протеинкиназы к треонину [Ekberg et al., 2010]. Наличие 14-3-3 белков наряду с присутствием плазмалеммной H^+ -АТФазы было подтверждено нами на всех этапах набухания и прорастания семян кормовых бобов и каштана (рис. 4б). Однако сам факт фосфорилирования треонина в модельных опытах подтвержден не был. Следует предположить, что при набухании переход из самоингибированного в активное состояние происходит за счет сдвигов С- и N-концов молекулы, вследствие приобретения молекулой фермента активной конформации в результате повышения оводненности. В ходе дальнейшей активации [Borch et al., 2002] взаимодействие между 14-3-3 белком и молекулой фермента может не зависеть от фосфорилирования, так как 14-3-3 белок взаимодействует с фосфотреонином, расположенным в конце регуляторного домена, и это связывание вызывается фузикококцином.

Таким образом, в прорастающих семенах имеются все необходимые компоненты для активации плазмалеммной H^+ -АТФазы, а именно, сам фермент и 14-3-3 белок; следует добавить, что и лиганды эндогенного фузикококцина были обнаружены в прорастающих семенах конского каштана и кормовых бобов [Antipova et al., 2003].

Работа поддержана грантом РФФИ № 17-04-00859.

Литература

Шарова Е.И. Клеточная стенка растений // Изд-во С.-Пб. Университета. – 2004. – 151 с.

Шишова М.Ф., Танкелон О.В., Рудашевская Е.Л., Емельянов В.В., Шахова Н.В., Кирпичникова А.А. Изменение транспортной активности протонных насосов клеток колеоптилей на разных этапах развития проростков кукурузы // Онтогенез. – 2012. – Т. 43, № 6. – С. 413–423.

Antipova O.V., Bartova L.M., Kalashnikova T.S., Obroucheva N.V., Voblikova V.D., et al. Fusicoccin induced cell elongation and endogenous fusicoccin-like ligands in germinating seeds // *Plant Physiol Biochem.* – 2003. – V. 41. – P. 157–164.

Borch J., Bych K., Roepstorff P., Palmgren M.G., Fugisang A.T. Phosphorylation-independent interaction between 14-3-3 protein and plasma membrane H⁺-ATPase // *Bioch. Soc. Transactions.* – 2002. – V. 30, No. 4. – P. 411–415.

Buch-Pedersen M.J., Pedersen B.P., Veierskov B., Nissen P., Palmgren M.G. Protons and how they are transported by proton pumps // *Eur. J. Physiol.* – 2009. – V. 457, No. 3. – P. 573–579.

Camoni L., Visconti S., Aducci P. The phytotoxin fusicoccin a selective stabilizer of 14-3-3 interactions? // *Int. Union Biochem. Mol. Biol.* – 2013. – V. 65, No. 6. – P. 513–517.

Ekberg K., Palmgren M.G., Veeierskov B., Buch-Pedersen M.J. A novel mechanism of P-type ATPase autoinhibition involving both termini of the protein // *J. Biol. Chem.* – 2010. – V. 285, No. 10. – P. 7344–7350.

Hager A. Role of plasma membrane H⁺-ATPase in auxin-induced elongation growth: historical and new aspects // *J. Plant Res.* – 2003. – V. 116, No. 6. – P. 483–505.

Portillo F. Regulation of plasma membrane H⁺-ATPase in fungi and plants // *Bioch. Biophys. Acta.* – 2000. – V. 1469. – P. 31–42.

Sanchez-Nieto S., de Gomez-Puyou M.T., Rodrigez-Sotres R., Garballo A., Gavilanes-Ruiz M. Comparison of plasma membrane H⁺-ATPase activity in vesicles obtained from dry and hydrated maize embryos // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1998. – V. 1414, No. 1–2. – P. 175–187.

Sanchez-Nieto S., Enriquez-Arredondo C., Guzman-Chavez F., Hernandez-Munoz R., Ramirez J. et al. Kinetics of the H⁺-ATPase from dry and 5-hours-imbibed maize embryos in its native, solubilized and reconstituted form // *Mol. Plant.* – 2011. – V. 4, No. 3. – P. 505–515.

Takahashi K., Hayashi K., Kinoshita T. Auxin activates the plasma membrane H⁺-ATPase by phosphorylation during hypocotyl elongation in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* – 2012. – V. 159, No. 2. – P. 632–641.

ROLE OF PLASMALEMMA H⁺-ATPASE IN SEED GERMINATION

N.V. Obroucheva, S.V. Lityagina, I.A. Sinkevich

K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia,
obroucheva@ippras.ru, n.obroucheva@mail.ru

Abstract. Plasmalemma-located H⁺-ATPase provides H⁺ ion transport from cytoplasm to cell walls, thus providing their acidification and higher extensibility. In various imbibing seeds, the enzyme molecules acquire proper conformation, leave their autoinhibited state and become activated prior to germination.

Keywords: *seed germination, cell wall acidification, plasmalemma H⁺-ATPase*

ВЫХОД СЕМЯН КОНСКОГО КАШТАНА ИЗ ГЛУБОКОГО ПОКОЯ И АКТИВАЦИЯ ПЛАЗМАЛЕММНОЙ H^+ -АТФазы

Н.В. Обручева, И.А. Синькевич, С.В. Литягина

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия, *Sinkevich.ia@mail.ru, obroucheva@ippras.ru*

Аннотация. В семенах конского каштана выход из покоя в условиях холодной стратификации происходит в два этапа: ослабление покоя зародыша и покоя, обусловленного кожурой. Окончание покоя зародыша связано, по-видимому, с переходом плазмалеммной H^+ -АТФазы из самоингибированного в активное состояние, тогда как выход из покоя, обусловленного кожурой, сопровождается активацией фермента.

Ключевые слова: конский каштан, выход из покоя, покой зародыша, покой, обусловленный кожурой, плазмалеммная H^+ -АТФаза

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-575-579

В предыдущей статье (см. Обручева и др. в этом сборнике) было показано, что плазмалеммная H^+ -АТФаза является ключевым ферментом в прорастании семян разного типа, осуществляя вынос H^+ ионов из цитоплазмы в клеточные оболочки; подкисление оболочек приводит к разрыхлению их структуры и повышению растяжимости, что способствует растяжению клеток осевых органов и началу прорастания. Данная статья посвящена изучению семян конского каштана в состоянии глубокого физиологического покоя и выхода из него, завершающегося прорастанием, а также активности плазмалеммной H^+ -АТФазы в осевых органах зародыша в этот период.

Семена конского каштана были выбраны потому, что они прорастают до длины 3-3,5 см в результате только растяжения клеток, а деления в меристеме корня начинаются по достижении этой длины [Obroucheva, 1999]. Прорастание семян каштана – удобная модель для изучения начальных этапов прорастания. Физиологические особенности этого объекта обусловлены тем, что конский каштан принадлежит к так называемым рекальцитрантным семенам, то есть к семенам, погибающим от потери воды после опадения. Такие семена распространены, главным образом, в тропиках и субтропиках, и приспособлены к быстрому прорастанию после опадения [Obroucheva et al., 2016]. В условиях Европы и центральной России семена конского каштана уходят осенью и зимой в состояние покоя и прорастают весной. Для наших опытов семена собирали в Москве на территории Главного Ботанического сада РАН в начале октября и помещали в холодную камеру при 4 °С во влажный песок на весь период стратификации, поддерживая постоянную влажность песка. Такие семена уходят осенью в состояние глубокого физиологического покоя, из которого постепенно выходят в течение стратификации (до 16 недель) и приобретают способность быстро прорасти даже при температуре 4 °С. Выход семян из покоя тестировали по их способности прорасти в оптимальных условиях в темноте при температуре 27 °С и достаточном водоснабжении. На рис. 1 показана динамика выхода семян конского каштана из покоя по ходу стратификации.

В ряде опытов интактные семена на разных сроках стратификации помещали в оптимальные условия проращивания и сравнивали динамику прорастания у них с семенами, у которых удаляли кожуру над корешком зародыша для облегчения поступления воды. На рис. 2 видно, что семена «с окошечком» прорастают гораздо быстрее, чем интактные семена «без окошечка», поскольку способность к прорастанию

не ограничена задержкой поступления воды. По разнице в прорастании между верхней и нижней кривой (заштриховано) можно судить о роли покоя, обусловленного наличием кожуры, в общей динамике выхода семян из покоя, а по площади под нижней кривой – о собственном покое зародыша. Следовательно, в течение первых 5-6 недель нахождение семян в глубоком покое обусловлено, главным образом, покоем самого зародыша, тогда как после этого срока главным компонентом покоя является задержка поступления воды к зародышу, то есть, покой, обусловленный кожурой. По-видимому, скорость выхода семян из покоя определяется приобретением кожурой проницаемости для воды.

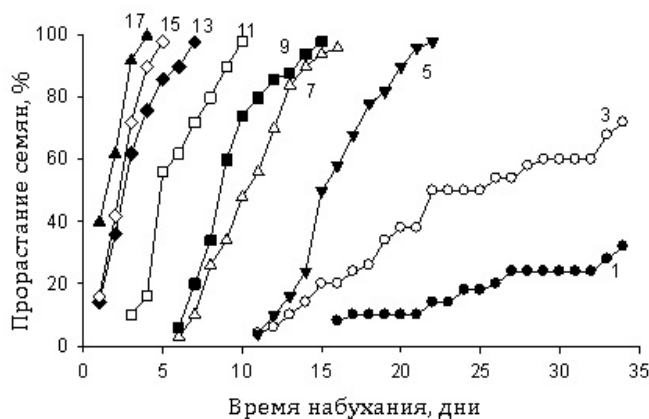


Рис. 1. Динамика прорастания целых семян конского каштана после различных сроков холодной влажной стратификации. Цифры на кривых обозначают недели стратификации.

Разное состояние осевых органов семян в период собственного покоя зародыша, во время проклеивания (после выхода из покоя) и в течение дальнейшего роста осевых органов (до длины 1.8-2.2 см) хорошо видно на рис. 3.

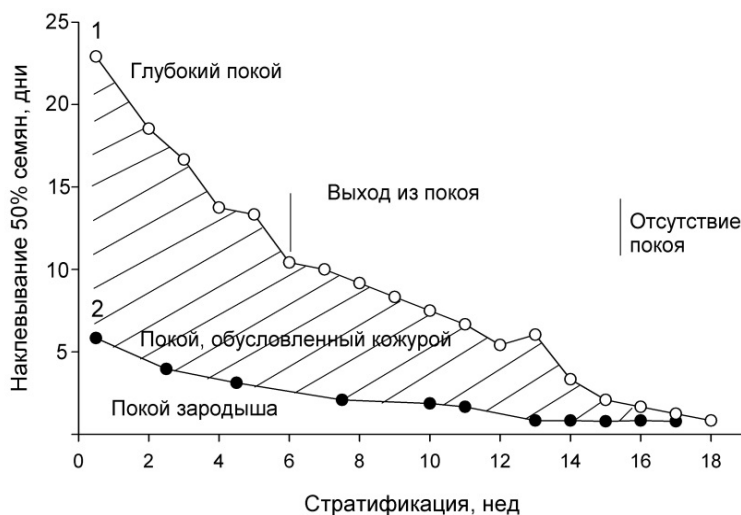


Рис. 2. Соотношение покоя зародыша и покоя, обусловленного кожурой, в стратифицируемых семенах каштана. 1 – наклеивание интактных семян, 2 – наклеивание семян с частично удаленной семенной кожурой.

Вес непроросших осевых органов, то есть находящихся в состоянии покоя, не превышает 70 мг. После проклеивания он составляет больше 100 мг, поскольку к этому времени кожура пропустила внутрь достаточно воды, чтобы влажность смогла возрасти до 65% на сырой вес. Цифры над кривыми показывают в сутках время

инкубации при 27 °С, за которое было достигнуто проклевывание; оно происходит относительно медленно в период собственного покоя зародыша (до 6 недель) и ускоряется в период покоя, наложенного кожурой, по мере поступления воды в семя.

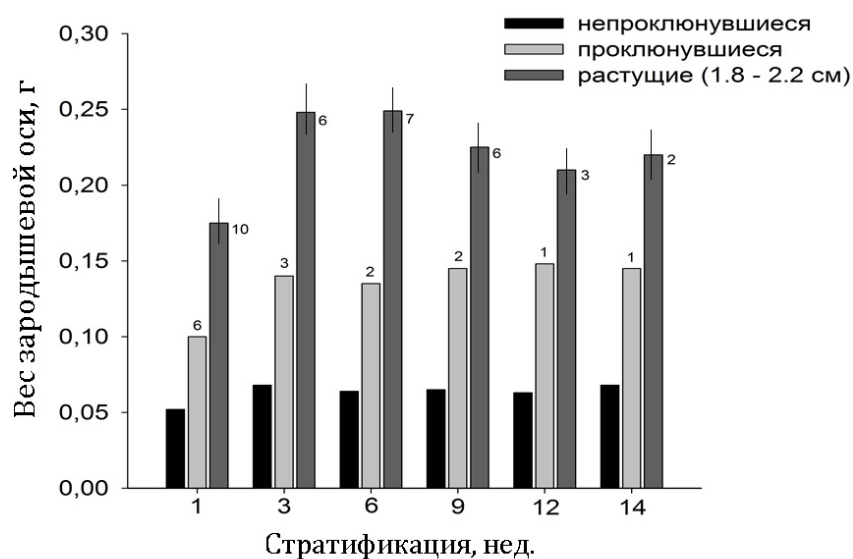


Рис. 3. Вес зародышевой оси и растущих органов конского каштана в период покоя и выхода из него.

Рост осевых органов после проклевывания также происходит вначале медленно, но ускоряется к концу стратификации. Очевидно, что в течение собственного покоя зародыша вес осевых органов остается низким, и если такие семена все же проклевываются, то медленно, и рост после проклевывания также замедлен. Период выхода из покоя характеризуется постепенным снятием покоя, обусловленного кожурой, усиливающимся поступлением воды, ускорением проклевывания и роста после прорастания.

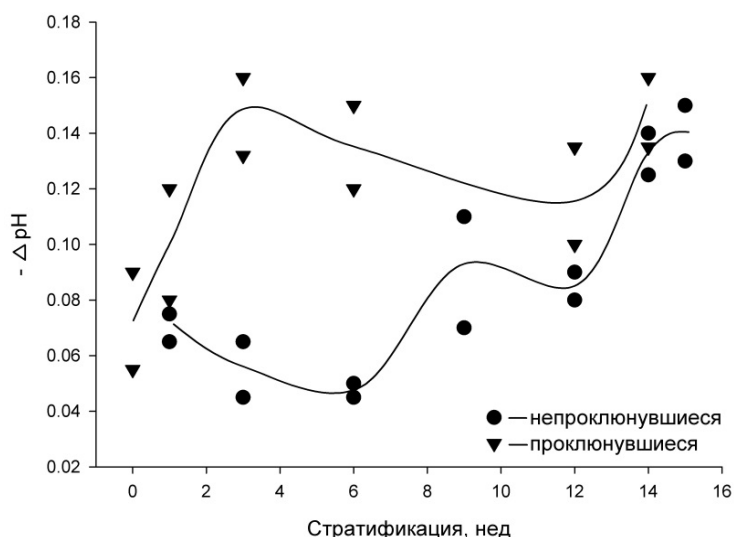


Рис. 4. Подкисление раствора осевыми органами каштана.

Далее была изучена способность осевых органов семян подкислять окружающий раствор, то есть была протестирована способность плазмалеммной H^+ -АТФазы выносить H^+ -ионы в апопласт и осуществлять подкисление клеточных оболочек, необходимое для начала растяжения клеток при прорастании. На рис. 4 видно, что в

непроросших семен, то есть в семенах, осевые органы которых находятся в состоянии собственного покоя и не способны прорасти в оптимальных условиях, происходит лишь слабое выделение H^+ -ионов.

К концу стратификации оно возрастает. В семенах, вышедших из состояния покоя, то есть проросших, вынос H^+ -ионов происходит гораздо активнее, что подтверждает активацию плазмалеммной H^+ -АТФазы в семенах, у которых клетки осевых органов начали растягиваться. Активация фермента была продемонстрирована в опытах с эндогенным активатором и стабилизатором активности плазмалеммной H^+ -АТФазы фузикоцином [Camoni et al., 2013]. Осевые органы семян, извлеченные на разных сроках стратификации, проращивали в оптимальных условиях в воде и в 10^{-6} М растворе фузикоцина до прорастания, после чего в них измеряли способность к выносу H^+ -ионов по подкислению раствора. Из графика следует, что примерно до 5 недель, то есть в период собственного покоя зародыша, не происходит активации подкисления фузикоцином, тогда как в период выхода семян из покоя и перехода к прорастанию фузикоцин стимулирует активность фермента.

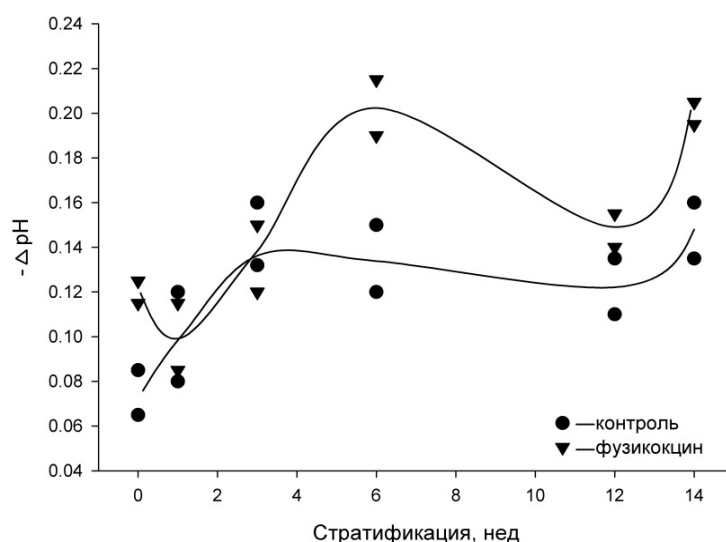


Рис. 5. Влияние фузикоцина (10^{-6} М) на подкисление раствора проросшими осевыми органами каштана.

По приведенным данным можно сделать вывод, что собственный покой зародыша может быть обусловлен наличием плазмалеммной H^+ -АТФазы в осевых органах семян в самоингибированном состоянии, не реагирующем на действие фузикоцина. В последующий период, когда семена постепенно выходят из покоя в результате поступления воды через кожуру, происходит активация фермента, в которой принимает участие фузикоцин. Такая активация обеспечивает возможность разрыхления структуры клеточных стенок и начало прорастания.

Работа поддержана грантом РФФИ № 17-04-00859.

Литература

Camoni I., Visconti S., Aducci P. The phytotoxin fusicoccin a selective stabilizer of 14-3-3 interactions? // *Int. Union Biochem. Mol. Biol.* – 2013. – V. 65, No. 6. – P. – 513–517.

Obroucheva N., Sinkevich I., Lityagina S. Physiological aspects of seed recalcitrance: a case study on the tree *Aesculus hippocastanum* // *Tree Physiol.* – 2016. – V. 36, No. 9. – P. – 1127–1150.

Obroucheva N.V. Seed germination: a guide to the early stages // Backhuys Publishers, Leiden. – 1999.

DEEP DORMANCY RELEASE IN HORSE CHESTNUT SEEDS AND ACTIVATION OF PLASMALEMMA H⁺-ATPASE

N.V. Obroucheva, I.A. Sinkevich, S.V. Lityagina

K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia,
Sinkevich.ia@mail.ru, obroucheva@ippras.ru

Abstract. In horse chestnut seeds, stratification-induced dormancy release occurs in two stages, namely by alleviation of embryo dormancy and coat-imposed dormancy. Loss of embryo dormancy appears to be related to the transformation of plasmalemma H⁺-ATPase from autoinhibited to active state while the release of coat-imposed dormancy is accompanied by enzyme activation.

Keywords: *horse chestnut, dormancy release, embryo dormancy, coat-imposed dormancy, plasmalemma H⁺-ATPase activation*

МЕЖМЕМБРАННЫЕ КОНТАКТЫ В ЗАЩИТЕ КЛЕТКИ ОТ СТРЕССОВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Н.В. Озолина

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия, ozol@sifibr.irk.ru

Аннотация. Рассмотрено участие межмембранных контактных сайтов в защите клетки от стрессового воздействия. В настоящее время определена физиологическая роль небольшого количества межмембранных контактных сайтов, главным образом связанных с ЭР, которая показала, что мембранные контактные сайты, являются регуляторами координации клеточной физиологии. Понимание роли мембранных контактных сайтов в защите клетки от стресса позволит направленно регулировать её адаптационные механизмы.

Ключевые слова: межмембранные контакты, стресс

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-580-583

Межмембранные контакты (МК) – места сближения мембран двух органелл. Расстояние между мембранами в таких сайтах составляет 10-30 нм, где минимум соответствует размеру одного белка, но слияние мембран не происходит. Частота этих контактов достаточно велика: в клетках животных она составляет 2-5% от всей площади эндоплазматического ретикулума (ЭР). Первые МК были обнаружены электронной микроскопией в 1950-х годах на печени крыс [Bernhard et al., 1952], у растений эти контакты были обнаружены в 1971 году [Mogge et al., 1971]. Наиболее изучены МК между ЭР и митохондриями. Они могут составлять до 20% от поверхности митохондрии [Rizzuto et al., 1998]. Доказано, что МК могут регулироваться клеточным сигналингом [Tourlmay, Prinz, 2011]. На дрожжах показано, что МК, образованные митохондриальной мембраной с органеллами отличаются от таковых, образованных ЭР с вакуолями, плазмалеммой и пероксисомами. Сеть МК динамично связывает все органеллы, и составляет единое целое в клеточном метаболизме [Elbaz-Alon, 2017].

МК представляют собой мембранные домены, состоящие из специализированных липидов и белков. Они обогащены холестерином и кавеолином, что позволяет отнести их к липидным рафтам [Helle et al., 2013]. Рафтовая структура МК была неоднократно доказана целым рядом исследователей и упорядоченность липидов в зонах МК выше, чем в мембранах органелл, взаимодействие между которыми они обеспечивают. Наиболее интересной составляющей МК являются белки. Изменение в их составе меняют молекулярную композицию и функции этих структур. МК можно рассматривать как платформы, на которых специфические белки двух мембран взаимодействуют, и создают функционально специализированную зону [Hoffmann, Kukulski, 2017].

Разные МК могут участвовать в выполнении разных функций. В настоящее время установлено, что МК обеспечивают обмен липидов, ионов, и вторичных мессенджеров, принимают участие в процессе деления митохондрий, служат исходной точкой для образования аутофагосом, соединяют пути сигналинга и цитоскелет [Simmen, Tagaya, 2017]. По мере изучения новых МК выясняются и новые функции, в выполнение которых они принимают участие. Одна из таких функций – защита клетки от стрессовых воздействий. Рассмотрим известные на сегодня способы участия МК в антистрессовой защите клетки.

В разных МК идентифицированы белки высоко консервативного семейства, осуществляющие транспорт стерина (Ltc/Lam). Недавно получены данные

показывающие, что члены этого семейства белков принимают участие в создании мембранных доменов, которые разделяют регуляторы TORC1 и TORC2 путей сигналинга которые координируют клеточную чувствительность к стрессу с гомеостазом стероидов [Murley et al., 2017].

Недавние исследования показали, что структура и биохимический состав МК зависит от клеточных условий, таких как стресс [Bravo et al., 2011]. Известно, что клеточный стресс влияет на метаболизм церамидов и соответственно на рафтовые структуры, являющиеся основой МК. Разрушение рафтовых структур или ингибирование синтеза церамидов в МК снижает содержание рецепторов, связанных с церамидами, которые расположены в МК. Эти рецепторы (sigma-1 receptor (Sig-1R)) являющиеся сенсорами стресса в ЭР (IRE1) участвуют в обеспечении выживания клетки. Они отвечают за удаление из митохондрий активных форм кислорода, и относятся к важным внутриклеточным регуляторам антистрессовой защиты клетки [Mori et al., 2013].

Важную роль в защите от стрессов, которые оказывают механические повреждения клеток, производят изменения в клеточном тургоре, играют МК между ЭР и плазмалеммой. Эти МК активно исследуют и достаточно много интересной информации об их функционировании получено не только на клетках животных и дрожжей, но и на клетках растений, в частности на арабидопсисе. В этих МК обнаружены белки семейства Synaptotagmin1 (SYT1), действующие как молекулярные мосты. [Perez-Sancho et al., 2015]. Ранее сообщалось, что SYT1 это важный компонент, защищающий мембрану от разрушения при замораживании и солевом стрессе. Показано, что пространственная локализация SYT1 может контролироваться микротрубочками цитоскелета, что обеспечивает структурную поддержку и необходимо для защиты клеток Arabidopsis при механическом стрессе (рисунок).

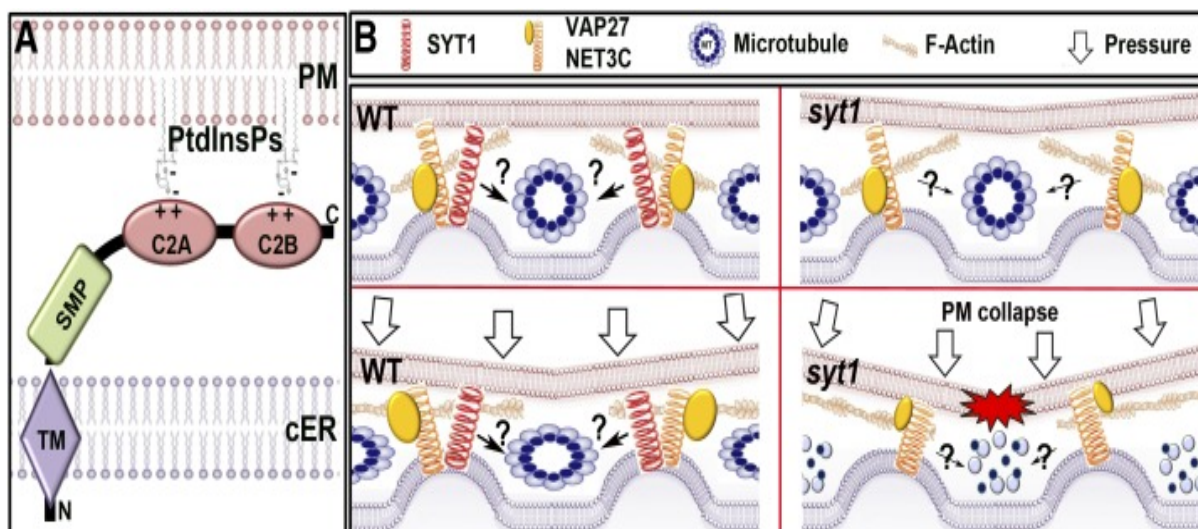


Рисунок. Роль белка SYT1 в МК ЭР-плазмалемма в защитном механизме при механическом стрессовом воздействии. Отсутствие этого белка в зоне межмембранного контакта ведёт при механическом стрессе к разрушению плазматической мембраны.

Важной функцией МК в плане защиты клетки от стресса является участие в обеспечении кальциевого обмена между компартментами клетки. Возможность перераспределения кальция между органеллами может служить для снижения его высоких концентраций в цитоплазме при нарушении метаболических процессов. Показано, что кальциевый канал присутствует на МК ЭР-митохондрия [Csordas et al.,

2006]. Кальций поступает через этот канал из ЭР в митохондрии. Регуляция потока кальция осуществляется в МК. Чрезмерное увеличение этого потока ведёт к апоптозу [Hajnoczky et al., 2006].

Один из интенсивно изучаемых в настоящее время видов стресса клетки связан с функциональным дисбалансом ЭР. Изучение особенностей этого стрессового воздействия на клетку показало, что при переходе от адаптивной фазы ЭР стресса к клеточной смерти в митохондриях происходило увеличение продукции АТФ, потребления кислорода и митохондриального трансмембранного потенциала. Также было отмечено хорошо заметное зависимое от микротрубочек цитоскелета движение, которое приводило к образованию дополнительных МК между митохондриями и ЭР. После чего увеличивался поток ионов кальция из ЭР в митохондрии для обеспечения метаболической поддержки. Затем связь между органеллами уменьшалась, все метаболические изменения аннулировались, – это показывает, что физическое взаимодействие между стрессированным ЭР и митохондрией необходимая первая ступень для увеличения митохондриального метаболизма. Предполагают, что объединение митондрий с ЭР и являющееся результатом увеличение поступления ионов кальция с одной стороны способствует увеличению митохондриального метаболизма как адаптивного ответа, но с другой стороны может приводить к дисфункции митондрий и апоптозу, если стресс не разовьётся [Bravo et al., 2011].

МК принимают активное участие в защите клетки от трофического стресса. На дрожжах было показано, что при продолжительном голодании наступает недостаток энергии в клетке, в результате чего начинает расширяться сеть МК между вакуолярной мембраной и ЭР, а также другими органеллами, например липидными каплями. Происходило увеличение МК между ЭР и вакуолью в ответ на метаболический стресс. Белки МК участвовали в образовании моста между мембранами. Например, показано увеличение латеральной кластеризации между белками в контактных центрах ядро – вакуоль [Millen et al., 2008], также между белками в контактных центрах вакуоль – липидная капля [Nagiri et al., 2018], что приводило к аутофагии. Доказана тесная метаболическая связь между трофическим стрессом и биогенезом липидных капель являющихся источником запасных питательных веществ в клетках дрожжей и всё это пространственно скоординировано с МК ЭР-вакуоль.

Таким образом, МК, являясь «сердцем» координации клеточной физиологии [Honscher et al., 2014] принимают самое активное участие в защите клетки от стрессового воздействия. Пока изучена физиологическая роль очень небольшого количества МК, главным образом связанных с ЭР. Десятки других МК между разными органеллами ждут своих исследователей. Понимание функционирования МК и их роли в защите от стрессовых воздействиях даст возможность направленно повысить эффективность защитных механизмов клетки.

Литература

Bernhard W., Rouiller C. Close topographical relationship between mitochondria and ergastoplasm of liver cells in a definite phase of cellular activity // *J. Biophys. Biochem. Cytol.* – 1956. – V. 2. – P. 73–78.

Bravo R., Vicencio C., Parra V., Troncoso R., Munoz J.P., Bui M., Quiroga C., Rodriguez A.E., Verdejo H.E., Ferreira J. Increased ER-mitochondrial coupling promotes mitochondrial respiration and bioenergetics during early phases of ER stress // *J. Cell Sci.* – 2011. – V. 124. – P. 2143–2152.

Csordas G., Renken C., Varnai P., Walter L., Weaver D., Buttle K., Balla T., Mannella C.A., Hajnoczky G. Structural and functional features and significance of the physical linkage between ER and mitochondria // *J. Cell Biol.* – 2006. – V. 174. – P. 915–921.

Elbaz-Alon Y. Mitochondria-organelle contact sites: the plot thickens // *Biochem. Soc. Trans.* – 2017. – V. 45, No. 2. – P. 477–488.

Hajnoczky G., Gsordas G., Das S., Garcia-Perez C., Saotome M., Sinha Roy S., Yi M. Mitochondrial calcium signaling and cell death: approaches for assessing the role of mitochondria Ca^{2+} uptake in apoptosis // *Cell Calcium*. – 2006. – V. 40. – P. 553–560.

Helle S.C., Kanfer G., Kolar K., Lang A., Michel A.H., Kornmann B. Organization and function of membrane contact sites // *Biochem. Biophys. Acta*. – 2013. – V. 1833. – P. 2526–2541.

Hoffmann P.C., Kukulski W. Perspective on architecture and assembly of membrane contact // *Biol. Cell*. – 2017. – V. 109. – P. 1–9.

Honscher C., Mari M., Auffarth K., Bohnert M., Griffith J., Geerts W., van de Laan M., Cabrera M., Reggiori F., Ungermann C. Cellular metabolism regulates contact sites between vacuoles and mitochondria // *Dev. Cell*. – 2014. – V. 30, No. 1. – P. 86–94.

Mori T., Hayashi T., Hayashi E. Su T.P. Sigma-1 reseptor chaperone at the ER-mitochondrion interface mediated the mitochondrion-ER-nucleus signaling for cellular survival // *PLoS One*. – 2013. – V. 8, No. 10. – e76941.

Morre D.J., Merritt W.D., Lembi C.A. Connections between mitochondria and endoplasmic reticulum in rat liver onion stem // *Protoplasma*. – 1971. – V. 73. – P. 43–49.

Murley A., Yamada J., Niles B.J., Toulmay A., Prinz W.A., Powers T., Nunnari J. Sterol transporters at membrane contact sites regulate TORC1 and TORC 2 signaling // *J. Cell Biol.* – 2017. – V. 216, No. 2 – P. 2679–2689.

Perez-Sancho J., Vanneste S., Lee E., McFarlane H.E., del Valle A.E., Valpuesta V., Friml J., Botella M.A., Rosado A. The Arabidopsis Synaptogmin1 is enriched in endoplasmic reticulum-plasma membrane contact sites and confers cellular resistance to mechanical stress // *Plant Physiol.* – 2015. – V. 168. – P. 132-143.

Rizzuto R., Pinton P., Carrington W., Fay F.S., Fogarty K.E., Lifshitz L.M., Tuft R.A., Pozzan T. Close contacts with the endoplasmic reticulum as determinants of mitochondrial Ca^{2+} responses // *Science* – 1998. – V. 280 – P. 1763–1766.

Simmen T., Tagaya M. Organelle communication at membrane contact sites (MCS): from curiosity to center stage in cell biology and biomedical research // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2017. – V. 997. – P. 1–12.

Tagaya M., Simmen T. Organelle contact sites. From molecular mechanism to disease. – Springer, 2017. – DOI 10.1007/978-981-10-4567-7_1

Toulmay A., Prinz W.A. Lipid transfer and signaling at organelle contact sites: the tip of the iceberg // *Curr. Opin. Cell Biol.* – 2011. – V. 23, No. 4. – P. 458–463.

MEMBRANE CONTACT SITES TO PROTECT CELLS FROM STRESS

N.V. Ozolina

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia, ozol@sifibr.irk.ru

Abstract. The participation of membrane contact sites in the protection of cells from stress. Currently, the physiological role of a small number of membrane contact sites, mainly associated with ER, which showed that membrane contact sites, are regulators of coordination of cellular physiology. Understanding the role of membrane contact sites in protecting cells from stress will allow to regulate its adaptive mechanisms.

Keywords: *membrane contact sites, stress*

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ КАЛИЯ В СИСТЕМЕ ЦЕЛОГО РАСТЕНИЯ У ГАЛОФИТА *SUAEDA ALTISSIMA* (L.) PALL. В УСЛОВИЯХ ЗАСОЛЕНИЯ

Ю.В. Орлова¹, О.В. Майорова¹, Л.А. Халилова¹, Н.А. Мясоедов¹, О.И. Неделяева¹, Л.Г. Попова¹, Ю.В. Балнокин^{1, 2}

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия, orl-jul@mail.ru

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия, balnokin@mail.ru

Аннотация. Измерено содержание K^+ , Na^+ и Cl^- в корне и листе, а также исследовано распределение элемента K^+ по тканям у галофита *Suaeda altissima* (L.) Pall. в условиях засоления. NaCl приводил к увеличению содержания ионов в корне. В листе содержание Na^+ и Cl^- при этом возрастало, а K^+ снижалось. Продемонстрировано дифференциальное распределение K в тканях органов и влияние засоления на распределение K^+ . Обсуждается физиологическая роль рециркуляции K^+ в системе целого растения у галофита в условиях засоления.

Ключевые слова: X-ray микроанализ, галофиты, солеустойчивость, *Suaeda altissima*

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-584-588

Солеустойчивые растения в условиях почвенного засоления способны поддерживать концентрации Na^+ и Cl^- в цитоплазме клеток на нетоксическом уровне, составляющем несколько ммоль/л, а концентрации K^+ – на уровне 100-150 ммоль/л. Калий важен как для гликофитов, так и галофитов, поскольку участвует во многих физиологических процессах (прорастание семян, осморегуляция, регуляция устьичной проводимости, настические движения листьев, активация ферментов, загрузка и разгрузка сахаров во флоэме, транспорт нитратов, регуляция pH цитозоля, стабилизация мембранного потенциала, трафик белка в белок-запасующие вакуоли). Ионы калия также нужны для роста, развития и репродуктивных процессов. Засоление изменяет распределение K^+ в клетках, тканях и органах растений и нарушает баланс этого иона [Anschütz et al., 2014]. В условиях засоления наблюдается снижение концентрации K^+ в цитоплазме, что происходит за счет Na^+ -индуцированной деполяризации плазмалеммы, приводящей к оттоку K^+ через выходные селективные (KORC, SKOR) и неселективные (NORC) калиевые каналы, как в клетках корня, так и листьев [Shabala et al., 2014; Pottosin et al., 2014]. Na^+ в наружной среде конкурирует с K^+ за поглощение ион-транспортными белками (высокоаффинными калиевыми переносчиками АКТ, НАК/КУР, НКТ, низкоселективными K^+ -каналами (KIRC) и катионными каналами (NSCC или VIC). Такая конкуренция обусловлена сходством физико-химических свойств Na^+ и K^+ . Токсичность ионов Na^+ , по существу, обусловлена не возрастанием их концентрации в цитоплазме, а скорее снижением отношения K^+/Na^+ . Это отношение определяет метаболическую компетентность клетки и, в конечном счете, способность растения выживать на засоленной почве. Оптимальное отношение K^+/Na^+ в цитозоле поддерживается за счет ограничения накопления Na^+ и /или предотвращением потери K^+ клеткой. Для галофитов способность сохранять K^+ в цитоплазме, также как и для гликофитов, является важным элементом механизма солеустойчивости.

Цель настоящей работы состояла в исследовании распределения ионов Na^+ , K^+ и Cl^- в системе целого растения у галофита *Suaeda altissima* при разных концентрациях

NaCl в питательном растворе (ПР). Особое внимание было уделено K^+ , как иону, выполняющему множество важных физиологических функций и связи его распределения в растении с распределением Na^+ и Cl^- .

Растения *S. altissima* выращивали в условиях водной культуры в ПР Робинсона и Даунтона, в который добавляли NaCl в конечных концентрациях 3, 100, 250, 500 или 750 мМ. Для измерения общего содержания ионов в органах растений из корней и листьев, выращенных при разных концентрациях NaCl в ПР, получали водные экстракты, в которых измеряли содержание Na^+ и K^+ с помощью пламенного фотометра, а Cl^- титрованием ионами ртути. Распределение ионов по тканям корня изучали с помощью сканирующего электронного микроскопа, совмещенного с рентгеноспектральным микроанализатором.

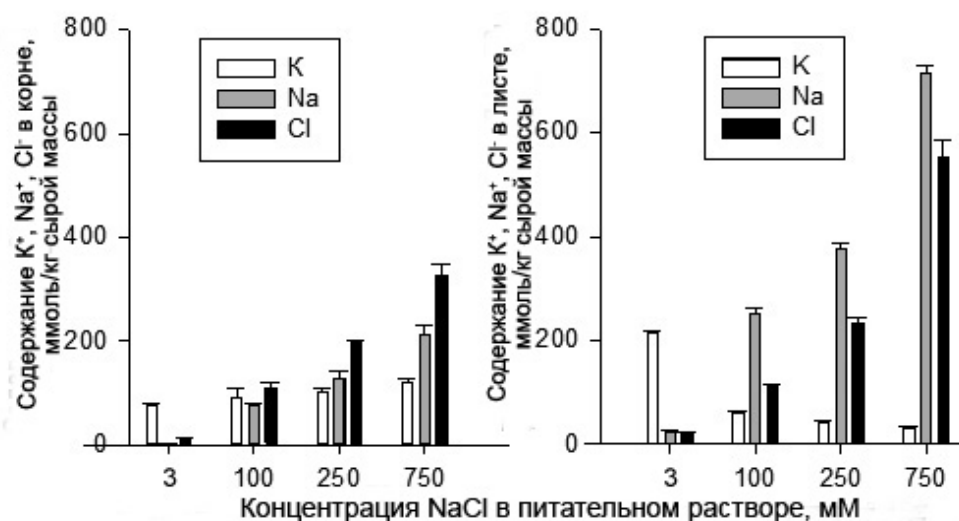


Рис. 1. Содержание ионов в органах *S. altissima* в условиях засоления.

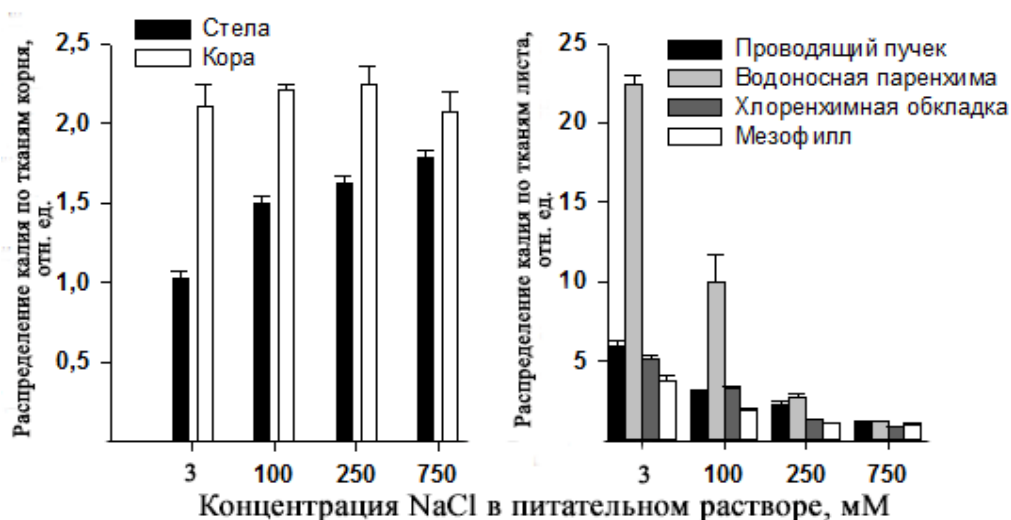


Рис. 2. Распределение калия в тканях органов *S. altissima* в условиях засоления.

При увеличении наружной концентрации NaCl от 3 до 750 мМ содержание K^+ в корнях *S. altissima* не только не снижалось, что обычно наблюдается у гликофитов в условиях засоления, но даже возрастало (рис. 1). Возрастание содержания этого иона в корнях сопровождалось его снижением в листьях. При повышении наружной

концентрации NaCl от 3 до 750 мМ содержание K^+ в корнях увеличилось на 40%, а в листьях оно снизилось в 5 раз. Увеличение уровня засоления в указанном выше диапазоне привело к многократному возрастанию содержания ионов Na^+ и Cl^- , как в корнях, так и в листьях (рис. 1). Следует отметить, что в корнях содержание Cl^- превышало содержание Na^+ , а в листьях, наоборот, содержание Na^+ было выше, чем содержание Cl^- при всех концентрациях NaCl в ПР.

Исследование поперечных срезов органов *S. altissima* с помощью сканирующего электронного микроскопа, совмещенного с рентгеноспектральным микроанализатором, выявило распределение элементов K^+ по тканям у этого растения (рис. 2). Увеличение концентрации NaCl в ПР не оказало влияния на распределение K^+ в наружной части корня (кора+эпидерма). Его относительное содержание в этих тканях было постоянным при всех уровнях засоления. Во внутренней части корня (центральный цилиндр) относительное содержание K^+ по мере повышения наружной концентрации NaCl монотонно возрастало и достигало максимального значения при 750 мМ NaCl в ПР. Элементное картирование отдельных клеток эпидермы, коры и центрального цилиндра корня показало, что K^+ преимущественно локализован в протопластах, а также в стенках и просветах сосудов ксилемы при всех наружных концентрациях NaCl.

Изучение распределения элементов в листьях *S. altissima* показало неравномерное распределение K^+ по тканям. При низких и умеренных концентрациях NaCl в ПР (3 и 100 мМ) самое высокое содержание этого элемента наблюдалось в водоносной паренхиме. Оно существенно превышало таковое в проводящем пучке, хлоренхимной обкладке и мезофилле. По мере повышения уровня засоления относительное содержание K^+ снижалось во всех тканях листа. За счет более резкого снижения содержания K^+ в водоносной паренхиме, чем в других тканях листа, различия в содержании K^+ между ними сглаживались. При 750 мМ NaCl в среде K^+ был практически равномерно распределен по тканям листа, а его относительное содержание было ниже, чем в корнях. Элементное картирование отдельных клеток тканей листа показало, что K^+ локализован преимущественно в протопластах клеток. Таким образом, при низких и умеренных концентрациях NaCl в ПР водоносная паренхима листа является основным депо для калия. По мере повышения уровня засоления, по-видимому, усиливается отток K^+ из листьев и, прежде всего, из клеток водоносной паренхимы в корни, где он накапливается в центральном цилиндре.

Встает вопрос, каков физиологический смысл перераспределения K^+ при засолении? *S. altissima* является соленакапливающим галофитом (эугалофитом), формирующим при засолении концентрационные градиенты ионов Na^+ и Cl^- в системе почва–корень–лист, что позволяет поддерживать ток воды из почвы в корень и далее в побег даже при низкой транспирации [Балнокин и др., 2005]. *S. altissima* относится к C_4 -растениям, у которых транспорт пирувата в хлоропласт требует наличие ионов Na^+ . Пируват является субстратом для синтеза фосфоэнолпирувата. Котранспорт Na^+ и пирувата осуществляется Na^+ /пируват симпортером BASS2 [Furumoto et al., 2011]. В отсутствие засоления значительный вклад в функцию регуляции осмотического давления в вакуолях клеток листьев вносят ионы K^+ , которые в этих условиях частично компенсируют недостаток Na^+ . С этим согласуется наличие в вакуолярной мембране нескольких изоформ катион/ H^+ антипортеров NHX со сродством к Na^+ или K^+ [McCubbin et al., 2014]. В условиях засоления потребность листьев в ионах K^+ , как осмотике, отпадает, и они заменяются ионами Na^+ . Отток K^+ в корень в этих условиях, по-видимому, важен для клеток корня не только для ослабления токсических эффектов Na^+ и Cl^- и регуляции их осмотического давления, но, возможно, связан с вовлечением K^+ в процессы дальнего транспорта ассимилятов. Известно, что загрузка сахарозы во флоэму в фотосинтезирующих тканях происходит при больших значениях градиента

электрохимического потенциала H^+ ($\Delta\mu_{H^+}$) и, соответственно, при гиперполяризации ПМ. Разгрузка сахарозы, наоборот, осуществляется при низких значениях $\Delta\mu_{H^+}$ и деполяризации ПМ [Geiger, 2011]. K^+ , обладающий наибольшей мембранной проницаемостью, по сравнению с другими ионами, может выступать в роли регулятора диффузионной составляющей электрического потенциала на мембране.

Другой вопрос, возникающий в связи с перераспределением K^+ в растениях *S. altissima* при засолении, связан с выяснением пути, по которому ионы K^+ транслоцируются из листа в корень. Известно, что ионы K^+ могут перемещаться из надземных органов в корень с флоэмным током. Рециркуляция K^+ возможна через флоэму с помощью АКТ2 [Wigoda et al., 2014]. Этот переносчик использует калий для загрузки сахарозы во флоэму в листе. Обратное пассивное поступление K^+ из ксилемы в клетки стелярной паренхимы корня возможно через селективный входной K^+ -канал KIRC, который активируется при гиперполяризации ПМ.

Сохранение K^+ в клетках и поддержание относительно высоких значений отношения K^+/Na^+ свидетельствуют о способности растения осуществлять ионный гомеостаз в условиях засоления. Рассчитанное по общему содержанию ионов отношение K^+/Na^+ в корнях при 750 мМ NaCl в ПР дало величину 0,5. Рентгеновский микроанализ показал, что K, преимущественно локализован в протопластах клеток коры, эпидермы и клеток центрального цилиндра корня. С учетом этого, реальные значения отношений K^+/Na^+ в протопластах клеток этих тканей должны иметь более высокие значения, чем рассчитанные по среднему содержанию этих элементов в корнях. Эффективное поддержание K^+ -баланса в клетках корня *S. altissima* по мере увеличения засоления может также объясняться особенностями функционирования ион-транспортирующих систем плазматической мембраны у этого галофита. В частности, высокая активность H^+ -АТФазы плазмалеммы клеток коры и эпидермы корня может скомпенсировать NaCl-индуцированную деполяризацию плазмалеммы и поддержать электрический потенциал на уровне, препятствующем потере ионов K^+ клеткой [Demidchik et al., 2010]. Высокая активность H^+ -АТФазы также обеспечивает выведение Na^+ из клетки с помощью Na^+/H^+ антипортера, что снижает концентрации этого токсического иона в цитоплазме и повышает в апопласте.

Литература

Балнокин Ю.В., Котов А.А., Мясоедов Н.А., Хайлова Г.Ф., Куркова Е.Б., Луньков Р.В., Котова Л.М. Участие дальнего транспорта Na^+ в поддержании градиента водного потенциала в системе среда–корень–лист у галофита *Suaeda altissima* // Физиология растений. – 2005. – Т. 52. – С. 549–557.

Anschütz U., Becker D., Shabala S. Going beyond nutrition: regulation of potassium homeostasis as a common denominator of plant adaptive responses to environment // J. Plant Physiol. – 2014. – V. 171. – P. 670–687.

Demidchik V., Maathuis F. Ion channels and plant stress responses. – Heidelberg: Springer, 2010. – P. 23–46.

Furumoto T., Yamaguchi T., Ohshima-Ichie Y., Nakamura M., Tsuchida-Iwata Y., Shimamura M. et al. A plastidial sodium-dependent pyruvate transporter // Nature. – 2011. – V. 476. – P. 472–475.

Geiger D. Plant sucrose transporters from a biophysical point of view // Molecular Plant. – 2011. – V. 4. – P. 395–406.

McCubbin T., Bassil E., Zhang S., Blumwald E. Vacuolar Na^+/H^+ NHX-Type antiporters are required for cellular K^+ homeostasis, microtubule organization and directional root growth // Plants. – 2014. – V. 3. – P. 409–426.

Pottosin I., Dobrovinskaya O. Non-selective cation channels in plasma and vacuolar

membranes and their contribution to K^+ transport // J. Plant Physiol. – 2014. – V. 171. – P. 732–742.

Shabala S., Pottosin, I. Regulation of potassium transport in plants under hostile conditions: implications for abiotic and biotic stress tolerance // Physiol. Plant. – 2014. – V. 151. – P. 257–279.

Wigoda N., Moshelion M., Moran N. Is the leaf bundle sheath a “smart flux valve” for K^+ nutrition? // J. Plant Physiol. – 2014. – V. 71. – P. 715–722.

PARTITION OF POTASSIUM IN WHOLE PLANT OF THE HALOPHYTE *SUAEDA ALTISSIMA* (L.) PALL. UNDER SALINITY

Y.V. Orlova¹, O.V. Majorova¹, L. A. Khalilova¹, N.A. Myasoedov¹, O.I. Nedelyaeva¹, L.G. Popova¹, Y.V. Balnokin^{1,2}

¹K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia, orl-jul@mail.ru

²Federal State Budget Educational Institution of Higher Education M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia, balnokin@mail.ru

Abstract. The content of K^+ , Na^+ , Cl^- in roots and leaves of the halophyte *S. altissima* being under salinity was measured. The partition of the element K among *Suaeda* tissues was also investigated. NaCl resulted in an increase in the content of K^+ , Na^+ , Cl^- in the roots. In the leaves, the content of Na^+ , Cl^- increased, while K^+ decreased. The differential partition of K in the tissues of *Suaeda* organs and the effect of salinity on the K partition were demonstrated. The physiological role of K^+ recirculation in *S. altissima* whole plant under salinity is discussed.

Keywords: X-ray microanalysis, halophytes, salt tolerance, *Suaeda altissima*

ВЛИЯНИЕ МИНЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ НА АДАПТИВНЫЕ РЕАКЦИИ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ ПРИ ДЕЙСТВИИ АБИОТИЧЕСКОГО СТРЕССА

Л.В. Осипова¹, Т.Л. Курносова¹, И.А. Быковская¹, И.В. Верниченко², В.В. Носиков¹, В.А. Литвинский¹

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт агрохимии имени Д.Н. Прянишникова» Москва, Россия, *legos4@yandex.ru*

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева», Москва, Россия, *i.vernichenko@gmail.com*

Аннотация. В серии лабораторных и вегетационных экспериментов изучали влияние уровня обеспеченности основными минеральными элементами на устойчивость и продуктивность ярового ячменя при действии стресса.

Ключевые слова: яровой ячмень, сорта, стресс, меченый азот, фотосинтетические пигменты

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-589-591

Увеличение в последние десятилетия абиотических стрессов, действующих на растения в течение вегетации, привело к низкой реализации потенциала продуктивности и снижению урожаев яровых зерновых культур. Многочисленные исследования посвящены изучению механизмов устойчивости и поиску средств повышающих адаптивность растений. Показано, что приспособление к различным стрессам осуществляется комплексом стратегий, через морфологические, физиологические и биохимические изменения. Общей неспецифической реакцией на действие стрессов различной природы является активация процессов свободнорадикального окисления (СРО) из-за избыточного накопления активных форм кислорода (АФК) [Осипова, 2016; Apel et al., 2004, 2011; Osipova, 2016].

Теория свободнорадикального окисления, предложенная для животных организмов, успешно применяется для изучения роли АФК в растительных объектах. В свете этой теории, роль АФК, образование, которых связывали исключительно с развитием повреждений в клетках, в последнее время рассматривается как необходимое звено метаболизма в качестве регуляторных молекул [Лукаткин, Нарайкина, 2011; Arova, 2002].

Считается, что при одном уровне свободнорадикального окисления обеспечивается нормальное течение биохимических процессов, а его изменение приводит к повреждениям клетки. В отдельных работах представлены данные о физиологическом и токсическом уровне свободнорадикального окисления, однако они описывают конкретные ситуации и не несут обобщающего характера.

Среди всесторонних исследований по изучению влияния абиотических стрессов проводимых на различных уровнях организации растительного организма наименее изученной остается роль минерального питания в реализации адаптивного потенциала зерновых культур [Полесская и др., 2006; Радюкина и др., 2008; Карпец, Колупаев, 2008; Гириджанов и др., 2012].

В серии лабораторных и вегетационных экспериментов изучали влияние уровня обеспеченности основными минеральными элементами на устойчивость и продуктивность ярового ячменя при действии стресса. В лабораторных опытах стресс имитировали растворами сахарозы, в вегетационных – прекращением полива в критический период онтогенеза при закладке продуктивных элементов на конусе

нарастания главного побега. Растения выращивали до полной спелости на бедной дерново-подзолистой среднесуглинистой почве без агрохимических средств и на фоне известкования и внесения NPK.

Для сравнительной оценки влияния обеспеченности минеральным питанием использовали морфометрические показатели. Оценивали содержание фотосинтетических пигментов. Поглонительную способность корневой системы определяли по количеству поступившего азота (^{15}N) в надземные органы растений после окончания стресса на изотопном масс-спектрометре. Содержание малонового диальдегида (МДА) – конечного продукта распада липидов мембран, которое отражает реальную интенсивность процессов свободнорадикального окисления, определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой. Было установлено, что условия питания определяют физиологический статус растений в благоприятном режиме выращивания и при действии стрессового фактора.

Растения, выращиваемые на слабокультуренной почве, характеризовались низкими темпами роста, меньшей величиной ассимиляционной поверхности, к VI этапу органогенеза длина конуса нарастания главного побега у них было в 2 раза меньше, а количество заложившихся колосков в 2,5 раза.

Отмечались также различия в содержании хлорофиллов и каротиноидов. Значительная разница была обнаружена в содержании МДА. В течение вегетации уровень свободнорадикального окисления в растениях на фоне известкования и внесения NPK был в 5 раз выше, чем на почве без применения агрохимических средств. Высокий уровень СРО сопровождается: активным ростом, накоплением биомассы, увеличением ассимиляционной поверхности, активизацией формирования элементов генеративной сферы и высокой продуктивностью.

При достаточной обеспеченности минеральным питанием действие стрессора приводило к развитию защитно-приспособительной реакции – возрастанию содержания хлорофилла b и каротиноидов. В период репарации отличалась активизация поглонительной деятельности корневой системы – усиливалась ассимиляция поглощенного ^{15}N и включение его в белки надземной массы.

В оптимальных условиях культивирования на слабокультуренной почве уровень СРО соответствовал низким темпам роста и формирования продуктивности. При действии стресса адаптивные реакции были выражены слабо, и депрессия продуктивности значительно превышала снижение урожая на фоне питания и известкования.

Литература

Гаридзянов А.Р., Жуков Н.Н., Пантюхин Ю.О., Иванищев В.В. Особенности NaCl-индуцированного окислительного стресса и динамики активности антиоксидантных ферментов в органах тритикале // Доклады РАСХН. – 2012. – № 2. – С. 9–11.

Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е. Значение окислительного стресса в индуцировании теплоустойчивости проростков пшеницы кратковременным действием сублетальной температуры // Физиология и биохимия культурных растений. – 2008. – Т. 40, № 3. – С. 245–258.

Лукаткин А.С., Нарайкина Н.В. Оценка воздействия температурных стрессоров на растения кукурузы по изменению антиоксидантной активности // Доклады РАСХН. – 2011. – № 5. – С. 8–10.

Осипова Л.В., Курносова Т.Л., Быковская И.А. Повышение адаптивного потенциала ячменя ярового (*Hordeum vulgare* L.) при действии абиотического стресса // Проблемы агрохимии и экологии. – 2016. – № 3. – С. 48–51.

Полесская О.Г., Каширина Е.И., Алехина Н.Д. Влияние солевого стресса на антиоксидантную систему растений в зависимости от условий азотного питания // Физиология растений. – 2006. – Т. 53, № 2. – С. 207–214.

Радюкина Н.Л., Шашукова А.Н., Шевякова Н.И., Кузнецов Вл.В. Участие пролина в системе антиоксидантной защиты при действии NaCl и параквата // Физиология растений. – 2008. – Т. 55. – С. 721–730.

Apel K. Reactive oxygen species metabolism, oxidative stress and signal transduction. // Ann. Rev. Plant Biol. – 2004. – V. 55. – P. 373–399.

Apel K., Hirt H. Reactive oxygen on wheat growth and some physiological factors // Jnt. I. Forest Soil Erosion. – 2012. – V. 2, No. 1. – P. 50–58.

Arova A. Oxidative stress and antioxidative system in plants // Current science. – 2002. – V. 82, No. 10. – P. 1227–1238.

Osipova L.V., Bikovskaya I.A. Protective effects of selenium and silicon under different durations of oxidative stress // Annual wheat new sletter. – 2016. – V. 62. – P. 54–55.

INFLUENCE OF THE MINERAL DELIVERY ON ADAPTIVE REACTIONS OF SUMMER BARLEY AT ACTION OF THE ABIOTIC STRESS

L.V. Osipova¹, T.L. Kurnosova¹, I.A. Bykovskaya¹, I.V. Vernichenko², V.V. Nosikov¹,
V.A. Litvinskiy¹

¹Federal State Budgetary Institution All-Russian Research Institute of Agrochemistry named after D.N. Pryanishnikov Moscow, Russia, *legos4@yandex.ru*

²Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Russian Timiryazev State Agrarian University”, Moscow, Russia, *i.vernichenko@gmail.com*

Abstract. In a series of laboratory and vegetative experiments studied influence of level of security with the basic mineral elements on stability and efficiency of summer barley at action of a stress.

Keywords: *summer barley, grades, stress, labeled nitrogen, photosynthetic pigments*

ИЗУЧЕНИЕ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ВОЗБУДИТЕЛЯ КОЛЬЦЕВОЙ ГНИЛИ КАРТОФЕЛЯ *CLAVIBACTER MICHIGANENSIS* SSP. *SEPEDONICUS* В ПРИСУТСТВИИ МЕТАЛЛОСодЕРЖАЩИХ ПРЕПАРАТОВ ИЗ ВЫСШИХ ГРИБОВ

А.Г. Павлова¹, А.И. Перфильева², О.М. Цивилева³

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Иркутский государственный университет», Иркутск, Россия

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия, alla.light@mail.ru

³Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук, Саратов, Россия

Аннотация. С применением метода кругов, метода оптической плотности бактериальной суспензии и планшетного метода биопленкообразования были изучены Cu, Fe, Zn и Co – содержащие препараты на основе культуральной жидкости грибов макробазидиомицетов *Pleurotus ostreatus*, *Grifola umbellata*, *Laetiporus sulphureus* в отношении фитопатогенной бактерии *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus*. Показано, что препараты культуральной жидкости грибов *P. ostreatus*, *G. lucidum* и *L. edodes* обладают бактериостатическим и бактерицидным эффектами, металлы Cu и Zn усиливают такой эффект.

Ключевые слова: макробазидиомицеты, металлы, бактерии, биопленки

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-592-594

Макробазидиомицеты – эффективные участники процессов биотрансформации разнообразных органических соединений. С использованием культуральной жидкости макробазидиальных грибов *Pleurotus ostreatus*, *Grifola umbellata*, *Laetiporus sulphureus* синтезированы новые функциональные полимеры с металлическими частичками меди, железа, цинка, кобальта.

Цель работы – исследование фракций мицелия и культуральной жидкости грибных культур на наличие бактерицидного и бактериостатического эффекта по отношению к возбудителю кольцевой гнили картофеля *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* (*Cms*) при введении солей Cu, Fe, Zn и Co в процесс выращивания грибов.

В работе использовались следующие микробиологические приемы: метода кругов, метода оптической плотности бактериальной суспензии и планшетного метода биопленкообразования.

С применением метода кругов было выявлено, что культуральная жидкость *P. ostreatus* сама по себе обладала бактерицидным воздействием, металлы не повышали этот эффект. При исследовании культуральной жидкости *G. umbellata*, *L. sulphureus* не выявлено ярких зон ингибирования, даже при добавлении металлов. Только при внесении железа в культуральную жидкость *L. sulphureus* ингибирующий эффект несколько повышался.

Наличие бактериостатического эффекта культуральной жидкости грибов и металл-содержащих препаратов, полученных на их основе, оценивали с применением метода оптической плотности бактериальной суспензии. Были получены следующие результаты (рис. 1-3). Обнаружено, что культуральная жидкость грибов *P. ostreatus* (рис. 1) и *L. sulphureus* (рис. 3) сама по себе, так и с металлами обладала ярко выраженной бактериостатической активностью. В свою очередь, культуральная жидкость гриба *G. umbellata* обладала меньшим подавляющим рост бактерий

воздействием, причем введение меди или цинка усиливали этот эффект, а кобальт и железо снижали ингибирование прироста бактерий.

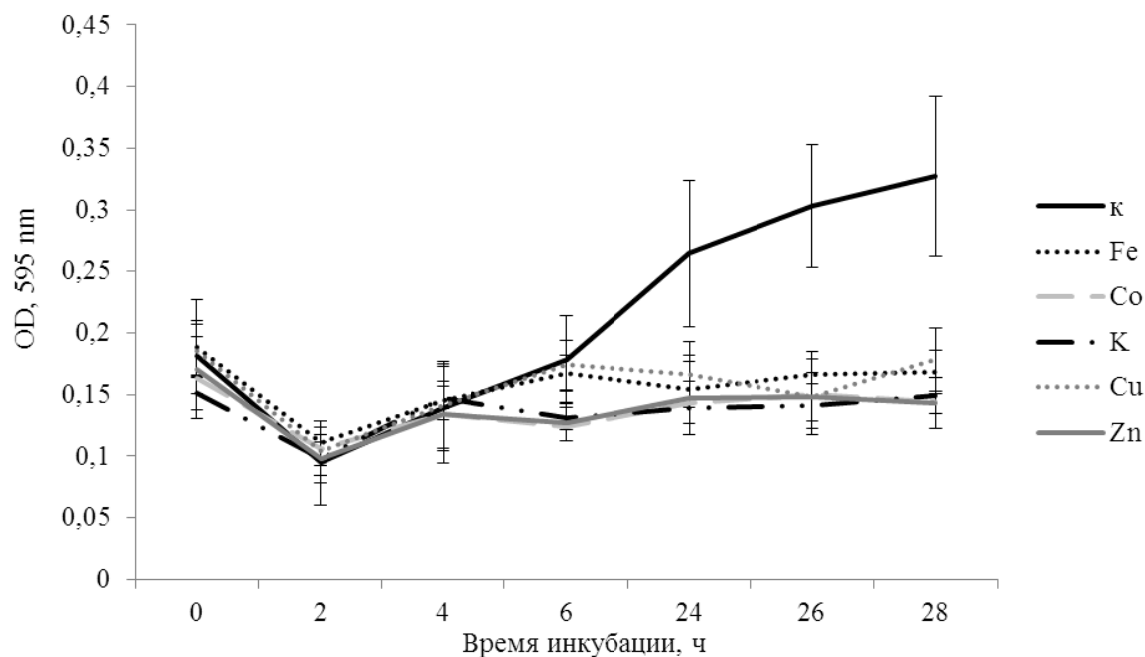


Рис. 1. Рост *Cms* (метод плотности суспензии) в контроле (κ) и в присутствии биокомпозитов на основе *Pleurotus ostreatus* НК352 (К), содержащих Cu, Fe, Zn, Co.

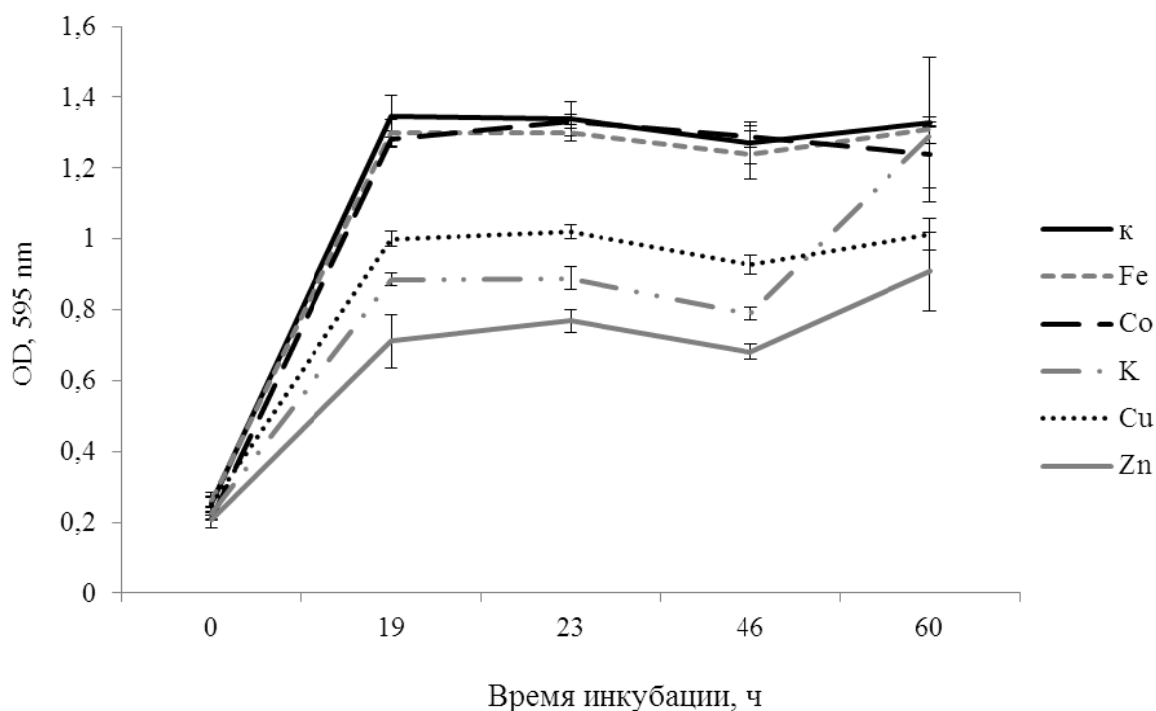


Рис. 2. Рост *Cms* (метод плотности суспензии) в контроле (κ) и в присутствии биокомпозитов на основе *Grifola umbellata* 1622 (К), содержащих Cu, Fe, Zn, Co.

По влиянию исследуемых агентов на биопленкообразование бактерии *Cms* было выявлено, что сама по себе культуральная жидкость только у гриба *G. umbellata* снижала биопленкообразование. Введение во все три грибные культуры кобальта способствовало подавлению биопленкообразования бактерии. Однако добавление меди и цинка усиливало образование биопленок *Cms*.

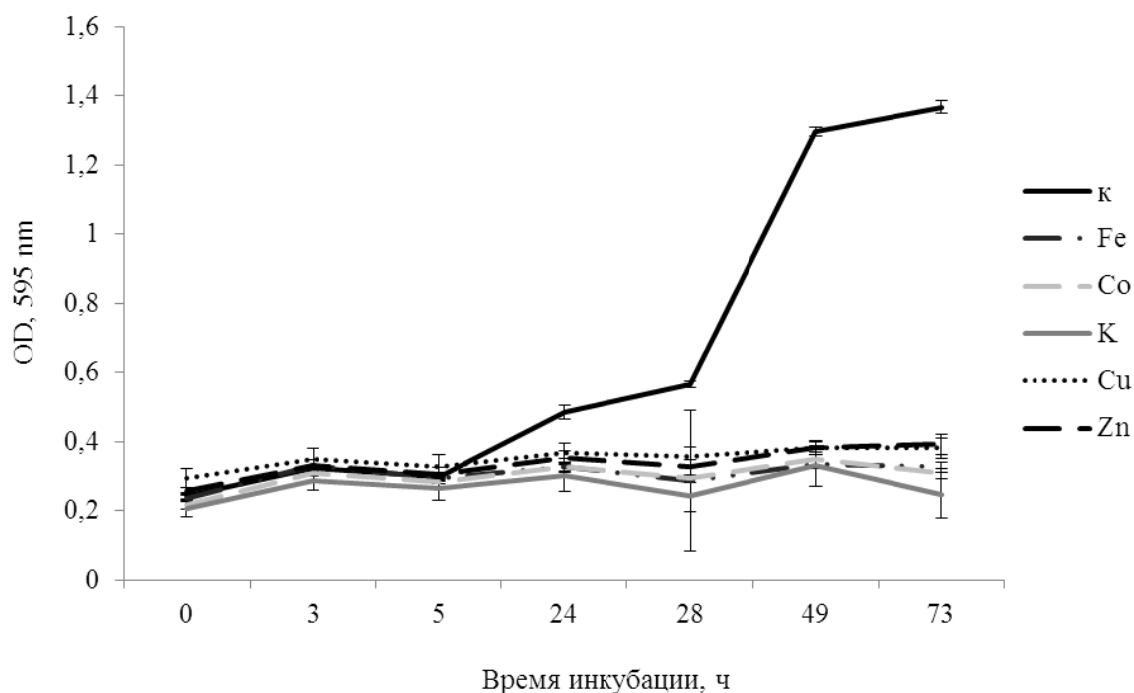


Рис. 3. Рост *Cms* (метод плотности суспензии) в контроле (к) и в присутствии биокомпозитов на основе *Laetiporus sulphureus* 120707 (К), содержащих Cu, Fe, Zn, Co.

Таким образом, на основе приведённых исследований можно заключить, что препараты, полученные из культуральной жидкости грибов макробазидиомицетов *Pleurotus ostreatus*, *Grifola umbellata*, *Laetiporus sulphureus* обладают бактерицидным и бактериостатическим воздействием. Внесение металлов Cu и Zn при культивировании грибов усиливает такой эффект.

STUDYING OF VIABILITY OF THE ACTIVATOR OF RING ROT POTATO DECAY OF *CLAVIBACTER MICHIGANENSIS* SSP *SEPEDONICUS* IN THE PRESENCE OF METAL-CONTAINING PREPARATIONS FROM THE HIGHEST MUSHROOMS

A.G. Pavlova¹, A.I. Perfileva², O.M. Tsvileva³

¹Irkutsk State University, Irkutsk, Russia

²Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia, alla.light@mail.ru

³Institute of Biochemistry and Physiology of Plant and Microorganisms Russian Academy of Sciences, Saratov, Russia

Abstract. With application of a method of circles, a method of optical density of bacterial suspension and a tablet method of biofilm formation Cu, Fe, Zn and Co – the containing preparations on the basis of cultural liquid of mushrooms *Pleurotus ostreatus*, *Grifola umbellata*, *Laetiporus sulphureus* concerning a phytopathogenic bacterium of *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus*. It is shown that medicines of cultural liquid of mushrooms *P. ostreatus*, *G. lucidum* and *L. edodes* have bakteriostatic and bactericidal effects, Cu and Zn metals enhance such effect.

Keywords: mushrooms, metals, bacteria, biofilms

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ПРОДУКЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ РАСТЕНИЙ *NASTURTIIUM OFFICINALE* R. BR. ПРИ РАЗЛИЧНЫХ УРОВНЯХ ЗАСОЛЕНИЯ ПРИМЕНИТЕЛЬНО К УСЛОВИЯМ ЗАМКНУТОЙ ЭКОСИСТЕМЫ

А.М. Павлова^{1,2}, А.А. Тихомиров¹, Н.А. Гаевский², Т.И. Голованова²,
Н.А. Тихомирова¹, С.А. Ушакова¹, И.В. Грибовская¹

¹Институт биофизики Сибирского отделения Российской академии наук – обособленное подразделение ФИЦ КНЦ СО РАН, Красноярск, Россия, Okcy92@mail.ru

²Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский федеральный университет», Красноярск, Россия, nikgna@gmail.com

Аннотация. В работе изучены продукционные и морфологические характеристики растений *Nasturtium officinale* R. Br., выращенных на искусственном питательном растворе при засолении NaCl 0,7 г/л и 1,4 г/л. С увеличением засоления уменьшается количество побегов и листьев, сырая и сухая биомассы растений, содержание желтых и зеленых пигментов. Наиболее высокое содержание натрия в расчете на сухую съедобную биомассу имеют растения с засолением 1,4 г/л.

Ключевые слова: водяной кресс-салат, замкнутые экосистемы, засоление

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-595-598

Важной частью замкнутых экологических систем (ЗЭС) является фототрофное звено, а именно растения, которые выделяют кислород и служат источником растительной пищи, утилизируют жидкие и твердые продукты жизнедеятельности человека [Gitelson et al., 2003]. Для повышения замкнутости массообменных процессов в ЗЭС необходима эффективная оптимизация минерального питания. В настоящее время разработанный в Институте биофизики СО РАН метод «мокрого сжигания» органических отходов, обеспечивает растения минерализованным раствором. Однако побочным продуктом метода являются тупиковые отходы, в виде NaCl. Для утилизации NaCl из минерализованных экзометаболитов ранее было предложено растение-галофит солерос европейский (*Salicornia europaea* L.), который способен к аккумуляции NaCl в большом количестве и имеет высокую продуктивность [Тихомирова, 2006; Тихомирова и др., 2016]. Для более разнопланового рациона питания человека и для утилизации NaCl из питательного раствора из группы солеустойчивых культур были отобраны растения водяного кресс-салата (*Nasturtium officinale* R. Br.) [Павлова и др., 2017]. Водяной кресс-салат является гликофитом, при этом может выдерживать засоление до 150 мМ NaCl [Kaddour, 2013]. Рядом авторов была изучена питательная ценность растений *Nasturtium officinale*. Данный вид растения богат многими веществами: железом, фосфором, калием, азотистыми маслами, витаминами А, В, С, О, Е, К, гликозидами [Hecht et al., 1995, 1999], глюконастурцинами, сапонинами, алкалоидами, углеводами (3-4%) [Дудченко, 1989], а также обладает противоопухолевым действием [Palanisvamy et al., 2003]. Важно отметить, что влияние различных уровней засоления на морфологические и продукционные характеристики водяного кресс-салата мало изучены в ЗЭС.

На основании выше изложенного, целью данного исследования являлось изучение морфологических и продукционных характеристик растений водяного кресс-салата (*Nasturtium officinale* R. Br.) при солевом стрессе.

Растения выращивали в вегетационной камере при температуре воздуха 24±1 °С. Освещение – круглосуточное. Источником освещения являлись металлогалогенные

лампы ДМЗ-3000. Мощность светового потока составляла $690 \text{ мкмоль} \times \text{м}^{-2} \times \text{с}^{-1}$. Растения водяного кресс-салата выращивали методом водной культуры в 2,5-литровых сосудах из нержавеющей стали с посевной площадью $0,032 \text{ м}^2$. Плотность посадки – 3 растения на сосуд. В качестве питательного раствора использовали контрольный модельный раствор, имитирующий минеральный состав раствора с добавлением минерализованных органических отходов человека. Состав минеральных элементов, входящих в модельный раствор, представлен в таблице.

Таблица.

Минеральный состав модельного раствора, имитирующий минеральный состав раствора с добавлением минерализованных органических отходов человека, использованного для культивирования *Nasturtium officinale* R. Br. (мг/л)

Ca	K	Mg	Na	P	S	N
229	216	41	263	41	86	150

В опытных вариантах концентрация NaCl составляла 0,7 г/л и 1,4 г/л. Питательные растворы постоянно обогащали кислородом посредством непрерывной аэрации с помощью компрессоров для аквариума. Исходный объем модельного раствора составлял 2 л. По мере испарения воды в сосуды для выращивания водяного кресс-салата добавляли отстоянную водопроводную воду. Модельный раствор еженедельно заменяли на свежеприготовленный. Уборку растений водяного кресс-салата проводили в возрасте 19 суток. Минеральные элементы определяли с помощью: K, Na-метода пламенной фотометрии на приборе Flapho-4 [Полуэктов, 1959]; Ca, Mg – методом атомно-абсорбционной спектроскопии на спектрометре ААС-IN [Славин, 1971]; N – методом фотоколориметрии по Кьельдалю [Плешков, 1976]; P – методом фотоколориметрии [Плешкова, 1961]; S – методом титриметрии [Кузнецов, 1968]. Определение содержания хлорофиллов и каротиноидов проводилось спектрофотометрическим способом на спектрофотометре Unicо, модели UV-2804. Расчет концентрации пигментов (мг/л) проводился по формулам, представленным в работе [Гавриленко и др., 1975].

В качестве морфофизиологических характеристик оценивали количество листьев и побегов растений на 8, 15, 17 и 19 сутки вегетации.

Продукционные характеристики оценивали по сырой и сухой биомассе надземной и корневой систем растений, по скорости прироста общей сырой биомассы, по пигментному, минеральному составу.

Биологическая повторность представляла собой измерения, проведенные на группе из 3 растений из одного сосуда. Достоверность различий между средними определяли по *t*-критерию Стьюдента при уровне значимости $p < 0.05$ [Лакин, 1973].

В результате культивирования растений водяного кресс-салата были получены данные по морфофизиологическим показателям и продукционным характеристикам растений. Наибольшую сухую массу съедобной надземной части и корневой системы имели растения контрольного варианта. При увеличении концентрации NaCl до 0,7 г/л и до 1,4 г/л в модельных растворах наблюдали снижение сухой надземной биомассы растений водяного кресс-салата практически в 4 раза по сравнению с контролем. Достоверных различий между опытными вариантами не наблюдали. Абсолютная скорость накопления сырой биомассы водяного кресс-салата была выше у контрольного варианта по сравнению с вариантами с засолением 0,7 г/л и 1,4 г/л NaCl. Ингибирующее действие солей проявилось также по накоплению фотосинтетических пигментов растений, как хлорофилла *a*, так и хлорофилла *b* и их суммы. Одновременно регистрировали увеличение отношения суммы хлорофиллов к каротиноидам в вариантах с засолением NaCl по сравнению с контролем, достоверных различий в соотношении хлорофилла *a* к хлорофиллу *b* не обнаружили.



Рисунок. Внешний вид растений водяного кресс-салата, выращенных на модельном растворе при разных уровнях засоления: А – контрольный вариант, Б – вариант с засолением 0,7 г/л NaCl, В – вариант с засолением 1,4 г/л NaCl.

Анализ минерального состава съедобной части растений показал, что в опытных вариантах содержание Na увеличивалась по сравнению с контрольным вариантом в 7 и 10 раз, соответственно.

В контрольном варианте происходило накопление Ca, K, Mg и S. Между опытными вариантами не было достоверных отличий в относительном содержании Ca, K, Mg и S. Между контрольным и опытными вариантами достоверных различий в накоплении общего N и P в надземной биомассе растений обнаружить не удалось. Негативное влияние засоления на растения водяного кресс-салата выявили при анализе морфофизиологических параметров. Количество листьев и побегов растений уменьшалось с увеличением засоления, начиная с 8 до 19 суток. Наблюдали мелколистность у растений при засолении 0,7 г/л и 1,4 г/л, вероятно, данный феномен связан с недостатком питательных элементов [Беляева и др., 2002] из-за повреждения мембраны корней растений [Касумов, 1983].

Исследования показали, что в замкнутой экологической системе растения *Nasturtium officinale* R. Br. можно выращивать методом водной культуры. Согласно полученным экспериментальным данным, наиболее высокое содержание натрия в расчете на сухую съедобную биомассу имеют растения с засолением 1,4 г/л. При выращивании на контрольном модельном растворе, имитирующем раствор с добавлением минерализованных органических отходов человека без засоления NaCl растения *Nasturtium officinale* R. Br. имеют наиболее высокую сырую и сухую биомассы, количество листьев и побегов, а также содержание зеленых и желтых пигментов.

Литература

Беляева И.С., Саяев Р.К., Сабирова Р.Н. Получение высоких урожаев экологически чистой продукции при помощи оптимизации минерального питания растений. – Иркутск: Оттиск, 2002. – 144 с.

Гавриленко В.Ф., Ладыгина М.Е., Хандобина Л.М. Большой практикум по физиологии растений. Фотосинтез. Дыхание. – Москва: Высшая школа, 1975. – 392 с.

Дудченко Л.Г., Козьяков А.С., Кривенко В.В. Пряно-ароматические и пряно-вкусовые растения: Справочник. – Киев: Наукова думка, 1989. – 304 с.

Касумов Н.А. Физиолого-биологические аспекты механизма действия солей на растительный организм. – Баку: Элм, 1983. – 142 с.

Кузнецов В.И. Басаргин Н.Н., Мясищева Л.Г. Усовершенствование метода определения серы в растительных объектах по Шенигеру // Агрохимия. – 1968. – № 3. – С. 134-137.

Лакин Г.Ф. Биометрия: учеб. пособие для вузов. – Москва: Высшая школа, 1973. – 344 с.

Плешков Б.П. Практикум по биохимии растений. – Москва: Колос, 1976. – 256 с.

Пешкова В.М., Громова М.И. Практическое руководство по спектрофотометрии и колориметрии. – Москва: МГУ, 1961. – 173 с.

Полуэктов Н.С. Методы анализа по фотометрии пламени. – Москва: Химия, 1959. – 230 с.

Славин У. Атомно-абсорбционная спектроскопия. – Ленинград: Химия, 1971. – 296 с.

Тихомирова Н.А. Влияние внешних факторов среды на газообмен и продуктивность растений *Salicornia europaea* L. Как возможной составной части фототрофного звена системы жизнеобеспечения: дис. ... канд. биол. наук. – Красноярск, 2006. – 126 с.

Тихомирова Н.А. Ушакова С.А. Шклавцова Е.С. Влияние интенсивности ФАР и концентрации NaCl на рост растений Солероса европейского применительно к искусственным экологическим системам // Физиология растений. – 2016. – Т. 63, № 4. – С. 1–10.

Gitelson J.I., Lisovsky G.M., MacElroy R.D. Manmade closed ecological systems. – London, New York: Taylor & Francis. – 2003. – 402 p.

Hecht S.S., Chung F.L., Richie J.P., Akerkar S.A., Borukhova A., Skowronski L., Carmella S.G. Effects of watercress consumption on metabolism of a tobacco-specific lung carcinogen in smokers // Cancer epidemiology biomarkers prevention. – 1995. – No. 4. – P. 877–884.

Hecht S.S., Carmella S.G., Murph S.E. Effects of watercress consumption on urinary metabolites of nicotine in smokers // Cancer epidemiology biomarkers prevention. – 1999. – No. 8. – P. 907–913.

Kaddour R. Assessment of salt tolerance of *Nasturtium officinale* R. Br. using physiological and biochemical parameters // Acta physiology plant. – 2013. – V. 35. – P. 3427–3436.

Palaniswamy U.R., Mcavoy R.J., Bible B.B., Stuart J.D. Ontogenic variations of ascorbic acid and phenethyl isothiocyanate concentrations in watercress (*Nasturtium officinale* R. Br.) leaves // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2003. – V. 51. – P. 5504–5509.

MORPHOLOGICAL AND PRODUCTION CHARACTERISTICS OF *NASTURTIIUM OFFICINALE* R. BR. PLANTS AT DIFFERENT SALINIZATION LEVELS CONCERNING CLOSED ECOSYSTEM'S CONDITIONS

A.V. Pavlova^{1, 2}, A.A. Tikhomirov¹, N.A. Gayevsky², T.I. Golovanova², N.A. Tikhomirova¹, S.A. Ushakova¹, I.V. Gribovskaya¹

¹Institute of Biophysics of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russia, Okcy92@mail.ru

²Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education Siberian federal University, Krasnoyarsk, Russia, nikgna@gmail.com

Abstract. Production and morphological characteristics of *Nasturtium officinale* R. Br. plants cultivated on artificial nutrient solution at NaCl salinization of 0.7 g/l and 1.4 g/l have been studied. As the salinization increases, so the amount of sprouts and leaves as well as wet and dry mass, yellow and green pigments' content decreases. The plants with salinization of 1.4 g/l have the highest sodium content per dry edible biomass.

Keywords: watercress, closed ecosystems, salinization

РАЗЛИЧНЫЕ ФОРМЫ СМЕРТИ РАСТЕНИЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ БИОТИЧЕСКИХ И АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ

Н.Е. Павловская, А.Ю. Гаврилова, К.Н. Гуляева

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Орловский государственный аграрный университет», Орёл, Россия, anechkag@bk.ru

Аннотация. Комитет номенклатуры по клеточной смерти (NCCD) сформулировал руководящие принципы определения и интерпретации гибели клеток с морфологических, биохимических и функциональных сторон (ферроптоз, лизосом-зависимая смерть, митотическая смерть, некроптоз, запрограммированная гибель клеток PCD, др.). В настоящее время раскрываются новые механизмы, которые объясняют множественные пути смерти клеток, в связи с чем, нами рассмотрена гибель клеток по пути апоптоза и некроза растительных клеток.

Ключевые слова: апоптоз, некроз, клеточная смерть

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-599-603

В составе запрограммированной клеточной гибели (PCD) в свою очередь выделяют несколько типов: апоптоз, аутофагическую гибель и запрограммированный некроз [Ogier Denis, Codagno, 2003; Edinger, Thompson, 2004]. В растениях, как и у животных, не существует лишь одного типа смерти. В растениях термин PCD, или ПКС широко используется для описания большинства случаев смерти. В клетках растений обнаружен ген, гомологичный животному гену *dad1*, который защищает клетки от апоптоза [Kelleher, Gilmore, 1997]. Активность этого гена, как и противостояние апоптозу резко уменьшаются при старении растения; это наблюдалось в стареющих лепестках гороха и при обезвоживании семян. Как и у животных, апоптоз у растений сопровождается чередой характерных структурно морфологических изменений клетки: происходит выраженная конденсация хроматина с последующим распадом ядра, клеточная мембрана становится пузырчатой, вся цитоплазма как бы вскипает, что называют «пляской смерти» (*dance macabre*), и образуются гигантские вакуоли. В большинстве случаев у растений разрушение тонопласта и вакуолизация цитоплазмы предшествуют разрушению ядра и митохондрий. В цитозоле апоптозных клеток растений отмечено резкое увеличение концентрации Ca^{2+} . В отличие от животных, остовы апоптозных растительных клеток, как правило, не исчезают бесследно из-за прочных клеточных стенок, они составляют обычно основу для образования сосудистых пучков и аэренхимы у растений. Запуск апоптоза в растениях контролируется различными факторами и зависит от функционального (физиологического) состояния растения.

Запрограммированная гибель клеток (PCD) в растениях является важнейшим компонентом механизмов развития и защиты. Некроз обычно описывается как хаотический и неконтролируемый способ смерти [Theresa et al., 2008]. Ультраструктурные исследования Керра и его коллег изначально описывали две различные формы гибели клеток [Kerr et al., 1972]: апоптоз и некроз. Первоначально апоптоз был описан в очень специфических морфологических терминах и до сих пор характеризуется усыханием клеток, ядерной конденсацией и фрагментацией и, в конечном счете, распадом клетки в «апоптотические тела» [Adrain, Martin, 2001]. Во время некроза определяющим признаком морфологических изменений является разбухание клетки, а не усадка. Это набухание связано с тем, что клетка теряет способность к осморегуляции, в результате чего вода и ионы падают в клетку [Lennon

et al., 1991]. В современной классификации ПКС апоптоз получил название «ПКС I типа», а некроз – «ПКС III типа»; «ПКС II типа» представлен аутофагией.

Растения используют ПКС как в процессе развития организма (например, при образовании ксилемы, прорастании семян, предотвращении самоопыления, старении), так и в ответ на стрессовые воздействия (солевой, температурный, окислительный стрессы) и при защите от патогенов. Как и в случае животных, ПКС может иметь разные формы [Фомичева и др., 2012,], но, в целом, можно проследить наличие ряда общих черт при ПКС в обоих царствах. К таким проявлениям ПКС относятся: фрагментация ДНК, выход цитохрома *c* из митохондрий, сжатие клетки, генерация активных форм кислорода, экспонирование фосфатидилсерина и т.д. Установлено наличие ряда сходных морфологических черт в ПКС животных и растений, но у растений отсутствуют каспазы – основные исполнители ПКС животных. Авторы предположили, что в осуществлении ПКС у растений задействованы протеазы, являющиеся функциональными аналогами каспаз животных, но структурно сильно отличающиеся от каспаз. К подобным ферментам относится фитаспаза [Чичкова, 2011].

Различие между апоптозом и некрозом проявляется в зависимости от сроков и тяжести повреждений. Действительно, Леннон и др.(1991) показали, что в клетках животных апоптоз или некроз могут быть экспериментально вызваны изменением уровней стресса (ядами, ультрафиолетовым облучением и т.д.). McCabe et al. (1997) подвергали морковные клетки различным уровням теплового стресса. Авторы отметили, что гибель клеток при температурах до 55 °С приводила к апоптозу, а при более высоких температурах к некрозу.

Целью данного исследования было: исследовать различия в проявлении видов смерти проростков гороха, подвергающихся воздействию биотических и абиотических стрессоров.

Объект и методы: горох (*Pisum sativum*) – сорт Норд, колеоптили ячменя. Факторы воздействия на экспериментальные растения: инфицирование грибом *Fusarium oxysporum*, инфицирование грибом *Ascochyta pisi*, обработка раствором Cd^{2+} в форме $CdSO_4$ концентрацией $5 \cdot 10^{-3}$ М, согласно [Серегин, 2001], обработка раствором 6-бензиламинопурина (6-БАП), концентрацией 27 мкМ (избыток) и 4 мкМ (близкая к *in vivo*), согласно [Carimi, 2003], обработка гороха вытяжкой колеоптилей пшеницы.

Для определения динамики изменений ДНК колеоптили или листья отделяли от прочих органов растения, размещали в незамкнутой стеклянной таре и замораживали в течение суток. Далее пробы быстро измельчали алюминиевым пестиком в пробирке Эппендорфа.

Затем выделение ДНК производилось с помощью набора реагентов и методики, разработанных предприятием BioKom. Методика выделения ДНК базируется на извлечении ДНК сорбентом NucleOS из продуктов обработки пробы лизисным реагентом, в дальнейшем NucleOS промывается солевым буфером и ДНК десорбируется и переводится в раствор реагентом ExtraGene. ДНК, растворенная в ExtraGene, подвергается электрофоретическому разделению. Электрофорез осуществляют на агарозном геле (1.5% раствор агарозы в воде) в TBE-буфере с добавлением бромистого этидия. Фотографии гелевой пластины получают на ультрафиолетовом трансиллюминаторе (BioKom), используя способность комплекса бромистого этидия с ДНК светиться в ультрафиолетовом свете [Шевелуха, 2003].

Исследование проявлений клеточной гибели в проростках гороха под действием абиотических факторов включали обработку кадмием и 6-БАП. Установлено, что в норме в проростках гороха состав и целостность молекул ДНК в течение всего периода изучения изменяются очень слабо (Рис. 1а). Основное различие заключается в увеличении светимости, свидетельствующем о накоплении в растущем листе ДНК, не

подвергающейся ни апоптозной, ни некротической деградации. Под влиянием обработки кадмием в проростках гороха происходят изменения ДНК в процессе некроза, индуцированного кадмием. Наблюдается высокая степень бессистемной деструкции (рис. 1б).

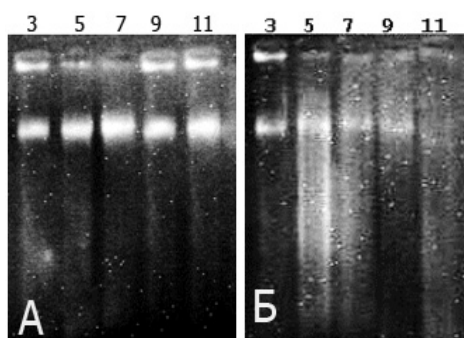


Рис. 1. Электрофореграмма ДНК, выделенной из контрольных проростков гороха. Метка обозначает возраст проростка в сутках.

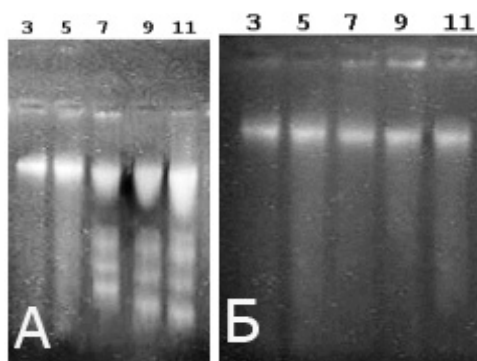


Рис. 2. Изменения ДНК в проростках гороха под действием избытка 6-БАП (А) и близкого к *in vivo* (Б).

Под влиянием избытка кадмия (рис. 2а) по электрофореграмме можно наблюдать типичную для апоптоза картину – лестницеобразные пятна на электрофореграмме, связанные с апоптотической формой деградации ДНК и хроматина. На электрофореграмме в проростках гороха под действием 6-БАП в концентрации, близкой к *in vivo* (рис. 2б), видна стабильная, не подвергающаяся деградации ДНК. Характерные признаки апоптоза или некроза отсутствуют.

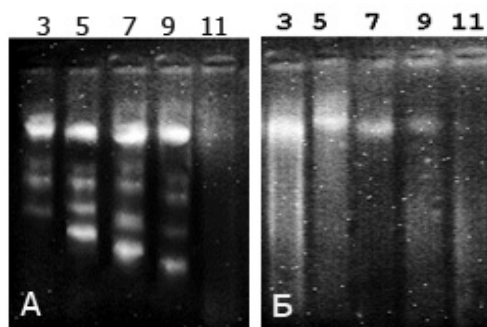


Рис. 3. Изменения ДНК в проростках гороха под действием вытяжки coleoptилей пшеницы (А); Б – под действием инфекции *Ascochyta pisi*.

Результаты анализа ДНК листьев гороха, обработанных вытяжкой колеоптилей пшеницы, полностью подтвердили предположения о том, что апоптоз в листьях гороха необратимо индуцируется действием вытяжки колеоптилей пшеницы.

На электрофореграммах ДНК листьев гороха и линейных профилях (рис. 3а) хорошо различима, характерная для апоптоза “лестница”, проявляющаяся уже с 5-х суток жизни обработанного листа, таким образом, анализ ДНК окончательно подтверждает выводы о запуске апоптоза в листе гороха действием вытяжки колеоптилей пшеницы.

Биотические и абиотические факторы по-разному влияют на проявление смерти клеток гороха.

Литература

Гагарина А.Ю. Особенности функционирования антиоксидантной системы растений при индуцированном апоптозе // Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Воронежский государственный университет. Воронеж, 2012.

Павловская Н.Е., Гагарина А.Ю. Индуцирование апоптоза в проростках гороха // Вестник Орловского государственного аграрного университета. – 2011. – № 6. – С. 128.

Павловская Н.Е., Козьявина К.Н., Гагарина А.Ю., Гагарина И.Н., Горькова И.В. Антиоксиданты в явлениях апоптоза и некроза // Биоантиоксидант. VIII Международная конференция: тезисы докладов. – 2010. – С. 98–100.

Павловская Н.Е., Гаврилова А.Ю., Нагур М.Ю. Выявления довизуальных симптомов нарушений у растений // Электронный научно-методический журнал Омского ГАУ. – 2016. – № S2. – С. 29.

Фомичева А. С., А. И. Тужиков, Р. Е. Белошистов, С. В. Трусова, Р. А. Галиуллина, Л. В. Мочалова, Н.В. Чичкова, А. Б. Вартапетян. Программированная клеточная смерть у растений / Успехи биологической химии. – 2012. – Т. 52. – С. 97–126.

Чичкова Н.В. Фитаспаза: апоптотическая протеаза растений // Автореферат диссертации на соискание учёной степени доктора химических наук: 02.00.10 – биоорганическая химия. — Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова. — Москва, 2011. — 50 с.

Adrain C, Martin SJ. The mitochondrial apoptosome: a killer unleashed by the cytochrome seas // Trends in Biochemical Sciences. – 2001. – V. 26. – P. 390–397.

Edinger A.L., Thompson C.B. Death by design: apoptosis, necrosis and autophagy // Curr. Opin. Cell Biol. – 2004. – V. 16. – P. 663–669.

Galluzzi L., Vitale I., Kroemer G. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature // Cell Death & Differentiation. – 2018. – doi: 10.1038/s41418-017-0012-4.

Kelleher D.J., Gilmore R. DAD1, the defender against apoptotic cell death, is a subunit of the mammalian oligosaccharyltransferase // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1997. – V. 94. – P. 4994–4999.

Kerr J.F., Wyllie A., Currie A.R. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics // British Journal of Canc. – 1972. – V. 26. – P. 239–257.

Lennon S.V., Martin S.J., Cotter T.G. Dose-dependent induction of apoptosis in human tumour cell lines by widely diverging stimuli // Cell Proliferation. – 1991. – V. 24. – P. 203–214.

Ogier-Denis E., Codogno P. Autophagy: a barrier or an adaptive response to cancer // Biochim. Biophys. Acta. – 2003. – V. 1603. – P. 113–128.

Reape T.J., Molony E.M., McCabe P.F. Programmed cell death in plants: distinguishing between different modes / J. of Experimental Botany. – V. 59. – P. 435–444.

VARIOUS FORMS OF DEATH OF PLANTS UNDER INFLUENCE OF BIOTIC AND ABIOTIC FACTORS

N.E. Pavlovskaya, A.Yu. Gavrilova, K.N. Gulyaeva

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Orel State Agrarian University”, Orel, Russia, anechkag@bk.ru

Abstract. The Committee on Nomenclature for Cell Death (NCCD) formulated guidelines for the determination and interpretation of cell death from morphological, biochemical and functional aspects (ferroptosis, lysosome-dependent death, mitotic death, necroptosis, programmed cell death PCD, etc.). At the present time, new mechanisms that explain the multiple pathways of cell death are revealed, in connection with which we considered cell death along the path of apoptosis and necrosis of plant cells.

Keywords: *apoptosis, necrosis, cell death*

ГОРДЕЦИН – НОВОЕ БИОЛОГИЧЕСКОЕ СРЕДСТВО ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ ОТ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БОЛЕЗНЕЙ

Н.Е. Павловская, Е.В. Костромичева

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Орловский государственный аграрный университет», Орёл, Россия, ninel.pavlovsckaya@yandex.ru

Аннотация. В зерне ячменя содержится антибактериальное вещество – гордецин, оказывающее эффективное действие в медицине при лечении грибковых заболеваний кожи, в пищевой промышленности для увеличения срока хранения яиц, в борьбе с картофельной болезнью пшеничного хлеба и др. В работе представлены сведения о способах выделения гордецина из зерна ячменя. Гордецин обладает избирательным фунгистатическим действием на растения гороха, угнетая возбудителя корневых гнилей *Fusarium oxysporum*.

Ключевые слова: ячмень, гордецин, горох, *Fusarium oxysporum*

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-604-607

Ячмень (*Hordeum vulgare* L.) – ценная зерновая и кормовая культура. Общая площадь возделывания ячменя во всем мире составляет 55,7 млн.га. По объему посевных площадей культура занимает четвертое место, уступая лишь пшенице, рису и кукурузе. В РФ на долю ячменя приходится 10 млн.га, в структуре посевных площадей он занимает 2 место после пшеницы. Ячмень выделяется среди других злаковых культур большим набором биологически активных компонентов, в том числе и антибактериальных, свойственным только этой культуре. Они являются фактором естественного иммунитета растений и защищают его от микробов.

Исследованиями, проведенными Новотельным Н.В. и Ежовым И.С. [Новотельнов, 1967] установлено, что в алейроновом слое и оболочке зерна ячменя содержится антибактериальное вещество, названное антибиотиком гордецином. Антибактериальная фракция была выделена путем экстрагирования органическими растворителями, идентичное вещество обнаружено в воде, оставшейся после замачивания ячменя на пивоваренном и спиртовом производстве. В результате химических исследований была получена эмпирическая формула гордецина – $C_{25}H_{39}O_7N$ и вычислена его молекулярная масса (465,33). Элементарный состав очищенного препарата состоит на 64,81% из углерода, 8,5% из водорода, 23,51% из кислорода и на 3,18% из азота [Ежов, 1968; Новотельнов, 1967].

Гордецин обладает широким спектром веществ антибактериального и микоцидного действия. При этом он малотоксичен, что позволяет использовать его в медицинских целях. ЛД₅₀ для белых мышей составляет 3,7±0,31 г/кг при подкожном введении. Возможно его применение при лечении грибковых заболеваний кожи, в пищевой промышленности для увеличения срока хранения яиц, в борьбе с картофельной болезнью пшеничного хлеба и др. [Новотельнов, 1959].

После 60-х годов прошлого века возможность влияния на устойчивость самого продуцента гордецина (ячменя) и другие культуры не изучалась. В связи с этим целью настоящего исследования было получить гордецин в чистом виде и изучить его влияние на устойчивость гороха *Pisum sativum* к возбудителю корневых гнилей *Fusarium oxysporum*.

Объект и методы. Материалом для исследований служили 19 сортообразцов ярового и озимого ячменя, созданные во ВНИИЗБК, и 14 образцов, полученных из коллекции ВИР им. Н.И. Вавилова.

При выделении гордецина мы осуществляли двухступенчатую экстракцию

разными растворителями: 7% раствор карбоната натрия, гидроксида натрия, смесь диэтилового эфира и 3%-ой соляной кислоты и вода.

В результате получали вытяжку, разделенную на 2 фракции. Очистка гордецина от примесей проводилась в соответствии с выбранной фракцией (согласно методике). Это объясняется тем, что гордецин содержится и в эфирном слое, и в карбонатном (водном). Выделенный гордецин испытан на горохе, зараженном *Fusarium oxysporum*.

Результаты. Нами разработан способ выделения гордецина из малых навесок зерна ячменя и его очистки для изучения биологической активности и роли в растительном организме (положительное решение на получение патента), отличающийся от известного способа выделения гордецина И.С. Ежовым и Н.В.Новотельным простотой и экономичностью. В предлагаемом способе выделения гордецина использовали малые навески зерна ячменя, анализировали соотношение фракций гордецина, предложен метод очистки. Полученное вещество гордецин – маслянистая жидкость желтого и светло-коричневого цвета, имеющая специфический запах меда и ржаного хлеба.

Очистка препаратов гордецина проводилась методом ВЭЖХ. Установлено, что спиртовой экстракт карбонатной фракции содержит несколько пиков. Для идентификации пика, соответствующего гордецину, использован тот факт, что очищенный препарат гордецина в УФ области спектра содержит плато с длиной волны 260-275 нм. Техническим результатом способа является сокращение объемов исходного материала (зерна), реактивов и энергозатрат.

Для того чтобы оценить выход готового продукта, необходимо найти массу полученных веществ в выделенных фракциях. Исследования фракционного состава гордецина выявило его вариабельность не только в зависимости от сорта, но и от его принадлежности к формам злаковых. В среднем выход гордецина из озимых сортов ячменя составляет 0,62%, из яровых – 1,18% [Костромичева, 2013].

Содержание карбонатной фракции гордецина в исследуемых сортообразцах озимого ячменя колеблется в пределах 0,23%. В семенах яровых сортов ячменя содержание карбонатной фракции гордецина варьирует в пределах 0,38%. В среднем по всем сортообразцам нейтральная фракция составила 0,44% для озимых форм, и 0,92% для яровых форм ячменя.

Выход биологически активных веществ из растительного сырья определяется не только генетическим фактором, но и методом извлечения. Немаловажную роль играют способы подготовки сырья. Нами были изучены несколько вариантов обработки сырья ячменя для получения гордецина: растворитель, крупность помола, ультразвуковая обработка, температура хранения и время проращивания.

Таблица.

Количество гордецина, выделенного из муки ячменя, подвергнутой ультразвуковой обработке

Время ультразвуковая обработка, мин.	1	5	20	0
Эфирный слой	0,321	0,321	0,322	0,326
Водный слой	0,021	0,023	0,022	0,025
Общее количество	0,342	0,344	0,344	0,351

Среднее содержание гордецина в эфирном слое составило 0,322%, а в водном слое – 0,022% (таблица). Из таблицы видно, что воздействие ультразвуковой обработкой практически не повлияло на выход гордецина. Значительное влияние на выход гордецина оказывают размеры частиц и время помола зерна. Так, максимальный выход гордецина наблюдается при времени размола 1 минута (0,163%).

Максимальное количество отмечено в образцах, хранившихся в диапазоне температур от +4 °С, до +25 °С (0,32%), по сравнению с образцами, хранившимися при 32 °С (0,01%). Содержание гордецина увеличивается в процессе прорастания зерна ячменя и максимальной величины достигает на вторые сутки (0,408%). Минимальное количество наблюдается на 1 сутки (0,024%).

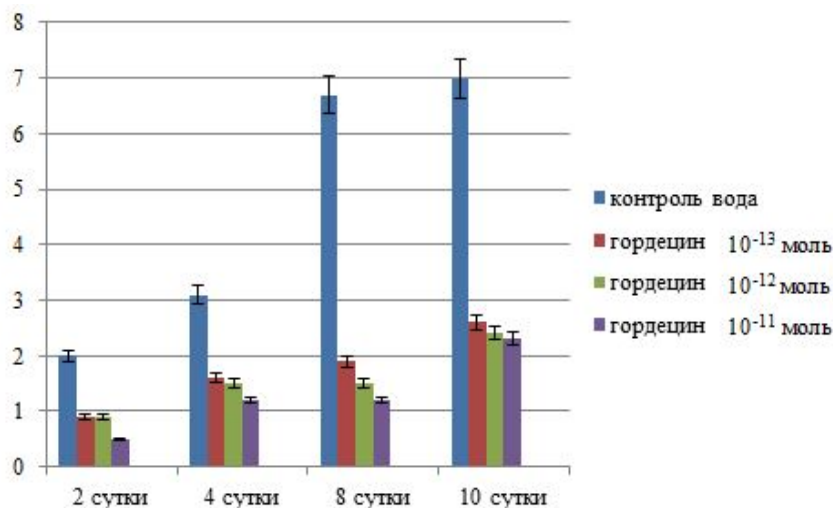


Рис. 1. Длина корней гороха сорта Триумф, обработанных гордецином.

Изучение влияния гордецина на восприимчивость гороха к фузариозу проводили на горохе сорта Триумф. В течение 10 суток контролировались морфо-биологические показатели. Наблюдалась варибельная изменчивость длины корешков в зависимости от концентрации антибиотической фракции (рис. 1, 2).

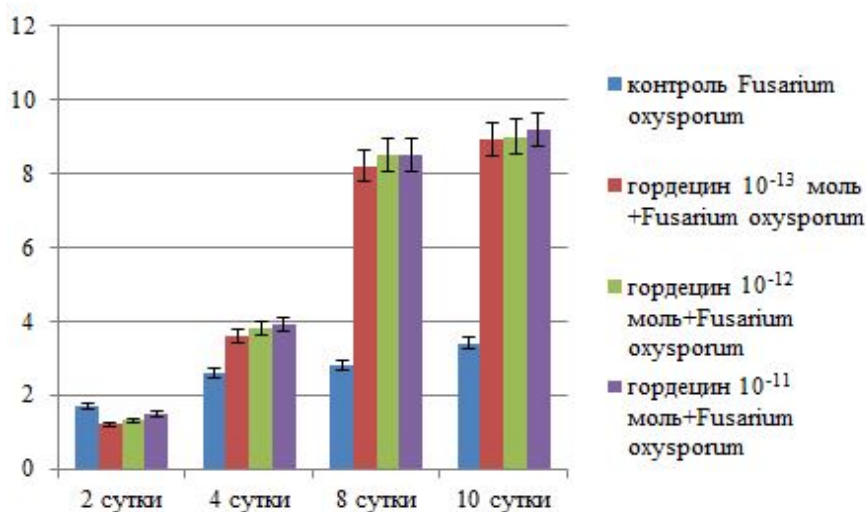


Рис. 2. Длина корней гороха сорта Триумф инфицированного *Fusarium oxysporum* и обработанного гордецином.

Выявлено, что длина корней гороха, обработанного гордецином в нанодозах (10^{-13} моль), снижается по сравнению с контролем в 2,5 раза. Причем с уменьшением концентрации антибиотика длина корней увеличивается (рис. 1). Обратная ситуация в случае зараженных *Fusarium oxysporum* проростков. Длина корней, обработанных гордецином, по сравнению с контролем, выше в 2,3 – 2,7 раза и прямо пропорциональна содержанию гордецина. Анализ длины проростков показал схожие результаты. С увеличением концентрации гордецина длина не инфицированных проростков снижается. Таким образом, в норме гордецин даже в небольших концентрациях угнетает рост корней гороха, а у инфицированных *Fusarium oxysporum* способствует резкому увеличению ростовой активности корня, что связано, видимо, с избирательным воздействием гербицина на возбудителя корневых гнилей.

Таким образом, показано, что гордецин обладает фунгистатическим действием на растения гороха, угнетая возбудителя корневых гнилей *Fusarium oxysporum*. Предстоит выяснить, каков механизм влияния гордецина на возбудителя корневых гнилей и какие минимальные концентрации не будут угнетать развитие проростков, а действовать только на патоген.

Литература

Ежов И. С. Новый антибиотик гордецин и пути его использования в народном хозяйстве: автореф. дис. ... д-ра наук, – Л., 1968. – 49 с.

Костромичева Е. В. Выделение гордецина из зерна ячменя и исследование его биологического действия и взаимосвязи с морфофизиологическими признаками: автореф. дисс... канд. наук. Воронеж, 2013. – 27 с.

Новотельнов Н.В., Ежов И.С. К вопросу о химической природе антибиотика гордецин // Фитонциды, их биологическая роль и значение для медицины и народного хозяйства. – Киев. – 1967. – С. 146–150.

Новотельнов, Н.В., Фаминская И.М. Влияние фенольных соединений ячменного зерна на накопление дрожжевой биомассы // Фитонциды, их биологическая роль и значение для медицины и народного хозяйства – Киев. – 1967. – С. 115–117.

Новотельнов, Н.В., Ежов И.С. Новый антибиотик гордецин, выделенный из ячменного зерна // Научные доклады высшей школы. Биологические науки. – 1959. – №3. – С. 178–182.

THE GORDETTINNYI BIOLOGICAL MEANS OF PROTECTION OF PLANTS FROM DISEASE WRITERS

E.V. Kostromycheva, N.E. Pavlovskaya

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Orel State Agrarian University”, Orel, Russia, ninel.pavlovsckaya@yandex.ru

Abstract. Barley grain contains an antibacterial substance - hordecin, which has an effective effect in medicine in the treatment of fungal diseases of the skin, in the food industry to increase the shelf life of eggs, in combating potato disease of wheat bread, etc. The paper presents information on the ways of isolating hordecin from barley grain. Gordecin has a selective fungistatic effect on pea plants, inhibiting the causative agent of root rot of *Fusarium oxysporum*.

Keywords: barley, hordecin, peas, *Fusarium oxysporum*

ПРИМЕНЕНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ ФУЛЛЕРЕНА ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ К ОКИСЛИТЕЛЬНОМУ СТРЕССУ

Г.Г. Панова¹, Е.В. Канап¹, К.Н. Семенов², Н.А. Чарыков³, Ю.В. Хомяков¹, Л.М. Аникина¹, О.Р. Удалова¹, В.Е. Вертебный¹, Д.В. Русаков¹, С.Ю. Блохина¹

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Агрофизический научно-исследовательский институт», Санкт-Петербург, Россия, gaiane@inbox.ru

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия, k.semenov@spsu.ru

³Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)», Санкт-Петербург, Россия, ncharykov@yandex.ru

Аннотация. Исследовательская работа посвящена изучению механизмов влияния наносоставов – водорастворимых аминокислотных производных фуллерена C₆₀ на продукционный процесс растений в благоприятных и стрессовых условиях. В условиях моделирования окислительного стресса выявлена защитная способность у ряда производных фуллерена C₆₀, что связано с их регуляторным воздействием на процессы синтеза фотосинтетических пигментов и фотосинтетический аппарат, а также, очевидно, с антиоксидантным эффектом, усиливающим защиту растений от окислительного стресса. Указанные изменения в состоянии растений наиболее выражены при действии C₆₀-треонина.

Ключевые слова: аминокислотные производные фуллерена C₆₀, растения ячменя, продукционный процесс растений, устойчивость, окислительный стресс

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-608-612

Особенности и механизмы влияния водорастворимых производных фуллеренов на растения в агро- и экосистемах практически не изучены [Andreev et al., 2008; Kole et al., 2013; Rapova et al., 2016]. Ранее была выявлена способность фуллеренола C₆₀ предотвращать развитие окислительного стресса и уменьшать содержание активных форм кислорода (АФК) и предотвращать субапикальное утолщение корней при УФ-В облучении проростков ярового ячменя после обработки семян растворами разной концентрации [Rapova et al., 2016].

Цель данной работы заключалась в оценке возможности оптимизации продукционного процесса и увеличения устойчивости растений ярового ячменя (*Hordeum vulgare* L.) к окислительному стрессу с помощью производных фуллерена C₆₀ – аддуктов с L-треонином, L-пролином, L-гидроксипролином, L-гистидином.

Аддукты фуллерена C₆₀ были получены методом одностадийного синтеза из индивидуальных фуллеренов, фуллереновой смеси или фуллереновой сажи при помощи водного раствора щелочи и межфазного катализатора (ТВАН) [Семенов и др., 2013].

Объектами исследований служили растения ярового ячменя (*Hordeum vulgare* L.) сорта Ленинградский. Растения выращивали в сосудах с аэрируемыми питательными растворами в вегетационных светоустановках, оснащенных лампами ДНаЗ-400 до достижения стадии 6-7-го листа [Панова и др., 2015]. Облученность в области ФАР – 80-90 Вт/м², фотопериод – 14 ч, температуру воздуха – 25±2 °С, относительную влажность – 65±5% поддерживали постоянными. В каждом сосуде выращивали по 10 растений, повторность опыта – 50 растений. Аэрирование раствора в сосудах осуществляли непрерывно, смену раствора проводили через каждые 3 суток.

Производные фуллерена C₆₀ вводили в аэрируемый питательный раствор (1 мг/л) или выполняли некорневую обработку (0,1 мг и 15 мг на 1 л питательного раствора).

Контролем служили растения, обработанные питательным раствором без добавления производных фуллерена. Некорневая обработка растений аддуктами C_{60} выполнена 3 раза за вегетацию с периодичностью 7 суток в период кущения – выхода в трубку. Через 3 суток после последней некорневой обработки аддуктами C_{60} растения облучали УФ-В радиацией (280-380 нм с максимумом 320 нм) в дозе 20 кДж/м².

Для оценки антиоксидантных свойств фуллеренов определяли интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) – по накоплению в растениях малонового диальдегида (МДА), активность супероксиддисмутазы (СОД) – методом, основанным на ее способности конкурировать с нитросиним тетразолием за супероксидные радикалы, генерацию активных форм кислорода (АФК) – по превращению адреналина в адренохром, оптическую плотность которого измеряли при $\lambda = 480$ нм.

Спектральные характеристики отраженной от поверхности листьев радиации регистрировали в диапазоне от 400 до 1100 нм с шагом 0,3 нм с помощью оптоволоконной спектрометрической системы («Ocean Optics», США) с оптическим разрешением 0,065 нм. Рассчитывали индексы отражения, позволяющие оценить содержание в тканях листьев хлорофиллов, флавоноидов, антоцианов и другие характеристики активности фотосинтетического аппарата [Kanash et al., 2013].

Эксперименты по моделированию окислительного стресса, вызванного облучением УФ-В радиацией в период «выход в трубку» продемонстрировали защитные функции ряда производных фуллерена при некорневом применении. Например, некорневая обработка фуллерена C_{60} с треонином предотвращало разрушение хлорофилла УФ-В радиацией – изменение содержания этого пигмента, судя по величине индекса хлорофиллов (ChlRI), после облучения было недостоверным. УФ-В облучение способствовало накоплению антоцианов, о чем свидетельствует рост величины индекса антоцианов (ARI). Так, содержание антоцианов на вторые сутки после облучения в листьях контрольных растений закономерно увеличилось на 20%, в листьях, предобработанных раствором C_{60} -треонина, – на 13%, обработанных раствором треонина – на 8% [Панова и др., 2018]. Через 7 суток разница в содержании антоцианов относительно контрольных значений в листьях необлученных растений по-прежнему составляла +20%, в листьях, обработанных раствором C_{60} -треонина, она увеличилась уже до +16%, в листьях, обработанных раствором треонина, – до +29%. (таблица). Отмеченное позволяет предположить, что последствия стрессового воздействия УФ-В радиацией на растения, предварительно обработанных раствором C_{60} -треонина, были менее значимыми по сравнению с таковыми у контрольных облученных растений и растений, предварительно обработанных раствором аминокислоты треонина. В пользу данного предположения свидетельствуют также данные оценки влияния аминокислотных производных фуллерена и аминокислот на активность работы антиоксидантной системы растений в их листьях. Выявлено, что все испытуемые вещества в благоприятных условиях повышают интенсивность ПОЛ и по-разному влияют на активность СОД (таблица). В условиях окислительного стресса, когда в листьях облученных контрольных растений на 202% возрастает интенсивность ПОЛ и на 46% падает активность СОД, в листьях растений, предобработанных наносоставами, отмечается существенно меньшее увеличение ПОЛ и преимущественно наблюдается увеличение активности СОД относительно таковой в контрольном необлученном варианте. Отмеченное свидетельствует о способности производных фуллерена активизировать антиоксидантные системы защиты растений ячменя против развития окислительного стресса.

В результате, очевидно, устойчивость к действию УФ-В радиации у растений ячменя, обработанных, в частности, производным фуллерена с треонином, судя по массе надземной части и корней, была на 9-11% выше, чем у контрольных облученных

растений, у которых под воздействием стрессора масса растения снижалась на 29%, в том числе масса надземной части – на 33 %, масса корней – на 11 %. Следует отметить тенденцию к более эффективному влиянию производного фуллерена с треонином по сравнению с действием одной аминокислоты.

Таблица.

Показатели физиологического состояния у ярового ячменя сорта Ленинградский при некорневой обработке растворами аминокислотных производных фуллерена С₆₀ (концентрация 0,1 мг/л раствора) в благоприятных условиях и при стрессе, вызванном УФ-В облучением

Вариант	Содержание пигментов в листьях растений, отн. ед.		Показатели активности антиоксидантной системы растений		Общая масса растения	
	ChlRI, отклонение от контроля, %	ARI, отклонение от контроля, %	ПОЛ, (ммоль/г) отклонение от контроля, %	СОД (отн. ед) , отклонение от контроля, %	г, $M \pm m$	отклонение от контроля, %
Вода (контроль)	–	–	–	–	2,29±0,25	–
Раствор С ₆₀ -треонина	+1,3	+2,5	+40*	–16	2,41±0,26	+5,2
Раствор треонина	+4,0	+5,2	+35*	–21*	2,27±0,28	–0,9
Раствор С ₆₀ -гидроксипролина	–0,6	+28,2*	+44*	+23*	1,64±0,28*	–28,4*
Раствор гидроксипролина	+0,2	+13,7	+69*	+53*	1,96±0,46	–14,4
Раствор С ₆₀ -пролина	+1,1	+1,5	+21*	–2	2,03±0,36	–11,4
Раствор пролина	–1,1	+6,4	+27*	–20*	2,12±0,32	–7,4
Раствор С ₆₀ -гистидина	+5,4	0	+25*	–1	2,29±0,40	0
Раствор гистидина	+1,9	+1,0	+14	+7	2,50±0,49	+9,2
УФ-В облучение						
Вода (контроль)	–3,8	+19,9*	+202*	–46*	1,63±0,25*	–28,8*
Раствор С ₆₀ -треонина	+3,3	+15,6	+183*	–39*	1,88±0,23	–17,9
Раствор треонина	–1,1	+28,6*	+129*	+3	1,76±0,23	–23,1*
Раствор С ₆₀ -гидроксипролина	–6,1	+21,4*	+10	+23*	1,46±0,36 *	–36,2*
Раствор гидроксипролина	+1,3	+17,4	+37*	+40*	1,55±0,29 *	–32,3*
Раствор С ₆₀ -пролина	+4,0	+13,7	+83*	+4	1,65±0,32 *	–28,0*
Раствор пролина	+2,1	+22,2*	+148*	+11	1,65±0,32 *	–28,0*
Раствор С ₆₀ -гистидина	1,9	+18,7*	+77*	+25*	1,52±0,29 *	–33,6*
Раствор гистидина	–4,0	+32,4*	+115*	+12	1,34±0,30*	–41,5*

Примечание: *значение достоверно отличается от контрольного на 5%-ном уровне значимости

Производные фуллерена C₆₀ с пролином и гидроксипролином оказали менее выраженное положительное влияние на устойчивость ячменя к окислительному стрессу, судя по биомассе растений. В результате растения, обработанные данными веществами и соответствующими указанным производным фуллерена аминокислотами, несмотря на значимое воздействие последних на процессы синтеза фотосинтетических пигментов и фотосинтетический аппарат, а также на активность антиоксидантной системы в листьях ячменя, по нетто-продуктивности практически не отличались от облученных растений в контроле. Следует отметить, отсутствие защитной функции у аминокислотного производного фуллерена C₆₀ с гистидином и, особенно, у аминокислоты гистидина против развития окислительного стресса, несмотря на то, что в благоприятных условиях он оказывает значимое стимулирующее воздействие на показатели роста растений.

Таким образом, в условиях моделирования окислительного стресса выявлена способность ряда производных фуллерена C₆₀ увеличивать толерантность растений к действию окислительного стресса, обусловленная регуляторным воздействием данных веществ на процессы синтеза фотосинтетических пигментов и фотосинтетический аппарат, а также, очевидно, связанная с антиоксидантным эффектом. Указанные изменения в состоянии растений наиболее выражены при действии C₆₀-треонина. Выявленное положительное влияние синтезированных аминокислотных производных фуллерена C₆₀ на продукционный процесс и устойчивость растений к окислительному стрессу свидетельствуют о перспективности дальнейшего изучения механизмов влияния этих соединений на почвенно-растительную систему с целью создания на их основе препаратов для использования в растениеводстве.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 15-29-05837 офи_м).

Литература

Панова Г.Г., Канаш Е.В., Семенов К.Н., Чарыков Н.А., Хомяков Ю.В., Аникина Л.М., Артемьева А.М., Корнюхин Д.Л., Вертебный В.Е., Синявина Н.Г., Удалова О.Р., Куленова Н.А., Блохина С.Ю. Производные фуллерена стимулируют продукционный процесс, рост и устойчивость к окислительному стрессу у растений пшеницы и ячменя // Сельскохозяйственная биология. – 2018. – Т. 53, № 1. – С. 38–49.

Панова Г.Г., Черноусов И.Н., Удалова О.Р., Александров А.В., Карманов И.В., Аникина Л.М., Судаков В.Л. Научно-технические основы круглогодичного получения высоких урожаев качественной растительной продукции при искусственном освещении // Доклады РАСХН. – 2015. – № 4. – С. 17–21.

Семёнов К.Н., Чарыков Н.А., Кескинов В.А., Кескинова М.В., Сафьянников Н.М., Шубина В.А. Способ получения фуллеренолов. Патент РФ на изобретение RU 2481267 С2. Заявл. 11.02.2011. Оpubл. 10.05.2013. Бюл. № 13.

Andreev I., Petrukhina A., Garmanova A., Babakhin A., Andreev S., Romanova V., Troshin P., Troshina O., DuBuske L. Penetration of fullerene C₆₀ derivatives through biological membranes // Fullerenes, Nanotubes, and Carbon Nanostructures. – 2008. – V.16. – P. 89–102.

Kanash E.V., Panova G.G., Blokhina S.Yu. Optical criteria for assessment of efficiency and adaptogenic characteristics of biologically active preparations // Acta Horticulturae. – 2013. – V. 1009. – P. 37–44.

Kole C., Kole P., Randunu K.M., Choudhary P., Podila R., Ke P.C, Rao A.M., Marcus R.K. Nanobiotechnology can boost crop production and quality: first evidence from increased plant biomass, fruit yield and phytomedicine content in bitter melon (*Momordica charantia*) // BMC Biotechnology. – 2013. – V. 13. – P. 37–58.

Panova G.G., Ktitorova I.N., Skobeleva O.V., Sinjavina N.G., Charykov N.A., Semenov K.N. Impact of polyhydroxy fullerene (fullerol or fullerenol) on growth and biophysical characteristics of barley seedlings in favourable and stressful conditions // Plant Growth Regulation. – 2016. – V. 79. – P. 309–317.

APPLICATION OF FULLERENE DERIVATIVES FOR INCREASING BARLEY PLANTS RESISTANCE TO OXIDATIVE STRESS

G.G. Panova¹, E.V. Kanash¹, K.N. Semenov², N.A. Charykov³, Yu.V. Khomyakov¹, L.M. Anikina¹, O.R. Udalova¹, V.E. Vertebnyi¹, D.V. Rusakov¹, S.Yu. Blokhina¹

¹Agrophysical Research Institute, Saint-Petersburg, Russia, *gaiane@inbox.ru*

²Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education “Saint-Petersburg State University”, Saint-Petersburg, Russia, *k.semenov@spbu.ru*

³Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Saint-Petersburg State Institute of Technology», Saint-Petersburg, Russia, *ncharykov@yandex.ru*

Abstract. The research work is devoted to the study of the mechanisms of the influence of nanocompositions – water-soluble amino acid fullerene C₆₀ derivatives – on the plant production processes under favorable and stressful conditions. Under the conditions of oxidative stress modeling, the protective ability of a number of fullerene C₆₀ derivatives was revealed, which is related to their regulatory effect on the photosynthetic pigments synthesis processes and photosynthetic apparatus, as well as, obviously, with an antioxidant effect that enhances plant protection from oxidative stress. These changes in the state of plants are most pronounced at the C₆₀-threonine action.

Keywords: *amino acid fullerene C₆₀ derivatives, barley plants, plant production processes, resistance, oxidative stress*

ВОДНЫЙ СТРЕСС В ЖИЗНИ СРЕЗКИ РОЗЫ (*ROSA HYBRIDA L.*)

О.Ф. Панфилова, Н.В. Пильщикова

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева», Москва, Россия, sad200805@mail.ru

Аннотация. Срезанные розы в результате водного стресса не проходят весь процесс естественного старения. Утрата декоративных качеств происходит на ранней стадии зрелости цветков из-за затруднения открытия цветков за счет тургорных явлений, увядания и засыхания лепестков. Chrysal не обеспечивает естественное развитие цветка, а лишь несколько задерживает завядание. Условия выращивания розы на срез должны обеспечивать активное функционирование устьичного аппарата.

Ключевые слова: роза (*Rosa hybrida L.*), водный стресс, старение лепестков, цветочная срезка, этилен

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-613-617

Оценка качества срезанных цветов обычно проводится по внешним качествам: размеру, окраске, форме цветка, а также длине стебля и состоянию листьев. В настоящее время все большее внимание уделяется внутреннему качеству – потенциальной жизни цветов в вазе. Долговечность цветочной продукции определяется генетическими особенностями и условиями выращивания растений. Для срезки розы наиболее важны факторы, обеспечивающие накопление достаточного количества сахаров в побегах и формирование функционально активного аппарата регуляции водного обмена.

Водный транспорт является неотъемлемой частью регуляторной системы растения. За счет единства гидродинамической системы и «карандашной передачи» он значительно превосходит по скорости не только трофическую и гормональную, но и электрофизиологическую регуляцию [Пильщикова, Панфилова, 2007]. В послеуборочный период именно водный стресс является одной из самых распространенных проблем потери качества цветочной продукции. Его следствие состоит не только в потере тургесцентности листьев и цветков, но и в ускорении старения за счет накопления этилена. Цветы на срез выращивают в основном в защищенном грунте, где возможна регуляция условий влагообеспеченности, минерального питания и микроклимата. Важная составляющая водного режима – относительная влажность воздуха, оптимальное значение которой для цветочных культур варьирует в пределах 60-80%. Дальнейшее ее повышение может способствовать распространению грибных и бактериальных заболеваний растений. В многочисленных исследованиях показано также, что выращивание роз при высокой влажности воздуха снижает качество срезки даже в отсутствии инфицирования. Эти условия индуцируют целый ряд анатомических и функциональных изменений растений, мешающих им впоследствии адаптироваться к водному дефициту, среди которых особенно важное значение имеет формирование и функционирование устьичного аппарата [Кошкин и др., 2012; Byung-Chun In, Jin Hee Lim, 2018].

Цель настоящей работы состояла в изучении особенностей послеуборочной жизнедеятельности срезанных чайно-гибридных роз, оказавшихся в условиях нарушения водного баланса в результате утраты корневой системы.

Материалы и методы. Объектами исследования служили наиболее популярные во флористике сорта розы (*Rosa hybrida L.*): "Avalanche", "Vendela", "Red Naomi", "First Red", "Grandgala". Для опыта брали хорошо облиственные побеги длиной 60 см с 7-8

листьями и второй стадией развития цветка по Kumar, 2008 [Кошкин и др., 2012].

Декоративные качества цветов оценивали по 5-балльной шкале, учитывая стадию развития цветка, тургесцентность и окраску лепестков и листьев, наличие некротических пятен. Оценка 5-4 баллов соответствует 2-3 стадии развития цветка с яркой неповрежденной облиственностью побега. Оценка 3 балла характеризует удовлетворительное состояние с 4-5 стадией развития цветка и началом завядания листьев. С оценкой 2 балла полностью раскрывшиеся цветки могут быть использованы во флористике только с аранжировочной зеленью. Для характеристики жизнедеятельности срезки в вазовом растворе определялись показатели газообмена, водного обмена, изменения состояния мембран при старении лепестков и листьев. Используются общепринятые методы физиологии растений [Панфилова и др., 2010].

Результаты и обсуждение. При разработке условий продления жизни в вазе срезанных цветов в качестве модели используют развитие цветка на материнском растении. Наши наблюдения показывают, что этот очень логичный подход не может быть использован для чайно-гибридных роз. На кусте первые стадии развития цветка проходят очень быстро. От состояния окрашенного бутона до 3 стадии у разных сортов проходит не более 2-3 дней. Дальнейшие процессы развития и старения цветка на кусте происходят крайне медленно. На 4 стадии цветок сохраняет высокие декоративные качества в течение 16-20 дней. Сортовые различия сохранения декоративных качеств на кусте можно использовать как потенциальные возможности жизни в вазе только с учетом особенностей формирования и функционирования устьичного аппарата листьев разных ярусов на цветоносном побеге.

Изучение газообмена листьев цветоносных побегов с помощью инфракрасного газоанализатора LI –COR 6400RX показало его достаточно высокий уровень. Старение цветка сопровождалось снижением фотосинтеза с 17,5 мкМ $\text{CO}_2/(\text{м}^2\cdot\text{с})$ при 3-ей стадии до 14,0 мкМ $\text{CO}_2/(\text{м}^2\cdot\text{с})$ при 6-ой стадии развития цветка. Интенсивность транспирации у верхних более молодых листьев была значительно выше, чем у листьев среднего яруса, что может быть связано с меньшим развитием кутикулы и лучшей влагообеспеченностью молодых листьев. Интенсивность транспирации и устьичная проводимость листьев по мере развития цветка оставались на уровне 0,58-0,70 мМ $\text{H}_2\text{O}/(\text{м}^2\cdot\text{с})$ и 0,4-0,5 М $\text{H}_2\text{O}/(\text{м}^2\cdot\text{с})$, соответственно. Это сохранение высокого уровня транспирации листьев при большой облиственности побега создает серьезные трудности поддержания водного баланса без дефицита срезанных побегов и может быть причиной преждевременного завядания цветков.

Нарушение водного обмена и возникновение водного дефицита в срезанных побегах приводят к сокращению времени сохранения декоративных качеств розы в срезке. Главная причина – эмболия сосудов в отсутствии корневого давления и нарушение водной проводимости ксилемы эпифитной микрофлорой. Показано, что закупорка сосудов в срезке розы возникает первоначально на высоте 2-5 см над поверхностью воды на 2-3 день и постепенно возрастает, что сопровождается накоплением продуктов разложения пектиновых веществ в результате микробиологической деятельности *Pseudomonas fluorescens*, *Aeromonas* sp., *Comamonas acidovorans* и *Chryseomonas luteola*. Показана эффективность импульсной послеуборочной обработки побегов нано-серебром (50 мг/л в течение часа) в подавлении активности этих бактерии и продлении жизни в вазе срезанных цветов, в том числе розы [Hongmei et al., 2012]. Кроме того, листья на срезанном побеге лишены корневого регулирования устьичных движений.

Изучение параметров водного обмена срезки розы, поставленной на воду и коммерческий препарат для продления жизни цветов в вазе Chrysal, показало, что интенсивное поглощение воды в первые 5 дней существенно снижалось в последующие

сроки. При этом, если в первые сроки определения Chrysal стимулировал поглощение воды, то к 10 дню поглощение воды побегом в контроле у разных сортов составляло 5,5-6,0 мл, на растворе Chrysal только 4,6-5,2 мл в сутки. В день постановки опыта лепестки и листья характеризовались достаточно высокой интенсивностью транспирации. Интенсивность транспирации лепестков, несмотря на их более высокую оводненность, была значительно ниже, а водоудерживающая способность выше, чем у листьев. Водоотдача лепестков на воде и растворе Chrysal сохранялась на уровне 4% в течение первых трех дней и к концу опыта увеличивалась до 6%. Уже через 7 дней наблюдалось подсыхание нижних листьев. Листья среднего и верхнего ярусов сохраняли тургесцентность при содержании воды 76-82%. Наблюдение состояния устьиц показало, что они оставались открытыми в течение дня и не закрывались к вечеру. Причиной этого могли быть условия выращивания растений. Показано, что розы из зимних теплиц с высокой влажностью и низким значением дефицита давления пара, не испытывающие недостатка воды при выращивании, теряют способность регулировать транспирацию при водном стрессе в срезке, и имеют меньшее время жизни в вазе [Byung-Chun In, Jin Hee Lim, 2018]. Учитывая, что основную испаряющую поверхность составляют листья, именно они вносят существенный вклад в потерю воды срезкой розы.

Белые сорта розы "Avalanche", "Vendela" в срезке развивались более быстрыми темпами, чем красные ("Red Naomi", "First Red", "Grandgala"). На 4-ый день жизни в вазе белые розы достигли 4 стадии зрелости и имели рыхлые цветки. У красных роз сохранялась 3 стадия зрелости цветков. На 7-ой день цветы всех сортов находились на 4-5 стадии роспуска. На растворе Chrysal, белые розы распустились меньше, чем красные, что в дальнейшем способствовало несколько большей продолжительности сохранения декоративных качеств. Через 12 дней после постановки опыта только белые розы на растворе Chrysal сохраняли декоративность на 4-5 стадии развития цветка. Таким образом, Chrysal, как и в опытах с гвоздикой и альстромерией [Пильщикова, Панфилова, 2016], продлевает жизнь в вазе, замедляя развитие, но не обеспечивает естественного развития цветка. Утрата декоративных качеств происходит в результате краевых некрозов и дальнейшего засыхания лепестков не полностью развитых цветков. Неполное открытие цветков, в основе которого лежат тургорные явления, также может быть следствием неблагоприятного действия водного дефицита.

Зависимость жизни в вазе от водного баланса побега усугубляется тем, что водный стресс в послеуборочный период приводит к существенному изменению гормонального баланса листьев и лепестков. Это выражается, прежде всего, в экспрессии генов биосинтеза и чувствительности к этилену, а также биосинтезу АБК [Doorn, Woltering, 2008; Paliyath, 2008]. Считается, что этилен играет ключевую роль в инициации старения цветков. АБК является усилителем процесса старения, вызванным этиленом в большей степени, чем иницирующим фактором, поскольку обработка АБК не влияет на старение, если проведена предобработка ингибиторами действия этилена. Однако синхронное изменение увеличения содержания этих гормонов при естественном старении цветка делает невозможным вычленить роль каждого из них в этом процессе после срезки. Так или иначе водный стресс приводит к нарушениям обменных процессов и состояния мембран, что ускоряет старение и смерть клеток. Изучение механизмов реализации запрограммированной гибели клеток (ЗКГ) при увядании представляет интерес с точки зрения взаимодействия различных программ клеточной гибели, которыми, очевидно, располагают растения. В наших предыдущих исследованиях было показано, что у этилен нечувствительной альстромерии [Панфилова, Пильщикова, 2014, 2017] индикаторы ЗКГ проявляются на ранних стадиях развития цветка. Ключевые события старения лепестков, в том числе падение индекса

стабильности мембран и снижение антиоксидантной активности, происходят на стадии полного открытия околоцветника без видимых признаков старения. Триггером процесса старения может выступать пороговый эффект одного или нескольких постепенных биохимических процессов, связанных с протеолитической активностью и разрушением сложных липидов, обеспечивающих мобилизацию питательных веществ.

Таким образом, возникший в послеуборочный период водный стресс препятствует естественному развитию цветка из-за затруднения его открытия в результате тургорных явлений. Оттягивание воды активно транспирирующими листьями от лепестков приводит к их увяданию и засыханию на ранней стадии зрелости цветков. Накопление этилена в результате стресса ускоряет процессы старения. Коммерческий препарат для продления жизни цветов в вазе Chrysal не обеспечивает естественное развитие цветка, а лишь несколько задерживает завядание. Более эффективным средством сохранения декоративных качеств является активное функционирование устьичного аппарата, предотвращающее водный стресс в послеуборочный период.

Литература

Кошкин Е.И., Адрианов В.Н., Панфилова О.Ф., Пильщикова Н.В. Физиологические основы качества продукции цветоводства. Учебное пособие. – М.: РГАУ-МСХА, 2012. – 296 с.

Панфилова О.Ф., Пильщикова Н.В., Фаттахова Н.К. Практикум по физиологии растений. Учебное пособие. – М.: РГАУ-МСХА, 2010. – 110 с.

Панфилова О.Ф., Пильщикова Н.В. Жизнь в вазе срезанных цветов гвоздики садовой и альстромерии // Субтропическое и декоративное садоводство. – Сочи: ВНИИЦиСК. – 2014. – Т. 51. – С. 248–255

Панфилова О.Ф., Пильщикова Н.В. Участие редокс-процессов в старении лепестков и время жизни цветов в вазе. В сборнике: Молекулярные аспекты редокс-метаболизма растений. Роль активных форм кислорода в жизни растений Материалы II Международного симпозиума и международной научной школы. Редактор И.В. Максимов и др. – 2017. – С. 196–199.

Пильщикова Н.В., Панфилова О.Ф. Участие воды в регуляторной системе растений. В сборнике: Влияние физических, химических и экологических факторов на рост и развитие растений Материалы 4-ой Всероссийской научной конференции в МГОПИ. – 2007. – С. 112.

Пильщикова Н.В., Панфилова О.Ф. Чувствительность к этилену и регуляция старения лепестков гвоздики и альстромерии // Доклады Тимирязевской сельскохозяйственной академии. – 2016. – № 288-1. – С. 68–72.

Byung-Chun In, Jin Hee Lim. Potential vase life of cut roses: Seasonal variation and relationships with growth conditions, phenotypes, and gene expressions // Postharvest Biology and Technology. – 2018. – V. 135. – P. 93–103.

Doorn W.G., Woltering E.J. Physiology and molecular biology of petal senescence // Journal of Experimental Botany. – 2008. – V. 59, No. 3. – P. 435 – 480.

Hongmei Li, Xinmin Huang, Jianbei Li et al. Efficacy of nano-silver in alleviating bacteria-related blockage in cut rose cv. Movie Star stems // Postharvest Biology and Technology. – 2012. – V.74. – P. 36–41.

Paliyath G. Postharvest biology and technology of fruit, vegetables and flowers. – Wiley-Blackwell, 2008. – 496 p.

WATER STRESS IN THE LIFE OF CUT ROSES (*ROSA HYBRIDA* L.)

O.F. Panfilova, N.V. Pilshchikova

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Russian Timiryazev State Agrarian University”, Moscow, Russia, *sad200805@mail.ru*

Abstract. Cut roses as a result of water stress do not go through the whole process of natural aging. The loss of decorative qualities occurs at an early stage of maturity of flowers due to the difficulty of opening flowers due to turgor phenomena, withering and drying of petals. Chrysal does not provide the natural development of the flower, but only slightly delays the wilting. Conditions for growing cut roses cut must ensure the active functioning of the stomatal apparatus.

Keywords: *rose (Rosa hybrida L.), water stress, senescence of the petals, cut flower, ethylene*

ПРИМЕНЕНИЕ АНТИОКСИДАНТОВ В РАСТЕНИЕВОДСТВЕ ПРИ ДЕЙСТВИИ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ СРЕДЫ

В.М. Пахомова, А.И. Даминава

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный аграрный университет», Казань, Россия; *pahomovav@mail.ru*

Аннотация. В статье обобщены собственные и литературные данные по практическому применению синтетических и природных антиоксидантов в растениеводстве, в том числе и при действии стрессовых факторов среды абиогенной и биогенной природы. Особое внимание уделяется антиоксидантному действию полифункциональных хелатных железо-, медь-, цинк-, марганец-содержащих микроудобрений, разработанных по собственной технологии и проявляющих выраженный защитный эффект на сельскохозяйственные растения не только в условиях засухи, жары, пониженной температуры и засоления, но и в условиях их комбинированного сочетания.

Ключевые слова: *природные и синтетические антиоксиданты, защитное действие, растениеводство*

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-618-622

Наличие значительной качественной аналогии в многообразии физиологических реакций биосистем на различные типы воздействий предполагает существование единого звена, общих принципов и механизмов в формировании стрессового ответа [Пахомова, 1999 а, б; 2000; 2001]. В качестве такого универсального компонента рассматривается окислительный (оксидативный) стресс, развитие которого к настоящему времени показано при действии на биосистемы самых разнообразных неблагоприятных факторов: засухи, засоления, гипо- и гипертермии, низкоинтенсивном ионизирующем излучении, действии гербицидов, патогенов и др. [Балалаева, 2004]. Увеличение продукции активных форм кислорода (АФК) при окислительном стрессе в неблагоприятных условиях приводит к активации окислительных процессов, в том числе перекисного окисления липидов (ПОЛ). Интенсификация ПОЛ способна привести к изменению свойств липидного матрикса мембран и модификации метаболизма всей клетки, однако его воздействие существенно ограничивается за счет работы антиоксидантной системы (АОС), включающей ферменты и низкомолекулярные соединения [Брилкина, 2002].

Недостаток природных антиоксидантов (АО) приводит к интенсификации окислительных процессов в клетке и увеличению содержания в ней АФК. Антиокислительная активность клетки способствует мобилизации защитных систем и предопределяет интенсивность ответной реакции на патогенное воздействие. Важным свойством синтетических и природных антиоксидантов, введенных в клетку извне, является их способность восполнять недостаток эндогенных (собственных) антиоксидантов. На этом и основано их практическое применение [Пахомова, Гайсин, 2008]. Целью данной работы явилось обобщение известных экспериментальных исследований по практическому применению антиоксидантов в растениеводстве.

Термин «антиоксиданты» (АО) появился в 60-х годах XX в., благодаря исследованиям Б.Н. Тарусова (1954) и Н.М. Эмануэля (1963) [цит. по Шаталову и др., 2015]. Именно Н.М. Эмануэль со своими учениками определили механизм действия антиоксидантов и дали им определение как соединений, угнетающих развитие свободнорадикального окисления. Работы ученых школы академика Н.М. Эмануэля внесли основополагающий вклад в создание теоретических основ действия

антиоксидантов [Бурлакова, 2007]. Большую роль в создании научных основ практического использования антиоксидантов, в том числе биоантиоксидантов, сыграли фундаментальные исследования Института химической физики АН СССР (ныне РАН), проводимые под руководством д.б.н. Е.Б. Бурлаковой [Бурлакова, 2007]. Как известно, биоантиоксидантами называют вещества, которые в модельных свободнорадикальных процессах окисления проявляют свойства ингибиторов реакций и сохраняют эти свойства при введении их в живой организм.

Методы практического использования антиоксидантов для защиты сельскохозяйственных культур от ряда заболеваний, наносящих существенный экономический ущерб, разрабатываются уже более 40 лет [Пахомова, Гайсин, 2008].

Так, распространенным вредоносным заболеванием виноградной лозы, плодовых и ягодных культур является бактериальный рак. На основе антиоксидантов созданы препараты, подавляющие развитие рака в год обработки на 70-100% и предотвращающие его развитие в последующие 2-3 года. Развитие опухолевых заболеваний растений эффективно тормозит, в том числе, антиоксидант – дибунол.

Предпосылкой для широких испытаний антиоксидантов на бактериальном раке растений послужили исследования, в которых было установлено, что при развитии этого заболевания содержание свободных радикалов меняется. Показано, что в фазе быстрого роста опухолей в них резко возрастает концентрация свободных радикалов. Антиоксиданты уменьшают содержание свободных радикалов и тормозят рост опухолей. Подобные закономерности были обнаружены ранее при таких опухолевых заболеваниях растений, как рак картофеля, кила капусты.

Важно, что развитие опухолевых заболеваний человека и животных, с одной стороны, и растений – с другой, имеет много общих черт и ингибируется одними и теми же химическими препаратами. Высокую эффективность в ингибировании бактериального рака растений в полевых условиях проявляет антиоксидант фенозан, созданный в Институте химической физики [Бурлакова, 2007] совместно со специалистами Московского перерабатывающего завода.

Открытие дешевых, легкодоступных и экологически безопасных синтетических и природных антиоксидантов дало начало многочисленным направлениям использования этих препаратов в растениеводстве. Одним из перспективных аспектов практического применения биоантиоксидантов является защита с их помощью урожая сельскохозяйственных культур при хранении. Большой интерес в связи с этим представляет работа, выполненная в Институте биохимии им. А.Н. Баха совместно с рядом других учреждений. Показано, что синтетические (в частности, дилудин и сантохин) и природные антиоксиданты защищают яблоки от развития «загара» (побурения), который как полагают, инициируется сесквитерпеновым углеводородом фарнезенем. Найдена возможность защищать антиоксидантами яблоки, груши, персики, абрикосы, а также картофель от поражения различными болезнями в период хранения, при этом потери урожая снижаются на 30-50%, а вкусовые и технологические качества полностью сохраняются.

Важная работа выполнена также во Всесоюзном НИИ сахарной промышленности. Показано, что обработка свеклы антиоксидантами (например, гидрохиноном и пирокатехином) в период вегетации повышает устойчивость корнеплодов к гнилям, увеличивает их сахаристость, а также подавляет их прорастание.

Антиоксиданты могут быть также использованы в качестве препаратов, регулирующих рост растений. Известные в настоящее время стимуляторы роста находят ограниченное применение, так как они либо дороги, либо экологически небезопасны. Антиоксиданты, не обладая мутагенной активностью и высокой токсичностью, могут оказаться наиболее пригодными для использования в ряде

областей сельскохозяйственного производства в качестве стимуляторов роста. И здесь необходимо напомнить проведенные нами исследования по антиоксидантной активности регулятора роста этаноламина [Пахомова, Гайсин, 2008].

В Институте химической физики синтезированы малотоксичные и удобные в применении антиоксиданты из класса оксипиридинов и 3-оксипиридинов, проявляющие значительный эффект стимуляции. Эти соединения ускоряют рост, как надземной части растений, так и корней. Эффект стимуляции показан на разных модельных объектах и сельскохозяйственных культурах (в полевых условиях). Установлена возможность использования этих соединений для повышения всхожести семян растений после длительного хранения.

Интересными в практическом и теоретическом отношении являются работы по изучению роли природных антиоксидантов в эволюции растений, в частности в процессах приспособления к неблагоприятным условиям роста. Большая работа в этом направлении была проведена в Институте ботаники Академии наук Азербайджана и Азербайджанском госуниверситете. Получены данные об устойчивости экологически различных популяций растений и редких исчезающих видов в зависимости от содержания в них природных антиоксидантов, в частности α -токоферола.

В 80-е годы 20 в. впервые появились интересные данные по использованию антиоксидантов для повышения устойчивости растений к экстремальным условиям среды: морозам, засухе, засоленности почвы. Так, было показано, что синтетические АО фенольной природы при испытании их в полевых условиях на озимой пшенице и томатах уменьшали содержание продуктов ПОЛ и повышали выживаемость растений при низких температурах. Обработка антиоксидантами посевов в неблагоприятных условиях засухи значительно повышала урожайность кукурузы.

Не вызывает сомнения, что для широкого внедрения в сельское хозяйство (в том числе растениеводство) могут быть использованы АО препараты, обладающие достаточно высокой биологической активностью, экологически безопасные, дешевые и легко доступные, а также удобные в применении. Практически всем этим требованиям соответствуют изучаемые нами и уже используемые в растениеводстве препараты ЖУСС, проявляющие выраженный антиоксидантный, стресс-лимитирующий и адаптогенный эффекты. Установлено, что это является одной из причин повышения устойчивости и урожайности сельскохозяйственных растений. Следует подчеркнуть, что препараты ЖУСС можно отнести к категории биоантиоксидантов, поскольку их компоненты не являются ксенобиотиками и входят в состав клеток и природных соединений (фосфолипидов мембран, ферментов и др.). Более того, они не только не обладают мутагенным действием, но и оказывают антимуtagenный эффект [Гайсин, Пахомова, 2016]. Не исключено, что при действии ЖУСС проявляется синергическое антиоксидантное действие биополимера этаноламина и микроэлементов – цинка, меди, железа и марганца, входящих в состав антиоксидантных протекторных ферментов клеток растений. Данные хелатные железо-, медь-, цинк-, марганец-содержащие микроудобрения, технология получения которых разработаны нами, проявляют выраженный защитный эффект на сельскохозяйственные растения не только в условиях засухи, жары, пониженной температуры и засоления, но и в условиях их комбинированного сочетания, в том числе и в экстремальных условиях произрастания 2010 года [Гайсин, Пахомова, 2016].

В последние годы ведется активный поиск эффективных антиоксидантов природного происхождения (биоантиоксидантов). Считается, что наиболее перспективными природными препаратами являются экстракты из растительного материала, например, из древесины, коры и хвои, экстракты из подорожника и др. Многие природные пигменты обладают ярко выраженной антиоксидантной

активностью. Одним из таких природных компонентов являются беталаины, которые можно эффективно извлекать из надземной части растений рода амарантовых [Горбунова и др., 2017]. При комплексной переработке древесины даурской лиственницы создан препарат «Лавитол» на основе дигидрокверцетина – мощнейшего природного антиоксиданта, повышающего устойчивость растений в стрессовых условиях существования [Удалов, 2017].

Таким образом, представленные данные свидетельствуют о защитном действии антиоксидантов от поражений факторами, вызывающими повреждение клеток растений. Это позволяет говорить об антиоксидантах как перспективных защитных средствах растений в стрессовых условиях существования и требует продолжения скрининга подобных соединений, предпочтительно биоантиоксидантов.

Литература

Балалаева И.В. Изменение прооксидантно – антиоксидантного статуса хлоропластов гороха при действии стрессирующих факторов среды // Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Н. - Новгород, 2004. – 24 с.

Брилкина А.А. Прооксидантно – антиоксидантное равновесие у растений при воздействии гипертермии и экзогенных фитогормонов // Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Н. - Новгород, 2002. – 22 с.

Бурлакова Е.Б. Молекулярная биофизика клетки. Биоантиоксиданты // Рос. хим. жур. (Ж. рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева). – 2007. – Т. LI, №1. – С. 3–12.

Гайсин И.А., Пахомова В.М. Полифункциональные хелатные микроудобрения: практика применения и механизм действия. – Казань: Изд-во Казан. ун-та, 2016. – 316 с. 2-ое издание.

Горбунова Н.В., Евтеев А.В., Банникова А.В., Решетник Е.И. Перспективы использования продуктов комплексной переработки растениеводства в качестве источников получения антиоксидантов // Дальневосточный аграрный вестник. – 2017. № 2 (42). – С. 120.

Пахомова В.М. Основы фитострессологии. – Казань: Изд-во КГСХА, 1999 а. – 102 с.

Пахомова В.М. Модели стрессовых воздействий и общебиологические закономерности. Неспецифические и специфические характеристики ответной редукции клеток растений. – Казань: изд-во КГСХА, 1999 б. – 150 с.

Пахомова В.М. Неспецифический адаптационный синдром биосистем и общие закономерности реактивности клеток. – Казань: КГУ, 2000. – 180 с.

Пахомова В.М. Биология экстремального состояния растительных клеток. – Казань: КГУ, 2001. – 108 с.

Пахомова В.М., Гайсин И.А. Устойчивость и защита растений при оптимизации минерального питания. – Казань: Издательский дом «Меддок», 2008. – 212 с.

Удалов С. Природные консерванты против химических // Президент. – 2017. – № 1 (319). – С. 12.

Шаталов Д.О., Кедик С.А., Иванов И.С., Бирюлин С.И. Антиоксиданты, как перспектива снижения заболеваний системы кровообращения, возникающих по причине ухудшающейся экологической обстановки // Вестник МИТХТ. Серия: социально-гуманитарные науки и экология. – 2015. – № 3. – С. 52–58.

APPLICATION OF ANTIOXIDANTS IN CROP PRODUCTION UNDER THE INFLUENCE OF STRESS FACTORS

V.M. Pakhomova, A.I. Daminova

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Kazan State Agrarian University”, Kazan, Russia, *pahomovav@mail.ru*

Abstract. The article summarizes own and literary data on the practical application of synthetic and natural antioxidants in crop production, including under the influence of stress factors of abiogenic and biogenic nature. Special attention is paid to the antioxidant effect of the polyfunctional chelate iron-, copper-, zinc-, manganese-containing micronutrients, designed by our own technology and exhibit a pronounced protective effect on agricultural crops not only in terms of drought, heat, low temperature and salinity, but also in terms of their combined action.

Keywords: *natural and synthetic antioxidants, protective effect, crop production*

АДАПТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР ПРИ ДЕЙСТВИИ И ПОСЛЕДЕЙСТВИИ ХЕЛАТНЫХ МИКРОУДОБРЕНИЙ С АНТИОКСИДАНТНЫМ ЭФФЕКТОМ

В.М. Пахомова¹, А.И. Даминова¹, И.А. Гайсин²

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный аграрный университет», Казань, Россия; *pahomovav@mail.ru*

²Академия наук Татарстана, Казань, Россия

Аннотация. Представлены многолетние экспериментальные данные, свидетельствующие о повышении адаптивного потенциала различных культурных растений при действии и последствии хелатных Cu, Mo, Mn, Zn и Fe-содержащих микроудобрений, разработанных по собственной технологии. Изучение физиолого-биохимических механизмов действия и последствия данных микроудобрений в полевых и модельных опытах показало, что они являются полифункциональными составами, проявляющими ростстимулирующее, адаптогенное, мембраностабилизирующее, регуляторное, протекторное, антимуtagenное действие и последствие. Показано, что в основе этих эффектов лежит их антиоксидантное действие.

Ключевые слова: хелатные микроудобрения, адаптивный потенциал, антиоксидантное действие

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-623-625

Нами разработаны технологии получения новых жидких хелатных форм микроудобрений марки ЖУСС, содержащие одно-, двойные и тройные сочетания различных микроэлементов. Такие сочетания микроэлементов подобраны из числа наиболее дефицитных для данной культуры в конкретных почвенных условиях (в условиях конкретного поля), т.е. на основе принципов точного земледелия и учета действия «Закона минимума». В качестве лигандов данных микроудобрений использованы моноэтаноламин и одновременно лимонная кислота и моноэтаноламин. Ценность этих препаратов определяется рядом свойств: они устойчивы в широком диапазоне значений pH, достаточно хорошо растворимы в воде и обладают хорошими адгезионными свойствами; практически нефитотоксичны; в меньшей степени, чем ионы микроэлементов, сорбируются почвой, что позволяет им длительное время удерживаться на обрабатываемой поверхности; хорошо совместимы с пестицидами. В настоящее время ЖУССы включают 15 различных комбинаций питательных элементов, и все они вошли в «Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации» (рег. № 19-8002 (9333) – 0309 – 1). Широкомасштабные испытания данных препаратов, пригодных для разнопланового применения, показали высокую эффективность их применения не только в почвенно-климатических условиях Республики Татарстан, но и в различных регионах России, Украины, Туркменистана, Белоруссии и т.д. Применение ЖУСС в полевых условиях обеспечивает возрастание симбиотического потенциала бобовых культур, фотосинтетической деятельности и устойчивости различных сельскохозяйственных растений, всхожести семян, снижение пестицидной нагрузки в севооборотах за счет активизации защитных ферментов растений и проявления фунгистатического действия, запуска активных и пассивных форм иммунитета к различным инфекционным заболеваниям, повышение количественных и качественных характеристик урожая, в том числе антимутационного потенциала, а также использования почвенных элементов питания и, в итоге, чистого дохода. Результаты

получены в полевых опытах на различных культурах разных сортов (озимая рожь и пшеница, яровая пшеница, ячмень и кукуруза, горох, тарелочная чечевица, клевер луговой, яровая вика, вико-овсяная смесь, картофель, сахарная и столовая свекла, подсолнечник, яровой рапс, томаты и огурцы защищенного грунта, хмель, женьшень, расторопша, лен-долгунец и др.). Лучшими способами применения этих микроудобрений являются инкрустация семян, клубней, посадочных материалов и некорневые подкормки, а также внесение с поливной водой при капельном орошении. Для каждого способа применения и для каждой культуры разработаны оптимальные дозы воздействия микроудобрений [Гайсин, Пахомова, 2016].

Изучение физиолого-биохимических механизмов действия данных микроудобрений показало, что они являются полифункциональными составами, проявляющими ростстимулирующее, адаптогенное, мембраностабилизирующее, регуляторное, протекторное, антимуtagenное действие и последствие. Показано, что в основе этих эффектов лежит их антиоксидантное действие.

Проведенные нами эксперименты в полевых и модельных опытах в разные годы исследований показали снижение содержания малонового диальдегида (МДА) в листьях растений яровой пшеницы при одно-, двух и трехкратной обработке медью, молибденсодержащим хелатным микроудобрением ЖУСС-2 (0,1% раствор) в фазы кущения, выхода в трубку и колошения – цветения. В модельном опыте обработка 6-дневных проростков пшеницы ЖУСС-2 (расход препарата аналогичен расходу в полевом опыте) приводила к снижению образования супероксиданионрадикала (показания снимали через сутки после опрыскивания). Обработка растений ЖУСС-2 во всех трех опытных вариантах полевого опыта приводила к росту активности супероксиддисмутазы (СОД) в листьях. Добавление в среду инкубации 1 мМ диэтилдитиокарбомата натрия (ДДК) сопровождалось значительным снижением активности СОД, что свидетельствует об ее активировании экзогенной медью, поскольку этот ингибитор действует на медьсодержащие ферменты.

Известно, что утилизация образующегося в ходе работы СОД пероксида осуществляется комплексом ферментов: каталазой, семейством пероксидаз и др. Поэтому в наших экспериментах одновременно с увеличением активности СОД наблюдалась и активизация пероксидазы листьев растений пшеницы в посеве во всех изучаемых вариантах. В модельном эксперименте после обработки растений ЖУСС-2 наблюдалось снижение содержания в корнях проростков одной из активных форм кислорода (АФК) перекиси водорода и активизация каталазы.

Антиоксидантное действие обработки ЖУСС-2 имеет пролонгированный эффект (последствие). Для изучения этого эффекта исследовали семена и растения, выросшие из семян пшеницы, созревших на растениях после обработки ЖУСС-2 различной кратности. Установлено, что последствие ЖУСС-2 приводило к снижению образования МДА в клетках корней проростков яровой пшеницы в модельном эксперименте, а, следовательно, к снижению перекисного окисления липидов (ПОЛ). Известно, что ПОЛ может быть вызвано АФК. Как известно, основную роль в снижении АФК играют ферменты антиоксидантной (АО-) защиты, одним из которых является СОД. Нами установлено, что последствие ЖУСС-2 приводило к росту активности СОД листьев пшеницы в полевом эксперименте. Добавление в среду инкубации ДДК сопровождалось снижением ее активности. Активизация СОД, по всей вероятности, связана с кумулятивным эффектом меди в семенах пшеницы. Нами показано, что содержание меди в зерне пшеницы и в надземных органах увеличивалось после всех трех обработок в полевом опыте, но не превышало ПДК.

Активизация СОД листьев растений яровой пшеницы наблюдалась при обработке вегетирующих растений хелатными микроудобрениями марки ЖУСС, содержащими не

только медь, но также цинк, железо и марганец, поскольку известны разные металлсодержащие формы этого защитного фермента. При действии железосодержащего микроудобрения марки ЖУСС имело место возрастание активности также железосодержащих протекторных ферментов каталазы и пероксидазы.

Таким образом, для повышения адаптивного потенциала сельскохозяйственных культур очевидна необходимость обработки вегетирующих растений микроудобрениями, содержащими медь, цинк, железо и марганец, особенно в стрессовых условиях произрастания при подавлении поглотительной активности корней.

Литература

Гайсин И.А., Пахомова В.М. Полифункциональные хелатные микроудобрения: практика применения и механизм действия. – Казань: Изд-во Казан. ун-та, 2016. – 316 с.

ADAPTIVE POTENTIAL OF AGRICULTURAL CROPS UNDER THE ACTION AND AFTEREFFECT OF CHELATED MICRONUTRIENTS WITH ANTIOXIDANT EFFECT

V.M. Pakhomova¹, A.I. Daminova¹, I.A. Gaysin²

¹Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Kazan State Agrarian University”, Kazan, Russia; pahomovav@mail.ru

²Tatarstan Academy of Sciences, Kazan, Russia

Abstract. The long-term experimental data showing the increase of adaptive potential of various cultural plants under action and the subsequent action of chelate Cu, Mo, Mn, Zn and Fe-containing micronutrients developed on own technology are presented. The study of physiological and biochemical mechanisms of action and the aftereffect of these micronutrients in the field and model experiments showed that they are polyfunctional compounds exhibiting poststimulus, adaptogenic, membrane stabilizing, regulatory, protective, antimutagenic effect and aftereffect. It is shown that these effects are based on their antioxidant effect.

Keywords: *chelated micronutrients, adaptive potential, antioxidant effect*

НАНОКОМПОЗИТЫ СЕЛЕНА В ПРИРОДНЫХ МАТРИЦАХ, ИХ ВЛИЯНИЕ НА КАРТОФЕЛЬ И ВОЗБУДИТЕЛЬ КОЛЬЦЕВОЙ ГНИЛИ

А.И. Перфильева¹, И.А. Граскова¹, О.А. Ножкина¹, Б.Г. Сухов²

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия, alla.light@mail.ru

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия

Аннотация. Синтезированы нанобиокомпозиты (НК) селена на основе полисахаридов арабиногалактана и крахмала. Изучено их влияние на фитопатогенную бактерию *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*. Показано отсутствие негативного влияния на рост бактерии предшественников НК арабиногалактана, крахмала. Исследуемые НК обладали бактерицидным и бактериостатическим эффектами. С применением витальных красителей выявлено, что после 24 ч инкубации НК вызывают изменения морфологии клеток – бактерии укорачиваются и утолщаются, погибают. Максимальным эффектом обладали НК селена в крахмале.

Ключевые слова: кольцевая гниль, картофель, нососелен, крахмал, арабиногалактан

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-626-629

В настоящее время широко исследуется использование наночастиц селена, как менее токсичных, с возможностью их адресной доставки в составе различных матриц к месту действия. Влияние нанокompозитов (НК) селена, а также других элементов на жизнедеятельность бактерий, вызывающих заболевания сельскохозяйственных культур, мало изучено.

Целью нашей работы явилось изучение подавляющего действия нанокompозитов селена с различными стабилизирующими матрицами, полисахаридами – арабиногалактаном и крахмалом, на картофель и жизнеспособность фитопатогенной бактерии *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (*Cms*), как потенциальных средств оздоровления культурных растений от бактериальных патогенов.

Синтез нанокompозитов осуществлялся на базе Иркутского института химии. Исходный арабиногалактан (АГ) представляет собой арабиногалактан лиственницы сибирской производства фирмы ООО «Химия древесины» (г. Иркутск) со средней Мм 40 кДа. В реакционную колбу помещали 1.000 г полисахарида арабиногалактана и 0.136 г бис(фенилэтил)диселенофосфината натрия, добавляли 50 мл воды. Раствор перемешивали на магнитной мешалке, термостатировали 3 ч при 35-40 °С и добавляли 5 мл концентрированного (30%) пероксида водорода. Выделение Se(0)-содержащего нанокompозита и очистку его от образовавшегося дифенилфосфината натрия осуществляли выливанием реакционной смеси в четырехкратный избыток ацетона или этанола с последующей промывкой. Выход нанокompозита с содержанием селена 3.4% составляет 97% (в пересчете на селен из его прекурсора и полисахарид). Полученный нанокompозит представляет собой порошок оранжево-красного цвета, хорошо растворимый в воде.

Исходный крахмал (Sigma-Aldrich) со средней Мм 342 Da, 500 мг, растворяли в 30 мл воды и добавляли раствор 12 мг H₂SeO₃ в 3 мл воды. Через 10 минут добавляли 5 мг NaBH₄ и перемешивали при комнатной температуре в течение 15 минут. Образовавшийся НК высаживали в этиловый спирт и промывали. Получали красно-оранжевый порошок с содержанием селена 12.0%, выход 89% (в пересчете на селен из его прекурсора и полисахарид).

Формирование наночастиц красного аморфного Se^0 идентифицировали по появлению интенсивного поглощения в видимой области спектра (310 нм). Отсутствие каких-либо рефлексов на рентгеновской дифрактограмме нанокompозита также свидетельствует, что в данном случае реализуется известная рентгеноаморфная аллотропная модификация элементного селена. С использованием просвечивающего электронного микроскопа было выявлено, что наночастицы селена $\text{Se}(0)$ хорошо визуализируются и имеют форму, близкую к сферической. Размер наночастиц в НК Se/АГ составлял 20-65 нм, со средним значением 25 нм, в НК Se/К размер частиц составлял 20-90 нм, средний размер 40 нм. Наночастицы селена достаточно равномерно распределены в полисахаридных матрицах (рис. 1).

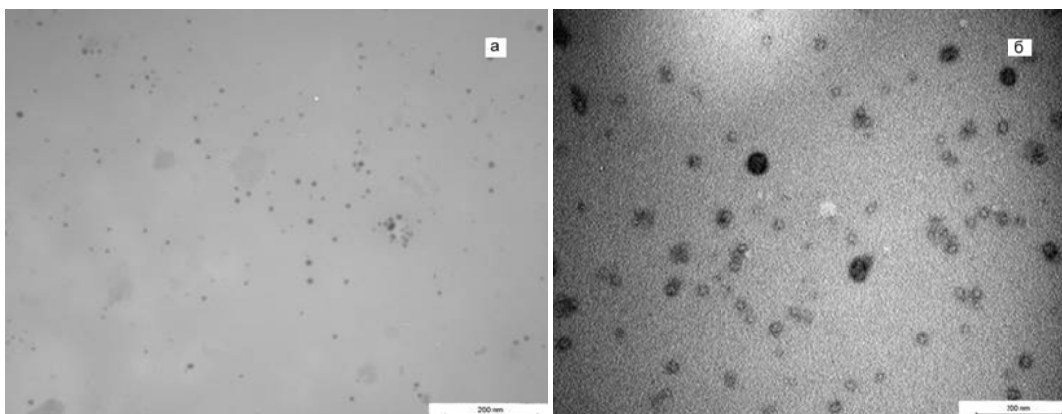


Рис. 1. Микрофотографии (ТЭМ) нанокompозитов селена Se/АГ (А), Se/К (Б).

Наночастицы селена инкапсулированы в макромолекулярные матрицы сильно разветвленных полисахаридов арабиногалактана и крахмала. Схему строения нанокompозитов на примере Se/АГ можно представить следующим образом (рис. 2).

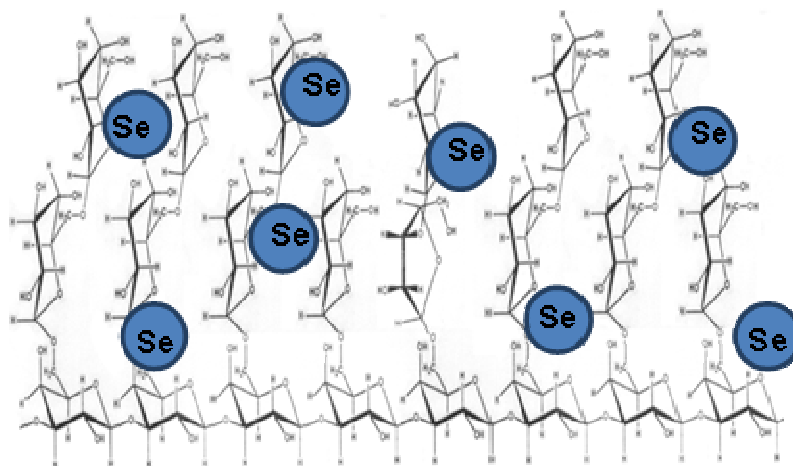


Рис. 2. Гипотетическая схема строения нанокompозита Se/АГ.

О способности нанокompозитов селена и нанокompозитов серебра подавлять жизнеспособность фитопатогенной бактерии судили по бактерицидному и бактериостатическому эффектам.

Ранее нами был показан токсический эффект нанокompозитов селена и арабиногалактана с содержанием селена 1.23%, полученный из неорганического предшественника – оксида селена 25, 27. Однако следовало проверить, каким будет влияние нанокompозита Se/АГ на жизнеспособность исследуемых бактерий,

содержание селена в котором увеличено почти в 3 раза (3.4%), и который получен из предшественника фосфорорганической природы – бис(2-фенилэтил) диселенофосфината натрия (БИС), а также содержащего еще большее количество селена (12%) нанокompозита Se/K.

Бактериостатический эффект был проверен нами с применением метода оценки плотности бактериальной суспензии. После инкубаций бактерий с нанокompозитами и их предшественниками в течение 1 сут нами было выявлено следующее. АГ и крахмал значительно стимулировали прирост бактериальной суспензии. Такой результат весьма логичен, так как сахара благоприятны для развития исследуемых бактерий. Предшественник нанокompозитов селена – БИС характеризовался бактериостатическим эффектом. Все изучаемые нанокompозиты проявили наличие бактериостатического эффекта, оптическая плотность суспензии после инкубации бактерий с ними была ниже, чем в контроле. Соответственно, нанокompозиты негативно влияют на рост и размножение бактерий *Cms*.

Изучаемые нанокompозиты в концентрации 0.000625% негативно влияли на рост и размножение бактерий *Cms*, это было обнаружено с применением метода высева колониеобразующих единиц (КОЕ). НК селена вызывают гибель бактерий до 36-46%.

При использовании красителя пропидий иодида, окрашивающего мертвые клетки, с применением ПЭМ были получены следующие результаты о наличии у нанокompозитов селена Se/АГ и Se/K бактерицидного эффекта (рис. 3).



Рис. 3. Влияние НКSe/АГ и НК Se/K на жизнеспособность бактерии *Cms* (верхний ряд фотографий представляет фото бактерий без красителя, нижний ряд – демонстрирует окрашивание мертвых клеток в красном диапазоне спектра).

Показано, что подавление жизнеспособности *Cms* происходит под воздействием наночастиц селена, диспергированных как в матрице арабиногалактана, так и в матрице крахмала. Согласно изображениям, представленным на фото, видно, что в вариантах с нанокompозитами больше мертвых клеток по сравнению с контролем (без нанокompозитов). Максимальное количество мертвых клеток (от 33% до 59% в поле зрения ПЭМ) наблюдалось при инкубации бактерий с нанокompозитом с матрицей крахмала, содержащей большее количество селена (12%), по сравнению с НК Se/АГ (3.4%), что свидетельствует о токсичности именно НК селена и их повышенной

биодоступности вследствие водорастворимости, приданной селену полисахаридными матрицами.

Статистическая обработка полученных результатов выявила, что при инкубации бактерий с нанокompозитами селена, независимо от матрицы, длина бактериальных клеток по сравнению с контролем значительно уменьшалась, а ширина увеличивалась на 9-22%.

Выявленные изменения морфологии клеток свидетельствуют о наличии неблагоприятных условий для бактерии, вероятно, при этом происходит нарушение осмотического статуса клетки, она меняет свою морфологию, превращаясь в менее вытянутую структуру.

Проведенные опыты показали, что при инкубировании бактерий *Cms* с нанокompозитами селена в различных матрицах (арабиногалактан, крахмал), бактерии испытывают стресс, который впоследствии приводит к их гибели, что подтверждается данными, полученными при использовании витальных красителей.

При изучении влияния исследуемых нанокompозитов на активность пероксидазы и биометрические показатели (прирост, количество листьев, длина междоузлий, масса корней и надземной части растения) не было выявлено негативного эффекта нанокompозитов на картофель. Предшественники – арабиногалактан не оказывали влияния на растения, а БИС ингибировал их прирост.

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют о возможности использования нанокompозитов селена и крахмала/арабиногалактана для создания препаратов, направленных на оздоровление картофеля от бактериальных заболеваний.

Работа поддержана грантом РФФИ и Правительством Иркутской области (проект № 17-416-380001).

SYNTHESIS OF NANOBIOCOMPOSITES OF SELENIUM AND THEIR INFLUENCE ON THE PHYTOPATHOGENIC BACTERIUM *CLAVIBACTER MICHIGANENSIS* SUBSP. *SEPEDONICUS*

A.I. Perfilova¹, O.A. Noshkina¹, I.A. Graskova¹, B.G. Sukhov²

¹Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia, alla.light@mail.ru

²A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia

Abstract. Nanobiocomposites of a selenium and silver on a basis potentially the metabolitnykh for microbes of polysaccharides of an arabinogalaktan are synthesized. Their influence on a phytopathogenic bacterium of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*. Absence of a negative impact on growth of a bacterium of predecessors of nanobiocomposites shown: arabinogalaktan. All researched nanobiocomposites reduced a gain of bacteria. Using vital dyes it is revealed that after 24 h an incubation the studied nanobiocomposites cause changes of morphology of cells – bacteria are shortened and thickened that leads to their death. Had the maximum effect a nanoselenium composit in starch. The received results demonstrate presence at a row of the researched nanobiocomposites of bactericidal effect. The further study and use of the received nanobiocomposites as means of address delivery of antimicrobial nanoparticles of a selenium to phytopathogens for their inactivation are advisable.

Keywords: *nanobiocomposites, selenium, starch, arabinogalaktan, Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus, microscopy, antibacterial activity*

ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ ОСЕННЕГО КРИОКОРМА ЖИВЫХ ОРГАНИЗМОВ В УСЛОВИЯХ ЯКУТИИ

К.А. Петров¹, В.В. Нохсоров², А.А. Перк¹, В.А. Чепалов¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологических проблем криолитозоны Сибирского отделения Российской академии наук, Якутск, Россия, *kap_75@bk.ru*

²Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова», Якутск, Россия, *vv.nokhsorov@s-yfu.ru*

Аннотация. Впервые установлено существенное возрастание содержания суммарных липидов, а также фосфолипидов и их жирных кислот у злаковых растений (на примере *Bromopsis inermis* Leyss.) во время холодового закаливания в условиях криолитозоны Якутии. Предполагается, что корма со значительным количеством фосфолипидов и незаменимых ПНЖК (линолевая и линоленовая) позволяют сформировать уникальный состав запасных жиров аборигенных животных во время их зимовки.

Ключевые слова: криокорм, липиды, жирные кислоты, адаптация животных

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-630-633

Теория поэтапного повышения криорезистентности растительного организма, разработанная в прошлом веке, явилась основой того бурного развития, которое претерпело учение о холодо- и морозоустойчивости растений в последние три-четыре десятилетия. С одной стороны, многочисленными исследованиями, проведенными во многих лабораториях разных стран, получены данные об адаптивном накоплении липидного комплекса и их полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) при экспериментальном холодовом закаливании в различных органах растений. С другой, у многолетних травянистых и древесных растений, произрастающих в экстремальных природно-климатических условиях Якутии, в осенне-зимний период происходит также поэтапное повышение их криоустойчивости. Какие же внешние факторы и физиологические механизмы обеспечивают переход растений из вегетирующего в закаленное морозостойкое состояние? В природе этот процесс протекает осенью на фоне укорачивающейся длины дня и снижения температуры воздуха, что характеризуется положительными (I фаза) и начальными отрицательными температурами (II фаза). Началом осеннего сезона в Якутии считается устойчивый переход температуры воздуха через 15 °С (таблица).

Как следует из данных таблицы, продолжительность периода с осенними низкими положительными температурами воздуха от 10 °С до 0 °С в Ц-Я составляет 17...24, Я-И – 30...36 и Кол – 15...23 дня. В период первой фазы холодового закаливания (в конце лета и осенью) в Якутии складываются самые благоприятные погодные условия для повышения термоустойчивости осенневегетирующих травянистых, кустарниковых и древесных растений. Переход температуры воздуха через 10 °С совпадает примерно с наступлением осенних заморозков, когда I фаза закаливания проходит на свету при низких положительных температурах (+10 °С днем и +2 °С...4 °С ночью). Переход среднесуточной температуры воздуха через 5 °С (окончание роста и развития осенневегетирующих травянистых растений, глубокий физиологический покой кустарников и деревьев) наблюдается в середине сентября, а через 0 °С – в конце сентября – начале октября. При наступлении морозов осенне-вегетирующие растения (отава) уходят под снег в зеленом состоянии, обеспечивая зимним кормом травоядных животных. Поэтому весьма актуальным является изучение содержания и состава

липидов и их ПНЖК в листьях летне- и осенневегетирующих растений в условиях криолитозоны Якутии.

Таблица.

Особенности холодого закаливания растений в условиях Якутии

Флористические районы	Годы	Даты перехода среднесуточной температуры воздуха через:					Продолжительность I фазы закаливания, дни
		15 °С (начало осени)	10 °С (начало холодого закаливания)	5 °С (окончание вегетации)	0 °С (окончание I фазы закаливания)	-5 °С (окончание осени, II фаза закаливания)	
Центрально-Якутский (Ц-Я)	2015	17.08	01.09	15.09	25.09	13.10	24
	2016	15.08	07.09	21.09	24.09	09.10	17
	2017	17.08	13.09	18.09	30.09	15.10	17
Яно-Индигирский (Я-И)	2015	19.07	15.08	01.09	19.09	23.09	34
	2016	06.07	17.08	19.09	23.09	27.09	36
	2017	13.07	17.08	07.09	16.09	02.10	30
Колымский (Кол)	2014	10.08	11.08	18.09	26.09	11.10	15
	2015	27.07	01.08	14.09	24.09	03.10	23
	2016	06.08	02.08	10.09	25.09	17.10	23

Участок с опытными многолетними растениями *Bromopsis inermis* Leys. располагался в средней пойме р. Лена (Центральная Якутия, окрестности г. Якутска, 62° с.ш. и 130° в.д.). Схема опыта (2013–2014 гг.) строилась с таким расчетом, чтобы растения подвергались естественному холодому закаливанию во второй половине сентября. Для этого летом в начале фазы трубкования часть растений срезали на высоте 4–5 см от уровня земли для стимулирования закладки молодых побегов (отава). Остальные растения служили контрольным вариантом.

Листья *B. inermis* фиксировали жидким азотом с последующей лиофилизацией (VirTis, USA). Экстракцию суммарных липидов (СЛ), количественное определение содержания фосфолипидов проводили по общепринятым методикам. Анализ полученных метиловых эфиров ЖК производился методом газожидкостной хроматографии с использованием хромато-масс-спектрометра 5973/6890N MSD/DS (Agilent Technologies, USA). Опыты проводили в трехкратной биологической повторности.

В летнее время (июль-август) у *B. inermis* в варианте без срезки отмечали низкое содержание СЛ (25,8–75,5 мг/г сух. массы). Напротив, начиная с последней декады августа, по мере закаливания осенневегетирующей отавы злака, наблюдали значительное увеличение СЛ, содержание которых возросло до 93,3–136,8 мг/г сух. массы.

Результаты анализа показали, что в листьях травянистых растений были выявлены следующие ФЛ: фосфатидилхолин (ФХ), фосфатидилинозит, фосфатидилэтанолламин, фосфатидилглицерин, фосфатидная кислота, дифосфатидилглицерин. Осенью, в период наступления низких положительных температур в листьях отавы костреца количество ФХ увеличилось в 3,6 раза по сравнению с летними показателями контрольных растений.

Исследование жирнокислотного состава костреца безостого выявило 17 типов ЖК. Более половины суммы всех ЖК листьев *B. inermis* составляла линоленовая кислота, затем насыщенная пальмитиновая. У отавы, отрастающей после срезки

надземной части, содержание суммы насыщенных и ненасыщенных ЖК было выше, чем у летневегетирующих растений, при этом содержание насыщенных ЖК увеличилось на 3,6 мг/г, ненасыщенных – на 32,4 мг/г сух. массы. Соответственно, показатель коэффициента ненасыщенности (К) вырос почти в 1,4 раза.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что для осенневегетирующей отавы *V. inermis*, проходящей холодовое закаливание в условиях криолитозоны Якутии, характерно существенное накопление как содержания СЛ, так и полярных ФЛ, особенно ФХ, а также ПНЖК, по сравнению с летневегетирующими растениями. Полученные данные согласуются с физиологической ролью липидов в адаптации растений к низкотемпературному воздействию [Верещагин, 2007]. Это обеспечивает продление функционирования фотосинтеза в период первой фазы холодового закаливания и способствует завершению подготовки растений к длительной зиме.

Следует отметить, что продолжительность периода с осенними низкими положительными температурами воздуха от 10 °С до 0 °С в Центральной Якутии составляет 17-24 дня. В период первой фазы холодового закаливания (в конце лета и осенью) в Якутии складываются самые благоприятные погодные условия для повышения термоустойчивости осенневегетирующих травянистых растений. Преобладающими метеорологическими элементами являются наличие большого числа ясных солнечных дней, необходимых для фотосинтеза, и прохладных ночей, задерживающих расходование углеводов на дыхание.

Накопление большого количества энерго- и материалоемких веществ, таких как белки, углеводы [Габышев, 1957; Потапов, 1967; Петров и др., 2017], а также липиды и их незаменимые ПНЖК в листьях осенневегетирующих и зимнезеленых злаковых, осоковых и хвощовых кормовых растений определяет их высокую питательную ценность. Липиды растений – важнейший компонент рациона животных, обеспечивающий значительную часть их энергетических потребностей и служащий источником эссенциальных ПНЖК [Гладышев, 2012].

Травоядные животные, получив жирные масла и незаменимые ПНЖК вместе с пищей, способны синтезировать из них длинноцепочечные ПНЖК Омега-6 (арахидоновая кислота) и Омега-3 (эйкозапентаеновая и докозагексаеновая кислоты) [Gladyshev et al., 2015]. Повышенное содержание жирных масел у осенневегетирующих кормовых растений, по-видимому, является одной из главных причин быстрого накопления жира у травоядных животных в условиях холодного климата криолитозоны Якутии. Так, еще профессор М.Ф. Габышев [1957, с. 166], исследуя нажировочную способность якутской лошади, впервые пришел к заключению: «Продолжительность нажировки зависит от отавности пастбищ, при обилии отавы нажировка заканчивается с наступлением первых морозов...».

Многие виды млекопитающих (северный олень, заяц-беляк, малый и длиннохвостый суслики и др.), обитающие в Якутии, отличаются развитой способностью к осеннему накоплению наружного и внутреннего жира, что может быть обусловлено их генетическими особенностями, сформировавшимися в процессе длительной эволюции. Вместе с тем, главным источником биоэнергетики, обеспечивающей жизнедеятельность таких травоядных животных зимой в условиях экстремально холодного климата криолитозоны, по-видимому, является зеленый криокорм с повышенным содержанием питательных веществ, включая липиды и их ЖК.

Литература

Верещагин А.Г. Липиды в жизни растений. 63-е Тимирязевское чтение. – М.: Наука, 2007. – 78 с.

Габышев М.Ф. Якутская лошадь. – Якутск, 1957. – 239 с.

Гладышев М.И. Незаменимые полиненасыщенные жирные кислоты и их пищевые источники для человека // Журнал Сибирского федерального университета. Биология. – 2012. – Т. 5, №4. – С. 352–386.

Петров К.А., Перк А.А., Чепалов В.А., Софронова В.Е., Ильин А.Н., Иванов Р.В. Эколого-физиологические и биохимические основы формирования зеленого криокорма в Якутии (Обзор) // Сельскохозяйственная биология. – 2017. – Т. 52, № 6. – С. 1129–1138.

Потапов В.Я. Углеводы и лигнин в кормовых травах Якутии. – М.: Наука, 1967. – 173 с.

Gladyshev M., Makhutova O., Gubanenko G., Rechkina E., Kalachova G., Sushchik N. Livers of terrestrial production animals as a source of long-chain polyunsaturated fatty acids for humans: An alternative to fish? // Eur. J. Lipid Sci. Technol. – 2015. – V. 117. – P. 1417–1421.

LIPID COMPOSITION OF AUTUMN CRYOFEED OF LIVING ORGANISMS IN THE CONDITIONS OF YAKUTIA

K.A. Petrov¹, V.V. Nokhsorov², A.A. Perk¹, V.A. Chepalov¹

¹Institute for Biological Problems of Cryolithozone Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Yakutsk, Russia, *kap_75@bk.ru*

²M.K. Ammosov North-Eastern Federal University, Yakutsk, Russia, *vv.nokhsorov@s-vfu.ru*

Abstract. Significant increase in summary lipids content, as well as in phospholipids and their fatty acids has been found for the first time in cereals (case study of *Bromopsis inermis* Leyss.) during cold acclimation under the cryolithic conditions of Yakutia. It is supposed that feed with a considerable amount of phospholipids and essential PUFA (linoleic and linolenic) contribute to the formation of a unique composition of reserve fat in aboriginal animals during their wintering.

Keywords: *cryofeed, lipids, fatty acids, animal adaptation*

ИЗУЧЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ АЗОТНОГО МЕТАБОЛИЗМА РАСТЕНИЙ ТЫКВЫ ПРИ КОМПЛЕКСНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ КОБАЛЬТА И ЗАСОЛЕНИЯ

И.Т. Пириев, А.Д. Самедова, М.А. Аннагиева, Х.Л. Салаева, Т.С. Ширвани

Институт ботаники Национальной Академии наук Азербайджана, Баку, Республика Азербайджан, *shirvani_ts@hotmail.com*

Аннотация. Изучена специфика ответных реакций растений тыквы, подвергнутых одновременному воздействию избытка кобальта и натрий хлорида, на уровне таких физиологических процессов, как накопление и распределение между органами различных форм азота, белков и активности протеолитических ферментов. Полученные данные показали, что засоление смягчает негативное воздействие кобальта на растение, и растения тыквы проявляют положительную кросс-адаптацию к этим двум совместно взятым стрессорам.

Ключевые слова: *тыква, кобальт, засоление, формы азота, протеолитические ферменты*

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-634-638

В настоящее время проблема экологического, в частности, антропогенного загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами (ТМ) и хлоридом натрия, лимитирующего продуктивность сельскохозяйственных культур и представляющего угрозу для сохранения биоразнообразия растительного мира и опасность для здоровья человека, остро стоит во всем мире. Особенно остро она стоит в Азербайджане в связи с нефтяным бумом, возрождением добывающей, химической, оборонной промышленности, перезагрузкой автотранспортного хозяйства. В напряженных и экстремальных условиях среды растения запускают различного рода протекторно-приспособительные механизмы для самозащиты от повреждающих воздействий разных видов стрессов, позволяющие им выжить и адаптироваться к техногенной среде. Формируя свою адаптивную стратегию, они проявляют множественное разнообразие ответных реакций на стрессовые воздействия на разных уровнях организации, в том числе на физиологическом и биохимическом.

Азотный обмен играет основополагающую и регуляторную роль в жизнедеятельности растительного организма, являясь одним из важнейших физиологических процессов, определяющих рост, развитие, метаболизм, формирование продуктивности и устойчивости растений в меняющихся условиях среды. Изучение количественных изменений ключевых параметров азотного обмена – различных форм азота, растворимых белков и активности протеиназ – у растений, подвергнутых воздействию ТМ и засолению, и их оценка позволяют определить вклад каждого из них в продукционные и адаптационные процессы растительного организма, происходящие при разных взаимодействиях растение – среда.

Следует отметить, что по сравнению с другими ТМ кобальт не считается высокотоксичным для растений в естественных условиях. Однако загрязнение окружающей среды является потенциальным источником токсичного кобальта для них. Он является полезным для высших растений, но необходимым элементом лишь для некоторых из них, в частности, азотфиксирующих бобовых растений и некоторых видов сине-зеленых водорослей [Yadav, Khanna, 1988]. По имеющимся данным, использование кобальта в условиях засоления уменьшало вредное воздействие токсичности последнего на ряд растений, в том числе пшеницу, максимизируя ее толерантность к почвенному засолению, стимулируя рост урожая, улучшая качество семян и их питательный статус [Gad, Kandil, 2011].

Целью настоящей работы явилось исследование специфики ответных реакций гликофитного растения тыквы, подвергнутого одновременному воздействию двух токсикантов – избытку кобальта и натрий хлорида, на уровне таких физиологических процессов, как накопление и распределение между органами азотсодержащих соединений – общего, белкового и небелкового азота, общих растворимых белков и протеолитических ферментов.

Объектом исследования в работе служили корни, стебли, настоящие и семядольные листья растений тыквы (*Cucurbita pepo* L.) сорта «Перехватка». Пятидневные проростки пересаживали в питательный раствор Кнопа (1N, pH 6,0) в 4 вариантах опыта: контроль; NaCl (0,1 M); CoCl₂ (0,1 mM); NaCl+CoCl₂. Растения выращивали до 21 дня. Пробы растений из всех вариантов брали на анализ в три срока через каждые 7 дней (на 7, 14 и 21 день после пересаживания) в трех биологических повторностях. Различные формы азота в растениях, активность протеолитических ферментов, содержание общих растворимых белков определяли по прописям, изложенным ранее [Ширвани и др., 2010].

Анализ полученных данных по накоплению и распределению в различных органах растения белкового азота, представляющего для нас особый интерес, т.к. его содержание является важным показателем биосинтетических процессов, а также надежным критерием устойчивости организма [Сергейчик, Сергейчик, 2002; Абдрашева, 2013], показал, что его содержание у 21-дневных растений было значительно выше в побегах, чем в корнях во всех вариантах опыта (контроль; NaCl; CoCl₂; CoCl₂+NaCl) (табл.). Причем, в побегах в варианте только с кобальтом содержание белкового азота было гораздо ниже (почти в 2 раза), чем в варианте комплексного использования кобальта с NaCl. В корнях же при применении обоих стрессоров содержание белкового азота было выше, чем в варианте только с NaCl, но несколько ниже, чем в варианте только с кобальтом.

Таблица.

Распределение различных форм азота в органах 21-дневных растений тыквы, выращенных при раздельном и совместном применении NaCl и CoCl₂ (мг/г абс. сух. массы)

Формы азота	Органы растения	Варианты опыта			
		Конт.	NaCl	CoCl ₂	NaCl+CoCl ₂
Общий азот	побеги	147	132	74	122
	корни	42	32	44	38
Небелковый азот	побеги	20	26	26	30
	корни	4	5	9	7
Белковый азот	побеги	127	106	48	92
	корни	38	27	35	31
Отношение белк. N/небелк. N	побеги	6,4	4,1	1,9	3,1
	корни	9,5	5,4	3,9	4,4
Белковый N в % от общего	побеги	86	80	65	75
	корни	90	84	80	82
Небелковый N в % от общего	побеги	14	20	35	25
	корни	10	16	20	18

Более ясная картина накопления белковой и небелковой фракций азота в корнях и побегах растений тыквы, получивших кобальт в комплексе с NaCl и раздельно, вырисовывается при рассмотрении их в процентной доле от общего азота (табл.). Если доля белкового азота в % от общего в побегах растений из варианта только с Co составляет 65%, а в корнях 80%, то в случае CoCl₂+NaCl – 75% и 82%, соответственно,

т.е. наблюдалось увеличение на 10% - в побегах и на 2% в корне. Увеличение содержания общего азота в побегах растений в варианте $\text{CoCl}_2+\text{NaCl}$ по сравнению с вариантом с использованием одиночного кобальта на 65% (122 мг против 74 мг) происходило за счет белковой фракции, а уменьшение в корне на 13% (38 против 44), по всей вероятности, произошло из-за появления на опытных растениях настоящих листьев в варианте $\text{CoCl}_2+\text{NaCl}$ (в варианте только с кобальтом настоящие листья так и не появились, и часть азота из побегов переправлялась в корни, увеличивая там свое содержание). Возрастание содержания общего азота в варианте совместного использования токсикантов наряду с увеличением концентрации белкового азота явно свидетельствует об активизации защитно-приспособительных реакций, направленных на повышение устойчивости и выживания растений в этих напряженных условиях. Иными словами, в данном случае наблюдался протекторный эффект засоления от ингибиторного действия избытка кобальта на синтетические процессы в растениях.

Наиболее убедительным показателем биосинтетической активности растений является величина отношения белковый азот/небелковый азот. Наши данные показали, что во всех четырех вариантах опыта отношение белковый азот/небелковый азот было выше в корнях по сравнению с побегами. Вместе с тем, и в стебле, и в корне оно было выше в варианте совместного применения Co с NaCl , чем с варианте его одиночного использования. Эти данные также свидетельствуют о сравнительно большей устойчивости растений к совместному применению токсикантов, чем к кобальту, взятому индивидуально. Считается, что значительно усиленный вклад корня по сравнению с побегом растения, испытывающего стресс, в снабжении его органическими азотистыми соединениями является характеристикой стресс-устойчивости растений [Абдрашева, 2013].

Об этом же свидетельствуют наши данные о накоплении растворимых белков различными органами тыквы, выращенной в условиях отдельного и комплексного воздействия засоления и кобальта, показавшие, что содержание белков в корнях растений в варианте $\text{CoCl}_2+\text{NaCl}$ было, хотя и незначительно, но выше (9,0 мг/мл), чем в вариантах с их отдельным применением (8,2 мг/мл в случае CoCl_2 и 5,0 мг/мл в случае NaCl).

Одной из индуцируемых стрессом перестроек азотно-белкового обмена является изменение активности участвующей в нем системы протеолиза, функциональные белки которой играют протекторную роль в клетках и в повышении адаптационных возможностей растительного организма [Домаш и др., 2007]. Определение активности протеолитических ферментов в различных органах 21-дневных растений тыквы (в расчете на 1 растение), подвергнутых токсическому воздействию кобальта и NaCl , взятых отдельно и совместно, выявило, что в варианте совместного использования токсикантов в корнях и особенно в настоящих листьях растений наблюдается увеличение гидролитической активности протеиназ (в корнях – 154% от контроля, в настоящих листьях -175%) (рис.).

Увеличение активности протеиназ, по нашему мнению, некоторым образом стимулировало развитие растений в варианте $\text{CoCl}_2+\text{NaCl}$. Растения, обработанные только кобальтом, сильно отставали в своем развитии от растений, получивших $\text{CoCl}_2+\text{NaCl}$: у них до конца эксперимента так и не появились настоящие листья. Кроме того, в варианте только с кобальтом в корнях растений уже с первых дней вегетации (7 дней) наблюдалось снижение активности протеиназ (на 64,1% ниже контроля), она была высокой только в семядольных листьях, по всей вероятности, для усиления диссимиляции имеющихся там запасных белков и переброски их в другие органы. Активность протеиназ в корнях 21-дневных растений этого же варианта еще более понизилась и составила 42% от контроля (рисунок).

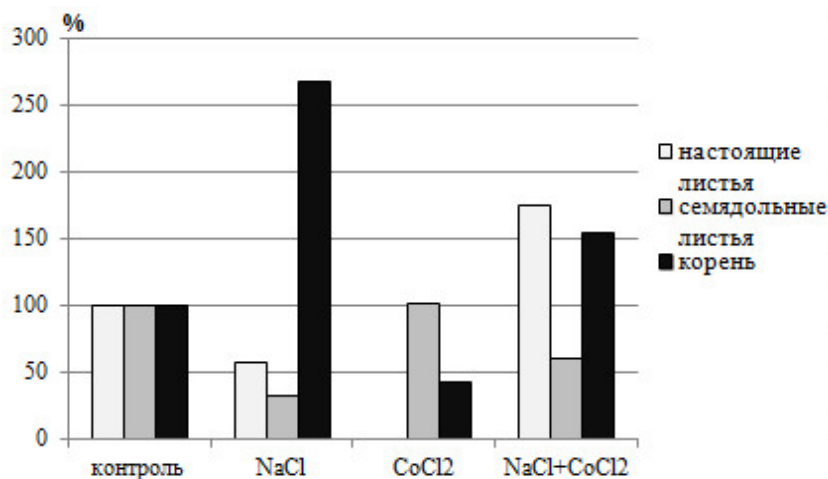


Рисунок. Активность протеолитических ферментов в различных органах 21-дневных растений тыквы, подвергнутых токсическому воздействию избытка кобальта и NaCl, взятых в отдельности и в комплексе (в % от контроля по абсолютному содержанию в мкг в 1 растении).

Получившие только NaCl растения в своем большинстве подверглись летальному исходу. У оставшихся в живых растений на 21 день наблюдался усиленный распад белков в семядольных листьях, что привело к уменьшению их сухого веса до 73 мг (в контроле 123 мг).

Сравнение показателей развития растений, наблюдаемых в вариантах индивидуального и комплексного использования кобальта и NaCl, показало, что засоление смягчает негативное воздействие кобальта на растения, и растения тыквы проявляют положительную кросс – адаптацию к этим двум совместно взятым стрессорам. Об этом свидетельствуют представленные нами данные по содержанию белкового азота, отношению белковый N/небелковый N, накоплению общих растворимых белков и усилению гидролитической активности протеиназ в разных органах растений.

Литература

Абдрашева К.К. Изучение адаптации к действию тяжелых металлов на примере арабидопсиса различных генотипов // Матер. Респ. науч.-теор. конф. «Сейфуллинские чтения-9: новый вектор развития высшего образования и науки», 2013. – Т. 1, № 2. – С. 233-235.

Домаш В.И., Корзюк О.В., Шарпио Т.П., Зобрейко С.А., Сосновская Т.Ф. Функциональные белки бобовых растений в условиях солевого стресса // Матер. 6 съезда физиологов растений России. – Сыктывкар. – 2007. – С. 118-119.

Сергейчик А.А., Сергейчик С.А. Влияние токсичных компонентов техногенных эмиссий на устойчивость хвойных лесобразующих пород Беларуси // Тез. докл. Междунар. науч. конф. «Ботанические сады: состояние и перспективы сохранения, изучения, использования биологического разнообразия растительного мира». – Минск: БГПУ, 2002.— С. 246-250.

Ширвани Т.С., Самедова А.Дж., Салаева Х.Л., Пириев И.Т., Аннагиева М.А., Ализаде В.М. Воздействие различных доз кадмия на ростовые и физиолого-биохимические характеристики растений тыквы // Известия НАНА. – 2010. – Т. 65, №3-4. – С. 3-11.

Gad N., Kandil H. Maksimizing the tolerance of wheat plants to soil salinity using cobalt. 1. - Growth and mineral composition // J. of Applied Science Research. – 2011.– 7(11). – P. 1569–1574.

Yadav D.V., Khanna S.S. Modelling cobalt and phosphorus responses in some legumes // Intern. J. of Tropical Agriculture. – 1988.– No. 4(3).– P. 228–232.

STUDY OF PARAMETERS OF NITROGEN METABOLISM IN PUMPKIN PLANTS UNDER COMBINED ACTION OF COBALT AND SALINITY

I.T. Piriyeu, A.J. Samedova, M.A. Annagiyeva, Kh.L. Salayeva, T.S. Shirvani

Institute of Botany, Azerbaijan National Academy of Sciences, 40 Badamdar Shosse, Baku, Azerbaijan, *shirvani_ts@hotmail.com*

Abstract. A specific character of responses of pumpkin plants subjected to simultaneous action of excess of cobalt and sodium chloride at the level of such physiological processes as the accumulation and distribution among of organs of various forms of nitrogen, proteins and activities of proteolytic enzymes has been studied. The data obtained revealed that salinity alleviates the negative effect of cobalt on plants and pumpkin plant shows a positive cross-adaptation to these jointly taken stressors.

Keywords: *pumpkin, cobalt, salinity, forms of nitrogen, proteolytic enzymes*

ВЛИЯНИЕ ХЛОРИДНОГО ЗАСОЛЕНИЯ НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ПРОРОСТКОВ ДИКОРАСТУЩИХ ЗЛАКОВ ВОСТОЧНОГО ЗАБАЙКАЛЬЯ

И.Н. Пляскина, Е.А. Бондаревич

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Читинская государственная медицинская академия», Министерства здравоохранения Российской Федерации, Чита, Россия, *thebestdamnthing@mail.ru*; *bondarevich84@mail.ru*

Аннотация. В статье представлены результаты изучения прорастания семян двух видов рода *Stipa* в условиях хлоридного засоления. Определение всхожести семян показало, что *Stipa sibirica* более приспособлен к засолению. Показано, что исследуемые злаки реагируют на засоление изменением активности антиоксидантных ферментов.

Ключевые слова: злаки, прорастание, хлоридное засоление, каталаза, пероксидаза

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-639-642

Влияние засоления на рост и развитие растений имеет две основные составляющие: дефицит влаги в результате осмотического стресса и токсическое действие избытка ионов солей, особенно ионов Na^+ [Dajic, 2006]. Повышенная концентрация NaCl вызывает явление окислительного стресса, сопряженного с избыточной генерацией активных форм кислорода (АФК) [Гарифзянов, 2012]. Поддержание концентрации АФК на достаточно низком уровне осуществляет специализированная антиоксидантная система, включающая антиоксиданты и ферменты, такие как супероксиддисмутаза, каталаза, различные изоформы пероксидаз [Колупаев, 2007; Загоскина, Назаренко, 2016]. Во многих исследованиях была обнаружена корреляция между устойчивостью к стрессам и уровнем активности антиоксидантных систем. Исследования, которые рассматривают изменение активности антиоксидантных систем у дикорастущих злаков, немногочисленны. Поэтому актуальным является изучение этого вопроса, поскольку это позволит внести вклад в концепцию устойчивости растений.

Цель работы: изучить влияние хлоридного засоления на всхожесть семян и активность каталазы и пероксидазы в проростках дикорастущих злаков.

Материалы и методы: объекты исследования – ковыль сибирский (чий сибирский) *Stipa sibirica* (L.) Lam и ковыль Крылова (*Stipa krylovii* (Roshev)). Семена были собраны в 2017 г. (Читинский район) и в 2015 г. (Оловянинский район) на территории Забайкальского края. Материалом для исследования являлись двухнедельные проростки злаков. Семена проращивали с использованием растворов NaCl разной концентрации: 25 мМ соответствует содержанию 0,06% легкорастворимых солей в почвенном растворе, 50 (0,29%), 75 (0,44%), 100 (0,58%), 150 (0,87%), 200 (1,17%) и 300 мМ (1,8%), контроль – дистиллированная вода. По принятой классификации к засоленным относят почвы с содержанием легкорастворимых солей более 0,25%. Почвы с содержанием легкорастворимых солей более 1% относят к солончакам. Семена проращивали в термостате при температуре 21 °С в течение 14 суток. Проводили подсчет проросших семян (в %). Для проведения эксперимента использовали 3-х кратную повторность, в каждой повторности содержалось 50 семян. Для определения активности каталазы использовали метод, основанный на способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс [Королюк и др., 1988]. Для определения активности пероксидазы был использован кинетический метод, основанный на изменении оптической плотности раствора за счёт образования окрашенного продукта окисления

бензидина [Воскресенская и др., 2006]. Активность пероксидазы выражают в единицах оптической плотности на грамм сырой массы в секунду $\Delta D_{670} \cdot \Gamma^{-1} \cdot c^{-1}$. Статистическая обработка выполнена в программе MS Excel 2010 (описательная статистика).

Результаты: начиная с 3-х суток, отмечается прорастание семян исследуемых злаков в большинстве проб. При определении всхожести семян было выяснено, что концентрация NaCl 300 мкМоль полностью останавливает процесс прорастания. Семена *S. sibirica* не прорастают также при концентрации 200 мкМоль (рис. 1). Семена *S. krylovii* проросли при концентрации 200 мкМоль, но всхожесть оказалась самой низкой (2,5%) и не наблюдалось положительной динамики (рис. 2). В целом, семена *S. sibirica* имели больший процент всхожести в условиях засоления. Резкое снижение всхожести наблюдается от 100 до 150 мкМоль (всхожесть соответственно 50 и 17,5%) (рис. 1).

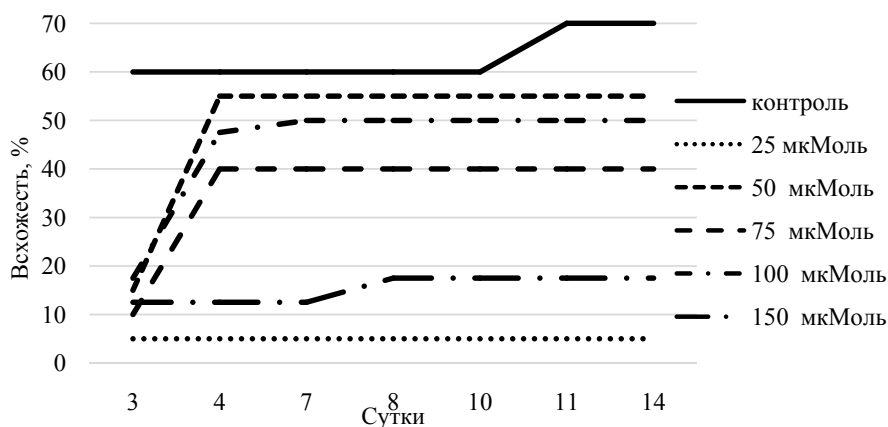


Рис. 1. Всхожесть семян *S. sibirica* в условиях хлоридного засоления.

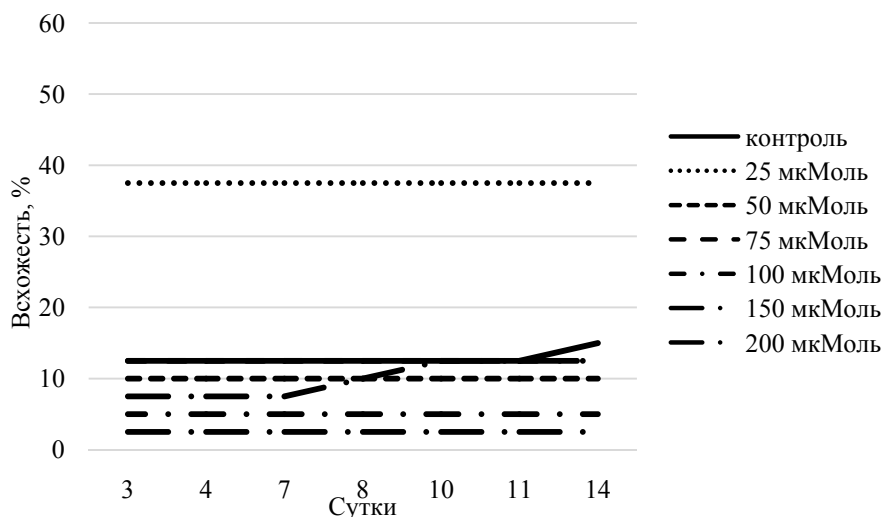


Рис. 2. Всхожесть семян *S. krylovii* в условиях хлоридного засоления.

В ходе исследования было выяснено, что с увеличением концентрации NaCl меняется активность каталазы. В контроле активность фермента у обоих видов оказалась практически сходной (рис. 3). Максимальное значение активности также отмечено при одинаковой концентрации NaCl (75 мМ). Последующее снижение активности фермента можно объяснить торможением синтетических процессов в проростке, что сказывается также и на ростовых процессах. Активность пероксидазы также менялась в зависимости от концентрации NaCl (рис. 4). У проростков *S. sibirica*

максимальное значение активности фермента наблюдается при концентрации 25 мкМоль, у *S. krylovii* – при 50 и 75 мкМоль.

Таким образом, возможность семян исследуемых злаков прорасти при высоких концентрациях NaCl может быть связана с ксерофитной природой этих злаков, так как ксерофиты имеют приспособления, позволяющие эффективно использовать влагу. Также, одним из механизмов, обеспечивающих устойчивость проростков *S. sibirica* и *S. krylovii* к условиям среды, является активность антиоксидантных систем.

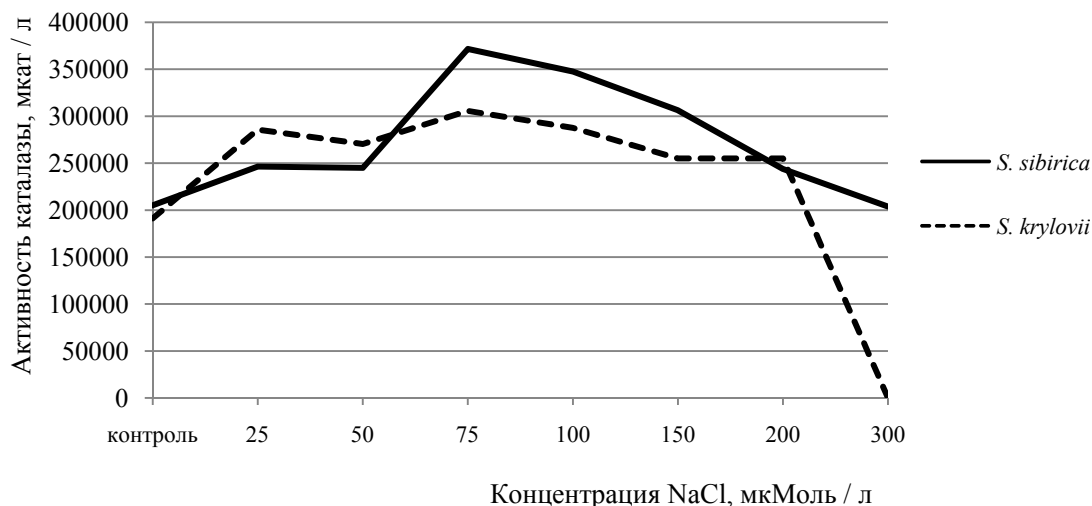


Рис. 3. Активность каталазы в двухнедельных проростках злаков

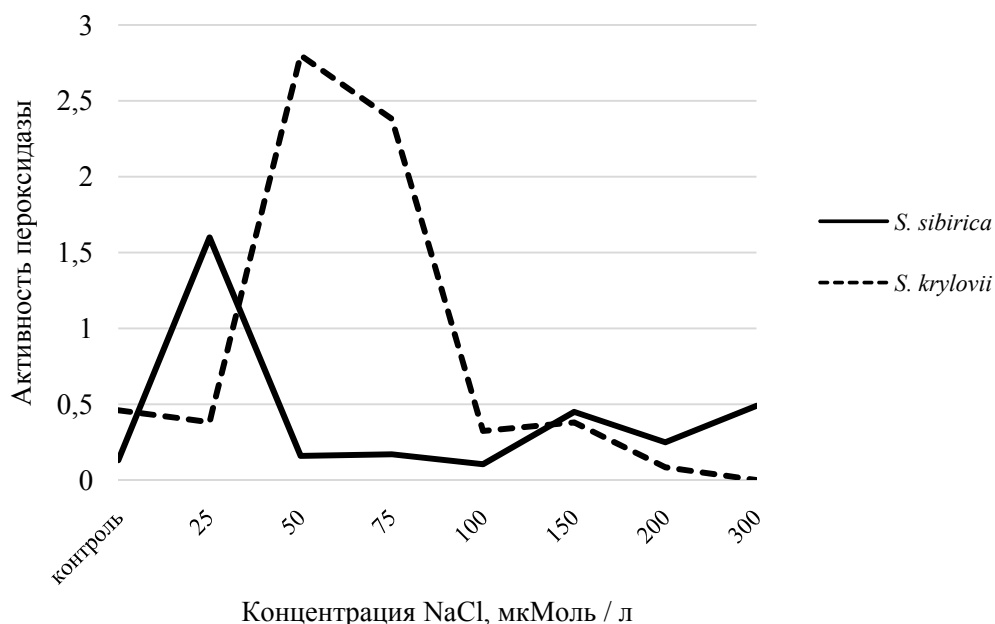


Рис. 4. Активность пероксидазы в двухнедельных проростках злаков (γ⁻¹·с⁻¹).

Литература

Воскресенская О.Л., Алябышева Е.А., Половникова М.Г. Большой практикум по биоэкологии. Ч. 1: учеб. пособие / Мар. гос. ун-т; – Йошкар-Ола, 2006. – 107 с.

Гарифзянов А.Р. Особенности NaCl-индуцированного окислительного стресса и динамики активности антиоксидантных ферментов в органах тритикале озимого // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2012. – № 2. – С. 9–12.

Загоскина Н.В., Назаренко Л.В. Активные формы кислорода и антиоксидантная система растений // Вестник Московского городского педагогического университета. Серия «Естественные науки». – 2016. – №. 22. – С. 9–23.

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.

Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.

Dajic Z. Salt stress // Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants / Eds.: Madhava Rao K.V., Raghavendra A.S., Janardhan Reddy K. – Dordrecht: Springer-Verlag, 2006. – P. 41–101.

THE INFLUENCE OF CHLORIDE SALINITY ON ENZYME ACTIVITY OF SEEDLINGS OF WILD CEREALS OF EASTERN TRANSBAIKALIA

I.N. Plyaskina, E.A. Bondarevich

Federal State Budgetary Institution of Higher Professional Educational «Chita State Medical Academy» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Chita, Russia, thebestdamnthng@mail.ru, bondarevich84@mail.ru

Abstract. The article presents the results of studying the germination of seeds of two species of the genus *Stipa* in terms of chloride salinity. Determination of seed germination showed that *Stipa sibirica* is more adapted to salinity. It is shown that the studied cereals react to salinity by changing the activity of antioxidant enzymes.

Keywords: cereals, germination, chloride salinity, catalase, peroxidase

ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ НОВЫХ ПРЕПАРАТОВ ФУНГИЦИДНОГО И РЕГУЛЯТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ НА РАСТЕНИЯ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ

С.Н. Полянская¹, В.П. Шуканов¹, Л.А. Корытько¹, Е.В. Мельникова¹,
В.М. Гончарук², И.Г. Бруй³

¹Государственное научное учреждение «Институт экспериментальной ботаники имени В.Ф. Купревича национальной академии наук Беларуси», Минск, Республика Беларусь, *snpoljan@mail.ru*

²Государственное научное учреждение «Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси», Минск, Республика Беларусь, *heppyletta@mail.ru*

³Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию», Жодино, Республика Беларусь, *patphysio@mail.ru*

Аннотация. Применение новых препаратов фунгицидного и регуляторного действия на растениях ячменя показало, что все используемые препараты снижали степень развития листовых болезней в полевых мелкоделяночных опытах, что положительно сказалось на зерновой продуктивности ячменя. Полученные данные показывают, что препараты защитно-стимулирующего действия могут быть использованы для повышения стрессоустойчивости и продуктивности злаковых культур.

Ключевые слова: патосистема, болезнеустойчивость, продуктивность, ячмень

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-643-647

Возделывание сельскохозяйственных зерновых культур требует проведения исследований по разработке и применению средств защиты, способных регулировать рост и развитие растений и индуцировать формирование болезнеустойчивости [Привалов, 2007]. Это связано, в первую очередь, с экологизацией окружающей среды. Кроме того, химические средства защиты растений не должны накапливаться и сохраняться в собранном урожае. Перспективными могут оказаться защитно-стимулирующие препараты, в основе которых лежит использование смесей веществ. Это и использование известных пестицидов с регуляторами роста [Калацкая и др., 2005], фунгицидов с соединениями, содержащими кремний [Дорожкина и др., 2005], комплексные препараты на основе фенолкарбоновых кислот [Алексеева, 2005] и метаболитов бактерий [Манжелесова и др., 2005]. Принцип взаимодействия разных веществ используется при борьбе с сорной растительностью, болезнями и вредителями с помощью специально подобранных смесей [Привалов, 2007]. Важно создать такой препарат, который, с одной стороны, защищал посевы от инфекции, как прямо, так и через усиление иммунного ответа, с другой, не наносил бы вред биосфере.

Проникая в растение, грибок вызывает ряд биохимических перестроек с целью доступа к элементам питания. В связи с этим применение разных средств защиты направлено на уменьшение патогенного воздействия болезнетворных агентов на растение, что способствует увеличению получаемого урожая [Сухорученко, 2005]. Поскольку грибные патогены быстро мутируют и развивают резистентность, ведется постоянный поиск новых веществ биоцидного характера. Главной задачей при этом является не только снижение развития грибных фитопатогенов, но и получение качественного урожая при сохранении благоприятной экологической ситуации. Это требование диктует современному растениеводству поиск препаратов, включающих фунгициды и физиологически активные вещества, усиливающие или сохраняющие, с одной стороны, его фунгицидные свойства, а с другой, повышающие болезнеустойчивость растения путем активации метаболизма. В настоящее время – это

производство комплексных препаратов, включающих регулятор роста и фунгицид [Интегрированные системы..., 2003, кн. 1-2]. Все препаративные формы были предложены на испытание Институтом биоорганической химии НАН Беларуси. В качестве регуляторов роста использовали препараты на основе гидрогуминовых (Экогум Комплекс, Экогум АФ) и тритерпеновых кислот (Экосил, Экосил Микс), представляющие собой новые биорегуляторы растений, важным свойством которых является иммуномодулирующая и антиоксидантная активности, определяющие высокую активность препаратов, что способствует повышению устойчивости растений к неблагоприятным факторам внешней среды (засуха, заморозки, загрязненность почвы пестицидами, избыточными дозами удобрений), а также к негативным изменениям в организме растения, возникающими при стрессовых состояниях. В состав препаратов входит также Эхион - системный фунгицид, обладающий профилактическим и биоцидным действием. Он воздействует на патогенные грибы на стадии образования первых гаусторий. Развитие грибов останавливается за счет прекращения биосинтеза стирола в клеточных мембранах. Нашей задачей было исследовать характер действия новых препаратов на степень поражения культурных злаков фитопатогенными грибами, структуру урожая зерна злаковых культур и изучить их антибиотическую активность.

Скринингу подвергнуто 6 экспериментальных образцов (ЭО) на основе фунгицида Эхион – ЭО 1, ЭО 2, ЭО 3 с добавлением Экосил и Экогум АФ (в разных дозировках); ЭО 4-5 – сниженная дозировка Эхиона с добавлением Экосил Микс, Экогум комплекс и ЭО 6 – сниженная дозировка Эхиона с добавлением Экосил Микс и Экогум комплекс в уменьшенной концентрации, предоставленных ИБОХ НАНБ, а также препараты Экогум Комплекс и Экосил Микс.

Объектом исследований служили растения ярового ячменя сорта Магутны, выращенные в лабораторных и полевых условиях. Определение антибиотической активности исследуемых препаратов проводили в лабораторных условиях на модельной фитопатосистеме ячмень–возбудитель сетчатой пятнистости ячменя фитопатогенный гриб *Helminthosporium teres* Sacc. (*Drechslera teres* (Sacc) Shoem.). Полевые мелкоделяночные (размер делянок 1 м²) проводили на экспериментальной базе научно-практического центра НАН Беларуси по земледелию (г. Жодино). Обработка почвы включала зяблевую и весеннюю вспашку с внесением удобрений N₆₀P₆₀K₆₀ при норме высева 5 млн семян на 1 га. Обработку растений в полевом опыте проводили в фазе выхода в трубку (ДК 25–33). Повторность опыта – 4-кратная.

Учет развития, распространенность и интенсивность болезней ярового ячменя проводили в разные фазы развития, начиная с фазы трубкования (25–33) до фазы восковой спелости (75-77) с интервалом 7 дней по общепринятым методикам. Для определения фазы развития растения-хозяина использовали десятичный код Задокса [Ламан и др., 1996]. Для листовых пятнистостей использовали методику учета пораженности по учетной шкале ВИЗР [Афанасенко, 1980], с помощью которой определяется процент пораженной площади листа. Интенсивность учитывалась по стандартным фитопатологическим шкалам. На начальных стадиях инфицированность определялась на всем растении. Со стадии появления флаг-листа оценку поражения проводили по разработанному в лаборатории БелИЗР экспресс-методу, согласно которому достоверные данные можно получить при оценке степени поражения только второго листа сверху у каждого учетного стебля [Интегрированные системы..., 2005]. Все экспериментальные данные обработаны статистически [Рокицкий, 1973].

В лабораторных условиях в модельной патосистеме изучали антигрибные свойства препаратов защитно-стимулирующего действия по характеру и величине пятен поражения и наличию мицелия на отрезках листьев (рис. 1). Влияние их

выражалось в ингибировании области некроза вокруг зоны нанесения инокулюма патогена. Обычная картина инфицирования отрезков листьев гельминтоспориозной инфекцией выглядела следующим образом. На месте нанесения инфекции сначала появлялось некротическое или хлорозное пятно величиной 0,5-0,7 см. Затем за пределами этого малого пятна формировалась обширная некротическая зона разной величины в зависимости от активности отдельных веществ, в свою очередь, окруженная хлорозной. Сдерживание развития фитопатогена может быть частичным или полным. В последнем случае говорят, что развитие гриба подавлено. По результатам исследования выявлено, что наилучшее антибиотическое действие оказывают препараты ЭО 3 и ЭО 4. Их действие практически полностью нивелировало зону поражения листовой пластинки грибом в месте его нанесения, оставляя лишь небольшие поражения. Применение ЭО 1, ЭО 2, ЭО 5, ЭО 6 и препарата Экогум Комплекс ингибировали развитие патогена не полностью, что выражалось ограниченным некрозом в месте нанесения инокулюма, отсутствием мицелия и хлороза. В варианте с Экосил Мiх наблюдали слабый некроз с небольшой зоной хлороза и обильно развитым мицелием, при этом тургор и фотосинтетическая активность листа были сохранены.

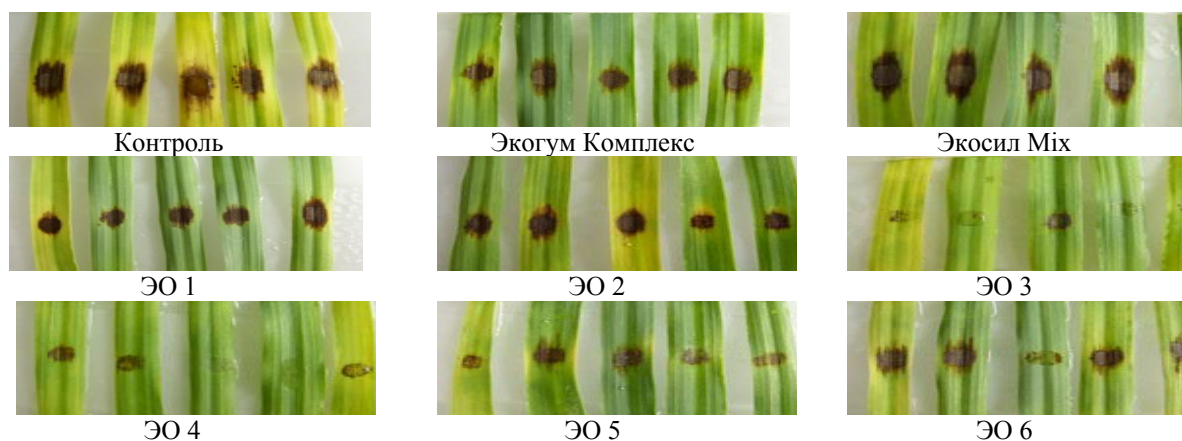


Рис. 1. Влияние препаратов защитно-стимулирующего действия на развитие гриба *H. teres* на отрезках листьев ячменя.

Таким образом, выявлены оптимальные концентрации препаратов, обладающие антибиотической активностью по отношению к фитопатогенному грибу: ЭО 3-5 обладали наибольшим ингибирующим инфекцию действием, несколько уступали им ЭО 1, 2 и Экогум Комплекс.

Обработку посевов растений ячменя методом опрыскивания растворами изучаемых препаратов и смесей проводили в начале фазы трубкования. Оценку болезней начали проводить спустя 7 суток после обработки. Анализ развития грибной инфекции показал, что распространенность грибных болезней на флаговом листе была не очень выраженной. На стадии трубкования флаговый лист не был поражен грибными болезнями. На стадии колошения он был незначительно поражен только в контроле и в варианте с ЭО 3, а в фазе молочной спелости в контроле распространенность болезней составила 80% и развитие 20%, а в обработанных вариантах ЭО 3, 5, 6 и Экосил Мiх – 20-40% и развитие болезней – 5-10%. Флаговый лист у вариантов с ЭО 1, 2, 4 и Экогум Комплекс оставался здоровым весь период исследований. Основными болезнями, вызвавшими поражение посевов, были темно-бурая пятнистость и сетчатый гельминтоспориоз, вызываемые факультативными паразитами рода *Helminthosporium*. Для фазы молочной спелости (рис. 2) характерно

массовое развитие листовых болезней на подфлаговом листе и переходе их на флаговый. Обработка ячменя всеми препаратами показала снижение инфицированности подфлагового листа у растений ячменя по сравнению с контролем в разной степени. Относительно сдерживания распространенности и развития грибных болезней хорошо себя зарекомендовали все ЭО. Следует отметить, что механизм защиты растений от патогенов включается сразу после обработки посевов и сохраняется до конца вегетативного развития. Причем соотношение пораженности контрольного варианта к обработанному препаратами сохраняется на уровне 1,5-2 раза.

Обработка защитно-стимулирующими препаратами существенно снижала процент развития болезней вплоть до фазы молочной спелости.

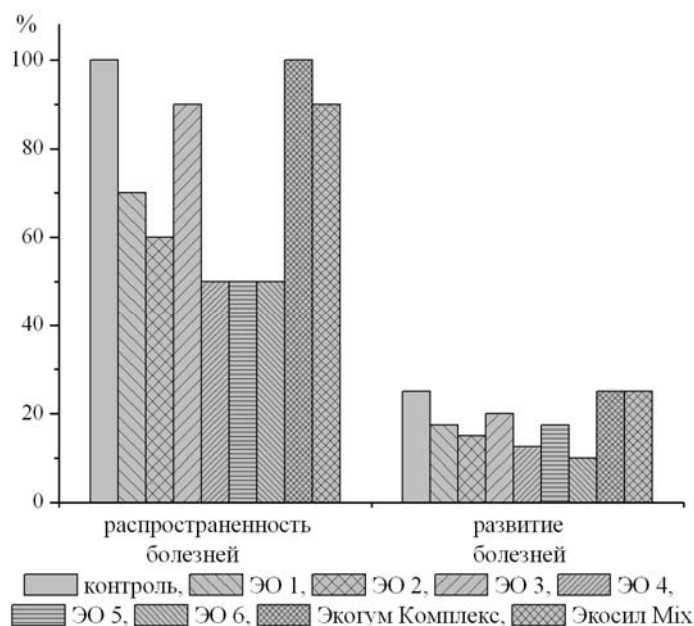


Рис. 2. Влияние препаратов защитно-стимулирующего действия на развитие болезней ячменя.

Все испытанные препараты не оказывали положительное влияние на зерновую продуктивность ячменя. Наилучший эффект показали ЭО 1, ЭО 3, ЭО 6 и Экогум Комплекс. Они оказывали заметное положительное влияние на продуктивность колоса, которое происходило за счет увеличения массы семян. ЭО 1, 5, 6, Экогум Комплекс и Экосил Мiх увеличивали продуктивную кустистость на 12-26%, вес колоса на 8-13%. Под воздействием ЭО 2, 3, 4 повышалась непродуктивная кустистость в 1,5-3 раза и масса соломы. Весьма сходным и наиболее эффективным на структуру урожая оказалось действие ЭО 1 и ЭО 6. Эти два препарата положительно воздействовали на все показатели продуктивности ячменя. Сходное действие на зерновую продуктивность оказывали ЭО 3 и Экогум Комплекс.

Таким образом, применение новых препаратов защитно-стимулирующего действия на основе фунгицида эхион в сочетании с гидрогуминовыми, тритерпеновыми кислотами в технологии возделывания ячменя показало, что все используемые препараты снижали степень развития листовых болезней в полевых мелкоделяночных опытах в среднем на 18%, а распространение болезней – на 25%. ЭО 1, 6 оказывали положительное влияние в полевом мелкоделяночном опыте. Под воздействием ЭО 3, 5 и Экогум Комплекс отмечена тенденция к увеличению продуктивности ячменя.

Литература

- Алексеева К.Л. Регуляция роста, развития и продуктивности растений // Матер. IV Межд. научной конф. (Минск, 26-28 октября 2005 г.) – Минск. – 2005. - С. 10.
- Афанасенко О.С. Бюлл. ВНИИ защиты растений, 1980. – № 47. – С. 8–10.
- Дорожкина Л.А. Регуляция роста, развития и продуктивности растений // Матер. IV Межд. научной конф. (Минск, 26-28 октября 2005 г.). – Минск, 2005. - С. 77.
- Интегрированные системы защиты сельскохозяйственных культур от вредителей, болезней и сорняков: рекомендации в 2-х книгах (Под ред. Сороки С.В.). – Минск, 2003. – Кн. 1. – 248 с.
- Интегрированные системы защиты сельскохозяйственных культур от вредителей, болезней и сорняков: рекомендации в 2-х книгах (Под ред. Сороки С.В.). – Минск, 2003. – Кн. 2. – 250 с.
- Интегрированные системы защиты сельскохозяйственных культур от вредителей, болезней и сорняков: рекомендации (Под ред. Сороки С.В.). Нац. Акад. наук Респ. Беларусь; Ин-т защиты растений НАН Беларуси. - Минск: Бел. наука, 2005. – 462 с.
- Калацкая Ж.Н., Ламан Н.А. Регуляция роста, развития и продуктивности растений // Матер. IV Межд. научной конф. (Минск, 26-28 октября 2005 г.). – Минск. – 2005. – С. 92.
- Манжелесова Н.Е. Полякова Н.В., Шабашова Т.Г. Регуляция роста, развития и продуктивности растений // Матер. IV Межд. научной конф. (Минск, 26-28 октября 2005 г.). – Минск, 2005. – С. 144.
- Ламан Н.А., Самсонов В.П., Прохоров В.Н., Шашко К.Г., Путырский И.Н., Кравченко В.М. Методическое руководство по исследованию смешанных агрофитоценозов. – Минск: Наука и техника, 1996. – 101 с.
- Привалов Ф.И. Биологизация приемов в технологиях возделывания зерновых культур. – Минск, 2007. – 188 с.
- Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. – Минск: Высшая школа, 1973. – 320 с.
- Сухорученко Д.И. Положение с резистентностью вредных видов в растениеводстве России в начале XXI века // Фитосанитарное оздоровление экосистем. – СПб, 2005. – С. 61–66.

CHARACTER OF INFLUENCE OF NEW FUNGICID AND REGULATORY PREPARATIONS ON PLANTS OF YARN BARLEY

C.N. Poljanskaja¹, U.P. Shukanau¹, L.A. Karytsko¹, A.U. Melnikava¹, V.M. Gancharuk², I.G. Brui³

¹State research institution «Institute of Experimental Botany named after V.F. Kuprevich National Academy of Sciences of Belarus», Minsk, Republic of Belarus, snpoljan@mail.ru

²State research institution «Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus», Minsk, Republic of Belarus, heppyletta@mail.ru

³RUE «SPC NAS of Belarus on agriculture», Zhodino, Republic of Belarus, patphysio@mail.ru

Abstract. The use of new fungicidal and regulatory preparations on barley plants reduced the degree of development of leaf diseases in small field experiments, which has a positive influence on the grain productivity of barley. The obtained data show that preparations of protective-stimulating action can be used to increase the stress-resistance and productivity of cereal crops.

Keywords: *pathosystem, disease resistance, productivity, barley*

СИСТЕМА АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ВАКУОЛИ. СРАВНЕНИЕ СИСТЕМЫ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ ВАКУОЛЕЙ, ПЛАСТИД И МИТОХОНДРИЙ КЛЕТОК КОРНЕПЛОДОВ СТОЛОВОЙ СВЕКЛЫ

Е.В. Прадедова¹, А.Б. Карпова², О.Д. Нимаева¹, Р.К. Саляев¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия, praded@sifibr.irk.ru

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Иркутский государственный университет», Иркутск, Россия

Аннотация. Установлено содержание и редокс-состояние аскорбиновой кислоты в изолированных вакуолях, пластидах и митохондриях клеток корнеплодов столовой свеклы (*Beta vulgaris* L.). В вакуолях пул окисленной аскорбиновой кислоты выше, чем в других исследуемых органеллах. По меньшей мере, три фермента вакуолярной локализации окисляют аскорбиновую кислоту и изменяют ее редокс-состояние: фенольная пероксидаза (КФ 1.11.1.7), аскорбатпероксидаза (КФ 1.11.1.11) и, возможно, аскорбатоксидаза (КФ 1.10.3.3).

Ключевые слова: *Beta vulgaris*, вакуоли, аскорбиновая кислота, аскорбатпероксидаза, аскорбатоксидаза

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-648-652

Разнообразные метаболические процессы протекают со значительным «потреблением» аскорбиновой кислоты (АА), в основном, в качестве источника электронов, поэтому в клетках постоянно образуются ее окисленные формы: монодегидроаскорбиновая кислота (МНДА) и дегидроаскорбиновая кислота (ДНА). Резкие изменения общего содержания аскорбиновой кислоты ($AA+DHA=AA_{\text{сум}}$), а также редокс-соотношения АА/ДНА наблюдаются при действии многих факторов окружающей среды [DeGara et al., 1991; Zechmann et al., 2011]. В свою очередь, изменения концентрации АА и АА/ДНА служат регуляторными факторами многих физиологических процессов.

На большую значимость аскорбиновой кислоты для растительного организма указывают ее высокие концентрации в клетках, которые могут достигать 50 мМ [Zechmann et al., 2011]. Внутри растительных клеток аскорбиновая кислота распределена неравномерно. Ее компартиментализация при нормальных условиях произрастания и при действии стрессирующих факторов на растительный организм активно исследуется. Для обнаружения аскорбиновой кислоты разработаны разные методы, с помощью которых она выявлена в ядре, хлоропластах, митохондриях, пероксисомах, вакуолях, цитозоле, апопластном пространстве [Liso et al., 2004; Zechmann et al., 2011]. В настоящей работе содержание аскорбиновой кислоты в изолированных органеллах клеток корнеплодов столовой свеклы (*Beta vulgaris* L.), находящихся в фазе физиологического покоя, определяли с помощью метода ВЭЖХ. Пул и редокс-состояние аскорбиновой кислоты вакуолей сравнивали с пулами и редокс-состоянием аскорбиновой кислоты пластид и митохондрий (таблица). Концентрация АА в вакуолях оказалась довольно высокой. В то же время, наименьшая концентрация АА установлена для митохондрий. Однако у митохондрий величины редокс-соотношений АА/ДНА были наибольшими. Тогда как у вакуолей из-за накопления ДНА эти величины были наименьшими.

Несмотря на то, что концентрация аскорбиновой кислоты была самой высокой в водном экстракте ткани, все же можно было видеть, что вакуоли аккумулировали

довольно много АА. На сегодняшний день нет единого мнения относительно содержания аскорбиновой кислоты в центральной вакуоли клеток растений. Если у одних растительных объектов в вакуолях ее не обнаруживали [Liso et al., 2004], то у других объектов в вакуолях выявляли довольно высокие концентрации аскорбиновой кислоты [Zechmann et al., 2011]. Чаще всего содержание АА_{сум} в вакуолях было значительно ниже, чем в пластидах и митохондриях, однако оно заметно повышалось в условиях, приводящих к стрессу [Zechmann et al., 2011]. Следует отметить, что самые высокие концентрации АА_{сум} были характерны для цитозоля, а самые низкие – для апопласта [Liso et al., 2004].

Таблица.

Содержание аскорбиновой кислоты и ее редокс-состояние во фракциях изолированных органелл и водном экстракте ткани

Образец	Концентрация аскорбиновой кислоты, мкМ/мг белка					
	АА	ДНА	АА _{сум}	АА/ДНА	АА/АА _{сум}	ДНА, %
вакуоли	3,16 ± 0,19	1,79 ± 0,39	4,96 ± 0,78	1,77	0,64	36
пластиды	0,27 ± 0,01	0,14 ± 0,01	0,41 ± 0,02	1,93	0,66	34
митохондрии	0,14 ± 0,03	0,05 ± 0,01	0,19 ± 0,03	2,81	0,72	26
экстракт ткани	5,38 ± 0,32	6,71 ± 1,56	12,09 ± 1,87	0,81	0,45	56

Примечание: в таблице представлены средние значения и стандартные ошибки. Различия между вариантами опытов достоверны при $p < 0,001$.

Установлено, что концентрация ДНА в большинстве субклеточных компартментов много ниже концентрации АА. Зачастую при благоприятных условиях произрастания она составляет 10% от АА_{сум}. Однако аскорбиновая кислота обладает выраженной антиоксидантной активностью, поэтому содержание АА и ДНА, а также величины АА/ДНА, в клеточных структурах подвержено сильным изменениям в стрессирующих условиях [Zechmann et al., 2011]. В клеточных структурах у корнеплодов столовой свеклы накапливается довольно много ДНА. Так, в вакуолях доля ДНА достигала 36% от АА_{сум} этого компартмента, пластидах – 34%, митохондриях – 26%, тогда как в тканевом экстракте – 56%. Величины редокс-соотношений АА/ДНА для митохондрий (2,8) и пластид (1,9) клеток корнеплодов были заметно ниже, чем величины АА/ДНА для митохондрий (8-9) и пластид (7-9) других ранее исследованных растений, произрастающих в относительно оптимальных условиях [Jimenez et al., 1998]. С одной стороны, довольно высокие концентрации ДНА и низкие величины АА/ДНА свидетельствовали в пользу интенсивных окислительных процессов, протекающих в клетках покоящихся корнеплодов. С другой стороны, ДНА могла служить запасной формой аскорбиновой кислоты, как это было установлено для покоящихся семян некоторых растений. Кроме того, при низких концентрациях АА и высоких концентрациях ДНА снижается митотический индекс [Tommasi et al., 1999]. Возможно, низкое редокс-соотношение АА/ДНА обуславливает торможение ростовых процессов у корнеплодов свеклы в период физиологического покоя.

Редокс-состояние аскорбиновой кислоты модулируют низкомолекулярные прооксиданты (АФК, окисленные фенолы и токоферол, и др.) и многочисленные ферменты, для которых она служит кофактором (2-оксоглутарат-зависимые диоксигеназы, монооксигеназы и др.), неспецифичным субстратом (фенолазы,

фенольная пероксидаза, пролилгидроксилаза и др.) и специфичным субстратом (аскорбатпероксидаза, аскорбатоксидаза и др.) [DeGara et al., 1991]. АА и специфично взаимодействующие с ней ферменты объединяют в редокс-систему аскорбиновой кислоты [Tommasi et al., 1999]. На возможность функционирования этой системы в центральной вакуоли указывали результаты некоторых исследований. В вакуолях листьев *Arabidopsis thaliana* выявлен белок высоко гомологичный аскорбатпероксидазе (АРХ), а в вакуолях клеток корней *Cucurbita maxima* определена активность аскорбатоксидазы (АО) [Liso et al., 2004; Jaquinod et al., 2007].

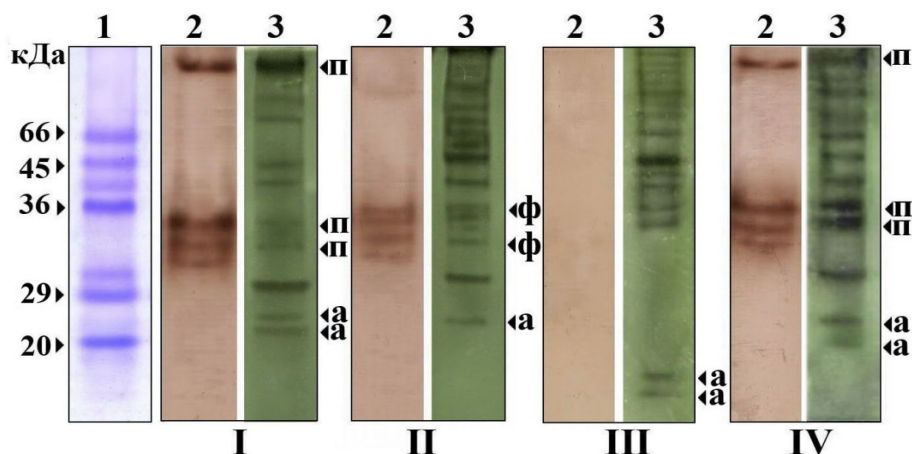


Рис. 1. Ферментативная активность в ПААГ (электрофорез отрицательнозаряженных белков в Трис-глициновой системе) в реакционной среде «Аскорбат/нитросиний тетразолий»: 1 – маркерные белки; 2 – активность пероксидазы (РОХ) и полифенолоксидазы (РРО); 3 – аскорбатпероксидазная (АРХ) активность (негативное изображение). I – вакуоли. II – пластиды. III – митохондрии. IV – экстракт ткани. (а) – АРХ. (п) – РОХ. (ф) – РРО.

АРХ локализованы во многих структурах клетки и представляют мономер с молекулярной массой 27-51 кДа. Тогда как АО сосредоточены главным образом в клеточных стенках и цитозоле и представляют гликозилированные гомодимеры с молекулярной массой 140-150 кДа.

В изолированных из корнеплодов свеклы вакуолях с помощью спектрофотометрического метода была выявлена довольно высокая АРХ- и АО-активность (данные не приводятся). Наличие в вакуолярном содержимом разнообразных ферментов, взаимодействующих с АА, подтвердили результаты зимографического исследования, проводимого на ПААГ после электрофореза отрицательно- и положительнозаряженных белков (рис. 1-3). Многочисленные зоны ферментативной активности с АА, подобные зонам АРХ-активности, выявлены в образцах всех исследуемых органелл (рис. 1). Некоторые изоформы фенольной пероксидазы (РОХ) вакуолей и полифенолоксидазы (РРО) пластид окисляли АА и эту реакцию можно было различить в зонах их локализации (рис. 1, I(3), II(3)). Что касается активности самой АРХ, то отделить катализируемые с ее участием реакции от реакций других ферментов можно с помощью соблюдения определенных условий. Сохранить активность АРХ позволяет постоянное присутствие АА в средах экстракции для белка и электродном буфере для электрофореза. В отсутствие АА происходит необратимая инактивация АРХ. Варьирование условиями, когда в среды вносили или не вносили АА, позволило установить, что в вакуолях и митохондриях клеток корнеплодов возможно присутствие по меньшей мере двух изоформ АРХ (рис. 1, I(3) и III(3)), а в лейкопластах – одной изоформы (рис. 1, II(3)).

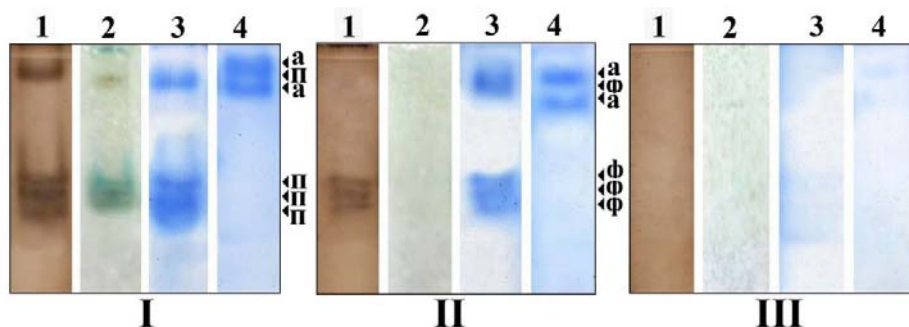


Рис. 2. Ферментативная активность в ПААГ (электрофорез отрицательнозаряженных белков) в реакционной среде «Аскорбат/2,6-дихлорофенол-индофенол»: 1 – активность РОХ и РРО при инкубации в К-Na-Р буфере (рН 6-7); 2 – активность гемсодержащих ферментов (с 3,3,5,5-тетраметилбензидином); 3 – аскорбатоксидазная (АО) активность при инкубации в К-Na-Р буфере (рН 6-7); 4 – АО-активность при инкубации в Трис-буфере (рН 8-9). I – вакуоли. II – пластиды. III – митохондрии. (а) – АО. (п) – РОХ. (ф) – РРО.

Дальнейшие исследования показали, что РОХ и РРО, локализованные в вакуолях и пластидах, взаимодействуют с АА, проявляя выраженную АО-активность (рис. 2 и 3). Анионные (отрицательно заряженные) и катионные (положительно заряженные) изоформы этих ферментов при определенных рН-условиях окисляли АА в отсутствие H_2O_2 . АО-активность анионных изоформ РОХ вакуолей и РРО пластид проявлялась при инкубации ПААГ в К-Na-Р-буфере и Трис-буфере при рН 6-7, а катионных изоформ – при рН 6-8. Если ПААГ инкубировали в Трис-буфере при рН 8-9, в зонах анионных изоформ РОХ и РРО АО-активность не проявлялась (рис. 2, I(4) и II(4)). Однако в этих условиях в области локализации высокомолекулярных белков появлялись две зоны с АО-активностью. Ферменты из этих зон не были гемсодержащими белками. Возможно, наблюдаемая активность принадлежала АО или лакказе (КФ 1.10.3.2), т.е. медьсодержащим ферментам, окисляющим АА. В отличие от вакуолей и пластид, в митохондриях не обнаружены анионные белки с каталитической активностью РРО и АО (рис. 2, III). Этими свойствами при слабокислых условиях обладал фермент, белок которого заряжен положительно (рис. 3, III).

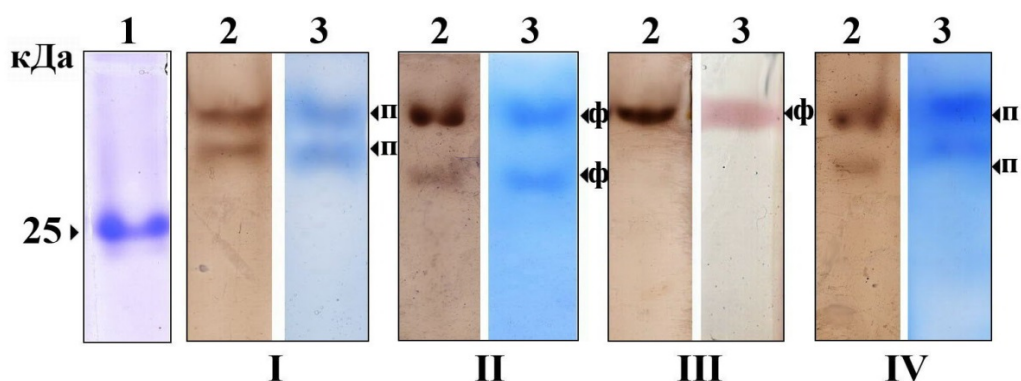


Рис. 3. Ферментативная активность в ПААГ (электрофорез положительно заряженных белков в системе β-аланин–уксусная кислота) в реакционной среде «Аскорбат/2,6-дихлорофенол-индофенол»: 1 – маркер трипсиноген (рI 9,3); 2 – активность РОХ и РРО при инкубации в К-Na-Р буфере (рН 5-6); 3 – АО-активность при инкубации в Трис-буфере (рН 6-8). I – вакуоли. II – пластиды. III – митохондрии. IV – экстракт ткани. (п) – РОХ. (ф) – РРО.

Полученные результаты показали, что все исследуемые органеллы содержат довольно много разнообразных ферментов, взаимодействующих с АА. В вакуолях по меньшей мере, три различных оксидоредуктазы способны окислять АА и изменять соотношение АА/ДНА – прежде всего, это гемсодержащие ферменты ПОХ и АРХ, а также, возможно, медьсодержащий фермент АО. Однако для подтверждения присутствия в вакуолях АО требуются дальнейшие исследования.

Литература

De Gara L., Tommasi F., Liso R., Arrigoni O. Ascorbic acid utilization by prolyl hydroxylase "in vivo" // *Phytochemistry*. – 1991. – V. 30. – P. 1397–1399.

Jaquinod M., Villiers F., Kieffer-Jaquinod S., Hugouvieux V., Bruley C., Garin J., Bourguignon J. A proteomics dissection of *Arabidopsis thaliana* vacuoles isolated from cell culture // *Mol. Cell Proteomics*. – 2007. – V. 6, No. 3. – P. 394–412.

Jimenez A., Hernandez J.A., Pastori G., Rio L.A., Sevilla F. Role of the ascorbate-glutathione cycle of mitochondria and peroxisomes in the senescence of pea leaves // *Plant Physiol*. – 1998. – V. 118. – P. 1327–1335.

Liso R., De Tullio M.C., Ciraci S. Localization of ascorbic acid, ascorbic acid oxidase, and glutathione in roots of *Cucurbita maxima* L. // *J. Exp. Bot*. – 2004. – V. 55, No. 408. – P. 2589–2597.

Tommasi F., Paciolla C., Arrigoni O. The ascorbate system in recalcitrant and orthodox seeds // *Physiol. Plant*. – 1999. – V. 105. – P. 193–198.

Zechmann B. Subcellular distribution of ascorbate in plants // *Plant Signaling & Behavior*. – 2011. – V. 6, No. 3. – P. 360–363.

THE ASCORBATE SYSTEM OF THE CENTRAL VACUOLE. COMPARISON OF THE ASCORBATE SYSTEM OF VACUOLES, PLASTIDS AND MITOCHONDRIA OF RED BEETROOT CELLS

E.V. Pradedova¹, A.B. Karpova², O.D. Nimaeva¹, R.K. Salyaev¹

¹Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia, praded@sifibr.irk.ru

²Irkutsk State University, Irkutsk, Russia

Abstract. The content and redox-state of ascorbic acid in isolated vacuoles, plastids and mitochondria of red beetroot cells (*Beta vulgaris* L.) is established. The pool of oxidized ascorbic acid in vacuoles is higher than in other investigated organelles. At least three enzymes of vacuolar localization oxidize ascorbic acid and change its redox-state, such as phenolic peroxidase (EC 1.11.1.7), ascorbate peroxidase (EC 1.11.1.11) and, possibly, ascorbate oxidase (EC 1.10.3.3).

Keywords: *Beta vulgaris*, vacuoles, ascorbic acid, ascorbate peroxidase, ascorbate oxidase

УФ-В ИНДУЦИРОВАННОЕ ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ПОЛИАМИНОВ И УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ *ARABIDOPSIS THALIANA* *acl5 spms 1-1*

О.Н. Прудникова, В.В. Карягин, Т.Я. Ракитина, В.Ю. Ракитин

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия, rakit@ippras.ru

Аннотация. В данной статье рассматривается проблема реакции растений *Arabidopsis thaliana* на УФ-В радиацию (280–320 нм) и участие в ответе на окислительный стресс природных поликатионов – полиаминов (путресцина, спермидина, спермина, термоспермина). Установлено, что содержание спермина и термоспермина не является лимитирующим фактором при адаптации к УФ-В радиации.

Ключевые слова: *Arabidopsis thaliana*, полиамины, УФ-В стресс

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-653-654

Полиамины (ПА) осуществляют защитные функции при окислительном стрессе, связывая свободные радикалы и АФК, предотвращая повреждение нуклеиновых кислот и перекисное окисление липидов [Kaur-Sawhney 2003; Кузнецов Вл.В, 2006]. Эффективность защитного действия ПА пропорциональна количеству аминогрупп в молекуле [Drolet, 1986; На, 1998]. По этой причине успешное функционирование антиоксидантной защиты в первую очередь зависит от регуляции гомеостатического уровня спермидина и спермина [Bhanagar, 2002], при котором растения готовы инактивировать АФК сразу после воздействия биогенных и абиогенных стрессоров, до активации синтеза самих ПА и индуцибельных антиоксидантных энзимов [Frohnmeyer, 2003].

Одним из способов доказательства указанных утверждений, а именно проверки участия каждого из существующих в растениях полиаминов в адаптации к УФ-В радиации являются испытания устойчивости мутантов не способных синтезировать тот или иной полиамин. Так было показано, что мутации, определяющие неспособность синтезировать спермидин, летальны для *Arabidopsis thaliana* [Imai, 2004]. Однако интактные растения с мутацией *spms 1-1*, прекращающей синтез спермина, не имели фенотипических различий с растениями дикого типа [Imai, 2004]. При УФ-В стрессе в *spms 1-1* происходило такое же торможение роста, потеря сырой массы, пигментации и такие же изменения содержания путресцина и спермидина, как в WT. Мутация *acl5* блокирует синтез термоспермина, что приводит к формированию карликового фенотипа растений [Takahashi, 2010].

В двухнедельных интактных растениях двойного мутанта *acl5 spms 1-1* отсутствуют термоспермин и спермин. Содержание спермидина и его предшественника путресцина в них практически такое же, как и в растениях WT и *spms 1-1*. В двойном мутанте *acl5 spms 1-1* происходит такое же, как в WT и *spms 1-1* дозозависимое УФ-В индуцированное увеличение содержания путресцина и снижение содержания спермидина. И, наконец, двойной мутант имеет такую же чувствительность к УФ-В радиации, как растения WT и *spms 1-1*. Таким образом, содержание спермина и термоспермина не является лимитирующим фактором при адаптации растений *Arabidopsis thaliana* к УФ-В радиации.

Литература

Кузнецов Вл.В., Радюкина Н.Л., Шевякова Н.И. Полиамины при стрессе: биологическая роль, метаболизм и регуляция // Физиология растений. – 2006. – Т. 53. – С. 658–683.

Bhanagar P., Minocha R., Minocha S. Genetic manipulation of the metabolism of polyamines in poplar cells. The regulation of putrescine catabolism // Plant Physiol. – 2002. – V. 128. – P. 1455–1469.

Drolet G., Dumbroff E.B., Legge R., Tompson J.E. Radical scavenging properties of polyamines // Phytochemistry. – 1986. – V. 25. – P. 367–371.

Frohnmeier H., Staiger D. Ultraviolet-B radiation-mediated responses in plants. Balancing damage and protection // Plant Physiol. – 2003. – V. 133. – P. 1420–1428.

Imai A., Akiyama T., Kato T., Sato S., Tabata S., Yamamoto K., Takahashi T. Spermine is not essential for survival of Arabidopsis // FEBS Letters. – V. 556. – 2004. – P. 148–152.

Imai A., Matsuyama T., Hanzawa Y., Akiyama T., Tamaoki M., Saji H., Shirano Y., Kato T., Hayashi H., Shibata D., Tabata S., Komeda Y. and Takahashi T. Spermidine synthase genes are essential for survival of Arabidopsis // Plant Physiology. – 2004. – V. 135. – P. 1565–1573

Kaur-Sawhney R., Tiburcio A., Altabella T., Galston A.W. Polyamines in Plants: An Overview // J. Cell Mol. Biol. – 2003. – V. 2. – P. 1–12.

Takahashi T. and Kakehi J. Polyamines: ubiquitous polycations with unique roles in growth and stress responses. // Annals of Botany. – 2010. – V. 105. – P. 1–6.

UV-B -INDUCED CHANGES OF POLYAMINES CONTENT AND ARABIDOPSIS THALIANA ACL5 SPMS 1-1 SUSTAINABILITY

O.N. Prudnikova, V.V. Karyagin, T.Ya. Rakitina, V.Yu. Rakitin

K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia, rakit@ippras.ru

Abstract. This article discusses the problem of the Arabidopsis thaliana response to UV-B radiation (280–320 nm) and involvement of natural polycations – polyamines (putrescine, spermidine, spermine, thermoprene) to oxidative stress. It is established that the content of spermine and thermospermine is not a limiting factor in adaptation to UV radiation.

Keywords: *Arabidopsis thaliana, polyamines, UV-B*

УЧАСТИЕ СИГНАЛЬНОГО ПУТИ ЭТИЛЕНА В УФ-В ИНДУЦИРОВАННОМ НАКОПЛЕНИИ АБК В *ARABIDOPSIS THALIANA* WT И НЕ СИНТЕЗИРУЮЩЕМ СПЕРМИН МУТАНТЕ *SPMS 1-1*

О.Н. Прудникова, В.В. Карягин, Т.Я. Ракитина, В.Ю. Ракитин

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия, rakit@ippras.ru

Аннотация. Исследовано участие сигнального пути этилена в регуляции накопления АБК при УФ-В стрессе в *Arabidopsis thaliana* дикого типа (WT) и не синтезирующем полиамин спермин мутанте *spms 1-1*. Использование блокатора этиленовых рецепторов 1-метилциклопропена (1-МСП) показало, что сигнальный путь этилена не индуцирует, а лишь на 10-20 % увеличивает накопления АБК, вызванное УФ-В стрессом.

Ключевые слова: *Arabidopsis thaliana*, АБК, этилен, полиамины, УФ-В

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-655-658

Механизмы восприятия, трансдукции сигнала и ответные реакции, обеспечивающие выживание растений при различных уровнях УФ-В радиации, остаются весьма далеки от понимания, несмотря на интенсивные исследования. Однако достаточно убедительно установлено, что в ответных реакциях участвуют такие соединения, как ионы кальция, активные формы кислорода, салициловая кислота, полиамины и фитогормоны этилен и абсцизовая кислота (АБК). Этилен участвует практически во всех физиологических процессах, в том числе и в стрессовых ответах, регулируя синтез и катаболизм других фитогормонов и, прежде всего, АБК [Abeles, 1992; Grossmann, 2001]. АБК служит медиатором таких физиологических ответов на действие стрессоров, как закрытие устьиц при засухе и осмотическом стрессе, индукции устойчивости к засолению, гипоксии и температурным стрессам, а также в реакциях на поранения и атаки патогенов [Zeevaart, 1988]. Полиамины вовлечены во множество клеточных процессов, включая конденсацию хроматина, поддержание структуры ДНК, процессинг РНК, трансляцию и активацию протеинов. Полиамины участвуют в регуляции клеточного деления, дифференциации, формировании корней и побегов, инициации цветения, завязывании и созревании плодов, старении, адаптации к изменяющимся условиям окружающей среды [Kaur-Sawhney, 2003].

В *Arabidopsis thaliana* УФ-В радиация вызывает увеличение выделения этилена, накопление АБК и путресцина, потерю содержания спермидина и спермина [Ракитин, 2008]. Изучение участия указанных соединений в адаптации растений к УФ-В радиации, взаиморегуляции их синтеза и действия необходимо для выяснения функционирования механизмов устойчивости растений к УФ-В. Ранее с использованием *Arabidopsis thaliana* WT, мутантов этиленового сигнального пути *etr 1-1* и *ctr 1-1* и блокатора сигнального пути этилена (СПЭ) 1-метилциклопропена (1 МСП) было показано, что не образующийся при УФ-В стрессе этилен, а УФ-В радиация является индуктором синтеза и накопления путресцина – предшественника высших полиаминов спермина и спермидина. Функционирующий СПЭ лишь в незначительной степени ускорял превращение образующегося при УФ-В стрессе путресцина в спермидин и спермин [Прудникова, 2016, Ракитин 2008, 2009]. Данная работа была предпринята для выяснения участия СПЭ в накоплении АБК при УФ-В стрессе у *Arabidopsis thaliana* (WT) и не синтезирующего спермин мутанта *spms 1-1*.

Объектами исследования для выяснения участия СПЭ в регуляции содержания АБК при УФ-В стрессе служили двухнедельные растения *Arabidopsis thaliana* (L.)

Неупн. дикого типа (WT) и не синтезирующего спермин мутанта *spms 1-1*. Все работы, связанные с посевом семян и выращиванием растений, проводили в асептических условиях. Растения выращивали по 30 шт. в стеклянных чашках Петри на агаризованной среде Велиминского–Гихнера. Световой период составлял 16 ч., интенсивность света (6.5 клк), температура чашек Петри с растениями была 25 °С днем и 23 °С ночью. [Прудникова, 2016]

На 15-й день после посева семян растения, обработанные 1-МСП (50 нл/л, 3 ч), оставляли необлученными или облучали умеренной (7кДж/м²), высокой (14 кДж/м²) и летальной (21 кДж/м²) дозами УФ-В. Затем необлученные и облученные растения вариантов, в которых использовали 1-МСП, на сутки помещали в камеры с 1-МСП (50 нл/л). Концентрацию CO₂, N₂, O₂ и 1-МСП в камерах контролировали газохроматографическими методами [Прудникова, 2016, Ракитин В.Ю., 1986]. Чашки Петри с интактными, а также с облученными УФ-В, но не обработанными 1-МСП растениями на сутки возвращали в установку для выращивания. На 16-й день во всех вариантах опыта розетки отделяли от корневой системы и определяли в них содержание АБК на газовом хроматографе (Газохром 1109, Россия) с высокочувствительным и селективным по отношению к АБК детектором по захвату электронов [Карягин, 2011]

Данные, представленные на рис. 2, являются средними арифметическими значениями четырех экспериментов, проведенных в трехкратной повторности. Максимальное стандартное отклонение от приведенных величин составляло не более ± 15%.

Двухнедельные растения WT и *spms 1-1* не имели фенотипических различий и не отличались по чувствительности к УФ-В радиации несмотря на отсутствие в *spms 1-1* спермина. Эти данные показывают, что содержание спермина не является критическим параметром при преодолении УФ-В стресса у растений *Arabidopsis thaliana*. Не было обнаружено различий в содержании путресцина и спермидина в интактных растениях, а также в вызываемых УФ-В радиацией изменениях содержания этих полиаминов в WT и *spms 1-1*.

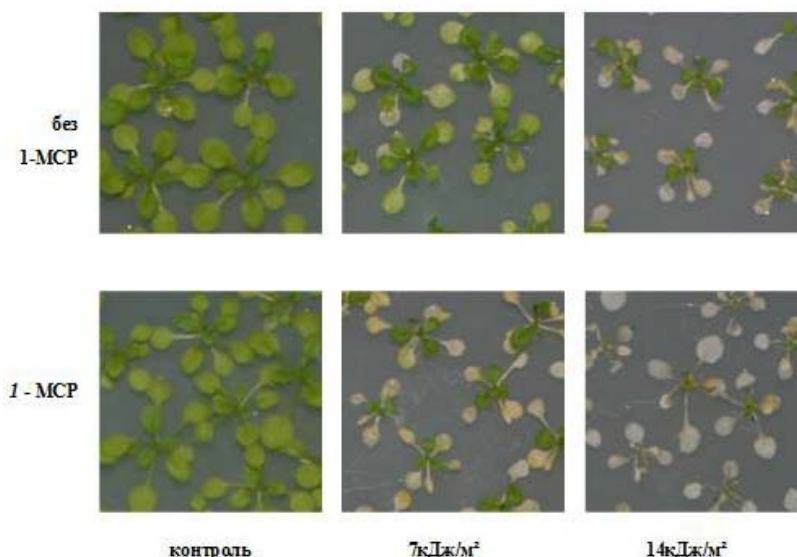


Рис. 1. Влияние УФ-В радиации и 1-МСП на растения *spms 1-1 Arabidopsis thaliana*.

Содержание АБК в розетках интактных растений *spms 1-1* было в 1, 6 раза больше, чем в WT. Обработка необлученных растений блокатором СПЭ 1-МСП не влияла на

содержание АБК в розетках WT и *spms 1-1*. Облучение растений умеренной, высокой и летальной дозами УФ-В за сутки увеличивало содержание АБК у WT в 1.5, 2.5 и 4.4 раза, а у *spms 1-1* в 1.2, 1.6 и 3.4 раза соответственно (рис. 1).

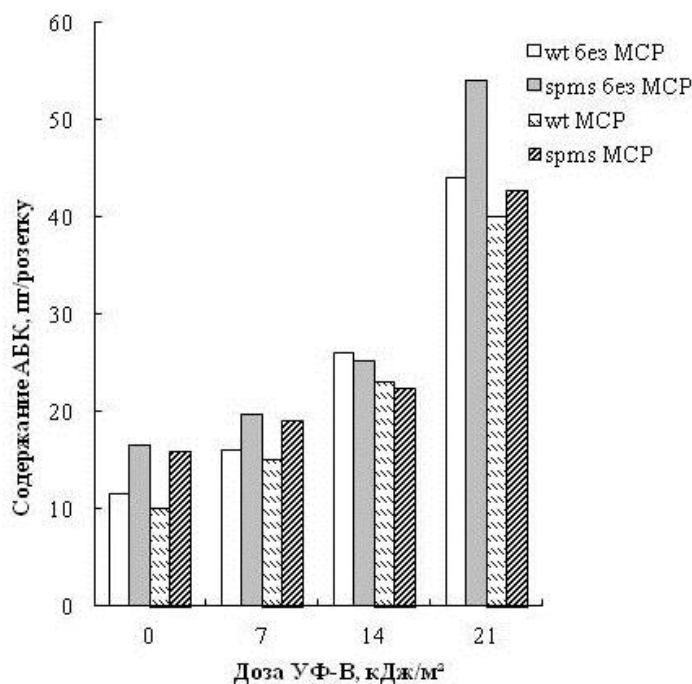


Рис. 2. Влияние УФ-В и 1-МСП на содержание АБК в растениях *Arabidopsis thaliana* WT и *spms 1-1*.

Блокирование СПЭ ингибитором действия этилена 1-МСП лишь на 10-20% тормозило накопление АБК в розетках WT и *spms 1-1*, зато в 2 раза повышало их чувствительность к УФ-В радиации. У растений с заблокированным СПЭ после умеренной дозы УФ-В радиации происходила такая же потеря зеленой окраски, как у растений с активированным эндогенным стрессовым этиленом СПЭ после высокой дозы УФ-В (рис. 2).

Полученные данные убедительно показывают, что стрессовый этилен не является индуктором синтеза АБК при УФ-В стрессе, и что СПЭ лишь в небольшой степени может регулировать ее накопление. Тем не менее, потеря устойчивости к УФ-В радиации при заблокированном СПЭ указывает на существование регулируемого СПЭ процесса, от которого значительной степени зависит УФ-В устойчивость растений.

Литература

Карягин В.В., Ракитин В.Ю., Садовская В.Л. Количественное определение индолил-3-уксусной кислоты, абсцизовой кислоты и галоидфеноксикислот в одном образце растительной ткани. В сб.: Молекулярно-генетические и биохимические методы в современной биологии растений под ред. Вл.В. Кузнецова и др. – М., Бином, 2011. – С. 316–323.

Прудникова О. Н., Ракитина Т. Я., Карягин В. В., Власов П. В., Ракитин В. Ю. Участие этилена в индуцированном УФ-В изменении содержания полиаминов в растениях *Arabidopsis thaliana* // Физиология растений. – 2016. – Т. 63, № 5. – С. 644–648.

Ракитин В.Ю., Карягин В.В., Ракитина Т.Я., Прудникова О.Н., Власов П.В. Особенности образования АБК у мутантов этиленового сигнального пути *Arabidopsis thaliana* при УФ-В стрессе // Физиология растений. – 2008. – Т. 55, № 6. – С. 942–944.

Ракитин В. Ю., Прудникова О.Н., Карягин В.В., Ракитина Т.Я., Власов П.В., Борисова Т.А., Новикова Г.В., Мошков И.Е. Выделение этилена, содержание АБК и полиаминов в *Arabidopsis thaliana* при УФ-В стрессе // Физиология растений. – 2008. – Т. 55, № 3. – С. 355–361.

Ракитин В. Ю., Прудникова О.Н., Ракитина Т.Я., Карягин В.В., Власов П.В., Новикова Г.В., Мошков И.Е. Взаимодействие этилена и АБК в регуляции уровня полиаминов у *Arabidopsis thaliana* при УФ-В стрессе // Физиология растений. – 2009. – Т. 56, № 2. – С. 163–169.

Ракитин В.Ю., Ракитин Л.Ю. Определение газообмена и содержания этилена, двуокси углерода и кислорода в тканях растений // Физиология растений. – 1986. – Т. 33, вып. 2. – С. 403–413.

Abeles F., Morgan P., Salveit J. Ethylene in Plant Biology. – San Diego: Academic Press, 1992. – 414 p.

Grossmann K., Hansen H. Ethylene-triggered abscisic acid: a principle in plant growth regulation // *Physiol. Plant.* – 2001. – V. 113. – P. 9–14.

Kaur-Sawhney R., Tiburcio A., Altabella T., Galston A.W. Polyamines in plants: an overview // *J. Cell Mol. Biol.* – 2003. – V. 2. – P. 1–12.

Zeevaart J.A.D., Creelman R.A. Metabolism and physiology of abscisic acid // *Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 1988. – V. 39. – P. 439–473.

THE INVOLVEMENT OF ETHYLENE SIGNALING PATHWAY IN UV-B INDUCED ACCUMULATION OF ABA IN *ARABIDOPSIS THALIANA* WT AND NOT SYNTHESIZING SPERMINE MUTANT *SPMS 1-1*

O.N. Prudnikova, V.V. Karyagin, T.Ya. Rakitina, V.Yu. Rakitin

K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia, rakit@ippras.ru

Abstract. We investigated the involvement of ethylene signaling pathway in the regulation of ABA accumulation under UV-B stress in *Arabidopsis thaliana* WT and not synthesizing spermine mutant *spms 1-1*. The use of a blocker of ethylene receptors, 1-methylcyclopropene (1-MCP) has shown that the signaling pathway of ethylene was not induce, but only 10-20 % increased ABA accumulation, caused by UV-B stress

Keywords: *Arabidopsis thaliana*, ABA, ethylene, polyamines, UV-B

ПРОЦЕССЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ У *SOLANUM TUBEROSUM* ПРИ ДЕЙСТВИИ ГИПОТЕРМИИ И ЗАСУХИ

Т.И. Пузина¹, И.Ю. Макеева¹, П.С. Прудников², М.А. Цуканова¹

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, Орёл, Россия, tipuzina@gmail.com

²Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур, п/о Жилина, Орловская область, Россия, prudnicov@inbox.ru

Аннотация. Исследовали действие 2-часовой гипотермии (-2°C) и 10-дневной почвенной засухи на протекание процессов перекисного окисления липидов в растениях картофеля. Мониторинг реакций ПОЛ выявил накопление как начальных (гидроперекисей жирных кислот), так и конечных продуктов (малонового диальдегида) в условиях засухи. Гипотермия в большей степени активизировала начало развития окислительного стресса. Отрицательное действие засухи сказалось, прежде всего, на росте корневой системы картофеля, а гипотермии – на росте надземных и подземных органов.

Ключевые слова: почвенная засуха, гипотермия, гидроперекиси жирных кислот, малоновый диальдегид, рост

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-659-663

Изучение процессов ПОЛ в растительном организме имеет особое значение в связи с формированием устойчивости к постоянно изменяющимся условиям внешней среды. Для растений картофеля, имеющих слабо развитую корневую систему по сравнению со злаковыми культурами, представляет интерес исследование действия почвенной засухи. Наряду с этим, для растений картофеля на первых этапах вегетации губительными являются весенние заморозки (-1 – -2 °С). Поэтому цель работы заключалась в проведении мониторинга процессов ПОЛ в условиях 2-часовой гипотермии (-2°C) и 10-дневной почвенной засухи.

Объект исследования – растения картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта Жуковский ранний селекции ВНИИ КХ (Коренёво, Россия).

Вегетационные опыты проводили в условиях вегетационного домика на базе агробиостанции, лабораторные – в лаборатории «Регуляция роста и развития растений» Орловского госуниверситета. Для почвенной культуры использовали серую лесную среднесуглинистую почву. В сосуде с 10 кг почвы выращивали одно растение. В период закладки опытов в почву вносили оптимальные количества азота, фосфора и калия, соответственно 230, 70, 310 мг элемента на кг почвы. В лабораторных условиях клубни картофеля проращивали в контейнерах с влажными опилками вначале в темноте, а после появления всходов на поверхности субстрата при температуре 20±2 °С.

Гипотермию создавали, помещая контейнеры с 21-дневными побегами возобновления в низкотемпературный шкаф Т25/01 (Россия) на 2 часа при температуре -2 °С, имитирующей заморозки. Почвенную засуху создавали прекращением полива растений через 15 суток после появления всходов (до инициации клубнеобразования). Продолжительность почвенной засухи составляла 10 суток. При этом влажность почвы достигала 25% от полной влагоёмкости. В оптимальных условиях влажность почвы составляла 60% полной влагоёмкости.

Содержание гидроперекисей жирных кислот липидов оценивали по реакции взаимодействия их с роданистым аммонием [Романова, Стальная, 1977]; содержание

малонового диальдегида – по цветной реакции с тиобарбитуровой кислотой при нагревании [Лукаткин, Голованова, 1988].

Анализировали средние пробы 21-дневных побегов возобновления и их придаточных корней (лабораторные опыты), а также листьев 7-го яруса срединной формации и корневой системы в фазе бутонизации (вегетационные опыты).

На рисунках представлены средние арифметические из 5 биологических повторностей и их стандартные ошибки. Аналитическая повторность – 5-кратная. Достоверность результатов оценивали с помощью критерия Стьюдента.

О реакциях ПОЛ большинство исследователей судит по накоплению конечного продукта – малонового диальдегида. В нашей работе был проведен мониторинг за реакциями ПОЛ не только по конечному, но и по начальному продукту данного процесса – накоплению гидроперекисей жирных кислот липидов. Из данных рис. 1 видно, что 10-дневная засуха вызвала развитие окислительного стресса, что проявилось в существенном увеличении, как гидроперекисей, так и малонового диальдегида в листьях. Их уровень, по сравнению с оптимальными условиями, возрос более чем в 2 раза. Возможно, что причина активизации процессов ПОЛ связана с интенсификацией дыхания – неспецифической реакцией растения на стресс, в процессе которого образуются активные формы кислорода. Такие данные отмечены нами ранее [Пузина, Цуканова, 2008].

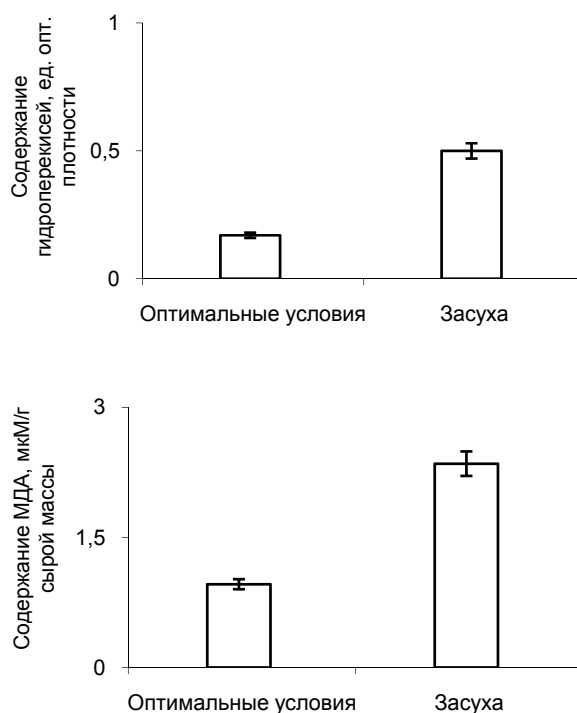


Рис. 1. Влияние засухи на процессы ПОЛ в листьях (вегетационный опыт).

В условиях действия отрицательной температуры (-2°C), имитирующей заморозки, отмечена бóльшая интенсификация начальных этапов ПОЛ в побегах возобновления по сравнению с накоплением малонового диальдегида (рис. 2). Так, содержание гидроперекисей жирных кислот в этих условиях возросло в 2,6 раза, тогда как малонового диальдегида – в 1,7.

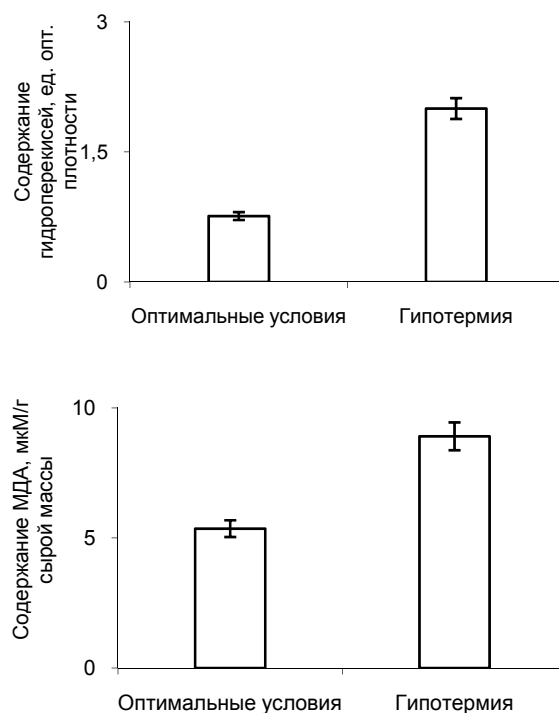


Рис. 2. Влияние гипотермии на процессы ПОЛ в побегах возобновления (лабораторный опыт).

На фоне развития окислительного стресса выявлены некоторые особенности в ростовых реакциях растений картофеля. А именно, 10-дневная засуха в условиях почвенной культуры ингибировала рост корневой системы (рис. 3). Её масса снизилась на 22%. При этом масса листьев практически не изменилась.

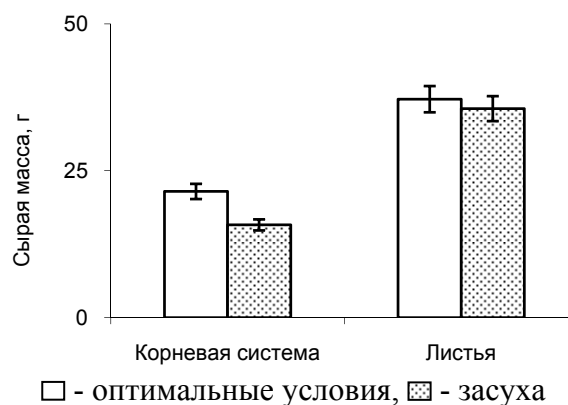


Рис. 3. Влияние засухи на ростовые процессы.

В то же время, кратковременное действие гипотермии на побеги возобновления вызвало замедление роста как их надземной, так и подземной части через 14 суток (рис. 4). В частности, объём придаточных корней уменьшился более чем на 20%. Приблизительно в такой же степени снизилась масса надземных органов. Не исключено, что торможение роста корневой системы связано не только с активизацией изученных реакций ПОЛ, но и с уменьшением содержания фитогормонов ауксинов, о чём сообщалось нами ранее [Пузина и др., 2006; Пузина, Цуканова, 2008].

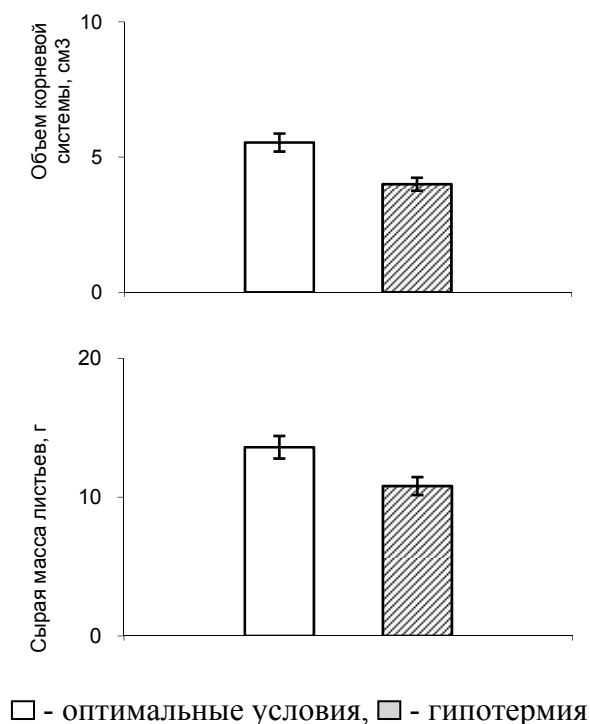


Рис. 4. Влияние гипотермии на ростовые процессы.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что кратковременная гипотермия в большей степени оказала влияние на начальные реакции ПОЛ, тогда как почвенная засуха в равной степени активизировала протекание как начальных, так и конечных реакций перекисного окисления липидов. Отрицательное действие засухи сказалось, прежде всего, на росте корневой системы картофеля, а гипотермии – на росте надземных и подземных органов.

Литература

Лукаткин А.С., Голованова В.С. Интенсивность перекисного окисления липидов в охлажденных листьях теплолюбивых растений // Физиология растений. – 1988. – Т. 35, Вып. 4. – С. 773–780.

Пузина Т.И., Прудников П.С., Якушкина Н.И. Селен как модификатор гормонального статуса растений картофеля в условиях гипотермии // Вторые чтения, посвященные памяти Ефремова Степана Ивановича. – Орел: Каргуш, 2006. – С. 12–16.

Пузина Т.И., Цуканова М.А. Влияние почвенной засухи на гормональную и антиоксидантную систему *Solanum tuberosum* в зависимости от обработки селенитом // Ученые записки Орловского государственного университета. Серия: естественные, технические и медицинские науки. – 2008. – № 2. – С. 51–56.

Романова Л.А., Стальная И.Д. Метод определения гидроперекисей липидов с помощью тиоционата аммония // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 64–66.

THE PROCESSES OF LIPID PEROXIDATION OF *SOLANUM TUBEROSUM* IN ACTION OF HYPOTHERMY AND DROUGHT

T.I. Puzina¹, I.Yu. Makeeva¹, P.S. Prudnikov², M.A. Tsukanova¹

¹Orel State University named after I.S. Turgenev, Orel, Russia, *tipuzina@gmail.com*

²All-Russian Scientific Research Institute of Fruit Crop Selection, p/o Zilina, Orel Region, Russia, *prudnicov@inbox.ru*

Abstract. The effect of 2-hour hypothermia (-2 ° C) and 10-day soil drought on the course of lipid peroxidation processes in potato plants was investigated. Monitoring of LPO reactions revealed the accumulation of both initial (hydroperoxides of fatty acids) and final products (malonic dialdehyde) under conditions of drought. Hypothermia in a greater degree intensified the onset of oxidative stress. The negative effect of the drought affected, above all, the growth of the root system of potatoes, and hypothermia - on the growth of aboveground and underground organs.

Keywords: *soil drought, hypothermia, fatty acid hydroperoxide, malonic dialdehyde, growth*

ДИНАМИКА РОСТА ВЫСОКОСОЛЕВЫХ И НИЗКОСОЛЕВЫХ КОРНЕЙ ПРОРОСТКОВ ТРИТИКАЛЕ

Н.В. Пухальская, А.Д. Казарцева

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт агрохимии имени Д.Н. Прянишникова» Москва, Россия, *n-v-poooh@ya.ru*

Аннотация. Изучены физиологические аспекты толерантности ростовой активности корневых систем растений тритикале в зависимости от концентрации питательного раствора. Установлена неравноценность группировки разных корней и различия в эффектах при попадании разного числа корней в растворы с контрастными концентрациями раствора.

Ключевые слова: *низкосолевого корни, высокосолевого корни, тритикале*

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-664-665

Проблема адаптационных механизмов при измерении характеристик окружающей среды, вопросы конкуренции корней за воду и питание, конкурентные взаимоотношения между растениями являются актуальными вопросами современной физиологии питания растений [Трапезников и др., 1999; Craine et al., 2005; Hess, de Kroon, 2007]. Изучали компенсаторные ростовые реакции корневых систем растений тритикале при попадании корней в неравновесную среду, варьируя размещение корней проростков тритикале либо в низкосолевого (НС), либо в высокосолевого (ВС) растворе. В течение 21 дня проростки тритикале сорта Виктор проращивали на НС и ВС растворах, моделируя сочетание корней в разных растворах. Схема опыта включала следующее сочетание прядей: 4НС, 4ВС, 1НС и 3ВС, 1ВС и 3НС, 2ВС и 2НС. Семена озимого тритикале сорта Виктор, проращивали на растворе сульфата кальция 10^{-4} М. На 6 день появившиеся корешки делили на пряди и размещали в вертикальных пробирках с низкосолевого и высокосолевого растворами (для ВС растворов готовили KNO_3 0.025 М). Рост НС корней на 71% интенсивнее ВС корней, что сопровождалось 20% увеличением линейных размеров ростка. При попадании в НС раствор двух корней и в ВС растворы 2 корней (вариант 2НС:2ВС), активность роста как НС, так и ВС корней снижалась. Деление корней 1ВС:3НС приводило к уменьшению их активного роста, каждая из корневых прядей проигрывала в длине корням, растущим только на низкосолевого (на 42%) или только на высокосолевого растворе (на 27.3%). Общая длина ростка в этом случае была ниже, чем у ростков, растущих в каком либо одном растворе (НС или ВС). Микроскопическое исследование корневого чехлика не выявило деструкции поверхности корней в растворах. Если перегруппировать корни так, чтобы 3 из них были НС, а 1 ВС, то можно наблюдать, что и корни, и ростки короче, чем корни и ростки 2НС и 2ВС. Вариант, в котором один корень отвечал за обеспечение растения низко концентрированным раствором (водой), а три корня - за поиск питательных элементов, показало, что 1НС корень длиннее 3НС корней на 15,8%, а 3ВС корня длиннее 1ВС корня на 46,78%. Таким образом, из всех сочетаний был вычленен вариант, у которого сочетание неравновесной среды вызывало рост как НС, так и ВС корней, повышало обеспеченность ростка корнями. При этом все варианты сочетаний характеризовались меньшей длиной КС, нежели в контрольных вариантах, когда корни помещались либо в ВС, либо в НС среду. Проведенные исследования показали, что если корень неравноценно снабжается водой и питательными веществами (3НС и 1ВС/ 1НС и 3ВС на 25,3% меньше, чем росток 2НС и 2ВС), то рост ростка будет ниже, чем при росте в одной какой-либо среде. Растение, реагируя на попадание одного корня в условия, отличающиеся от всей корневой массы,

испытывает стресс. От уменьшения количества ВС корней, длина корней уменьшается. Появления ВС корней уменьшает рост ростка. Росток является интегральным показателем оптимального состояния корневой системы. Полученные данные можно использовать для развития теоретических представлений о сортовой специфике и физиологической толерантности растений в тех или иных условиях минерального питания.

Литература

Трапезников В.К., Иванов И.И., Тальвинская Н.Г. Локальное питание растений. – Уфа: Гилем, 1999. – 260 с.

Craine J.M., Fargione J., Sugita S. Supply pre-emption, not concentration reduction, is the mechanism of competition for nutrients // *The New Phytologist*. – 2005. – V. 166. – P. 933–940.

Hess L., de Kroon H. Effects of rooting volume and nutrient availability as an alternative explanation for root self/non-self discrimination // *J. Ecol.* – 2007. – V. 95. – P. 241–251.

THE GROWTH DYNAMICS LOW-SALT AND HIGH-SALT ROOTS OF TRITICALE SEEDLINGS

N.V. Poukhalskaya, A.D. Kazarceva

Federal State Budgetary Institution All-Russian Research Institute of Agrochemistry named after D.N. Pryanishnikov Moscow, Russia, *n-v-pouh@ya.ru*

Abstract. Physiological aspects of tolerance of growth activity of root systems of triticale plants were studied depending on the concentration of nutrient solution. Differences in root growth were established, the division of the roots of one plant into parts and the placement of roots in different solutions showed interesting results. A combination of low-salt and high-salt roots was found, which ensures optimal growth of seedlings.

Keywords: *low-salt roots, high-salt roots, triticale*

РАЗНАЯ РОЛЬ ПРОЛИНА В ЗАЩИТНЫХ МЕХАНИЗМАХ C₃ И C₄ КСЕРО-ГАЛОФИТОВ РОДА ATRIPLEX В УСЛОВИЯХ ВОДНОГО ДЕФИЦИТА И ЗАСОЛЕНИЯ

З.Ф. Рахманкулова, Е.В. Шуйская, П.Ю. Воронин

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия, zulfirar@mail.ru, evshuya@gmail.com

Аннотация. Исследовали содержание пролина, воды, Na⁺ и K⁺, параметры CO₂/H₂O газообмена у двух ксеро-галофитов рода *Atriplex* с разным типом фотосинтеза: *A. verrucifera* (C₃) и *A. tatarica* (C₄) в условиях умеренной засухи и засоления. Установлено, что пролин играет разную роль: у C₃ вида накапливается в условиях засоления, участвует в балансировке клеточного осмотического потенциала в связи накоплением ионов Na⁺, а у C₄ накапливается в условиях засухи, т.е. при недостатке ионов является основным осмолитом.

Ключевые слова: *Atriplex verrucifera*, *A. tatarica*, ионный и осмотический стресс, адаптивные стратегии, пролин

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-666-669

Введение. Спектр десяти ведущих семейств по содержанию галофитов и ксерогалофитов возглавляет сем. Chenopodiaceae, включающее виды с разным типом фотосинтетического метаболизма (C₃ и C₄). Обитают они, как правило, на аридных, полуаридных и засоленных территориях, т.е. они подвергаются осмотическому или одновременно осмотическому и ионному стрессу. Представители данного семейства из рода *Atriplex* устойчивы к засухе [Le Houérou, 2000] и к засолению [Bajji et al., 1998]. Эти виды широко распространены и представляют большой интерес для кормопроизводства и для восстановления маргинальных территорий [Le Houérou, 1992].

Одним из распространенных и хорошо изученных осмолитов в соле- и засухоустойчивых растениях является пролин, который способствует выживанию растений в условиях стресса и при этом не мешает нормальному метаболизму клеток [Sleimi et al., 2015]. В тоже время показано, что, поскольку растения демонстрируют разные стратегии при адаптации к засухе и засолению, усиление накопления пролина происходит не всегда [Bueno et al., 2017].

Механизмы засухо- и солеустойчивости, включая биосинтез осмолитов, антиоксидантных ферментов и соединений и т.д., являются крайне энергозатратными и тесно связаны с метаболическими путями фотосинтеза и дыхания [Ashraf, Harris, 2013]. Как известно, растения с C₃ и C₄ типом фотосинтетического метаболизма сильно отличаются по устойчивости к осмотическому стрессу. Известно, что C₄ растения обладают эффективным фотосинтетическим аппаратом в теплых и засушливых условиях обитания. Однако, в последнее время появляется все больше информации о слабой засухоустойчивости некоторых C₄ видов [Ghannoum, 2009]. Итак, на сегодняшний день противоречия относительно засухоустойчивости C₄ растений остаются нерешенными, несмотря на большой интерес к C₄ растениям в связи с их значительным вкладом в глобальный обмен углерода и продовольственную безопасность на фоне изменения климата [Ghannoum, 2009]. Целью данной работы явилось исследование роли пролина в процессе адаптации ксеро-галофитов рода *Atriplex* с разным типом фотосинтеза к ПЭГ-индуцированному осмотическому стрессу и при сочетании осмотического и ионного стресса, индуцированного NaCl.

Материалы и методы исследований. Исследовали два типичных представителя ксеро-галофитов сем. Chenopodiaceae с разными типами фотосинтеза: *Atriplex verrucifera* L. – суккулент, галофит с C_3 типом фотосинтеза и *A. tatarica* – факультативный галофит, ксерофит, рудерал, космополит с C_4 НАД-МЭ типом фотосинтеза.

Исследовали действие кратковременного (2-дневного) умеренного (-0.6 МПа) осмотического стресса (индуцированного ПЭГ) и аналогичного по осмотическому потенциалу засоления (200 мМ NaCl) на рост, содержание воды, ионов натрия и калия, пролина в побегах и параметры CO_2/H_2O газообмена.

Для определения содержания воды, растительные пробы высушивали двое суток при $+80$ °С. Уровень содержания Na^+ и K^+ в фотосинтезирующих органах определяли в водной вытяжке пробы (100 мг) на атомно-абсорбционном спектрометре (Hitachi 207, Япония). Содержание свободного пролина определяли с помощью кислого нингидринового реактива по методу [Bates et al., 1973], результаты рассчитывали на 1 г сухой массы.

Для определения фотосинтетического CO_2/H_2O -газообмена фрагмент листа помещали в термостатируемую при комнатной температуре листовую камеру и освещали оптоволоконным световодом от осветителя (KL 1500 LCD, “Shott”, Германия) с галогеновой лампой (150 Вт, “Philips”, Нидерланды) с интенсивностью ФАР в поле объекта 2000 мкмоль/(m^2 с). Стационарный CO_2/H_2O -газообмен листа измеряли с помощью одноканального ИК-газоанализатора (LI-820, “LICOR”, США) в открытой схеме. Транспирацию листа (E) рассчитывали на основании разности влажности газа на входе и выходе из листовой камеры. В данной установке в опорном газовом потоке на входе в листовую камеру поддерживали известную постоянную влажность с помощью увлажнителя LI-610 (“LICOR”, США). Для определения влажности на выходе из листовой камеры использовали психрометрический датчик HMP50 (“Vaisala INTERCAP”, Финляндия).

Результаты и обсуждение. Известно, что устойчивые растения используют разные адаптивные механизмы борьбы со стрессом, поскольку механизмы устойчивости в покрытосеменных развивались много раз и по-разному [Flowers et al., 2010], и представляют собой комплекс физиологических особенностей, которые развились в ответ на сложные многофакторные условия окружающей среды [Bromham, 2014]. Засухо- и солеустойчивые виды способны поглощать воду, создавая низкий осмотический потенциал за счет накопления неорганических и органических растворенных веществ, в том числе пролина [Bueno et al., 2017; Hassine et al., 2008].

У двух исследованных в данной работе видов в условиях водного стресса и засоления выявлены разные адаптивные стратегии. В условиях осмотического стресса (индуцированного ПЭГ) и равного по силе осмотического и ионного стресса (индуцированного NaCl) большую устойчивость по показателям роста, содержанию воды в тканях растений, ионов K^+ продемонстрировал C_3 вид *A. verrucifera*. В тоже время у данного вида, при добавлении в среду питания 200 мМ NaCl, наблюдалось увеличение содержания пролина в 10 раз. Вероятно, высокое содержание ионов натрия, калия и пролина обеспечивало удержание воды в тканях растений и, как следствие, открытие устьиц, высокую интенсивность видимого фотосинтеза и сохранение ростовых показателей (таблица).

У C_4 вида *A. tatarica* также имело место увеличение содержания пролина в два раза, но в условиях ПЭГ индуцированной засухи. Накопление пролина у *A. tatarica* происходило на фоне снижения содержания в тканях растений воды, ионов натрия и калия (табл.), снижения интенсивности видимого фотосинтеза (на 43%), транспирации (на 23%) и, как следствие, роста биомассы (в 2 раза). Таким образом, несмотря на свою

принадлежность к C_4 растениям *A. tatarica* проявила слабую устойчивость к осмотическому стрессу и накапливала пролин при недостатке ионов натрия и калия в тканях, в то время как у C_3 вида пролин накапливался при избытке ионов натрия.

Таблица.

Содержание сырой биомассы, воды, пролина и ионов натрия и калия у *Atriplex verrucifera* (C_3) и *A. tatarica* (C_4) в условиях засухи (–0.6 МПа) и засоления (200 мМ NaCl)

Параметры	<i>Atriplex verrucifera</i>			<i>A. tatarica</i>		
	Контроль	NaCl	ПЭГ	Контроль	NaCl	ПЭГ
Сырая биомасса, г	0.20±0.02 ^a	0.19±0.02 ^a	0.19±0.01 ^a	0.73±0.15 ^b	0.38±0.04 ^c	0.35±0.08 ^c
Содержание воды, г/г сухой массы	7.4±0.3 ^a	7.7±0.2 ^a	6.9±0.5 ^a	11.9±0.5 ^b	11.7±0.9 ^b	6.2±0.8 ^a
Содержание пролина, мг/г сухой массы	0.28±0.01 ^a	1.66±0.09 ^c	0.42±0.06 ^a	2.73±0.08 ^b	2.59±0.14 ^b	4.97±0.13 ^d
Содержание Na ⁺ , ммоль/г сухой массы	1.06±0.17 ^a	2.21±0.05 ^b	0.76±0.16 ^a	0.79±0.01 ^a	1.53±0.03 ^b	0.51±0.04 ^c
Содержание K ⁺ , ммоль/г сухой массы	3.37±0.40 ^a	3.22±0.15 ^a	2.69±0.35 ^a	3.15±0.04 ^a	2.36±0.13 ^b	2.34±0.05 ^b

Разными латинскими буквами отмечены достоверные различия на уровне $p < 0.05$.

Итак, у C_3 и C_4 ксеро-галофитов рода *Atriplex* выявлены две разные стратегии выживания в условиях водного дефицита и засоления. C_3 вид *A. verrucifera* проявил себя как более устойчивый к ПЭГ индуцированному осмотическому стрессу и совместному действию ионного и осмотического стресса, а вид *A. tatarica* был более продуктивным в контрольных условиях, но менее устойчивый к обоим видам стресса. Установлено, что пролин играет разную роль: у C_3 вида накапливается в условиях засоления, участвует в балансировке клеточного осмотического потенциала в связи накоплением ионов Na⁺ в вакуоле, а у C_4 вида накапливается в условиях засухи, т.е. при недостатке ионов является основным осмолитом.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований «17-04-00853-а».

Литература

- Ashraf M., Harris P.J.C. Photosynthesis under stressful environments: An overview // *Photosynthetica*. – 2013. – V. 51. – P. 163–190.
- Bajji M., Kine, J. M., Lutts S. Salt stress effects on roots and leaves of *Atriplex halimus* L. and their corresponding callus cultures // *Plant Science*. – 1998. – V. 137. – P. 131–142.
- Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water stress studies // *Plant Soil*. – 1973. – V. 39. – P. 205–207.
- Bromham L. Macroevolutionary patterns of salt tolerance in angiosperms // *Annals of Botany*. – 2014. – V. 115. – P. 333–341.
- Bueno M., Lendinez M. L., Aparicio C., Cordovilla M. P. germination and growth of *Atriplex prostrata* and *Plantago coronopus*: Two strategies to survive in saline habitats // *Flora*. – 2017. – V. 227 – P. 56–63.
- Flowers T.J., Galal H.K., Bromham L. Evolution of halophytes: multiple origins of salt tolerance in land plants // *Functional Plant Biology*. – 2010. – V. 37. – P. 604–612.
- Ghannoum O. C_4 photosynthesis and water stress // *Annals of Botany*. – 2009. – V. 103. – P. 635–644.

Hassine A.B., Ghanem M.E., Bouzid S., Lutts S. An inland and a coastal population of the Mediterranean xero-halophyte species *Atriplex halimus* L. differ in their ability to accumulate proline and glycinebetaine in response to salinity and water stress // J. Exp. Bot. – 2008. – V. 59. – P. 1315–1326.

Le Houérou H. Utilization of fodder trees and shrubs in the arid and semiarid zones of West Asia and North Africa // Arid Soil Research and Rehabilitation. – 2000. –V. 14. –P. 101–135.

Le Houérou H.N. The role of saltbushes (*Atriplex* spp.) in arid land rehabilitation in the Mediterranean Basin: a review // Agrofor. Syst. – 1992. – V. 18. – P. 107–148.

Sleimi N., Guerfali S., Bankaji I. Biochemical indicators of salt stress in *Plantago maritima*: implications for environmental stress assessment // Ecol. Indic. – 2015. –V. 48. – P. 570–577.

DIFFERENT ROLE OF PROLINE IN THE PROTECTIVE MECHANISMS OF C₃ AND C₄ XERO-HALOPYTES OF ATRIPLEX GENUS UNDER DROUGHT AND SALINITY

Z.F. Rakhmankulov, E.V. Shuyskaya, P.Yu. Voronin

K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia, zulfirar@mail.ru,
evshuya@gmail.com

Abstract. The proline, water, Na⁺ and K⁺ ions contents and CO₂/H₂O gas exchange parameters were studied on two xero-halopytes of the genus *Atriplex* with different photosynthesis types: *A. verrucifera* (C₃) and *A. tatarica* (C₄) under moderate drought and salinity conditions.

It was found that proline plays different roles: it accumulates in C₃ species under salinity conditions, participates in balancing the cellular osmotic potential in response to Na⁺ accumulation, while in C₄ species it accumulates under drought conditions, it is the main osmolyte under Na⁺ deficit.

Keywords: *Atriplex verrucifera*, *A. tatarica*, ionic and osmotic stresses, adaptive strategies, proline

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЗАЩИТНЫХ БЕЛКОВ И ПЕПТИДОВ ДИКORACТУЩИХ И КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА СЛОЖНОЦВЕТНЫЕ (*COMPOSITAE*): ВЫЯВЛЕНИЕ ДЕТЕРМИНАНТ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИХ ПОВЫШЕННУЮ УСТОЙЧИВОСТЬ К БИОТИЧЕСКИМ СТРЕССОВЫМ ФАКТОРАМ

Е.А. Рогожин^{1,2,3}

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва, Россия, rea21@list.ru

²Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе», Москва, Россия

³Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тюменский государственный университет», Тюмень, Россия

Аннотация. В рамках проведенной работы проведен сравнительный анализ состава белков и пептидов, участвующих во врожденном иммунитете, в трубчатых цветках и зрелых семенах культурного и дикорастущего видов растений семейства Сложноцветные (*Compositae*) – подсолнечника однолетнего (*Helianthus annuus*) и одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale*) – с целью выявления общих (в том числе гомологичных) и различных молекул, в том числе, за счет наличия которых, достигается контрастная устойчивость данных видов растений к возбудителям грибных болезней узкого и широкого спектра.

Ключевые слова: врожденный иммунитет, биотические стрессовые факторы, защитные белки и пептиды, дикорастущие и культурные растения, Сложноцветные

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-670-673

Патогенные микроорганизмы (грибы, бактерии и вирусы) и насекомые-вредители наносят существенный ущерб сельскохозяйственным культурам, снижая урожайность на 45%. Важнейшими стратегиями повышения устойчивости растений к фитопатогенам является селекция на устойчивость и использование химических средств защиты растений. Селекция на устойчивость часто затруднена наличием большого числа возбудителей заболеваний, отсутствием эффективных доноров устойчивости, сцепленностью в ряде случаев устойчивости с нежелательными агрономическими признаками, кроме того, процесс создания устойчивых сортов методами классической селекции является трудоемким и длительным. Использование химических средств защиты (пестицидов) существенно снижает потери урожая, однако представляет угрозу экологической безопасности и способствует появлению и распространению устойчивых форм патогенов. В связи с этим во всем мире продолжается поиск новых альтернативных путей защиты растений, которые могут быть включены в систему интегрированной защиты. Считается общепризнанным, что наиболее перспективными подходами к повышению устойчивости являются те, которые направлены на усиление защитных свойств самих растений. В связи с этим особое значение приобретает изучение молекулярных механизмов и компонентов иммунной системы растений. Защитные белки и пептиды представляют огромный интерес для сельского хозяйства. Потери урожая от поражения грибными и бактериальными патогенами довольно существенны, кроме того, болезни снижают качество урожая и уменьшают сроки хранения продукции растениеводства. Особенностью антимикробных полипептидов является то, что они обладают способностью ингибировать развитие широкого спектра микроорганизмов, в большинстве случаев посредством механизмов, отличных от

молекулярных мишеней большинства действующих веществ коммерческих средств защиты растений (пестицидов) и традиционных антибиотиков. В ряде дикорастущих и культурных растений обнаружен довольно большой спектр антимикробных полипептидов. Эти пептиды, вырабатываемые в ряде случаев не с целью защиты, часто обладают более высокой антимикробной активностью, чем белки, связанные с патогенезом (PR-белки). Интерес научного сообщества к этим веществам подтверждается большим числом публикуемых статей и патентов, посвященных антимикробным пептидам. О защитной роли ряда антимикробных и антифунгальных веществ в растениях свидетельствуют биологические тесты *in vitro*, локализация преимущественно в периферических слоях клеток, а также индукция синтеза в ответ на действие патогенов.

Известно, что дикие формы растений (в том числе сорные) демонстрируют гораздо больший уровень устойчивости к комплексу стрессов (как биотических, так и абиотических) по сравнению с возделываемыми растениями, большинство которых утратило высокий уровень толерантности на молекулярном уровне в процессе селекционного отбора, главным образом, по принципу повышения продуктивности. Для подавляющего большинства дикорастущих видов цветковых растений, как двудольных, так и однодольных, свойственен способ обитания и размножения в условиях довольно жесткой конкуренции за ресурсы (в частности, солнечный свет, доступность минерального питания, плодородие и кислотность почвы и т.п.), которая возникает в растительном сообществе. Эта конкуренция также обостряется и на молекулярном уровне за счет проявления аллелопатических взаимодействий между растениями, близко произрастающими друг относительно друга. При этом, более «агрессивные» виды однолетних и многолетних дикорастущих растений, способные синтезировать оптимальный набор метаболитов, подавляющих рост и развитие других видов, и активно выделять (секретировать) их через корневую систему в почву или посредством надземных вегетирующих частей (листья, стебли, цветки), способны выигрывать эту конкурентную борьбу и благополучно завершать цикл своего онтогенетического развития. Характерно, что влияние на дикие виды растений факторов биотического стресса (главным образом, поражение микроорганизмами – возбудителями болезней, повреждения насекомыми-вредителями, нематодами, другими беспозвоночными), то очень часто такие данные крайне немногочисленны или полностью отсутствуют. Причина этого, в основном, заключается в отсутствии экономической составляющей множества видов этих растений для отраслей растениеводства и животноводства в сельском хозяйстве. Немногочисленными исключениями можно считать дикорастущие родичи культурных растений, главным образом, зерновых и зернобобовых, которые могут быть потенциально востребованы с точки зрения традиционной селекции при выведении новых сортов (гибридов) с повышенной устойчивостью, например, к болезням. В рамках данной работы проведен анализ спектра преобладающих защитных полипептидов на примере «модельной пары» близкородственных растений – «подсолнечник однолетний (*Helianthus annuus*) – одуванчик лекарственный (*Taraxacum officinale*)», с использованием постгеномных и протеомных технологий. Аналогичный подход ранее был успешно использован на примере исследования закономерностей внутривидовой устойчивости растений рапса ярового (*Brassica napus*), контрастных по степени полевой устойчивости к грибным болезням в условиях Центрально-Черноземной зоны [Rogozhin et al., 2016]. Проведенный пептидомный анализ растений одуванчика и подсолнечника позволил выявить, во-первых, преимущественное отсутствие совпадающих пептидных соединений в цветках и зрелых семенах, а, во-вторых, принципиальное и качественное наличие спектра, который, в случае подсолнечника, был «ориентирован» на наличие

запасных белков (2S-альбуминов) [Kortt et al., 1991; Mylne et al., 2011] и ингибиторов гидролаз [Colgrave et al., 2010] в семенах и сигнальных полипептидов с цветках и листьях [Hewezi et al., 2005], в то время как для одуванчика оказалось характерным локализация в семенах (на фоне присутствия двухсубъединичных 2S-альбуминов) [Odintsova et al., 2010] также и ряда антимикробных пептидов, а в цветках было выявлена целая совокупность новых полипептидов с уникальными структурными мотивами на уровне аминокислотных последовательностей, не имеющих пока аналогов в растительном мире, и с довольно поверхностно изученной биологической активностью [Astafieva et al., 2012, 2013, 2015].

Литература

Astafieva A.A., Enyenihi A.A., Rogozhin E.A., Kozlov S.A., Grishin E.V., Odintsova T.I., Zubarev R.A., Egorov T.A. Novel proline-hydroxyproline glycopeptides from the dandelion (*Taraxacum officinale* Wigg.) flowers: de novo sequencing and biological activity // *Plant Sci.* – 2015. – V. 238. – P. 323–329.

Astafieva A.A., Rogozhin E.A., Andreev Y.A., Odintsova T.I., Kozlov S.A., Grishin E.V., Egorov T.A. A novel cysteine-rich antifungal peptide ToAMP4 from *Taraxacum officinale* Wigg. flowers // *Plant Physiol. Biochem.* – 2013. – V. 70. – P. 93–99.

Astafieva A.A., Rogozhin E.A., Odintsova T.I., Khadeeva N.V., Grishin E.V., Egorov T.A. Discovery of novel antimicrobial peptides with unusual cysteine motifs in dandelion *Taraxacum officinale* Wigg. flowers // *Peptides.* – 2012. – V. 36(2). – P. 266–271.

Colgrave M.L., Korsinczky M.J., Clark R.J., Foley F., Craik D.J. Sunflower trypsin inhibitor-1, proteolytic studies on a trypsin inhibitor peptide and its analogs // *Biopolymers.* – 2010. – V. 94(5). – P. 665–672.

Hewezi T., Petitprez M., Gentzbittel L. Primary metabolic pathways and signal transduction in sunflower (*Helianthus annuus* L.): comparison of transcriptional profiling in leaves and immature embryos using cDNA microarrays // *Planta.* – 2006. – V. 223(5). – P. 948–964.

Kortt A.A., Caldwell J.B., Lilley G.G., Higgins T.J. Amino acid and cDNA sequences of a methionine-rich 2S protein from sunflower seed (*Helianthus annuus* L.) // *Eur. J. Biochem.* – 1991. – V. 195(2). – P. 329–334.

Mylne J.S., Colgrave M.L., Daly N.L., Chanson A.H., Elliott A.G., McCallum E.J., Jones A., Craik D.J. Albumins and their processing machinery are hijacked for cyclic peptides in sunflower // *Nat. Chem. Biol.* – 2011. – V. 7(5). – P. 257–259.

Odintsova T.I., Rogozhin E.A., Sklyar I.V., Musolyamov A.K., Kudryavtsev A.M., Pukhalsky V.A., Smirnov A.N., Grishin E.V. and Egorov T.A. Antifungal activity of storage 2S albumins from seeds of the invasive weed dandelion *Taraxacum officinale* Wigg. // *Protein & Peptide Letters.* – 2010. – V. 17. – P. 522–529.

Rogozhin E.A., Muravlev A.A., Karpachev V.V. Discovering antimicrobial peptides from rape (*Brassica napus* L.) seeds to detect breed resistance to environmental biotic stress factors // *Abstracts of IV International Conference on Antimicrobial Research – ICAR2016, Spain, Torremolinos – Malaga. 29 June–1 July, 2016.* – P. 13.

**COMPARATIVE STRUCTURE-FUNCTION ANALYSIS OF DEFENSE PROTEINS
AND PEPTIDES FROM WILD AND CULTIVATED PLANTS OF COMPOSITAE
FAMILY: REVELATION OF DETERMINANTS PROVIDING A HIGH
RESISTANCE LEVEL TO BIOTIC STRESS FACTORS**

E.A. Rogozhin^{1,2,3}

¹Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, *rea21@list.ru*

²Federal State Budgetary Scientific Institution «Gause Institute of New Antibiotics», Moscow, Russia

³Tyumen State University, Tyumen, Russia

Abstract. In this work a comparative analysis of protein and peptide content that associated with innate immunity, from tubular flowers and mature seeds of cultivated and wild species of Compositae family – sunflower (*Helianthus annuus*) and dandelion (*Taraxacum officinale*) – has been carried to discover general homologous and different molecules, in due to contrary resistance of these plants to wide and narrow fungal diseases is achieved.

Keywords: *innate immunity, biotic stress factors, defense proteins and peptides, wild and cultivated plants, Compositae family*

БИОИНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ ИЗОФЕРМЕНТНОГО СОСТАВА ПЕРОКСИДАЗЫ ХВОИ *PINUS SYLVESTRIS* L.

И.М. Романова¹, М.А. Живетьев^{1,2}, И.А. Граскова¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия, irinal70885@mail.ru

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Иркутский национальный исследовательский технический университет», Иркутск, Россия

Аннотация. Применение нативного электрофореза при разделении растительных белков в хвое *Pinus sylvestris* позволило получить и сравнить данные о влиянии изменений факторов окружающей среды на изоферментный состав пероксидазы в растении. Установлен ряд зависимостей изоферментного состава пероксидазы хвои *Pinus sylvestris* от условий окружающей среды, используя средства языка программирования R.

Ключевые слова: пероксидаза, *Pinus sylvestris*, R-программирование

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-674-677

Объектом исследования служила хвоя первого, второго, третьего годов сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) и хвои текущего вегетационного периода («новая»). Пробы хвои отбирались ежемесячно с 21 по 23 число в течение 2011-2012 гг. на участках «Олха» и «Мельничная Падь».

Для получения препаратов пероксидаз навеску растительной ткани (1 г) помещали в 10 мл холодного цитратно-фосфатного буфера, растирали в фарфоровой ступке при 4 °С. Выделение общих пероксидаз для электрофоретического разделения производили с использованием 2 мл холодного Sample-буфера, содержащего трис, глицерин и меркаптоэтанол. Для выявления молекулярных форм фермента экстракты разделяли нативным электрофорезом в блоках 8%-ного полиакриламидного геля, с последующим окрашиванием диаминобензидином с добавлением перекиси водорода. Затем гели сканировали и выявляли изоформы по относительной электрофоретической подвижности молекул фермента в ПААГ – Rf.

Использование кластерного анализа позволяет визуально представить достаточно большой объем информации. Основная функция такого анализа – разбиение множества исследуемых объектов на однородные группы, удовлетворяющие некоторому критерию оптимальности. Метод древовидной кластеризации используется при формировании кластеров сходства или расстояния между объектами (в одномерном или многомерном пространстве). В начале работы все объекты являются отдельными кластерами. На первом шаге два наиболее похожих объекта объединяются в кластер. На последующих шагах объединение продолжается до тех пор, пока все объекты не будут составлять один кластер.

Для определения сходства исследуемых проб использовали метод древовидной кластеризации (индекс сходства Брея-Кертиса). Суть такого вида кластеризации состоит в последовательном объединении меньших кластеров в большие кластеры.

Было выделено 11 кластеров (уровень устойчивости кластеров: $p < 0,07$ и ниже).

Первый кластер содержит изоформу с изоэлектрической точкой 0,32; второй кластер содержит пробы, в состав которых входят изоформы 0,32 и 0,37; третий кластер – 0,27 и 0,32; четвертый – 0,27, 0,32 и 0,37. Кластеры 1, 2, 3 и 4 содержат пробы хвои разных лет, собранных в марте в точках сбора проб Олха и Мельничная Падь.

Пятый кластер состоит из проб с одной изоформой 0,22. Подавляющее большинство проб пятого кластера состоит из изоформ пероксидазы, выделенных из проб, собранных в период высоких и низких положительных температур окружающей среды (весенне-летний период). Обнаружение одной изоформы в кластере, объединяющем практически все пробы хвои, которая выросла весной (молодая хвоя) может свидетельствовать о том, что пероксидаза активно функционирует и как компонент антиоксидантной системы, и как катализатор химических реакций, необходимых для осуществления основных физиологических процессов.

Шестой кластер объединяет пробы разных лет хвои, собранных в обеих точках исследования, но только в ноябре и декабре, состоит из изоформ с изоэлектрической точкой Rf 0,22, 0,27, 0,32 и 0,47.

Седьмой кластер также содержит пробы разных лет хвои, но собранных в период самых низких и высоких температур (июль, ноябрь, февраль). Данный набор изоформ (0,22, 0,27, 0,32) отвечает за осуществление физиологических процессов в данный период.

Восьмой кластер состоит из набора изоформ с Rf 0,22, 0,27, 0,58, девятый кластер состоит из такого же набора изоформ (0,22, 0,27, 0,58), и появляется изоформа с Rf 0,32, обнаруженных в основном в летний период (июнь-сентябрь).

Десятый кластер состоит из одной пробы, собранной в точке отбора проб Олха, в декабре, содержит изоформы с Rf 0,22, 0,27 и 0,47. Молекулярная форма пероксидазы с Rf 0,47, которая находится также в шестом кластере, присутствует в хвое только в период вынужденного и глубокого покоя (ноябрь, декабрь).

Одиннадцатый кластер содержит изоформы 0,22 и 0,27. Изоформы с данной изоэлектрической точкой встречаются практически во всех кластерах в разные периоды онтогенетического развития растительного организма, что свидетельствует о широком спектре действия фермента.

Сам процесс кластерного анализа предполагает объединение полученных кластеров в более крупные группы, наиболее сходных между собой (чем ниже уровень объединения кластеров, тем выше уровень сходства). Так, на первом шаге объединения происходит объединение на высоте 0,25 кластеров 6 и 7, 8 и 9. На втором шаге (высота 0,31) – кластеры 3 и 4, 10 и 11. На высоте 0,39, на третьем шаге, происходит укрупнение кластеров 8, 9, 10, 11 в одну группу. На высоте 0,45 – объединение группы кластеров 6 и 7 с более крупной группой кластеров 8, 9, 10, 11. На пятом шаге (высота 0,51) кластер 2 входит в группу кластеров 3, 4 и на высоте 0,54 происходит объединение кластеров 1, 2, 3, 4. На высоте 0,61 кластер 5 объединяется со всеми последующими кластерами, включая 11 кластер. Окончательное объединение всех кластеров происходит на высоте 0,89.

Объединение кластеров 1, 2, 3, 4 в одну группу осуществлялось по наличию изоформы 3 (Rf 0,32) и по месяцу отбора проб (март). Данная изоформа прослеживается весь период глубокого и вынужденного покоя и выхода из состояния покоя; изоформа отвечает за основные физиологические процессы, такие, как дыхание, в самый неблагоприятный период и принимает активное участие в выходе растения из состояния вынужденного покоя.

Место произрастания в данном исследовании не влияет на состав молекулярных форм фермента: почти в каждом кластере обнаружено одинаковое количество проб как из Олхи, так и из Мельничной Пади.

Одним из методов снижения размерности полученных данных является анализ главных компонент (PCA, Principal Components Analysis), который широко используется в различных областях науки и техники и детально описан в многочисленных руководствах.

При дальнейшем анализе методом главных компонент для удобства все изоформы пероксидазы были пронумерованы: изоформа с Rf 0,22 – № 1; с Rf 0,27 – № 2; с Rf 0,32 – № 3; 0,37 – 4; 0,47 – 5; 0,58 – 6.

Главные компоненты – это прямые (оси факторов), проходящие через облако точек (переменных) в векторном пространстве, проложенные по критерию наименьших квадратов, которые максимизируют суммы квадратов ортогональных проекций (дисперсий), причем первая компонента имеет наибольший вклад в характеристику особенностей объекта, вторая меньший, третья еще меньший и т. д.

Был проведен анализ влияния изоформ, количества осадков, температур (среднесуточной и среднемесячной) на изоферментный состав хвои сосны обыкновенной.

Расположение полученных векторов показало практическое совпадение направленности влияния температуры, как среднемесячной, так и среднесуточной. Вектора, вне зависимости от результатов кластеризации, позволяют наглядно проследить взаимозависимость всех объектов, использованных при расчете данных. Направление векторов в одну сторону говорит о наличии прямой зависимости, в противоположные – об обратной. Перпендикулярное расположение векторов свидетельствует об отсутствии зависимости между объектами изучения.

На изменение изоферментного состава хвои большее влияние оказывают условия окружающей среды, особенно сильно влияние среднемесячной температуры.

При этом на изменение морфометрических данных хвои более заметное влияние оказывает количество осадков, в отличие от температуры окружающей среды.

Молекулярные формы пероксидазы зависят от оптимальных условий, необходимых для проявления каталитической активности. Разные условия окружающей среды в периоды роста и покоя обуславливают проявление активности различных изоформ пероксидазы.

Сильнее всего меняются изоформы 1, 3 и 6, которые больше задействованы в адаптационных механизмах хвои за весь период наблюдений.

В это же время изоформа 2 меньше всех подвержена изменению и присутствует практически во всех пробах. Об этом свидетельствует и квадрат коэффициента корреляции, и вектор, перпендикулярный сумме осадков и температурам.

Судя по направлению векторов, синтез изоформы 6 сопровождается прекращением синтеза изоформ 5 и 4. Также разнонаправлены вектора, отражающие синтез изоформ под номерами 1 и 3.

Изоформы 3, 4 и 5 могут экспрессироваться при более засушливых условиях и повышенных температурах относительно других изоформ.

Влияние каждой из изоформ на изменение их состава было статистически достоверно.

Применение нативного электрофореза при разделении растительных белков в хвое сосны обыкновенной позволило получить и сравнить данные о влиянии изменений факторов окружающей среды на изоферментный состав пероксидазы в растении.

Наличие разнообразного спектра кислых и щелочных изоформ пероксидазы, позволяющего ферменту своевременно и эффективно реагировать на стрессовые воздействия биотического и абиотического происхождения, указывает на связь фермента с адаптационными способностями растительного организма в целом.

Являясь одним из компонентов антиоксидантной системы, пероксидаза обеспечивает жизнедеятельность организма при вынужденном покое в период низких отрицательных температур и активирует выход организма из покоя, что происходит благодаря процессам перекисного окисления липидов, активирующим основные физиологические процессы.

Работа выполнена на оборудовании Центра коллективного пользования «Биоаналитика» Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН (г. Иркутск).

BIO-INFORMATION ANALYSIS OF PEROXIDASE ISOENZYME COMPOSITION OF *PINUS SYLVESTRIS* L. NEEDLES

I.M. Romanova¹, M.A. Zhivetyev^{1,2}, I.A. Graskova¹

¹Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia, irina170885@mail.ru

²Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «Irkutsk National Research Technical University», Irkutsk, Russia

Abstract. Use native electrophoresis in separating plant proteins in the needles of *Pinus sylvestris* has allowed to obtain and compare data on the impact of environmental factors changes Wednesday on isoenzyme composition of peroxidase in the plant. A number of isoenzyme peroxidase composition dependency of needles of *Pinus sylvestris* from ambient conditions of environmental, using the R programming language.

Keywords: *peroxidase, Pinus sylvestris, R-programming*

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ВОЗДЕЛЫВАНИЯ ПАССИФЛОРЫ В МОЛДОВЕ

Н.Д. Рошка, Н.В. Баранова, З.Н. Ворнику, Т.Г. Железняк

Институт генетики, физиологии и защиты растений Академии наук Молдовы, Кишинев, Республика Молдова, ninaroshca@mail.ru

Аннотация. Отработаны ряд элементов технологии возделывания пассифлоры инкарнатной для климатических условий Молдовы. Установлено, что в наших условиях для закладки плантаций пассифлоры необходимо предварительно в теплицах или соляриях вырастить рассаду. Пассифлору в Молдове можно возделывать как двухлетнюю культуру. В первом году вегетации урожай свежесобранного сырья составляет 14,30 т/га, во втором году 18,29 т/га.

Ключевые слова: пассифлора, технология возделывания, урожай сырья

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-678-681

Среди лекарственных растений, используемых в медицине (народной и научной), широко известна пассифлора (*Passiflora incarnata* L.), которая гармонично вписывается в группу растений с седативными свойствами.

Большинство распространенных и культивируемых видов пассифлоры (а их более 500) имеют и медицинское применение, но более выраженными лекарственными качествами обладает пассифлора инкарнатная (*Passiflora incarnata* L.), называемая иногда и страстоцвет телесноцветный, страстоцвет мясо-красный [<http://pe.pas.ru/?pageid=59>].

Известно, что индейцы, коренные жители центральной и северной Америки возделывали пассифлору инкарнатную задолго до появления европейских завоевателей и использовали как плодое и лекарственное растение под местным названием «маракок» [Вульф, Малеева, 1966].

Считается, что пассифлора инкарнатная берет свое происхождение из тропиков южной Америки (Бразилии). Однако, в настоящее время, основным ареалом распространения этого вида является Северная Америка – южные, центральные и юго-восточные штаты США, а также Бермудские острова [Вульф, Малеева, 1966].

Пассифлора инкарнатная была завезена в Европу в 1609 году, где и в настоящее время возделывается и зимует в открытом грунте в некоторых субтропических районах Франции, Италии и Испании. Позже этот вид пассифлоры был введен в культуру на Филиппинах и в других странах Азии и Европы.

Это растение представляет интерес как декоративное комнатное растение практически во всех странах средней полосы и в северных районах Европы и Азии. Для южных районов – это декоративное растение, используемое и в зеленом строительстве, плодовая лиана и ценное лекарственное растение, используемое в народной и научной медицине. Сырьем для получения лекарственных форм служит надземная травянистая часть растения – листья, не одревесневшие стебли, бутоны и цветы, а также незрелые плоды под названием “Herba passiflorae incarnata”.

Медицинские формы, полученные из фармацевтического сырья этого растения, а также настои, настойки и спиртовые экстракты имеют широкий спектр применения благодаря богатому химическому составу действующих веществ.

И хотя считается, что химический состав этого вида изучен недостаточно, достоверно установлено разнообразие химических соединений действующих веществ, определяющий терапевтический эффект.

Установлено, что надземная травянистая масса пассифлоры, убранная в фазе цветения, содержит флавоноиды, алкалоиды индольной группы (гармал, гармин,

гармол) алфаланины, апигенин, кризин, лимонная, пассифлорная кислоты, фенольные кислоты, каемферол, лотурин, ориентин, левцин, пектины, фенилаланин, пролин, пронасин, сапонарин, скополетин, кварцетин, санонаретин, ситостерол, сигмастерол, серотонин, кумарин и др., а фрукты богаты витаминами С и А [Соколов, Замотаев, 1989; Чиков, 1989].

Основной терапевтический эффект химических действующих веществ пассифлоры выражается как антиспастик, анальгетик, гипотензивное, снотворное, апоплексик, против истерии и астмы.

В настоящее время лекарственные средства и формы из пассифлоры широко применяются в народной и научной медицине в лечении расстройств нервной системы, как легкое снотворное при головных болях, коликах, дизентерии, дисменорее, эпилепсии, боли в мышцах, алкоголизме [Соколов, Замотаев, 1989; [http: www.fito.nnov.ru/special/alcoloids/ Passiflora incarnata/ 2010](http://www.fito.nnov.ru/special/alcoloids/Passiflora%20incarnata/)].

Начиная с 2004 года, пассифлору стали изучать в Молдове, имея в виду, что по своим целебным качествам она дополняет список культур группы растений с седативными свойствами – валерианы, зверобоя, пустырника.

Нам были предложены две формы, акклиматизированные в Германии и в Италии. Из этих двух экологических типов для условий Молдовы лучше подошла форма, акклиматизированная ранее в Германии.

Так как это растение для нашей зоны было совершенно новое и неизученное, надо было установить способы закладки плантаций (посев или рассад), сроки посева или посадки и другие параметры.

Опыты проводились на Экспериментальной базе Института генетики, физиологии и защиты растений Академии наук Молдовы.

В начале исследований посеяли семена в поле, в открытом грунте. Семена были посеяны поздно, в теплой, но сухой почве и из-за этого полевая всхожесть семян была ниже 10%, что сказалось отрицательно на густоте стояния растений. Поэтому попробовали вырастить рассаду, в теплицах или соляриях, которую потом высаживали в открытом грунте. Этот способ оказался довольно приемлемым для наших условий.

В результате многолетних исследований установлено, что в условиях Молдовы пассифлору можно возделывать как одно и двухлетнюю культуру и получить два укоса за сезон.

Таблица 1.
Продуктивность пассифлоры в первом году вегетации при разных сроках уборки

Варианты	Укос	Урожай свежееубранного сырья, т/га						
		годы					среднее	
		2012	2013	2014	2015	2016	т/га	±
Двух укосная культура	Первый укос	5,20	6,73	11,35	4,95	7,30	7,11	-
	Второй укос	4,50	3,05	3,69	4,69	1,39	3,46	-
	Всего	9,70	9,78	15,04	9,64	8,69	10,57	-3,73
Одно укосная культура	Один укос	13,00	11,19	24,96	10,98	11,39	14,30	-

В первом году вегетации при одно укосной культуре в среднем за 5 лет получили 14,30 т/га свежееубранного сырья (табл. 1). При двух укосной культуре за два укоса получили 10,57 т/га свежееубранного сырья, что на 3,73 т/га меньше, чем при одно укосной культуре, однако в сырье убранной в два срока содержится меньше одревесневших стеблей. Это повысило качество аптечного сырья.

Во втором году вегетации испытали три вида укосов: одно укосная культура, двух укосная культура ранний срок уборки сырья и двух укосная культура средний срок уборки сырья. При одно укосной культуре во втором году вегетации в среднем за

четыре года получили 17,25 т/га свежееубранного сырья. В двух укосной культуре ранний срок уборки в первый срок получено 8,62 т/га сырья, во втором 8,87 т/га сырья и всего за два укоса получено 17,49 т/га сырья (табл. 2).

В среднем сроке двух укосной культуры в первом сроке получено 12,35 т/га свежего сырья, во втором сроке 5,13 т/га свежего сырья и всего за два укоса получено 18,29 т/га свежееубранного сырья. Во втором году вегетации в двух укосной культуре урожай за два укоса выше, чем в варианте с одно укосной культурой: в первом случае на 0,24 т/га, а во втором на 1,04 т/га. Это является существенной прибавкой для аптечного сырья.

Таблица 2.

Продуктивность пассифлоры во втором году вегетации при разных сроках уборки

Варианты	Укос	Урожай свежееубранного сырья, т/га					
		г о д ы				среднее	
		2013	2014	2015	2016	т/га	\pm
Одноукосная культура	Один укос	17,59	19,74	19,40	12,27	17,25	-
Двух укосная культура (ранний укос)	Первый укос	13,84	6,26	10,34	4,04	8,62	-
	Второй укос	7,29	13,57	9,83	4,77	8,87	-
	Всего	21,13	19,83	20,17	8,81	17,49	0,24
Двух укосная культура (средний укос)	Первый укос	-	16,38	14,57	6,10	12,35	-
	Второй укос	-	6,87	5,81	5,13	5,94	-
	Всего	-	23,37	20,38	11,23	18,29	1,04

Таким образом, установлено, что в условиях Молдовы плантации пассифлоры можно заложить только рассадой, выращенной в теплицах, соляриях и др.

В первом году вегетации урожай свежееубранного сырья составляет 14,30 т/га в одно укосной культуре и 10,57 т/га в двух укосной культуре.

Исследования показали, что пассифлору в наших условиях можно возделывать как двухлетнюю культуру.

Во втором году вегетации урожай сырья за два укоса равен 18,29 т/га или на 1,04 т/га больше, чем при одно укосной культуре.

Литература

Вульф Е.В., Малеева О.Ф. Мировые ресурсы полезных растений. – Ленинград: Наука, 1969. – 566 с.

Соколов С.Я., Замотаев И.П. Справочник по лекарственным растениям. Фитотерапия. – Москва: Недра, 1989. – 512 с.

Чиков П.С. Лекарственные растения / Пассифлора мясо-красная, пассифлора инкарнатная. – Москва: Агропромиздат, 1989.

<http://www.fito.nnov.ru/special/alcoids/Passiflora incarnata/2010>

SOME ASPECTS OF GROWING PASSIFLORA IN MOLDOVA

N. Roshca, N. Baranova, Z. Vornicu, T. Jelezneac

The Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection of the Moldovan Academy of Sciences, Chisinau, Republic of Moldova, ninaroshca@mail.ru

Abstract. Have been worked out some elements of the technology of growing *Passiflora incarnata* for the climatic conditions of Moldova. It is established that in our conditions, for the laying of *Passiflora* plantations, it is necessary to grow seedlings first in greenhouses or solariums. *Passiflora* in Moldova can be cultivated as a two-year culture. In the first year of vegetation, the harvest of freshly harvested raw materials is 14.30 t/ha, in the second year 18.29 t/ha.

Keywords: *passiflora, cultivation technology, harvest raw material*

ЗАКОНОМЕРНОСТИ НАКОПЛЕНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ В ПЛОДАХ ЯБЛОНИ СИБИРСКОЙ, ЯБЛОНИ ДОМАШНЕЙ И ИХ ГИБРИДОВ, ВЫРАЩЕННЫХ В УСЛОВИЯХ ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ

Е.Г. Рудиковская¹, Л.В. Дударева¹, А.А. Шишпаренок¹, Р. Li², С.В. Осипова^{1,3}, А.В. Рудиковский¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия, rudal69@mail.ru

²State Key Laboratory of Crop Stress Biology for Arid Areas, College of Horticulture, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China

³Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Иркутский государственный университет», Иркутск, Россия, osipova@sifibr.irk.ru

Аннотация. Исследовано содержание фотозащитных соединений в кожуре плодов яблонь сибирской, домашней и их гибридов, выращенных в Иркутске. Во всех исследованных образцах мажорным каротиноидом был цис-зеаксантин. В плодах гибридов обнаружена положительная корреляция ($r=0.77$) между содержаниями антоцианов (Ан) и аскорбиновой кислоты (АК). У яблони домашней выявлена негативная корреляция ($r=-0.71$) между содержаниями Ан и гликозидов кверцетина. У яблони сибирской наблюдалось высокое содержание АК и активности дегидроаскорбат редуктазы.

Ключевые слова: *Malus baccata* (L.) Borkh., гибридные сорта, флавоноиды, каротиноиды, аскорбиновая кислота

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-682-686

Солнечный ожог – результат повреждающего действия высокой солнечной радиации на процессы, протекающие в растительных тканях. Подобные проблемы могут усугубляться как высокими, так и низкими температурами окружающей среды [Steyn et al., 2009; Racsko, Schrande, 2012]. Фотоокислительные повреждения вызывают морфологические изменения, изменяют состав пигментов, влияют на механизмы адаптации, снижают эффективность фотосинтеза, и, как следствие, ухудшают качество плодов [Racsko, Schrande, 2012]. Солнечный ожог – один из основных факторов, приводящих к потере значительной части урожая яблок во всем мире. Для борьбы с ним в промышленном садоводстве используется ряд агротехнических приемов (затенение, опрыскивание и т.д.). Кроме того, генетики и селекционеры создают новые и улучшают старые сорта с привлечением генетических ресурсов со всего мира. В этом случае необходимым фактором устойчивости плодов к солнечному ожогу может являться способность синтезировать и аккумулировать биологически активные компоненты, способные формировать сложную систему защиты (пигменты, антиоксиданты и т.д.). В результате растение получает способность адаптироваться к избыточной инсоляции – гасить свободные радикалы, формировать светофильтрующий экран, тем самым сводя к минимуму фотоокислительные повреждения в тканях [Соловченко, Мерзляк, 2008].

Яблоня сибирская в основном используется селекционерами как источник генов устойчивости к низким температурам. Между тем, она имеет ряд других хозяйственно ценных свойств: быстрое вступление в плодоношение, высокую скороспелость, устойчивость к парше, бактериальному ожогу и т.д. Кроме того, для яблони сибирской и ее гибридов 1-3 поколения не описаны случаи солнечного ожога. Изучение

особенностей качественного и количественного состава фотопротекторных соединений в плодах яблони сибирской, помимо фундаментального интереса, позволило бы найти подходы к разработке методов защиты урожая яблок, применимых в промышленном садоводстве. Поэтому целью нашей работы было изучение закономерностей накопления каротиноидов, антоцианов (Ан), гликозидов кверцетина и аскорбиновой кислоты (АК) плодами *Malus baccata* (L.) Borkh. и ее гибридов в условиях Восточной Сибири.

Объектами исследования служили плоды *Malus baccata* (L.) Borkh, *Malus domestica* и гибридных, так называемых «полукультурных» сортов (табл.). Сорта были привиты на яблоню сибирскую и выращены на экспериментальном участке СИФИБР СО РАН в г. Иркутске. Яблоки собирали в стадии биологической зрелости.

Экстракцию каротиноидов и хлорофиллов проводили 80%-ным ацетоном. Спектры поглощения измеряли на спектрофотометре СФ-56. Для расчета количества пигментов и каротиноидов использовали программу обчета спектрального распределения гауссовых пиков по методу Левенберга-Макгварда, разработанную [Kupper et al., 2007].

Экстракцию Ан проводили 1% раствором HCl в метаноле. Измерения проводили при 530 нм на спектрофотометре (Hitachi U-1100 Spectrophotometer, Япония).

Анализ гликозидов кверцетина проводили методом ВЭЖХ на приборе ShimadzuLC – 10 ATyp (Япония); колонка Kromasil 5 мкм 100 C18, 250×4.6 мм.

Содержание АК определяли по методу Тильманса.

Активность дегидроаскорбатредуктазы (ДГАР, КФ 1.8.5.1) определяли по Baier с соавт. [Baier et al., 2000]. За единицу активности (Е) принимали количество фермента, которое катализировало восстановление 1мкМ дегидроаскорбата за 1 мин при 25 °С.

Каждый эксперимент выполнен в 3-8 биологических и трех аналитических повторностях. Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета Microsoft Office Excel 2007 и SigmaPlot v12.0. Для всех полученных результатов приведены средние значения и их стандартные ошибки. Нормальность распределения оценивалась по критерию Шапиро-Уилка. Корреляционный анализ проводили по методу Пирсона. Достоверность различий между вариантами определяли с помощью *t*-критерия Стьюдента ($P \leq 0.5$).

Проведенные исследования демонстрируют ряд особенностей яблони сибирской в накоплении фотозащитных соединений. В первую очередь, это своеобразный флавоноидный состав. Ранее нами было установлено [Rudikovskaya et al., 2014], что, хотя в целом химический состав плодов яблони сибирской является специфичными для рода *Malus*, имеется ряд особенностей в содержании фенольных компонентов. Было показано, что содержание соединений, имеющих полосу поглощения в УФ части спектра (оксикоричные кислоты, (+)-катехин, (-)-эпикатехин, процианидин В2) в тканях плодов яблони сибирской, выращенной в условиях Восточной Сибири, значительно ниже по сравнению с другими видами яблонь [Rudikovskaya et al., 2015]. При этом, как можно видеть в результатах, представленных в таблице, кожура плодов яблони сибирской аккумулирует большое количество соединений (Ан и гликозиды кверцетина), способных экранировать солнечную радиацию в сине-зеленой и ближней-УФ частях спектра [Соловченко, Мерзляк, 2008; Racsco, Schrande, 2012]. Впечатляюще высокое содержание в плодах яблони сибирской Ан способно компенсировать низкие содержания флаванов, хлорогеновой и других фенолкарбоновых кислот [Solovchenko, Schmitz-Eiberger, 2003]. Можно предположить, что одновременное высокое содержание и гликозидов кверцетина, и Ан в тканях, возможно, обеспечивается более высоким, по сравнению с яблоней домашней, уровнем экспрессии генов фермента флавоноид-гликозилтрансферазы [Winkel-Shirley, 2001]. В свою очередь, низкое содержание

флаванов в яблони сибирской может объясняться пониженным уровнем транскрипции генов ферментов лейкоантоцианидин редуктазы и антоцианидин редуктазы, отвечающих за синтез флаванов. Подобные особенности флавоноидного метаболизма были показаны в работах [Fang et al., 2017] для других азиатских мелкоплодных яблонь *Malus asiatica*, *Malus sikkimensis* и *Malus prunifolia*, где их сравнивали с яблоней домашней (сорт Фуджи).

Таблица.

Содержание (мкг/см²) Ан, АК и гликозидов кверцетина в кожуре плодов яблони сибирской, ее гибридов и некоторых сортов яблони домашней

сорт	вид	Антоцианы	Аскорбиновая к-та	Гликозиды кверцетина
Яблоня сибирская	<i>M. baccata</i>	126.6±15.3	13.1±2.7	246.5±34.3
Пальметта	F1	48.1±5.1	9.5±1.2	7.3±1.3
Сибирский сувенир	F1	2.8±0.9	7.2±1.2	46.2±4.3
Алтайское румяное	F2	28.1±2,7	2.2±0.1	15.0±1.5
Подруга	F2	32.9±3.5	4.3±0.3	20.3±1.1
Анис Свердловский	F3	3,3±0.4	0.7±0.1	17.8±0.9
Лада	F3	6.5±0.4	3.9±0.4	34.5±5.4
Настенька	F3	4.0±0.7	2.1±0.5	86.4±4.8
Неженка	F3	17.1±1.3	0.5±0.1	27.1±2.5
Подарок садоводам	F3	5.2±0.8	0.5±0.1	21.9±1.3
Антоновка	<i>M. domestica</i>	0.6±0.1	1.4±0.1	24.7±2.3
Мелба	<i>M. domestica</i>	11.1±1.6	0.8±0.1	6.4±0.4
Соковое 3	<i>M. domestica</i>	0.9±0.1	0.7±0.2	37.7±3.6
Феникс алтайский	<i>M. domestica</i>	1.1±0.3	0.1±0.0	48.4±4.4
Чудное	<i>M. domestica</i>	2.2±0.6	0.4±0.1	15.1±1.1

В плодах всех трех сортов яблони домашней, выращенных в условиях Восточной Сибири, лютеин не был обнаружен, но наблюдалось относительно высокое содержание цис-13-зеаксантина и антероксантина. Наличие последнего заметно отличало яблоню домашнюю не только от яблони сибирской, но и от межвидовых гибридных сортов. Повышение содержания ксантофиллов, а именно виолоксантина и антероксантина обычно связывают с начальной стадией фотоокислительного стресса. При увеличении тяжести повреждения, в пораженных тканях [Felicetti, Schrader, 2008] значительно увеличивается содержание β-каротина, чего в исследованных образцах не наблюдалось. Как показали результаты исследований, кожура плодов яблони сибирской аккумулировала максимальное количество каротиноидов и хлорофиллов по сравнению со всеми исследованными сортами.

Высокое содержание пигментов в кожуре плодов яблони сибирской сопровождалось высоким содержанием АК. Обнаруженная высокая активность ДГАР в кожуре плодов яблони сибирской может свидетельствовать о том, что уровень АК в значительной степени поддерживается восстановлением ее из окисленной формы в аскорбат-глутатионовом цикле. Совокупность этих факторов делает ткани плодов яблони сибирской практически неуязвимыми для фотоокислительных повреждений.

Следует отметить, что в содержание фотозащитных соединений в кожуре плодов гибридных сортов заметно падало. Например, существенно уменьшалось содержание антоцианов. Тем не менее, основное количество гибридов яблони сибирской первых трех поколений, по крайней мере, в условиях Сибири, имеет разной степени интенсивности «антоциановый румянец» [Исачкин, Воробьев, 2003].

Относительно высокое содержание АК сохранялось только в поколении F1. Но в связи с тем, что в гибридах не наблюдалось высокой активности ДГАР, можно предположить, что пул аскорбата в тканях в этом случае поддерживался синтезом *de novo* или (и) аттракцией из листьев. Можно заметить, что прямая корреляция между накоплением АК и Ан ($r = 0.77$, $P < 0.05$) наблюдалась не только в гибридах, но и в других «антоциановых» сортах яблок. Возможно, это связано с тем, что синтез и накопление этих соединений может происходить локально, под действием одного и того же индуктора – прямых солнечных лучей.

Несколько иные закономерности наблюдались в накоплении гликозидов кверцетина. Его содержание снижалось при гибридизации и в межвидовых гибридах становилось сравнимым с таковым у сортов яблони домашней. Ранее Felicetti and Schrader [2008] показали, что при развитии фотоповреждений происходит снижение содержания антоцианов и увеличивается содержание гликозидов. Подобная обратная корреляция ($r = -0.71$, $P < 0.05$) наблюдалась нами в сортах яблони домашней, выращенных в условиях Восточной Сибири. Но в гибридных сортах подобный феномен отсутствовал. Возможно, это связано с тем, что при скрещивании в поколениях сохраняется относительно высокая экспрессия генов фермента флавоноид-гликозилтрансферазы, достаточная для гликозидирования двух классов флавоноидов: и флавонолов, и антоцианидинов. Как известно, экранирование избыточной инсоляции именно в области 400-700 нм [Felicetti, Schrader, 2008], где поглощают Ан и гликозиды кверцетина, позволяет избежать фотоокислительные повреждения в тканях. Поэтому способность гибридов аккумулировать оба этих соединения в достаточных количествах, позволяет предположить, что полукультурные сорта могут иметь более мощную защиту от солнечного ожога, чем ряд сортов яблони домашней.

Таким образом, проведенное исследование показало, что кожура плодов яблони сибирской накапливает ряд соединений, обладающих фотопротекторной и антиоксидантной активностью – Ан, гликозидов кверцетина, АК и каротиноидов. При доместикации содержание этих соединений падает, но в первых поколениях оно остается достаточно высоким для защиты плодов от фотоокислительных повреждений. Наряду с высокой зимостойкостью, способность аккумулировать высокие содержания фотозащитных соединений делает яблоню сибирскую перспективным источником генов для селекции новых гибридов и промышленного культивирования уже известных не только в холодных регионах, но и в регионах, характеризующихся высокой инсоляцией.

Литература

Исачкин А.В., Воробьев Б.Н. Сортовой каталог плодовых культур. – М.:Астрель, 2003. – 573 с.

Соловченко А.Е., Мерзляк М.Н. Экранирование видимого и УФ излучения как механизм фотозащиты у растений // Физиология растений. – 2008. – Т. 55. – С. 803–822.

Baier M., Noctor G., Foyer C., Dietz K.J. Antisense suppression of 2-cysteine peroxiredoxin in Arabidopsis specifically enhances the activities and expression of enzymes associated with ascorbate metabolism but not glutathione metabolism // Plant Physiol. – 2000. V. 124. – P. 823–832.

Fang T., Zhen Q., Liao L., Owiti A., Zhao L., Korban S. S., Han Y. Variation of ascorbic acid concentration in fruits of cultivated and wild apples // Food Chemistry. – 2017. V. 225. – P. 132–137.

Felicetti D.A, Schrader L.E. Photooxidative sunburn of apples: characterization of a third type of apple sunburn // Int. J. of Fruit Sci. – 2008. – V. 8. – P. 160–172.

Kupper H., Seibert S., Parameswaran A. Fast, sensitive, and inexpensive alternative to

analytical pigment HPLC: quantification of chlorophylls and carotenoids in crude extracts by fitting with gauss peak spectra // *Anal. Chem.* – 2007. – V. 79. – P. 7611–7627.

Racsko J., Schrader L.E. Sunburn of apple fruit: Historical background, recent advances and future perspectives // *Critical Reviews in Plant Sciences.* – 2012. – V. 31. – P. 455–504.

Rudikovskaya E.G., Dudareva L.V., Shishparenok A.A., Mitanova N.B., Rudikovskii A.V. Phenolic composition of *Malus baccata* fruit // *Chem. of Nat. comp.* – 2014. – No. 4. – P. 640–641.

Rudikovskaya E.G., Dudareva L.V., Shishparenok A.A., Rudikovskii A.V. Peculiarities of polyphenolic profile of fruits of Siberian crab apple and its hybrids with *Malus Domestica* Borkh // *Acta Physiol. Plant.* – 2015. – V. 37. – P. 238–243.

Solovchenko A., Schmitz-Eiberger M. Significance of skin flavonoids for UV-B-protection in apple fruits // *J. of Exp. Bot.* – 2003. – V. 5, No. 389. – P. 1977–1984.

Steyn W.J., Wand S.J.E., Jacobs G., Rosecrance R.C., Roberts S.C. Evidence for a photoprotective function of low-temperature-induced anthocyanin accumulation in apple and pear peel // *Physiol. Plantarum.* – 2009. – V. 136. – P. 461–472.

Winkel-Shirley B. Flavonoid biosynthesis: a colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology // *Plant Physiol.* – 2001. – V. 126. – P. 485–493.

PARTICULARITIES OF ACCUMULATION OF PHOTOPROTECTIVE PHENOLIC COMPOUNDS AND ASCORBIC ACID IN THE FRUIT OF SIBERIAN CRABAPPLE, *MALUS DOMESTICA* BORKH. AND ITS HYBRIDS

E.G. Rudikovskaya¹, L.V. Dudareva¹, A.A. Shishparenok¹, P. Li², S.V. Osipova^{1,3}, A.V. Rudikovskii¹

¹Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry of Siberian branch of Russian Academy of Science, Irkutsk, Russia, rudal69@mail.ru

²State Key Laboratory of Crop Stress Biology for Arid Areas, College of Horticulture, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China

³Irkutsk State University, Irkutsk, Russia, osipova@sifibr.irk.ru

Abstract. The content of photoprotective compounds in the skin of the fruits of *Malus baccata*, *M. domestica* and their hybrids, grown in Irkutsk, is studied. In all the samples studied, cis-zeaxanthin was a major carotenoid. In the fetuses of hybrids positive correlation ($r=0.77$) was found between the content of anthocyanins (An) and ascorbic acid (AA). In the *M. domestica*, a negative correlation ($r=-0.71$) between the content of An and the glycosides of quercetin was detected. In the Siberian apple tree, a high content of AA and dehydroascorbate reductase activity was observed.

Keywords: *Malus baccata* (L.) Borkh., hybrid varieties, flavonoids, carotenoids, ascorbic acid

РОЛЬ САЛИЦИЛАТ- И ЖАСМОНАТ-ЗАВИСИМЫХ СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ В РАЗВИТИИ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ К ОБЫКНОВЕННОЙ ЗЛАКОВОЙ ТЛЕ *SCHIZAPHIS GRAMINUM*, ИНДУЦИРОВАННОЙ ЭНДОФИТНЫМИ БАКТЕРИЯМИ РОДА *BACILLUS*

С.Д. Румянцев, Г.Ф. Бурханова, С.В. Веселова, И.В. Максимов

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа, Россия, *Rumyantsev-Serg@mail.ru*

Аннотация. Изучено влияние эндофитных штаммов *Bacillus* spp. и их композиции на индукцию системной устойчивости по салицилат- и жасмонат-зависимым сигнальным путям в растениях пшеницы, инфицированных обыкновенной злаковой тлей *Schizaphis graminum* Rond. Показано, что штамм Bs 26Д индуцировал СК-зависимые гены, а штаммы Bt В-6066 и Bt В-5689 индуцировали ЖАК-зависимые гены. Обнаружено аддитивное влияние композиции изученных штаммов *Bacillus* spp. на устойчивость пшеницы к вредителю.

Ключевые слова: *Schizaphis graminum*, *Bacillus* spp., системная индуцированная устойчивость, салициловая кислота, жасмоновая кислота

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-687-691

Одним из основных вредителей пшеницы, ухудшающим качество урожая, считается злаковая тля (*Aphididae*), в частности, наиболее распространенный на территории России вид – обыкновенная злаковая тля (*Schizaphis graminum* Rond.). В мерах борьбы против колюще-сосущих насекомых все чаще используются биопрепараты на основе стимулирующих рост растений бактерий (СРРБ, или РГРВ от plant growth promoting bacteria) [Агаújo, 2015]. Особый интерес представляют бактерии рода *Bacillus*, среди которых идентифицировано много эндофитных штаммов [Агаújo, 2015]. СРРБ и особенно эндофитные бактерии обладают способностью запускать системную индуцированную устойчивость (СИУ) в растениях против патогенов и вредителей [Rashid, Chung, 2017]. Механизм СИУ заключается в регуляции гормональных сигнальных путей растений, где салициловая (СК) и жасмоновая (ЖАК) кислоты являются центральными координаторами комплекса сигнальных путей, активирующихся при защите растений от патогенов и вредителей [Rashid, Chung, 2017].

Известно, что системно приобретенная устойчивость (СПУ) развивается по СК-зависимому пути и направлена против биотрофных и гемибитрофных патогенов; СИУ, запускаемая СРРБ, развивается по ЖАК/этилен-зависимому пути и направлена против некротрофов и вредителей, причем ЖАК-сигнальный путь считается основным в защите растений против насекомых-вредителей [Pangesti et al., 2013]. Однако показано, что заселение тлями запускает в растениях как ЖАК/этилен-, так и СК-зависимые защитные ответы [Morkunas et al., 2011]. Первым фактором, индуцирующим защитный ответ растений на инфицирование тлями, является механическое повреждение, которое, как полагают, запускает ЖАК-зависимую активацию липоксигеназ и ингибиторов протеиназ [Morkunas et al., 2011]. Затем растение реагирует на химические детерминанты, содержащиеся в слюне тлей, и приводит в действие защитный ответ, схожий с устойчивостью к биотрофным патогенам, при этом активируется СК-зависимый сигнальный каскад [Morkunas et al., 2011].

Рост стимулирующая активность до недавнего времени считалась основным механизмом при взаимодействии растение-бактерия-насекомое, в настоящее время рассматривают важность индукции СИУ в таких взаимодействиях, однако тонкие механизмы еще не раскрыты [Pangesti et al., 2013]. СРРБ индуцируют защиту растений

против насекомых-вредителей, регулируя гормональные сигнальные пути, включая ЖАК-, этилен- и СК-пути, что ведет к изменению экспрессии генов, синтезу защитных растительных белков, различных ферментов и др. [Rashid, Chung, 2017]. Различные виды и штаммы бактерий рода *Bacillus* способны индуцировать СИУ в растениях против колюще-сосущих насекомых как по СК-, так и по ЖАК-зависимым сигнальным путям [Valenzuela-Soto et al., 2010]. Предполагается, что такая независимая индукция различных гормональных сигнальных путей в растениях может иметь решающее значение для создания композиций из различных штаммов или видов микроорганизмов, использующихся при комплексной защите растений [Pangesti et al., 2013].

В связи с этим, целью настоящей работы являлось изучение формирования механизмов устойчивости растений пшеницы к обыкновенной злаковой тле *S. graminum* по ЖАК- и СК-зависимым сигнальным путям под влиянием штаммов *Bacillus subtilis* 26Д (Bs 26Д), продуцирующего сурфактин, *B. thuringiensis* (Bt) В-6066 и В-5689, продуцирующих Сгу и Сут токсины, и их композиции.

Таблица.

Влияние эндофитных штаммов рода *Bacillus* и их композиции на смертность обыкновенной злаковой тли через 14 суток кормления на растениях и на накопление транскриптов генов PR-белков маркеров СК-сигнального пути (*TaRboh*, *TaPAL*, *TaPRX*) и ЖАК-сигнального пути (*TaLOX*, *TaIP*) в листьях растений пшеницы через 3 суток инфицирования злаковой тлей *S. graminum*

Показатели			Вариант обработки бактериями					
Гены PR-белков	Вариант	Вода	Bs 26Д	Bt В-6066	Bt В-5689	Композиция штаммов		
							Контроль	100
Накопление транскриптов генов PR-белков, % от контроля	<i>TaRboh</i>	<i>S. graminum</i>	80±10	340±30	176±35	117±19	444±41	
		Контроль	100	246±23	112±10	119±17	179±15	
	<i>TaPAL</i>	<i>S. graminum</i>	114±8	256±17	128±18	136±21	256±28	
		Контроль	100	140±32	110±17	117±26	150±23	
	<i>TaPRX</i>	<i>S. graminum</i>	101±13	254±16	121±10	180±20	270±43	
		Контроль	100	135±16	320±28	170±24	192±26	
	<i>TaLOX</i>	<i>S. graminum</i>	240±32	161±18	451±43	490±53	430±51	
		Контроль	100	106±23	149±34	274±43	252±54	
	<i>TaIP</i>	<i>S. graminum</i>	249±38	168±11	450±21	478±55	610±38	
		Контроль	100	12,2±1,9	24,5±2,2	36,3±3,5	33,1±5,2	39,5±4,9
	Смертность тли, %			12,2±1,9	24,5±2,2	36,3±3,5	33,1±5,2	39,5±4,9

В данной работе была изучена способность бактериальных штаммов Bs 26Д и Bt (В-5689 и В-6066) и их композиции влиять на жизнеспособность обыкновенной злаковой тли (таблица). Тест на антибиоз показал, что смертность тлей, кормившихся на растениях пшеницы, обработанных клетками бактериальных штаммов Bs 26Д и Bt (В-5689 и В-6066) и их композицией, увеличивалась на 12-27% (таблица). Как и ожидалось, воздействие штаммов Bt (В-5689 и В-6066) на данные показатели было сильнее, чем штамма Bs 26Д, а наилучший результат среди вариантов эксперимента показала композиция трех штаммов (таблица). Таким образом, обработка растений

пшеницы восприимчивого к вредителю сорта Салават Юлаев бактериальными штаммами повышала их устойчивость к обыкновенной злаковой тле.

Обработка растений бактериями Bs 26Д и Vt (B-5689 и B-6066) и их композицией приводила к индукции СИУ, что подтверждается нашими результатами о накоплении транскриптов генов PR-белков (таблица). В нашей работе была изучена экспрессия генов, кодирующих PR-белки, маркеры и регуляторы СК- и ЖАК-сигнальных путей, играющие роль в защите растений от насекомых-вредителей. Из изученных нами генов защитных белков ген *TaRboh*, кодирующий фермент НАДФН-оксидазу, и ген *TaPAL*, кодирующий фермент фенилаланинаммоний лиазу (ФАЛ), регулировались СК-зависимым сигнальным каскадом [Van Loon et al., 2006]. С помощью мутантных растений арабидопсиса, лишенных гена *RbohD* показано, что НАДФН-оксидаза играет ключевую роль в генерации АФК при повреждении растений тлями [Morkunas et al., 2011], а ФАЛ является главным ферментом фенилпропаноидного метаболизма и наряду с пероксидазами вовлекается в синтез монолигнолов и фенольных соединений, необходимых для обезвреживания злаковой тли [Moran et al., 2002]. Ген *TaPRX*, кодирующий анионную пероксидазу, индуцировался как при развитии ЖАК-зависимых, так и СК-зависимых защитных реакций [Van Loon et al., 2006]. Ген *TaIP*, кодирующий ингибиторы протеиназ (ИП), и ген *TaLOX*, кодирующий липоксигеназу, регулировались ЖАК-зависимым сигнальным каскадом [Van Loon et al., 2006]. Показано, что ИП ухудшают развитие насекомых за счет их влияния на пищеварительные ферменты в кишечнике насекомых, а липоксигеназы катализируют перекисное окисление липидов, конечные продукты которого являются токсичными для насекомых [War et al., 2012].

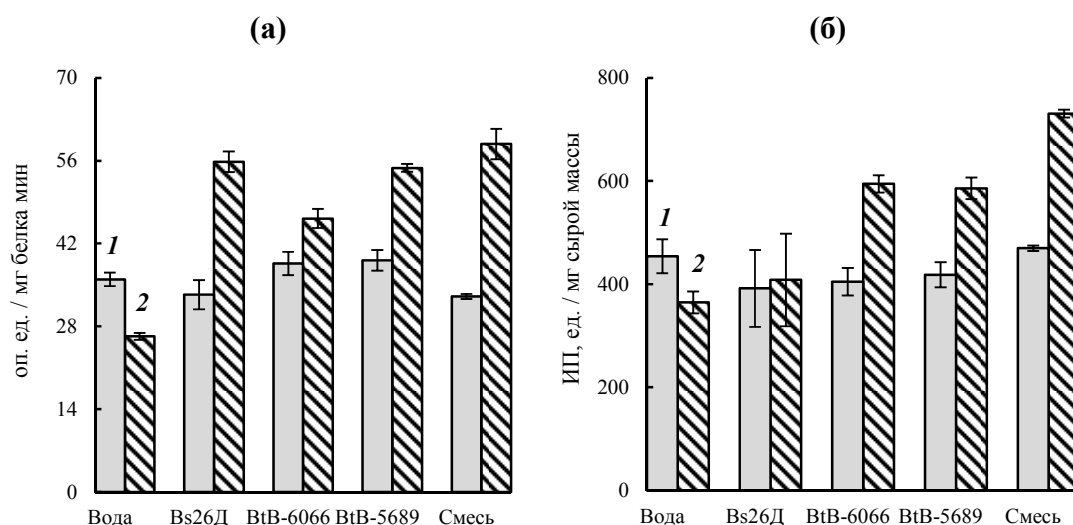


Рисунок. Влияние эндофитных штаммов рода *Bacillus* и их композиции на активность пероксидазы (а) и активность ингибиторов протеиназ (б) в листьях растений пшеницы через 3 суток инфицирования злаковой тлей *S. graminum*: 1 – контрольные растения, 2 – растения, заселенные злаковой тлей.

В необработанных бактериями и обработанных Vt (B-5689 и B-6066) инфицированных тлей растениях пшеницы было обнаружено накопление мРНК только двух генов – *TaLOX* и *TaIP* (таблица), являющихся «маркерными» генами сигнального пути ЖАК [Morkunas et al., 2011]. В инфицированных растениях, обработанных Bs 26Д, наблюдали накопление транскриптов генов *TaRboh*, *TaPAL* и *TaPRX* (таблица),

являющихся «маркерными» генами сигнального пути СК [Morkunas et al., 2011], соответствующие белки которых вовлекаются в генерацию H_2O_2 , синтез монолигнолов и фенольных соединений, соответственно [Moran et al., 2002]. В растениях, обработанных смесью штаммов, было обнаружено накопление мРНК всех изученных генов (таблица), что может предполагать одновременную индукцию СИУ в таких растениях по двум ЖАК- и СК-зависимым сигнальным путям.

Кроме того, в наших экспериментах у восприимчивых к *S. graminum* растений пшеницы обнаружено снижение активности пероксидаз (ПО) (рисунок, а) и уменьшение активности ИП (рисунок, б), что могло быть причиной ослабления устойчивости данных растений к тле. Напротив, растения, предварительно обработанные бактериальными штаммами Bs 26Д и Vt (B-5689 и B-6066) и их композицией, и затем инфицированные злаковой тлей *S. graminum*, отличались повышением активности ПО (рисунок, а) и увеличением активности ИП (рисунок, б) через 72 ч после начала кормления тлей. Стоит отметить, что штамм Bs 26Д практически не повышал активность ИП, а композиция трех штаммов сильнее остальных активировала данный показатель (рисунок, б).

Таким образом, штаммы Vt (B-5689 и B-6066) индуцировали гены ЖАК-зависимого защитного пути, а штамм Bs 26Д индуцировал гены СК-зависимого защитного пути. Интересно, что изученные штаммы не вызывали антагонистического интерферирующего эффекта при индукции защитных систем растений пшеницы, а, напротив, проявляли аддитивный эффект.

Работа выполнена в рамках госзадания по теме № 0246-2018-0035 и при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 17-29-08014.

Литература

- Araújo E.O. Rizobacteria in the control of pest insects in agriculture // Afr. J. Plant Sci. – 2015. – V. 9, No. 9. – P. 368–373.
- Moran P.J. Cheng Y., Cassell J.L., Thompson G.A. Gene expression profiling of *Arabidopsis thaliana* in compatible plant-aphid interactions // Archives of Insect Biochemistry and Physiology. – 2002. – V. 51. – P. 182–203.
- Morkunas I., Mai V.C., Gabrys B. Phytohormonal signaling in plant responses to aphid feeding // Acta Physiol. Plant. – 2011. – V. 33. – P. 2057–2073.
- Pangesti N., Pineda A., Pieterse C.M.J., Dicke M., van Loon J.A. Two-way plant-mediated interactions between root-associated microbes and insects: from ecology to mechanisms // Front. Plant Sci. – 2013. – V. 4. – P. 414.
- Rashid M.H., Chung Y.R. Induction of systemic resistance against insect herbivores in plants by beneficial soil microbes // Front. Plant Sci. – 2017. – V. 8. – P. 1816.
- Valenzuela-Soto J.H., Estrada-Hernández M.G., Ibarra-Laclette E., Délano-Frier J.P. Inoculation of tomato plants (*Solanum lycopersicum*) with growth-promoting *Bacillus subtilis* retards whitefly *Bemisia tabaci* development // Planta. – 2010. – V. 231. – P. 397–410.
- Van Loon L.C., Rep M., Pieterse C.M. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants // Annual Rev. Phytopathol. – 2006. – V. 44. – P. 135–162.
- War A.R., Paulraj M.G., Ahmad T., Buhroo A.A., Hussain B., Ignacimuthu S., Sharma H.C. Mechanisms of plant defense against insect herbivores // Plant Signal. Behav. – 2012. – V. 7, № 10. – P. 1306–1320.

THE ROLE OF SALICYLATE- AND JASMONATE-DEPENDENT SIGNALING PATHWAYS IN THE DEVELOPMENT OF WHEAT PLANTS RESISTANCE TO GREENBUG APHID *SCHIZAPHIS GRAMINUM* INDUCED BY ENDOPHYTIC BACTERIA OF THE GENUS *BACILLUS*

S.D. Rumyantsev, S.V. Veselova, G.F. Burkhanova, I.V. Maksimov

Institute of Biochemistry and Genetics of Ufa Science Centre RAS, Ufa, Russia,
Rumyantsev-Serg@mail.ru

Abstract. The influence of endophytic strains *Bacillus* spp. and their compositions on the induction of systemic resistance in wheat plants infected with greenbug aphid *Schizaphis graminum* Rond. was studied. It was shown that the strain *B. subtilis* 26D induced salicylate-dependent genes, and the strains *B. thuringiensis* B-6066 and B-5689 induced jasmonate-dependent genes. The additive effect of *Bacillus* spp. strains compositions on wheat resistance to greenbug aphids was found.

Keywords: *Schizaphis graminum*, *Bacillus* spp., induced systemic resistance, salicylic acid, jasmonic acid

РОЛЬ ИЗОПЕРОКСИДАЗ РАСТЕНИЙ В СТАНОВЛЕНИИ УСТОЙЧИВОСТИ ПШЕНИЦЫ К ОБЫКНОВЕННОЙ ЗЛАКОВОЙ ТЛЕ *SCHIZAPHIS GRAMINUM*

С.Д. Румянцев, С.В. Веселова, Е.А. Черепанова, И.В. Максимов

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа, Россия, Rumyantsev-Serg@mail.ru

Аннотация. Изучен редокс статус, активность и изоферментный состав пероксидаз у растений пшеницы трех видов *Triticum aestivum*, *T. monococtum* и *T. timopheevii*, заселенных обыкновенной злаковой тлей (*Schizaphis graminum* Rond.). Показано, что толерантные растения характеризовались высоким содержанием перекиси водорода на начальном этапе инфицирования, затем в растениях начинались процессы детоксикации активных форм кислорода. Обнаружены изменения в активности катионных, нейтральных и анионных изопероксидаз.

Ключевые слова: *Schizaphis graminum*, пшеница, редокс статус, пероксидазы

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-692-696

Интенсификация сельского хозяйства привела к существенному увеличению вредоносности тлей на зерновых культурах. Повышение устойчивости растений – один из способов лимитирующих вредоносность тлей. Однако для этого необходимо накопление информации о механизмах устойчивости. Толерантность является уникальной категорией устойчивости растений к насекомым, которую обычно связывают с сильно выраженной компенсаторной реакцией растений и неспецифичными по отношению к вредителям защитными ответами [Koch et al., 2016]. На сегодняшний день в современной литературе описано несколько механизмов, один из которых связан с детоксикацией пероксидазами (ПО) растений излишних количеств активных форм кислорода (АФК) [Koch et al., 2016]. Считается, что АФК являются главным сигналом растения на стрессовые факторы окружающей среды, а редокс-статус растения, заселенного тлей, является одним из важных показателей толерантности сорта [Koch et al., 2016]. Окислительный взрыв при инфицировании тлями считается типичной реакцией формирования устойчивости растений к вредителю, однако часто приводит к смерти клетки [Koch et al., 2016]. Детоксикация излишних количеств АФК и поддержание гомеостаза между генерацией и утилизацией АФК считается отличительной чертой толерантных растений [Koch et al., 2016]. Показано, что в этих процессах участвует ряд про-/антиоксидантных ферментов, в том числе пероксидазы [War et al., 2012]. Активация апопластных пероксидаз может играть решающую роль в развитии устойчивости растений к тлям за счет детоксикации больших количеств АФК через синтез токсичных фенольных соединений и лигнина [Koch et al., 2016; War et al., 2012]. Пероксидазы индуцируются во многих растениях в ответ на атаку насекомыми и являются важным компонентом непосредственной реакции растений на повреждение, так как регулируют ряд процессов напрямую или косвенно связанных с устойчивостью растений к насекомым [War et al., 2012].

Пероксидазы III класса являются самыми многочисленными ферментами растений, локализованными преимущественно в апопласте, клеточной стенке и вакуоли [Максимов и др., 2011]. ПО классифицируют по типу их взаимодействия с клеточной стенкой – свободно-растворимые, слабосвязанные и ионно- или ковалентно связанные. Также ПО делят по изоэлектрофоретической подвижности на анионные, нейтральные и катионные [Kukavica et al., 2012]. Основной функцией ПО является защита растительного организма от вредного воздействия АФК, образующегося при

фотосинтезе и дыхании [Максимов и др., 2011]. Однако ПО могут участвовать в процессах генерации АФК, при этом они генерируют высокотоксичный супероксид радикал. Также некоторые апопластные ПО обладают НАДФН-оксидазной и ИУК-оксидазной активностями [Максимов и др., 2011]. Физиологические функции ПО многообразны и каждая из них связана со специфической изоформой фермента, однако очень трудно определить конкретную функцию отдельной изоформы *in vivo* [Kukavica et al., 2012].

В связи с этим, целью настоящей работы являлось обнаружение связи между редокс-статусом растений, активностью свободно-растворимых пероксидаз, изменением их изоферментного состава и толерантностью растений пшеницы трех видов *Triticum aestivum*, *T. monococcum* и *T. timopheevii*, заселенных обыкновенной злаковой тлей (*Schizaphis graminum* Rond.).

В экспериментах использовали три сорта мягкой яровой пшеницы *T. aestivum* – Жница, Салават Юлаев (СЮ), Омская 35 (Ом35). Также объектами исследований служили один образец *T. monococcum* к-39471 и один образец *T. timopheevii* к-58666, из ГНУ Всероссийского НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова (Санкт-Петербург).

Таблица.

Влияние обыкновенной злаковой тли *S. graminum* на изменение содержания H_2O_2 и активность пероксидазы в листьях трех видов пшеницы на разных стадиях инфицирования

Показатели	Время после инфицирования, сутки	Вариант	Виды пшеницы				
			<i>Triticum aestivum</i>			<i>T. timopheevii</i>	<i>T. monococcum</i>
			Жница	СЮ	Ом35	к-58666	к-39471
Генерация H_2O_2 , мкМ H_2O_2 /г сырой массы	1	Контроль	26,9±5	25,2±5,6	21±3	27,8±5,3	28,2±3,6
		<i>S. graminum</i>	22,6±3,7	12,6±1,3	41,6±6,2	58,7±5,5	53,7±5,3
	3	Контроль	24±2,9	26,8±1,7	29,7±2,8	28,9±2,8	28,7±3,1
		<i>S. graminum</i>	18,2±2,3	19±2,4	54,5±3,9	48,6±4,5	20,4±3
	6	Контроль	21,8±2,3	24,8±2,8	23,9±1,2	25,2±1,8	26,1±1,1
		<i>S. graminum</i>	57,2±4,1	53,9±0,6	23,4±0,7	21,4±2,7	19,4±1,9
Активность пероксидазы, оп.ед./мг белка мин	1	Контроль	25,9±0,7	30,4±0,7	35,2±1,5	29,6±0,4	23,6±0,5
		<i>S. graminum</i>	28,9±0,7	26,1±1	44,7±3,8	35,7±1,2	43,2±1,4
	3	Контроль	25,8±0,5	29±0,4	30,1±1,2	31,4±0,8	32,1±1,1
		<i>S. graminum</i>	31±2	25,8±0,6	41,4±3	36±0,3	60,5±2,6
	6	Контроль	30,6±0,4	30,5±1,2	25,3±0,8	34,9±1,1	37,4±0,2
		<i>S. graminum</i>	25,4±3,8	23±0,3	40,4±3,5	52±4	65,6±0,8
Смертность тлей, %			7,7±1,2	5,7±1,1	20,1±3,4	21,9±2,1	39,6±4,0

Тест на антибиоз показал наименьшую смертность тлей, кормившихся на сортах Жница и СЮ. Смертность тлей, заселенных на сорт Ом35 и образец *T. timopheevii* к-58666, была примерно в 3-4 раза выше, а самая высокая смертность была обнаружена у тлей, заселенных на образец *T. monococcum* к-39471 (таблица). Таким образом, самым восприимчивым к *S. graminum* оказался сорт Жница, а самым устойчивым – образец *T. monococcum* к-39471, что совпадает с данными литературы об устойчивости многочисленных образцов *T. monococcum* к разным видам тлей [Radchenko, 2012].

Для понимания механизмов формирования устойчивости растений к колюще-сосущим насекомым важно различать быстрые ответы, проявляющиеся у растений в течение первых 5 дней, и долгосрочные ответы, обнаруживающиеся после 5 дней

инфицирования вредителем, когда индуцированные ранним ответом защитные системы растения запускают систему детоксикации АФК и восстановления роста [Koch et al., 2016]. Изучение редокс-статуса растений пшеницы в наших экспериментах показало, что заселение восприимчивых сортов Жница и СЮ тлями приводило к уменьшению содержания H_2O_2 на начальных этапах инфицирования (1-е и 3-и сут) и резкому увеличению ее содержания на 6-е сутки инфицирования (таблица). Кроме того, у восприимчивых сортов не было обнаружено повышения активности ПО в течение всего эксперимента (таблица). Устойчивые фенотипы (Ом35, к-58666 и к-39471) отличались повышенной генерацией H_2O_2 на начальном этапе инфицирования и снижением ее генерации при долгосрочном ответе, а также повышенной активностью ПО в течение всего эксперимента (таблица). Во многих исследованиях показано, что разные виды злаковых тлей индуцируют резкое повышение активности ПО именно при питании на устойчивых фенотипах [War et al., 2012]. Эти результаты могут говорить о вовлечении H_2O_2 и ПО в синтез токсичных фенольных соединений и реорганизацию клеточных стенок растений за счет лигнификации, что может быть причиной снижения жизнеспособности вредителя [Koch et al., 2016; War et al., 2012], которое было обнаружено у устойчивых образцов в наших экспериментах (таблица).

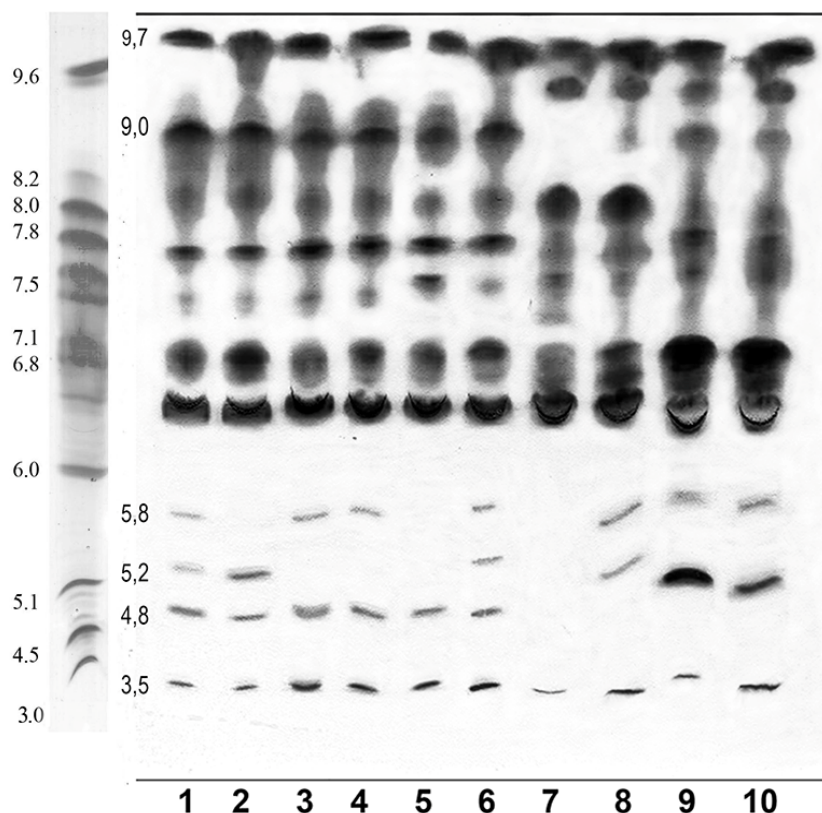


Рисунок. Фото ПААГ после ИЭФ свободнорастворимой фракции пероксидазы, выделенной из листьев пшеницы трех видов: *T. aestivum*, *T. timopheevii* и *T. monococcum*, через 2 дня после инфицирования *S. graminum*. 1, 2 - *T. aestivum* (Жница); 3, 4 - *T. aestivum* (СЮ); 5, 6 - *T. aestivum* (Ом35); 7, 8 - *T. timopheevii* к-58666; 9, 10 - *T. monococcum* к-39471; 1, 3, 5, 7, 9 – контрольные растения; 2, 4, 6, 8, 10 – растения, инфицированные злаковой тлей.

Анализ изоэлектрического спектра пероксидаз в свободнорастворимой фракции белка показал, что три сорта пшеницы вида *T. aestivum* отличались от образцов *T.*

timopheevii к-58666 и *T. топососсит* к-39471 как спектром анионных, так и катионных пероксидаз (рисунок). Так, у образцов к-58666 и к-39471 отсутствовала изоПО с $pI \sim 4.8$ (рисунок). Заселение растений тлями изменяло спектр пероксидаз у всех изученных образцов. Нейтральные изоПО с $pI \sim 6.8$ и 7.1 проявляли довольно сильную активность только у образцов к-58666 и к-39471 на протяжении всего эксперимента. Заселение тлями устойчивых фенотипов (Ом35, к-58666 и к-39471) индуцировало анионную изопероксидазу с $pI \sim 5.8$ и ингибировало изопероксидазу с $pI \sim 5.2$ у образца *T. топососсит* к-39471 через 2-ое сут. инфицирования (рисунок). У восприимчивого сорта Жница в этот же период заражения наблюдали индукцию изоПО с $pI \sim 5.2$ и ингибирование изопероксидазы с $pI \sim 5.8$, т.е. реакцию противоположную устойчивому образцу к-39471 (рисунок). Стоит отметить, что через 6 сут после заселения тлей изопероксидаза с $pI \sim 5.2$ проявляла наибольшую активность у устойчивого образца *T. топососсит* к-39471 (данные не указаны). Наши результаты показывают, что генерация H_2O_2 изменялась обратно пропорционально индукции данной изоПО с $pI \sim 5.2$ (таблица, рисунок). Также стоит отметить изменения в активности двух катионных изоПО с $pI \sim 9.0$ и 9.6 . Устойчивые фенотипы отличались повышением, а восприимчивые снижением активности изоПО с $pI \sim 9.6$ через 1 сут после заселения тлей (данные не указаны). В этот же период инфицирования наблюдали противоположную реакцию изменения активности у изоПО с $pI \sim 9.0$ – снижение активности у восприимчивых и повышение у устойчивых фенотипов (данные не указаны). Таким образом, повышение генерации H_2O_2 у устойчивых фенотипов коррелировало с увеличением активности изоПО с $pI \sim 5.8, 6.8, 7.1$ и 9.6 , а отсутствие таковой у восприимчивых фенотипов сопровождалось увеличением активности изоПО с $pI \sim 5.2, 9.0$ и ингибированием активности или низкой активностью изоПО с $pI \sim 5.8, 6.8, 7.1$ и 9.6 . Наши результаты согласуются с данными литературы о том, что анионные ПО обладают способностью к детоксикации АФК и участвуют в синтезе лигнина и суберина, а катионные ПО могут участвовать в продукции H_2O_2 и обладать НАДФН-оксидазной активностью [Максимов и др. 2011; Kukavica et al. 2012].

Таким образом, наши результаты показывают, что толерантные растения характеризовались высоким содержанием H_2O_2 на начальном этапе инфицирования, а затем излишние количества АФК обезвреживались, скорее всего, за счет синтеза фенольных соединений и лигнина. Наиболее вероятно, что ПО участвовали в этих процессах. Нейтральные изоПО с $pI \sim 6.8, 7.1$ и катионная изоПО с $pI \sim 9.6$ могли принимать участие в генерации АФК, а анионная изоПО с $pI \sim 5.2$ – в детоксикации H_2O_2 .

Литература

Максимов И.В., Черепанова Е.А., Бурханова Г.Ф., Сорокань А.В., Кузьмина О.И. Структурно функциональные особенности изопероксидаз растений (Обзор) // Биохимия. – 2011. – Т. 76, № 6. – С. 749–763.

Kukavica B.M., Jovanovic S.D., Menckhoff L., Luthje S. Cell wall-bound cationic and anionic class III isoperoxidases of pea root: biochemical characterization and function in root growth // Journal of Experimental Botany. – 2012. – V. 63, No. 12. – P. 4631–4645.

Koch K.G., Chapman K., Louis J., Heng-Moss T., Sarath G. Plant tolerance: a unique approach to control hemipteran pests // Front. Plant Sci. – 2016. – V. 7. – P. 1363.

Radchenko E.E. N.I. Vavilov's theory on natural immunity of plants to harmful organisms and breeding of cereal crops for aphid resistance // Agricultural biology. – 2012. – No. 5. – P. 54–63.

War A.R., Paulraj M.G., Ahmad T., Buhroo A.A., Hussain B., Ignacimuthu S., Sharma H.C. Mechanisms of plant defense against insect herbivores // Plant Signal. Behav. – 2012. – V. 7, No. 10. – P. 1306–1320.

THE ROLE OF WHEAT ISOPEROXIDASES IN PLANT DEFENSE RESPONSE AGAINST GREENBUG APHID *SCHIZAPHIS GRAMINUM*

S.D. Rumyantsev, S.V. Veselova, E.A. Cherepanova, I.V. Maksimov

Institute of Biochemistry and Genetics of Ufa Science Centre RAS, Ufa, Russia,
Rumyantsev-Serg@mail.ru

Abstract. Redox status, peroxidase activity and isoform content in *Triticum aestivum*, *T. monococcum* and *T. timopheevii* plants infected by greenbug aphid (*Schizaphis graminum* Rond.) were studied. It was shown that tolerant plants contained high level of hydrogen peroxide at the initial stage of infection and were capable to neutralize the reactive oxygen species after defense. Changes of the activity of cationic, neutral and anionic isoperoxidases were found.

Keywords: *Schizaphis graminum*, wheat, redox status, peroxidase

ВЛИЯНИЕ ПОЧВЕННОЙ ЗАСУХИ НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКУЮ ПРОДУКТИВНОСТЬ У ПОЛИПЛОИДНЫХ СОРТОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

А.Р. Рустамов, А. Эргашев, А. Абдуллаев

Институт ботаники, физиологии и генетики растений Академии наук Республики Таджикистан, Душанбе, Таджикистан, *Anis.Rustamov@gmail.com*

Аннотация. В данных тезисах приводятся экспериментальные данные по влиянию длительной почвенной засухи на динамику чистой продуктивности фотосинтеза сортов мягкой пшеницы. Показано, что при воздействии длительной почвенной засухи происходят существенные изменения в формировании чистой продуктивности фотосинтеза (ЧПФ) и удельной поверхностной плотности листа (УППЛ) различных генотипов пшеницы.

Ключевые слова: пшеница, почвенная засуха, удельная поверхностная плотность листа, чистая продуктивность фотосинтеза

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-697-699

Неблагоприятное влияние почвенной засухи, часто сопровождаемое высокой температурой, состоит в том, что растения испытывают длительный дефицит воды из-за недостаточного ее поступления из почвы. Прежде всего, действие засухи сказывается на водном обмене растения. Большая потеря воды за счет интенсивной транспирации, превышающая поступление воды через корневую систему, вызывает увеличение в растении водного дефицита. В жаркую солнечную погоду водный дефицит может возникнуть к середине дня. Вначале водный дефицит вызывает временное, более сильное открывание устьиц, что приводит к ускорению транспирации и понижению температуры листьев. Одновременно высокая интенсивность транспирации активизирует поступление воды из корней в побеги. В результате в клетках корней уменьшается водный потенциал и увеличивается поступление воды из почвы в корни.

Таблица 1.

Динамика чистой продуктивности фотосинтеза (ЧПФ) у растений сортов мягкой пшеницы, выращенных в условиях почвенной засухи (г/м². сутки)

Сорт	Варианты	Фазы развития			
		всходы - трубкование	трубкование - колошение	колошение - цветение	цветение - молочно- восковая спелость
Голоколоска	полив*	2,73±0,1	2,86±0,1	4,78±0,0	2,63±0,0
	засуха**	2,52±0,0	3,34±0,2	7,24±0,4	4,42±0,2
Галгалос	полив	2,80±0,2	2,76±0,2	3,67±0,3	3,11±0,1
	засуха	2,30±0,0	3,21±0,0	8,22±0,0	5,10±0,0
Зафар	полив	3,23±0,0	3,22±0,1	4,71±0,1	3,54±0,1
	засуха	2,87±0,2	3,62±0,0	6,42±0,3	4,82±0,1
Достоверность разности, t _{st}		0,2	0,1	0,3	0,2

Примечание: *вариант полив – влажность почвы 75–80% от наименьшей влагоемкости (НВ); **вариант засуха – влажность почвы 50–55% от НВ.

Поэтому изучение физиологических процессов сортов пшеницы, отличающихся по генотипу и географическому происхождению, и в целях экологической оценки

изменчивости важных биохимических показателей, определяющих качество зерна, в различных условиях водообеспечения является актуальной задачей. Полученные нами данные показывают что, чистая продуктивность фотосинтеза растений сортов мягкой пшеницы в ранние периоды вегетации в условиях полива заметно больше, чем при почвенной засухе (табл. 1). У сорта Зафар ЧПФ выше, чем у других сортов в фазе трубкования – колошения, наоборот, ЧПФ в опытном варианте значительно больше, чем в контрольном варианте. В фазе колошения – цветения такая закономерность, как и в предыдущей фазе развития, сохраняется, однако уровень ЧПФ заметно выше. Вместе с тем, в период молочно-восковой спелости ЧПФ в целом падает, но различия между сортами и вариантами опыта остаются те же, т. е. при засухе ЧПФ больше, чем у контрольных растений.

Данные табл. 2 показывают, что под влиянием длительной почвенной засухи у сортов мягкой пшеницы с различной ploidy, удельная поверхностная плотность листа заметно отличалась по сравнению с контрольным вариантом (оптимальное водообеспечение). У диплоидного сорта Зафар уровень УППЛ была намного выше, чем у тетраплоида Галгалос и гексаплоида Голоколоска.

Полученные нами данные показывают, что в условиях почвенной засухи происходило сокращение не только листовой площади, но и заметное снижение ЧПФ и УППЛ листа на ранних фазах развития (трубкование). В фазе цветения и молочно-восковой спелости показатели ЧПФ и УППЛ листа в условиях почвенной засухи заметно выше, чем у контрольных растений. Это, по-видимому, объясняется тем, что в условиях засухи объем и размер клеток листа уменьшается и на единицу площади листа приходится большее количество клеток с меньшим содержанием воды, т.е. развивается признаки ксерофитности.

Таблица 2.
УППЛ растений сортов мягкой пшеницы в условиях почвенной засухи (г/дм²)

Сорта	Варианты	Фазы развития			
		трубкование	колошение	цветение	молочно-восковая спелость
Голоколоска	полив	0,21±0,0	0,36±0,2	0,40±0,1	0,39±0,0
	засуха	0,20±0,1	0,49±0,1	0,50±0,2	0,64±0,0
Галгалос	полив	0,22±0,1	0,38±0,0	0,43±0,1	0,40±0,2
	засуха	0,13±0,2	0,44±0,2	0,52±0,0	0,65±0,3
Зафар	полив	0,27±0,0	0,51±0,2	0,54±0,3	0,64±0,3
	засуха	0,20±0,3	0,55±0,1	0,47±0,1	0,72±0,2
Достоверность разности, tst		0,2	0,2	0,3	0,3

Таким образом, показано, что под влиянием длительной почвенной засухи у сортов мягкой пшеницы с различной ploidy, динамика формирования чистой продуктивности фотосинтеза, удельная поверхностная плотность листа заметно отличались от контрольных растений (оптимальное водообеспечение). У диплоидного сорта Зафар уровень этих показателей был намного выше, чем у тетраплоида Галгалос и гексаплоида Голоколоска.

INFLUENCE OF SOIL DROUGHT ON PHOTOSYNTHETIC PRODUCTIVITY OF POLYPLOID VARIETIES OF SOFT WHEAT

A.R. Rustamov, A. Ergashev, A. Abdulloev

Institute of botany, plant physiology and genetics, Academy of Sciences of the Republic of Tajikistan, Dushanbe, Tajikistan, *Anis.Rustamov@gmail.com*

Abstract. This thesis presents experimental data on the effect of long-term soil drought on the dynamics of net productivity of photosynthesis of varieties of soft wheat. It is shown that under the influence of prolonged soil drought there are significant changes in the formation of net productivity of photosynthesis (NPPH) and the specific leaf weight (SLW) of different genotypes of wheat.

Keywords: *wheat, soil drought, specific surface density of the leaf, net productivity of photosynthesis*

КАЧЕСТВО ЗЕРНА РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ФАСОЛИ В УСЛОВИЯХ ПОЧВЕННОЙ ЗАСУХИ

Х.Х. Сайдаминов, А. Абдуллаев, Н.А. Маниязова

Институт ботаники, физиологии и генетики растений Академии наук Республики Таджикистан, Душанбе, Республика Таджикистан, *Habib-25041986@mail.ru*

Аннотация. В статье приводятся результаты исследования по влиянию почвенной засухи на биохимический состав семян различных видов фасоли. Установлено, что засуха существенно влияет на содержание протеина и повышает масличность семян.

Ключевые слова: почвенная засуха, фасоль, семена, протеин, масличность

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-700-702

Известно, что повышение температуры вызывает усиление засухи, на протяжении длительного времени может усилить испарение воды с поверхности почвы и привести к высушиванию корнеобитаемого слоя почвы и повышению содержания солей в нем. Засуха, иссушение почвы и её засоленность оказывают существенное влияние на рост, развитие и продуктивность сельскохозяйственных культур. В связи с этим изменение климата может индуцировать дополнительные стрессовые факторы, которые сильно воздействуют на продукционные процессы сельскохозяйственных растений. Поэтому изучение адаптационных возможностей и механизмов устойчивости растений к глобальным изменениям климата является чрезвычайно актуальным [Абдуллаев и др., 2013; Абдуллаев и др., 2015; Alam Zeb et al., 2006].

В условиях почвенной засухи у растений изменяются многие метаболические процессы [Абдуллаев и др., 2015; Rocío, 2012]. Вместе с тем для адаптации необходима существенная перестройка многих физиологических процессов, в том числе фотосинтеза. Кроме того, известно, что продуктивность растений зависит от их способности адаптироваться к действию стресса [Rassow et al., 1997].

Проблема устойчивости сельскохозяйственных растений к неблагоприятным воздействиям – одна из наиболее интенсивно исследуемых сегодня вопросов во многих странах мира [Reyer et al., 2012]. В связи с этим для исследования физиологии устойчивости сельскохозяйственных растений к засухе вовлекаются различные культуры, в том числе и зернобобовые растения, которые используются как источник питания населения в Таджикистане. В настоящее время мало исследовано влияние почвенной засухи на биохимический состав семян различных видов фасоли, что и явилось целью данной работы.

Объекты, условия и методы исследований. Объектами исследования служили виды фасоли: фасоль обыкновенная (*Phaseolus vulgaris* L.) – «Чёрный глаз», фасоль огненнокрасная – «Пёстрая» (*Phaseolus coccineus* L.), «Фасоль золотистая» – маш (*Phaseolus aureus* Roxb.). Полевые опыты проводились на экспериментальном участке Института ботаники, физиологии и генетики растений Академии наук Республики Таджикистан (г. Душанбе), расположенном в восточной части Гиссарской долины на высоте 834 м над ур. моря. Растения выращивались в вегетационных сосудах (22 кг почвы). Посевы были произведены в весенние сроки (18 апреля 2015 г.). Равномерные всходы были получены через 10-12 дней. Начиная с фазы появления настоящих листьев до фазы созревания, определяли влажность почвы. Биохимический анализ семян разных видов фасоли проводили универсальным многофункциональным ИК - анализатором с диодной матрицей DA 7200 фирмы Perten Instruments (Швеция) в лаборатории Государственной комиссии по сортоиспытанию новых видов сельскохозяйственных культур и защите сорта при МСХ РТ.

Результаты исследований. В таблицу представлены результаты по влиянию почвенной засухи на биохимический состав семян разных видов фасоли. Анализ таблицы показывает, что в условиях почвенной засухи содержание протеина у фасоли «Черный глаз» снижается всего на 1,4%, а масличность увеличивается примерно в 4 раза и составила 2,7%. Вместе с тем по содержанию других компонентов в семенах между вариантами опыта существенных отличий не обнаруживается. У фасоли «Пёстрая» в семенах растений, выращенных при почвенной засухе, содержание протеина увеличивалось незначительно, всего на 0,8%, а масличность, наоборот, при почвенной засухе уменьшалась. Однако по содержанию других компонентов зерна между вариантами опыта также заметных изменений не наблюдалось.

Биохимический состав семян разных видов фасоли в зависимости от условий выращивания имеет некоторые отличительные черты (таблица).

Таблица.

Биохимический состав семян разных видов фасоли, (%)

Виды	Варианты опыта	Протеин	Масличность	Влажность	Клетчатка	Зола	Прочие соединения
Фасоль «Черный глаз»	Засуха	33,4±3.0	2,7±0.2	8,6±0.8	5,6±0.5	3,8±0.3	45,9±4.1
	Полив	34,8±3.1	0,7±0.06	7,9±0.7	5,6±0.5	3,6±0.3	47,4±4.2
Фасоль «Пёстрая»	Засуха	37,1±3.3	5,0±0.4	10,5±0.9	4,5±0.4	4,7±0.4	38,2±3.4
	Полив	36,4±3.2	6,1±0.5	10,6±0.9	4,1±0.3	4,8±0.4	38,0±3.4
Маш	Засуха	31,1±2.8	2,8±0.2	6,3±0.6	6,0±0.5	4,1±0.4	49,7±4.5
	Полив	39,5±3.6	0,6±0.05	7,8±0.7	6,7±0.6	4,2±0.4	41,2±3.7

Следует отметить, что биохимические компоненты маша под воздействием почвенной засухи подвергнуты изменению в большей степени. Содержание протеина в семенах маша в условиях почвенной засухи по сравнению с контрольным вариантом снизилось на 8,4%, при этом масличность уменьшилась на 2,4%.

Таким образом, анализ биохимических компонентов показал, что стресс оказал влияние только на содержание протеина и масличность. Так, у фасоли «Чёрный глаз» и у маша содержание протеина в условиях засухи уменьшается, при этом масличность у них увеличивается. У фасоли «Пёстрая» наблюдается обратная картина. Содержание протеина по сравнению с контрольным вариантом, хоть и незначительно, но увеличивается почти на 1%, а масличность при этом уменьшается настолько же.

Литература

Абдуллаев А., Эргашев А., Джумаев Б.Б., Абдуллаев Х.А., Каримова И.А. Физиология хлопчатника в условиях стресса. – Душанбе: Дониш, 2013. – 153 с.

Абдуллаев А., Эргашев А., Джумаев Б.Б., Касимова Г.Ф., Маниязова Н.А., Сабоиев И., Усманов Т., Абдуллаев С.Ф. Физиология пшеницы в условиях изменения климата в Таджикистане. – Душанбе: Дониш, 2015. – 153 с.

Мокроносов А.Т. Онтогенетический аспект фотосинтеза. – М.: Наука, 1981. – 196 с.

Ничипорович А.А., Строгонова Л.Е., Чмора С.Н., Власова М.П. Фотосинтетическая деятельность растений в посевах. – М.: Изд-во АН СССР, 1961. – 138 с.

Alam Zeb., Zahir Ali., Taufiq Ali., Abdullaev A. Physiological characteristics of wheat varieties growing in same and different ecological regions of Pakistan // Pakistan Journal of Biological Science. – 2006. – V. 9. – P. 1823–1827.

Rassow J., Von Ashen O., Bomer U., Pfanner N. Molecular chaperones: towards a characterization of the heat-shock protein 70 family // Trends in Cell Biol. – 1997. – No. 3. – P. 129–133.

Reyer C., Bachinger J., Bloch R. et al. Climate change adaptation and sustainable regional development: a case study for the Federal State of Brandenburg, Germany // Reg. Environ Change. – 2012. – V. 12. – P. 523–542.

Rocio R.V. Physiological analysis of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars uncovers characteristics related to terminal drought resistance // Plant Physiology and Biochemistry. – 2012. – V. 56. – P. 24–34.

QUALITY OF GRAIN OF VARIOUS BEAN SPECIES IN THE CONDITIONS OF SOIL DROUGHT

H.H. Saidaminov, A. Abdullaev, N.A. Maniyazova

Institute of botany, plant physiology and genetics of Academy Science of the Republic of Tajikistan, Dushanbe, Tajikistan, *Habib-25041986@mail.ru*

Abstract. The paper presents the results of a study on the effect of soil drought on the biochemical composition of seeds of various bean species. It was found that drought significantly affects the protein content and increases the oil content of the seeds.

Keywords: *soil drought, beans, seeds, protein, oil content*

РОЛЬ РЕГУЛЯТОРА ОБЩЕГО ОТВЕТА RpoS В ОБРАЗОВАНИИ БИОПЛЕНОК БАКТЕРИЯМИ *ESCHERICHIA COLI* В ПРИСУТСТВИИ РАСТИТЕЛЬНЫХ ПОЛИФЕНОЛОВ

З.Ю. Самойлова, Г.В. Смирнова, О.Н. Октябрьский

«Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, Пермь, Россия, samzu@mail.ru

Аннотация. Приводятся результаты изучения влияния различных доз полифенолов на интенсивность биопленкообразования (БПО) бактериями *Escherichia coli*. Установлено ингибирующее влияние кверцетина и танниновой кислоты в концентрации выше 100 мкМ. Выявлен стимулирующий характер влияния на удельное БПО у кверцетина в области концентраций 1-50 мкМ и танниновой кислоты – 1-100 мкМ. Показана связь наблюдаемых эффектов с активностью регулятора общего стрессового ответа RpoS. Ингибирующий характер на БПО может быть связан с избыточным накоплением RpoS в присутствии указанных полифенолов.

Ключевые слова: *Escherichia coli*, биоплёнки, полифенолы, RpoS

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-703-705

Биоплёнки, образуемые представителями нормальной микрофлоры на поверхности кишечного эпителия, играют важную роль в формировании устойчивости макроорганизма к инвазии патогенами и другим вредным воздействиям окружающей среды. Ввиду усиливающегося техногенного влияния актуальным становится поиск веществ, стимулирующих нормальную микрофлору кишечника. Одними из перспективных соединений являются полифенолы растительного происхождения. У многих полифенолов выявлено кардиопротекторное, иммуномодулирующее, противоопухолевое и антиоксидантное действие [Cordona et al., 2017]. Показано, что положительное влияние полифенолов на организм человека может быть опосредовано через модуляцию активности нормальной микрофлоры кишечника человека [Cueva et al., 2017]. Однако в целом, эта проблема остается малоизученной [Ozidal et al., 2016; Etxeberria et al., 2013].

Бактерии *Escherichia coli* являются представителями нормальной микрофлоры человека и животных и хорошо изучены в генетическом и физиолого-биохимическом отношении. Известно, что у этих бактерий одним из ключевых факторов биопленкообразования (БПО) является транскрипционный регулятор общего стрессового ответа RpoS [Povolotsky, Hengge, 2012]. В данной работе генно-инженерные штаммы *E. coli* были использованы как относительно простые и удобные тест-системы для изучения влияния RpoS на БПО в присутствии чистых полифенолов: кверцетина, рутина, гесперетина, катехина и танниновой кислоты.

Биопленки *E. coli* BW25113 выращивали на 96-луночных полистироловых планшетах при 37 °С на минимальной среде M9 (Miller, 1972) с добавлением 4 г/л глюкозы, 0,2% казаминовых кислот, тиамина (10 мкг/мл) и полифенолов в течение 22 ч. Зрелые биопленки дважды отмывали физиологическим раствором. Валовое и удельное БПО измеряли с помощью планшетного спектрофотометра xMark™ Bio-Rad, определяя интенсивность биопленкообразования модифицированным методом окрашивания биопленок генцианвиолетом [O'Toole, Kolter, 1998; Naves et al., 2008].

Данные, приведенные в таблице 1, указывают на способность катехина и танниновой кислоты в концентрации 100 мкМ оказывать статистически достоверный ингибирующий эффект на БПО.

Таблица 1.

Влияние чистых полифенолов (100 мкМ) на биоплёнкообразование

Вещество	БПО
Контроль	0.324±0.01
Кверцетин	0.303±0.001
Танниновая кислота	0.235±0.001*
Катехин	0.270±0.008*
Рутин	0.305±0.013
Гесперетин	0.303±0.018

Чтобы изучить роль RpoS в модификации БПО полифенолами была измерена экспрессия гена *rpoS* в планктонных культурах и биоплёнках через 22 ч культивирования штамма *E. coli* NM3041, несущего слияние *rpoS::lacZ*. Установлено, что кверцетин и танниновая кислота подавляли экспрессию слияния 2.5 и 6.0 раз, соответственно.

Таблица 2.

Влияние чистых полифенолов (100 мкМ) на экспрессию слияния *rpoS::lacZ*

Вещество	<i>rpoS::lacZ</i> , %
Контроль (ДМСО)	100.0 ± 8.7
Кверцетин	40.6 ± 3.4*
Танниновая кислота	16.4 ± 1.6*
Катехин	82.9 ± 6.3
Рутин	90.3 ± 8.9
Гесперетин	91.6 ± 4.4

Среди изученных нами веществ особый интерес представляют кверцетин и танниновая кислота, как обладающие высокой биологической активностью. Поэтому в следующей серии опытов нами было изучено влияние разных концентраций кверцетина и танниновой кислоты на БПО. Выявлено, что оба вещества оказывали достоверный стимулирующий эффект на удельное БПО в диапазоне концентраций 1-50 мкМ (кверцетин) и 1-100 мкМ (танниновая кислота).

Чтобы определить роль регулятора RpoS в наблюдаемых эффектах, мы сравнили БПО в штаммах дикого типа и штаммах с различным уровнем регуляторного белка RpoS. Для этой цели были использованы штаммы JW5437 (*rpoS*), JW2755 (*relA*) и JW0427 (*clpP*). Ген *relA* кодирует синтетазу стрессового алармона ppGpp, который активирует транскрипцию гена *rpoS*. Ген *clpP* кодирует протеазу, ответственную за быструю деградацию регуляторного белка RpoS в растущих клетках [Hengge, 2009]. Выявлено, что БПО в штаммах, дефектных по генам *relA* или *rpoS*, не отличалось от значения. Был также выявлен стимулирующий эффект на БПО малых доз (5, 10 и 50 мкМ) кверцетина, и ингибирующее действие более высоких доз (200 мкМ). В не обработанных кверцетином клетках, дефектных по гену *clpP*, удельное БПО снижалось вдвое по сравнению с диким типом. Присутствие малых доз кверцетина (10 и 50 мкМ) стимулировало БПО. Однако показатель удельного БПО при действии этих доз был вдвое ниже по сравнению с диким типом. В совокупности, эти данные позволяют предположить, что в наших условиях отрицательное влияние на биоплёнкообразование мог оказывать избыток белка RpoS.

Работа выполнена в рамках государственного задания № госрегистрации темы 01201353249, а также при поддержке грантами Президента МК-3376.2018.4 и РФФИ №16-04-00762.

Литература

Cardona F., Andrés-Lacueva C., Tulipani S., Tinahones F.J., Queipo-Ortuño M.I. Benefits of polyphenols on gut microbiota and implications in human health // *J. Nutr. Biochem.* – 2013. – V. 24 (8). – P. 1415–1422.

Cueva C., Gil-Sánchez I., Ayuda-Durán B., González-Manzano S., González-Paramás A.M., Santos-Buelga C., Bartolomé B., Moreno-Arribas M.V. An integrated view of the effects of wine polyphenols and their relevant metabolites on gut and host health // *Molecules.* – 2017. – V. 22 (1). – P. E99.

Etxeberria U., Fernández-Quintela A., Milagro F.I., Aguirre L., Martínez J.A., Portillo M.P. Impact of polyphenols and polyphenol-rich dietary sources on gut microbiota composition // *Nutrients.* – 2016. – V. 8 (2). – P. 78.

Hengge R. Proteolysis of σ^S (RpoS) and the general stress response in *Escherichia coli* // *Res. Microbiol.* – 2009. – V. 160 – P. 667–676.

Naves P., del Prado G., Huelves L., Gracia M., Ruiz V., Blanco J., Rodriguez-Cerrato V., Ponte M.C., Soriano F. Measurement of biofilm formation by clinical isolates of *Escherichia coli* is method-dependent // *J. Appl. Microbiol.* – 2008. – V. 105 – P. 585–590.

O'Toole G.A., Kolter R. Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signaling pathways: a genetic analysis // *Mol. Microbiol.* – 1998. – V. 28 – P. 449–461.

Ozidal T., Sela D.A., Xiao J., Boyacioglu D., Chen F., Capanoglu E. The reciprocal interactions between polyphenols and gut microbiota and effects on bioaccessibility // *J Agric Food Chem.* – 2013. – V. 61(40) – P. 9517–9533.

Povolotsky T.L., Hengge R. 'Life-style' control networks in *Escherichia coli*: Signalling by the second messenger c-di-GMP // *J. Bacteriol.* – 2012. – V. 160 – P. 10–16.

THE ROLE OF GENERAL STRESS RESPONSE REGULATOR RpoS IN BIOFILM FORMATION BY *ESCHERICHIA COLI* IN THE PRESENCE OF PLANT POLYPHENOLS

Z.Y. Samoylova, G.V. Smirnova, O.N. Oktyabrsky

“Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms Ural Branch Russian Academy of Sciences”, Perm, Russia, samzu@mail.ru

Abstract. Results on investigation of different doses of plant polyphenols on biofilm formation in *Escherichia coli* are discussed. Inhibiting effects of 100 μM quercetin and tannic acid on biofilm formation have been established. However, the specific biofilm formation was found to be stimulated by quercetin (1-50 μM) and tannic acid (1-100 μM). The connection between the observed effects and activity of the global stress response regulator has been shown. The inhibiting effects on biofilm formation were likely to be related to an excessive accumulation of RpoS in the presence of the certain polyphenols.

Keywords: *Escherichia coli*, biofilms, polyphenols, RpoS

ВЛИЯНИЕ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ДИНАМИКУ НАКОПЛЕНИЯ И РАСПРЕДЕЛЕНИЯ БИОМАССЫ У СОРТОВ ПШЕНИЦЫ МЕСТНОЙ СЕЛЕКЦИИ И ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ ИЗ РОССИИ В ТАДЖИКИСТАН

Б.Н. Сатторов¹, М.Б. Ниязмухамедова¹, Ф.А. Косумбекова¹, Н. Камолов¹, М.М. Рахимов²

¹Институт ботаники, физиологии и генетики растений Академии наук Республики Таджикистан, Душанбе, Республика Таджикистан, *Mukadam.44@mail.ru*

²Таджикский государственный педагогический университет имени Садриддина Айни, Душанбе, Республика Таджикистан, *Mukadam.44@mail.ru*

Аннотация. В работе представлены данные по динамике накопления биомассы разных органов пшеницы, интродуцированной из России, в качестве стандарта использовали местный сорт Зафар. В процессе вегетации происходит накопления биомассы листьев, стеблей, корней и колоса, меняются донорно-акцепторные отношения, а с переходом в генеративную фазу происходит распределение ассимилятов в пользу колоса. В период восковой спелости самая высокая биомасса колоса была у российского сорта Волжская 100, на втором месте был сорт Зафар, а сорта Волжская С3 и Волжская К имели биомассу меньше на 7 и 9%, чем выше указанные сорта. При подсчёте урожайности зерна, у изученных нами сортов пшеницы максимальная величина этого показателя была у пшеницы Волжская С3, незначительно меньше масса зерна была у местного сорта Зафар и сорта Волжская 100, а самая низкая урожайность зерна наблюдалась у пшеницы Волжская К.

Ключевые слова: пшеница, содержание воды, богара

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-706-707

Влияние природно-климатических условий, таких как повышенная засуха, и особенностей резко континентального климата требуют выявления сортов пшеницы, приспособленных и адаптированных к этим неблагоприятным условиям выращивания.

В этой связи настоящая работа посвящена изучению динамики накопления биомассы органами пшеницы в процессе вегетации у местных и российских сортов, интродуцированных в Таджикистан. Объектом исследования служили мягкие сорта пшеницы: Зафар (селекции Института земледелия Таджикской академии сельскохозяйственных наук), Волжская 100 и Волжская С3 (стойкая), Волжская К (качественная) (селекции Ульяновской сельскохозяйственной академии России). Российские сорта пшеницы были любезно предоставлены в наше распоряжение профессором Н.В. Тупицыным из Ульяновской сельскохозяйственной академии Российской Федерации.

Растения для опытов выращивали в одинаковых агротехнических условиях на экспериментальном участке Института ботаники, физиологии и генетики растений Академии наук Республики Таджикистан, расположенном в восточной части Гиссарской долины на высоте 830 м над ур. м.

Анализ динамики накопления биомассы разными органами пшеницы в процессе вегетации, выращенной в условиях богары, показал, что у сорта Волжская 100 в фазе кущения биомасса листьев была максимальной, а биомасса стебля и корня была в 12 и 3 раза меньше, соответственно. В фазе колошения у этой пшеницы происходит увеличение биомассы стебля, меняются донорно-акцепторные отношения, пластические вещества больше накапливаются в стебле, а с переходом в генеративную фазу происходит распределение ассимилятов в пользу колоса. У российских сортов пшеницы Волжская С3 и Волжская К и у местного сорта Зафар (стандарт) биомасса листьев в фазе кущения также была максимальной и почти одинаковой с биомассой

стебля. Начиная с фазы трубкования, биомасса стебля увеличивается в 1.5-2 раза, в фазе колошения с появлением колоса происходит увеличение его биомассы. Листья, стебли становятся донорами пластических веществ для колоса, они активно участвуют в его формировании. В период восковой спелости самая высокая биомасса колоса была у российского сорта Волжская 100, на втором месте был сорт Зафар, а сорта Волжская С3 и Волжская К имели биомассу меньше на 7 и 9%, чем выше указанные сорта. При подсчёте урожайности зерна у изученных нами сортов пшеницы максимальная величина этого показателя была у пшеницы Волжская С3, незначительно меньше масса зерна была у местного сорта Зафар и сорта Волжская 100, а самая низкая урожайность зерна наблюдалась у пшеницы Волжская К.

Таким образом, оценка сортов пшеницы, интродуцированных из другой климатической зоны (Россия, Ульяновск) в условия Таджикистана, позволила выявить сортовые различия в накоплении биомассы разными органами растения и в формировании зерновой продуктивности. Эти особенности следует принимать во внимание при адресном размещении сортов в тех или иных агроклиматических зонах возделывания пшеницы в Таджикистане.

IN FLUENCE OF ABIOTIC FACTORS ON DINAMIC OF ACCUMULATION AND DISTRIBUTION OF BIOMASS IN DIFFERENT ORGANS OF LOCAL AND INTRODUCED WHEAT

B.N. Sattorov¹, M.B. Niyzmuamedova¹, F. Kosumbekova¹, N. Kamolov¹, M.M. Rahimov²

¹Institute of botany, plant physiology and genetics of Academy Science of the Republic of Tajikistan, Dushanbe, Tajikistan, *Mukadam.44@mail.ru*

²Tajik State Pedagogical University named after Aini, Dushanbe, Tajikistan, *Mukadam.44@mail.ru*

Abstract. The paper presents data on the dynamics of accumulation of biomass of different wheat organs introduced from Russia, as a standard used local variety Zafar. In the process of vegetation, the accumulation of biomass of leaves, stems, roots and ears occurs, donor-acceptor relations change, and with the transition to the generative phase, assimilates are distributed in favor of the ear. During the period of wax ripeness the highest biomass of the ear was in the Russian variety Volzhskaya 100, in the second place was Zafar, and the Volzhskaya С3 and Volzhskaya К grades had a biomass of 7 and 9% less than the above mentioned varieties. When calculating the yield of grain, in the wheat varieties studied by us, the maximum value of this parameter was in Volzhskaya S3 wheat, slightly less than the grain weight of the local Zafar and Volzhskaya 100 varieties, and the lowest grain yield was observed in wheat Volzhskaya К.

Keywords: *wheat, water content, bog*

ВЛИЯНИЕ ПОНИЖЕННЫХ ТЕМПЕРАТУР НА ПОЛУЧЕНИЕ ВСХОДОВ РИСА

М.А. Скаженник, Н.В. Воробьев, В.С. Ковалев, С.В. Гаркуша, Т.С. Пшеницына,
И.В. Балясный

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский
научно-исследовательский институт риса, Краснодар, Россия, sma_49@mail.ru

Аннотация. Использование на посев злаков высококачественных семян является одним из важных факторов получения оптимальных по густоте всходов, обеспечивающих формирование высокого урожая этих культур. Целью исследования является определение полевой всхожести семян сортов риса и установление её связи с энергией прорастания и силой роста проростков при пониженной температуре 14 °С. Материалом исследования служили 6 сортов риса, разные по всхожести, энергии прорастания и силе роста проростков – Рапан (стандарт), Визит, Сонет, Кураж, Соната, Атлант. Исследования проводили в двух опытах: в лабораторном – в камерах с пониженными температурами и вегетационном-микрочаевом опыте в железобетонных микрочаевах, заполненных почвой с рисовых чеков, в которых поддерживался режим орошения риса, характерный для полевых условий. В первом опыте на увлажненной фильтровальной бумаге при постоянных температурах 28 и 14 °С на 3 и 6 сутки определяли энергию прорастания семян, на 13 сутки – высоту проростков в см, на 18 сутки их сухую массу в расчете на 100 штук. Во втором опыте посев риса проводился в начале мая, средняя температура этого месяца составляла 17,8 °С. Семена в почву высевали на глубину 0,5 см и определяли их всхожесть. Приведены результаты исследований полевой всхожести семян разных сортов риса, полученных в вегетационном опыте при средней температуре 17,8 °С и их связи с энергией прорастания при 28 и 14 °С. Установлено, что сорта риса значительно различаются по полевой всхожести семян, которая имеет тесную связь с энергией их прорастания, с массой проростков и густотой всходов в условиях пониженных температур.

Ключевые слова: сорта риса, энергия прорастания, всхожесть, морфологические признаки проростков, густота растений

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-708-711

Прорастание семян и образование всходов риса в силу его теплолюбивой природы и принятой системы орошения чаще всего проходит в условиях пониженных температур при недостатке кислорода и для снижения отрицательного воздействия этих неблагоприятных факторов необходим высококачественный посевной материал [Воробьев, 2003]. Технология его выращивания, уборки, хранения, предпосевного улучшения представляет большой практический интерес, однако она, особенно для новых сортов, нуждается в совершенствовании на базе современных знаний по физиологии семян.

Лабораторная всхожесть семян основной показатель их качества. Она характеризует способность семян образовывать нормально развитые растения. Ее выражают в процентах нормально проросших семян к общему числу их во взятой пробе. Всхожесть семян имеет прямую и достаточно высокую связь с урожайностью посевов риса. Условия определения всхожести семян риса указываются в ГОСТ 12038-66.

Полевая всхожесть семян – количество появившихся всходов, выраженное в процентах к числу высеянных семян. Она значительно, особенно у риса, ниже лабораторной всхожести, что обуславливается воздействием на прорастающие семена комплекса неблагоприятных факторов – пониженной температуры, недостатка кислорода, плотности почвы и ее химического состава, поражения семян вредителями и болезнями [Ижек, 1976]. Уровень полевой всхожести семян риса в значительной степени зависит и от качества семенного материала.

Однако показатель – всхожесть семян относительно слабо дифференцирует сорта и партии разных семян одного сорта по качеству посевного материала. Такую характеристику позволяют дать другие, хотя и не гостированные, показатели: энергия прорастания, скорость прорастания и сила роста семян.

Энергия прорастания семян выражает их способность быстро и дружно прорасти в оптимальных условиях. У риса этот показатель определяют по количеству нормально проросших семян на 4-е сутки опыта при температуре 28 °С и выражают в процентах к их общему числу в пробе [Сметанин и др., 1972]. Второй подсчет на 7-е сутки опыта характеризует уже всхожесть семян. Определение энергии прорастания очень важно для оценки качества семян и поэтому этот показатель широко используется в семеноводческой практике. Однако различия по качеству семян более четко проявляются в условиях пониженных температур, при этом для изучения их качества определяют не энергию прорастания, а имеющую аналогичное значение скорость прорастания семян, формула для вычисления которой было предложена Пипером [Строна, 1966]. Она обозначает среднее число дней, необходимых для прорастания одного семени, и широко используется для характеристики качества семян в конкретных условиях их прорастания.

Другим важным показателем качества семян является сила их роста (или сила начального роста), которая характеризует интенсивность роста проростков, их способность пробиваться на поверхность почвы, песка, гравия при заделке семян на определенную глубину, а для риса и на поверхность слоя воды, покрывающего рисовые чеки [Воробьев, 2003; Воробьев, Шеуджен, 2000]. Сила роста по существу является интегральным показателем качества семян. Она характеризует продолжительность их прорастания и интенсивность роста образовавшихся проростков и поэтому об ее уровне у конкретных семян судят по комплексу показателей: по скорости прорастания семян, по массе 100 штук проростков на определенный день опыта, по интенсивности роста последних за сутки в период от наклевывания семян до окончания опыта в условиях, близких к полевым. В ряде работ показано, что семена с высокой силой роста более устойчивы к воздействию неблагоприятных факторов внешней среды, которые наблюдаются в полевых условиях. Всходы из таких семян интенсивнее растут и развиваются, меньше заболевают и повреждаются вредителями, что обеспечивает им хорошую выживаемость, ведущую к формированию густого высокопродуктивного посева. Сила роста имеет наиболее тесную связь с полевой всхожестью семян у целого ряда сельскохозяйственных культур [Строна, 1966]. Особенно важна высокая сила роста семян для риса, позволяющая получать нормальные по густоте всходы этой культуры из-под слоя воды по получившей широкое распространение технологии с постоянным затоплением посевов [Воробьев, Шеуджен, 2000].

Сила роста – это один из основных показателей, характеризующих биологические свойства семян, степень их жизнеспособности. В связи с этим ее физиологическая природа интересовала многих исследователей [Воробьев, 2003; Овчаров, 1976]. Было установлено, что сила роста семян определяется особенностями генотипа, а также в значительной степени зависит от условий роста и развития материнских растений. С помощью, каких механизмов реализуется повышенная сила роста семян, заложенная в сорте? Однозначного ответа на этот вопрос в литературе нет.

Однако, как показали многолетние наблюдения [Воробьев, 2003], различия по величине энергии прорастания семян у сортов были невелики, в пределах ошибки опыта, что не позволяло эффективно оценивать их по этому показателю при температуре 28 °С. Возникла необходимость определять её у риса при пониженной температуре, приближенной к температурному режиму поля, результаты которого имеют большое практическое значение для уточнения оптимальных норм высева семян

в зависимости от сорта, срока посева и складывающихся условий окружающей среды в конкретном году. Без учета этих факторов трудно получать оптимальные по густоте всходы при рациональных нормах высева семян [Шеуджен, 2005].

Для установления связи параметров энергии прорастания семян у разных сортов риса при пониженной температуре с морфологическими признаками проростков и со всхожестью проведены два опыта: лабораторный на увлажненной бумаге при температуре 14°C и вегетационно-микрополевой при среднесуточной температуре мая месяца 17,8 °С с заделкой семян в почву на глубину 0,5 см. Всходы получали в условиях увлажнения.

Изучаемые сорта риса значительно различаются по энергии прорастания семян, фиксированной при пониженной температуре 14 °С. В основе повышенной энергии прорастания семян у ряда сортов риса селекции ВНИИ риса лежит более высокое содержание в зародышах жизненно-важных соединений и прежде всего нуклеиновых кислот, которые определяют интенсивность метаболизма в их тканях в период прорастания семян [Воробьев и др., 2011; Скаженник, Иваненко, 2013]. Из этого следует, что энергия прорастания их определяется в основном особенностями генотипа, однако определенное влияние на неё оказывают и условия роста и развития материнских растений [Воробьев, Шеуджен, 2000; Красноок и др., 1990]. Поэтому высокая агротехника на семенных посевах риса способствует увеличению содержания нуклеиновых кислот в зародышах и получению высококачественного посевного материала [Воробьев, Шеуджен, 2000; Шеуджен и др., 2001].

О высоком значении повышенного содержания нуклеиновых кислот в зародышах можно судить по темпам развития проростков, характеризуя их по высоте на 13 сутки опыта и по сухой массе 100 штук на 18 сутки при температуре 14 °С. У сортов Визит, Сонет, Атлант с повышенной энергией прорастания семян на 13 сутки опыта образуются более высокие проростки, а их сухая масса на 18 сутки существенно больше, чем у сортов Рапан, Кураж, Соната. Корреляционная связь между энергией прорастания семян у исследуемых сортов и длиной и величиной массы их проростков составляет $0,81 \pm 0,29 - 0,87 \pm 0,24$, что свидетельствует о важной роли этого признака качества семян в образовании оптимальных по густоте всходов риса. Это подтверждается результатами определения всхожести семян у сортов в вегетационно-микрополевом опыте, близком по условиям получения всходов к полевым. Энергия прорастания семян исследуемых сортов имеет высокую прямую связь ($0,89 \pm 0,23$) со всхожестью их в вегетационном опыте в условиях, близких к полевым. Высокими посевными качествами семян обладали сорта Визит и Атлант.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлены морфофизиологические признаки силы роста семян риса, тесно связанные с их всхожестью. Количественные параметры их являются важными признаками модели перспективных высокоурожайных сортов риса.

Литература

Воробьев Н.В., Скаженник М.А., Ковалев В.С. Продукционный процесс у сортов риса. – Краснодар, 2011. – 200 с.

Воробьев Н.В., Шеуджен А.Х. Физиологические основы прорастания семян риса и агрохимические пути повышения их полевой всхожести // Приемы повышения урожайности риса. – Краснодар, 2000. – С. 26–50.

Воробьев Н.В. Физиологические основы прорастания семян риса и пути повышения их всхожести. – Краснодар, 2003. – 116 с.

Ижек Н.К. Полевая всхожесть семян. – Киев: “Урожай”, 1976. – 192 с.

Красноок Н.П., Вишнякова И.А., Прудникова Т.Н. Влияние температуры и

минерального питания на формирование высококачественных семян риса // Физиология семян: формирование, прорастание, прикладные аспекты. – Душанбе, 1990. – С. 56-61.

Овчаров К.Е. Физиология формирования и прорастания семян. – М.: Колос, 1976. – 256 с.

Скаженник М.А., Иваненко Е.Е. Идентификация подвидов риса *indica* и *japonica* при помощи молекулярно-физиологических признаков // Зерновое хозяйство России. – 2013. – № 3 (27). – С. 11-15.

Сметанин А.П., Дзюба В.А., Апрод А.И. Методики опытных работ по селекции, семеноводству, семеноведению и контролю за качеством семян риса. – Краснодар, 1972. – 156 с.

Строна И.Г. Общее семеноведение полевых культур. – М.: Колос, 1966. – 464 с.

Шеуджен А.Х. Агрехимия и физиология питания риса. – Майкоп:ГУРИПП ”Адыгея”, 2005. – 1012 с.

Шеуджен А.Х., Бондарева Т.Н., Аношенков В.В. // Приемы повышения полевой всхожести семян и урожайности риса. – Майкоп, 2001. – 100 с.

THE INFLUENCE OF LOWER TEMPERATURES ON FORMATION OF SHOOTS OF RICE

M.A. Skazhennik, N.V. Vorobyov, V.S. Kovalyov, S.V. Garkusha, T.S. Pshenitsyna, I.V. Balyasny

All-Russian Rice Research Institute, Russia, sma_49@mail.ru

Abstract. The use of high-quality seeds for sowing cereals is one of the important factors for obtaining optimum density of shoots, ensuring the formation of a high yield of these crops. The objective of the research is determination of field germination of rice varieties and establish its relationship with germination power and seedlings power at low temperature of 14 °C. The material of research were 6 rice varieties; different by germination, by germination power and by seedling power – Rapan (standard), Vazit, Sonet, Kurazh, Sonata, Atlant. The studies were carried out in two tests: in the laboratory – in the chambers with low temperatures and in vegetative-microfield tests in ferro-concrete micro-check plots, filled with soil from rice check plots, in which rice irrigation mode was used under field conditions. In the first experiment the seed germination power was determined on moistened filter paper at a constant temperature of 28 and 14 ° C for 3 and 6 days, the height of seedlings in cm for 13 days at 14 °C, their dry weight per 100 units for 18 days. In the second experiment, rice sowing was carried out in early may, the average temperature of this month was 17.8 °C. Seeds were sown in the soil to a depth of 0.5 cm and determined their germination. The results of tests of field germination of different rice varieties obtained in vegetation triads at mid temperature 17.8 °C and their relationship with germination power at 28 and 14 °C. It was determined that rice varieties differ by field germination, which have close connection with germination power, with seedling mass and seedling density under the conditions of low temperature.

Keywords: *rice varieties, germination power, germination, morphological traits of sprouts, sprout density*

ПРОДУКТИВНОСТЬ И УСТОЙЧИВОСТЬ К ПОЛЕГАНИЮ СОРТОВ РИСА

М.А. Скаженник, Н.В. Воробьев, В.С. Ковалев, С.В. Гаркуша, Т.С. Пшеницына,
И.В. Балясный

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский
научно-исследовательский институт риса, Краснодар, Россия, sma_49@mail.ru

Аннотация. Материалом исследования служили 5 сортов риса, близких по продолжительности вегетационного периода, из них три – Рапан, Визит, Гамма – интенсивного типа, а два – Соната и Атлант – экстенсивного типа. Работа проводилась в вегетационно-микрополевых опытах – в железобетонных микрочеках, заполненных почвой с рисовых чеков, в которых поддерживался режим орошения риса, характерный для полевых условий. Удобрения в виде сульфата аммония, суперфосфата и хлористого калия вносили в двух дозах: $N_{24}P_{12}K_{12}$ и $N_{36}P_{18}K_{18}$ г действующего вещества на 1 м^2 посева. Проведенные исследования показали, что у генотипов интенсивного типа, к которым относятся Рапан, Визит, Гамма ассимиляты фотосинтеза в период кущения-трубкования растений в большей мере используются на образование элементов продуктивности метелки и в меньшей степени на формирование стебля, что приводит к повышенной продуктивности плодоноса и урожайности этих сортов, но к меньшей устойчивости их посевов к полеганию. У сортов экстенсивного типа, к которым относятся Соната и Атлант, ассимиляты фотосинтеза в период кущения-трубкования растений в большей мере, чем у интенсивных сортов, потребляются на образование стебля и в меньшей степени на формирование элементов продуктивности метелки. Это приводит к образованию плодоноса с пониженной продуктивностью и к снижению урожайности, но к повышению устойчивости посевов этих сортов к полеганию.

Ключевые слова: *рис, интенсивные и экстенсивные сорта, продуктивность метелок, устойчивость к полеганию, урожайность*

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-712-715

Полегание зерновых культур вызывается несоответствием механической прочности стеблей или сил сцепления корней с почвой и динамических нагрузок на растения, определяемых повышенной массой плодоноса, листового аппарата, силой ветрового потока, тяжестью капель росы и дождя, града [Палеев, 1957; Федосеев, 1979]. Главной причиной возникновения этого несоответствия является повышенное азотное питание растений, которое стимулирует их кущение, развитие у них более мощного листового аппарата, в результате чего формируются загущенные посевы растений. Побеги сильно вытягиваются путем чрезмерного продольного растяжения клеток в ущерб их поперечного размера, что вызывает уменьшение их диаметра, а отсюда и ослабление механической прочности [Петинов, Прусакова, 1965; Шульгин, 1973]. В результате вытягивания побега в высоту изменяется целый ряд анатомо-морфологических признаков стебля в той или иной степени связанных с его сопротивляемостью на изгиб или излом, что непосредственно определяет его устойчивость к полеганию. К числу таких признаков относятся: высота, диаметр стебля и его линейная плотность (содержание сухого вещества в 1 см его длины), масса и толщина механической ткани нижних междоузлий, число в них сосудисто-волокнистых пучков, содержание целлюлозы в целом стебле и в единице его длины и др. [Ляховкин, 1971; Петинов, 1965; Ямада, 1965]. Варьирование этих признаков у разных генотипов зерновых культур неодинаково, что связано с отличиями в их гормональном статусе, в степени их кущения. Это позволило при использовании отдельных признаков разработать целый ряд методов для оценки сортов на устойчивость к полеганию [Ламан, Каллер, 1988; Терентьев, 1974]. Однако предложенные методы имеют

недостаточно тесную связь с устойчивостью сортов риса к полеганию, к тому же они трудоемки в исполнении. Поэтому в лаборатории физиологии ВНИИ риса была поставлена задача, разработать простой и надежный лабораторный метод для массовой оценки селекционных образцов на устойчивость к полеганию. Она выполнялась одновременно с изучением у сортов риса продукционных процессов на разных фонах минерального питания.

Исследования проводили в 2012-2015 гг. в вегетационно-микроромеопыте [Шеуджен, Бондарева, 2015]. Почва рисовая, лугово-черноземная. В качестве объектов исследования использовали разные по урожайности и устойчивости к полеганию сорта риса – Рапан, Визит, Гамма (интенсивные) и Соната, Атлант (экстенсивные). Фоны удобрений были следующие: 1 – $N_{12}P_6K_6$ (средний фон); 2 - $N_{24}P_{12}K_{12}$ (повышенный фон); 3 – $N_{36}P_{18}K_{18}$ (высокий фон) г д.в. на m^2 . При получении всходов создавалась одинаковая их густота – 300 шт./ m^2 . На закрепленных площадках фиксировали величину кущения растений и отмирания части боковых побегов. В фазу цветения отбирали пробы побегов для определения их сухой массы и отдельных органов: листьев, стеблей и метелок. В фазе полной спелости определяли полегание посевов по доле полегших участков к их общей площади в процентах, отбирали пробы стеблей и определяли их устойчивость на изгиб и содержание в их тканях целлюлозы, а также урожай и элементы его структуры. Данные обрабатывали методами биометрической статистики [Дзюба, 2007].

Установлено, что на среднем фоне минерального питания полегание растений всех исследуемых сортов не наблюдалось. Оно проявлялось на повышенном и особенно сильно у сортов Рапан, Визит и Гамма на высоком фоне питания. Следует отметить, что высота растений сортов риса как на среднем, так и на высоком фонах питания не имеет достоверной связи с величиной полегания их посевов, о чем ранее сообщал А.Г. Ляховкин [Ляховкин, 2005]. Разная предрасположенность их к полеганию возникает в результате неодинакового растяжения клеток стебля, вероятно, связанного с их гормональным статусом.

Основным компонентом механических тканей стебля, его клеточных стенок, сосудисто-волокнистых пучков является целлюлоза. Её биосинтез в загущенных посевах при высоком обеспечении растений азотом ослабляется, что приводит к уменьшению её содержания в стеблях [Лясковский, 1989; Терентьев, 1974]. Особенно сильно в этих условиях снижается её содержание в единице длины стебля, связанного с усиленным растяжением его клеток [Шеуджен и др., 1997]. Эти изменения в содержании клетчатки в стебле сопровождаются снижением сопротивляемости его на изгиб, полеганием растений при образовании у них высокой массы надземных органов.

Разная растяжимость клеток стебля сортов, связанная с их гормональным статусом, определяет у них и неодинаковое содержание целлюлозы в этом органе. Её содержание в сортах Рапан, Визит и Гамма с повышенной величиной роста побега существенно ниже, чем у Сонаты и Атланта. Установлено, что полегание растений на повышенном фоне азота происходит при содержании целлюлозы в 1 см длины нижней части стебля менее 4,8 мг, а на высоком фоне – менее 4,5 мг. Между её содержанием в стеблях (в 1 см длины) и величиной полегания посевов сортов риса установлена очень тесная обратная связь с коэффициентом корреляции: $-0,92 \pm 0,22$ - $-0,92 \pm 0,23$. Это свидетельствует о том, что по концентрации целлюлозы в стеблях при выращивании сортов на повышенном фоне азотного питания можно проводить оценку генотипов риса на устойчивость к полеганию.

Высокая устойчивость посевов риса к полеганию формируется в фазу выхода в трубку растений, когда образуются стебли и морфологические структуры метелки. Масса этих органов в фазе цветения у интенсивных и экстенсивных сортов риса

существенно различается, что определяется разной интенсивностью притока к ним метаболитов растения в период их формирования. У интенсивного сорта Рапан больше ассимилятов используется на образование метелки и меньше на формирование стебля, в экстенсивных генотипах наоборот – больше расходуется метаболитов на образование стебля и меньше на метелку. Это приводит у первого сорта к повышенной продуктивности плодonoса, а отсюда и урожайности, но к меньшей устойчивости посевов к полеганию. У вторых сортов Сонаты и Атланта формируются более мощные, устойчивые к изгибу стебли, но с меньшей продуктивностью метелки. Установленные корреляционные связи между величиной полегания растений исследуемых сортов с массой их стебля и метелки в фазы цветения и полной спелости могут использоваться при оценке генотипов риса на продуктивность и устойчивость их к полеганию.

Однако определение установленных параметров признаков этой устойчивости является довольно сложным и трудоемким делом. При массовой оценке образцов риса на устойчивость к полеганию необходимы простые и надежные способы, результаты которых должны иметь тесную связь с величиной полегания посевов в полевых условиях.

Разработкой таких способов занимался ряд исследователей [Ламан, Каллер, 1988; Ляховкин, 2005; Терентьев, 1971]. К решению этой задачи подключились и мы. Предложен простой и быстрый метод оценки образцов риса на устойчивость к полеганию по уровню сопротивления нижней части стебля на изгиб.

Технология его проведения заключается в следующем. В период цветения-полная спелость зерна отбираются главные побеги риса в количестве 10 штук в трехкратной повторности. В лаборатории у них отрезаются нижние 12 см отрезки, включающие первое и второе междоузлия соломины. Полученный каждый отрезок нижней частью с помощью зажима фиксируется в горизонтальном положении на штативе и на его свободный конец закрепляется тарированная чашечка, на которую кладут разновесы до изгиба отрезка стебля на 30° и определяют массу нагрузки. Средняя (из результатов по 30 отрезкам) величина этой нагрузки – сортовой признак. Она на повышенном фоне азотного питания у достаточно устойчивых к полеганию сортов Атлант и Соната составила 73,8-79,8 г, а у менее устойчивых Рапан, Визит и Гамма – 60,0-62,5 г. На высоком фоне азота, величина нагрузки, вызывающая изгиб стебля у первых двух сортов уменьшилась до 66,4-72,3, а у вторых трех сортов до 56,2-58,5 г. Сортовые различия по сопротивляемости стебля на изгиб при повышении обеспеченности растений азотом хорошо сохраняются, корреляционная связь их с полегаемостью посевов составляет $-0,99 \pm 0,04$ - $-0,99 \pm 0,03$. Это позволяет оценивать селекционные образцы на потенциальную способность их к полеганию при выращивании на оптимальном фоне азотного питания, на котором полегание слабое или совсем не наблюдается. Для этого необходимо использовать сорт – контроль с известной величиной полегаемости посевов. Применение этого метода в лаборатории физиологии в течение десяти последних лет для оценки сортообразцов риса на устойчивость к полеганию показало его высокую эффективность.

Таким образом, большая доля ассимилятов фотосинтеза побега интенсивных сортов используется на формирование высоко озерненной метелки, определяющей продуктивность генотипа, но при этом снижается их устойчивость к полеганию. У экстенсивных сортов формируются более мощные, устойчивые к изгибу стебли, но с меньшей продуктивностью метелки. По величине данных параметров можно проводить оценку генотипов на продуктивность и их устойчивость к полеганию.

Литература

Дзюба В.А. Многофакторные опыты и методы биометрического анализа экспериментальных данных. – Краснодар, 2007. – 76 с.

Ламан Н.А., Каллер С.А. Оценка устойчивости зерновых культур к полеганию//Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям. – Л., 1988. – С. 113–128.

Лясковский М.И. Биосинтез и метаболизм целлюлозы в стебле озимой пшеницы//Химия древесины. – 1989. – № 5. – С. 106–114.

Ляховкин А.Г. Рис. Мировое производство и генофонд. – СПб.: «ПРОФИ-ИНФОРМ», 2005. – 288 с.

Петинов Н.С., Прусакова Л.Д. Изучение физиолого-биохимического механизма полегания сельскохозяйственных растений // Вестник АН СССР. – 1965. – № 6. – С. 80–84.

Палеев А.М. Полегание злаков и пути борьбы с ним//Биологические основы орошаемого земледелия. – М.: Изд-во АН СССР, 1957. – С. 595–610.

Терентьев В.М. Физиология устойчивости растений к полеганию и методы её оценки//Физиология растений в помощь селекции. – М.: Наука, 1974. – С. 108–123.

Федосеев А.П. Агротехника и погода. - Л.: Гидрометеиздат, 1979. – 239 с.

Шеуджен А.Х., Воробьев Н.В., Шеуджен Б.Е. и др. Полегание риса. – Краснодар, 1997. – 168 с.

Шеуджен А.Х., Бондарева Т.Н. Агротехника. Ч. 2. Методика агрохимических исследований: учеб. Пособие. – Краснодар: КубГАУ, 2015. – 703 с.

Шульгин И.А. Растение и солнце. - Л.: Гидрометеиздат, 1973. – 251 с.

Ямада Н. Предотвращение полегания //Теория и практика выращивания риса. – М., 1965. – С. 249–262.

PRODUCTIVITY AND LODGING RESISTANCE OF RICE VARIETY

M.A. Skazhennik, N.V. Vorobyov, V.S. Kovalyov, S.V. Garkusha, T.S. Pshenitsyna, I.V. Balyasny

All-Russian Rice Research Institute, Russia, sma_49@mail.ru

Abstract. The material of investigations were 5 rice varieties, close by duration of vegetation period; three of them were Rapan, Vizit, Gamma of intensive type, two of them were Sonata and Atlant of extensive type. The work was carried out in vegetative-microfield tests in ferro-concrete micro-check plots, filled with soil from rice check plots, in which rice irrigation mode was used under field conditions. The fertilizers as ammonium sulphate, superphosphate and potassium chlor were applied in two dosages: $N_{24}P_{12}K_{12}$ and $N_{36}P_{18}K_{18}$ g of active ingredient per 1 m². The carried out researches showed that genotypes of intensive type such as Rapan, Vizit, Gamma, photosynthesis assimilates at tillering-booting period of plants are used for stem formation, it causes high productivity of panicle and yield of these varieties, but with less lodging resistance of sowings. Varieties of extensive types, such as Sonata and Atlant, have assimilates of photosynthesis at tillering-booting period of plants are more than intensive varieties used for stem formation and less for panicle productivity elements formation. It causes panicle formation with low productivity and decrease of yield, but with high sowings lodging resistance of these varieties.

Keywords: rice, intensive and extensive varieties, panicle production, lodging resistance, yield

АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭТЕРОЛЕНОВОЙ КИСЛОТЫ И ЕЕ ГЕОМЕТРИЧЕСКИХ ИЗОМЕРОВ – ПРОДУКТОВ ЛИПОКСИГЕНАЗНОГО КАСКАДА РАСТЕНИЙ

Е.О. Смирнова, Я.Ю. Топоркова, С.С. Горина, О. Е. Петрова, Л.Ш. Мухтарова, А.Н. Гречкин

Казанский институт биохимии и биофизики – обособленное структурное подразделение Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия, kibmail@kibb.knc.ru

Аннотация. Представлены данные о влиянии геометрии двойных связей на антибактериальные свойства разных изомеров этероленовой кислоты в отношении фитопатогенных бактерий. ($\omega 5Z$)-этероленовая кислота обладает бактерицидными свойствами против *Xanthomonas campestris* ssp. *vesicatoria*, *Pseudomonas syringae* ssp. *tomato*, *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043; этероленовая и (11Z)-этероленовая кислоты проявляют бактериостатический эффект.

Ключевые слова: оксилитины, липоксигеназный каскад, цис-транс-изомерия, дивинилэфирсинтазы, дивиниловые эфиры

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-716-719

Растительные оксилитины – группа вторичных метаболитов, играющие важную роль при формировании ответа растениями на стрессовые факторы, к которым, в том числе, относится воздействие фитопатогенных организмов.

Оксилитины являются продуктами липоксигеназного каскада, ключевыми ферментами которого являются липоксигеназы и цитохромы P450 семейства CYP74, которое включает алленоксидсинтазы (АОС), гидропероксидлиазы (ГПЛ), дивинилэфирсинтазы (ДЭС) и эпоксиалкогольсинтазы (ЭАС). Дивинилэфирсинтазы, продуктами каталитического действия которых являются дивиниловые эфиры (ДЭ), менее распространены в растительном мире, чем АОС и ГПЛ. К настоящему времени ДЭ выявлены у растений семейства *Solanaceae*, а также чеснока (*Allium sativum*), льна-долгунца (*Linum usitatissimum*), лютика едкого (*Ranunculus acris*) и плаунка *Selaginella moellendorffii* [Gorina et al., 2016]. При этом только у последнего вида обнаружено два фермента, обладающих активностью ДЭС – CYP74M1 (SmDES1) и CYP74M3 (SmDES2).

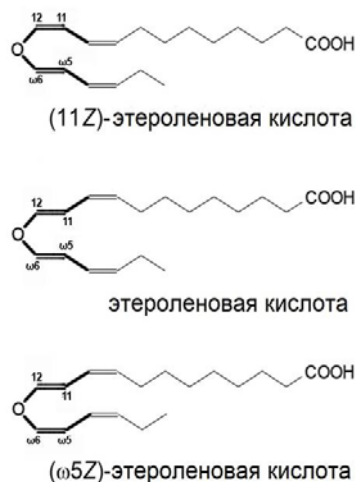


Рис. 1. Структурные формулы ДЭ, исследуемых в данной работе. Полужирным шрифтом и цифрами отмечены положения углерода, по которым целевые ДЭ различаются в геометрии двойных связей.

Одним из субстратов для SmDES1 и SmDES2 является (9Z,11E,13S,15Z)-13-гидроперокси-9,11,15-октадекатриеновая кислота (13-ГПОТ). 13-ГПОТ при участии SmDES1 превращается, в основном, в (11Z)-этеролоновую кислоту, тогда как при участии SmDES2 – в основном в этеролоновую кислоту. В обоих случаях минорным продуктом является (ω 5Z)-этеролоновая кислота. Эти изомеры различаются геометрией единственной двойной связи (*цис*- и *транс*-) (рис. 1). Значение такого разнообразия изомеров этеролоновой кислоты для *S. moellendorffii* до сих пор не имеет объяснения.

В настоящей работе мы исследовали антибактериальную активность ДЭ плаунка *S. moellendorffii* – этеролоновой, (11Z)-этеролоновой и (ω 5Z)-этеролоновой кислот – против грамотрицательных фитопатогенных бактерий *Xanthomonas campestris* ssp. *vesicatoria*, *Pseudomonas syringae* ssp. *tomato*, *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043.

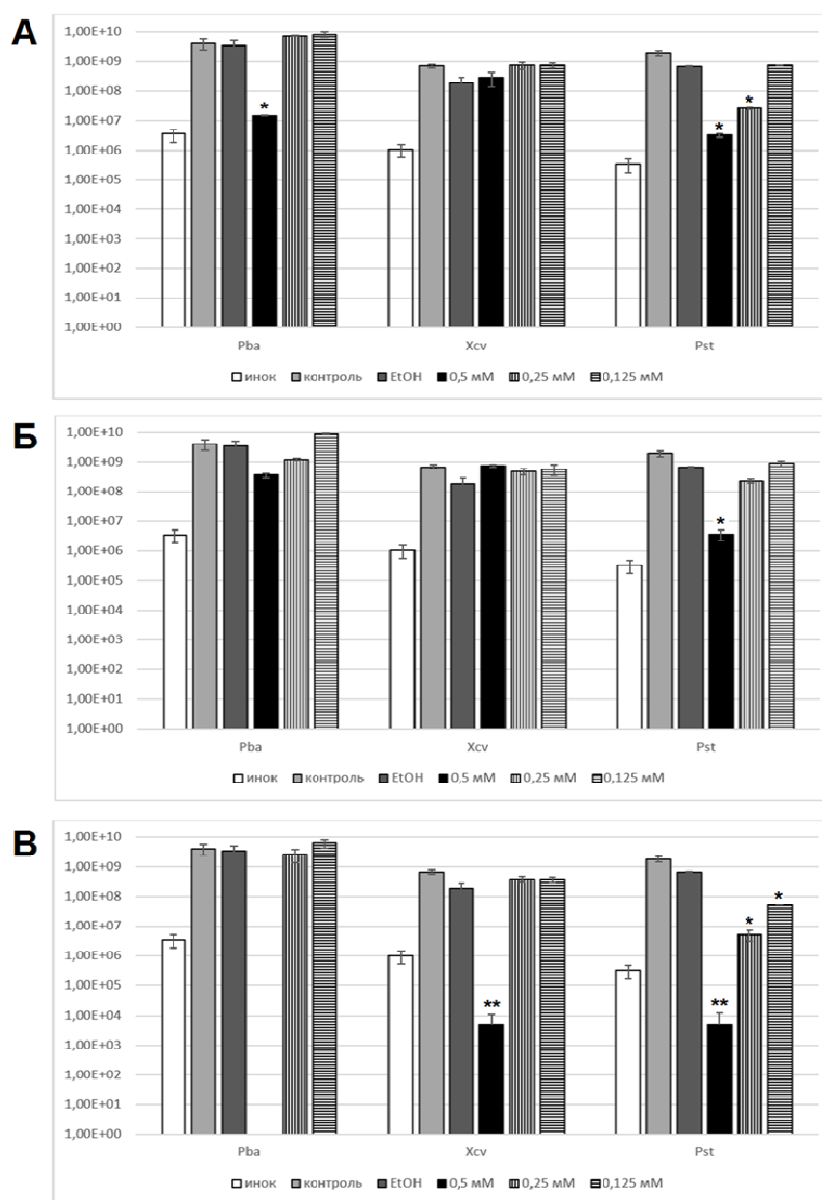


Рис. 2. Титр КОЕ/мл в культурах *P. atrosepticum* (Pba), *X. campestris* (Xcv), *Ps. syringae* (Pst), культивируемых в течение 24 ч в отсутствие (контроль) и в присутствии 0,5% этанола (EtOH), а также 0,5, 0,25 и 0,125 мМ этеролоновой (а), (11Z)-этеролоновой (б) и (ω 5Z)-этеролоновой (в) кислот. (Иноку) – титр инокуляции бактерий. М±SD, n (число опытов)=5; *p<0,05, **p<0,01 при сравнении с группой “EtOH”.

В концентрации 0,5 мМ исследуемые оксипилены оказывали дифференцированное антимикробное действие на патогенные бактерии. Этеролоеновая кислота ингибировала рост *Ps. syringae* и *P. atrosepticum*, но не влияла на *X. campestris* (рис. 2А). (11Z)-этеролоеновая кислота оказывала бактериостатическое действие на *Ps. syringae*, но не влияла на *P. atrosepticum* и *X. campestris* (рис. 2Б). (ω5Z)-этеролоеновая кислота оказывала выраженный бактерицидный эффект на все микроорганизмы: число жизнеспособных клеток *P. atrosepticum* необратимо снизилось до неопределяемых значений через 24 ч культивирования; количество жизнеспособных клеток *X. campestris* и *Ps. syringae* снизилось на 2 порядка в первые сутки (рис. 2В), через 48 ч культивирования эти бактерии полностью теряли способность к образованию колоний. При концентрациях 0,25 мМ и ниже этот изомер не оказывал никакого влияния на *P. atrosepticum* и *X. campestris*, однако при концентрациях 0,25 и 0,125 мМ проявлял бактериостатические свойства в отношении *Ps. syringae* (рис. 2В). Этеролоеновая и (11Z)-этеролоеновая кислоты при использовании концентрации 0,25 мМ обладали бактериостатическим действием на *Ps. syringae*, хотя и меньшим, чем при концентрации 0,5 мМ (рис. 2А, Б). Таким образом, полученные нами результаты согласуются с представлением [Fammartino et al., 2010] об участии ветви ДЭС в защитном ответе растений и формировании их устойчивости к патогенам.

В литературе имеются данные, что жирные кислоты с *цис*-двойными связями обладают более выраженными антибактериальными свойствами, чем жирные кислоты с *транс*-двойными связями [Desbois et al., 2010]. *Цис*-двойные связи термодинамически неустойчивы по сравнению с *транс*-связями. Энергия активации у *цис*-связей существенно ниже [Galbraith et al., 1971], а реакционная способность – выше, чем у *транс*-двойных связей. Конъюгированные *цис*-связи имеют ещё более низкую энергию активации и, по-видимому, более активны в отношении патогенов, чем единичные, как это было продемонстрировано в наших исследованиях. Вероятно, две сопряженные *цис*-двойные связи важны для проявления бактерицидных свойств. Так, минорный продукт каталитической активности ферментов SmDES1 и SmDES2 – (ω5Z)-этеролоеновая кислота – проявляет наибольшую биологическую активность в отношении изученных бактерий, вероятно, в силу наличия сопряженных *цис*-двойных связей. Наличие комплекса ферментов синтеза биологически активных ДЭ у древнейших сосудистых растений отдела плауновидные, возможно, является одним из факторов, которые обусловили их повсеместное распространение и сохранение до настоящего времени.

Работа проведена при финансовой поддержке Российского научного фонда (Проект № 16-14-10286).

Литература

Топоркова Я.Ю., Бессолицына Е.К., Смирнова Е.О., Горина С.С., Петрова О.Е., Мухтарова Л.Ш., Гречкин А.Н. Антимикробная активность геометрических изомеров этеролоеновой кислоты – продуктов липоксигеназного каскада растений // Доклады академии наук. – 2018. – № 1. – С.117–120.

Desbois A.P., Smith V.J. Antibacterial free fatty acids: activities, mechanisms of action and biotechnological potential // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2010. – V. 85. – P. 1629–1642.

Fammartino A., Verdaguer B., Fournier J., Tamietti G., Carbonne F., Esquerre-Tugaye M.-T., Cardinale F. Coordinated transcriptional regulation of the divinyl ether biosynthetic genes in tobacco by signal molecules related to defense // Plant Physiol. Biochem. – 2010. – V. 48. – P. 225–231.

Galbraith H., Miller T.B., Paton A.M., Thompson J.K. Antibacterial activity of long chain fatty acids and the reversal with calcium, magnesium, ergocalciferol and cholesterol // J. Appl. Bacteriol. – 1971. – V. 34. – P. 803–813.

Gorina S.S., Toporkova Y.Y., Mukhtarova L.S., Smirnova E.O., Chechetkin I.R., Khairutdinov B.I., Gogolev Y.V., Grechkin A.N. Oxylin biosynthesis in spikemoss *Selaginella moellendorffii*: molecular cloning and identification of divinyl ether synthases CYP74M1 and CYP74M3 // Biochim. Biophys. Acta – 2016. – V. 1861, No. 4. – P. 301–309.

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ETHEROLENIC ACID AND ITS GEOMETRIC ISOMERS – THE LIPOXYGENASE PATHWAY PRODUCTS OF PLANTS

E.O. Smirnova, Y.Y. Toporkova, S.S. Gorina, O.E. Petrova, L.S. Mukhtarova, A.N. Grechkin

Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics of Kazan Science Center of the Russian Academy of sciences, Kazan, Russia, kibmail@kibb.knc.ru

Abstract. The results of the presented work show how geometry of double bonds effect on the antibacterial properties of different isomers of etherolenic acid against phytopathogenic bacteria. (ω 5Z) - etherolenic acid has bactericidal properties against *Xanthomonas campestris* ssp. *vesicatoria*, *Pseudomonas syringae* ssp. *tomato*, *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043; etherolenic acid and (11Z)-etherolenic acid have a bacteriostatic effect.

Keywords: *oxylipins, lipoxygenase pathway, cis-trans isomers, divinyl ether synthase, divinyl ethers*

САЛИЦИЛОВАЯ И ЖАСМОНОВАЯ КИСЛОТЫ ВО ВЗАИМОДЕЙСТВИИ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ С ПАТОГЕННЫМИ И ЭНДОФИТНЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ

А.В. Сорокань, Г.Ф. Бурханова, И.В. Максимов

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия, fourtyanns@googlegmail.com

Аннотация. Показано, что обработка растений эндофитными микроорганизмами *Bacillus subtilis* 26Д увеличивала устойчивость растений картофеля к фитофторозу, стимулируя локальный окислительный взрыв и накопление лигнина в местах внедрения патогена. Предварительная обработка растений жасмоновой кислотой значительно снижала содержание живых бактерий во внутренних тканях растений и нарушала формирование устойчивости, что было связано с отсутствием транскрипции патоген-индуцируемых белков растений.

Ключевые слова: салициловая кислота, жасмоновая кислота, *Phytophthora infestans*, *Bacillus*

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-720-724

В последние десятилетия в мире растет интерес к биологическим средствам защиты растений, которые, в отличие от химических средств, экологичны и безопасны при применении. К ним следует отнести соединения природного происхождения или химически синтезированные их аналоги, а также живые культуры микроорганизмов, способные стимулировать иммунный потенциал растений в отношении патогенов [Barruiso et al., 2008]. Устойчивость растений к патогенам обычно проявляется в виде системной индуцированной устойчивости или системной приобретенной устойчивости, в которую в качестве посредников вовлечены жасмоновая (ЖК) и салициловая (СК) кислоты соответственно [Pieterse et al., 2014]. Исследованиями последних лет доказано, что многие организмы, в том числе и сельскохозяйственные культуры, содержат в своих тканях эндофитные микроорганизмы (бактерии, грибы). Среди эндофитных микроорганизмов значительный интерес вызывают бактерии рода *Bacillus*, на основе которых создают препараты против патогенов [Сорокань и др., 2015].

Ряд штаммов бактерий *B. subtilis* продуцируют антибиотические липопептиды, подавляющие жизнедеятельность патогенных микроорганизмов. Так, штамм *B. subtilis* 26Д продуцирует липопептид сурфактин, эффективный против ряда патогенов сельскохозяйственных растений [Agaújo et al., 2007]. Однако, фундаментальные основы физиолого-биохимических механизмов формирования устойчивости растений к патогенам под влиянием *B. subtilis* 26Д остаются еще практически не исследованными.

Цель работы – определение влияния воздействия салициловой или жасмоновой кислот и штамма эндофитной бактерии *B. subtilis* 26Д на формирование у них устойчивости к возбудителю фитофтороза *P. infestans*.

Как видно из рис. 1, инфицирование растений картофеля приводит к лигнификации клеток, прилегающих к месту внедрения патогена и развития СВЧ. Нахождение клеток эндофитных бактерий штамма *B. subtilis* 26Д способствует как более выраженной автофлуоресценции клеточных стенок в норме, так и интенсификации образования лигнина вокруг пораженных зон, что может объясняться увеличением пероксидазной активности в клеточных стенках как неинфицированных, так и инфицированных растений картофеля, обработанных *B. subtilis* 26Д (рис. 1).

Таким образом, помимо антибиотического воздействия метаболитов, *B. subtilis* 26Д стимулирует локальный иммунный ответ растений на внедрение патогена.

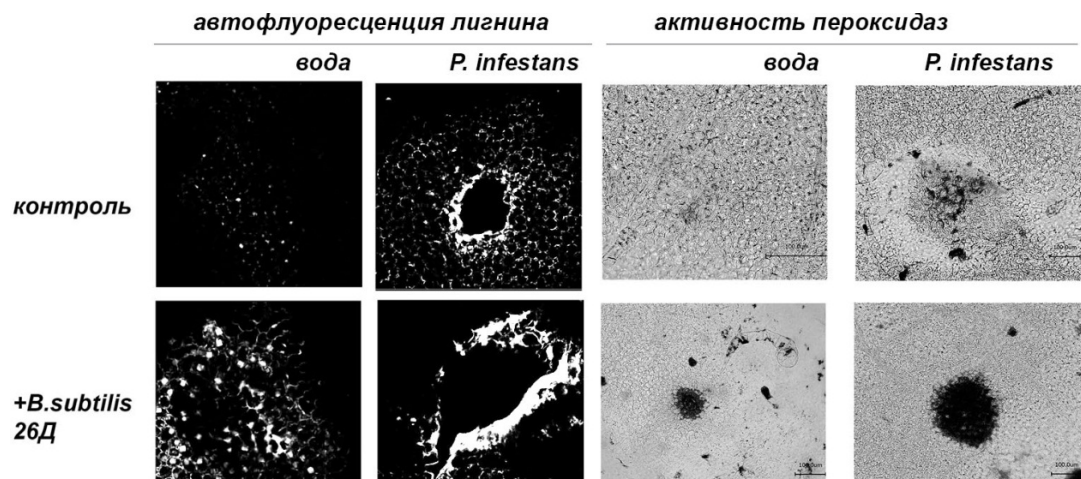


Рис. 1. Накопление лигнина и активность пероксидаз в клеточных стенках растений картофеля под действием эндофитных бактерий *B. subtilis* 26Д и инфицирования возбудителем фитофтороза.

Как было показано ранее, обработка растений *B. subtilis* 26Д существенно снижает проявление симптомов фитофтороза на листьях растений. Воздействие ЖК на растения картофеля подавляет защитный эффект *B. subtilis* 26Д, причем, чем ниже доза ЖК, тем меньше проявляется эффект. При этом в сочетании с 1М СК устойчивость растений повышалась относительно обработок *B. subtilis* 26Д в отдельности, и при снижении концентрации СК количество симптомов возрастало (рис. 1).

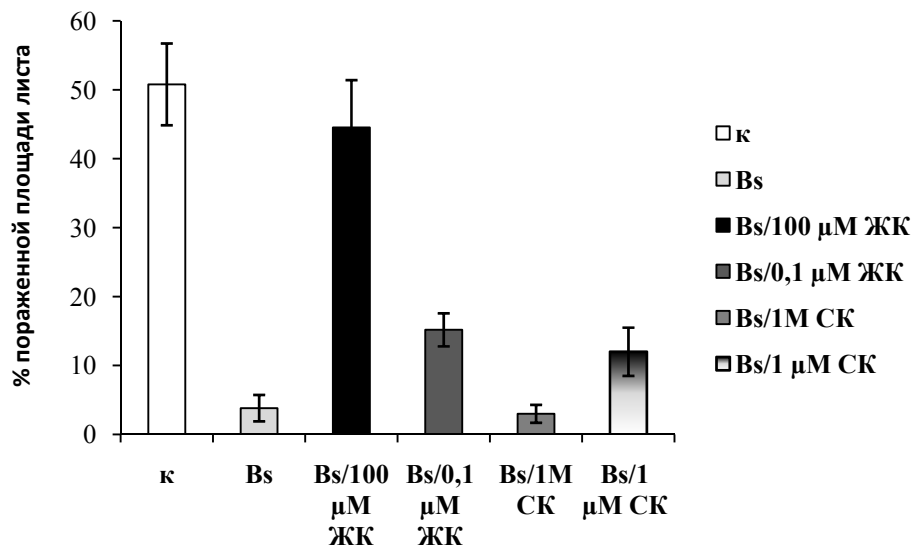


Рис. 2. Влияние СК и ЖК на иммуностимулирующие свойства *B. subtilis* 26Д.

Было выявлено, что обработка растений низкой концентрацией ЖК снижает содержание КОЕ бактерий во внутренних тканях растений почти вдвое, а высокой – практически на порядок. Предварительная обработка растений салициловой кислотой как в высокой, так и в низкой концентрациях так же снижали этот показатель, но зависимости от концентрации фитогормона не наблюдалось.

Таблица 1.

Содержание КОЕ *B. subtilis* 26Д в тканях растений картофеля, испытывающих воздействие СК и ЖК

Содержание КОЕ/г сырой массы*10 ⁵				
Контроль (без обработки)	СК, μМ		ЖК, μМ	
	1000	1	100	0,1
22	2,8	3,5	1	10

Таким образом, ЖК в концентрации, обычно используемой для стимуляции фитоиммунитета, в большей степени подавляла проникновение бактерий в ткани растений.

Ранее нами было показано, что в растениях картофеля при формировании у них защитного ответа к возбудителю фитофтороза с участием пероксидазы жасмоновая сигнальная система оказывается более эффективной, и лучше контролирует устойчивость [Maksimov et al., 2014]. Механизм снижения устойчивости растений при последовательном использовании ЖК и эндофитного микроорганизма в литературе ранее не был описан, поэтому были проведены дальнейшие исследования.

Так, высокая концентрация ЖК в сочетании с обработкой *B. subtilis* 26Д подавляла транскрипционную активность защитных генов как неинфицированных, так и в инфицированных возбудителем фитофтороза растениях (рис. 3, 4), а в низкой практически не изменяла наблюдаемого под действием бактериальной обработки увеличения содержания их транскриптов.

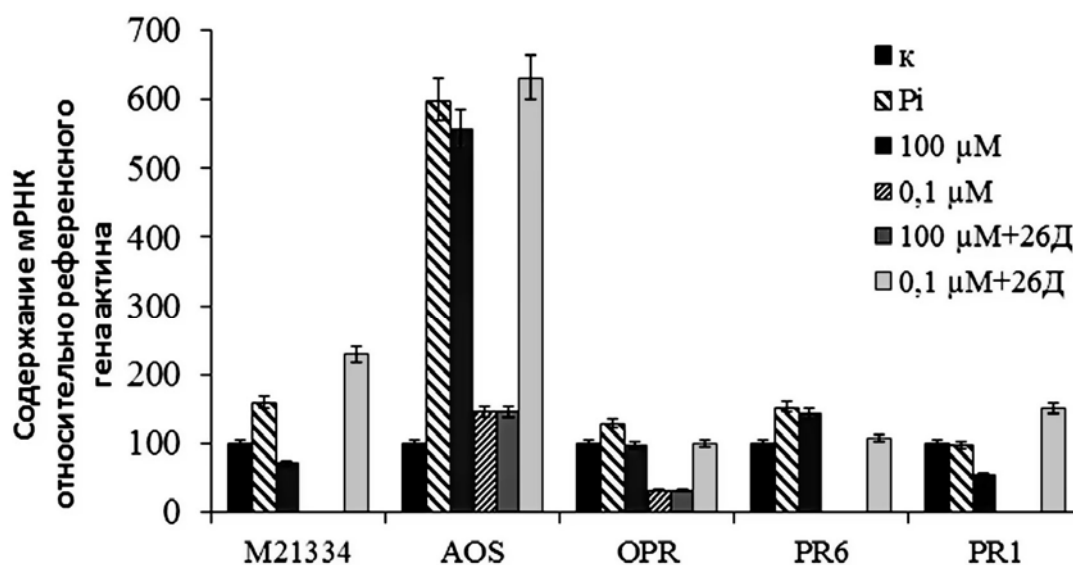


Рис. 3. Содержание транскриптов защитных генов картофеля в растениях картофеля под действием эндофитных бактерий *B. subtilis* 26Д и жасмоновой кислоты.

Таким образом, предварительная обработка растений жасмоновой кислотой значительно снижала содержание живых бактерий во внутренних тканях растений и активность транскрипции патоген-индуцируемых белков растений, что нарушало формирование устойчивости к патогену. Так как содержание жасмоновой кислоты в растениях увеличивается к моменту формирования клубней, то эффективность обработок растений бактериями в течение вегетационного периода снижается.

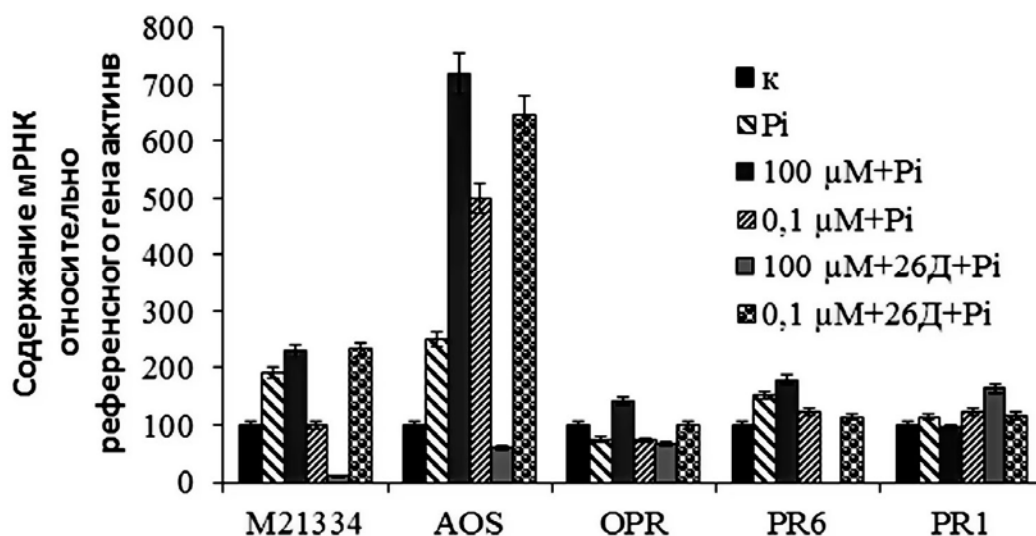


Рис. 4. Содержание транскриптов защитных генов картофеля в инфицированных возбудителем фитофтороза растениях под действием эндофитных бактерий *B. subtilis* 26D и жасмоновой кислоты.

Работа выполнена в рамках Госзадания № 116020350027-7 (2016-2018) при частичной финансовой поддержке РФФИ 17-29-08014 офу_м.

Литература

Сорокань А.В., Благова Д.К., Веселова С.В. и др. Фунгицидная и инсектицидная активность эндофитных бактерий рода *Bacillus* // Мат. IX Междунар. конф. «Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты». – Минск, 2015. – С. 210.

Araújo É.O. Rizobacteria in the control of pest insects in agriculture // African J. Plant Sci. – 2015. – V. 9, No. 9. – P. 368–373.

Barruiso J., Solano B.R., Lucas J.A., Lobo A.P., GarsiaVillaraco A., Manero F.L.G. // Plant-bacteria Interaction: Strategies and Technigues to Promote Plant Growth (Eds. I. Ahmad, J. Pichtel, S. Hayat). – Weinheim: WilleyVCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2008. – P. 1–17.

Maksimov I.V., Abizgildina P.P., Sorokan' A.V., Burkhanova G.F. 2014. Regulation of peroxidase activity under the influence of signaling molecules and *Bacillus subtilis* 26D in potato plants infected with *Phytophthora infestans* // Applied Biochemistry and Microbiology. – 2014. – V. 50 (2). – P.173–178.

Pieterse C.M., Zamioudis C., Berendsen R.L., Weller D.M., Van Wees S.C., Bakker P.A. 2014. Induced systemic resistance by beneficial microbes // Annu. Rev. Phytopathol. – 2014. – V. 52. – P. 347-75.

SALICYLIC AND JASMONIC ACID DURING THE INTERACTION OF POTATO PLANTS WITH PATHOGENIC AND ENDOPHYTIC MICROORGANISMS

A.V. Sorokan, G.F. Burhanova, V.I. Maksimov

Institute of biochemistry and genetics of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia,
fourtyanns@googlemail.com

Abstract. It was shown that treatment of plants with endophytic strain *Bacillus subtilis* 26D increased the resistance of potato plants to the late blight, stimulated local oxidative burst and accumulation of lignin in sites of the pathogen penetration. Pretreatment of plants with jasmonic acid significantly reduced the content of colony-forming bacteria in the internal tissues of plants and disrupted the formation of resistance, which was due to the lack of transcription of pathogenesis-related proteins.

Keywords: *salicylic acid, jasmonic acid, Phytophthora infestans, Bacillus*

ПИГМЕНТНЫЙ КОМПЛЕКС РАСТЕНИЙ ОВСА ПОСЕВНОГО В УСЛОВИЯХ ОСЕННЕГО ЗАКАЛИВАНИЯ

В.Е. Софронова, В.А. Чепалов

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологических проблем криолитозоны Сибирского отделения Российской академии наук, Якутск, Россия, vse07_53@mail.ru

Аннотация. Изучена динамика фотосинтетических пигментов в осенне-вегетирующих листьях ярового овса (*Avena sativa* L., сорта Покровский) позднего посева в условиях Центральной Якутии. Выявлено, что снижение содержания пигментов в зеленых молодых листьях обусловлено сезонным понижением температуры. Найдены не совпадающие между собой временные и температурные диапазоны, которые контролируют достоверное варьирование отдельных показателей пигментного состава: Хл ($a+b$) и суммы Кар, Хл ($a+b$)/Кар, Хла/Хлb.

Ключевые слова: *Avena sativa*, фотосинтетические пигменты, холодное закаливание

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-725-729

В условиях Центральной Якутии молодые растения *Avena sativa* позднего посева осенью вегетируют при пониженных и низких положительных температурах длительное время. Поэтому использование естественного холодного климата Якутии без возвратных потеплений в осенний период, консервирующего зеленую массу растений овса, является перспективным направлением в производстве сочных кормов в условиях многолетней мерзлоты [Иванов, Исаева, 2013].

Пластичность и адаптивность пигментного аппарата – существенный фактор структурно-функциональной устойчивости ФСА растений. В сезонном климате усиление защитных механизмов в ФСА сопровождается выраженными изменениями количественного и качественного состава фотосинтетических пигментов [Софронова и др., 2016; Перк и др., 2018]. В данной работе впервые проведены исследования динамики пигментного состава осенне-вегетирующих листьев *A. sativa* L. в условиях Центральной Якутии.

Объектом служили растения овса посевного с яровым типом развития (*A. sativa* L., сорт Покровский). Растения выращивали на опытном участке, расположенном на средней пойме р. Лена (окрестности Якутска, 62°15' с.ш., 129°37' в.д.). Почвы участка – пойменные лугово-черноземные, сформированные на легком суглинке. Схему полевых опытов планировали таким образом, чтобы у растений позднего посева не происходило огрубление побегов до периода достижения среднесуточных низких положительных температур от +5 °С до 0 °С в Центральной Якутии (середина сентября – начало октября). Овес контрольного варианта (I срок сева) высевался в оптимальные для климатического региона сроки (17 июня 2017 г.), опытный вариант (II срок сева) – в более поздние сроки (20 июля 2017 г.). Молодые растения позднего посева проходили период закаливающих среднесуточных пониженных и низких положительных температур воздуха от +10 до 0 °С, в течение не менее трех с половиной недель (таблица).

Температуру воздуха на участке регистрировали с помощью термографа DS 1922L iBitton (“Dallas Semiconductor”, США) с интервалом 1 ч. Фотосинтетические пигменты из свежего растительного материала экстрагировали 100% ацетоном при 8...10 °С на слабом свете. Гомогенат центрифугировали 20 мин при 8000 g при температуре 4 °С. Содержание Хл ($a + b$) и суммы Кар в супернатанте определяли спектрофотометрически с использованием спектрофотометра Agilent 8453E (“Agilent

Technologies Deutschland GmbH”, Германия) путем регистрации оптической плотности при длинах волн 662, 644 и 470 нм. Сухую массу растительного материала определяли высушиванием параллельных проб (50 мг, 3–4 повторности) до постоянного веса в сушильном шкафу при 100 °С и основной погрешностью стабилизации температуры ± 2 °С.

Эксперименты показали, что на содержание фотосинтетических пигментов в листьях овса влияет совокупность факторов: сроки посева, фазы роста и развития, количество осадков, температура воздуха и длина светового дня (таблица, рис. 1).

Таблица.

Сроки прохождения фенологических фаз развития *A. sativa* первого и второго посевов и метеорологические показатели в период проведения исследований (Центральная Якутия, 2017 г.)

Срок взятия проб	Фазы развития	Среднесуточная температура воздуха, °С*	Сумма осадков, мм**	Фотопериод, ч
I срок посева (17 июня), летний период				
17.07	начало выхода в трубку	20.8 \pm 3.4	1.0	18.4
01.08	выметывание	19.4 \pm 5.6	8.8	17.2
11.08	молочная спелость	17.6 \pm 1.6	12.6	16.2
21.08	восковая спелость	15.4 \pm 3.7	12.4	15.3
04.09	созревание	11.6 \pm 5.2	12.3	14.0
II срок посева (20 июля), осенний период				
11.08	кущение	17.6 \pm 1.6	12.6	16.2
21.08	начало выхода в трубку	15.4 \pm 3.7	12.4	15.3
04.09	трубкование	11.6 \pm 5.2	12.3	14.0
13.09	трубкование	8.0 \pm 3.8	35.5	13.1
18.09	выметывание	6.9 \pm 3.0	12.2	12.4
26.09	молочная спелость	5.0 \pm 3.1	10.7	11.6
02.10	молочная спелость	0.2 \pm 1.0	11.0	11.2

*за 48 ч до взятия проб; **за 10 суток до взятия проб, представлены данные Якутского республиканского центра по гидрометеорологии и мониторингу.

В динамике за вегетационный период у растений с оптимальным сроком посева нет четко выраженного максимума в накоплении пигментов. Уровень накопления Кар тесно коррелировал с содержанием Хл (рис. 1а). Наименьшее содержание фотосинтетических пигментов выявлено в засушливый период июля (таблица, рис. 1а). Мы связываем это с адаптацией ФСА к высокой инсоляции и недостатку влаги. Плотность потока ФАР в дневные часы в июле доходила до 1200...1500 мкмоль/(м² с) при сумме осадков 1 мм за декаду. Как правило, содержание пигментов у большинства травянистых растений повышается в генеративной фазе. В это время сильно замедляется прирост площади листьев у овса. Действительно, к фазе выметывания метелки, когда для анализа использовали только флаговые листья, наблюдали повышение уровня Хл ($a+b$) на 39%, суммы Кар на 55% (рис. 1а). Дополнительно, положительный эффект оказало выпадение умеренных осадков в течение третьей декады июля (таблица). После цветения формирование новых листьев на растении не наблюдается, в то время как площадь флагового листа возрастает до фазы молочной спелости [Мыхлык, Дуктова, 2015], который остается фотосинтетически активным до фазы восковой спелости, что позволяло поддерживать высокие уровни Хл и Кар с

уровнем вариабельности 7.5 и 5% соответственно (рис. 1а) на фоне умеренных осадков в течение августа (таблица). В фазе созревания семян происходило постепенное отмирание листьев, что приводило к падению содержания Хл и Кар в конце августа, начале сентября, несмотря на достаточное увлажнение (рис. 1а). Малая вариабельность соотношения Хла/Хлb у растений первого срока посева (2.2...2.4, рис. 2а) свидетельствует о постоянстве соотношения РЦ/ССК в ФСА не зависимо от фаз развития, суммы осадков.

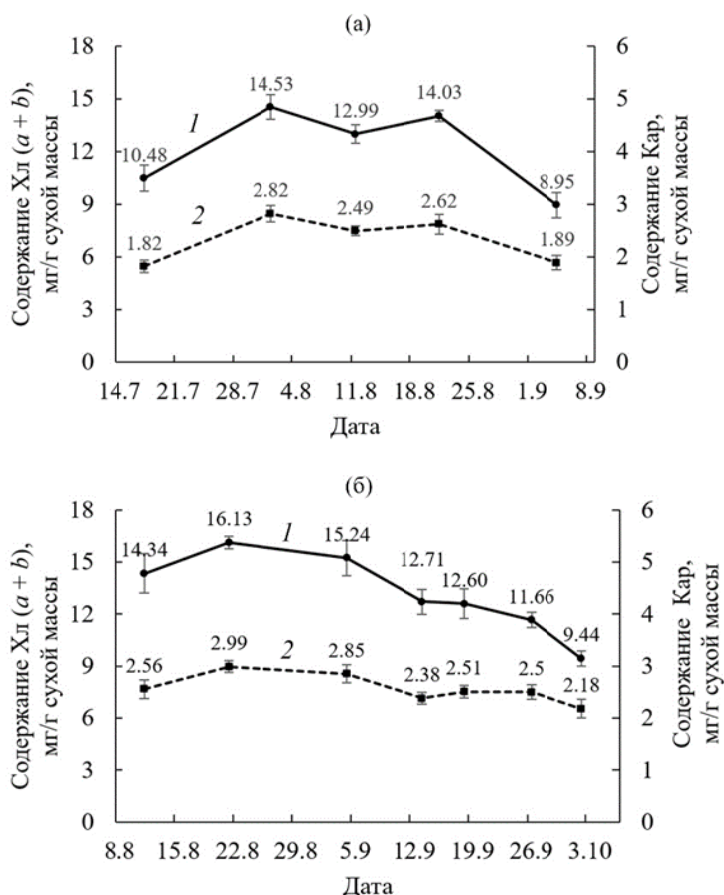


Рис. 1. Динамика содержания суммы Хл и Кар в листьях *A. sativa* первого (а) и второго (б) сроков посева. 1 – Хл (a+b); 2 – сумма Кар.

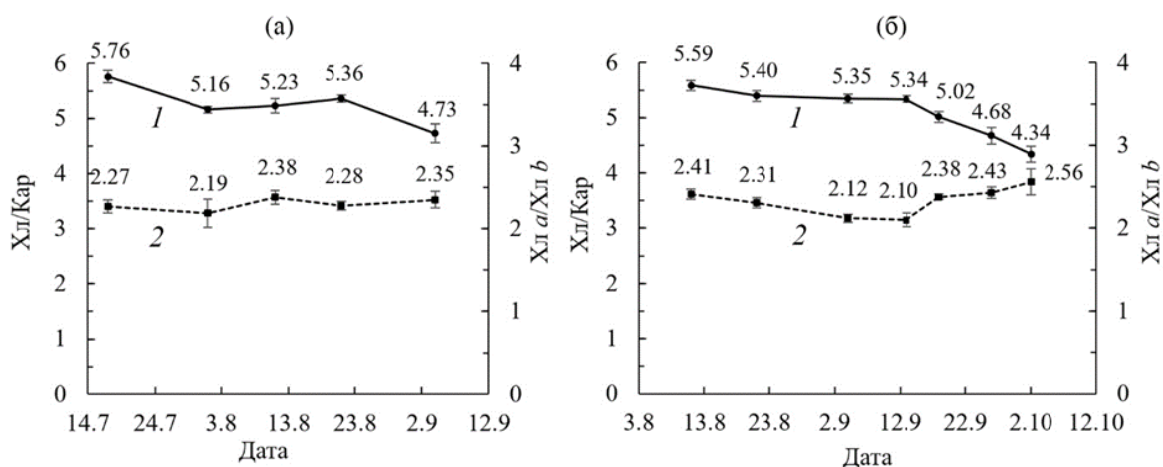


Рис. 2. Сезонная динамика соотношения фотосинтетических пигментов в листьях *A. sativa* первого (а) и второго (б) сроков посева. 1 – Хл a/b; 2 – Хл (a+b)/Кар.

Для осенне-вегетирующих растений позднего срока посева в диапазоне среднесуточных температур 11...15 °С было характерно более высокое содержание Хл и Кар по сравнению с летне-вегетирующими растениями (рис. 2б). Мы полагаем, что причина этих различий обусловлена влиянием погодных условий (таблица). К этому времени наблюдали регулярное выпадение осадков с преобладанием облачных дней. Дальнейшее снижение среднесуточной температуры от 8 °С до 1 °С, укорочение фотопериода приводило к постепенному уменьшению содержания Хл ($a+b$) на 40...41% относительно начала третьей декады августа. Депрессия содержания суммы Кар при сезонном снижении температуры была ниже таковой для Хл ($a+b$) и составила 27.1%.

Незначительное снижение соотношения Хл a/b (2.1) у осенне-вегетирующих растений овса в первой половине сентября при 8...12 °С отражает увеличение доли пигментов в ССК ФСА от 65 до 70 % в дождливые дни. В целом, амплитуды колебаний этого показателя были сопоставимы для растений обоих сроков посева до 18 сентября (рис. 2). Таким образом, отношение доли Хла, входящего в состав РЦ, к доле Хла, принадлежащего к ССК не зависит от снижения температуры до 6...8 °С, что косвенно свидетельствует о холодной устойчивости соотношения РЦ/ССК в ФСА овса. Дальнейшее снижение температур воздуха от 5.1 до 0...1 °С с 20 сентября по 2 октября (таблица) приводило к медленному достоверному увеличению соотношения Хл a/b (2.56), что косвенно указывает на уменьшение поперечного сечения ССК ФСА, направленное на адаптивное снижение абсорбции света на единицу площади листа при низких положительных температурах.

Соотношение (Хл $a+b$)/Кар является индикатором «зрелости» растений, его низкие значения являются показателями старения, стресса или повреждения ФСА [Баталова и др., 2017]. Величины этого показателя в фазе кущения и начале трубкования для обоих сроков посевов овса, независимо от количества осадков, имели высокие значения (5.6...5.8), что обусловлено молодым возрастом растений (таблица, рис. 2). Не намного ниже были показатели соотношения (5.2...5.4) у летне-вегетирующих растений в период выметывания, молочной и восковой спелости и у осенне-вегетирующих растений позднего посева до фазы выметывания (рис. 2). Значительное снижение (до 4.7) у растений первого срока посева наблюдали в ходе старения листьев. У осенне-вегетирующих растений позднего посева снижение соотношения (Хл $a+b$)/Кар связано с увеличением доли Кар в пигментном пуле ФСА в еще молодых зеленых листьях при снижении температуры до 2.4...6.9 °С. Необходимо отметить, что общее содержание Кар в диапазоне низких положительных температур 2.4...5.1 °С оставалось довольно высоким (2.5 мг/г сухой массы) и было всего на 5...11% ниже, чем у летне-вегетирующих растений в аналогичных фазах развития. Мы предполагаем, что в диапазоне указанных низких температур фотопротекторные и антиоксидантные функции Кар имеют важное значение для поддержания структурной целостности ФСА. Значительное снижение Кар, так и соотношения (Хл $a+b$)/Кар также выявлено при повреждающих околонулевых температурах в начале октября (рис. 1б и 2б).

Литература

Баталова Г.А., Лисицын Е.М., Тулякова М.В. Изучение состояния фотосинтетического аппарата овса в селекции на устойчивость к эдафическому стрессу // Зернобобовые и крупяные культуры. – 2017. – №3(23). – С. 43–50.

Иванов Б.И., Исакова И.Ю. Эколого-биологические особенности кормопроизводства в криолитозоне России // Наука и образование. – 2013. – № 2. – С. 101–106.

Мыхлык А.И., Дуктова Н.А. Оценка фотосинтетической деятельности сортов овса посевного в зависимости от уровня азотного питания // Вестник Белорусской сельскохозяйственной академии. – 2015. – Вып. 3. – С. 130–137.

Софронова В.Е., Дымова О.В., Головки Т.К., Чепалов В.А., Петров К.А. Адаптивные изменения пигментного комплекса хвои *Pinus sylvestris* при закаливании к низкой температуре // Физиология растений. – 2016. – Т. 63, № 4. – С. 461–471.

Перк А.А., Чепалов В.А., Нохсоров В.В., Явловская Л.Л., Софронова В.Е., Петров К.А. Способ получения растительного сырья с повышенным содержанием каротиноидов / Патент России № 2649338. 2017. Бюл. № 10.

CHANGES IN THE CONTENT OF PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS IN *AVENA SATIVA* DURING ACCLIMATION TO AUTUMNAL COLD TEMPERATURES

V.E. Sofronova, V.A. Chepalov

Institute for Biological Problems of Cryolithozone Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Yakutsk, Russia, vse07_53@mail.ru

Abstract. We found that low temperature is the important trigger for the autumn downregulation of Chl (*a+b*) and carotenoids in green leaves of field grown spring cultivar oat plants, Pokrovsky (*Avena sativa* L.), which were sown at the end of July. We revealed different time and temperature ranges of variation for chlorophylls (*a+b*) and carotenoids and increase in the Chl *a/b* ratio, decrease in the Chl (*a+b*)/carotenoids ratio.

Keywords: *Avena sativa*, photosynthetic pigments, cold acclimation

ВЛИЯНИЕ ЗАСУХИ НА УРОЖАЙ СОРТОВ ВИНОГРАДА

В.Ю. Стаматиди, И.И. Рыфф

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия «Магарач» Российской академии наук, Ялта, Россия, *stamatidi777@mail.ru*

Аннотация. Статья посвящена вопросу устойчивости к засухе сортов винограда. Установлено достоверное различие по продуктивности классического сорта Муската белого и его аналога нового сорта Цитронный Магарача при засухе. Предлагается в районах с частыми периодами засухи расширить посадки сорта Цитронный Магарача.

Ключевые слова: виноград, сорт, урожай, засухоустойчивость

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-730-732

Виноград в Крыму возделывается почти на всей территории, исключая высокогорные и некоторые степные районы с засоленными почвами [Болгарев, 1960].

Жара, засуха и засоление являются основными факторами внешней среды, ингибирующих многие метаболические процессы и, в итоге, лимитирующих рост и урожайность растений [Рифф, Нілов, 2006].

Многолетними наблюдениями показано, что виноградники Крыма каждый второй год в той или иной степени страдают от жары и засухи. В связи с глобальным потеплением климата, остро встает вопрос о засухоустойчивости растений винограда [Нілов, 2001].

По данным метеостанции Никитского сада, за последние 20 лет, наблюдается рост числа дней с температурой выше 30 °С, в период созревания урожая. При таких температурах подавляется фотосинтез, виноград теряет свое качество. Необходимым становится изменение сортового состава винограда на сорта лучше адаптирующиеся к повышенным температурам и засухе.

В таблице 1 приведены данные за 2015-2017 годы, свидетельствующие о росте количества дней с температурами выше 30 °С. Если в 2015 году количество дней с температурой превышающей 30 °С было незначительно, то в 2016 и 2017 годах их было больше. В 2016 году максимальные температуры наблюдались во второй декаде августа, а в 2017 году максимальные температуры выпали на начало августа (т.е. затронули важный период в процессе созревания винограда).

Таблица 1.

Графики максимальных температур в августе на Южном берегу Крыма (Джемиет) 2015-2017 гг.

Годы наблюдений	Количество дней с температурой выше 30°C
2015	7
2016	17
2017	21

Большое внимание при сравнении сортов винограда уделяется их плодоношению. К показателям урожая относят процент плодоносности побегов, число гроздей на плодоносных побегах, средний вес гроздей [Негруль, 1979]. В условиях засухи ингибируется фотосинтез, что сказывается на снижении количественных и качественных показателей урожая. [Кузнецов, 2011]. При засухе и повышенных температурах многие грозди винограда с ягодами усыхают (см. рисунок). Однако степень засухоустойчивости разных сортов винограда варьирует.



Рисунок. Вид усыхающего растения при действии засухи.

Цель работы – определение урожайности сортов винограда в условиях засухи.

В нашем исследовании рассматривается классический сорт винограда Мускат белый и новый сорт, выведенный в институте «Магарач», Цитронный Магарача. Оба эти сорта весьма ценные, т.к. используются для приготовления десертных вин.

Следует отметить, что сорта Цитронный Магарача и Мускат белый находятся на одном уровне в благоприятных условиях, но как только наступает физиологический стресс (засуха), сорта ведут себя по-разному. Цитронный Магарача показывает более высокую устойчивость к воздействию неблагоприятного фактора. Это является ключевым моментом, в связи с глобальным потеплением, дефицитом пресной воды, отсутствием на большей части виноградников систем орошения.

Таблица 2.

Сравнительная характеристика урожая Муската белого и Цитронного Магарача за 2015-2017 гг.

Показатели	Сорт					
	Мускат белый			Цитронный Магарача		
	2015 г.	2016 г.	2017 г.	2015 г.	2016 г.	2017 г.
Среднее количество гроздей, шт	21±2,03	19,5±1,35	15,7±2,24	32,3±2,9	28±1,1	26±2,74
Средняя масса грозди, г	219,1±2,15	191,9±1,52	184±1,58	167±7,71	160±2,24	154±2,55
Средний урожай с куста, кг	3,82±4,04	4,07±0,31	2,92±0,25	5,34±0,35	4,96±6,14	4,1±0,32

Исходя из представленных данных (табл. 1 и рисунок) видно, что при нарастающей засухе происходит уменьшение количества гроздей из-за засыхания ряда

гроздей, а также уменьшение массы грозди из-за сокращения количества мякоти и сока в ягодах. Все это приводит к снижению урожая.

Цитронный Магарача по сравнению с сортом Мускат белый показал более высокие показатели урожая. Следовательно, его можно рекомендовать к посадкам в районах с засушливыми условиями. Очень важным при этом является сохранение ценных характеристик Муската белого (ароматика и высокое содержание сахара) у сорта Цитронный Магарача.

Литература

Болгарев П.Т., Сарнецкий Г.А. Высокоштамбовая формировка винограда. – Симферополь: Крымиздат, 1976. – 141 с.

Кузнецов В.В., Дмитриева Т. А. Физиология растений. – М.: Абрис, 2011. – 786 с.

Негруль А.М., Гордеева Л.М., Казмыкова Т.И. Ампелография с основами виноградарства. – М.: Высшая школа, 1979. – 399 с.

Дикань А.П., Вильчинский В.Ф., Верновский Э.А., Заяц И.Я. Виноградарство Крыма. – Симферополь, 2001. – 405 с. – С. 77–83.

Рифф І.І., Нілов М.Г. Спосіб діагностики стійкості винограду до абіотичних факторів середовища. Патент №172080, Україна, А01Н1/04, А01G17/02. №u200603503; Заявл.31.03.2006; Опубл. 15.09.2006; Бюл.№9. – С. 1–4

THE INFLUENCE OF DROUGHT FOR PRODUCTIVITY OF THE SORTS OF VINE

V.Y. Stamatidi, I.I. Ryff

All-Russian National Research Institute of Viticulture and Winemaking “Magarach”, Russian Academy of Science”, Yalta, Russia, stamatidi777@mail.ru

Abstract. This article is dedicated to the sustainability of vines to drought. It is established the notable difference between classical cultivar of vines Muscat white and its analogue the new cultivar of Citric Magarach during the period of drought. It's offered to enlarge the cultivation of the cultivar Citric Magarach in the areas with frequent periods of drought.

Keywords: *vine, cultivar, yield, drought resistance*

СРАВНЕНИЕ МЕТОДОВ СКРИНИНГА РЕАКЦИИ ЛИСТОВОГО АППАРАТА ПШЕНИЦЫ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К ОСМОТИЧЕСКОМУ СТРЕССУ

В.Ю. Ступко¹, Н.В. Зобова¹, Н.А. Гаевский²

¹Красноярский научно-исследовательский институт сельского хозяйства – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», Красноярск, Россия, zobovnat@mail.ru

²Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский федеральный университет», Красноярск, Россия, nikgna@gmail.com

Аннотация: На примере показателей фотосинтетической активности генотипов яровой мягкой пшеницы, различающихся по степени устойчивости к осмотическому стрессу, проведено сравнение применимости расчетных параметров динамики фотосинтеза для наиболее быстрого и достоверного скрининга реакции фотосинтетического аппарата на стресс. Показатель E_k , рассчитанный по углу наклона световой кривой фотосинтеза, отражает ее особенности, подходит для анализа и представления большого объема данных в подобных исследованиях.

Ключевые слова: пшеница, световая кривая фотосинтеза, осмотический стресс

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-733-737

Оценка устойчивости культурных растений к осмотическому стрессу является неотъемлемой задачей селекционной работы во многих регионах России и за ее пределами. В последние годы наряду с классическими ревалентными показателями устойчивости растений к осмотическому стрессу (водный потенциал, устьичная проводимость, накопление пролина и др.) широко используют реакции фотосинтетического аппарата [Medrano, 2002; Ralph, 2005; Woo, 2008; Ступко, 2013]. Включению показателей фотосинтеза в перечень тест-реакций способствовало развитие методов регистрации флуоресценции хлорофилла и появление широкого спектра приборов, среди которых приоритетом пользуются РАМ-флуориметры. Эти приборы позволяют, не нарушая целостность объекта, параллельно исследовать такие важные показатели, как квантовый выход ФС2, скорость нециклического транспорта электронов, светозависимое и светонезависимое нефотохимическое тушение флуоресценции в режиме световой кривой фотосинтеза или во время индукционного периода.

Большинство полученных результатов указывают на адекватность выводов, сделанных на основе исследований флуоресценции хлорофилла. В тоже время не следует игнорировать работы, в которых авторы получили противоречивые результаты при оценке устойчивости растений к осмотическому стрессу, основанной на классических и флуоресцентных методах [например, Guretzki, 2013].

Целью данной работы стало представление и обсуждение собственного опыта применения РАМ-флуориметрии для скрининга сортов яровой пшеницы на устойчивость к осмотическому стрессу.

Сорта яровой мягкой пшеницы Саратовская 29 и Мильтурум 533, характеризуются, как устойчивые, селекционная линия «Минуса» – как не устойчивый генотип [Ступко, 2013]. Объект исследования – 10-ти дневные проростки выращивали в условиях светокультуры в растильнях объемом 2 дм³ на керамзите. Схема опыта: «норма» – полив до 60% от полной влагоемкости (ПВ) субстрата; «засоление» – NaCl

1,68% полив до 60% ПВ; «засуха» – прекращение полива за 7 суток до измерения параметров проростков. Повторность для каждого сорта – 25-ти кратная. Флуоресценцию хлорофилла регистрировали в средней трети части листовой пластины, показатели фотосинтеза которой имеют минимальную вариабельность [Ступко, 2013], Использовали РАМ-флуориметр IMAGING-PAM M-Series MAXI Version (HeinzWalzGmbH, Германия) в режиме записи световой кривой фотосинтеза (СКФ). Оценивали плотность потока фотонов (ППФ) возбуждающего света в интервале 20-395 мкмоль×м⁻²×с⁻¹; экспозиция между импульсами 30 сек. Расчет параметров СКФ: угол наклона начального участка кривой (α), максимальная скорость транспорта электронов (СТЭ_{макс}), минимальная насыщающая интенсивность ФАР (E_k), проводили согласно [Ralph, 2005]. Статистическая обработка результатов проведена с использованием «Statistica 6.0». Для всех показателей рассчитывали среднюю величину и стандартную ошибку, достоверность различий оценивали по t-критерию Стьюдента.

Результаты определения максимального квантового выхода ФС2 ($Y(II)_{\text{макс}}$) приведены в табл. 1.

Таблица 1.

Сравнение $Y(II)_{\text{макс}}$ у 10-дневных проростков пшеницы в контрольных и стрессовых условиях (среднее значение ± стандартная ошибка)

Генотип	Условия культивирования проростков		
	полив до 60% ПВ	NaCl 1,68%	отсутствие полива 7 суток
Мильтурум 533	0,659±0,012	0,671±0,018	0,657±0,026
Саратовская 29	0,678±0,008	0,706±0,014	0,691±0,010
Минуса	0,704±0,006*	0,702±0,009	0,698±0,007

Параметр $Y(II)_{\text{макс}}$ показал крайне низкую вариабельность средних значений (0,685±0,006, $C_v=2.8\%$). Достоверное увеличение $Y(II)_{\text{макс}}$ в условиях умеренного полива установлено только у линии «Минуса» по сравнению с двумя другими генотипами. В пределах одного генотипа различия $Y(II)_{\text{макс}}$, связанные с условиями культивирования, недостоверны.

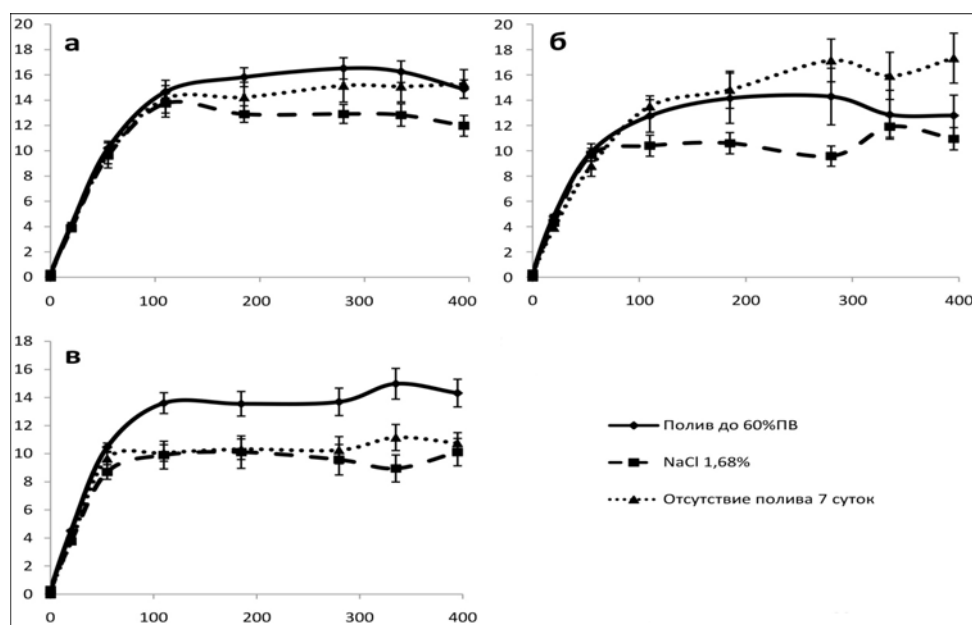


Рисунок. Изменение СТЭ через ФС2 листовых пластинок 10-дневных проростков генотипов пшеницы: а – Мильтурум 533, б – Саратовская 29, в – Минуса. По оси абсцисс – плотность потока фотонов ФАР, мкмоль фотонов×м⁻²×с⁻¹; по оси ординат – скорость транспорта электронов, мкмоль электронов×м⁻²×с⁻¹.

Качественные и количественные различия световых кривых фотосинтеза приведены на рисунке и в табл. 2.

Различия исследованных генотипов пшеницы проявилось как в видимом характере световых кривых транспорта электронов (рисунок), так и в значениях максимальной скорости (СТЭ_{макс}) и пороговой насыщающей интенсивности света (Ек) (табл. 2). Тангенс угла наклона световой (α) в отличие от указанных параметров не зависел от условий культивирования, но мог различаться у генотипов, например, у сорта Мильтурум 533 при поливе до 60% ПВ (табл. 2).

Таблица 2.

Параметры световых кривых транспорта электронов (СТЭ) у 10-дневных проростков пшеницы в контрольных и стрессовых условиях (среднее±стандартная ошибка)

Генотип	Параметры кривых СТЭ	Условия культивирования проростков		
		полив до 60% ПВ	NaCl 1,68%	отсутствие полива 7 суток
Мильтурум 533	Ек	55,5±3,8	42,5±1,9**	57,0±7,5 ^б
	СТЭ _{макс}	16,2±0,8	13,0±0,7**	15,3±1,2 ^б
	α	0,29±0,01	0,31±0,02	0,29±0,03
Саратовская 29	Ек	35,0±3,2	33,0±1,7	79,2±5,0* ^б
	СТЭ _{макс}	13,7±2,0	10,8±0,8	17,3±2,1 ^б
	α	0,34±0,02	0,33±0,01	0,24±0,03* ^б
Минуса	Ек	47,7±3,4	32,3±3,6**	35,8±3,1*
	СТЭ _{макс}	14,4±1,0	9,9±1,0**	10,7±0,8*
	α	0,33±0,01	0,31±0,02	0,30±0,01

Примечание: достоверно отличается от контроля *P<0,05, **P<0,01, б – достоверные отличия между вариантами стресса – P<0,01.

В вопросе оценки ФА долгое время лидирующую позицию занимал относительный показатель – максимальный квантовый выход ФС2 [Guretski, 2013]. Однако данный параметр не всегда отражал влияние стрессора. Так в работе, посвященной сравнению релевантности различных морфологических и физиологических показателей в выявлении реакции растительного организма на стресс [Guretski, 2013], как и в ряде других исследований, упомянутых авторами данной статьи, не установлены значимые различия по величине максимального квантового выхода ФС2 в условиях непродолжительного (до 10 суток) стрессового воздействия. Результаты, полученные нами на различных по устойчивости к осмотическому стрессу генотипах пшеницы, полностью подтверждают это положение (табл. 1).

Параметры световой кривой транспорта электронов через ФС2 у исследованных образцов, напротив, указывают на достоверные изменения фотосинтетической активности в условиях солевого стресса у всех генотипов пшеницы, а у линии Минуса в условиях засоления и засухи (рисунок, табл. 2).

В работе [Guretski, 2013], как и в нашей работе, для оценки уровня осмотического стресса у растений использованы графики светового транспорта электронов, а также световые зависимости фотохимического и не фотохимического тушения флуоресценции хлорофилла. Однако, как было отмечено выше, эти оценки были противоречивыми. Причиной этого могла стать высокая плотность возбуждающего света (396-801 мкмоль фотонов×м⁻²×с⁻¹), исследованная в приведенной работе [Guretski, 2013], при которой к осмотическому стрессу мог добавиться окислительный стресс. На примере полученных нами световых кривых скорости электронного транспорта видно, что после достижения плато с ростом облученности объекта вариабельность показателя увеличивается (рисунок).

По нашему мнению, при скрининге генотипов на устойчивость к осмотическому стрессу более логично использовать такие показатели как $СТЭ_{\text{макс}}$ и $Ек$. Показателю $Ек$ следует отдать предпочтение, так как его рассчитывают на основании $СТЭ_{\text{макс}}$ и тангенса угла наклона световой кривой α ($Ек=СТЭ_{\text{макс}}/\alpha$, [Ralph, 2005]). Поскольку его величина зависит от работы фотосинтетического аппарата в условиях светового лимитирования и светового насыщения. Такой подход к оценке устойчивости генотипов пшеницы в условиях осмотического стресса не приводит к нивелированию имеющихся различий полученных результатов, в отличие от усреднения данных флуоресцентного анализа на участке плато световой кривой транспорта электронов, как сделано в работе [Guretzki, 2013]. Выбор наиболее значимого показателя также оправдан при скрининге большого количества генотипов.

Таким образом, запись и анализ параметров световых кривых фотосинтеза является достаточно точным и удобным методом оценки состояния фотосинтетического аппарата растений в условиях стресса. Преимущество такого анализа достигается за счёт замены большого объема графического материала (световых кривых) на интегральный (количественный) показатель $Ек$. Применение рассмотренных показателей световых кривых фотосинтеза позволило установить достоверное снижение фотосинтетической активности у генотипов Мильтурум 533 и Минуса под влиянием засоления, а у последнего генотипа также под влиянием засухи.

Литература

Ступко В.Ю., Зобова Н.В., Гаевский Н.А. Биофизические подходы в оценке стрессоустойчивости яровой пшеницы // Сиб. вестник с.-х. науки. – 2013. – № 1. – С. 18–23.

Терлецкая Н.В., Зобова Н.В., Ступко В.Ю., Исакова А.Б., Луговцова С.Ю., Курманбаева М.С. Изучение устойчивости фотосинтетического аппарата мягкой пшеницы (*T. aestivum* L.) и ее диких сородичей к абиотическим стрессорам *in vivo* и *in vitro*: Монография. – Алматы, 2017. – 172 с.

Guretzki S., Papenbrock J. Comparative analysis of methods analyzing effects of drought on the herbaceous plant *lab purpureus* // Journal of Applied Botany and Food Quality. – 2013. – V. 86. – P. 47–54.

Medrano H., Escalona, J.M., Bota, J., Gulías, J., Flexas, J. Regulation of photosynthesis of C3 plants in response to progressive drought: Stomatal conductance as a reference parameter // Ann. Bot. – 2002. – V. 89. – P. 895–905.

Ralph P.J., Gademann R. Rapid light curves: A powerful tool to assess photosynthetic activity // Aquatic Botany. – 2005. – V. 82. – P. 222–237.

Terletskaia N.V., Zobova N.V., Stupko V.Y., Shuyskaia E.B. Growth and photosynthetic reactions of different species of N.V. wheat seedlings under drought and salt stress // Period. bot. – 2017. – V. 119, No. 1. – P. 37–45.

Woo N.S., Badger, M.R., Pogson, B.J. A rapid, non-invasive procedure for quantitative assessment of drought survival using chlorophyll fluorescence // Plant Meth. – 2008. – V. 4. – P. 27.

COMPARISON OF SCREENING STUDY METHODS OF WHEAT LEAF RESPONSE TO THE OSMOTIC STRESS

V.Yu. Stupko¹, N.V. Zobova¹, N.A. Gayevsky²

¹Krasnoyarsk Research Institute of Agriculture «Federal Research Center «Krasnoyarsk Scientific Center of the SB RAS», Krasnoyarsk, Russia, *zobovnat@mail.ru*

²Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "Siberian Federal University", Krasnoyarsk, Russia, *nikgna@gmail.com*

Abstract: The comparison of calculated parameters of photosynthesis dynamic was conducted on the base of photosynthetic activity data of spring soft wheat genotypes differed in osmotic-tolerance level to find out the parameters that is most appropriate for fast and significant screening study of photosynthetic apparatus response to stress. Coefficient E_k , based on the angle of rapid light curve rise, represents its features and is suitable for analysis and presentation of the huge data amount in similar researches.

Keywords: *wheat, photosynthesis light curve (RLC), osmotic stress*

ИЗМЕНЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ЛИСТЬЕВ ВИНОГРАДА С КОНТРАСТНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К МИЛДЬЮ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ИММУНОИНДУЦИРУЮЩИХ ОБРАБОТКАХ

Сундырева М.А., Ушакова Я.В.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия», Краснодар, Россия, *taurim2012@yandex.ru*

Аннотация. Устойчивый сорт характеризуется согласованным преобразованием фенольных соединений в микотоксичные производные и отсутствием перехода в стрессовое состояние, о чем свидетельствует незначительное изменение содержания кальция и понижение уровня МДА при применении индукторов иммунитета. У сорта Мускат белый отсутствует согласованность изменения окислительных процессов, детоксикации за счет окисления фенольных соединений. Ответные реакции на индуцирование иммунных реакций у устойчивого сорта происходят раньше, чем у неустойчивого сорта

Ключевые слова: *виноград, индукторы иммунитета, метаболиты, иммунный ответ*
DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-738-741

Одним из путей интенсификации производства является использование агротехнологий, основанных на анализе и применении биологических свойств генотипов растений, таких как их естественная резистентность. Целью исследования являлось изучение особенностей изменения физиолого-биохимических параметров у винограда, контрастных по устойчивости к милдью, при обработках индукторами иммунитета различного направления действия. Защитные реакции растений регулируются гормонами такими, как салициловая кислота, жасмоновая кислота и этилен [Pieterse et al., 2009]. Хитозан как естественный структурный компонент клеточной стенки грибов способен вызывать защитные реакции растений путем накопления каллозных и фенольных соединений [Gozzo, 2003]. Работа выполнялась на двух сортах винограда Восторг (устойчивый) и Мускат белый (неустойчивый), контрастных по устойчивости к милдью. Растения обрабатывали индукторами иммунитета – салициловой кислотой, метилжасмонатом, хитозаном, сочетанием этих веществ.

Обработка индукторами иммунитета во всех вариантах опыта приводила к повышению содержания МДА в листьях винограда. Содержание МДА в листьях устойчивого сорта Восторг в эксперименте изменялась относительно контрольного варианта существенно меньше, чем в листьях чувствительного к милдью сорта Мускат белый. Обработка индукторами иммунитета приводила к выраженному устойчивому увеличению содержания свободного кальция в листьях сорта Мускат белый, в то время как в листьях сорта Восторг в большинстве случаев происходило снижение этого показателя (рис. 1). Индукторы иммунитета провоцируют у растений стрессоподобное состояние. Такие биохимические изменения могут служить сигналом для запуска множества защитных реакций, но и способны провоцировать повреждение различных структур растения [Wiesel et al., 2014]. У неустойчивого сорта такие изменения происходят существенно интенсивнее, чем у устойчивого к милдью сорта.

Детоксикацию активных форм кислорода осуществляет антиоксидантная система растений [Sgherri et al., 2013], элементами которой являются различные антиоксидантные ферменты (пероксидазы, супероксиддисмутаза, каталаза), аскорбиновая кислота. Два изучаемых сорта характеризуются контрастной динамикой содержания аскорбиновой кислоты: у неустойчивого сорта Мускат белый во всех

вариантах опыта происходило существенное накопление аскорбиновой кислоты относительно контроля, в противоположность этому у устойчивого сорта Восторг содержание аскорбиновой кислоты снижалось. К повышению пероксидазной активности в листьях сорта восторг приводили обработки салициловой кислотой (SA), метилжасмонатом (MeJa) и сочетанием этих двух индукторов иммунитета. В последнем случае было выявлено устойчивое повышение активности пероксидазы. Активность пероксидазы в листьях неустойчивого сорта Мускат белый снижалась при обработках индукторами иммунитета, кроме салициловой кислоты (увеличение активности пероксидазы прослеживалось только через 72 часа после обработки) (рис. 2).

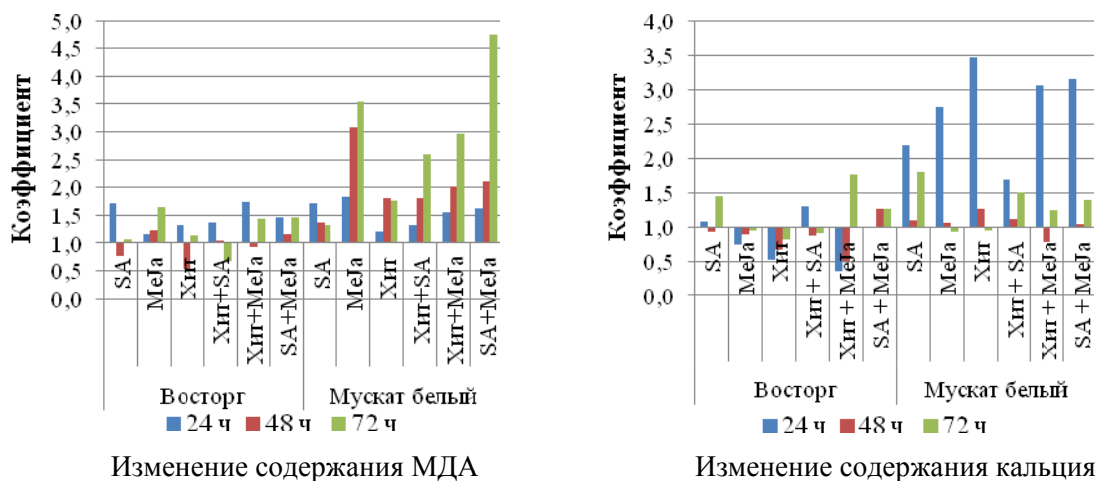


Рис. 1. Изменение содержания стрессовых метаболитов в листьях винограда относительно контроля.

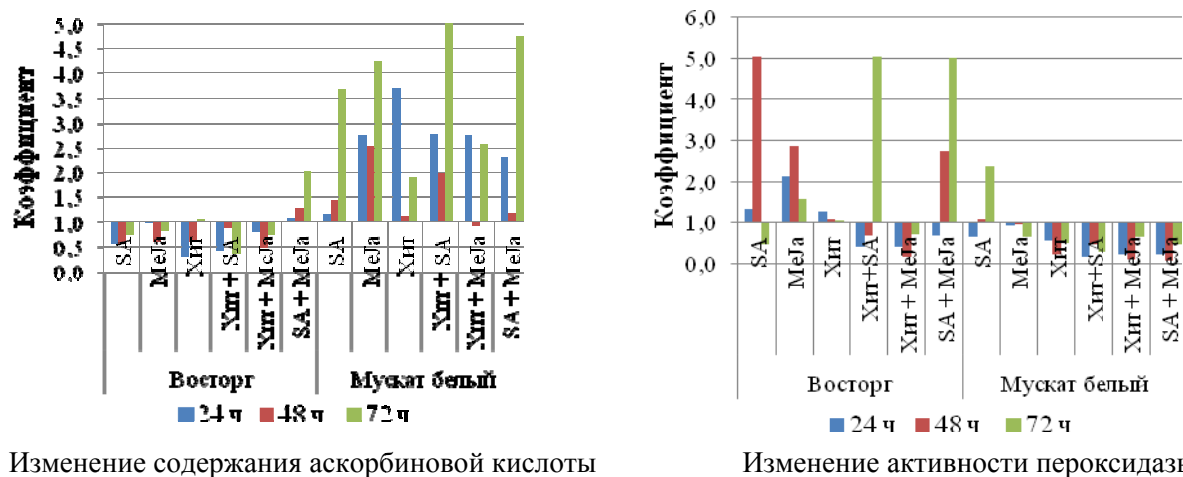


Рис. 2. Изменение элементов антиоксидантной системы в листьях винограда относительно контроля.

Пероксидазы в качестве субстрата могут использовать различные классы растительных фенольных соединений, преобразуя их в микроботоксиновые производные, что повышает устойчивость растений к биотическому стрессу [Pezet et al., 2004]. Особое значение имеет образование токсичного окисленного производного ресвератрола – виниферина. В случае недостаточной активности пероксидаз прослеживается образование слаботоксичного гликозилированного производного ресвератрола – пицеида. Существует мнение, что пицеид является пулом стильбенов, что позволяет быстро синтезировать защитные соединения [Belhadj et al., 2008]. Для

устойчивого сорта Восторг характерно постепенное накопление относительно контроля виниферина и всплеск накопления пицеида через 48 часов после обработки. Для сорта Мускат белый характерно накопление в течение анализируемого периода пицеида, что согласуется со снижением активности пероксидазы. Обработка листьев этого сорта комплексом индукторов иммунитета и SA приводила к длительному образованию виниферина, однако, менее выраженному, чем у устойчивого сорта.

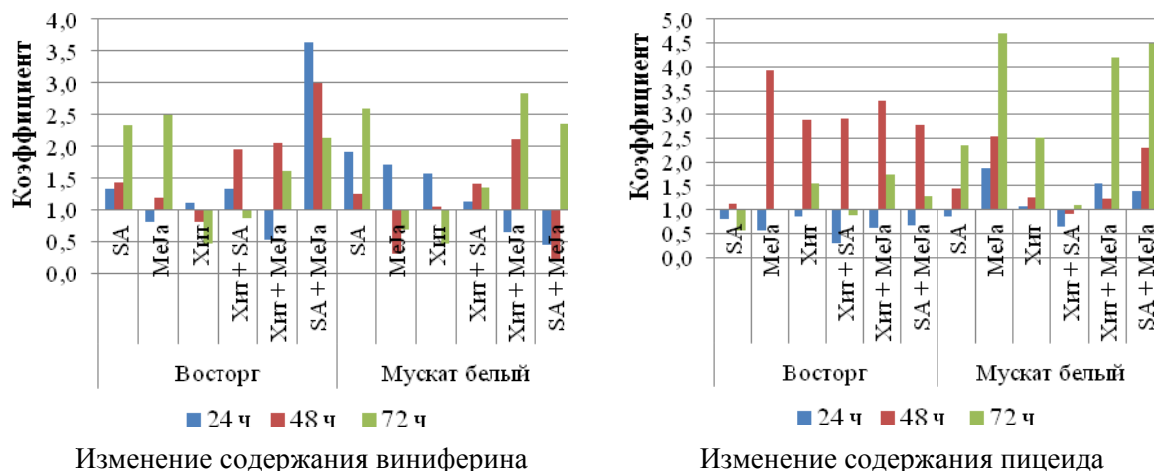


Рис. 3. Изменение содержания стильбенов в листьях винограда относительно контроля.

Аминокислота метионин способна индуцировать выделение перекиси водорода, обладает умеренной фунгитоксичностью, провоцирует экспрессию защитных генов и обладает элиситорной активностью [Boubakri et al., 2013]. Сорт Восторг при всех типах обработки, кроме салициловой кислоты, характеризовался значительным повышением содержания метионина. У Муската белого менее выражено. Таким образом, можно предположить, что экзогенное индуцирование иммунных реакций у сорта Восторг приводит запуску дополнительных собственных систем регуляции ответа (рис. 4).

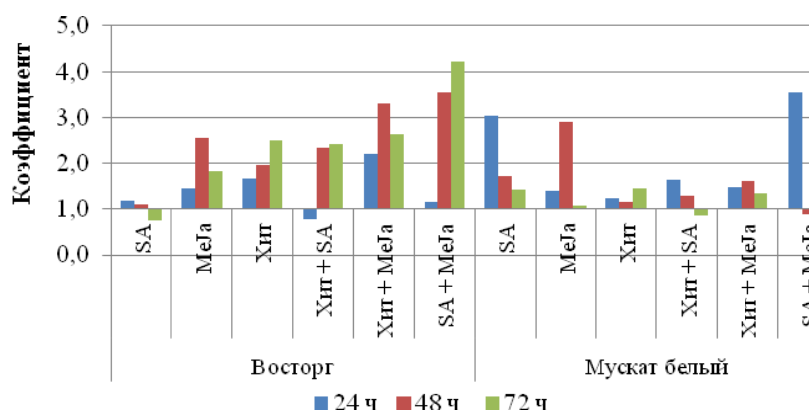


Рис. 4. Изменение содержания метионина в листьях винограда относительно контроля.

Индукция защитных реакций у устойчивого сорта Восторг происходит при обработках салицилатом и метилжасмонатом, а у неустойчивого сорта Мускат белый реакции связаны главным образом с обработкой хитозаном и салициловой кислотой. Следовательно, у устойчивого к милдью сорта иммунная реакция хорошо координируется внутренними регуляторными процессами, а не внешним воздействием, как у неустойчивого сорта. Устойчивый сорт характеризуется согласованным преобразованием фенольных соединений в микотоксичные производные и отсутствием

перехода в стрессовое состояние, о чем свидетельствует незначительное изменение содержания кальция и понижение уровня МДА при применении индукторов иммунитета. У сорта Мускат белый отсутствует согласованность изменения окислительных процессов, детоксикации за счет окисления фенольных соединений. Ответные реакции на индуцирование иммунных реакций у устойчивого сорта происходят раньше, чем у неустойчивого сорта.

Работа выполнена при поддержке РФФИ № 16-34-60154 мол_a_дк.

Литература

Belhadj A., Telef N., Saigne C., Cluzet S., Barrieu F., Hamdi S., Merillon J.M. Effect of methyl jasmonate in combination with carbohydrates on gene expression of PR proteins, stilbene and anthocyanin accumulation in grapevine cell cultures // *Plant Physiology and Biochemistry*. – 2008. – V. 46. – P. 493–499

Boubakri H., Wahab M. A., Chong J., Gertz C., Gandoura S., Mliki A., Bertsch C., Soustre-Gacougnolle I. Methionine elicits H₂O₂ generation and defense gene expression in grapevine and reduces *Plasmopara viticola* infection // *Journal of Plant Physiology*. – 2013. – V. 170. – P. 1561–1568

Gozzo F. Systemic acquired resistance in crop protection: From nature to a chemical approach // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2003. – V. 51. – P. 4487–4503.

Pezet R., Gindro K., Viret O., Spring J.L. Glycosylation and oxidative dimerization of resveratrol are respectively associated to sensitivity and resistance of grapevine cultivars to downy mildew // *Physiological and Molecular Plant Pathology*. – 2004. – V. 65. – P. 297–303.

Pieterse C.M., Leon-Reyes A., Van der Ent S., Van Wees S.C. Networking by small molecule hormones in plant immunity // *Nat. Chem. Biol.* – 2009. – V. 5 (5). – P. 308–316.

Sgherri C., Ranieri A., Quartacci M.F. Antioxidative responses in *Vitis vinifera* infected by grapevine fanleaf virus // *Journal of Plant Physiology*. – 2013. – V. 170. – P. 121–128.

Wiesel L., Newton A.C., Elliott I., Booty D., Gilroy E.M., Birch P.R., Hein I. Molecular effects of resistance elicitors from biological origin and their potential for crop protection // *Front. Plant Sci.* – 2014. – V. 5. – P. 655.

CHANGES IN THE BIOCHEMICAL COMPOSITION OF GRAPES WITH CONTRASTING RESISTANCE TO DOWNY MILDEW WITH VARIOUS IMMUNOSTIMULATING TREATMENTS

M.A. Sundryreva, Ya.V. Ushakova

"North-Caucasian Federal Scientific Center for Horticulture, Viticulture and Wine-Making", Krasnodar, Russia, taurim2012@yandex.ru

Abstract. Sustainable variety Vostorg was characterized by a consistent conversion of phenolic compounds into mycotoxic derivatives and the absence of a transition to a stressful state, as evidenced by a slight change in calcium content and a decrease in MDA level when using immunity inducers. Susceptible to downy mildew variety Muscat belyy was characterized by the absence of coordinated changes in oxidative processes and processes of detoxification of reactive oxygen species due to the oxidation of phenolic compounds. Response to the induction of immune responses in a resistant variety occurs earlier than in an unstable variety.

Keywords: grapes, immunity inducers, metabolites, immune response

The work was supported by the Russian Foundation for Basic Research No. 16-34-60154 мол_a_дк

ДЕЙСТВИЕ Р-КУМАРОВОЙ И КОФЕЙНОЙ КИСЛОТЫ, А ТАКЖЕ УЛЬТРАФИОЛЕТА-С НА НАКОПЛЕНИЕ СТИЛЬБЕНОВ И ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ, УЧАСТВУЮЩИХ В БИОСИНТЕЗЕ СТИЛЬБЕНОВ В ХВОЕ ЕЛИ АЯНСКОЙ *PICEA JEZOENSIS*

А.Р. Супрун^{1,2}, З.В. Огнева¹, А.С. Дубровина¹, К.В. Киселев^{1,2}

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток, Россия

²Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Дальневосточный федеральный университет», Владивосток, Россия

Аннотация. В данной работе впервые исследовано влияние предшественников фенольных соединений, а именно р-кумаровой и кофейной кислоты, на количество стильбенов и на уровень экспрессию генов, участвующих в биосинтезе стильбенов в молодой хвое ели аянской (*Picea jezoensis*).

Ключевые слова: стильбены, резвератрол, STS, ель аянская, *Picea jezoensis*

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-742-743

Стильбены растений – это фенольные соединения, которые являются вторичными метаболитами, обладающие разнообразными биологически активными свойствами. К стильбенам относится большая группа веществ, но *транс*-резвератрол является наиболее перспективным и интересным для изучения соединением, поскольку он чаще всего встречается в природе, чем другие стильбены и его дальнейшие модификации приводят к получению ряда других стильбенов. В природе стильбены встречаются у нескольких неродственных семейств растений, таких как *Vitaceae*, *Fabaceae*, *Polygonaceae*, *Pinaceae* и др. Стильбены являются ценными фенольными соединениями растений и играют важную роль в устойчивости к некоторым биотическим и абиотическим стрессам, в том числе к ультрафиолетовому излучению.

Ранее было показано, что добавление в питательную среду предшественников фенольных соединений к клеточной культуре винограда положительно влияет на биосинтез стильбенов. Подобная работа также проводилась с растениями винограда, где добавление р-кумаровой кислоты увеличило общее содержание стильбенов в 2,4 раза в сравнении с содержанием в листьях в стандартных условиях. Также было выявлено, что образцы с добавлением р-кумаровой кислоты были более устойчивы к воздействию ультрафиолета, что, в свою очередь, возможно, обеспечивается высоким содержанием резвератрола и производных его соединений. Однако подобные работы не проводились с растениями рода *Picea*, которые, в свою очередь, являются важными представителями умеренных и бореальных лесов. Мы исследовали влияние р-кумаровой и кофейной кислоты на биосинтез стильбенов в хвое ели аянской *Picea jezoensis*. Черенки на время эксперимента были помещены в стаканы с питательной безгормональной средой *Wo*. Образцы были взяты со стандартными условиями до и после обработки ультрафиолетом С (УФ-С). С помощью метода ВЭЖХ показано наличие 6 стильбенов (*t*-astringin, *t*-piceid, *cis*-astringin, *t*-isorhapontin, *t*-piceatannol и *cis*-piceid). На *t*-astringin приходилось до 80% от общего количества стильбенов. Обработка УФ-С незначительно повышала (в 1,1 раза) общее содержание стильбенов. Добавление кофейной и р-кумаровой кислоты оказало более сильный эффект на общее количество стильбенов: содержание увеличивалось в 1,2-1,3 раза по сравнению с контролем. Однако только пробы с р-кумаровой кислотой значительно отличались от контроля (8,44 мг/г сухой массы по сравнению с 6,65 мг/г сухой массы). Наибольшее содержание

стильбенов, которое мы обнаружили, было после обработки ультрафиолетом с добавлением р-кумаровой кислоты (9,18 мг / г сухой массы). Увеличение содержания стильбенов после внесения р-кумаровой кислоты и воздействия ультрафиолетового излучения сопровождалось увеличением экспрессии генов *PjSTS1a* и *PjSTS1b*. Совместная обработка ультрафиолетом и добавление кофейной кислоты не оказали существенного влияния на содержание стильбенов.

Таким образом, данное исследование показывает, что обработка ультрафиолетом хвои ели и добавление предшественников фенольных соединений (р-кумаровая кислота) является эффективной стратегией для повышения продукции стильбенов, хотя степень увеличения содержания стильбенов ниже по сравнению с обработкой винограда амурского. Возможно, это объясняется высоким содержанием стильбенов в норме без воздействия УФ-С и предшественников (6.61 мг/г сухой массы).

ACTION OF P-COUMARIC AND CAFFEIC ACIDS AND ULTRAVIOLET-C ON THE ACCUMULATION OF STILBENES AND EXPRESSION OF GENES INVOLVED IN THE BIOSYNTHESIS OF STILBENES IN THE AYAN SPRUCE NEEDLES OF PICEA JEZOENSIS

A.R. Suprun^{1,2}, Z.V. Ogneva¹, A.S. Dubrovina¹, K.V. Kiselev^{1,2}

¹Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences Laboratory, Vladivostok, Russia

²Far EASTERN Federal University, Vladivostok, Russia

Abstract. In this work, the influence of phenolic compounds precursors, namely p-coumaric and caffeic acid, on the number of stilbenes and on the level of expression of genes involved in the biosynthesis of stilbene in the young coniferous spruce (*Picea jezoensis*) was studied for the first time.

Keywords: *stilbenes, resveratrol, STS, Ayan spruce, Picea jezoensis*

АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ СИГНАЛОВ НА УСТОЙЧИВОСТЬ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ГОРОХА ПОСЕВНОГО ПРИ ДЕЙСТВИИ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ФАКТОРОВ СРЕДЫ

Л.М. Сурова, О.Н. Шерстнева, В.С. Сухов

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород, Россия, lyubovsurova@mail.ru

Аннотация. Доклад обобщает результаты исследований по влиянию распространяющихся электрических сигналов (ЭС) на устойчивость высшего растения (на примере гороха посевного) к действию неблагоприятных факторов (на примере повышенной температуры). Показано, что ЭС снижают активность фотосинтетических процессов, тем самым повышая устойчивость фотосистемы I. Одновременно, вызванные ЭС изменения транспирации увеличивают температурное повреждение фотосистемы II, что также способствует сохранению фотосистемы I.

Ключевые слова: транспирация, устойчивость, фотосинтез, электрические сигналы
DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-744-748

Для многих неблагоприятных факторов среды (избыточное освещение, нагрев, механические повреждения, засуха и т.п.) характерно неравномерное действие на растения. При этом для растительного организма жизненно важной становится генерация и распространение стрессовых сигналов, которые обеспечивают системный ответ растения на локальное действие стрессоров. Важную роль среди таких сигналов играют электрические сигналы (ЭС); в первую очередь это ЭС, вызванные повреждениями, такие как переменные потенциалы.

В настоящее время хорошо показано [Fromm, Lautner, 2007; Galle et al., 2015; Sukhov, 2016], что ЭС вызывают широкий спектр физиологических ответов растения (усиление экспрессии ряда генов, повышенную продукцию фитогормонов, усиление дыхания, снижение транспорта ассимилятов по флоэме, изменения транспирации и др.). В частности, показано, что ЭС могут вызывать обратимую инактивацию фотосинтеза [Krupenina, Bulychov, 2007; Pavlovic et al., 2011; Sukhov, 2016]. Наличие столь существенных физиологических изменений, вызванных электрическими сигналами, ставит вопрос об их значении для жизни растения. Согласно гипотезе, выдвинутой Ретивиным и соавторами [Ретивин и др., 1997, 1999], основной целью физиологических ответов, вызванных распространяющимися ЭС, является повышение устойчивости растительного организма к действию стрессирующих факторов.

Целью цикла работ, проведенных авторами [Сурова и др., 2018; Sukhov et al., 2014, 2015, 2017; Surova et al., 2016a, 2016b], стало исследование влияния ЭС, вызванных локальным повышением температуры, на устойчивость фотосинтетических процессов у высшего растения (на примере гороха посевного). Для исследования фотосинтеза и транспирации была использована стандартная система производства Walz GmbH (Германия), включающая в себя РАМ-флуориметр Dual-PAM-100 и инфракрасный газоанализатор GFS-3000. Электрические измерения проводились преимущественно экстраклеточно.

В первую очередь, результаты исследования показали [Sukhov et al., 2014, 2015], что распространение электрических сигналов по-разному влияет на количество активных фотосистем I и II после действия высокой температуры (прогрев воздуха до 53 °С, что соответствовало нагреву листа примерно до 46 °С, в течение получаса). Так, предварительное распространение ЭС приводило к усилению повреждения фотосистем

II во время нагрева, в то же время с фотосистемами I наблюдался обратный процесс – их термическое повреждение снижалось. Важно отметить, что эффект наблюдался при сильном нагреве (нагрев листа до 46 °C и выше) и становился недостоверным при более слабом температурном воздействии.

Отдельно проведенный совместный анализ остаточной активности фотосистем I и II после воздействия высокой температуры выявил важный факт [Surova et al., 2016a]: после достаточно сильного нагрева остаточная активность фотосистемы I имела отрицательную корреляцию с остаточной активностью фотосистемы II. Это позволяло предположить, что стимуляция теплового повреждения фотосистемы II при распространении ЭС и сильном нагреве может быть механизмом снижения повреждения фотосистемы I, которая плохо восстанавливается после действия стрессоров, а значит – ее защита от стрессоров более важна для растения [Sukhov, 2016].

Более детальное исследование механизмов повышения теплоустойчивости фотосистемы I показало, что такое увеличение связано с вызванным ЭС фотосинтетическим ответом [Sukhov et al., 2014]. В частности, выявлено, что подавление фотосинтетического ответа в условиях низкой концентрации CO₂ полностью подавляло возрастание теплоустойчивости фотосистемы I. С другой стороны, искусственная имитация вызванного ЭС фотосинтетического ответа путем снижения концентрации углекислого газа приводила к увеличению устойчивости этой фотосистемы к высокой температуре. Вероятными механизмами такого возрастания теплоустойчивости фотосистемы I может быть возрастание циклического потока электронов вокруг нее, а также усиление нефотохимического тушения [Sukhov et al., 2016; Sukhov, 2016].

Анализ механизмов влияния ЭС на тепловое повреждение фотосистемы II выявил другую картину [Sukhov et al., 2015]. Так было показано, что электрические сигналы вызывали многофазные изменения транспирации, в результате которых в условиях последующего нагрева листа транспирация была существенно снижена. Более низкая транспирация у опытных растений (после ЭС) по сравнению с контрольными (без ЭС) приводила к более высокому нагреву листьев в опыте и более сильному повреждению фотосистемы II. При этом существенных изменений повреждения фотосистемы I не наблюдалось. Таким образом, по-видимому, именно изменения транспирации вносят основной вклад в возрастание теплового повреждения фотосистемы II после распространения ЭС [Sukhov et al., 2015], хотя, вероятно, это не единственный механизм [Surova et al., 2016 a].

По-видимому, снижение транспирации при нагреве имеет и защитное значение на уровне целого растительного организма, что подтверждается результатами о меньшем подавлении ростовых процессов при действии высокой температуры на целое растение после распространения ЭС [Sukhov et al., 2015]. При этом важно отметить, что наши новые результаты [Сурова и др., 2018] показывают, что динамика и даже направленность вызванных ЭС изменений транспирации может существенно зависеть от влажности воздуха: выраженное снижение транспирации наблюдается при низкой влажности воздуха и некоторое возрастание происходит при высокой влажности воздуха. По-видимому, такие результаты отражают существование различных оптимальных стратегий адаптации к повышенной температуре при разном уровне влажности: при низкой влажности первоочередной задачей становится сохранение воды растением, а при высокой – такое сохранение менее критично.

Так как ЭС способствуют повреждению фотосистемы II с целью сохранения фотосистемы I (в частности, за счет меньшей продукции активных форм кислорода) [Sukhov, 2016], то логично предположить, что электрические сигналы должны

одновременно способствовать ускоренному восстановлению поврежденных фотосистем. В настоящее время небольшой эффект восстановления был выявлен только для фотосистемы I [Surova et al., 2016a]. В то же время было показано, что распространение ЭС приводит к существенному возрастанию содержания АТФ в листьях растения [Surova et al., 2016b], при этом известно, что АТФ играет ключевую роль в репарации фотосинтетического аппарата после повреждения [Allakhverdiev et al., 2005, 2008]. Таким образом, можно предположить, что вызванное ЭС увеличение энергизации листьев растения также способствует выживанию растения после действия повышенной температуры.

Полученные результаты оставляют открытым еще один важный вопрос – о значимости положительного влияния электрических реакций на фотосинтез в условиях более слабого нагрева, который является при этом более типичным для естественных условий. В связи с этим важен результат [Vodeneev et al., 2018], показывающий, что распространяющиеся ЭС могут возникать не только при резком и значительном повышении температуры (ожог), но и при более плавном увеличении температуры до умеренно повышенных величин (нагрев). Это показывает, что ЭС могут играть определенную роль в адаптации к высоким температурам не только в экстремальных условиях (например, лесной пожар), но и в гораздо более распространенных ситуациях (например, сильная летняя жара). При этом наши дополнительные экспериментальные результаты показывают [Sukhov et al., 2017], что местные электрические ответы, сходные по своим параметрам с распространяющимися ЭС, могут возникать даже при очень умеренном нагреве (в некоторых случаях – при нагреве до 30 °С). Параметры таких местных реакций положительно связаны с устойчивостью фотосинтетических процессов в повышенной температуре, что, по-видимому, обусловлено положительным влиянием электрических ответов на теплоустойчивость фотосинтетического аппарата растений.

В целом, полученные результаты показывают, что электрические реакции играют существенную роль в повышении теплоустойчивости фотосинтетических процессов и растения в целом. При этом в случае относительно умеренного повышения температуры на теплоустойчивость фотосинтеза влияют скорее местные реакции, возникающие в зоне действия температурного фактора. А в случае значительного повышения температуры на отдельных участках растения происходит распространение ЭС по растительному организму и формируется уже системный ответ растения на высокую температуру. Возможно, что с эволюционной точки зрения первый механизм, связанный с локальными электрическими сигналами, отражал скорее адаптацию к относительно частым и относительно умеренным случаям повышения температуры (например, дневной пик жары летом). Второй же механизм, связанный с распространением ЭС и формированием системного ответа на уровне целого растения, функционировал скорее при развитии экстремальных ситуаций (лесной пожар или, возможно, аномально высокая жара).

Работа была выполнена при финансовой поддержке РФФИ № 18-34-00637 мол_а.

Литература

Ретивин В.Г., Опритов В.А., Федулina С.Б. Преадаптация тканей стебля *Cucurbita pepo* к повреждающему действию низких температур индуцированная потенциалом действия // Физиология растений. – 1997. – Т. 44. – С. 499–510.

Ретивин В.Г., Опритов В.А., Лобов С.А., Тараканов С.А., Худяков В.А. Модификация устойчивости фотосинтезирующих клеток к охлаждению и прогреву после раздражения корней раствором KCl // Физиология растений. – 1999. – Т. 46, № 5. – С. 790–798.

Сулова Л.М., Шерстнева О.Н., Мысягин С.А., Воденеев В.А., Сухов В.С. Влияние локального повреждения на транспирацию листьев гороха при различной влажности воздуха // Физиология растений. – 2018. – Т. 65 (в печати).

Allakhverdiev S.I., Kreslavski V.D., Klimov V.V., Los D.A., Carpentier R., Mohanty P. Heat stress: an overview of molecular responses in photosynthesis // *Photosynth. Res.* – 2008. – V. 98. – P. 541–550.

Allakhverdiev S.I., Nishiyama Y., Takahashi S., Miyairi S., Suzuki I., Murata N. Systematic analysis of the relation of electron transport and ATP synthesis to the photodamage and repair of photosystem II in *synechocystis* // *Plant Physiol.* – 2005. – V. 137. – P. 263–273.

Fromm J., Lautner S. Electrical signals and their physiological significance in plants // *Plant, Cell and Environ.* – 2007. – V. 30. – P. 249–257.

Gallé A., Lautner S., Flexas J., Fromm J. Environmental stimuli and physiological responses: the current view on electrical signaling // *Environmental and Experimental Botany.* – 2015. – V. 114. – P. 15–21.

Krupenina N.A., Bulychev A.A. Action potential in a plant cell lowers the light requirement for non-photochemical energy-dependent quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta.* – 2007. – V. 1767. – P. 781–788.

Pavlovic A., Slovakova L., Pandolfi C., Mancuso S. On the mechanism underlying photosynthetic limitation upon trigger hair irritation in the carnivorous plant Venus flytrap (*Dionaea muscipula* Ellis) // *J. Exp. Bot.* – 2011. – V. 62. – P. 1991–2000.

Sukhov V., Surova L., Sherstneva O., Vodeneev V. Influence of variation potential on resistance of the photosynthetic machinery to heating in pea // *Physiol. Plant.* – 2014. – V. 152. – P. 773–783.

Sukhov V., Surova L., Sherstneva O., Bushueva A., Vodeneev V. Variation potential induces decreased PSI damage and increased PSII damage under high external temperatures in pea // *Funct. Plant Biol.* – 2015. – V. 42. – P. 727–736.

Sukhov V. Electrical signals as mechanism of photosynthesis regulation in plants // *Photosynthesis Research.* – 2016. – V. 130(1-3). – P. 373–387.

Sukhov V., Gaspirovich V., Mysyagin S. and Vodeneev V. High-Temperature Tolerance of Photosynthesis Can Be Linked to Local Electrical Responses in Leaves of Pea // *Front. Physiol.* – 2017. – V. 8. – Article 763.

Surova L., Sherstneva O., Vodeneev V., Katicheva L., Semina M., Sukhov V. Variation potential-induced photosynthetic and respiratory changes increase ATP content in pea leaves // *J. Plant Physiol.* – 2016 a. – V. 202. – P. 57–64.

Surova L., Sherstneva O., Vodeneev V., Sukhov V. Variation potential propagation decreases heat-related damage of pea photosystem I by two different pathways // *Plant Signaling & Behavior.* – 2016 b. – V. 11 (3). – Article e1145334.

Vodeneev V., Mudrilov M., Akinchits E., Balalaeva I., Sukhov V. Parameters of electrical signals and photosynthetic responses induced by them in pea seedlings depend on the nature of stimulus // *Functional Plant Biology.* – 2018. – doi: 10.1071/FP16342 (in print).

**ANALYSIS OF THE INFLUENCE OF ELECTRICAL SIGNALS
ON THE PHOTOSYNTHETIC MACHINERY RESISTENCE OF PISUM SATIVUM
UNDER THE ACTION OF ADVERSE ENVIRONMENTAL FACTORS**

L.M. Surova, O.N. Sherstneva, V.S. Sukhov

National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Nizhny
Novgorod, Russia, *lybovsurova@mail.ru*

Abstract. The report summarizes the results of studies on the influence of propagating electrical signals (ES) on the resistance of the higher plant (for example, peas) to the action of adverse factors (for example, high temperature). It is shown that ES reduces the activity of photosynthetic processes, thereby increasing the resistance of the photosystem I. At the same time, changes in transpiration caused by ES increase the thermal damage of the photosystem II, which also contributes to the protection of the photosystem I.

Keywords: *transpiration, resistance, photosynthesis, electrical signals*

ФОТОХИМИЧЕСКИЙ ИНДЕКС ОТРАЖЕНИЯ – КАК ИНСТРУМЕНТ МОНИТОРИНГА СТРЕССОВЫХ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ОТВЕТОВ РАСТЕНИЯ НА ЛОКАЛЬНОМ И СИСТЕМНОМ УРОВНЕ

В.С. Сухов, Е.М. Сухова, Е.Н. Громова, Л.М. Сурова, В.Н. Неруш, М.А. Гринберг,
В.А. Воденев

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород, Россия, vssuh@mail.ru

Аннотация. «Фотохимический индекс отражения» (photochemical reflectance index, PRI) отражает изменения в цикле ксантофиллов и, потенциально, может быть использован как показатель фотосинтетического стресса у растений. Мы исследовали влияние на PRI ряда неблагоприятных факторов, действующих на целое растение или локально. Показано, что в условиях стресса наблюдаются изменения PRI. Обсуждаются условия оптимального использования PRI для выявления стрессового ответа растения.

Ключевые слова: PRI, оптический мониторинг, фотосинтетический стресс, фотохимический индекс отражения

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-749-751

Развитие современного сельского хозяйства и экологического мониторинга требует разработки новых методов оценки состояния растений, которые будут высокопроизводительными и дистанционными, а также, в будущем, могут быть автоматизированы. С этой точки зрения очень перспективными являются оптические методы мониторинга, включающие, в частности, анализ RGB-изображений, термографию, регистрацию флуоресценции и регистрацию различных спектральных индексов, которые рассчитываются на основании интенсивностей отраженного света на заданных длинах волн [Porcar-Castell et al., 2014; Mahlein, 2016]. Последнее направление является одним из наиболее перспективных; особенно при решении задачи мониторинга фотосинтетических процессов и продуктивности. Так, в настоящее время широко используется так называемый «вегетационный индекс» (normalized difference vegetation index, NDVI), отражающий объем фотосинтезирующей биомассы, и различные его модификации (enhanced vegetation index, EVI, optimised soil-adjusted vegetation index, OSAVI, и др.), индексы содержания хлорофиллов (normalized difference red edge index, NDRE, modified chlorophyll absorption in reflectance index, MCARI, transformed chlorophyll absorption in reflectance index, TCARI) и др. [Eitel et al., 2009].

Важно отметить, что большинство отмеченных спектральных индексов отражают достаточно медленные процессы (изменения количества фотосинтезирующей биомассы и/или содержания фотосинтетических пигментов), в то же время весьма важной задачей является раннее выявление изменений фотосинтетических процессов у растений и, в первую очередь, развития фотосинтетического стресса. В работах Gamon с соавторами [Gamon et al., 1992, 1997] был предложен и апробирован так называемый «фотохимический индекс отражения» (photochemical reflectance index, PRI), который опирается на возрастание поглощения на длине волны 531 нм в случае развития переходов виолоксантина в зеаксантин в ксантофилловом цикле. PRI рассчитывается как $\frac{R_{531} - R_{570}}{R_{531} + R_{570}}$, где R_{531} и R_{570} – интенсивности отраженного света на длине волны 531 и 570 нм [Zhang et al., 2016].

Потенциально, PRI должен хорошо отражать развитие нефотохимического тушения флуоресценции (NPQ) и являться перспективным методом для быстрого и

дистанционного мониторинга развития растительного стресса под действием широкого спектра неблагоприятных факторов. В то же время данные об эффективности использования PRI в качестве показателя состояния растений достаточно противоречивы и проблема требует дальнейших исследований.

В настоящей работе мы провели анализ возможности использования PRI в качестве инструмента для выявления фотосинтетического стресса. Для этого использовали несколько подходов. Прежде всего, был проведен мета-анализ литературных данных по применению PRI для выявления факторов, влияющих на эффективность такого применения. Во-вторых, было исследовано влияние на PRI интенсивности и длительности освещения. В-третьих, было исследовано изменение показателей фотосинтеза и PRI в условиях действия повышенной температуры и засухи. Эксперименты проводились на растениях гороха, пшеницы и тыквы.

В ходе мета-анализа литературных данных было показано, что на эффективность использования PRI для выявления фотосинтетического стресса существенно влияют такие факторы как пространственный уровень регистрации, тип освещения и особенности распределения фотосинтетических показателей у растений.

Далее показано, что увеличение интенсивности освещения приводило к снижению PRI у всех трех видов исследованных растений. При построении диаграммы рассеивания между PRI и NPQ на базе всей совокупности экспериментальных точек коэффициент корреляции между ними был низким; однако при использовании Δ PRI (изменения PRI) корреляция становилась статистически значимой.

В ходе дополнительного анализа, проведенного на горохе, была исследована связь между PRI и NPQ на различных временных интервалах после начала освещения. Было показано, что корреляция между PRI и NPQ была минимальной по абсолютной величине сразу после начала освещения, после чего возрастала, что показывает влияние переходных процессов на силу связи между фотохимическим индексом отражения и нефотохимическим тушением флуоресценции, т.е. влияние изменения интенсивности освещения на эффективность использования PRI для мониторинга.

Следующая группа экспериментов была посвящена исследованию влияния на фотохимический индекс отражения кратковременного действия повышенной температуры (горох, пшеница, тыква) и длительной почвенной засухи (горох). Показано, что у исследованных растений происходит возрастание абсолютной величины Δ PRI, изменения PRI менее стабильны. В случае почвенной засухи также меняется, прежде всего, Δ PRI.

Финальная группа экспериментов была посвящена анализу влияния на PRI электрических сигналов, вызванных локальным ожогом другой части растения. Исследования проводили на горохе. Показано, что вызванные локальным ожогом переменные потенциалы вызвали обратимую инактивацию фотосинтеза; при этом наблюдался близкий по своим временным параметрам обратимый сдвиг PRI.

В целом, полученные результаты показывают, что фотохимический индекс отражения действительно может показывать развитие фотосинтетического стресса, вызванного избыточным освещением, повышенной температурой, засухой или распространением стрессовых сигналов электрической природы. В то же время наиболее эффективным показателем фотосинтетического стресса является не величина PRI, а величина его изменения. Кроме того, эффективность использования PRI может зависеть от режима освещения растений; в частности, от временных параметров изменений интенсивности света.

Работа была выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 17-76-20032).

Литература

Eitel J., Long D., Gessler P.E., Hunt E.R., Brown D.J. Sensitivity of ground-based remote sensing estimates of wheat chlorophyll content to variation in soil reflectance // Soil Science Society of America Journal. – 2009. – V. 73. – P. 1715–1723.

Mahlein A.-K. Plant disease detection by imaging sensors – Parallels and specific demands for precision agriculture and plant phenotyping // Plant Disease. – 2016. – V. 100. – P. 241–251.

Porcar-Castell A., Tyystjärvi E., Atherton J., van der Tol C., Flexas J., Pfündel E.E., Moreno J., Frankenberg C., Berry J.A. Linking chlorophyll a fluorescence to photosynthesis for remote sensing applications: mechanisms and challenges // Journal of Experimental Botany. – 2014. – V. 65. – P. 4065–4095.

Gamon J.A., Peñuelas J., Field C.B. A narrow-waveband spectral index that tracks diurnal changes in photosynthetic efficiency // Remote Sensing of Environment. – 1992. – V. 41. – P. 35–44.

Gamon J.A., Serrano L., Surfus J.S. The photochemical reflectance index: an optical indicator of photosynthetic radiation use efficiency across species, functional types, and nutrient levels // Oecologia. – 1997. – V. 112. – P. 492–501.

Zhang C., Filella I., Garbulsky M.F., Peñuelas J. Affecting factors and recent improvements of the photochemical reflectance index (PRI) for remotely sensing foliar, canopy and ecosystemic radiation-use efficiencies // Remote Sensing. – 2016 – V. 8. – Article 677.

A PHOTOCHEMICAL REFLECTANCE INDEX AS TOOL OF MONITORING OF PHOTOSYNTHETIC STRESS RESPONSES IN PLANTS ON LOCAL AND SYSTEMIC LEVEL

V.S. Sukhov, E.M. Sukhova, E.N. Gromova, L.M. Surova, V.N. Nerush, M.A. Grinberg, V.A. Vodeneev

National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russia, vssuh@mail.ru

Abstract. A photochemical reflectance index (PRI) shows changes in xanthophylls cycle and, potentially, can be used as indicator of photosynthetic stress in plants. We investigated influence of local and systemic action of stressors on PRI. It was shown that stressors induced changes in PRI. Conditions of using of PRI for monitoring of plant stress responses were discussed.

Keywords: *optical monitoring, photosynthetic stress, photochemical reflectance index, PR*

МОДЕЛИРОВАНИЕ СВЕТОВОЙ ЗАВИСИМОСТИ НЕФОТОХИМИЧЕСКОГО ТУШЕНИЯ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА И ЕЕ ПЕРСПЕКТИВЫ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ОПТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ ЛИСТА

Е.М. Сухова, В.С. Сухов

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород, Россия, *n.catherine@inbox.ru*

Аннотация. При адаптации растений к действию стрессоров происходит изменение активности метаболических процессов, включая фотосинтез. Основной показатель фотосинтетического стресса – это нефотохимическое тушение хлорофилла. Моделирование развития нефотохимического тушения представляет большой интерес для изучения механизма действия стрессоров. Нами была разработана модель световой зависимости активности нефотохимического тушения. Использование ее является перспективным для создания оптической модели листа.

Ключевые слова: нефотохимическое тушение флуоресценции хлорофилла, математическое моделирование, фотосинтез, световое воздействие

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-752-754

Адаптация к действию стрессоров является необходимым условием для выживания растений. При этом происходят перестройки метаболизма, включая такие ранние ответы, как усиление дыхания, изменения транспирации, изменение активности фотосинтетических процессов и т.д. При этом фотосинтез, являясь ключевым метаболическим процессом растений, очень чувствителен к действию различных стрессоров, одним из которых наиболее важным является свет [Ruban, 2016]. Известно, что световая энергия необходима для синтеза сахаров в процессе фотосинтеза. Однако чрезмерное ее количество может привести к повреждению фотосинтетического аппарата и генерации активных форм кислорода [Ruban, 2016], разрушающих клеточные структуры [Sewelam et al., 2016]. Одним из механизмов, способным это предотвратить, является нефотохимическое тушение флуоресценции хлорофилла, включающее взаимодействие зеаксантина и протонированного PsbS белка с реакционным центром, а также перемещение светособирающей антенны между фотосистемами II и I, фотоингибирование [Jahns et al., 2009; Jajoo et al., 2014; Ruban, 2016]. Моделирование нефотохимического тушения представляет большой интерес для изучения механизма действия стрессоров [Zaks et al., 2012; Atherton et al., 2016; Matuszyńska et al., 2016].

Мы провели экспериментальный анализ динамики нефотохимического тушения и при различных уровнях освещения на листе гороха посевного. Динамика флуоресценция хлорофилла измерялась с помощью Dual-PAM-100. Лист гороха адаптировали в темноте в течение 10 минут. После этого анализировалась динамика коэффициента нефотохимического тушения (q_N) при фоновом освещении, а также при интенсивности красного актиничного света (635 нм) 131, 344, 830, 1599 мкМ м⁻² с⁻¹. Для каждой интенсивности q_N измерялось раз в минуту в течение 5 минут, после чего актиничный свет выключался на 2 минуты, а затем включался актиничный свет с большей интенсивностью. Было показано, что с увеличением интенсивности актиничного света максимальное значение q_N увеличивалось, и его релаксация замедлялась. Также было обнаружено, что при выключении актиничного света значения нефотохимического тушения возвращались практически к стационарному уровню.

Далее мы фитировали полученные динамики изменения qN при различном освещении, используя предложенное нами кинетическое описание развития нефотохимического тушения и его релаксации, включающее две светозависимые компоненты нефотохимического тушения. Экспериментальные и модельные кривые хорошо соответствовали друг другу. Рассчитанные кривые показывали увеличение qN при включении света и возврат к стационарному состоянию при выключении света.

Таким образом, полученная модель описывает световую зависимость нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла. Перспективным направлением развития модели является описание распределения нефотохимического тушения по толщине листа, что позволит оценить подверженность листа стрессу. Такая оценка вызывает трудности при использовании существующих моделей фотосинтетической активности, описывающих распределение потока электронов [Buckley, Farquhar 2004; Evans, 2009], поглощения углекислого газа [Ho et al., 2016] внутри листа.

Экспериментальные исследования были выполнены при поддержке Российского научного фонда (Проект №17-76-20032), анализ математической модели был выполнен при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (Проект № 18-34-00644 мол_а).

Литература

Atherton J., Nichol C.J., Porcar-Castell A. Using spectral chlorophyll fluorescence and the photochemical reflectance index to predict physiological dynamics // *Remote Sens. Environ.* – 2016. – V. 176. – P. 17–30.

Buckley T.N., Farquhar G.D. A new analytical model for whole-leaf potential electron transport rate // *Plant Cell Environ.* – 2004. – V. 27. – P. 1487–1502.

Evans J.R. Potential errors in electron transport rates calculated from chlorophyll fluorescence as revealed by a multilayer leaf model // *Plant Cell Physiol.* – 2009. – V. 50. – P. 698–706.

Ho Q.T., Berghuijs H.N., Watté R., Verboven P., Herremans E., Yin X., Retta M.A., Aernouts B., Saeys W., Helfen L., Farquhar G.D., Struik P.C., Nicolai B.M. Three-dimensional microscale modelling of CO₂ transport and light propagation in tomato leaves enlightens photosynthesis // *Plant Cell Environ.* – 2016. – V. 39. – P. 50–61.

Jahns P., Latowski D., Strzalka K. Mechanism and regulation of the violaxanthin cycle: The role of antenna proteins and membrane lipids // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2009. – V. 1787. – P. 3–14.

Jajoo A., Mekala N.R., Tongra T., Tiwari A., Grieco M., Tikkanen M., Aro E.-M. Low pH-induced regulation of excitation energy between the two photosystems // *FEBS Lett.* – 2014. – V. 588. – P. 970–974.

Matuszyńska A., Heidari S., Jahns P., Ebenhöf O. A mathematical model of non-photochemical quenching to study short-term light memory in plants // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2016. – V. 1857. – P. 1860–1869.

Ruban A.V. Nonphotochemical chlorophyll fluorescence quenching: mechanism and effectiveness in protecting plants from photodamage // *Plant Physiol.* – 2016. – V. 170. – P. 1903–1916.

Sewelam N., Kazan K., Schenk P.M. Global plant stress signaling: reactive oxygen species at the cross-road // *Front Plant Sci.* – 2016. – V. 7. – P. 187.

Zaks J., Amarnath K., Kramer D.M., Niyogi K.K., Fleming G.R. A kinetic model of rapidly reversible nonphotochemical quenching // *PNAS.* – 2012. – V. 109. – P. 15757–15762.

**A MATHEMATICAL MODEL OF LIGHT DEPENDENCE OF
NONPHOTOCHEMICAL QUENCHING OF CHLOROPHYLL FLUORESCENCE
AND ITS PERSPECTIVES FOR DEVELOPMENT OF OPTICAL LEAF MODEL**

E.M. Sukhova, V.S. Sukhov

National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russia, *n.catherine@inbox.ru*

Abstract. Under stress conditions plants change activity of metabolic processes, including photosynthesis. The main indicator of photosynthetic stress is the nonphotochemical quenching of increase of chlorophyll fluorescence. The simulation of dynamic of nonphotochemical quenching is interesting for investigation of mechanisms of influence of stressors. We developed mathematical model of light dependence of nonphotochemical quenching. Using of this model is perspective for development of optical model of leaf.

Keywords: *nonphotochemical quenching, mathematical simulation, photosynthesis, light influence*

ОСОБЕННОСТИ СЕЗОННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ДЕГИДРИНОВ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ УСТОЙЧИВОСТИ *PICEA OBOVATA* LEDEB. В УСЛОВИЯХ КРИОЛИТОЗОНЫ

Т.Д. Татарина, А.А. Перк, А.Г. Пономарев, И.В. Васильева

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологических проблем криолитозоны Сибирского отделения Российской академии наук, Якутск, Россия, t.tatarinova@gmail.com

Аннотация. Впервые изучены состав и сезонные изменения дегидринов в побегах ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.) в условиях криолитозоны Центральной Якутии. Показано что, большая часть мажорных дегидринов (57–17 кДа) представлены в годовом цикле *P. obovata* относительно равномерно, что свидетельствует об их конститутивных свойствах. Напротив, низкомолекулярные дегидрины (15 и 13 кДа) являются индуцибельными белками: они исчезают в летние месяцы и вновь появляются осенью в период холодовой адаптации.

Ключевые слова: криолитозона, *Picea obovata*, холодовая устойчивость, дегидрины, сезонные изменения

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-755-758

Доминирующими лесными породами тайги Восточной Сибири являются лиственницы Каяндера и Гмелина, как виды, менее требовательные к почвенным и климатическим условиям, включая близкое залегание многолетнемерзлых грунтов. Ель сибирская (*Picea obovata* Ledeb.), напротив, имеет довольно узкий экологический ареал, произрастая в экстразональных лесорастительных условиях на увлажненных плодородных почвах [Поздняков, 1986]. Вместе с тем она имеет существенное хозяйственное значение, связанное с высоким качеством древесины, является источником сырья для целлюлозно-бумажной промышленности, а также выполняет важную природоохранную функцию как кормовая база и местообитание животных.

Данный вид – наиболее морозоустойчивый и зимостойкий из всех представителей рода *Picea* – переносит экстремально низкие температуры минус 40-60 °С в Центральной Якутии. У ели сибирской полностью акклиматизированные хвоя, почки и ткани камбия могут пережить погружение в жидкий азот при температуре –196 °С [Strimbeck et al., 2007]. Биохимические изменения, происходящие при акклиматизации к холоду в широком ряду разных видов растений, включают десатурацию жирных кислот и изменения состава липидов, накопление сахарозы и олигосахаридов, пролина, глицин-бетаина и синтез белков-дегидринов с вероятными криопротекторными функциями [Li et al., 2004]. Дегидрины представляют собой семейство белков LEA (Late Embryogenesis Abundant), которые ассоциированы со стрессовыми реакциями к холоду и акклиматизацией, а также другими типами стресса на всех уровнях [Welling, Palva, 2006]. Различные сочетания консервативного К-сегмента и некоторых переменных сегментов определяют их функциональные свойства, важнейшими из которых являются криопротекторная и антиоксидантная функции [Welling, Palva, 2006; Kosova et al., 2010]. Вместе с тем физиолого-биохимические механизмы устойчивости древесных растений к умеренно низким и экстремально низким температурам, в которых важную роль играют белки-дегидрины, изучены недостаточно.

Целью данной работы является исследование сезонных изменений дегидринов в побегах ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.), произрастающей в условиях криолитозоны Центральной Якутии. Объектом исследований служили одно-двухлетние побеги ели. Сбор образцов осуществляли в 2009-2018 гг. на лесных участках в 7 км от г. Якутска (62° с.ш., 130° в.д.). Для выделения суммарных белков побеги ели (1,5-2,0 г) измельчали в ступке в жидком азоте в присутствии нерастворимого

поливинилпирролидона («Serva», Германия) и экстракционного буфера [Korotaeva et al., 2012]. Гомогенат центрифугировали при 50000 g в течение 40 мин. К супернатанту, профильтрованному через капроновую ткань, добавляли поливинилпирролидон (2,5%) и центрифугировали в том же режиме. Белки осаждали пятью объемами ацетона при –20 °С. Содержание белка определяли методом Лоури с помощью набора («Bio-Rad», США) [Lowry et al., 1951]. Электрофорез белков проводили в 13,5% ПААГ с ДДС с использованием маркеров молекулярной массы («Fermentas», Литва) и последующим окрашиванием белков Кумасси R-250 [Laemmli, 1970]. На треки наносили равное количество белка (10 мкг). Белки из ПААГ переносили на ПВДФ (поливинилиденфторид) мембрану («Bio-Rad», США). Идентификацию дегидринов выполняли с помощью поликлональных антител против их консервативного К-сегмента в разведении 1:500 («Agrisera», Швеция).

В побегах ели сибирской нами идентифицированы не менее девяти мажорных дегидринов (таблица). Большая часть из них, а именно дегидрины 57, 45, 37, 35, 29, 24, 17 кДа, в течение года сохраняют относительно постоянный уровень, что свидетельствует об их участии в основных метаболических процессах. С другой стороны, низкомолекулярные дегидрины 15 и 13 кДа, являются сезонно зависимыми белками. Они почти полностью исчезают в начале вегетации (май) и отсутствуют в летние месяцы, но синтезируются осенью в период акклимации растений. Такого рода сезонное поведение дегидринов может указывать на их индуцибельный характер, запускаемый процессами, вызванными уменьшением долготы дня и нарастанием холодового воздействия в период подготовки растений к зимнему покою.

Таблица.

Сезонные изменения содержания дегидринов* в побегах ели сибирской (*Picea obovata* Ledeb.) в условиях Центральной Якутии

Месяцы / дегидрины, кДа	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XII
57	180	167	179	156	137	126	126	149	115	161	166
45	140	127	121	134	157	165	156	133	90	100	123
37	115	111	86	101	109	76	70	66	70	106	104
35	80	77	64	81	86	54	24	31	37	65	69
29	77	69	61	67	62	30	21	36	39	63	74
24	63	59	44	51	98	35	34	20	56	69	67
17	65	62	56	48	44	36	35	38	61	72	62
15	84	73	69	59	10	7	10	44	82	99	79
13	148	140	127	80	6	0*	4	85	172	175	136

*денситометрическая плотность (ДП, отн. ед.) 13 кДа дегидрина в июне принята за нулевой уровень

По данным литературы, возрастание уровня дегидринов, связанное с адаптацией к низким температурам, отмечалось у голосеменных видов растений, в том числе устойчивых к экстремальным температурам, таких как *Pinus sylvestris* [Kontunen-Soppela, Laine, 2001; Korotaeva et al., 2012; Татарина и др., 2017a], *Larix cajanderi* [Татарина и др., 2017б], *Picea glauca* [Liu et al., 2004], *Picea obovata* [Kjellsen et al., 2013]. Следует отметить, что только по базе данных генов белой ели (*Picea glauca*) были идентифицированы не менее 53 различных типов дегидринов [Rigault et al., 2011]. У некоторых родов хвойных растений как, например, лиственницы, ели и пихты, количество типов дегидринов значительно превосходит таковой сосны. Такое многообразие дегидринов, вероятно, вызвано специфическими особенностями

адаптации, приведшими к расхождению филогенетических ветвей (таксонов) [Sena et al., 2017].

Углубленное познание биохимических механизмов, отвечающих за предельную морозоустойчивость древесных растений, может привести к разработке новых методов повышения холодоустойчивости лесных культур, включая диагностические подходы, а также будет способствовать сохранению генетического разнообразия этих видов.

Обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания ИБПК СО РАН (регистрационный номер АААА-А17-117020110054-6).

Литература

- Поздняков Л. К. Мерзлотное лесоведение. – Новосибирск: Наука, 1986. – 192 с.
- Татарина Т.Д., Перк А.А., Бубякина В.В., Васильева И.В., Пономарев А.Г., Максимов Т.Х. Стрессовые белки-дегидрины в хвое *Pinus sylvestris* L. в условиях экстремального климата Якутии // Доклады академии наук. – 2017а. – Т. 473, № 2. – С. 233–236.
- Татарина Т.Д., Пономарев А.Г., Перк А.А., Васильева И.В., Бубякина В.В. Связь дегидринов с адаптацией *Larix cajanderi* к сверхнизким зимним температурам криолитозоны // Acta Naturae. – 2017б. – № Sp. – С. 85.
- Kjellsen T.D., Yakovlev I.A., Fossdal C.G., Strimbeck G.R. Dehydrin accumulation and extreme low-temperature tolerance in Siberian spruce (*Picea obovata*) // Tree Physiol. – 2013. – V. 33. – P. 1354–1366.
- Kontunen-Soppela S., Laine K. Seasonal fluctuation of dehydrins is related to osmotic status in Scot spine needles // Trees Struct. Funct. – 2001. – V. 15. – P. 425–430.
- Korotaeva N.E., Oskorbina M.V., Kopytova L.D., Suvorova G.G., Borovskii G.B., Voinikov V.K. Variations in the content of stress proteins in the needles of common pine (*Pinus sylvestris* L.) within an annual cycle // J. For. Res. – 2012. – V. 17. – P. 89–97.
- Kosova K., Prasil I.T., Vitamvas P. Role of dehydrins in plant stress response // Handbook of Plant and Crop Stress. – Tucson: CRC Press, 2010. – P. 239–285.
- Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. – 1970. – V. 227. – P. 680–685.
- Li C.Y., Junttila O., Palva E.T. Environmental regulation and physiological basis of freezing tolerance in woody plants // Acta Physiol Plant. – 2004. – V. 6. – P. 213–222.
- Liu J.J., Ekramoddoullah A.K.M., Taylor D., Piggott N., Lane S., Hawkins B. Characterization of Picg5 novel proteins associated with seasonal cold acclimation of white spruce (*Picea glauca*) // Trees Struct Funct. – 2004. – V. 18. – P. 649–657.
- Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L., Randall R.F. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – V. 193. – P. 265–275.
- Rigault P., Boyle B., Lepage P., Cooke J.E.K., Bousquet J., MacKay J.J. A white spruce gene catalog for conifer genome analyses // Plant Physiol. – 2011. – V. 157. – P. 14–28.
- Sena J.S., Giguère I., Rigault P., Bousquet J., Mackay J. Expansion of the dehydrin gene family in the *Pinaceae* is associated with considerable structural diversity and drought-responsive expression // Tree Physiology. – 2017. – P. 1–15. doi:10.1093/treephys/tpx125.
- Strimbeck G.R., Kjellsen T.D., Schaberg P.G., Murakami P.F. Cold in the common garden: comparative low-temperature tolerance of boreal and temperate conifer foliage // Trees: Structure and Function. – 2007. – V. 21. – P. 557–567.
- Welling A., Palva E.T. Molecular control of cold acclimation in trees // Physiol. Plant. – 2006. – V. 127. – P. 167–181.

**PECULIARITIES OF SEASONIC CHANGES OF DEHYDRINES
IN THE FORMATION OF THE STABILITY OF *PICEA OBOVATA* LEDEB.
IN CONDITIONS OF CRYOLITHIC ZONE**

T.D. Tatarinova, A.A. Perk, A.G. Ponomarev, I.V. Vasilieva

Institute for Biological Problems of Cryolithozone Siberian Branch of Russian
Academy of Sciences, Yakutsk, Russia, *t.tatarinova@gmail.com*

Abstract. For the first time, the composition and seasonal changes of dehydrins in shoots of Siberian spruce (*Picea obovata* Ledeb.) under conditions of the cryolithic zone of Central Yakutia were studied. It is shown that most of the major dehydrins (57–17 kDa) are represented *P. obovata* relatively evenly throughout the year, which indicates their constitutive properties. In contrast, low molecular weight dehydrins (15 and 13 kDa) are inducible proteins: they disappear in the summer months and reappear in the autumn in the period of cold adaptation.

Keywords: *cryolithic zone, Picea obovata, cold resistance, dehydrins, seasonal changes*

ВЛИЯНИЕ ПРИРОДНЫХ БАВ НА ФОТОСИНТЕЗ И ТРАНСПИРАЦИЮ РАСТЕНИЙ ГРУШИ

Н.В. Титова, Г.И. Скурту, Н.С. Бужоряну, Н.Е. Мащенко

Институт генетики, физиологии и защиты растений АН Молдовы, Кишинев, Республика Молдова, nvtmd@mail.ru

Аннотация. Представлены результаты изменения интенсивности фотосинтеза и транспирации в листьях растений груши под влиянием биорегуляторов линарозид и вербаскозид, выделенных из *Linaria vulgaris* Mill. и *Verbascum densiflorum bertol.* Установлено более значительное действие вербаскозида в сравнении с линарозидом на интенсивность, а также на отношение фотосинтез/транспирация, тесно связанного с продуктивностью. Использование вербаскозида является одним из путей оптимизации жизнедеятельности растений груши.

Ключевые слова: фотосинтез, транспирация, растения груши, линарозид, вербаскозид

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-759-763

Введение. Одним из ведущих факторов продуктивности и формирования урожая растений является интенсивность процесса фотосинтеза как основного процесса питания растений, а также сложная система интеграции фотосинтеза со всеми другими функциями растительного организма [Ничипорович, 1982]. Среди них важное значение имеют данные о соотношении фотосинтеза и транспирации, как играющих индикаторную роль в реакциях растений на внешнее воздействие [Амелин, Заикин, 2015]. Общая задача работ в этом направлении заключается в том, чтобы, сочетая потенциальные возможности фотосинтеза и, согласуя их с другими важными функциями жизнедеятельности растений, создавать совершенные производительные системы, хорошо адаптированные к конкретным условиям, где фотосинтетическая функция и потенциальные возможности растения использовались бы наиболее полно и с минимально необходимыми затратами органических субстратов и энергии.

Известно, что применение природных и синтетических регуляторов роста в определенные периоды онтогенеза может обеспечить оптимальную реализацию взаимоотношений роста, фотосинтеза и получение максимальной продуктивности растений [Шевелуха, 1997]. Требования растениеводства связаны одновременно с вопросами защиты окружающей среды от токсического воздействия гербицидов и синтетических регуляторов роста. Поэтому поиску и использованию природных биологически активных веществ (БАВ) в последние годы уделяется особое внимание. Многочисленные исследования в этом плане проводились в основном на однолетних растениях. Что касается плодовых культур, имеется информация в отношении яблони, абрикоса и персика, отзывчивыми на экзогенное воздействие биологически активных соединений, проявивших себя как стимуляторы процессов фотосинтеза, метаболизма и урожайности [Babus, 2012; Титова, Шишкану, 2014]. Такие данные с растениями груши практически отсутствуют. Нами начаты такие исследования с растениями груши [Титова и др., 2016] с целью поиска возможности регуляции жизнеспособности и фотосинтетической деятельности как основы получения урожая высокого качества и повышения его количества, что представляет интерес в теоретическом и практическом плане.

Объект и методы. Исследования проводили в промышленном саду в 2015 – 2017 гг. с 4, 5 и 6- летними деревьями сортов груши Выставочная осеннего срока созревания плодов и поздним сортом Ноябрьская. В течение вегетации проводили измерения фотосинтеза и транспирации в теплые безоблачные дни в 8.00 – 9.30 утра в токе

атмосферного воздуха с помощью прибора LCI (1994, Англия). После цветения растения опрыскивали 0,01% водными растворами биорегуляторов растительного происхождения линарозид и вербаскозид, выделенных в нашем Институте из *Linaria vulgaris* Mill. и *Verbascum densiflorum bertol.*

Статистическая обработка данных, проведенная в программе Excel, показала их достоверность при 0,05% уровне значимости.

Результаты исследования. Изучение влияния новых биологически активных соединений стероидного типа линарозид и вербаскозид показало высокую отзывчивость фотосинтеза листьев исследуемых сортов груши. Работа была начата с установления оптимальной (по сравнению с концентрациями 0,001% и 0,025%) концентрации линарозида и вербаскозида - 0,01%, стимулирующей газообмен листьев груши [Титова и др., 2016]. Действие этих препаратов наиболее значительно проявляется в первые 1,5 месяца после опрыскивания, в период активного роста побегов и разветвления листовой поверхности в июне и начала закладки и роста плодов в июле.

В наших исследованиях выявлено, что динамика процессов фотосинтеза и транспирации листьев груши обоих сортов в течение вегетации у всех исследуемых вариантов однотипна (табл. 1). На фоне широкого диапазона вариабельности интенсивности фотосинтеза в самые ответственные периоды вегетации в зависимости от физиолого-морфологических особенностей генотипа, состояния фотосинтетических органов, донорно-акцепторных соотношений между тканями и органами обработка растений груши БАВ активизировала ассимиляцию углекислоты и снижала одновременно транспирацию листьев.

В таблице 1 показано влияние исследуемых БАВ на интенсивность ассимиляции CO₂ и транспирации листьями сорта Ноябрьская. Средние значения интенсивности фотосинтеза в утренние часы за всю вегетацию у растений груши, обработанных линарозидом, превышали контроль на 17% и в варианте с вербаскозидом - на 46%. Средние величины интенсивности транспирации у контрольных растений и при обработке линарозидом, несмотря на колебания в разные периоды определений, отличались незначительно. Транспирация листьев растений груши, обработанных вербаскозидом, практически во всех определениях и по среднему значению уступала другим вариантам более чем на 30%. Такое явление описано [Болондинский, Холопцева, 2013] у листьев карельской березы, уступающей по транспирации листьям березы повислой. Как считают авторы, более экономный расход почвенной влаги у карельской березы по сравнению с березой повислой может способствовать сохранению у нее высокого фотосинтеза на начальных этапах засухи.

Таблица 1.

Влияние БАВ на фотосинтез (мкмоль CO₂·дм⁻²·с⁻¹) и транспирацию (мкмоль H₂O·м⁻²·с⁻¹) 4-летних растений груши сорта Ноябрьская. 2015 г.

Вариант/Дата	24 июня	9 июля	15 июля	29 июля	19 августа	2 сентября	Средние значения
	Фотосинтез						
Контроль	2,11	2,99	2,60	2,30	1,00	0,89	1,98
Линарозид	2,24	3,45	3,30	2,60	1,31	1,00	2,31
Вербаскозид	2,79	4,00	5,26	3,30	0,89	1,10	2,89
	Транспирация						
Контроль	2,70	2,58	1,80	0,79	1,49	0,93	1,71
Линарозид	1,96	4,13	1,52	1,02	0,31	1,56	1,75
Вербаскозид	2,09	2,84	0,81	0,32	0,12	0,19	1,06

Тесная взаимосвязь интенсивности фотосинтеза и транспирации выражается в их положительной корреляционной зависимости: у сорта Ноябрьская в контроле она составляла 0,53; в вариантах с линарозидом и вербаскозидом 0,60 и 0,46 соответственно. Такая высокая позитивная корреляция между фотосинтезом и транспирацией, фотосинтетически активной радиацией, температурой листа и устьичной проводимостью показана у яблони [Nicolae, 2010].

Важной является величина отношения фотосинтеза к транспирации как показатель характера взаимосвязи фотосинтеза со всеми другими физиологическими функциями и биохимическими процессами растительного организма, а также его продуктивности [Рубин, 1974; Шавыркина и др., 2016]. Увеличение отношения интенсивности фотосинтеза к интенсивности транспирации у разных видов и гибридов растений [Болондинский, Холопцева, 2013] свидетельствует, что последние более экономно расходуют влагу, образуя больше сухого вещества на единицу поглощенной воды и более продуктивны, чем контрольные растения.

Расчет отношения интенсивности фотосинтеза к интенсивности транспирации листьев в течение вегетационного сезона показывает особенности этих процессов у разных сортов груши при обработке БАВ (табл. 2). У осеннего сорта Выставочная величина отношения к началу сентября во время созревания плодов значительно снижается в контроле и в варианте с вербаскозидом, тогда как у позднего сорта Ноябрьская в сентябре листья активно фотосинтезируют, особенно в варианте с вербаскозидом, и отношение фотосинтез/транспирация остается высоким. Средние значения отношения за весь вегетационный период наглядно отражают стимулирующее влияние БАВ и разную реакцию исследуемых сортов груши на их действие.

Таблица 2.

Влияние БАВ на отношение интенсивности фотосинтеза к интенсивности транспирации в листьях 4-летних растений груши. 2015 г.

Вариант/Дата	24 июня	9 июля	15 июля	29 июля	19 августа	2 сентября	Средние значения
Сорт	с. Ноябрьская						
Контроль	0,78	1,16	1,44	2,91	0,67	0,95	1,31
Линарозид	1,14	0,83	2,17	2,55	4,22	0,64	1,92
Вербаскозид	1,33	1,41	6,49	10,31	7,41	5,79	5,45
Сорт	с. Выставочная						
Контроль	1,65	0,95	0,78	1,07	2,03	0,87	1,22
Линарозид	1,52	0,48	0,78	0,39	0,83	1,01	0,84
Вербаскозид	1,87	5,15	0,78	5,12	3,83	0,65	2,90

В следующем году продолжено исследование изменения фотосинтеза и транспирации листьев пятилетних растений груши под влиянием вербаскозида. Средние значения интенсивности фотосинтеза превышали контроль у сорта Ноябрьская на 77% и у сорта Выставочная – на 60%. Средние величины транспирации в утренние часы у сорта Ноябрьская в контроле составляли $1,78 \text{ мкмоль } \text{H}_2\text{O} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ и в опыте с вербаскозидом $2,18 \text{ мкмоль } \text{H}_2\text{O} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$. У сорта Выставочная нет значительных различий между вариантами: они равнялись соответственно в контроле $1,30 \text{ мкмоль } \text{H}_2\text{O} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ и $1,23 \text{ мкмоль } \text{H}_2\text{O} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ у растений, опрыснутых вербаскозидом. Величина отношения фотосинтез/транспирация в течение вегетации и их средние значения у обоих сортов выше в вариантах с вербаскозидом (табл. 3) и более выражено в июне - июле, в другие сроки варианты близки между собой. Вошедшие в пору

плодоношения 5-летние растения груши отличались от 4-летних растений более высокими значениями отношения фотосинтез/транспирация.

Более высокая фотосинтетическая деятельность листьев пятилетних растений груши, обработанных препаратом вербаскозид, а также увеличение отношения фотосинтез/транспирация способствовали повышению урожайности у сорта Ноябрьская на 22% и у сорта Выставочная – на 12%.

Таблица 3.

Изменение отношения интенсивности фотосинтеза к интенсивности транспирации в листьях 5-летних растений груши под влиянием вербаскозида. 2016 г.

Вариант/Дата	30 мая	16 июня	7 июля	21 июля	18 августа	8 сентября	Среднее
Сорт	с. Ноябрьская						
Контроль	0,68	6,19	3,51	5,91	6,67	3,51	4,41
Вербаскозид	0,74	16,53	8,9	4,78	7,16	1,76	6,64
Сорт	с. Выставочная						
Контроль	1,72	2,52	1,75	3,66	4,01	3,51	2,86
Вербаскозид	1,53	6,60	2,98	9,22	4,87	3,32	5,57

В 2017 году продолжено изучение фотосинтеза и транспирации у этих сортов груши шестилетнего возраста. Фотосинтез в течение всего вегетационного периода у всех исследуемых растений в контроле уступал фотосинтезу в варианте с вербаскозидом. Так, средние значения интенсивности ассимиляции CO₂ у сорта Ноябрьская в контроле и опыте с вербаскозидом равнялись 7,75 и 8,10 и у сорта Выставочная 10,56 и 11,98 мкмоль CO₂·дм⁻²·с⁻¹ соответственно. Интенсивность транспирации у всех растений была в пределах 3,11 – 3,50 мкмоль H₂O ·м⁻² ·с⁻¹. Отношение фотосинтеза к транспирации у сорта Выставочная у всех растений составило в среднем 3,70 и у сорта Ноябрьская в контроле 2,60 и у растений, опрыснутых вербаскозидом, 3,15. Это стимулировало урожайность растений груши у сорта Ноябрьская более чем на 13% в сравнении с контролем.

Заключение. Изучение влияния биологически активного соединения вербаскозида на фотосинтетическую деятельность молодых плодоносящих растений груши показало, что одним из путей оптимизации жизнедеятельности растений является применение обработки этим препаратом как важного и перспективного в повышении продуктивности и урожайности растений груши.

Литература

Амелин А.А., Заикин В. Потенциальные возможности фотосинтеза растений вида *Fagopyrum esculentum* Mill. и их реализация в процессе селекции // Тез. Докл. VIII съезда ОФР. – Петрозаводск, 2015. – С. 34.

Болондинский В.К., Холопцева Е. С. Исследование фотосинтеза и транспирации у карельской березы и березы повислой // Труды Карельского научного центра РАН. – 2013. – № 3. – С. 173–178.

Ничипорович А.А. Физиология фотосинтеза и продуктивность растений // Физиология фотосинтеза. – М.: Наука, 1982. – С. 7–33.

Рубин Б.А. О некоторых физиологических аспектах проблемы продуктивности растений // Сельскохозяйственная биология. – 1974. – Т. 12, № 2. – С. 165–175.

Титова Н.В., Шишкану Г.В. Исследование влияния натуральных стероидных гликозидов на продуктивность растений абрикоса // Матер. Годичного собрания ОФР, ч.1. – Калининград, 2014. – С. 357–360.

Титова Н.В., Бужоряну Н.С., Скурту Г.И., Машенко Н.Е. Особенности фотосинтеза растений груши при действии натуральных биологически активных соединений // Mater. confer. şt . «Biodiversitatea în contextul schimbărilor climatice».- Chişinău, 2016. – P. 359–364.

Шавыркина М.А., Чекалин Е.И., Князев С.Д. Роль интенсивности фотосинтеза и транспирации листьев в формировании продуктивности смородины черной // Вестник Орловского Гос. Агр. Университета. – 2016. – Т. 58, № 1. – С. 38–41.

Шевелуха В.Г. Современные проблемы гормональной регуляции живых систем и организмов // Регуляция роста и развития растений: Тез. докл. IV межд. конфер., М., 1997. – С. 3–4.

Babuc Vasile. Pomicultura. – Chişinău: T. Centrală, 2012. – 664 p.

Nicolae I. Research regarding the diurnal dynamics of some physiological processes in *Malus domestica* Borkh. // Oltenia. Studii şi comunicări. Şt. Naturii. – 2010. – V. 26, No.1. – P. 67–72.

Nicolae Ion. Research regarding the diurnal dynamics of some physiological processes in *Malus domestica* Borkh. // Oltenia. Studii comunicări. t. Naturii. – 2010. – V. 26, No.1. – P. 67–72.

INFLUENCE OF NATURAL BAS ON PHOTOSYNTHESIS AND TRANSPIRATION OF PEAR PLANTS

N.V. Titova, Gh. I. Skurtu, N.S. Buzhoryanu, N.E. Maschenko

Institute of Genetics, Physiology and Protection of Plants of the Academy of Sciences of Moldova, Kishinev, Moldova, nvtmd@mail.ru

Abstract. The results of changes in the intensity of photosynthesis and transpiration in leaves of pear plants under the influence of bioregulators linaroside and verbascoside isolated from *Linaria vulgaris* Mill. and *Verbascum densiflorum bertol.* are presented. A more significant effect of verbascoside in comparison with linaroside on the intensity, as well as on the ratio of photosynthesis/transpiration, is closely related to productivity. The use of verbascoside is one of the ways to optimize the life of pear plants.

Keywords: *photosynthesis, transpiration, pear plants, linaroside, verbascoside*

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПОПУЛЯЦИЙ *PHYSICIA STELLARIS* (L.) NYL. ГОРОДА СТЕРЛИТАМАК

Р.Г. Фархутдинов, В.В. Федяев, З.Р. Саитова, М.И. Гарипова, А.А. Ямалеева

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный университет», Уфа, Россия, frg2@mail.ru

Аннотация. Лишайники вида *Physcia stellaris* (L.) Nyl собирали в лесах окрестностей и парках г. Стерлитамака. На основании данных "розы ветров" г. Стерлитамака были установлены районы, в которые могут преимущественно поступать загрязняющие вещества. Наименьшее видовое разнообразие лишайников было установлено в г. Стерлитамак. Показано, что плотность популяции *P. stellaris* была самой низкой в г. Стерлитамак и в северо-северо-восточном направлении. Наибольшее содержание SO_3 в талломах лишайников было установлено в городе, северном и северо-северо-восточном направлении. Определение гемагглютинирующей активности (ГАА) лектинов показало увеличение их содержания в образцах собранных в городе и в северо-северо-восточном направлении. Лишайники, выросшие в условиях города, характеризовались наименьшим уровнем поглощения кислорода в процессе дыхания. Было установлено, что в условиях воздействия повышенных концентраций токсических соединений происходило повышение содержания пролина в талломах лишайников.

Ключевые слова: *Physcia stellaris* (L.) Nyl, SO_3 , лектины, дыхание, пролин

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-764-768

Лишайники изучаются очень давно и активно в роли индикаторов состояния окружающей среды. Также известно, что степень угнетения ростовых показателей лишайников является маркером уровня антропогенной нагрузки [Мейсурова, Нотов, 2016]. Изучение морфологического состояния лишайников (уменьшение размеров, биомассы, площадь, количество лопастей и апотециев) является первым визуально различимым признаком, которое свидетельствует о воздействии на лишайники загрязняющих веществ [Суетина, 2001; Михайлова и др., 2015], однако большая и неконтролируемая изменчивость морфометрических признаков эпифитных лишайников рассматривается в литературе как помеха для установления особенностей онтогенеза особи в определенных экологических условиях [Суетина, Глотов, 2014]. Важную роль в адаптации лишайников к условиям местообитания играют физиолого-биохимические механизмы [Beckett et al., 2015; Matee et al., 2016].

Объектом исследования был выбран широко распространённый по всей России лишайник *Physcia stellaris* (L.) Nyl. Данный вид лишайника в природных условиях произрастает на коре с $pH < 7$, богатой минеральными веществами, т.е. относится к ацидофильным и нейтрофильным видам [Отнюкова и др., 2012].

Исследования проводились в период 2013-2017 гг. на территории города Стерлитамак и в 50 ± 5 км от него по направлению основных господствующих ветров. Количество пробных площадок в каждой точке составляло 5. При определении пробной площадки (10×10 м) учитывалось следующее: схожесть древесных пород, плотность лесопосадки, близость дорог и водоемов приуроченность к рельефу, коэффициент встречаемости *P. stellaris* на исследуемой территории [Михайлова и др., 2013].

Лишайники собирали в генеративном возрасте в сухую погоду на одноствольных деревьях липы мелколистной (*Tilia cordata* Mill.) [Михайлова и др., 2013]. Собранный растительный материал сушили при комнатной температуре ($22-26$ °C) до воздушно-сухого состояния ($10-12\%$ воды) для прекращения активности физиологических процессов и выравнивания состояния образцов, собранных в разных условиях

произрастания. Скорость дыхания измеряли методом открытой манометрии [Рахманкулова и др., 2003], содержание свободного пролина определяли по методу Bates [Рахманкулова и др., 2015], содержание лектинов – по методике предложенной А.А. Ямалеевой [Ямалеева, 2001].

Рентгенофлуоресцентный анализ высушенных образцов лишайников на содержание в них SO_3 проводился на энергодисперсионном рентгенофлуоресцентном спектрометре типа EDX (Schimadzy, Japan). Все эксперименты проводили не менее чем в трех биологических повторностях, физиолого-биохимические анализы – в пяти повторностях для каждого варианта. На рисунках приведены средние арифметические и их ошибки. Статистическую обработку полученных данных и построение графиков выполняли в программе Microsoft Excel.

Стерлитамак один из крупных промышленных городов России, где проявляется высокий уровень антропогенной нагрузки на растительность (индекс загрязнения атмосферы равен 9,2). Город расположен на границе трёх природно-климатических зон: южной лесостепи, предуральской степи и горной южно-уральской области. Уровень загрязнения атмосферы города определяется, главным образом, высокими концентрациями бенз(а)пирена, диоксида азота, формальдегида и взвешенных веществ [Государственный доклад..., 2015].

По данным, предоставленным «Башкирским управлением по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды», в городе Стерлитамак в период 2013-2017 гг. преобладали ветра юго-юго-западного, южного и северного направлений (рис. 1).

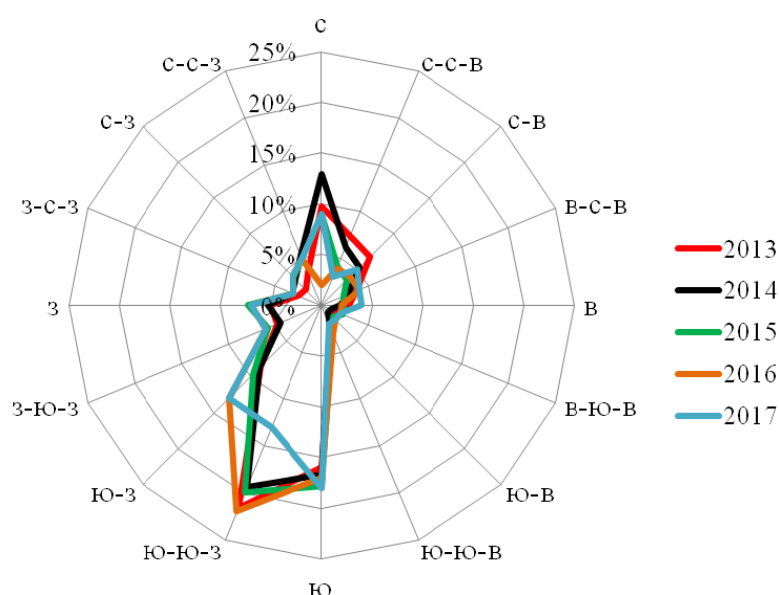


Рисунок. Роза ветров в 2013–2017 гг. в Стерлитамак.

Как видно из рисунка основное движение воздушных масс осуществляется в основном в направлении: северо-северо-восток (ССВ), север (С) и юг (Ю). Основное поступление воздушных масс было из юго-юго-запад (ЮЮЗ). Следовательно, перенос газовых и аэрозольных выбросов от стационарных источников загрязнения и от транспортных средств города Стерлитамак осуществляется в направлениях (ССВ), север (С) и юг (Ю) (рис. 1).

Фенотипический и генотипический состав популяции лишайников зависит от условий окружающей среды [Суетина, 2001]. Наиболее распространённым в лишеноиндикации является анализ видового разнообразия, насыщенности и плотности популяции лишайников.

Как видно из табл. 1, видовое богатство лишайников исследованных площадок колеблется от 6 до 14 видов, наименьшее число видов было обнаружено непосредственно в г. Стерлитамаке в Ю направлении, а наибольшее в ЮЮЗ направлении. Из ЮЮЗ поступали доминирующие ветра, и там отсутствуют большие загрязнители воздуха. Плотность популяции *P. stellaris* снижена на территории города, на С, ССВ и Ю направлении от г. Стерлитамака, что говорит о влиянии окружающей среды на лишайники данных популяций (табл. 1).

Таблица 1.
Характеристика лишайникового покрова в г. Стерлитамак и в направлениях доминирующего движения ветра и содержание SO₃ в талломах лишайников *P. stellaris*

Параметр	Город	С	ССВ	Ю	ЮЮЗ
Общее видовое богатство	6	11	10	8	14
Плотность популяций, экз./ствол	38±11,1	46,6±7,5	34,2±9,1	39,2±6,1	60,3±6,5
Содержание SO ₃ , % массы	1,81±0,15	1,78±0,1	1,88±0,12	1,63±0,04	1,25±0,05

Лишайники поглощают аэрозоли и газы всей поверхностью талломов, что также повышает их чувствительность к загрязнению, это приводит к росту концентрации макро- и микроэлементов в талломах [Табаленкова и др., 2016]. Известно, что накопление серы в талломах лишайников оказывает негативное влияние на рост и развитие лишайников [Ковалева, Иванова, 2012]. Как видно из таблицы 1 в образцах, собранных в городе и на С, ССВ, Ю, наблюдается максимальное накопление оксида серы (VI). Как правило, по мере повышения уровня загрязненности можно наблюдать уменьшение интенсивности фотосинтеза и, наоборот, увеличение дыхательной способности [Домнина и др., 2007]. Отношение дыхательной способности лишайников к потенциальной интенсивности фотосинтеза в большинстве случаев возрастает, а иногда и превышает контрольный уровень в 2–3 раза [Домнина и др., 2007].

Таблица 2.
Гемагглютинирующая активность (ГАА) лектинов, скорость дыхания и содержание пролина в лишайниках *P. stellaris*

№	Наименование места сбора материала	ГАА лектинов	Скорость дыхания, мкл O ₂ / грамм × час	Содержание пролина, мг / грамм сухой массы
1.	Город	8	373,76±40,58	4,26±0,15
2.	Север	4	760,92±47,89	4,13±0,43
3.	Север северо-восток	8	814,49±41,39	3,82±0,25
4.	Юг	4	782,83±38,15	3,76±0,33
5.	Юг юго-запад	4	549,08±25,97	2,89±0,13

По данным литературы, на воздействие различных поллютантов лишайники реагируют накоплением свободного пролина [Baskor et al., 2004; Das et al., 2011], что, таким образом, может служить одним из индикаторов стресса. Нами также показано повышение содержания пролина в талломах лишайников, произрастающих в условиях воздействия повышенных концентраций токсических соединений. Наименьший уровень накопления пролина обнаружен в образцах, собранных на ЮЮЗ, наиболее высокий – в городе (табл. 2).

Однако измерение скорости дыхания показало, что лишайники, выросшие в условиях города, характеризовались наименьшим уровнем поглощения кислорода, в то время как образцы, собранные на ЮЮЗ, показывали более высокую скорость дыхания (табл. 2). Можно предположить, что в условиях города лишайники подвергались воздействию комплекса повреждающих факторов, приводивших к ингибированию суммарного дыхания. В то же время, образцы собранные в направлениях С, ССВ и Ю, обладали наиболее высокой скоростью потребления кислорода. Полученные результаты предполагают дальнейшее детальное изучение дыхательного обмена лишайников, произрастающих в условиях с различной интенсивностью антропогенного воздействия.

Определение содержания лектинов в талломах лишайников росших в условиях города и ССВ показало на рост ГА (табл. 2). Известно, что при воздействии неблагоприятных условий наблюдается значительное увеличение лектиновой активности, что связывают со стабилизирующей, адаптогенной ролью лектинов [Цивилева и др., 2005].

Таким образом, рост лишайников *P. stellaris* в различных и экологических условиях сопровождается рядом изменений в активности физиолого-биохимических процессов, которые, в свою очередь, приводят к формированию определенных морфометрических параметров лишайников. Оценка только внешних ростовых показателей недостаточна при проведении лишеноиндикации.

Литература

Государственный доклад о состоянии природных ресурсов и окружающей среды Республики Башкортостан в 2014 году. – Уфа: Минэкологии РБ, 2015. – 326 с.

Домнина Е.А., Шапиро И.А., Быков О.Д. Изменение фотосинтеза и дыхания лишайников в районе Кирово-Чепецкого химического комбината // Ботанический журнал. – 2007. – Т. 92, № 4. – С. 515–523.

Ковалева Н.М., Иванова Г.А. Особенности распределения биомассы эпифитных лишайников на сосне обыкновенной (нижнее Приангарье) // Сибирский экологический журнал. – 2012. – Т. 19, № 3. – С. 429–433.

Мейсурова А.Ф., Нотов А.А. Содержание металлов в лишайниках на особо охраняемых природных территориях, сопряженных с урбоэкосистемами // Журнал прикладной спектроскопии. – 2016. – Т. 83, № 5. – С. 794–802.

Михайлова В.А., Саитова З.Р., Фархутдинов Р.Г. Особенности видового состава лишенобиоты Башкортостана // Вестник Башкирского университета. – 2013. – Т. 18, № 2. – С. 392–394.

Михайлова И.Н., Микрюков В.С., Фролов И.В. Состояние сообществ эпифитных лишайников в условиях антропогенных нагрузок: влияние методов учета обилия на информативность показателей // Экология. – 2015. – № 6. – С. 427–433.

Отнюкова Т.Н., Жижаев А.М., Кутафьева Н.П., Дутбаева А.Т. Макромицеты как биоиндикаторы загрязнения окружающей среды территории г. Красноярска и его окрестностей // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2012. – № 11. – С. 101–113.

Рахманкулова З.Ф., Федяев В.В., Подашевка О.А., Усманов И.Ю. Альтернативные пути дыхания и вторичный метаболизм у растений с разными типами адаптивных стратегий при дефиците элементов минерального питания // Физиология растений. – 2003. – Т. 50, № 2. – С. 231–237.

Рахманкулова З.Ф., Шуйская Е.В., Щербаков А.В., Федяев В.В., Биктимерова Г.Я., Хафизова Р.Р., Усманов И.Ю. Содержание пролина и флавоноидов в побегах

галофитов, произрастающих на территории Южного Урала // Физиология растений. – 2015. – Т. 62, № 1. – С. 79–88.

Суетина Ю.Г. Онтогенез и структура популяции *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr. в различных экологических условиях // Экология. – 2001. – № 3. – С. 203–208.

Суетина Ю.Г., Глотов Н.В. Изменчивость признаков в онтогенезе эпифитного лишайника *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. // Онтогенез. – 2014. – Т. 45, № 3. – С. 201–206.

Табаленкова Г.Н., Далькэ И.В., Головки Т.К. Элементный состав биомассы некоторых видов лишайников бореальной зоны на европейском северо-востоке // Известия Самарского научного центра РАН. – 2016. – Т. 18, № 2. – С. 221–225.

Цивилева О.М., Никитина В.Е., Гарибова Л.В. Влияние состава среды культивирования на активность внеклеточных лектинов *Lentinus edodes* // Прикладная биохимия и микробиология. – 2005. – Т. 41, № 2. – С. 200–203.

Ямалеева А.А. Лектины растений и их биологическая роль. – Уфа. Изд-во Башкир. ун-та, 2001. – 204 с.

Backor M., Fahselt D., Wu C.T. Free proline content is positively correlated with copper tolerance of the lichen photobiont *Trebouxia erici* (Chlorophyta) // Plant Science. – 2004. – V. 167. – P. 151–157.

Beckett R.P., Ntombela N., Scott E., Gurjanov O.P., Minibayeva F.V., Liers C. Role of laccases and peroxidases in saprotrophic activities in the lichen *Usnea Undulata* // Fungal Ecology. – 2015. – V. 14. – P. 71–78.

Das K., Dey U., Bhaumik R., Datta J.K., Mondal N.K. A comparative study of lichen biochemistry and air pollution status of urban, semi urban and industrial area of Hooghly and Burdwan district, West Bengal // Journal of Stress Physiology & Biochemistry. – 2011. – V. 7, No. 4. – P. 311–323.

Matee L.P., Beckett R.P., Solhaug K.A., Minibayeva F.V. Characterization and role of tyrosinases in the lichen *Lobaria pulmonaria* (L.) // The Lichenologist. – 2016. – V. 48, No. 4. – P. 311–322.

PHYSIOLOGICAL-BIOCHEMICAL FEATURES OF POPULATIONS OF *PHYSICIA STELLARIS* (L.) NUL. OF STERLITAMAK CITY

R.G. Farkhutdinov, V.V. Fedyayev, Z.R. Saitova, M.I. Garipova, A.A. Yamaleeva

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Bashkir State University», Ufa, Russia, frg2@mail.ru

Abstract. Lichens of the *Physcia stellaris* (L.) Nyl species were collected in the forests of the surroundings and parks of the Sterlitamak city. According to the "wind rose" in Sterlitamak areas with predominant entering of pollutants were established. The lowest species diversity of lichens was found in Sterlitamak. It is shown that the population density of *P. stellaris* was the lowest in Sterlitamak and in the north-north-east direction. The highest content of SO₃ in lichen thalli was established in the city, north and north-north-east directions. The determination of lectin hemagglutinating activity (GAA) showed an increasing of their content in samples collected in the city and in the north-north-east direction. Lichens grown in urban conditions were characterized by the lowest level of oxygen consumption during respiration. Increased proline content in lichen thalli was occurred under conditions of high concentrations of toxic compounds.

Keywords: *Physciastellaris* (L.) Nyl, SO₃, lectins, respiration, proline

БРАССИНОСТЕРОИДЫ. НОВЫЙ АСПЕКТ В РЕГУЛЯЦИИ ФИТОИММУНИТЕТА

Е.О. Федина, А.Ю. Ярин, И.Р. Чечёткин

Казанский институт биохимии и биофизики – обособленное структурное подразделение Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия, *solo_nika@mail.ru*

Аннотация. В работе изучалось влияние стероидного фитогормона 24-эпибрассинолида на содержание и состав сложных оксипиринов в листьях льна. В растениях, обработанных фитогормоном, а также инфицированных *Pectobacterium atrosepticum*, происходило увеличение содержания линолипинов (галактолипидов, содержащих остатки дивиниловых эфиров). Гормональная предобработка растений с последующим их инфицированием вызывала существенное накопление линолипинов по сравнению с другими вариантами. Полученные данные предполагают, что брассиностероиды могут участвовать в процессах формирования фитоиммунитета через регуляцию дивинилэфирсинтазного пути липоксигеназного каскада.

Ключевые слова: линолипины, галактолипиды, брассиностероиды, фитоиммунитет

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-769-772

Растения выработали ряд защитных механизмов, в которых фитогормоны играют важную роль в защите от патогенов. В настоящее время показано, что существенными регуляторами растительно-микробных взаимодействий могут быть такие фитогормоны, как брассиностероиды (БС). Предлагается, что эти гормоны оказывают положительную или отрицательную роль в возникновении болезни и взаимодействуют с СА-ЖК-этилен сигнальной системой. Однако, их общий механизм действия не совсем понятен.

БС – группа стероидных гормонов растений, обладающая широким спектром физиологических ответов. В последнее время показано их участие в защите растений на широкий спектр стрессоров. Было продемонстрировано, что экзогенная обработка биологически наиболее активным БС, брассинолидом (БЛ), повышает устойчивость растений табака к вирусу табачной мозаики, бактериальному возбудителю рода *Pseudomonas syringae*, грибковой инфекции *Oidium sp.*, а также к патогенам *Magnaporthe grisea* и *Xanthomonas oryzae* в растениях риса [Nakashita et al., 2003]. Результаты полевых и тепличных опытов продемонстрировали защитные эффекты экзогенных БС к широкому спектру грибковых, вирусных и бактериальных патогенов [Bajguz and Najat, 2009]. Молекулярные изменения, связанные с БС-индуцированными защитными реакциями растений не отображают первичные ответы, исключительно связанные только с БС. Результаты исследований убедительно свидетельствуют, что механизм, с помощью которого БС вызывает чувствительность или устойчивость растения к возбудителю зависит от концентрации гормона и времени воздействия, и включает в себя активацию или подавление путей других гормонов. В целом, вопросы взаимодействия и общего механизма гормонального пути БС, а также его роли в механизмах системной и локальной (очаговой) защиты остаются открытыми для дальнейшего изучения у растений.

В процессе совместной эволюции растений и окружающих их микроорганизмов растения выработали механизмы распознавания чужеродных организмов, включающие запуск сигнальных систем, оповещающих растение о присутствии патогенов, а также индукцию синтеза антипатогенных метаболитов. Активация окислительного метаболизма мембранных липидов приводит к образованию оксипиринов и является одной из стратегий, используемых растениями при инфицировании патогенами. За последние годы в листьях ряда растений обнаружили и охарактеризовали так

называемые сложные оксипирины, т.е. оксипирины, входящие в состав галактолипидов мембран хлоропластов – моногалактозилдиацилглицеринов (МГДГ) и дигалактозилдиацилглицеринов (ДГДГ). Ранее в нашей лаборатории обнаружили новую группу сложных оксипиринов льна – линолипины, определили их строение, а также изучили пути биосинтеза и катаболизма. Показано, что линолипины С и D представляют собой ДГДГ, а линолипины В и А – МГДГ, этерифицированные одним или двумя остатками ($\omega 5Z$)-этероленовой кислоты и являются запасной формой соединений, обладающих антибактериальной активностью [Chechetkin et al., 2009, 2013] (рис. 1). В настоящее время остается открытым вопрос гормональной регуляции биосинтеза сложных оксипиринов. Показано, что экспрессия одного из ферментов, катализирующих синтез сложных оксипиринов может регулироваться brassinosterоидами.

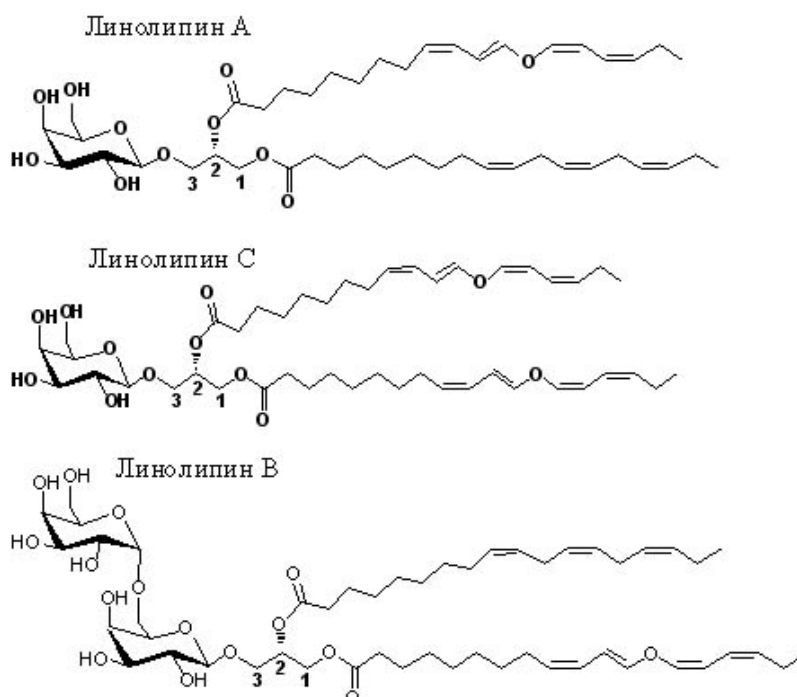


Рис. 1. Линолипины листьев льна – сложные галактолипиды, содержащие в своей структуре этерифицированные остатки дивинилового эфира ($\omega 5Z$)-этероленовой кислоты [Chechetkin et al., 2009, 2013].

В работе изучалось влияние стероидного фитогормона 24-эпибрассинолида (ЭПБ) на профили линолипинов при инфицировании растений льна бактерией *Pectobacterium atrosepticum*.

Объектом исследования являлись растения льна (*Linum usitatissimum* L.), выращенные в условиях вегетативного опыта на площадке Казанского института биохимии и биофизики КазНЦ РАН. За 24 ч до инфицирования опытные растения опрыскивали 24-эпибрассинолидом в концентрации 0.1 мкМ. Затем растения инфицировали патогенной энтеробактерией *Pectobacterium atrosepticum* (*Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* штамм SCR11043). Листья льна фиксировали в жидком азоте через 4 ч после инфицирования. Контрольными растениями являлись неинфицированные и необработанные фитогормоном растения.

Для получения гликолипидной фракции листья льна кипятили в изопропанолe с добавлением бутилгидрокситолуола (0.025%) 10 мин, затем гомогенизировали. Гомогенат центрифугировали при 6000g 5 мин. Фракцию гликолипидов отделяли от

остальных классов липидов методом колоночной хроматографии с использованием силикагеля (размер пор 0,06-0,2 мм). Гликолипиды элюировали смесью ацетон:метанол (9:1). Разделение гликолипидов осуществляли с помощью обращенно-фазовой ВЭЖХ. Линолипины имели максимум поглощения в области 268 нм.

Было выявлено, что в контрольных растениях наибольшим содержанием среди выявленных оксипинов отличался линолипин А. Содержание линолипина В было наименьшим по сравнению с другими идентифицированными линолипинами (рис. 2). Инфицирование листьев бактерией приводило к увеличению содержания всех идентифицированных оксипинов. Особенно сильно по сравнению с контролем повышалось содержание линолипина В (рис. 2). Фитогормон проявлял эффект, сходный с инфицированием: вызывал увеличение содержания всех линолипинов. Гормональная предобработка растений с последующим их инфицированием вызвала существенное накопление линолипинов по сравнению с другими вариантами (рис. 2).

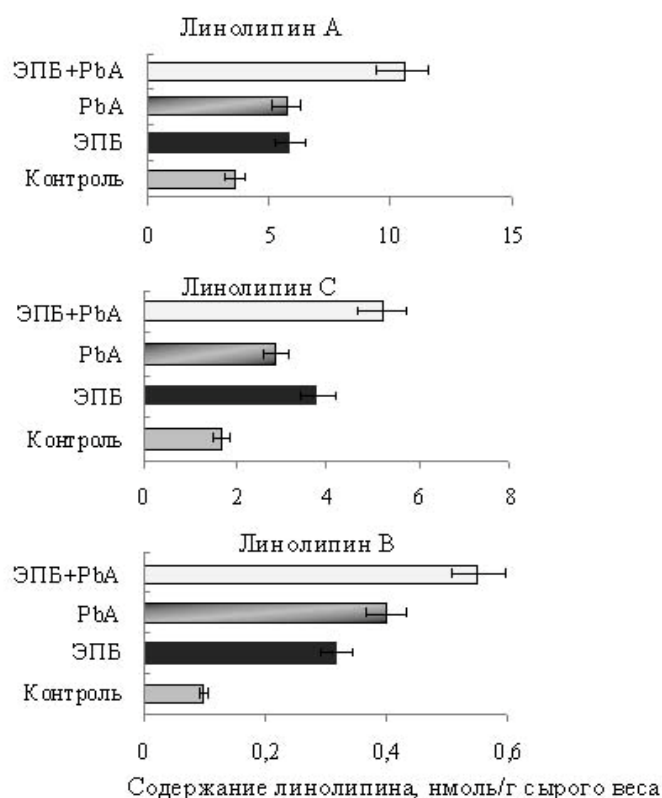


Рис. 2. Влияние 24-эпибрассинолида на содержание линолипинов в листьях растений льна. За 24 ч до инфицирования опытные растения опрыскивали ЭПБ в концентрации 0.1 мкМ. Затем растения инфицировали патогенной энтеробактерией *Pectobacterium atrosepticum* (*Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* штамм SCRI1043). Контрольными растениями являлись неинфицированные и необработанные фитогормоном растения.

Полученные нами данные о повышении содержания сложных оксипинов, содержащих дивиниловые эфиры, под влиянием ЭПБ в инфицированных растениях впервые выявили, что брассиностероиды могут участвовать в процессах формирования фитоиммунитета через регуляцию дивинилэфирсинтазного пути липоксигеназного каскада. Повышение содержания линолипинов при действии ЭПБ может свидетельствовать о положительном влиянии стероидных фитогормонов на содержание и/или активность ферментов, катализирующих образование сложных оксипинов. Более того, резкое повышение содержания линолипина В в гормон-индуцированных и

инфицированных листьях по сравнению с контролем, вероятно, указывает на активацию фитогормоном и *P. atrosepticum* липаз/ацилтрансфераз, катализирующих встраивание этеролоеновой кислоты в МГДГ в sn-2 положении. Однако, в литературе информация о потенциальных ферментах-кандидатах, участвующих в этерификации дивиниловых эфиров с образованием сложных оксипинов, отсутствует. Также не изучены механизмы регуляции образования сложных оксипинов, содержащих дивиниловые эфиры.

Полученные нами первичные данные о повышении содержания линолипинов под влиянием стероидного фитогормона 24-эпибрассинолида предполагают регуляторную роль этих фитогормонов в механизмах образования сложных оксипинов при патогенезе растений.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ №16-04-01553.

Литература

Bajguz A., Hajat S. Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses // *Plant Physiol Biochem.* – 2009. – V. 47 – P. 1–8.

Chechetkin I.R., Blufard A.S., Khairutdinov B.I., Mukhitova F.K., Gorina S.S., Yarin A.Y., Antsygina L.L., Grechkin A.N. Isolation and structure elucidation of linolipins C and D, complex oxylipins from flax leaves // *Phytochemistry.* – 2013. – V. 96. – P. 110–116.

Chechetkin I.R., Mukhitova F.K., Blufard A.S., Yarin A.Y., Antsygina L.L., Grechkin A.N. Unprecedented pathogen-inducible complex oxylipins from flax – linolipins A and B // *FEBS J.* – 2009. – V. 276. – P. 4463–4472.

Nakashita H.I., Yasuda M., Nitta T., Asami T., Fujioka S., Arai Y., Sekimata K., Takatsuto S., Yamaguchi I., Yoshida S. Brassinosteroid functions in a broad range of disease resistance in tobacco and rice // *Plant J.* – 2003. – V. 33. – P. 887–898.

BRASSINOSTEROIDS: A NEW ASPECT OF PHYTOIMMUNITY REGULATION

E.O. Fedina, A.Yu. Yarin, I.R. Chechetkin

Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics of Kazan Science Center of the Russian Academy of sciences, Kazan, Russia, *solo_nika@mail.ru*

Abstract. It was studied the effect of steroid phytohormone 24-epibrassinolide on the content and composition of complex oxylipins in flax leaves. The increase in content of linolipins, i.e. galactolipids containing divinyl ether residues, was observed in plants treated with the plant hormone as well as inoculated with *Pectobacterium atrosepticum*. The treatment of plants with phytohormone prior to their inoculation resulted in the significant accumulation of linolipins compared to other variants. These data revealed that brassinosteroids can participate in the processes of the formation of phytoimmunity through the regulation of divinyl ether synthase branch of lipoxygenase pathway.

Keywords: *linolipins, galactolipids, brassinosteroids, phytoimmunity*

РОЛЬ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ В ТРАНСДУКЦИИ СВЕТОВОГО СИГНАЛА, РЕГУЛИРУЮЩЕГО ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ФЕРМЕНТОВ ЦИКЛА КРЕБСА В КУКУРУЗЕ

Д.Н. Федорин, М.О. Гатаулина, М.В. Черкасских, А.Т. Епринцев

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия, bc366@bio.vsu.ru

Аннотация. Показана зависимость скорости функционирования аконитатгидратазы, фумаратгидратазы и малатдегидрогеназы от действия света разной длины волны на кукурузу. Красный свет снижает скорость функционирования митохондриальных форм исследуемых энзимов, а для цитоплазматических выявлен противоположный эффект. Криптохромная система также вызывает угнетение работы митохондриальных изоферментов. Установлено, что регуляция функционирования аконитазы, фумаразы и малатдегидрогеназы в листьях кукурузы контролируется внутриядерными транскрипционными факторами PIF и COP1.

Ключевые слова: аконитатгидратаза, фумаратгидратаза, малатдегидрогеназа, регуляция, транскрипционные фактор

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-773-776

Цикл трикарбоновых кислот (ЦТК) играет важную роль в энергетическом метаболизме всех аэробных организмов. Углеводы различной природы метаболизируются в ацетил-КоА, который окисляется в ЦТК с высвобождением энергии, конвертируемой в АТФ в результате работы электронтранспортной цепи митохондрий. Однако, помимо этого цикл Кребса синтезирует интермедиаты для биосинтетических процессов, например аспартата [Igamberdiev, 2016]. В растениях регулирование цикла Кребса и митохондриального дыхания в целом более сложный процесс, чем у других гетеротрофных организмов, поскольку метаболизм митохондрий растения должен быть соотнесен с такими процессами как фотосинтез, ассимиляция углерода в цикле Кальвина, фотодыхании, ассимиляции азота, и диссипация избыточной энергии [Araujo, 2012; Schwarzlander, 2013].

Координация митохондриальных и хлоропластных функций ранее была показана на растениях томата, мутантных по различным генам митохондриальных ферментов [Nunes-Nesi, 2011]. Однако, мало исследований по механизмам регуляции ферментов ЦТК, обеспечивающим координацию работы хлоропластов и митохондрий [Nunes-Nesi, 2013].

В связи с этим целью данной работы являлось изучение регуляции функционирования ферментов цикла Кребса на генетическом уровне, что может выступать важным механизмом координации работы митохондрий и хлоропластов в фотосинтезирующих тканях растений. Важную роль в данном процессе могут играть специфические фоторецепторные системы растительной клетки, фитохромы и криптохромы.

Объект и методы исследования. Объектом исследования служили зеленые листья кукурузы (*Zea mays* L.), выращенные гидропонным способом при температуре 22°C в течение 14 дней. Различные условия светового режима создавали с помощью светодиодов с областью испускания 660 нм (КС), 730 нм (ДКС) и 465 нм (СС) с интенсивностью 0.044 Вт/м².

Уровень транскриптов определяли методом ПЦР в реальном времени с генспецифичными праймерами на приборе LightCycler 96 (Roche, Швейцария), используя в качестве красителя SYBR Green I. Определение относительного уровня

экспрессии исследуемых генов проводили с применением $2^{-\Delta\Delta Ct}$ -метода.

Полученные данные обрабатывали с использованием статистических критериев [Лакин, 1990].

Исследование уровня транскриптов генов цитозольной и митохондриальной форм фумаратгидратазы в листьях кукурузы показало зависимость данного параметра от условий освещения растений. Установлено, что ген *fum1*, кодирующий митохондриальную форму ФГ, имеет более высокий уровень транскриптов у растений в темноте по сравнению с растениями на свету и при действии красного света. При этом, для гена *fum2* характерен иной вид зависимости содержания транскриптов от светового режима растений. В условиях темноты уровень мРНК данного гена ниже, чем на свету и при облучении растений красным светом.

Изучение экспрессии гена другого митохондриального фермента, акониатгидратазы, участвующего в работе ЦТК, показало, что он также проявляет светозависимость. Содержание транскриптов гена *aco1* в условиях дневного света и при облучении растений красным светом было значительно ниже такового показателя в темноте. Также светозависимость характерна и для гена *aco2*, кодирующего цитоплазматическую форму фермента. При этом красный свет и дневной свет вызывают увеличение скорости накопления мРНК гена *aco2* в листьях кукурузы. В условиях темноты содержание транскриптов гена *aco2* уменьшалось в 3 раза по сравнению со светом.

Зависимость содержания мРНК митохондриальной формы МДГ от светового режима растений сходна с таковым показателем для генов *fum1* и *aco1*. В условиях темноты концентрация транскриптов гена *mdh-mt* выше их значений на свету и после облучения красным светом.

При исследовании влияния светового режима на работу генов митохондриальных и цитоплазматических форм фумаразы, аконитазы и малатдегидрогеназы установлено, что в значительной степени реагируют на изменение светового режима растений. Непосредственное участие в регуляции функционирования исследуемых ферментов принимает фитохромная система, поскольку специфично акцептирует свет длиной волны 660 и 730 нм. При облучении растений красным светом наблюдается снижение уровня транскриптов генов митохондриальных форм исследуемых ферментов по сравнению с растениями в темноте. Следовательно, активная форма фитохрома проявляет ингибирующее действие на функционирование генов митохондриальных форм исследуемых ферментов.

Исследование действия синего света на содержание транскриптов генов показало, что для генов митохондриальных форм исследуемых ферментов активная форма криптохрома является ингибитором. При этом наблюдается противоположный эффект для цитоплазматических форм ФГ, АГ и МДГ. Синий свет является активатором работы генов *fum2* и *aco2*, что проявляется в увеличении содержания их мРНК при облучении растений данным светом.

Для генов митохондриальной и пероксисомальной форм МДГ установлено отсутствие зависимости содержания их мРНК от состояния криптохромной системы.

Анализ содержания свободных катионов кальция в листьях кукурузы показал, что изменение их концентрации в ядрах листьев кукурузы связано с изменением светового режима растений. Следовательно, кальций выступает вторичным внутриклеточным мессенджером фоторецепторного сигнала [Kim, 2009]. При этом установлено, что кальций участвует в трансдукции фитохромного сигнала, но не криптохромного, что проявляется в увеличении его концентрации в ядрах клеток листьев кукурузы после облучения растений красным светом.

Исследование уровня транскриптов рецептор-специфичных внутриядерных факторов транскрипции PIF3 и COP1, ответственных за реализацию фитохромного и криптохромного сигналов, соответственно [Zuo, 2011; Oh, 2009], показало зависимость данного показателя от условий освещения. Активная форма фитохрома увеличивает содержания транскрипционного фактора PIF3, что имеет определенную корреляцию с содержанием мРНК генов *fum1*, *fum2*, *aco1*, *aco2*, *mdh-mt* и *mdh-per*. Действие синего света на растения кукурузы проявляется в увеличение экспрессии гена *cop1* и его субклеточном перераспределении (рисунок). В условиях дневного света и при облучении растений синим светом COP1 накапливается в цитозоле, но в темноте его содержание увеличивается в ядрах [Von Arnim, 1994]. Увеличение содержания COP1 в ядрах приводит к его более активному взаимодействию с фактором HY5 вызывая деградации последнего [Osterlund, 2000], и уменьшению воздействия на специфический участок G-box светозависимых генов [Zhang, 2011; Yang, 2005].

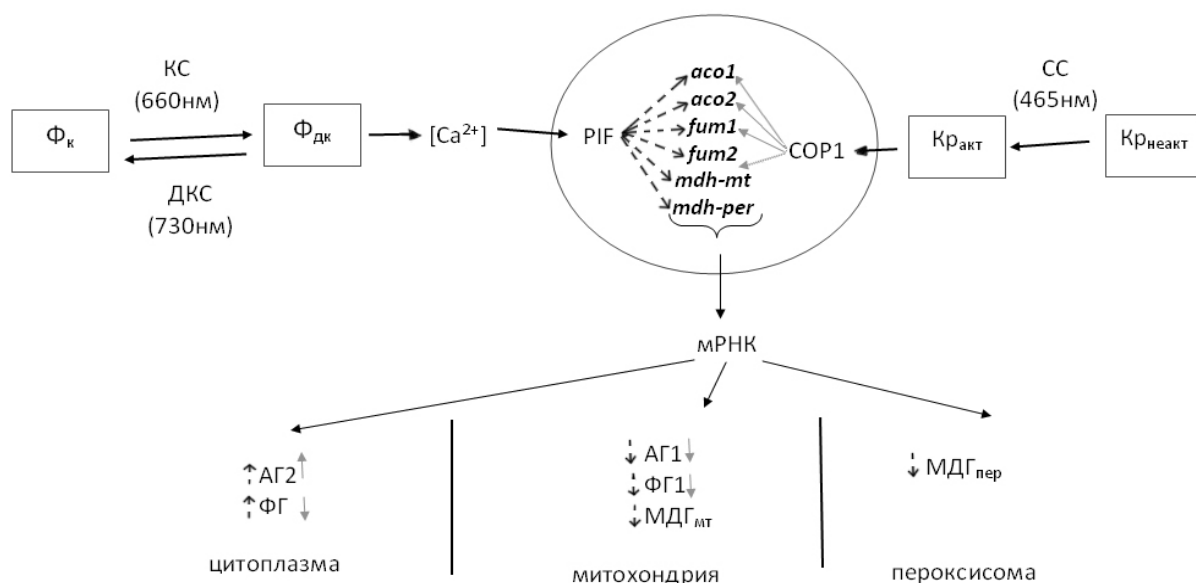


Рисунок. Гипотетическая схема регуляции функционирования молекулярных форм аконитатгидратазы, фумаратгидратазы и малатдегидрогеназы в зеленых листьях растений и механизм трансдукции сигнала от фитохромной и криптохромной систем. Условные обозначения: Φ_k – неактивная форма фитохрома, Φ_{dk} – активная форма фитохрома, $Kp_{акт}$ – активная форма криптохрома, $Kp_{неакт}$ – неактивная форма криптохрома, АГ – аконитатгидратаза, ФГ – фумаратгидратаза, МДГ – малатдегидрогеназа. Пунктирная линия - активация или ингибирование посредством фитохромной системы, сплошная линия - активация или ингибирование посредством криптохромной системы.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ, грант №17-04-01039).

Литература

- Лакин Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин. – М.: Высш. шк., 1990. – 351с.
 Araujo W.L., Tunes-nesi A., Tikoloski Z., Sweetlove L.J., Fernie, A.R. Metabolic control and regulation of the tricarboxylic acid cycle in photosynthetic and heterotrophic plant tissues // Plant Cell Environ. – 2012. – V. 35. – P. 1–21.
 Igamberdiev A.U., Eprintsev A.T. Organic Acids: The Pools of Fixed Carbon Involved in Redox Regulation and Energy Balance in Higher Plants // Front Plant Sci. – 2016. - V. 7. 1042. – doi: 10.3389/fpls.2016.01042.

Kim M.C., Chung W.S., Yun D.J., Cho M.J. Calcium and Calmodulin-Mediated Regulation of Gene Expression in Plants // *Molecular Plant*. – 2009. - V. 1. – P. 13–21.

Nunes-Nesi A., Araujo W.L., Fernie A.R. Targeting mitochondrial metabolism and machinery as a means to enhance photosynthesis // *Plant Physiol*. – 2011. – V. 155. – P. 101–107.

Nunes-Nesi A., Araujo W.L., Obata T., Fernie A.R. Regulation of the mitochondrial tricarboxylic acid cycle // *Curr. Opin. Plant Biol*. – 2013. – V. 16. – P. 335–343.

Oh E., Kang H., Yamaguchi S., Park J., Lee D., Kamiya Y., Choi G. Genome-wide analysis of genes targeted by PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR3-LIKE5 during seed germination in *Arabidopsis* // *Plant Cell*. – 2009. – V. 21. – P. 403–419.

Osterlund M.T., Hardtke C.S., Wei N., Deng X.W. Targeted destabilization of HY5 during light-regulated development of *Arabidopsis* // *Nature*. - 2000. – V. 405. – P. 462–466.

Schwarzlander M., Finkemeier I. Mitochondrial energy and redox signaling in plants // *Antioxidants & Redox Signaling*. – 2013. – V. 18. – P. 2122–2144.

Von Arnim A.G., Deng X.W. Genetic and developmental control of nuclear accumulation of COP1, a repressor of photomorphogenesis in *Arabidopsis* // *Cell*. – 1994. – V. 79. – P. 1035–1045.

Yang J., Lin R., Sullivan J., Hoecker U., Liu B., Xu L., Deng X. W., Wang H. Light regulates COP1-mediated degradation of HFR1, a transcription factor essential for light signaling in *Arabidopsis* // *Plant Cell*. – 2005. – V. 17. – P. 804–821.

Zhang H., He H., Wang X., Wang X., Yang X., Li L., Deng X.W. Genome-wide mapping of the HY5-mediated gene networks in *Arabidopsis* that involve both transcriptional and post-transcriptional regulation // *Plant J*. – 2011. – V. 65, No. 3. – P. 346–358.

Zuo Z., Liu H., Liu B., Liu X., Lin C. *Arabidopsis* cryptochrome 2 undergoes blue light-dependent interaction with the SPA1–COP1 complex to regulate floral initiation in plants // *Curr Biol*. – 2011. – V. 21, No. 10. – P. 841–847.

THE ROLE OF TRANSCRIPTION FACTORS IN THE TRANSFORMATION OF THE LIGHT SIGNAL, REGULATING THE FUNCTIONING OF CROSS CYCLE IN CORN

D.N. Fedorin, M.O. Gataullina, M.V. Cherkasskikh, A.T. Eprintsev

Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation, bc366@bio.vsu.ru

Abstract. The dependence of the rate of functioning of aconitate hydratase, fumarate hydratase and malate dehydrogenase on the effect of light of different wavelengths on maize is shown. Red light reduces the speed of functioning of the mitochondrial forms of the enzymes studied, and for cytoplasmic the opposite effect is revealed. The cryptochromic system also causes oppression of the mitochondrial isoenzymes. It was found that the regulation of the functioning of aconitase, fumarase and malate dehydrogenase in maize leaves is controlled by the intranuclear transcription factors PIF and COP1.

Keywords: *aconitate hydratase, fumarate hydratase, malate dehydrogenase, regulation, transcription factor*

РЕАКЦИЯ КЛЕТОК *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* НА ТЕПЛОВОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ С НАРУШЕНИЕМ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ МИТОХОНДРИЙ

И.В. Федосеева, Е.Г. Рихванов

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия, fedoseeva@sifibr.irk.ru

Аннотация. Основной причиной гибели дрожжевой клетки при умеренном тепловом шоке является повышение продукции активных форм кислорода (АФК). Митохондрии вносят основной вклад в продукцию АФК при тепловом воздействии. Причиной усиления продукции АФК является повышение митохондриального мембранного потенциала (ММП). Таким образом, повышение ММП запускает программу гибели клеток дрожжей при умеренном тепловом шоке. В то же время, повышение ММП во время мягкого теплового стресса активируют защитную программу, направленную на повышение устойчивости.

Ключевые слова: митохондрии, активные формы кислорода, митохондриальный мембранный потенциал, белки теплового шока, термотолерантность

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-777-780

Долгое время митохондрии рассматривались исключительно как энергетические станции клетки, но результаты, полученные в последние десятилетия, показали, что производство энергии – не единственная функция митохондрий. Оказалось, что митохондрии активно участвуют в развитии программированной клеточной гибели и могут регулировать экспрессию ядерных генов в процессе, известном как митохондриальная ретроградная регуляция. Однако, как осуществляется коммуникация между митохондрией и остальными компартментами клетки остается к настоящему времени не известным.

Клетки *Saccharomyces cerevisiae* представляют собой уникальную модель, которая, в отличие от растений, позволяет отделить процесс окислительного фосфорилирования от других функций митохондрий. Энергетический метаболизм дрожжей можно включать и выключать, используя питательные среды с различными источниками углерода. В клетках дрожжей можно получить *petite* мутанты, у которых отсутствует митохондриальная ДНК, а, следовательно, и ряд компонентов дыхательной цепи. Но даже у таких мутантов функционируют митохондрии, поддерживается митохондриальный мембранный потенциал, и это является необходимым условием для поддержания жизнеспособности клетки. Поэтому в данной работе изучали роль в термотолерантности, используя дрожжи, находящиеся в логарифмической фазе на среде с глюкозой, в условиях с репрессированным процессом окислительного фосфорилирования. В этих условиях клетки наименее устойчивы к тепловому воздействию, параллельно происходит более значительное повышение продукции активных форм кислорода (АФК). Более того, именно в этих условиях в ответ на тепловое воздействие клетки синтезируют белки теплового шока (БТШ).

Считается, что основной причиной гибели при тепловом шоке является денатурация и агрегация клеточных белков [Kubota, 2009]. Очевидно, что усиление генерации АФК вносит существенный вклад в активацию процесса гибели при тепловом шоке как растительной [Qu et al., 2013], так и дрожжевой клетки [Mogano et al., 2012]. Однако механизм, в результате которого происходит усиление генерации АФК, изучен явно недостаточно. Более того, была неизвестна роль митохондрий дрожжей в этом процессе.

Чтобы изучить роль митохондрий в термотолерантности дрожжей изучали, как нарушение функционирования митохондрий повлияет на способность клеток дрожжей переживать действие летального теплового шока. Для этого использовали протонофоры (СССР, carbonyl cyanide *m*-chlorophenylhydrazone, и ДНФ, 2,4-динитрофенол), агенты, снижающие митохондриальный мембранный потенциал, а также мутант *petite* [Pyatrikas et al., 2015]. Оказалось, что в обоих случаях наблюдалось значительное повышение устойчивости дрожжей к умеренному тепловому воздействию. Повышение жесткости теплового шока снижало протекторный эффект протонофоров и мутации *petite*. На основании этих результатов были сделаны выводы: во-первых, митохондрии играют важную роль в термотолерантности дрожжевой клетки, поскольку нарушение их функций повышает их термотолерантность, а, во-вторых, механизм гибели клетки различается в зависимости от силы теплового воздействия.

Отнюдь не любое нарушение функционирования митохондрий приводит к повышению термотолерантности. Митохондриальная ДНК кодирует ограниченное количество митохондриальных белков, большая их часть кодируется ядерной ДНК, синтезируется на цитоплазматических рибосомах, а затем транспортируется в органеллу. Делеции ядерных генов, кодирующие отдельные митохондриальные белки, такие как внешние NADH-дегидрогеназы и АДФ/АТФ транслокатор, не приводили к заметному снижению термотолерантности. В то же время, делеция гена *NDII*, кодирующего внутреннюю NADH-дегидрогеназу, значительно повышала термотолерантность дрожжей.

Известно, что мутация *petite*, а также делеция *ndi1* [Guaragnella et al., 2012] ингибируют развитие запрограммированной клеточной гибели (ПКГ) в клетках дрожжей при различных воздействиях. Эти факты, а также протекторный эффект циклогексимида на термотолерантность [Рихванов и др., 2014], указывают, что в условиях умеренного теплового воздействия гибель дрожжей имеет запрограммированный характер.

Другим индикатором развития ПКГ является усиление продукции активных форм кислорода (АФК) [Guaragnella et al., 2012]. Продукция АФК усиливается при различных стрессовых воздействиях, в том числе и при тепловом шоке. Действительно, умеренный тепловой шок вызывал значительное усиление продукции АФК. Добавление антиоксиданта аскорбиновой кислоты подавляло продукцию АФК и одновременно защищало клетки от гибели [Pyatrikas et al., 2015]. Таким образом, генерация АФК при умеренном тепловом воздействии является основной причиной гибели клеток дрожжей. Имеющиеся факты позволяют утверждать, что именно митохондрии продуцируют АФК при тепловом воздействии. Во-первых, нарушение митохондриальных функций, в результате обработки протонофорами СССР и ДНФ, или использования мутантов *petite*, не только защищало клетки от гибели, но и эффективно подавляло усиление продукции АФК. Во-вторых, с помощью флуоресцентной микроскопии продемонстрирована непосредственная митохондриальная локализация АФК [Pyatrikas et al., 2015; Fedoseeva et al., 2017].

Следует отметить, что зависимость между продукцией АФК и гибелью клетки при тепловом воздействии не всегда однозначна. Делеция *ndi1*, которая значительно повышала термотолерантность дрожжей, не имела никакого эффекта на продукцию АФК при тепловом шоке. Очевидно, что, как и в случае других апоптотических стимулов, эффект *Ndi1p* на термотолерантность не зависит от ее NADH дегидрогеназной активности. Показано, что обработка пероксидом водорода и уксусной кислотой вызывает выход *Ndi1p* из митохондрий в цитозоль, где этот белок и запускает программу гибели клетки [Cui et al., 2012].

Известно, что продукция АФК в изолированных митохондриях повышается в зависимости от повышения митохондриального мембранного потенциала (ММП), а добавление протонофоров подавляет оба этих процесса [Korshunov et al., 1997]. Действительно, повышение продукции АФК в клетках дрожжей при тепловом шоке сопровождалось кратковременным повышением ММП. Подавление повышения ММП и соответственно, продукции АФК наблюдалось не только при обработке протонофорами, но и при добавлении аскорбиновой кислоты. На этом основании было предположено, что повышение ММП при тепловом шоке стимулирует продукцию АФК в клетках дрожжей. Вероятно, повышение ММП является следствием нарушения активности АТФ/АДФ траслокатора. Одновременная делеция генов *AAC1*, *AAC2* и *AAC3*, кодирующих АТФ/АДФ траслокатор, приводила к значительному повышению ММП, как в контрольных условиях, так и в условиях теплового шока. Отметим, однако, что повышение ММП в клетках тройного *aac1aac2aac3Δ* мутанта не сопровождалось повышением продукции АФК. Таким образом, в ходе проведенного исследования было выявлено, что тепловое воздействие вызывает повышение ММП, что приводит к усилению продукции АФК, что, в свою очередь является причиной гибели клетки.

На следующем этапе изучали сигнальную роль митохондрий при тепловом воздействии. Мягкое тепловое воздействие (39 °С) вызывает у всех изученных организмов активацию защитной программы (индуцированная термотолерантность), которая повышает устойчивость к последующему жесткому тепловому воздействию. Развитие этой программы определяется активацией экспрессии генов белков теплового шока (БТШ). Было предположено, что митохондрии дрожжевой клетки в процессе ретроградной регуляции активирует экспрессию генов БТШ при тепловом воздействии. Действительно, добавление протонофоров во время предварительного мягкого теплового воздействия, а также мутация *petite* подавляли развитие устойчивости к жесткому тепловому шоку. Одновременно наблюдалось подавление синтеза белка Hsp104p [Федосеева и др., 2014]. Отметим, что эффект протонофоров и мутации *petite* на активацию защитной программы при 39 °С был полностью противоположен, если клетки сразу же подвергали умеренному повреждающему тепловому воздействию (45 °С). В одном случае наблюдалось повышение устойчивости, а в другом снижение. Было предположено, что, также как и в случае развития процесса гибели, мягкое тепловое воздействие вызывает в клетке повышение ММП, и это событие стимулирует продукцию АФК, которые, в свою очередь, активируют экспрессию генов БТШ. Однако это предположение пока не нашло своего подтверждения. Делеция генов *NDE2* и *NDI1*, а также тройная делеция генов *AAC1*, *AAC2* и *AAC3* значительно влияли на индуцированную термотолерантность, однако не было обнаружено никакого эффекта этих мутаций на продукцию АФК. Не обнаружено также отрицательного эффекта аскорбиновой кислоты на развитие индуцированной термотолерантности. Таким образом, развитие индуцированной термотолерантности зависит от повышения митохондриального мембранного потенциала при мягком тепловом воздействии, но следствие этого явления осталось неизвестным.

Литература

Рихванов Е.Г., Федосеева И.В., Варакина Н.Н., Русалева Т.М., Федяева А.В. Механизм гибели дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* при тепловом шоке. Влияние циклогексимида на этот процесс // Биохимия. – 2014. – Т. 79, вып. 1. – С. 22–32.

Федосеева И.В., Рихванов Е.Г., Варакина Н.Н., Русалева Т.М., Пятрикас Д.В., Степанов А.В., Федяева А.В. Мутация *petite* подавляет индукцию синтеза белка теплового шока (HSP104) *Saccharomyces cerevisiae* в стационарной фазе роста // Генетика. – 2014. – Т. 50, № 3. – С. 273–281.

Cui Y, Zhao S, Wu Z, Dai P, Zhou B. Mitochondrial release of the NADH dehydrogenase Ndi1 induces apoptosis in yeast // *Mol. Biol. Cell.* – 2012. V. 23. – P. 4373–4382.

Guaragnella N, Zdravlević M, Antonacci L, Passarella S, Marra E, Giannattasio S. The role of mitochondria in yeast programmed cell death // *Front. Oncol.* – 2012. – V. 2: 70.

Korshunov S.S., Skulachev V.P., Starkov A.A. High protonic potential actuates a mechanism of production of reactive oxygen species in mitochondria // *FEBS Lett.* – 1997. – V. 416. – P. 15–18.

Kubota H. Quality control against misfolded proteins in the cytosol: a network for cell survival // *J. Biochem.* 2009. – V. 146, No. 5. – P. 609–616.

Morano KA, Grant CM, Moye-Rowley WS. The Response to heat shock and oxidative stress in *Saccharomyces cerevisiae* // *Genetics.* – 2012. – V. 190. – P.1157–1195.

Pyatrikas D.V., Fedoseeva I.V., Varakina N.N., Rusaleva T.M., Stepanov A.V., Fedyaeva A.V., Borovskii G.B., Voinikov V.K., Rikhvanov E.G. Relation between cell death progression, reactive oxygen species production and mitochondrial membrane potential in fermenting *Saccharomyces cerevisiae* cells under heat-shock conditions // *FEMS Microbiol Lett.* – 2015. – V. 362: fnv082.

Fedoseeva I. V. The role of flavin-containing enzymes in mitochondrial membrane hyperpolarization and ROS production in respiring *Saccharomyces cerevisiae* cells under heat-shock conditions / I. V. Fedoseeva, D. V. Pyatrikas, A. V. Stepanov, A. V. Fedyaeva, N. N. Varakina, T. M. Rusaleva, G. B. Borovskii, E. G. Rikhvanov // *Scientific Reports.* – 2017. – V. 7: 2586.

Qu AL, Ding YF, Jiang Q, Zhu C. Molecular mechanisms of the plant heat stress response // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2013. – V. 432. – P. 203–207.

RESPONSE *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* CELLS ON HEAT EXPOSURE IN DISRUPTING OF THE FUNCTIONING MITOCHONDRIA

I.V. Fedoseeva, E.G. Rikhvanov

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia, fedoseeva@sifibr.irk.ru

Abstract. The main cause of yeast cell death in moderate heat shock is increased production of reactive oxygen species (ROS). Mitochondria make the main contribution to the production of ROS under thermal exposure. Increased mitochondrial membrane potential (MMP) is the reason for increased ROS production. Thus, increased MMP runs the program the death of yeast cells upon moderate heat shock. At the same time, the increase of MMP during mild heat stress activate a protective program aimed at increasing resistance.

Keywords: *mitochondria, reactive oxygen species, mitochondrial membrane potential, heat shock proteins, thermotolerance*

МИТОХОНДРИАЛЬНЫЙ МЕМБРАНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ И АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА КАК ИНДИКАТОРЫ СТРЕССОВОГО СОСТОЯНИЯ РАСТЕНИЙ

А.В. Федяева¹, И.В. Любушкина^{1,2}, А.В. Степанов¹, И Ли³, А.В. Сидоров^{1,4}, Е.Г. Рихванов¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия, fedyaeva.anna@mail.ru

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Иркутский государственный университет», Иркутск, Россия, ostrov1873@yandex.ru

³Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Иркутский государственный аграрный университет имени А.А. Ежевского», Иркутская область, пос. Молодёжный, Россия, li05161020@163.com

⁴Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Иркутск, Россия, a_v_sidorov@mail.ru

Аннотация. Продукция активных форм кислорода повышается в ответ на действие стрессоров различной природы в клетках растений. В данной работе было показано, что тепловое и холодное воздействие, а также обработка гербицидом диуроном приводили к одновременному повышению уровня АФК и увеличению митохондриального мембранного потенциала в клетках растений. Это позволяет предполагать, что данные явления являются индикаторами стрессового состояния растения.

Ключевые слова: активные формы кислорода, митохондриальный потенциал

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-781-785

Абиотические или биотические стрессовые воздействия приводят к повышению продукции активных форм кислорода (АФК) в клетках растений [Zhang et al., 2009]. Одним из сайтов продукции АФК являются митохондрии [Gill et al., 2010]. Показано, что между продукцией АФК митохондриями и изменением потенциала на внутренней митохондриальной мембране наблюдается связь. Есть данные, свидетельствующие, что генерация АФК митохондриями усиливается при понижении митохондриального мембранного потенциала (ММП) [Vianello et al., 2007]. Однако в ряде случаев может наблюдаться и обратная зависимость: повышение уровня АФК в клетках растений происходит параллельно увеличению ММП [Федяева и др., 2014; Lyubushkina et al., 2014; Sun et al., 2012]. Известно, что обработка некоторыми гербицидами приводит к усилению генерации АФК [Chen et al., 2015; Pazmino et al., 2011]. Поэтому в данной работе изучили, как температурные воздействия и обработка гербицидом диуроном влияют на уровень АФК и изменение ММП и в культуре клеток растений.

Материалы и методы. В работе была использована суспензионная культура клеток растений: озимая пшеница (*Triticum aestivum* L.) и арабидопсис (*Arabidopsis thaliana*). Культуру клеток растений выращивали при 26 °С и подвергали температурной обработке 45 °С в течение 30 мин и -8 °С в течение 1 ч, а также обработке гербицидом диуроном 200 мкМ в течение 1 ч. В работе был использован флуоресцентный микроскоп Axio Observer Z1.

Результаты. На начальном этапе работы изучали влияние температурной обработки на интенсивность флуоресценции DCF и JC-1 в культуре клеток озимой пшеницы. Для оценки изменения АФК в клетках растений использовали

флуоресцентный краситель DCF, флуоресценция которого усиливается при повышении уровня АФК. Для определения изменения ММП применяли флуоресцентный краситель JC-1, который накапливается в митохондриях в зависимости от ММП. Культуру клеток инкубировали при температуре 45 °С в течение 30 мин или -8 °С в течение 1 ч после этого добавляли краситель и через 10 мин фиксировали результат. Было показано, что тепловой шок приводил к увеличению интенсивности свечения красителя DCF (риунок, а), и повышению интенсивности флуоресценции JC-1 (рисунок, б). Аналогичным образом, увеличение интенсивности флуоресценции обоих красителей в клетках растений наблюдалось при холодовом шоке (рисунок, в, г).

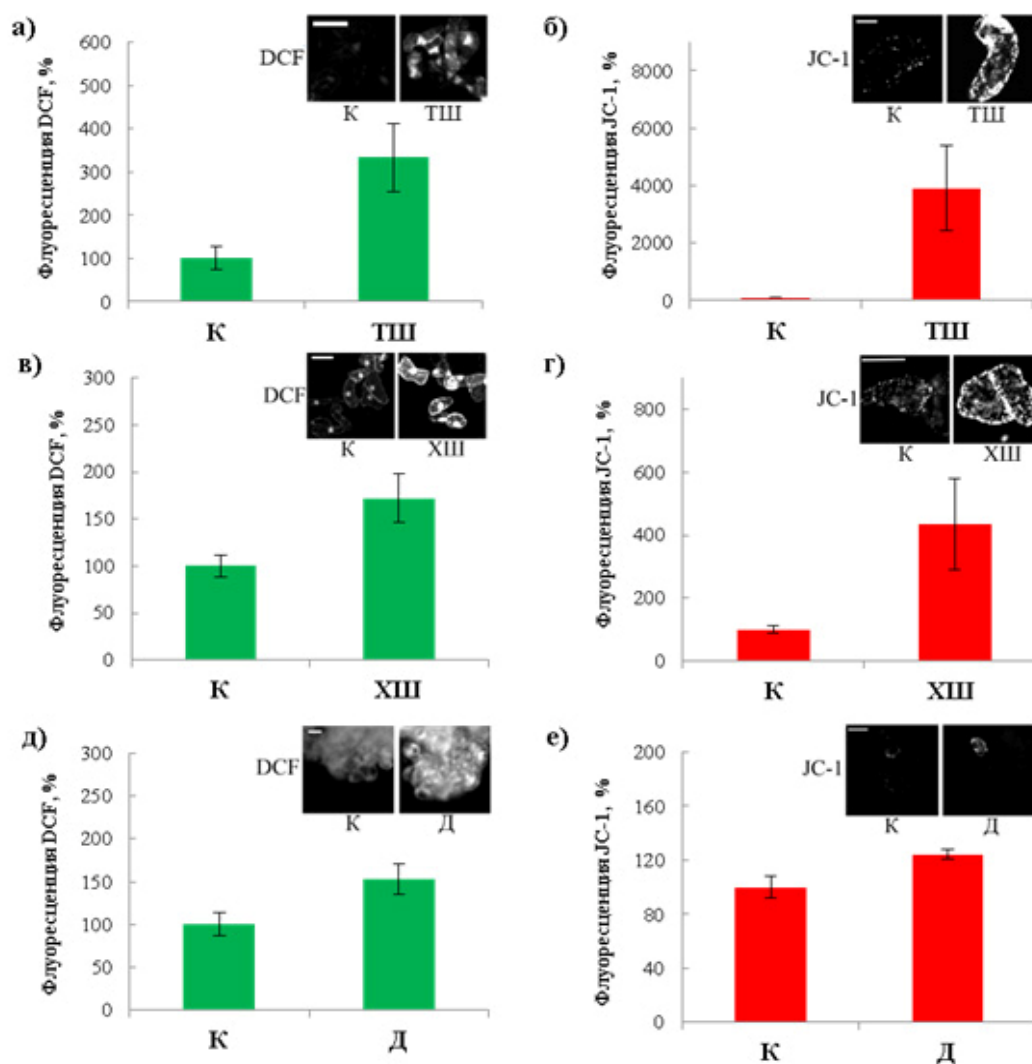


Рисунок. Влияние теплового шока (а, б), холодового шока (в, г) и обработки гербицидом диуроном (е, д) на изменение флуоресценции DCF и JC-1 в культуре клеток озимой пшеницы (а-г) и арабидопсиса (е, д). Обозначения: К – контрольная культура клеток, 26 °С; ТШ – культура клеток озимой пшеницы, инкубируемая при 45 °С; ХШ – культура клеток озимой пшеницы, инкубируемая при -8 °С; Д – культура клеток арабидопсиса, инкубируемая в присутствии 200 мкМ диурона. $n=3$, $M \pm S.E.$ Масштабная линейка: 20 мкм (б, д, е), 50 мкм (а, в, г).

На следующем этапе изучили влияние гербицида диурона на интенсивность флуоресценции красителей DCF и JC-1, для чего использовали культуру клеток арабидопсиса. Диурон (200 мкМ) вносили в культуру клеток (100 мкл) и инкубировали

1 ч. После этого, как видно из графика (рисунок, д, е), происходило увеличение интенсивности флуоресценции красителей DCF и JC-1.

Таким образом, температурное воздействие, как тепловое, так и холодное, а также обработка диуроном вызывают одновременное повышение флуоресценции DCF и JC-1.

Обсуждение. Известно, что температурное воздействие, как повышенными, так и низкими температурами вызывает в клетках растений повышение генерации АФК [Qu et al., 2013; Zhu et al., 2007]. К такому же эффекту может приводить обработка некоторыми гербицидами [Chen et al., 2015; Pazmino et al., 2011]. Действительно, повышение генерации АФК в клетках растений наблюдалось при действии теплового шока и холодного шока, а также при воздействии гербицида диурана (рисунок). В клетках растений описаны различные механизмы генерации АФК. АФК могут образовываться за счет функционирования НАДФН-оксидаз плазматической мембраны, хлоропластов, пероксисом [Mittler et al., 2011; Møller, 2001]. Митохондрии растительной клетки также являются важным источником образования АФК [Møller, 2001]. Принято считать, что усиление продукции АФК митохондриями наблюдается в результате нарушения функционирования митохондриальной электрон-транспортной цепи, в результате отдельные компоненты цепи перевосстанавливаются, что и является причиной генерации АФК. Нарушение функционирования цепи, как правило, приводит к снижению ММП. Поэтому снижение ММП часто сопровождается повышением продукции АФК митохондриями [Rhoads et al., 2006; Skulachev, 1998]. Однако это правило не всегда выполняется. Известны случаи, когда в клетках растений наблюдается одновременное усиление продукции АФК и повышение ММП [Sun et al., 2012; Федяева и др., 2014; Lyubushkina et al., 2014]. Действительно, при повышении продукции АФК в клетках растений при действии теплового и холодного шока, а также при обработке диуроном наблюдалось одновременное повышение ММП и уровня АФК (рисунок).

Зависимость между повышением генерации АФК и изменением митохондриального потенциала указывает на то, что, во-первых, при действии исследуемых стрессовых ситуаций наблюдается усиление продукции именно митохондриальных АФК, а во-вторых, повышение ММП в данных условиях является причиной усиления продукции АФК. Предполагается, что повышение ММП может быть следствием либо повышения уровня восстановленных эквивалентов, таких как НАДН и НАДФН, либо нарушением способности внутренней митохондриальной мембраны проводить протоны в матрикс в результате нарушения функционирования FoF₁-АТФ-синтазы или нарушения транспорта АДФ в митохондрии. Следует отметить, что повышение ММП в нашем случае наблюдалось только на ранних этапах стрессового воздействия (данные не приведены). Можно предположить, что на ранних этапах наблюдается прямая связь между повышением ММП и продукцией АФК, то есть повышение ММП стимулирует продукцию АФК, а на более поздних этапах – обратная, продукцию АФК стимулирует снижение ММП.

В нашей работе показано, что стрессоры различной природы вызывают как изменение потенциала на внутренней митохондриальной мембране, так и повышение генерации АФК. Таким образом, полученные нами данные позволяют предположить, что наблюдаемые явления являются индикаторами стрессового состояния растения.

Работа выполнена на оборудовании ЦКП «Биоаналитика» СИФИБР СО РАН (г. Иркутск).

Литература

Федяева А.В., Степанов А.В., Любушкина И.В., Побежимова Т.П., Рихванов Е.Г. Тепловой шок индуцирует продукцию активных форм кислорода и повышает потенциал на внутренней митохондриальной мембране в клетках озимой пшеницы // Биохимия. – 2014. – Т. 79, № 11. – С. 1476–1486.

Chen Z.W., Chen H., Zou Y.Q., Qiu J.G., Wen Y.Z., Xu D.M. Are nutrient stresses associated with enantioselectivity of the chiral herbicide imazethapyr in *Arabidopsis thaliana*? // J. Agric. Food Chem. – 2015. – V. 63, No. 47. – P. 10209–10217.

Gill S.S., Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants // Plant physiology and biochemistry. – 2010. – V. 48, No. 12. – P. 909–930.

Lyubushkina I.V., Grabelnych O.I., Pobezhimova T.P., Stepanov A.V., Fedyaeva A.V., Fedoseeva I.V., Voinikov V.K. Winter wheat cells subjected to freezing temperature undergo death process with features of programmed cell death // Protoplasma. – 2014. – V. 215. – P. 615–623.

Mittler R., Vanderauwera S., Suzuki N., Miller G., Tognetti V.B., Vandepoele K., Gollery M., Shulaev V., Van Breusegem F. ROS signaling: the new wave? // Trends Plant Sci. – 2011. – V. 16, No. 6. – P. 300–309.

Møller I.M. Plant mitochondria and oxidative stress: Electron Transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. – 2001. – V. 52. – P. 561–591.

Pazmiño D.M., Rodríguez-Serrano M., Romero-Puertas M.C., Archilla-Ruiz A., Del Río L.A., Sandalio L.M. Differential response of young and adult leaves to herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in pea plants: role of reactive oxygen species // Plant Cell Environ. – 2011. – V. 34, No. 11. – P. 1874–1889.

Rhoads D.M., Umbach A.L., Subbaiah C.C., Siedow J.N. Mitochondrial reactive oxygen species. Contribution to oxidative stress and interorganellar signaling // Plant Physiol. – 2006. – V. 141, No. 2. – P. 357–366.

Skulachev V.P. Uncoupling: new approaches to an old problem of bioenergetics // Biochim. Biophys. Acta. – 1998. – V. 1363, No. 2. – P. 100–124.

Sun J., Zhang C.L., Deng S.R., Lu C.F., Shen X., Zhou X.Y., Zheng X.J., Hu Z.M., Chen S.L. An ATP signalling pathway in plant cells: extracellular ATP triggers programmed cell death in *Populus euphratica* // Plant Cell Environ. – 2012. – V. 35, No. 5. – P. 893–916.

Vianello A., Zancani M., Peresson C., Petrusa C., Casolo V., Krajnakova J., Patui S., Braidot E., Macri F. Plant mitochondrial pathway leading to programmed cell death // Physiologia Plantarum. – 2007. – V. 129. – P. 242–252.

Qu A.L., Ding Y.F., Jiang Q., Zhu C. Molecular mechanisms of the plant heat stress response // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2013. – V. 432, No. 2. – P. 203–207.

Zhang L., Li Y., Xing D., Gao C. Characterization of mitochondrial dynamics and subcellular localization of ROS reveal that HsfA2 alleviates oxidative damage caused by heat stress in *Arabidopsis* // J Exp Bot. – 2009. – V. 60. – P. 2073–2091.

Zhu J., Dong C.H., Zhu J.K. Interplay between cold-responsive gene regulation, metabolism and RNA processing during plant cold acclimation // Curr. Opin. Plant Biol. – 2007. – V. 10, No. 3. – P. 290–295.

MITOCHONDRIAL MEMBRANE POTENTIAL AND REACTIVE OXYGEN SPECIES, AS INDICATORS OF STRESS STATUS OF PLANTS

A.V. Fedyaeva¹, I.V. Lyubushkina^{1,2}, A.V. Stepanov¹, Y. Li³, A.V. Sidorov^{1,4}, E.G. Rikhvanov¹

¹Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia, *fedyaeva.anna@mail.ru*

²Irkutsk State University, Irkutsk, Russia, *ostrov1873@yandex.r*

³Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Irkutsk State Agricultural University named after A.A. Ezhevsky», Irkutsk region, Molodezhny settlement, Russia, *li05161020@163.com*

⁴Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Irkutsk State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Irkutsk, Russia *a_v_sidorov@mail.ru*

Abstract. Reactive oxygen species production is activated in response to different stress factors. Heat shock and cold shock as well as treatment by diuron herbicide was shown to led to simultaneous increase in ROS production and mitochondrial membrane potential level in plant cells. It was supposed that these phenomena are indicators of the stress situation in plant.

Keywords: *reactive oxygen species, mitochondrial potential*

ИЗМЕНЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА И цАМФ В ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЯХ КАРТОФЕЛЯ *IN VITRO* СОРТА СКАРБ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УСТОЙЧИВОСТИ К БАКТЕРИАЛЬНОМУ ВОЗБУДИТЕЛЮ КОЛЬЦЕВОЙ ГНИЛИ

Н.В. Филинова, Л.А. Ломоватская, А.С. Романенко

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия, Filinova@sifibr.irk.ru

Аннотация: Изучали изменение уровней H_2O_2 и цАМФ в трансгенных растениях картофеля с повышенным содержанием пероксида водорода при заражении бактериальным возбудителем кольцевой гнили при высокой инфекционной нагрузке. Установлено, что растения картофеля с. Скарб проявили среднюю устойчивость к патогену кольцевой гнили, в то время как трансформированные растения показали отсутствие устойчивости. Предполагается, что изначально повышенный уровень H_2O_2 у трансгенных растений негативно влияет на развитие защитных реакций при инфицировании бактериальным патогеном.

Ключевые слова: H_2O_2 , цАМФ, *Solanum tuberosum*, системная устойчивость, бактериальный возбудитель

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-786-789

В настоящее время важнейшим направлением селекции картофеля является создание сортов, сочетающих высокий потенциал продуктивности и вкусовых качеств с устойчивостью к болезням и вредителям. В целях повышения защитных свойств и создания устойчивых форм растений эффективным подходом, в дополнение к традиционным методам селекции, является генетическая инженерия. На сегодняшний день трансгенные растения широко используются в качестве модельных систем для решения различных задач [Кочетов, Шумный, 2016].

В литературе показано [Wu et al., 1995], что увеличение концентрации пероксида водорода в растительных тканях приводит к повышению неспецифической устойчивости растений к разнообразным биотическим и абиотическим факторам, в том числе к бактериальным инфекциям. Искусственно такого эффекта можно добиться путем введения в геном растения гена глюкозооксидазы (*gox*) [Савчин и др., 2012]. Данный ген встречается в грибах, бактериях и дрожжах, но отсутствует в растительных организмах. Глюкозооксидаза окисляет глюкозу в тканях растений с образованием пероксида водорода, который является антипатогенным агентом. Однако пероксид является сигнальной молекулой, наряду с цАМФ, и активно участвует в регуляции фитоиммунитета [Креславский, 2012].

Известно, что в полевых условиях при избыточном увлажнении бактериальный возбудитель кольцевой гнили весьма активно поражает растения картофеля во многих районах, в том числе и Белоруси, создавая повышенный инфекционный фон.

Поэтому целью данной работы было выявить динамику изменения концентраций H_2O_2 и цАМФ в трансгенных растениях картофеля *in vitro* с изначально повышенным содержанием пероксида водорода при высокой инфекционной нагрузке возбудителем кольцевой гнили *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* (Cms).

В работе использовали растения картофеля *in vitro* (*Solanum tuberosum* L.) с. Скарб (СК 1) и 3 трансгенные линии данного сорта, полученные в ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Белоруси». Для их трансформации был использован нативный ген глюкозооксидазы *gox* (линия LP 17.2) из грибного штамма *Penicillium funiculosum* 46.1., а также модифицированный ген *gox-mod* (линия М 7.3) и растения

трансформированные вектором без целевого гена (линия РВ 14.10). Растения подращивали на агаризованной среде Мурасиге-Скуга при 14-часовом светопериоде, через две недели переносили на жидкую среду и заражали планктонной культурой *Sms* штамма 6889 с конечным титром 10^8 /мл. Начиная с дня заражения и через каждые 48 часов снимали морфометрические показатели: прирост и количество листьев, а также учитывали симптомы заболевания: точечные и обширные некрозы, хлорозы, повреждения корней. В первый и 10 день заражения определяли количество H_2O_2 и цАМФ в корнях и стеблях. Контролем служили инокулированные растения.

Определение содержания перекиси водорода проводили с помощью метода описанного в [Попов и др., 2016]. Уровень цАМФ определяли методом иммуноферментного анализа [Lomovatskaya et al., 2011].

Проведенные исследования показали, что при заражении бактериальным возбудителем кольцевой гнили рост растений картофеля *in vitro* с. Скарб замедлялся, но не останавливался как в случае с трансгенными растениями (рис. 1 а, б).

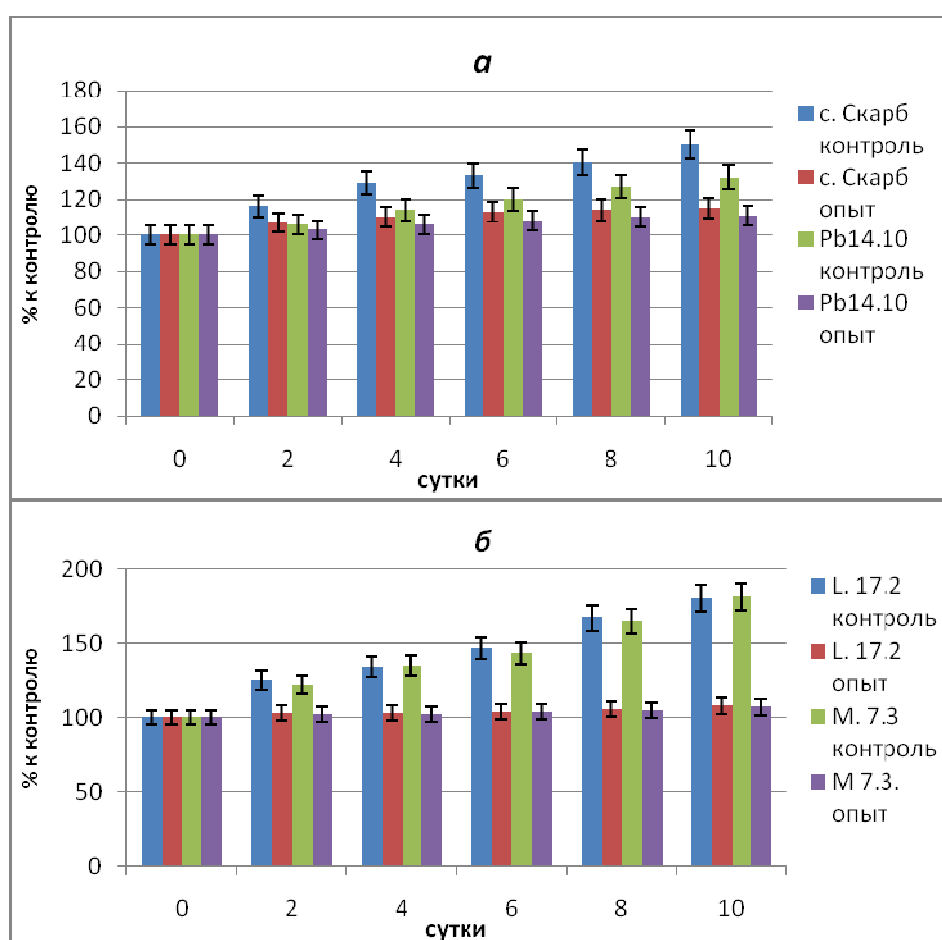


Рис. 1. Прирост растений картофеля *in vitro* при заражении *Sms*, % к контролю: а – растения с. Скарб и линии РВ 14.10 (трансформация «пустым вектором»), б – растения линий L 17.2 (ген *dox*) и M 7.3 (ген *dox-mod*).

Растения линий L 17.2 и M 7.3 практически останавливались в росте. Симптомы заболевания возникали на 5-6 день инокуляции в виде усыхания кончиков листьев, точечных некрозов и хлорозов.

Одну из причин такой реакции растений, вероятно, заключается в высокой инфекционной нагрузке, созданной в экспериментах. В литературе есть сведения о применении титров бактерий, значительно превышающих используемые, но при этом эксперименты проводились в вегетационных сосудах, т.е в «открытой системе». В

наших же опытах использовались растения, помещенные в пробирки, плотно закрытые пробками, т.е. была создана «замкнутая система», в которой инфекционная нагрузка на растение постоянно возрастала.

Измерение концентрации пероксида водорода показало, что в контроле изначальный уровень H_2O_2 у мутантов превышал таковой у растений с. Скарб. В первые сутки заражения происходило повышение уровня пероксида водорода в растениях с. Скарб и трансформированных «пустым вектором» как в корнях, так и в стеблях (рис. 2). В растениях линий L 17.2. и M 7.3 уровень H_2O_2 был значительно ниже контроля.

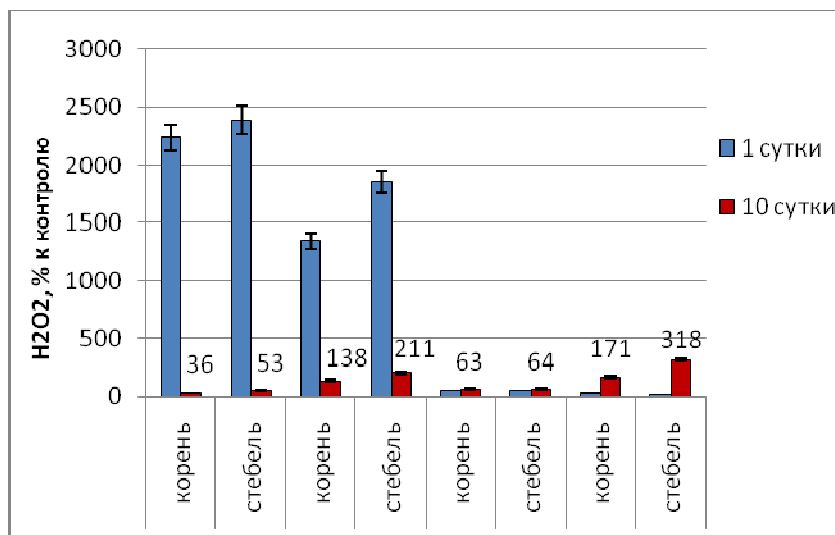


Рис. 2. Изменение концентрации H_2O_2 в растениях картофеля *in vitro* в первые и 10 сутки заражения бактериальным патогеном *Sms*.

На 10 сутки в корнях с. Скарб уровень H_2O_2 был значительно ниже контроля, у растений линии Pb 14.10 незначительно превышал контроль, а наибольшая концентрация пероксида водорода была обнаружена в стеблях линии M 7.3. (рис. 2).

В то же время наибольший уровень цАМФ наблюдался в корнях и стеблях нетрансформированных растений с. Скарб (рис. 3) как через сутки заражения, так и через 10 суток, что вероятно говорит об активации системного ответа растения на заражение. Из линий трансгенных растений только у растений Pb 14.10 было зафиксировано повышение концентрации цАМФ выше контроля, тогда как у мутантов этот показатель был ниже контрольного варианта (рис. 3).

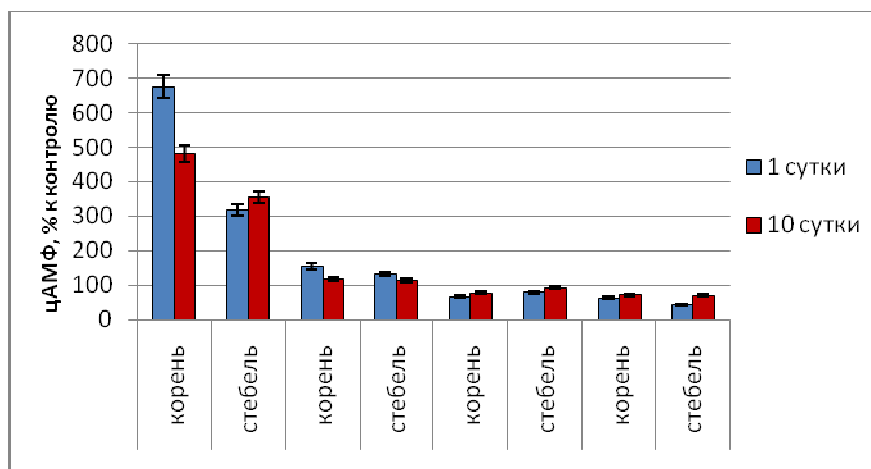


Рис. 3. Изменение концентрации цАМФ в растениях картофеля *in vitro* в первые и 10 сутки заражения бактериальным патогеном *Sms*.

Таким образом высокая инфекционная нагрузка бактериальным патогеном *Sms* ингибировала рост и вызывала обширные симптомы у трансгенных растений картофеля с исходно повышенным уровнем пероксида водорода. На этом фоне уровни рассматриваемых сигнальных молекул существенно снижались. В то же время у растений картофеля сорта Скарб и трансформированных вектором без целевого гена наблюдалась системное повышение уровня H_2O_2 и цАМФ, что сопровождалось незначительными симптомами. Поскольку H_2O_2 является сигнальной молекулой, то исходный повышенный уровень у трансформированных растений, вероятно, негативно влияет на развитие защитных реакций при инфицировании *Sms*.

Авторы благодарят О.Ю. Урбанович и К.З. Гамбурга за предоставленные трансгенные линии картофеля in vitro.

Литература

Кочетов А.В., Шумный В.К. Трансгенные растения как генетические модели для изучения функций генов растений // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2016. – Т. 20. – № 4. – С. 475–481.

Креславский В.Д., Лось Д.А., Аллахвердиев С.И., Кузнецов Вл.В. Сигнальная роль активных форм кислорода при стрессе у растений // Физиология растений. – 2012. – Т. 59, № 2. – С. 163–178.

Попов В.Н., Антипина О.В., Астахова Н.В. Изменение ультраструктуры хлоропластов растений табака в процессе защиты от окислительного стресса при гипотермии // Физиология растений. – 2016. – Т. 63, № 3. – С. 319–326.

Савчин Д.В., Панюш А.С., Картель Н.А. Создание и анализ трансгенных растений картофеля и табака с геном *gox* *Penicillium funiculosum* // Известия НАН Беларуси. – 2012. – № 4. – С. 16–20.

Lomovatskaya L.A., Romanenko A.S., Filinova N.V., Dudareva L.V. Determination of cAMP in plant cells by a modified enzyme immunoassay method // Plant Cell Rep. – 2011. – V. 30. – P. 125–132.

Wu G., Shortt B.J., Lawrence E.B., Levine E.B., Fitzsimmons K.C., Shah D.M. Disease resistance conferred by expression of a gene encoding H_2O_2 -generating glucose oxidase in transgenic potato plants // The Plant Cell. – V. 7. – P. 1357–1368.

CHANGE OF CONCENTRATION OF HYDROGEN PEROXIDE AND cAMP IN TRANSGENIC PLANTS *IN VITRO* GRADE SCARB DEPENDING ON RESISTANCE TO BACTERIAL RING ROT PATHOGEN

N.V. Filinova, L.A. Lomovatskaya, A.S. Romanenko

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russia, *Filinova@sifibr.irk.ru*

Abstract: The changes in cAMP and H_2O_2 levels in transgenic potato plants with an increased content of hydrogen peroxide when infecting bacterial ring rot pathogen infectivity at a high load. It is established that potato plants grade Scarb showed moderate resistance to the pathogen of ring rot, while the transformed plants showed a lack of resistance. It is assumed that initially elevated levels of H_2O_2 in transgenic plants has a negative impact on the development of defense responses during infection by a bacterial pathogen.

Keywords: H_2O_2 , cAMP, *Solanum tuberosum*, systemic resistance, bacterial pathogen

**ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ БЕЛКА МЕМБРАННЫХ МИКРОДОМЕНОВ
ARABIDOPSIS THALIANA Flot1 В РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА
Na⁺/H⁺ АНТИПОРТЕРА *SOS1***

Л.А. Халилова¹, О.В. Майорова¹, Ю.В. Орлова¹, И.В. Карпычев¹, Н.А. Мясоедов¹,
О.И. Неделева¹, Л.Г. Попова¹, Ю.В. Балнокин^{1,2}

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Россия, lhalilova@mail.ru

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия

Аннотация. Исследование содержания мРНК в органах методом количественной ОТ-ПЦР продемонстрировало у инсерционного мутанта *A. thaliana flot1* (GK-467G04) повышенную транскрипцию *AtFlot1* и *AtSOS1* по сравнению с ДТ. Изменения в транскрипции этих генов сопровождалась увеличением массы органов, снижением содержания в них Na⁺, а также активированием образования пост-Гольджи везикул. Предполагается, что *AtFlot1* регулирует экспрессию *AtSOS1* и доставку последнего в плазмалемму посредством экзоцитоза.

Ключевые слова: *Arabidopsis thaliana*, мутант *flot1*, фенотип, *AtSOS1*, аппарат Гольджи
DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-790-794

В плазмалемме (ПМ) клеток растений имеются области, названные мембранными микродоменами (МД), которые отличаются от своего окружения по своим физическим свойствам и химическому составу. МД обогащены стеринами, сфинголипидами, насыщенными фосфолипидами и содержат глюкозилфосфатидил инозитол (GPI)-заякоренные и интегральные белки [Demir et al., 2013]. Помимо адресования (targeting) белков при экзоцитозе и эндоцитозе МД вовлечены в мембранный транспорт и сигнальную трансдукцию [Ikonen, 2001]. Важным компонентом МД являются GPI-заякоренные белки, флотиллины, которые относятся к большому суперсемейству белков, выполняют различные функции и обнаруживаются у всех эукариот. Геном *Arabidopsis thaliana* содержит три кодирующие области гомологов флотиллинов (*At5g25250*, *At5g25260* и *At5g64870*), названных, соответственно, *AtFlot1*, *AtFlot2* и *AtFlot3* [Danek et al., 2016]. Транскрипция *AtFlot1* и *AtFlot2* происходит преимущественно в побегах, тогда как *AtFlot3* – в цветках и плодах. Флотиллины обнаруживаются не только в ПМ, но также в эндосомах и других везикулярных компартментах клетки [Liu et al., 2005].

Цель настоящей работы состояла в исследовании роли *AtFlot1* в регуляции транскрипции гена Na⁺-транспортирующего белка ПМ *AtSOS1* и опосредованно, через содержание *AtSOS1* в мембране – в поддержании Na⁺ гомеостаза клеток. Для этого определяли уровень транскрипции генов *AtFlot1* и *AtSOS1* у мутанта *Atflot1* и его ДТ, а также исследовали мутантный фенотип (рост, содержание ионов Na⁺ в органах, ультраструктуру клеток) в присутствии и в отсутствие 100 мМ NaCl в среде выращивания растений.

Материалы и методы исследований. Объект исследований: *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (экотип Col-0) и его инсерционный мутант *Atflot1* (GK-467G04). Согласно информации, содержащейся на сайте (www.arabidopsis.org), вставка находится в промоторе гена. У похожего инсерционного мутанта *A. thaliana* по гену *AtFlot1* (также со вставкой в промоторе) наблюдался повышенный уровень транскрипции *AtFlot1* (Li et al., 2012). Растения выращивали в условиях водной культуры. Семена проращивали на

агаризованной питательной среде $\frac{1}{2}$ Мурасиге-Скуга ($\frac{1}{2}$ МС), дополнительно содержащей 1% сахарозу. 14-дневные проростки переносили на жидкий ПР ($\frac{1}{2}$ МС), содержащий или не содержащий 100 мМ NaCl. Измерения массы органов, содержания в них Na^+ и уровня транскриптов *AtFlot1* и *AtSOS1* проводили на растениях 45-дневного возраста.

Количественное определение содержания транскриптов в органах. кОТ-ПЦР использовали для анализа экспрессии генов *Atflot1* и *AtSOS1* в мутантных растениях и растениях ДТ с использованием *ACT2* в качестве референсного гена. Программа для амплификации была создана в соответствии с рекомендациями производителя прибора АНК-32 (Синтол) и инструкции к набору «Готовая Смесь для ПЦР qPCRmix-HS SYBRmix» (Евроген). Праймеры подбирали с использованием программы LightCycler Probe Design 2.0 (Roche). Относительный уровень представленности транскрипта (R) вычисляли с помощью метода $C_t (2^{-\Delta\Delta C_t})$.

Определение содержания ионов в органах. Высушенный при 90 °С материал измельчали, подвергали водной экстракции при 100 °С в течение 1 ч. Концентрацию Na^+ в экстрактах органов измеряли с помощью пламенного фотометра ФПА-2-01 (Россия). Содержание ионов рассчитывали на сырой вес органов.

Электронная микроскопия. Для исследования ультраструктуры клеток корня использовали 4-дневные проростки, выращенные на агаризованной питательной среде $\frac{1}{2}$ Мурасиге-Скуга ($\frac{1}{2}$ MS), дополнительно содержащей 1% сахарозу, с добавлением или без добавления 100 мМ NaCl. Ультраструктуру клеток изучали с помощью трансмиссионной электронной микроскопии. Образцы подготавливали в соответствии со стандартной методикой [Балнокин и др., 2007].

Результаты. Исследование экспрессии генов *AtFlot1* и *AtSOS1*. Исследование экспрессии гена *AtFlot1* методом количественной ОТ-ПЦР показало, что для мутанта *flot1* в целом характерен более высокий уровень транскрипции этого гена, чем у растений ДТ. Повышенный уровень транскрипции был обнаружен в корнях при отсутствии NaCl в среде, а в листьях, как при отсутствии NaCl в ПР, так и в условиях засоления.

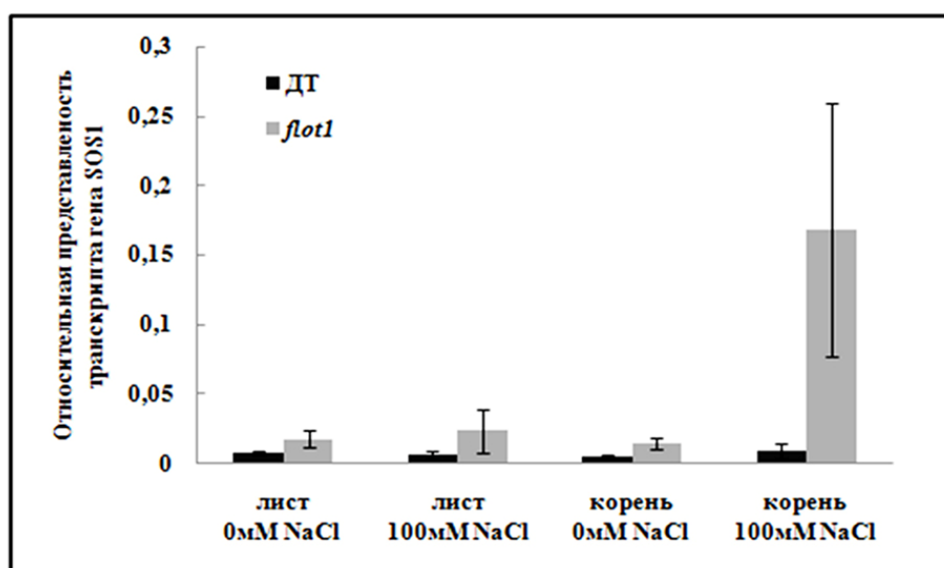


Рис. 1. Относительная представленность транскриптов гена *AtSOS1* у мутанта *Atflot1* и ДТ *A. thaliana* при выращивании растений в среде, содержащей 0 или 100 мМ NaCl. Данные представлены как средние значения и их стандартные ошибки.

Наряду с изменениями в уровне транскрипции *AtFlot1* у мутанта наблюдалось значительно более высокое содержание транскриптов гена Na^+/H^+ антипортера ПМ *AtSOS1*. В результате мутации *flot1* содержание транскриптов *AtSOS1* возросло, как в корнях, так и в листьях, особенно заметно (в 19 раз) при выращивании растений на среде, содержащей 100 мМ NaCl.

Рост и содержание ионов Na^+ в органах мутанта *flot1* и растений ДТ *A. thaliana*. Вызванные мутацией изменения в экспрессии генов *AtFlot1* и *AtSOS1* сопровождалась изменениями в росте и ионном статусе растений. 100 мМ NaCl, внесенный в ПР, тормозил рост как корней, так и листьев *A. thaliana*. Подавление роста в присутствии соли наблюдалось и у мутанта, и у растений ДТ и было выражено в листьях в значительно большей степени, чем в корнях. Однако сравнение масс корней мутанта *flot1* и растений ДТ показало, что мутация в целом оказывает стимулирующее действие на рост *A. thaliana*. У мутанта в отсутствие соли рост корней был больше на 19%, а рост листьев – на 55 и 40% при 0 и 100 мМ NaCl в ПР, соответственно.

Содержание Na^+ в корнях и листьях, как мутанта *flot1*, так и растений ДТ в условиях засоления многократно возрастало (рис. 1). Однако у мутанта содержание Na^+ в органах при засолении было существенно ниже, чем у ДТ (на 50 и 37% в корнях и листьях, соответственно).

Ультраструктура клеток корня мутанта *flot1* и растений дикого типа. Электронно-микроскопическое исследование клеток корня растений *A. thaliana* ДТ, выращенных на ПР без NaCl, обнаружило типичную для растительной клетки ультраструктуру. Выращивание растений ДТ на среде, содержащей 100 мМ NaCl, привело к ряду изменений в ультраструктуре клеток корня. Эти изменения в основном затронули аппарат Гольджи (АГ) и пост-Гольджи структуры. В частности, активировался процесс отпочковывания везикул транс-Гольджи сети/ранних эндосом (ТГС/РЭ) от секреторного полюса АГ (рис. 2). Отпочковавшиеся везикулы накапливались в цитоплазме. Иногда они были прозрачными, но чаще содержали мембранный материал, что, по-видимому, указывает на превращение ТГС/РЭ в поздние эндосомы/мультивезикулярные тела (ПЭ/МВТ), которые затем, по-видимому, сливались с ПМ или тонопластом. Иногда наблюдалось гомотипическое слияние ТГС/РЭ с образованием микровакуолей (МВ) (рис. 2).

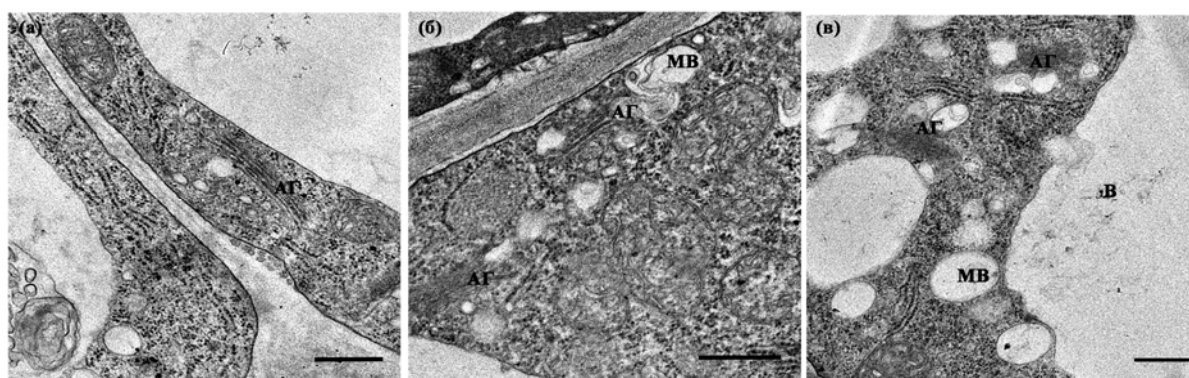


Рис. 2. Аппарат Гольджи в клетках корня растений дикого типа *A. thaliana*. а – контроль (3 мМ NaCl), б, в – 100 мМ NaCl. АГ – аппарат Гольджи, МВ – микровакуоль, В – вакуоль. Масштабный отрезок – 0,5 мкм.

Сравнение ультраструктуры клеток мутанта и растений ДТ показало, что мутация, как и условия засоления, привела к активированию процесса образования пост-Гольджи везикул. АГ у мутанта отпочковывал значительно больше везикул ТГС/РЭ и,

соответственно, образовывал значительно больше ПЭ/МВТ, чем у ДТ. Это наблюдалось как при отсутствии засоления, так и в присутствии 100 мМ NaCl в среде выращивания (рис. 3). Однако активирование образования пост-Гольджи везикул в результате мутации в условиях засоления было более заметным. Вызванные мутацией изменения в АГ проявлялись не только в активировании образования пост-Гольджи структур. У мутанта наблюдалось также снижение числа диктиосом в комплексе Гольджи и их деформация с образованием кольцеподобных структур, что было особенно заметно в условиях засоления (рис. 3). Такие изменения АГ могут свидетельствовать об ускоренном расходовании материала АГ.

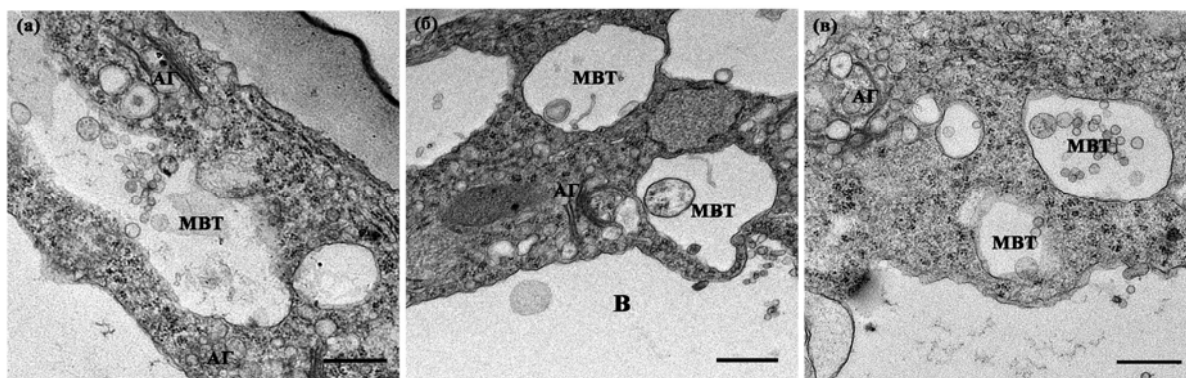


Рис. 3. Аппарат Гольджи в клетках корня мутанта *flot1 A. thaliana*. а – контроль (3 мМ NaCl), б, в – 100 мМ NaCl. АГ – аппарат Гольджи, В – вакуоль МВТ – мультивезикулярное тело. Масштабный отрезок – 0,5 мкм.

Заключение. Измерение содержания мРНК в органах методом количественной ОТ-ПЦР продемонстрировало более высокий уровень транскрипции *AtFlot1* у мутанта *flot1*, чем у ДТ. Повышенное содержание белка *AtFlot1* в мембранных МД, являющихся «платформой» для встраивания в мембрану белков, по-видимому, является причиной повышенного уровня экспрессии *AtSOS1*, Na^+/H^+ антипортера ПМ, а также активирования доставки этого белка к ПМ посредством экзоцитоза. Об активировании экзоцитоза клеток корня у мутанта свидетельствуют данные электронно-микроскопического исследования, продемонстрировавшего образование большого количества пост-Гольджи структур. С повышенной экспрессией *AtSOS1* согласуется более низкое содержание Na^+ в органах мутанта в условиях засоления и его ускоренный рост по сравнению с ДТ.

Работа частично поддержана грантом РФФИ № 18-04-00504.

Литература

Балнокин Ю.В., Куркова Е.Б., Халилова Л.А., Мясоедов Н.А., Юсуфов А.Г. Пиноцитоз в клетках корня соленакапливающего галофита *Suaeda altissima* и его возможное участие в транспорте ионов Cl⁻ // Физиология растений. – 2007. – Т. 54. – С. 892–901.

Demir F., Horntrich C., Blachutzik J. O., Scherzer S., Reinders Y., Kierszniowska S., Schulze W.X., Harms G. S., Hedrich R., Geiger D., Kreuzer, I. *Arabidopsis* nanodomain delimited ABA signaling pathway regulates the anion channel SLAH3 // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2013. – V. 110. – P. 8296–8301

Ikonen E. Roles of lipid rafts in membrane transport // Curr. Opin. Cell Biol. – 2001. – P. 470–477.

Danek, M., Valentova O., Martinec J. Flotillins, erlins, and hirs: from animal base camp to plant new horizon // *Plant Sciences*. – 2016. – V. 35. – P. 191 – 214.

Liu J., DeYoung S. M., Zhang M., Dold L. H., Saltiel A. R. The stomatin/prohibitin/flotillin/HflK/C domain of Flotillin-1 contains distinct sequences that direct plasma membrane localization and protein interactions in 3T3–L1 adipocytes // *J. Biol. Chem.* – 2005. – V. 280. – P. 16125–16134.

Li R. L., Liu P., Wan Y. L., Chen T., Wang Q. L., Mettbach U., Baluska F., Samaj J., Fang X. H., Lucas W. J., Lin J. A membrane microdomain-associated protein, *Arabidopsis* Flot1, is involved in a clathrin-independent endocytic pathway and is required for seedling development // *Plant Cell*. – 2012. – V. 24. – P. 2105–2122.

POSSIBLE ROLE OF Flot1, THE MEMBRANE MICRODOMAIN PROTEIN FROM *ARABIDOPSIS THALIANA*, IN REGULATION OF Na⁺/H⁺ ANTIPORTER *AtSOS1* EXPRESSION

L.A. Khalilova¹, O.V. Majorova¹, Y.V. Orlova¹, I.V. Karpychev¹, N.A. Myasoedov¹, O.I. Nedelyaeva¹, L.G. Popova¹, Y.V. Balnokin^{1,2}

¹K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia, lhililova@mail.ru

²Federal State Budget Educational Institution of Higher Education M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Abstract. The investigation of mRNA content in organs of *Arabidopsis thaliana* by the quantitative RT-PCR method has demonstrated an increased transcription of *AtFlot1* and *AtSOS1* in the insertion *A. thaliana* mutant *flot1* (GK-467G04), compared to the WT. Changes in the transcription of these genes were accompanied by an increase in the FW of organs, a decrease in the Na⁺ content, and an activation of post-Golgi vesicle formation. It is hypothesized that AtFlot1 stimulates the expression of AtSOS1 and its delivery to the plasma membrane by exocytosis.

Keywords: *Arabidopsis thaliana*, mutant *flot1*, phenotype, *AtSOS1*, Golgi apparatus

ЭКЗОГЕННЫЕ АНТИОКСИДАНТЫ И ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В УСЛОВИЯХ ЗАСОЛЕНИЯ У МУТАНТНОЙ ЛИНИИ *ARABIDOPSIS THALIANA* L. HEYNH.

Х. Хамроева¹, Б.Б. Джумаев², З.Б. Давлятназарова², К. Алиев²

¹Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибн Сино, Душанбе, Республика Таджикистан

²Институт ботаники, физиологии и генетики растений АН РТ, Душанбе, Республика Таджикистан, *bahshullo@mail.ru*

Аннотация. Изучено влияние аскорбиновой кислоты и α -токоферола на процессы перекисного окисления липидов у дикого генотипа *Enkheim* и мутантной линии *clavatus* растений арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.) в условиях хлоридного засоления. Показано, что добавление экзогенных антиоксидантов в водную среду выращивания как по отдельности, так и в комплексе приводит к различной степени ингибирования процессов перекисного окисления липидов. Таким образом, как у дикой формы, так и у мутантной линии арабидопсиса экзогенные антиоксиданты в разных вариантах эксперимента оказывают разную защитную реакцию на действие АФК. Однако экзогенные антиоксиданты в комплексе у обоих видов растений оказывают значительное ингибирующее влияние на содержание МДА как конечного продукта ПОЛ.

Ключевые слова: *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., дикая форма *Enkheim*, мутантные линии *clavatus*, засоление, неферментативные антиоксиданты, аскорбиновая кислота, α -токоферол, перекисное окисления липидов

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-795-798

В последние годы особое внимание уделяется изучению действия неблагоприятных факторов окружающей среды (засуха, засоление почв, недостаток элементов минерального питания, высокие или низкие температуры воздуха и патогены различной природы) на физиолого-биохимические параметры растений и роли эндогенных систем защиты в формировании устойчивости в условиях стресса. Действие стрессорных факторов приводит к образованию в клетках активных форм кислорода (АФК) или оксидантов. В процессе эволюции в растениях сформировались защитные механизмы от АФК, которые состоят из различных компонентов. К ним относятся ферменты, фенольные и низкомолекулярные соединения, а также неферментативные антиоксиданты (АО), такие как аскорбиновая кислота, восстановленный глутатион, каротиноиды, токоферолы, флавоноиды, сахара и многие другие [Gill, Tuteja, 2010; Колупаев и др., 2011; Прадедова и др., 2011; Давлятназарова, 2012].

Влияние АФК на физиолого-биохимические показатели экзогенных систем защиты у модельного объекта – растений арабидопсиса в условиях стресса изучено недостаточно.

В этой связи целью наших исследований было изучение защитной реакции экзогенных антиоксидантов, а именно аскорбиновой кислоты (Asc) и α -токоферола (E) при хлоридном засолении у дикой расы и мутантной линии растений вида *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.

В качестве объектов исследования использовали дикий генотип *En* (*Enkheim*) и его мутантной формы *cla* (*clavatus*) [Генетическая ..., 2010]. Использовали следующие схемы опытов: контроль – 1) H₂O; опыт – 2) H₂O+ sc (1 мкМ); 3) H₂O+E; 4) H₂O+Asc+E; контроль – 5) H₂O+NaCl (0.05 M); опыт – 6) H₂O+ NaCl (0.05 M)+Asc (1 мкМ); 7) H₂O+NaCl (0.05 M)+E; 8) H₂O+NaCl (0.05 M)+Asc+E.

Содержание малонового диальдегида (МДА) определяли по методу, описанному в работе [Heath, Packer, 1968], с применением тиобарбитуровой кислоты. Содержание МДА рассчитывали с использованием коэффициента экстинкции $\epsilon=156\text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$, после вычитания неспецифического поглощения при 600 нм.

В работе представлены данные трёх опытов, проведенных в 3-6-ти кратной биологической повторности. Расчеты, построение графиков и их описание осуществляли с помощью программы Microsoft Office Excel 7 и по [Доспехов, 1985].

Полученные результаты свидетельствуют о том, что использование экзогенных антиоксидантов как в отдельности, так и в комплексе в условиях хлоридного засоления оказывает неодинаковую защитную роль от АФК у изученных объектов (рис. 1-2).

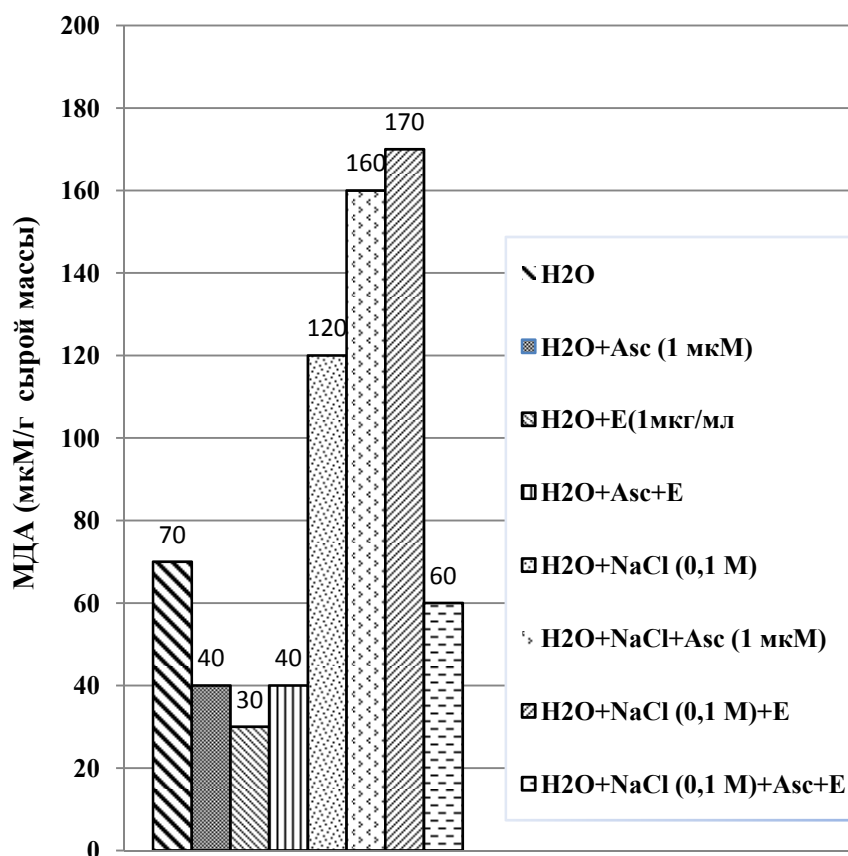


Рис. 1. Влияние хлоридного засоления на содержание МДА у дикой расы арабидопсиса *En* в зависимости от содержания экзогенных антиоксидантов.

У дикой формы арабидопсиса *En* (рис. 1) в условиях водной среды (контроль) наблюдается незначительное накопление малонового диальдегида (МДА). При добавлении Asc, E, а также комплекса Asc+E наблюдается заметное изменение по содержанию МДА. При добавлении Asc содержание МДА уменьшается на 42% от контроля, при добавлении E, процент ингибирования МДА уменьшается до 57%, применение комплекса Asc+E также приводит к уменьшению содержания МДА. В условиях солевого стресса (рис. 1) уровень МДА возрос почти в 2 раза от контроля (без NaCl), при добавлении Asc и E по отдельности содержание МДА продолжало увеличиваться, а действие комплекса Asc+ ингибировало процессы ПОЛ в два раза по сравнению с контролем. Это, возможно, связано с содержанием Asc в реакционной среде, поскольку, как антиоксидант участвует в ингибировании ПОЛ двумя различными механизмами. Во-первых, в восстановленной форме витамин С

восстанавливает окисленную форму α -токоферола и глутатиона, и таким образом поддерживает необходимую концентрацию этих антиоксидантов непосредственно в мембранах клеток. Во-вторых, витамин С, будучи водорастворимым витамином и сильным восстановителем, взаимодействует с водорастворимыми активными формами кислорода и ингибирует их [Gill, Tuteja, 2010], и, возможно, это связано с особенностями дикой расы.

У мутантной линии арабидопсиса *cla* (рис. 2) влияние Asc и E кардинально различалось от дикой формы. Как в условиях водной среды, так и в условиях хлоридного засоления имело место снижение уровня накопления МДА при добавлении экзогенных антиоксидантов, как в отдельности, так и в комплексе. В условиях NaCl при добавлении Asc содержание МДА уменьшается более чем на 33% и 50% по сравнению с контролем с NaCl и без него соответственно. Добавление E и комплекса Asc+E также оказывало значительное влияние на содержание МДА по сравнению с обоими вариантами контроля. Однако, антиоксиданты в комплексе Asc+E оказали значительное ингибирующее влияние на содержание МДА по сравнению с контролем (без NaCl), то есть почти на 50% в обоих вариантах эксперимента.

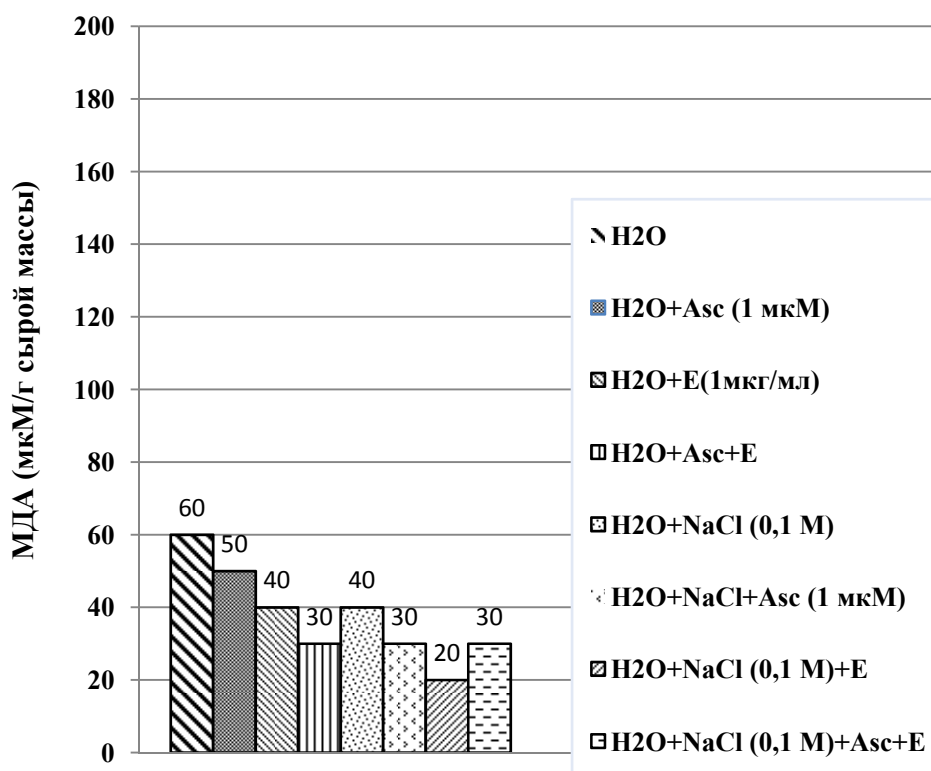


Рис. 2. Влияние хлоридного засоления на изменение содержания МДА у мутанта арабидопсиса *cla* в зависимости от содержания экзогенных антиоксидантов.

Таким образом, как у дикой формы, так и у мутантной линии арабидопсиса экзогенные антиоксиданты у разных вариантов эксперимента оказывают разную защитную реакцию на действие АФК. Однако экзогенные антиоксиданты в комплексе у обоих видов растений оказывают значительное ингибирующее влияние на содержание МДА как конечного продукта ПОЛ.

Литература

Давлятназарова З.Б., Киёмова З.С., Шукурова М.Х., Каспарова И.С., Алиев К. Биохимические аспекты устойчивости разночувствительных генотипов картофеля к солевому стрессу // Известия АН РТ. Отд. биол. и мед. наук. – 2012. – № 3 (180). – С. 43 – 49.

Доспехов В.Н. Методика полевого опыта. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.

Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В., Обозный А.И. Антиоксидантная система растений: участие в клеточной сигнализации и адаптации к действию стрессоров // Вісник Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2011. – Вып. 1 (22). – С. 6–34.

Прадедова Е.В., Ищеева О.Д., Салаяев Р.К. Классификация системы антиоксидантной защиты как основа рациональной организации экспериментального исследования окислительного стресса у растений // Физиология растений. – 2011. – Т. 58, № 2. – С. 177–185.

Генетическая коллекция арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.). Атлас. Редактор-составитель О.В.Усманова. – Душанбе: ООА «Контраст». – 2010. – 96 с.

Gill S.S., Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants // Plant Physiol. Biochem. – 2010. – V. 48. – P. 909–930.

Heath R. L., Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: Role of electron transfer // Arch. Biochem Biophys. – 1968. – V. 125, No. 3. – P. 850–857.

EXOGENOUS ANTIOXIDANTS AND LIPIDE PEROXIDATION OF *ARABIDOPSIS THALIANA* L. HEYNH MUTANT IN SALINITY CONDITIONS

Kh. Hamroeva¹, B.B.Jumayev², Z.B. Davlyatnazarova², K. Aliev²

¹Tajik State Medical University named after Abuali ibn Sino, Dushanbe, Tajikistan

²Institute of Botany, Plant Physiology and Genetics of Academy Sciences of the Republic of Tajikistan, Dushanbe, Tajikistan, *bahshullo@mail.ru*

Abstract. The effect of ascorbic acid (Asc) and α -tocopherol (E) on lipid peroxidation of wild genotype Enkheim and mutant line clavatus of *Arabidopsis* plants was studied. It is shown that the addition of exogenous antioxidants to the growth medium showed different degrees of inhibition of lipid peroxidation. It was shown that under salt stress in the wild form, the MDA level increased, adding of Asc and E separately, MDA content continued to increase, and adding of complex Asc + E inhibited the lipid peroxidation. In mutant, the influence of Asc and E was different from the wild form, level of MDA decreased in present of Asc and E.

Keywords: *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., salinity, ascorbic acid, α -tocopherol, lipid peroxidation

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ БАЗИДИОМИЦЕТОВ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ НЕКОТОРЫХ ПРИРОДНЫХ ГЕТЕРОЦИКЛОВ

О.М. Цивилева¹, Т.А. Пучкова², О.В. Кофтин¹, А.А. Аниськов³, Д.Н. Ибрагимов³

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук, Саратов, Россия tsivileva@ibppm.ru

²Государственное научное учреждение Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь, microbio@mbio.bas-net.by

³Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского», Саратов, Россия, aniskovalvis@gmail.com

Аннотация. На примере ряда культур ксилотрофных базидиомицетов разных экологических ниш изучен биосинтез и экзогенное действие важных биологически активных представителей класса гетероциклических соединений, индольных и кумариновых. Изученные базидиомицеты продуцируют широкий спектр соединений группы индола. Соединения, молекулы которых содержат 4-гидроксикумариновый фрагмент, способны выступать в качестве эффекторов формирования защитных систем базидиомицетов при различных стрессовых воздействиях.

Ключевые слова: высшие грибы, базидиомицеты, природные гетероциклические соединения, биосинтез, биотрансформация

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-799-803

Быстрый рост мицелия высших грибов и особый путь их развития, наряду со сравнительно высокой скоростью продукции органических веществ при формировании плодовых тел, позволяет естественно предположить, что грибы обладают такой системой регуляции, в которой ростовые вещества должны принимать участие. Гормонально контролируемый механизм регуляции роста имеет много общих особенностей у грибов и высших растений. Известно, что не только растения, но и многие симбиотические бактерии, микоризообразующие и патогенные грибы продуцируют β-индолил-3-уксусную кислоту (ИУК). Это и другие производные индола занимают одно из ведущих мест среди биологически активных веществ природного и синтетического происхождения.

Получено много доказательств широкого спектра биологического действия хромен-2-онов (кумаринов) природного и синтетического происхождения как основы малотоксичных и высокоэффективных лекарственных препаратов. Кумарины распространены в растительном мире. Естественно предположить, что многие хромен-2-оны способны вовлекаться в биологические процессы, будучи структурно схожими с веществами фитопроисхождения. Однако практически отсутствуют работы, связанные с выявлением и исследованием действия соединений этого класса в отношении высших грибов - биологических объектов, доступных в лабораторных условиях, нетоксичных, характеризующихся устойчиво детектируемым ответом на разнообразные ксенобиотические воздействия окружающей среды.

Нами предпринято изучение продукции базидиомицетами, биологической активности и биотрансформации гетероциклических соединений, включающих индольный или 4-гидроксикумариновый фрагмент.

Продукция индольных соединений под воздействием дифференцированных условий углеродно-азотного питания глубинных культур базидиомицетов. Литературные данные об обнаружении ИУК и исследовании путей биосинтеза этого

вещества у ксилотрофных базидиомицетов крайне немногочисленны. Ранее нами были получены данные о продукции внеклеточных индольных соединений культурой штамма *Lentinula edodes* F-249 [Цивилева и др., 2012]. Соответствующие сведения для внутриклеточных фракций не были получены, а для глубинных культур других базидиомицетов единичны и противоречивы. Актуально выявление и количественная характеристика продукции ИУК и ее индольных прекурсоров погруженными культурами в зависимости от штамма гриба и химического состава питательной среды.

Изучали образование индольных соединений базидиомицетами *Ganoderma lucidum*, *Laetiporus sulphureus*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus*. Наиболее активными продуцентами ИУК оказались штаммы культивируемых в производственном масштабе грибов *L. edodes* 198 (0,40 мг/г а.с.б.), *P. ostreatus* 69 (0,36 мг/г а.с.б.), дальнейшее изучение образования индольных веществ у которых представляло большой интерес.

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) проведено изучение набора и относительного содержания индольных соединений, присутствующих в мицелии грибов-активных продуцентов фитогормона: *L. edodes* 198, *P. ostreatus* 69, а также для сравнения – у наименее «активного» штамма шиитаке *L. edodes* 182. Оказалось, что шиитаке и вешенка устричная образуют достаточно широкий спектр внутриклеточных соединений индольной природы. На основании полученных результатов для дальнейших исследований отобраны штаммы *L. edodes* 198 и *P. ostreatus* 69.

В качестве факторов питательной среды, влияющих на образование индольных веществ выбраны итамами, изучали источники углеродного, азотного питания, исходную кислотность среды, температуру культивирования.

Исследование динамики накопления индольных соединений в мицелии изучаемых грибов показало, что у *L. edodes* 198 в экспоненциальной фазе роста преобладали триптофан и триптамин, в незначительном количестве обнаружена ИУК, в то время как у *P. ostreatus* 69 – индол-3-карбоксияльдегид (ИКА) и ИУК. При последующем культивировании у *L. edodes* 198 обнаружен также ИКА. В стационарной фазе культивирования у *P. ostreatus* 69, наряду с ранее идентифицированными соединениями, обнаружены также триптофан и триптамин. Следовательно, содержание индольных соединений в биомассе исследуемых грибов коррелировало с их накоплением в культуральной жидкости.

В итоге представлена характеристика состава группы внутриклеточных индольных соединений базидиомицетов родов *Ganoderma*, *Laetiporus*, *Lentinula*, *Pleurotus* в зависимости от условий культивирования. Проведено качественное изучение индольных соединений, присутствующих в мицелии. У двух штаммов *L. edodes* выявлено необычное преобладание индола. Наибольшим разнообразием индольных соединений (индол, триптофан, индолацетамид, 5-ОН-ИУК, ИУК, триптамин) отличался штамм *P. ostreatus* 69. Изучение образования соединений фитогормональной природы выявило достаточно активную продукцию индолил-3-уксусной кислоты у *L. edodes* 198, *P. ostreatus* 69, – уровень продукции ИУК составил 0,1-0,42 мг/г абсолютно сухой биомассы, выявлена положительная корреляция с ростовыми характеристиками культур.

Изученные макробазидиомицеты образуют широкий спектр соединений группы индола, производные которого занимают одно из ведущих мест среди биологически активных веществ природного и синтетического происхождения наряду с другими гетероциклическими соединениями - производными кумарина.

Биотрансформация базидиомицетами и биологическая активность систем, включающих 4-гидроксикумариновый фрагмент. Значительное число природных и

синтетических производных хромен-2-она являются биологически активными веществами с широким спектром активности [Парфёнов, Смирнов, 1992; Luan et al., 2002; Gowrishankar, Rao, 2007]. Нами обнаружено влияние систем, содержащих 4-гидроксикумариновый фрагмент, на плодоношение высших грибов.

Ксилотрофные базидиомицеты – представители рода *Ganoderma* являются одними из наиболее биотехнологически ценных высших грибов съедобных и/или лекарственных видов [De S. Pereira-Jr et al., 2013]. Нашей задачей явилась характеристика эффектов некоторых 4-гидроксикумаринов на формирование плодовых тел базидиомицетов рода *Ganoderma* в искусственной культуре.

Реакционная способность замещенных 2Н-хромен-2-онов и успехи их практического использования в значительной степени зависят от функциональных групп, формирующих скелет молекулы. Представляется, что значительный потенциал биологической активности 3-замещенных (4-гидрокси)-2Н-хромен-2-онов связан с наличием карбонильных групп различного характера (кетонной и лактонной), гетероциклической системы, способной к рециклизации [Кумаргалиева и др., 2013], некоторыми другими факторами.

Мы исследовали влияние оксопропил-4-гидроксихроменонов на глубинные культуры макробазидиомицетов *Ganoderma applantum*, *G. cattienensis*, *G. colossus*, *G. lucidum*, *G. neojaponicum*, *G. valesiacum*. Синтезированные (СГУ) 4-гидрокси-3-(3-оксо-1,3-дифенилпропил)-хромен-2-он соединение S(45) и 4-гидрокси-3-(3-оксо-1-(3-нитрофенил)-3-фенилпропил)-хромен-2-он (соединение S(NO₂)) (рисунок) использовали в качестве компонентов питательных сред грибов.

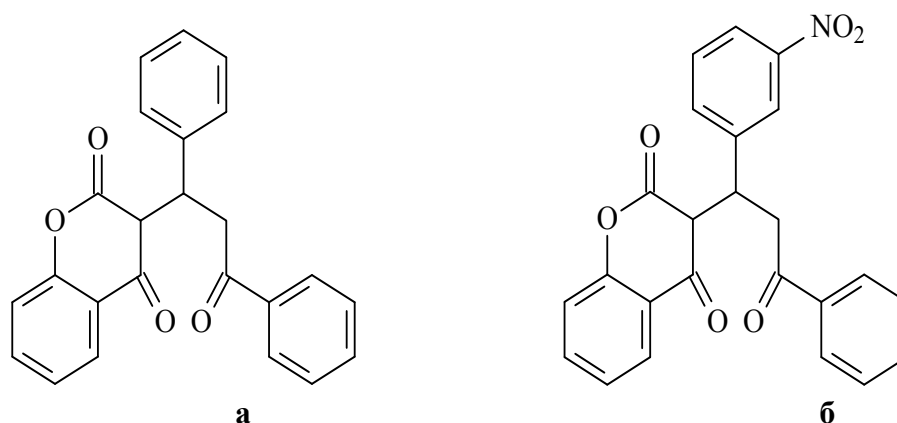


Рисунок. Структурные формулы соединений, использованных в работе: (а) 4-гидрокси-3-(3-оксо-1,3-дифенилпропил)-хромен-2-он; (б) 4-гидрокси-3-(3-оксо-1-(3-нитрофенил)-3-фенилпропил)-хромен-2-он.

В отсутствие добавок соединений S(45) и S(NO₂), как и в присутствии соединения S(NO₂) плодоношения при использованных внешних условиях не наблюдали. Позитивным действием, наиболее выраженным в отношении индукции плодоношения *G. cattienensis*, *G. colossus* и *G. neojaponicum*, обладало соединение S(45).

На уровне химической структуры молекул в рассматриваемой группе соединений S(45) и S(NO₂) наличие электроноакцепторных заместителей в кольце ароматического заместителя, таких как нитрогруппа (соединение S(NO₂)), оказывает негативное влияние на проявление рассматриваемого вида биологической активности.

Известно, что эффект действия препаратов из класса антиоксидантов, к которым относят и кумарин-содержащие субстанции [Парфенов, Смирнов, 1992], может быть связан не только с их антиоксидантными свойствами, но также с их воздействием на

различные сигнальные системы. Полиоксосоединения лактонной природы 2Н-хромен-2-онового ряда способны участвовать как в процессе антиоксидантной защиты, так и в индукции апоптоза, и, аналогично другим биологически активным соединениям, осуществлять указанные эффекты путем прямого взаимодействия с белками или при ингибировании их экспрессии. По-видимому, рассматриваемые производные кумарина оказывают воздействие на сигнальные системы грибных клеток, в том числе на молекулярные мишени путей апоптоза. При неблагоприятных условиях роста культур базидиомицетов возникают биохимические условия возникновения стадий морфогенеза, предшествующих плодоношению. Может происходить взаимодействие соединений-добавок с важнейшими биологически активными соединениями (как антиоксидантной природы, так и вызывающими окислительный стресс; с соединениями другой природы, принимающими участие в цитодифференцировке у высших грибов), и развивается плодоношение.

Для изучения условий и продуктов биотрансформации синтетических кумаринов культурами базидиомицетов проводили хроматографическое исследование низкомолекулярных внеклеточных метаболитов. В работе исследовали экстракты культуральной жидкости 9-ти штаммов глубинных культур *Ganoderma applanatum*, *G. cattienensis*, *G. colossus*, *G. lucidum*, *G. neojaponicum*, *G. valesiacum*, выращенных в присутствии S(45) и S(NO₂).

Результаты ВЭЖХ-исследования низкомолекулярных внеклеточных метаболитов грибов рода *Ganoderma*, культивируемых в присутствии 4-гидрокси-3-(3-оксо-1,3-дифенилпропил)-хромен-2-она и 4-гидрокси-3-(3-оксо-1-(3-нитрофенил)-3-фенилпропил)-хромен-2-она, показали наличие биотрансформации указанных соединений по схеме, общей для разных видов, с имеющимися штаммовыми различиями. Так, при культивировании с S(NO₂) выявлены два преобладающих внеклеточных метаболита, идентичных у всех штаммов, кроме *G. applanatum* 0154. Еще один метаболит присутствовал не только во всех образцах при их получении с S(NO₂), но и при культивировании разных видов с S(45): *G. cattienensis* SIE1302, *G. lucidum* 1315 и *G. applanatum* 0154. Показано, что 4-гидроксикумарины перспективны как биологически активные соединения в решении некоторых проблем культивирования высших грибов и защиты растений.

Работа частично поддержана грантом РФФИ (проект № 16-08-01170-а).

Литература

Кумаргалиева (Ибрагимова) Д.Н., Федотова О.В., Мажукина О.А. Реакция Манниха в ряду замещенных 4-гидрокси-2н-(пирон)хромен-2-онов // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Химия. Биология. Экология. – 2013. – Т. 13, № 4. – С. 19–23.

Парфенов Э., Смирнов Л. Гетероциклические биоантиоксиданты // Химия гетероциклических соединений. – 1992. – № 3. – С. 329–334.

Цивилева О.М., Лощинина Е.А., Макаров О.Е., Никитина В.Е. Синтез ауксина высшим грибом *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. в присутствии низких концентраций соединений группы индола // Прикладная биохимия и микробиология. – 2012. – Т. 48, № 3. – С. 313–322.

De S. Pereira-Jr J.A., Rodrigues D.P., Peixoto-Filho R.C., Bastos I.V.G.A., De Oliveira G.G., Araújo J.M., Melo S.J. Contribution to pharmacognostic and morphoanatomical studies, antibacterial and cytotoxic activities of *Ganoderma parvulum* Murrill (Basidiomycota, Polyporales, Ganodermataceae) // Latin American Journal of Pharmacy. – 2013. – V. 32, No. 7. – P. 996–1003.

Gowrishankar G., Rao J. Visualizing RNA splicing *in vivo* // Mol. BioSyst. – 2007. – No. 3. – P. 301–307.

Luan X.H., Cerqueira N., Oliveira A. Synthesis of fluorescent 3-benzoxazol-2-yl-coumarins // Advances in Colour Science and Technology. – 2002. – V. 5, No. 1. – P. 18–22.

PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL RESPONSE OF BASIDIOMYCETES TO SEVERAL NATURAL HETEROCYCLES EXPOSURE

O.M. Tsivileva¹, T.A. Puchkova², O.V. Koftin¹, A.A. Aniskov³, D.N. Ibragimova³

¹Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, Saratov, Russia, tsivileva@ibppm.ru

²Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus, microbio@mbio.bas-net.by

³Saratov State University, Saratov, Russia, aniskovalvis@gmail.com

Abstract. Biosynthesis and exogenic action of important biologically active representatives of heterocyclic compounds, indole and coumarin groups, have been studied exemplified by a number of cultures of xylotrophic basidiomycetes from different ecological niches. Basidiomycetes under question produce a wide spectrum of indolic compounds. The substances which molecules contain the 4-hydroxycoumarin fragment, are capable of effecting the defense systems occurrence in basidiomycetes at different stress impacts.

Keywords: *higher fungi, basidiomycetes, natural heterocyclic compounds, biosynthesis, biotransformation*

АДАПТИВНЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ РАСТЕНИЙ ПЕЛЮШКИ К БИОТИЧЕСКИМ СТРЕССАМ

Е.И. Чекалин, А.В. Амелин

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Орловский государственный аграрный университет», Орёл, Россия, hmet83@rambler.ru

Аннотация. Исследования показали, что современные пелюшки характеризуются повышенной устойчивостью к вредителям и болезням, по сравнению с белоцветковыми сортами, что обусловлено накоплением большого количества белков ингибиторов ферментов трипсина и химотрипсина и морфоанатомией семян. Для осуществления дальнейшего прогресса, наравне с обычными методами, необходимо в селекции культуры более активно использовать и нетрадиционные подходы, в частности показатели фотосинтетической деятельности растений.

Ключевые слова: селекция, горох посевной (пелюшка), фотосинтез, устойчивость, болезни растений

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-804-808

В результате многовекового отбора урожайность сельскохозяйственных культур увеличилась в 3-5 и более раз, но при этом устойчивость к стрессовым факторам среды существенно ослабла [Молчан и др., 1996]. Поэтому, перед селекцией стоит задача по созданию сортов адаптивных к меняющимся условиям возделывания [Жученко, 1999; Ort et al., 2015], в том числе и к вредителям и болезням.

Установлено, что современные пелюшки характеризуются повышенной устойчивостью к некоторым вредителям, по сравнению с белоцветковыми сортами. В частности, их растения существенно меньше повреждаются гороховой плодожоркой (в среднем на 21%) при равной устойчивости к тле, трипсу и долгоносику. По устойчивости к наиболее опасным вредителям (тля, плодожорка) особенно выделялся сортообразец 98-393, который может быть рекомендован для использования в селекции (табл. 1).

Таблица 1.

Устойчивость растений к вредителям у современных бело – и окрашенноцветковых сортообразцов гороха посевного

Сортообразец*	Гороховая тля, экз./раст	Гороховая плодожорка, % поражения бобов	Гороховый трипс		Количество укусов долгоносика, шт.	
			% заселения бобов	численность, экз./раст.	листочки	прилистники
Окрашенноцветковые (пелюшки)						
Зарянка (л)	38,7	9,7	85,0	1,2	166,7	128,3
Алла (усатый)	12,3	5,8	85,0	1,7	-	173,6
Наташа (усатый)	55,4	3,6	65,0	1,1	-	166,5
98-393 (усатый)	8,6	4,6	65,0	0,9	-	174,3
среднее	28,8	5,9	75,0	1,2	166,7	160,7
Белоцветковые						
Норд (усатый)	35,0	14,5	70,0	1,1	-	141,1
Орловчанин (л)	10,3	10,4	83,0	1,6	139,2	102,5
среднее	22,7	12,5	76,5	1,4	139,2	121,8

*л – сорт листочкового типа

Известно, что в устойчивости пелюшки к биотическим стрессорам важную роль играют антипитательные соединения [Lepiniec et al., 2006]. В частности, в семенах современных сортов гороха полевого обнаружено большое количество проантоцианидинов, известных как конденсированные танины, подкласс флавоноидов.

Отмечается, что по мере развития семян содержание проантоцианидинов изменяется как в сторону увеличения, так и в сторону уменьшения. Такой характер изменения антипитательных веществ в семенах пелюшек позволяет говорить о возможности целенаправленной селекции как на повышение устойчивости к неблагоприятным факторам среды, так и применения сортов в переработке по производству биопрепаратов флавоноидов, а также создавать сорта с низким содержанием антипитательных веществ, которые могут быть предназначены на продовольственные цели [Ferraro et al., 2014].

Повышенная устойчивость современных пелюшек к вредителям, может быть обусловлена и накоплением большого количества белков ингибиторов ферментов трипсина и химотрипсина, по сравнению с обычным горохом [Чекалин и др., 2007].

Особенно значимые преимущества пелюшек перед белоцветковыми сортами выявлены по устойчивости к семенной инфекции. Общая зараженность семян у белоцветковых сортов гороха находилась на уровне 40%, в то время как у сортов пелюшек ее величина была в 10 раз ниже, а у некоторых (Наташа и Надежда) поражение семян болезнями вообще отсутствовало. Наиболее сильно семена белоцветкового гороха повреждались плеснями *Penicilium* и *Alternaria* – 30...31,2%, а у окрашенноцветковых – грибами *Fusarium* (рис. 1).

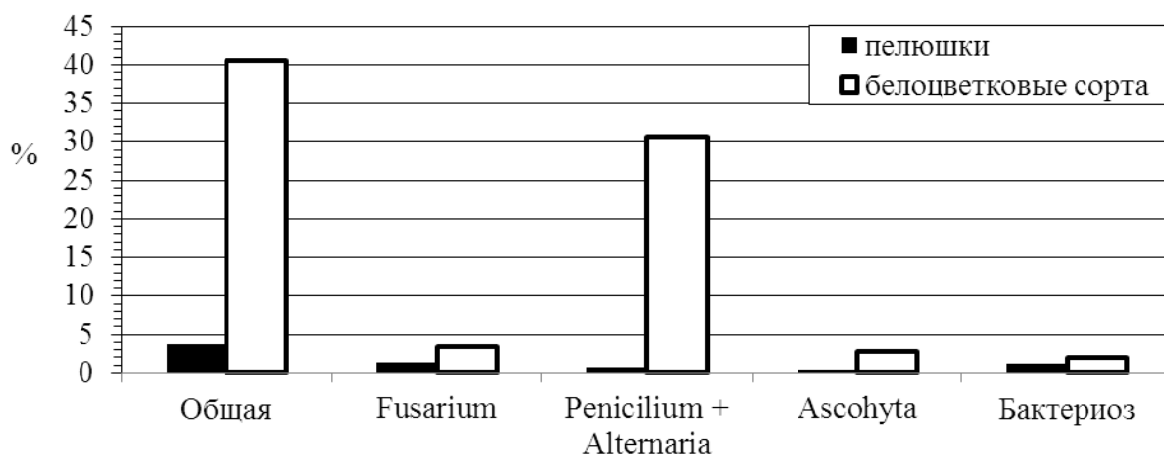


Рис. 1. Поражаемость болезнями семян у бело- и окрашенноцветковых сортообразцов гороха.

Повышенная устойчивость к семенной инфекции сортов пелюшек может быть обусловлена и формированием более толстой (в среднем на 7%) и массивной семенной оболочки (в среднем на 25%), доля которой в общей массе семян у них составляет 10,8%, а у сортов посевного типа – 8,5% (рис. 2).

Наличие у семян пелюшки более массивных оболочек по сравнению с белоцветковыми представителями отмечают и другие исследователи [Pastuszewska et al., 2004].

Вегетативные же органы растений гороха полевого обладают меньшей устойчивостью к болезням. Существенных преимуществ перед белоцветковыми генотипами в данном случае выявлено нами не было. У каждой ботанической разновидности отмечалась лишь определенная сортовая специфика. У современных

пелюшек большей комплексной устойчивостью к болезням отличались листочковый сорт Зарянка и усатый сорт Наташа, а у гороха посевного – сорт Норд с усатой формой листа (табл. 2).

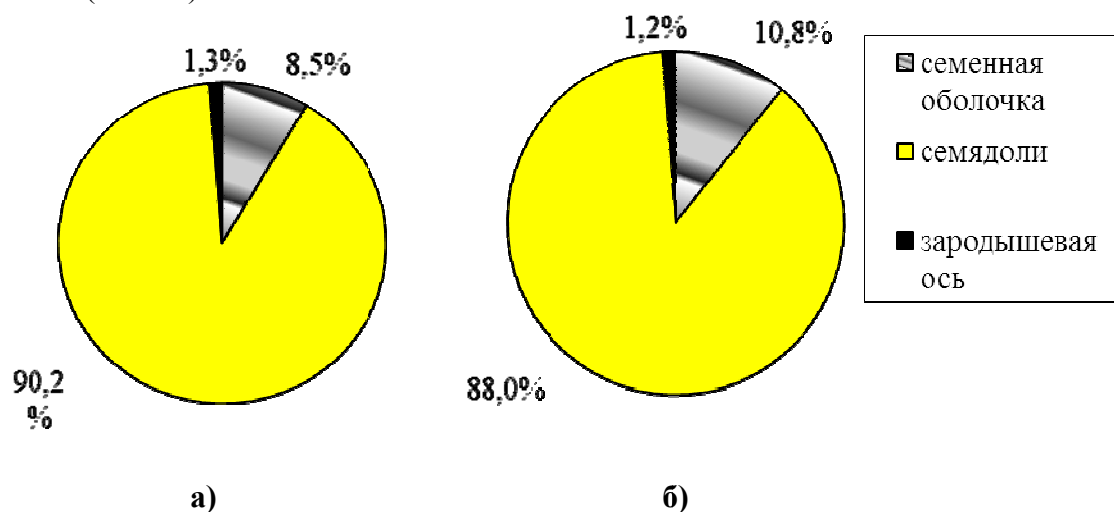


Рис. 2. Соотношение частей семени у белоцветковых (а) и окрашенноцветковых (б) современных сортообразцов гороха посевного.

В совместных исследованиях с учеными Института биохимии растений имени Р.Х. Баха было установлено, что устойчивость окрашенноцветковых сортов гороха посевного к патогенам во многом определяется биохимическими барьерами, в частности активностью белков-ингибиторов полигалактуроназы – БИПГ [Амелин и др., 2008].

Таблица 2. Поражаемость болезнями вегетативных органов растений у современных бело- и окрашенноцветковых сортообразцов гороха посевного, (%)

Сортообразец	Бледнопятнистый аскохитоз	Ржавчина	Мучнистая роса	Фузариоз
Окрашенноцветковые (пелюшки)				
Зарянка	20	30	30,5	50
Алла (усатый)	40	30	30	32
Наташа (усатый)	30	50	30	26
98-393 (усатый)	50	50	30,5	27
Белоцветковые				
Орловчанин	40	40	30	80
Норд (усатый)	20	30	40,5	34

В целом, подтверждается вывод о том, что пелюшки обладают более высокой экологической устойчивостью, чем белоцветковые сорта. В результате селекции их адаптивный потенциал, хотя несколько снижается, но не в такой степени как у сортов белоцветкового гороха. Это позволяет им успешно конкурировать с районированными белоцветковыми аналогами не только по общей сухой надземной массе, но и урожайности семян.

Для осуществления дальнейшего прогресса в настоящее время, наравне с обычными методами, необходимо в селекции более активно использовать и нетрадиционные подходы, в частности показатели фотосинтетической деятельности растений, прежде всего, ответственные за формирование биоэнергетического потенциала растений, который у гороха посевного в ходе искусственного отбора не увеличивается, а фактически остается на достигнутом в ходе эволюции уровне

[Амелин, 1997, 2001; Амелин, Чекалин, 2015, 2016]. И, очевидно, его возможностей в настоящее время уже не хватает, чтобы одновременно обеспечивать формирование высокого, стабильного, качественного и экологически безопасного урожая, спрос на который в мире в последнее время фактически растет в геометрической прогрессии [Воробьев, Потапова, 2013].

Учитывая актуальность данного вопроса, нами совместно с селекционерами Всероссийского НИИ зернобобовых и крупяных культур и Белгородского ГАУ имени В.Я. Горина, в 2009 году впервые в России был начат широкомасштабный проект по созданию сортов нового поколения – с повышенной активностью и эффективностью использования возобновляемого природного источника энергии фотосинтеза, где скрыты огромные, но пока слабо используемые резервы [Ничипорович, 1975]. Целенаправленная селекция проводится по 5 наиболее распространенным полевым культурам: гречиха, горох, соя, яровая и озимая пшеница, у которых наработан обширный методический материал в оценке генетического исходного материала и отборе перспективных форм по показателям активности фотосинтеза. В результате проведенной работы, в 2015 году в Государственное сортоиспытание был передан новый сорт гречихи Даша, который с 2017 года рекомендован к районированию.

Литература

Амелин А.В. Содержание хлорофилла в листьях растений гороха в связи с селекцией на высокую семенную продуктивность // Биологический и экономический потенциал зерновых, крупяных культур и пути его реализации. – Орёл: ВНИИЗБК, 1997. – С. 50–56.

Амелин А.В. Морфофизиологические основы повышения эффективности селекции гороха: 03.00.12 "Физиология и биохимия растений": автореф. дис.на соиск. уч. степ. д-ра с.-х. наук /Александр Васильевич Амелин; [ОГАУ].– М., 2001.– 46 с.

Амелин А.В., Кораблева Н.П., Проценко М.А. и др. Физиолого-биохимические механизмы устойчивости растений к болезням у полевого и посевного типов гороха // Вестник Орёл ГАУ. – 2008. – № 3. – С. 11–14.

Амелин А.В., Чекалин Е.И. Селекция на повышение фотоэнергетического потенциала растений и эффективности его использования, как стратегическая задача в обеспечении импортозамещения и продовольственной безопасности России // Вестник Орёл ГАУ. – 2015. – № 6. – С. 9–17.

Амелин А.В., Чекалин Е.И. Активность фотосинтеза культурных растений в связи с селекцией // «Научно-информационное обеспечение инновационного развития АПК» (Материалы VIII Международной научно-практической конференции «ИнформАгро-2016»), 25–27 мая 2016 г., Москва, ФГБОУ ВО «РГАУ – МСХА имени К.А. Тимирязева». – 2016. – С. 288–292.

Воробьев Н.Н., Потапова А.Н. Формирование и расширение рынка экологически чистой сельскохозяйственной продукции // Вестник Адыгейского государственного университета. Серия 5: Экономика. – 2013. – № 1. – С. 92–97.

Жученко А.А. Эколого-генетические основы адаптивной системы селекции растений // Селекция и семеноводство. – 1999. – № 4. – С. 5.

Молчан И.М., Ильина Л.Г., Кубарев П.И. Спорные вопросы в селекции растений // Селекция и семеноводство. – 1996. – № 1–2. – С.36–51.

Ничипорович А.А. Энергетическая эффективность фотосинтеза и продуктивность растений. – Пущено: НЦ БИ АН СССР, 1979. – 37 с.

Чекалин Е.И., Кондыков И.В., Амелин А.В. Урожайность и качество семян у сортов гороха полевого и посевного // Актуальные и новые направления сельскохозяйственной науки. – 2007. – С. 58–60.

Ferraro K., Jin A.L., Trinh-Don Nguyen et al. Characterization of proanthocyanidin metabolism in pea (*Pisum sativum*) seeds // BMC Plant Biology. – 2014. – No. 14:238. – P. 1471–2229.

Lepiniec L., Debeaujon I., Routaboul J.M. et al. Genetics and biochemistry of seed flavonoids // Annual Review of Plant Biology. – 2006. – V. 57. – P. 405–430.

Ort D.R., Merchant S.S., Alric J. et al. Redesigning photosynthesis to sustainably meet global food and bioenergy demand // PNAS. – 2015. – V. 112. – P. 8529–8536.

Pastuszewska B., Vitjazkova M., Swiech E. et al. Composition and in vitro digestibility of raw versus cooked white- and colour-flowered peas // Nahrung. – 2004. – No. 48. – P. 221–225.

ADAPTIVE OPPORTUNITIES OF COLOR FLOWERED PEA PLANTS TO BIOTIC STRESSES

E.I. Chekalin, A.V. Amelin

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Orel State Agrarian University”, Orel, Russia, hmet83@rambler.ru

Abstract. Studies have shown that modern varieties of color flowered pea are characterized by increased resistance to pests and disease, as compared to white-flowered varieties, because they to the accumulation of a large number of trypsin and chymotrypsin enzyme inhibitors, and morphoanatomy of seeds. To carry out further progress of breeding, along with conventional methods, it is necessary to use more non-traditional approaches in breeding, in particular, the photosynthetic activity of plants.

Keywords: *breeding, pea (color flowered pea), photosynthesis, resistance, plant diseases*

ВЛИЯНИЕ *FUSARIUM CULMORUM* И *PSEUDOMONAS FLUORESCENS* НА СОСТАВ ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ В КОРНЕВЫХ ЭКССУДАТАХ ЯЧМЕНЯ

А.И. Шапошников¹, Н.А. Вишневецкая¹, В.Ю. Шахназарова^{1,2}, О.К. Струнникова¹,
А.А. Белимов¹

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, *ai-shaposhnikov@mail.ru*

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Санкт-Петербургский Государственный Университет, Санкт-Петербург, Россия, Россия, *shahnazarova-v@mail.ru*

Аннотация. Изучен состав органических кислот в корневых экзометаболитах стерильных растений ячменя и растений, инокулированных *Fusarium culmorum* 30 и *Pseudomonas fluorescens* SPB2137. Показано, что рост в ризосфере ячменя фитопатогенного гриба и биоконтрольного штамма ризобактерий снижает количество органических кислот в корневых экссудатах.

Ключевые слова: корневые экссудаты, органические кислоты, ячмень, фузариоз

Исследование процесса колонизации корней фитопатогенными грибами рода *Fusarium*, в том числе при их взаимодействии с биоконтрольными штаммами ризобактерий, является необходимым шагом в понимании механизмов инфицирования и поиске путей подавления развития фузариозов [Струнникова и др., 2010]. При этом процессы колонизации корней и ризосферы микроорганизмами, приводящие к формированию специфических ризосферных микробных сообществ, во многом обусловлены количественным и качественным составом корневых экзометаболитов [Bais et al., 2006; Broeckling et al., 2008].

Как известно, выделение корнями низкомолекулярных органических кислот играет важную роль в физиолого-биохимических механизмах адаптации растений к неблагоприятным факторам окружающей среды – высокой кислотности почв, действию токсичных металлов [Пухальская, 2005; Ryan et al., 1995; Naoliang et al., 2007; Magdziak et al., 2011]. В растительно-микробных взаимодействиях органические кислоты корневых экссудатов играют важную роль для успешной колонизации корней ризобактериями и проявления их биоконтрольных механизмов. Показано, что мутант *Pseudomonas fluorescens* WCS365, не способный расти на органических кислотах, плохо колонизировал корни томата [de Weert et al., 2002], а корневая экссудация яблочной кислоты активно индуцировала хемотаксис и подвижность *Bacillus amyloliquefaciens* к корням томата [Tan et al., 2013]. При росте на органических кислотах антифунгальная активность ризосферных штаммов рода *Pseudomonas*, как правило, выше, чем при росте этих же штаммов на сахарах [Кравченко и др., 2003]. Интересный механизм, затрагивающий взаимодействие растений одновременно с полезными и патогенными микроорганизмами, был описан в работе [Rudrappa et al., 2008]. При инфицировании листьев арабидопсиса патогенной бактерией *Pseudomonas syringia* активизировалась корневая экссудация яблочной кислоты. Это существенно повышало колонизирующую способность у ростстимулирующей ризосферной бактерии *Bacillus subtilis*, которая индуцировала в растении системную устойчивость к фитопатогену, что приводило в результате к снижению заболеваемости растений.

Таким образом, органические кислоты могут влиять на процесс конкурентного развития фитопатогенных грибов и биоконтрольных ризобактерий в ризосфере

растений. Цель настоящей работы – оценить влияние фитопатогенного гриба *Fusarium culmorum* 30 и биоконтрольного штамма *Pseudomonas fluorescens* SPB2137 на качественный состав и интенсивность корневой экссудации низкомолекулярных органических кислот растениями восприимчивого к фузариозу ячменя *Hordeum vulgare* L. сорта Белогорский.

Для получения корневых экссудатов растения выращивали 5 суток в закрытых стерильных сосудах с минеральным питательным раствором. После удаления растений в вариантах с инокуляцией в сосуды вносили суспензии макроконидий *F. culmorum* 30 (10^3 /мл), клеток *P. fluorescens* SPB2137 (10^5 /мл), или совместно макроконидии гриба и клетки бактерий в тех же концентрациях. Полученные экссудаты концентрировали под вакуумом и состав органических кислот анализировали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Как показал проведенный хроматографический анализ, в корневых экссудатах ячменя присутствуют девять органических кислот – лимонная, пировиноградная, яблочная, аконитовая, янтарная, молочная, фумаровая, пропионовая и пироглутамовая. Суммарная экссудация органических кислот у стерильных растений была в среднем 51 мкг/растение, причем доля яблочной, молочной и пропионовой кислот составляла порядка 80% от общего количества. Для проверки способности *F. culmorum* 30 и *P. fluorescens* 2137 утилизировать органические кислоты, входящие в состав корневых экссудатов, микроорганизмы культивировали в минеральной среде, содержащей соответствующие вещества в качестве единственного источника углерода. Ризобактерии активно утилизировала все органические кислоты, кроме пропионовой. Гриб также мог расти на всех органических кислотах, причем наиболее активный рост мицелия отмечался на яблочной, янтарной, пропионовой и пироглутамовой кислотах.

Инокуляция раствора корневых экссудатов фитопатогенным грибом *F. culmorum* 30 привела к резкому снижению количества яблочной (в 2,3 раза) и молочной (в 6 раз) кислот, а также незначительному уменьшению количества лимонной и пропионовой кислот (рисунок). В присутствии штамма *P. fluorescens* SPB2137 в корневых экссудатах полностью исчезала лимонная кислота, а количества яблочной и молочной кислот уменьшались в 5 и 6 раз соответственно. Вариант с одновременным внесением гриба и бактерий был количественно более близок к варианту с внесением штамма SPB2137 (рисунок). Несмотря на то, что штамм *P. fluorescens* SPB2137 не рос на химически чистой пропионовой кислоте, ее содержание в корневых экссудатах также значительно снижалось как при моноинокуляции ризобактериями, так и при одновременном внесении бактерий и гриба (рисунок), что может быть связано с особенностями метаболизма ризобактерий в ризосфере, в условиях утилизации комплексных питательных субстратов с низкой концентрацией. При совместном культивировании штамм *P. fluorescens* SPB2137 оказывал негативное воздействие на гриб, что было заметно по формированию хламидоспор. Однако, численность бактерий в варианте с двойной инокуляцией была в несколько раз ниже, чем в отсутствие гриба, что говорит о конкурентных взаимоотношениях между фитопатогенным грибом и биоконтрольным штаммом SPB2137.

Таким образом, фитопатогенный гриб *F. culmorum* 30 и биоконтрольный штамм *P. fluorescens* SPB2137 снижает количество органических кислот в корневых экссудатах ячменя. Как гриб, так и бактерии способны использовать органические кислоты корневых экссудатов в качестве источника питания. Тот факт, что основные компоненты фракции органических кислот утилизируются как грибом, так и бактерией показывает, что конкуренция за данные источники питания может вносить определенный вклад в конкурентные взаимоотношения фитопатогенных грибов и ризобактерий. Дальнейший анализ особенностей метаболизма выделяемых корнями

фотосинтатов в системе растение – фитопатогенный гриб – ризобактерии (*in vivo*) позволит изучить влияние микроорганизмов на физиолого-биохимические параметры корневой экссудации и роль корневых экзометаболитов в формировании устойчивых к фитопатогенам растительно-микробных систем.

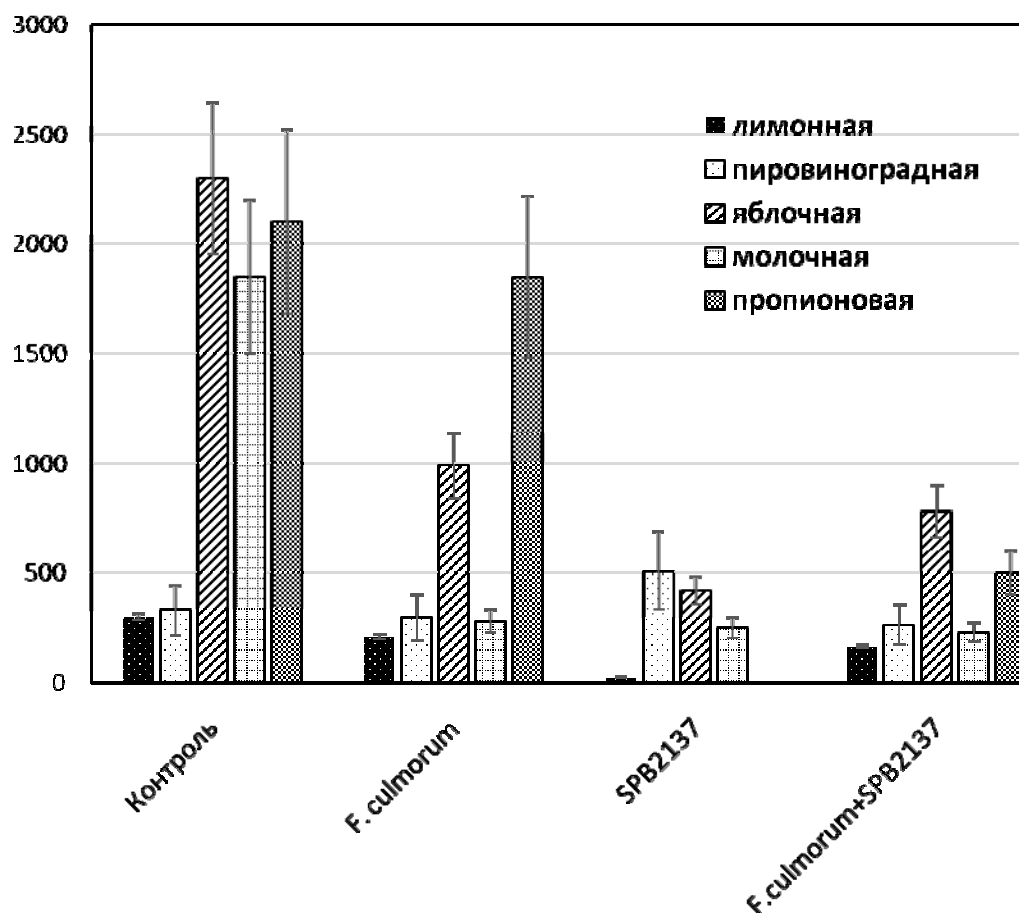


Рисунок. Низкомолекулярные органические кислоты в корневых экссудатах ячменя. Контроль – корневые экссудаты стерильных растений.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта 18-016-00111.

Литература

Кравченко Л.В., Азарова Т.С., Леонова-Ерко Е.И., Шапошников А.И., Макарова Н.М., Тихонович И.А. Корневые выделения томатов и их влияние на рост и антифунгальную активность штаммов *Pseudomonas* // Микробиология. – 2003. – Т. 72, № 1. – С. 48–53.

Пухальская Н.В. Проблемные вопросы алюминиевой токсичности // Агрохимия. – 2005. – № 8. – 70–82.

Струнникова О.К., Вишневская Н.А., Тихонович И.А. Колонизация корней ячменя *Fusarium culmorum* и влияние *Pseudomonas fluorescens* на этот процесс // Микология и фитопатология. – 2010. – Т. 44, вып. 2. – С. 160–168.

Bais H.P., Weir T.L., Perry L.G. et al. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms // Annual Review of Plant Biology. – 2006. – V. 57. – P. 233–266.

Broeckling C.D., Broz A.K., Bergelson J., Manter D.K., Vivanco J.M. Root exudates regulate soil fungal community composition and diversity // Applied and Environmental Microbiology. – 2008. – V. 74, No. 3. – P. 738–744.

de Weert S., Vermeiren H., Mulders I.H.M., Kuiper I., Hendrickx N., Bloemberg G.V., Vanderleyden J., De Mot R., Lugtenberg B.J.J. Flagella-driven chemotaxis towards exudate components is an important trait for tomato root colonization by *Pseudomonas fluorescens* // MPMI. – 2002. – V. 15. – P. 1173–1180.

Haoliang L., Chongling Y., Jingchun L. Low-molecular-weight organic acids exuded by Mangrove (*Kandelia candel* (L.) Druce) roots and their effect on cadmium species change in the rhizosphere // Environmental and Experimental Botany. – 2007. – V. 61. – P. 159–166.

Magdziak K., Kozłowska M., Kaczmarek Z., Mleczek M., Chadzinikolau T., Drzewiecka K., Golinski P. Influence of Ca/Mg ratio on phytoextraction properties of *Salix viminalis* II. Secretion of low molecular weight organic acids to the rhizosphere // Environmental Toxicology and Chemistry. – 2011. – V. 74. – P. 33–40.

Rudrappa T., Czymmek K.J., Pare P.W., Bais H.P. Root-secreted malic acid recruits beneficial soil bacteria // Plant Physiology. – 2008. – V. 148. – P. 1547–1556.

Ryan P.R., Delhaize E., Randall P.J. Characterisation of Al-stimulated efflux of malate from the apices of Al-tolerant wheat roots // Planta. – 1995. – V. 196. – P. 103–110.

Tan S., Chunlag Y., Xinlan M., Shengyuan S., Waseem R., Qirong S., Yangchun Y. The effect of organic acids from tomato exudates on rhizosphere colonization of *Bacillus amyloliquefaciens* T-5 // Applied Soil Ecology. – 2013. – V. 64. – P. 15–22.

INFLUENCE OF *FUSARIUM CULMORUM* AND *PSEUDOMONAS FLUORESCENS* ON THE COMPOSITION OF ORGANIC ACIDS IN ROOT EXUDATES OF BARLEY

A.I. Shaposhnikov¹, N.A. Vishnevskaya¹, V.Yu. Shakhnazarova^{1,2}, O.K. Strunnikova¹, A.A. Belimov¹

¹All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, Saint-Petersburg, Pushkin, Russia, ai-shaposhnikov@mail.ru

²Saint-Petersburg State University, Department of Agrochemistry, Saint-Petersburg, Russia, shahnazarova-v@mail.ru

Abstract. The composition of organic acids in the root exudates of sterile barley plants and plants inoculated with *Fusarium culmorum* 30 and *Pseudomonas fluorescens* SPB2137 was studied. It is shown that the growth of the phytopathogenic fungi and the biocontrol rhizobacterial strain in the rhizosphere reduces the amount of organic acids in root exudates.

Keywords: root exudates, organic acids, barley, fusariosis

ОБРАБОТКА РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ ПО ЛИСТУ И УЛУЧШЕНИЕ ХАРАКТЕРИСТИК ПРОРАСТАЮЩИХ СЕМЯН ПРИ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУРАХ

Н.А. Шелоухова

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Агрофизический научно-исследовательский институт», Санкт-Петербург, Россия, *batygin@mail.ru*

Аннотация. Улучшение динамических свойств (всхожести и энергии прорастания) семян ярового ячменя может быть достигнуто посредством обработки растений, формирующих семена, водным раствором комплексного органоминерального удобрения, содержащего растворимые гуминовые вещества.

Ключевые слова: биологическая коррекция, ячмень, гуминовые вещества, холодовой стресс, превегетация

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-813-816

В настоящее время важнейшим направлением работы учёных и специалистов в области сельского хозяйства является поиск и разработка таких приёмов, которые могли бы повысить урожайность культурных растений без увеличения доз удобрений, а также улучшить качество сельскохозяйственной продукции.

Одним из таких направлений является биологическая коррекция роста и развития растений. Биологическая коррекция направлена на повышение урожайности сельскохозяйственных культур, посредством того или иного воздействия на биологию культурных растений. Одним из наиболее эффективных средств биологической коррекции является обработка сельскохозяйственных культур по листу растворами гуминовых препаратов [Попов, 2012, 2016].

Целью данного исследования было изучение действия некорневой обработки раствором гуминовых веществ (ГВ) на биохимический состав растений ярового ячменя и последствие такой обработки на развитие проростков.

В качестве объектов исследования были выбраны сорта ярового ячменя: Зазерский 85 (1), Криничный, Дворан (2), Эльф, Суздалец. Действие растворов ГВ изучалось на генетически однородном сортовом материале, полученном в строго контролируемых условиях минерального питания и гидротермического режима. Некорневая обработка водным раствором ГВ проводилась вручную однократно в фазу кущения. Схема опыта была следующей: контроль (фон); фон+0,1% раствор ГВ (пессимальная концентрация); фон+0,01% раствор ГВ (оптимальная концентрация). Семена с каждого учётного растения были высеяны в 3х вариантах одновременно по 25 штук. Для биохимического анализа растения были отобраны: 1) на стадии кущения (отбор перед обработкой ГВ); 2) на стадии молочной спелости и 3) на стадии полной спелости. Образцы растений замораживались. В свежих растениях производилось определение сухой массы надземных частей растений (стебель, листья, колос) и корневой системы. В образцах растений, после размораживания определялись следующие биохимические показатели физиологического состояния растений: 1) содержание белка – методом Брэдфорда [Досон и др., 1991]; 2) содержание хлорофилла *a*, хлорофилла *b* и каротиноидов – экстракционным методом с колориметрическим окончанием [Мокроносов, 1994]; 3) углеводы – по потере массы после гидролиза образцов растения с 80% H₂SO₄; 4) лигнин – весовым способом (после гидролиза образцов растения с 80% H₂SO₄).

Оценка полученного семенного материала проводилась лабораторным методом [Беркутова, 1991]. Семена проращивали в термоящиках с температурой 3 ± 1 °С, 8 ± 1 °С, 19 ± 1 °С, 29 ± 1 °С без доступа света. Были определены посевные качества семян: энергия прорастания, скорость прорастания, дружность прорастания и всхожесть. Данные были обработаны стандартными статистическими методами.

Исследованные сорта не отличались друг от друга по содержанию хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов. С увеличением массы зерна с растения при некорневой обработке раствором ГВ в зерновках не происходило существенного изменения содержания белка ни на стадии молочной спелости, ни на стадии полной спелости. ГВ не оказали значимого влияния на биохимический состав зерна выбранных сортов в данном опыте. Однако сорта ячменя показали большую чувствительность к повышенной концентрации ГВ (0,01%) и небольшое снижение содержания лигнина в побегах при этой концентрации. Изменения в содержании белка в стебле и листьях (мг/г сырой массы) были незначительны. Тем не менее, наблюдалось перераспределение белка между органами растения и увеличение процентного содержания белка в надземной части растения при оптимальной дозе ГВ (рисунок).

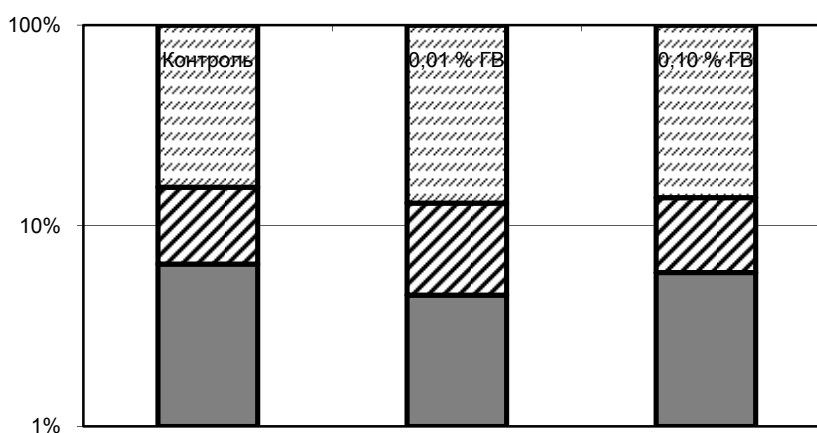


Рисунок. Влияние некорневой обработки раствором ГВ на перераспределение белка в зерне, побегах и корнях растений ячменя: □ – зерно; ▨ – побег; ■ – корень.

Далее определяли влияние биологической коррекции на посевные качества семян. Влияние материнского фенотипа на фенотип потомства [Roach, Wulf, 1987; Лыкова, 2009] может быть с успехом использовано в цепи биологической коррекции, где особое место занимают гуминовые соединения [Ермаков и др., 2004]. Некорневая обработка растений гуминовыми препаратами является одним из путей улучшения посевных свойств семян зерновых [Стефанова, Попов, 2002; Лыкова, Попов, 2005].

В результате проведённого исследования было выявлено, что некорневая подкормка растений ячменя ГВ (0,01%) на стадии кушения влияла на прорастание семян, сформировавшихся на этих растениях (таблица, на примере 2х сортов). Посевные качества семян зависели от температуры проращивания и от сорта. Одинаковой для сортов ячменя была только дружность прорастания. Некорневая обработка растений ячменя повлияла на показатели энергии прорастания и всхожести семян, особенно при низкой температуре проращивания.

Обработка растений раствором ГВ способствовала формированию семян с более высокой всхожестью при низких температурах и лучшей энергией прорастания при температурах от 3 °С до 19 °С. В то же время всхожесть увеличивалась у сорта (1) в 1,5 и 1,6 раза, а у сорта (2) – в 1,4 и 1,3 раза при температурах 3 °С и 8 °С, соответственно. При температуре выше 8 °С эта приспособленность ослабевала. Энергия прорастания

увеличивалась у сорта (1) при температуре 8 °С – в 2,5 раза, а у сорта (2) при температуре 3°С – в 5,8 раза. При температуре окружающей среды, близкой к 30 °С, семена ячменя с обработанных по листу растений прорастают так же, как и в контроле (существенных различий не было выявлено). Что касается динамических характеристик – скорости и дружности прорастания, то только при температуре 19 °С для сорта (1) было отмечено незначительное уменьшение скорости прорастания семян с обработанных растений. Во всех остальных случаях различия в скорости и дружности прорастания семян ячменя с опытного (оптимальная концентрация) и контрольного участков не были обнаружены.

Таблица.

Влияние биологической коррекции семенных растений на интенсивность развития проростков ячменя в зависимости от температуры проращивания

Сорт	Т, °С	Превегетация: раствор ГВ	Интенсивность начального роста			
			энергия прорастания, %	Всхожесть, %	скорость прорастания, Дн./зерно	дружность прорастания, % сем./день
(1)	3	контроль	0,0±0,00	42,1±2,77	16,3	4,0
		опыт	0,0±0,00	64,2±5,96	16,7	4,0
	8	контроль	12,3±0,19	48,9±4,38	7,0	4,5
		опыт	30,8±0,83	76,4±5,10	6,5	4,5
	19	контроль	27,0±1,78	33,0±2,06	3,0	14,3
		опыт	35,6±1,96	40,5±2,64	2,7	13,4
	29	контроль	12,1±0,11	13,6±0,64	2,2	14,3
		опыт	11,7±0,43	13,6±0,07	2,1	14,3
(2)	3	контроль	1,1±0,05	64,4±1,70	10,9	4,3
		опыт	6,7±0,16	89,9±2,35	10,1	4,0
	8	контроль	32,3±2,73	66,6±0,94	5,7	4,5
		опыт	36,9±0,88	84,6±2,61	5,9	4,5
	19	контроль	45,8±1,70	50,6±1,93	2,4	13,4
		опыт	53,7±2,07	63,3±0,81	2,8	13,4
	29	контроль	51,9±0,87	52,0±1,02	1,5	14,3
		опыт	43,1±3,60	43,4±3,60	1,4	14,3

Известно, что ГВ имеют свойство адаптирующего эффекта и влияют на гомеостаз растений [Лыкова, Попов, 2007]. Их универсальность и эффективность подтверждена практикой. Благоприятное экофизиологическое последствие ГВ (и других стимуляторов роста) на зерновые культуры отмечено и другими авторами [Лыкова, 2011]. Универсальность реакции последствия ГВ у ячменя может быть связана с лучшей фунгирезистентностью обработанных материнских растений.

Таким образом, улучшение динамических свойств (всхожести и энергии прорастания) семян ячменя может быть достигнуто посредством обработки растений, формирующих семена, водным раствором комплексного органоминерального удобрения, содержащего растворимые ГВ. Такая обработка не изменяла содержание в семенах ячменя влаги, золы, общего азота, фосфора, калия, сырого протеина, сырого жира (жиры, воска, смолы), сырой клетчатки, растворимых углеводов. Однако изменяла интенсивность прорастания семян при низких температурах.

Исследовать эффект превегетации у проростков и ювенильных растений можно полевым или лабораторным методом, в том числе при низкой температуре (при высокой температуре зерновки часто поражаются инфекцией, что является нежелательным). Метод, основанный на применении опрыскивания материнских растений раствором ГВ в фазу кущения, позволяет получить больше информации о

механизмах реакции на предшествующую среду, чем способ, основанный на внесении удобрений в почву перед посевом семян предшествующего поколения. Обработка ГВ оказывает универсальное действие (и последствие) на реализацию разных генотипов.

Литература

Беркутова Н.С. Методы оценки и формирование качества зерна. – М.: Росагропромиздат, 1991. – 206 с.

Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс К. Справочник биохимика. (Пер. с англ.). – М.: Мир, 1991. – 544 с.

Ермаков Е.И., Попов А.И., Лыкова Н.А. Гуминовые вещества – эффективное средство биологической коррекции продуктивности агрофитоценозов // Труды II Междунар. конф "Гуминовые вещества в биосфере" (3-6 февр. 2003г, Москва). – СПб: изд-во МГУ, 2004. – С. 29–32.

Карпова Л.В. Посевные качества и урожайные свойства семян яровой твёрдой пшеницы // Аграрная наука. – 2002. – № 3. – С. 13–15.

Лыкова Н.А. Эффект превегетации: экологические последствия. – СПб.: Наука, 2009. – 311 с.

Лыкова Н.А., Попов А.И. Модельное испытание сортов зерновых культур в Курской области с использованием гуминовых препаратов // Материалы Междунар. науч.-пр. конф. "Экология, окружающая среда и здоровье населения Центрального Черноземья" (15-17 июня 2005г, Курск). В 2х частях. Часть 1. – Курск: изд-во КГМУ, 2005. – С. 183–185.

Лыкова Н.А., Попов А.И. Поддержание гомеостаза растений посредством некорневой обработки раствором гуминовых веществ // Тр. IV Всеросс. конф. "Гуминовые вещества в биосфере" (19-21 дек. 2007г, Москва). – СПб: СПбГУ, 2007. – С. 485–493.

Лыкова Н.А. Исследование экофизиологического последствия у растений: история, терминология, состояние проблемы // Структурные и функциональные отклонения от нормального роста и развития растений под воздействием факторов среды. Мат. Межд. Конф., 20-24 июня 2011 (Под ред. Л.Л. Новицкой, Н.Н. Николаевой и Л.Л. Веселковой). – Петрозаводск: КНЦ РАН, 2011. – С. 159–163.

Мокроносов А.Т. (ред.) Малый практикум по физиологии растений. – Изд-во МГУ, 1994. – 184 с.

Попов А.И. Биологическая коррекция – третий эволюционный шаг управления продуктивностью сельскохозяйственных культур // Современные проблемы сохранения плодородия черноземов. – Воронеж, 2016. – С. 209–220.

Попов А.И. Трофосистема почва-растение – основа функционирования экосистемы // Экосистемы. – 2012. – № 7. – С. 251–260.

Стефанова Н.А., Попов А.И. Влияние некорневой обработки гуминовыми веществами на посевные качества семян ячменя // Агро-Пилот: информ.-аналит. бюл. Ком. по АПК Ленингр. обл. – 2002. – № 18-19. – С. 63–64.

Roach D.A., Wulf R. D. Maternal effects in plants // Ann. Rev. Ecol. Syst.– 1987. – V. – 18. – P. 209–235.

PROCESSING OF BARLEY PLANTS ON THE SHEET AND IMPROVEMENT OF THE SEED GERMINATION CHARACTERISTICS AT LOW TEMPERATURES

N.A. Sheloukhova

Agrophysical Research Institute, Saint-Petersburg, Russia, nsheloukhova@agrophys.ru

Abstract. Improvement of dynamic properties (germination and energy of germination) of spring barley seeds can be achieved by treating plants that form seeds with an aqueous solution of a complex organo-mineral fertilizer containing soluble humic substances.

Keywords: *biological correction, barley, humic substances, cold stress, the prevegetation period*

ФОТОСТИМУЛЯЦИЯ РАСТЕНИЙ ТОМАТОВ В УСЛОВИЯХ ХОЛОДОВОГО СТРЕССА

Н.А. Шелухова

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Агрофизический научно-исследовательский институт», Санкт-Петербург, Россия, batygin@mail.ru

Аннотация. Эксперименты по разработке энергосберегающих технологий выращивания растений в условиях защищенного грунта показали, что воздействия красным светом на рассаду овощных культур сем. Solanaceae, активизирующие фоторецепторную систему фитохрома, способствуют получению качественной продукции и закаливанию растений с одновременным уменьшением энергозатрат.

Ключевые слова: *холодовой стресс, томаты, фитохром, фотостимуляция*

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-817-820

Анализ результатов исследований действия спектрального состава облучения на рост и развитие растений, показывает, что пути экономически эффективного повышения продуктивности растений в регулируемых условиях следует искать в практическом применении новых теоретических разработок, в частности, касающихся действия фоторегуляторной системы фитохрома, активизация которой приводит к резким изменениям скорости прохождения физиологических процессов в растениях и открывает возможность управления продуктивностью растений. Регуляторное влияние света на морфогенетические реакции растений осуществляется фоторецептором фитохромом, состоящим из фитохромобилина, пигмента, аналогичного фикобилинам, в комплексе с белком. Особенность фитохрома (P) заключается в том, что он состоит из двух взаимопереходящих форм - P₆₆₀, образующейся под воздействием дальнего красного света (ДКС, $\lambda_{\text{макс}}=730\text{нм}$) и активной формы P₇₃₀, образующейся под действием красного света КС, с максимумом излучения $\lambda_{\text{макс}}=660\text{нм}$. Установлено, что воздействие КС стимулирует все макромолекулярные синтезы (ДНК, РНК, белок), системы биосинтеза хлорофилла, каротиноидов, антоцианов, органических фосфатов и витаминов, ускоряет катаболический распад полисахаридов, жиров и резервных белков, активирует клеточное дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях [Тертышная, Левина, 2016; Удалова, 2014].

Одно из проявлений оптимизирующей направленности P₇₃₀ – его явное участие в процессах адаптации растений. Активация КС фитохрома усиливает устойчивость растений к экстремальным факторам среды. В условиях закрытого грунта досветка растений КС вызывала ускорение роста и развития овощных растений. У опытных растений увеличивались высота, количество листьев и площадь ассимилирующей поверхности, а также содержание хлорофилла *a* [Астафурова и др., 2011]. Проблема светового управления в онтогенезе сводится к поиску способов активации фитохромной системы растений, стимулирующей развертывание онтогенетической программы первоначального роста и развития, а также оптимизации продукционного процесса. Технически такое мероприятие может быть осуществлено путем воздействия на фитохромную систему растений благоприятным фотопериодом с кратковременным облучением КС или ДКС [Виличко и др., 2010]. Путем подбора соответствующего фотопериода можно управлять содержанием в растении активной формы фитохрома P₇₃₀, а через него — интенсивностью и направленностью роста и развития. При некоторых фотопериодах показатели продуктивности и отношение массы репродуктивных органов к массе растений могут быть увеличены в результате кратковременного облучения КС в начале темновых периодов. Управляющими

воздействиями на ход онтогенеза могут служить кратковременные световые воздействия КС ламп ЛФР-150, излучения которых во время световых воздействий переводит в активную форму $P_{FR} \sim 75\%$ общего фитохрома.

Большинство сортов томата – растения короткого дня. Выращивание томата в фазе рассады на 12-часовом дне ускоряет развитие. Для теплолюбивых растений томата благоприятной является температура $+22...+24$ °С с понижением в ночное время до $+16...+18$ °С. При температуре ниже $+15$ °С приостанавливается цветение, рост прекращается у растений томата при $+10$ °С и ниже. Холодостойкие сорта могут расти при $+8$ °С [Литвинов, 2008].

Для проверки гипотезы возможности фотостимуляции продукционного процесса у томата в условиях пониженных температур в закрытом грунте были поставлены следующие эксперименты.

Для разработки режимов выращивания рассады томатов с применением КС использовали специальную установку. Так как активизация фитохромной системы происходит при очень низких уровнях облученности, порядка единиц $Вт/м^2$ ФАР, не допускается искажение результатов действия кратковременных световых разрывов рассеянным светом посторонних источников. Установка для выращивания рассады состояла из 4 изолированных друг от друга светонепроницаемым материалом отсеков. В каждом отсеке использованы по 2 лампы ДРЛФ-400 (белый свет, БС), кроме того, в отсеках 2 и 4 в качестве источника КС были использованы лампы ЛФР-150. В табл. 1 представлено распределение энергии в спектре излучения использованных в эксперименте ламп.

Таблица 1.

Распределение энергии в спектре излучения ламп (%)

Тип лампы	Участки спектра $\Delta\lambda$ (нм)					
	400÷500	500÷600	600÷700	700÷920	920÷2700	2700
ДРЛФ-400	7	18	10	5	35	25
ЛФР-150	11	19	57	7	6	-

Средняя по поверхности освещенность растений на уровне вершин рассады при использовании ламп ЛФР-150 составляла – 5000 Лк, для ламп ДРЛФ-400 – 4000 Лк, тем самым сохранялся баланс освещенности по мощности при выбранном фотопериоде и времени действия КС.

В двух контрольных вариантах с попеременным включением ламп над рассадой фотопериод составлял 10 ч БС или 14 ч БС, таким образом, был использован 10-ти и 14-ти часовой период освещенности прямым светом. Два опытных варианта составили соответственно 9 ч БС + 1 ч КС и 13 ч БС + 1 ч КС.

Проращивание семян и начальный период выращивания рассады проводили весной при температуре $+18...+23$ °С с понижением в темновой период до $+16...+18$ °С. Далее, до конца вегетации растения подвергались холодovому стрессу, для этого дневная температура была понижена на 8 °С.

В опыте использовали два ранних сорта томатов *Lycopersicum esculentum* Mill.: Белый налив и Фонтанка.

В табл. 2 представлены данные состояния рассады по показателям высоты ювенильных растений. Как при 9-часовом, так и при 13-часовом фотопериоде, у обоих сортов показатели снижены даже на фоне их увеличения при 14 ч БС по сравнению с 10 ч БС. Исключение составил сорт Белый налив, у которого при 13-часовом фотопериоде показатели несколько выше контрольных.

Таблица 2.

Число листьев и высота ювенильных растений томатов

Сорт	Режимы освещения							
	10 ч БС		9 ч БС + 1 ч КС		14 ч БС		13 ч БС + 1 ч КС	
	высота раст. ¹ , см	число лист. ² , шт	высота раст. ¹ , см	число лист. ² , шт	высота раст. ¹ , см	число лист. ² , шт	высота раст. ¹ , см	число лист. ² , шт
Белый налив	4,5	3,8	2,9	2,6	6,4	5,3	8,4	5,7
Фонтанка	5,1	3,7	4,7	4,2	11,4	6,0	4,8	5,5

$HCP_{0,05}^1=2,9$; $HCP_{0,05}^2=1,3$

Таблица 3.

Состояние растений томатов и показатели продуктивности

Режим освещения	Состояние растений через 1 мес. после высадки в грунт		Количество плодов на 1 растение, в т.ч.			Масса плодов, г/раст.
	высота раст., см	фаза развития	всего, шт	>3 см, % к общему	<3 см, % к общему	
Белый налив (ранний сорт)						
10 ч БС	59,0	бутон.-цвет.	20	0	100,0	240,0
9чБС+1чКС	50,0	нач.бут.	15	45,2	54,8	250,0
14 ч БС	70,0	вегет.	10	20,0	80,0	180,0
13ч БС+1чКС	58,3	нач.бут.	19	5,3	94,7	220,0
Фонтанка (ранний сорт)						
10 ч БС	69,0	цвет	23	82,6	17,4	400,0
9чБС+1чКС	33,3	вегет.	4	45,9	54,1	275,0
14 ч БС	67,5	плод.	14	28,5	71,4	415,0
$HCP_{0,05}$	16,4	—	8	35,5	35,5	113,0

Относительно продвинутой по генеративным фазам развития (табл. 3) можно сказать, что КС при 9 ч БС задерживал развитие, а при 13 ч БС – ускорял, хотя сортовые различия сохранялись. Результат разной динамики развития растений сказанся и на их продуктивности. У опытных растений томатов сорта Белый налив под воздействием КС улучшались показатели хозяйственно-полезных признаков: формирование плодов определённого размера либо количество плодов, однако, следует отметить снижение доли плодов размером более 3 см в диаметре при действии КС и увеличении фотопериода у этого сорта (табл. 3). Сорт Фонтанка не показал положительных результатов под воздействием КС.

Таким образом, использование КС при 9-часовом фотопериоде улучшило качество рассады у испытанных сортов. Далее в онтогенезе воздействие КС повышало устойчивость растений томатов некоторых сортов в сравнении с контролем (БС) в условиях пониженной температуры.

Следовательно, одним из способов экономически эффективного повышения продуктивности растений в регулируемых условиях служит активизация фоторегуляторной системы фитохрома, что открывает возможность для улучшения продуктивности у сортов овощных растений при пониженной температуре с экономией энергозатрат.

Литература

Астафурова Т.П., Лукаш В.С., Верхотурова Г.С., Зайцева Т.А. Влияние досветки красными полупроводниковыми приборами на рост и развитие овощных культур // Физиология растений – фундаментальная основа экологии и инновационных биотехнологий. Мат-лы докл. VII Съезда ОФРР и докл. на Межд. науч. шк. "Инновации в биологии для развития биоиндустрии сельскохозяйственной продукции": в 2-х частях / Ред. В.В. Кузнецов, А.П. Веселов, Г.А. Романов. – 2011. – С. 58–59.

Виличко А.К., Судаков В.Л., Лыкова Н.А. Влияние активизации фоторецепторной системы фитохрома на рост и развитие рассады томатов и перца в условиях пониженных температур в культивационных сооружениях закрытого грунта // II Межд. науч.-практ. конф. "Современные тенденции в селекции и семеноводстве овощных культур. Традиции и перспективы", посвящ. 90-летию ВНИИССОК. – 2-4 авг. 2010. – 2010. – С.154–161.

Литвинов С.С. Научные основы современного овощеводства. – М.: ВНИИО, 2008. – 771 с.

Тертышная Ю.В., Левина Н.С. Влияние спектрального состава света на развитие сельскохозяйственных культур // Сельскохозяйственные машины и технологии. – 2016. № 5. – С. 24–29.

Удалова О.Р. Технологические основы культивирования растений томата в условиях регулируемой агроэкологической системы. Автореф. дисс. на соиск.уч. степ. канд. с.-х. наук. – СПб, 2014. – 29 с.

Kabachevskaya A.M., Liakhnovich G.V., Kisel M.A., Volotovskii I.D. Red/far-red light modulates phospholipase D activity in oat seedlings: Relation of enzyme photosensitivity to photosynthesis // J. of Plant Physiology. – 2007. – V. 164. – P. 108–110.

Kasperbauer M.J. Phytochrome involvement in regulation of the photosynthetic apparatus and plant adaptation // Plant Physiol. Biochem. – 1988. – V. 26, No. 4. – P. 519–524.

PHOTOSTIMULATION OF TOMATO PLANTS IN CONDITIONS OF COLD STRESS

N.A. Sheloukhova

Agrophysical Research Institute, Saint-Petersburg, Russia, nsheloukhova@agrophys.ru

Abstract. Experiments on the development of energy-saving technologies for growing plants in greenhouse conditions showed that the impact of red light on the vegetable seedlings into the Solanaceae family, activating phytochrome system photoreceptors, which would produce high quality products and tempering plants with simultaneous reduction of energy consumption.

Keywords: cold stress, tomatoes, phytochrome, photostimulation

ЗАВИСИМОСТЬ РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ НА ДЛИТЕЛЬНОЕ ПОСТОЯННОЕ И КРАТКОВРЕМЕННОЕ ПЕРИОДИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР ОТ БИОСИНТЕЗА БЕЛКА НА 70S И 80S РИБОСОМАХ

Е.Г. Шерудило, Т.Г. Шибаета, Е.Н. Икконен, А.Ф. Титов

Институт биологии – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра "Карельский научный центр Российской академии наук", Петрозаводск, Россия, sherudil@krc.karelia.ru

Аннотация. Исследовали влияние ингибиторов белкового синтеза (циклогексимид, хлорамфеникол) на реакцию растений огурца и пшеницы на постоянное и кратковременное (ДРОП) действие низкой температуры. Ингибиторы тормозили рост, снижали скорость газообмена во всех вариантах опыта, но наиболее явно – в контроле и ДРОП. Повышенный уровень холодоустойчивости растений при ДРОП-воздействиях обеспечивается не только за счет работы белоксинтезирующей системы, но и благодаря участию физиолого-биохимических механизмов.

Ключевые слова: ингибиторы белкового синтеза, низкая температура, холодоустойчивость, газообмен

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-821-825

Одним из способов выявления взаимосвязи между активностью транскрипционно-трансляционной системы клеток и ростом устойчивости растений к холоду является ингибиторный анализ. С его помощью была установлена зависимость процесса формирования повышенной устойчивости растений при постоянном действии низких закаливающих температур от синтеза белка *de novo* [Трунова, Зверева, 1977; Титов, 1989]. Однако адаптивный потенциал растений включает достаточно широкий спектр защитно-приспособительных реакций, связанных не только с молекулярно-генетическими, но и с физиологическими и биохимическими механизмами, реализуемыми на посттранскрипционном и посттрансляционном уровнях. В связи с этим исследованы некоторые физиолого-биохимические особенности реакции растений огурца и пшеницы на длительное постоянное действие низкой температуры (ПНТ) и кратковременное, периодически повторяющееся (ДРОП-воздействие, от англ. *drop* – падение, снижение) при подавлении биосинтеза белка на 80S (циклогексимидом, ЦГ) и 70S рибосомах (хлорамфениколом, ХФ). Известно, что оба указанных типа низкотемпературных воздействий повышают холодоустойчивость растений [Титов, 1989; Марковская и др., 2007]. Однако, если участие белоксинтезирующей системы в повышении устойчивости растений при ПНТ установлено, то в отношении ДРОП-воздействий этот вопрос остается пока открытым.

Растения огурца (*Cucumis sativus* L., гибрид Зозуля F1) и пшеницы (*Triticum aestivum* L., с. Московская 39) выращивали в камере искусственного климата (Vötsch, Германия) в рулонах фильтровальной бумаги на питательном растворе (рН 6.2–6.4) при температуре воздуха 23 °С, фотопериоде 12 ч, освещенности 150 мкмоль/(м² с) ФАР, влажности воздуха 70%. Восемидневные растения в течение 6 сут подвергали действию температуры 4 °С (пшеница) и 12 °С (огурец) круглосуточно (вариант ПНТ) или 2 ч в конце ночного периода (вариант ДРОП). Контрольные растения оставались при температуре 23 °С. За сутки до начала низкотемпературных воздействий часть растений всех вариантов (контроль, ДРОП и ПНТ) переводили на водные растворы циклогексимид (ЦГ, 0.8 мг/л для огурца и 12 мг/л для пшеницы) и хлорамфеникола (ХФ, 200 мг/л для обеих культур). Вторую часть растений вариантов контроль, ДРОП и

ПНТ оставляли на воде без ингибиторов. Смену растворов проводили каждые двое суток.

В ходе опытов определяли площадь листьев у огурца и длину листьев у пшеницы. Суммарное содержание хлорофиллов оценивали с помощью измерителя уровня хлорофилла SPAD 502 Plus (Konica Minolta, Osaka, Япония). Фотосинтез и транспирацию листьев анализировали с помощью портативной фотосинтетической системы HSM-1000 (Walz, Германия) при температуре листа 23 °С и ФАР, равной 1000 мкмоль/(м² с). Интенсивность дыхания определяли полярографически с использованием электрода Кларка (Oxygraph System Plus, Hansatech, Великобритания). Для измерения флуоресценции хлорофилла использовали анализатор фотосинтеза с импульсно-модулированным освещением (MINI-PAM, "Walz", Германия). Потенциальный квантовый выход фотохимической активности ФС II (F_v/F_m) определяли после 20-минутной темновой адаптации листьев. О холодоустойчивости клеток листьев судили по температуре (LT_{50}), вызывающей гибель клеток листовых высевок после их 5-минутного промораживания в термоэлектрическом термостате [Дроздов и др., 1976].

Установлено, что используемые ингибиторы тормозили рост листьев у растений в контроле и в вариантах ДРОП и ПНТ, а также частично или полностью блокировали работу ФСII, снижали скорость видимого фотосинтеза, транспирации, темнового дыхания и накопление хлорофилла во всех вариантах опыта, но наиболее ощутимо – в контроле и варианте с ДРОП-воздействиями (рис. 1 и 2). Влияние ХФ на показатель F_v/F_m и скорость видимого фотосинтеза заметно превышало аналогичное действие ЦГ во всех вариантах опыта, свидетельствуя о серьезных нарушениях в работе ФСА и существенной зависимости работы ФСII от синтеза белков на пластидных 70S рибосомах, что согласуется с данными о независимости фотоингибирования фотосинтеза при низких температурах от синтеза белка на 80S рибосомах [Gree et al., 1986].

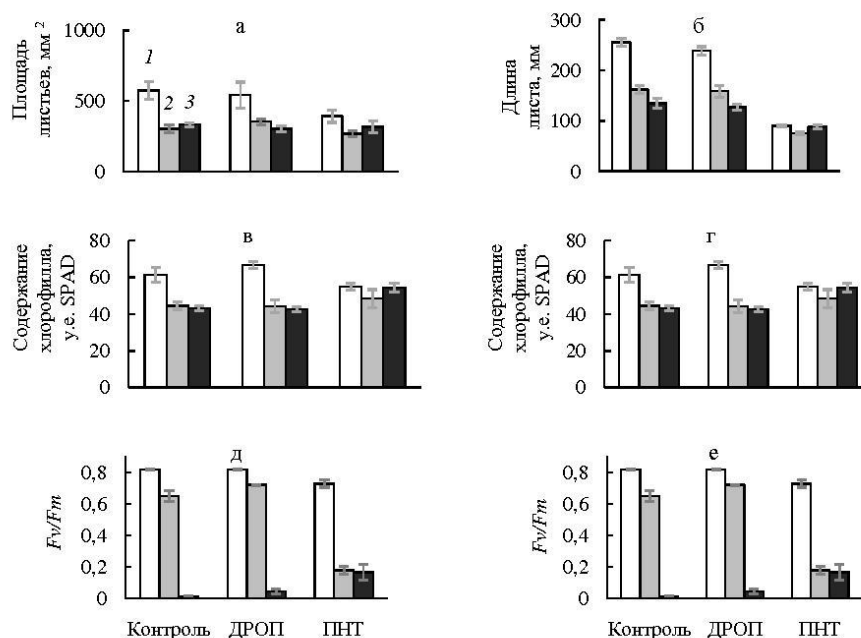


Рис. 1. Влияние ингибиторов синтеза белка на рост листьев огурца (а) и пшеницы (б), содержание хлорофилла в листьях огурца (в) и пшеницы (г), и потенциальный квантовый выход фотохимической активности ФСII (F_v/F_m) листьев огурца (д) и пшеницы (е) в контроле и вариантах ДРОП и ПНТ. 1 – без ингибитора, 2 – с циклогексимидом, 3 – с хлорамфениколом.

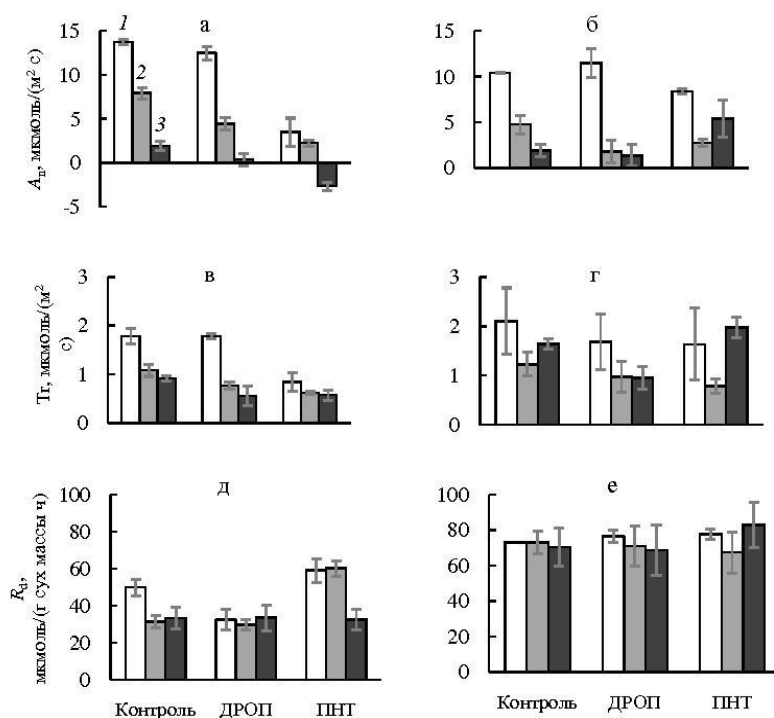


Рис. 2. Скорость видимого фотосинтеза (A_n , а, б), транспирация (T_r , в, г), дыхание (R_d , д, е) листьев огурца (а, в, д) и пшеницы (б, г, е) в контроле и вариантах ДРОП и ПНТ. Разные буквы указывают на достоверность различий средних значений при уровне значимости $P < 0.05$. 1 – без ингибитора, 2 – с циклогексимином, 3 – с хлорамфениколом.

Оба ингибитора не влияли на холодоустойчивость клеток листьев огурца и пшеницы в контроле, но тормозили повышение холодоустойчивости при низкотемпературных обработках (варианты ПНТ и ДРОП) (таблица). Полученные данные подтвердили ранее установленную зависимость роста холодоустойчивости в условиях постоянного действия низкой температуры (вариант ПНТ) от биосинтеза белка на 70S и 80S рибосомах [Трунова, Зверева, 1977; Титов, 1989 и др.] и впервые продемонстрировали роль белоксинтезирующей системы в повышении холодоустойчивости растений при ДРОП-воздействиях. Выявлены особенности участия системы биосинтеза белка в повышении холодоустойчивости растений при двух типах низкотемпературного воздействия, свидетельствующие о разной зависимости этого процесса от синтеза белка на 70S и 80S рибосомах. В условиях ПНТ ХФ оказывал меньшее, чем ЦГ ингибирующее действие на рост холодоустойчивости (таблица), согласуясь с ранее установленным фактом о большей зависимости формирования повышенной устойчивости растений при постоянном действии низких температур от активности цитоплазматических 80S рибосом [Трунова, Зверева, 1977; Титов, 1989]. Напротив, в варианте ДРОП ХФ отличался от ЦГ большей эффективностью в начальный период ДРОП-воздействий (таблица), что предполагает более активное участие и более важную роль 70S рибосом в ответной реакции растений на ДРОП-воздействия по сравнению с реакцией на ПНТ.

Следует отметить, что формирование повышенной устойчивости при ДРОП-воздействиях наиболее эффективно подавлялось ингибиторами синтеза белка на начальном этапе этого процесса (таблица), когда появление новых транскриптов коррелировало с ростом холодоустойчивости листьев [Марковская и др., 2007].

Дальнейший рост устойчивости растений в варианте ДРОП, в отличие от варианта ПНТ, происходил уже на фоне снижения транскрипционной активности генетического аппарата [Марковская и др., 2007] и белоксинтезирующей системы (таблица).

Таблица.

Степень ингибирования (в%) циклогексимидом (ЦГ) и хлорамфениколом (ХФ) процесса повышения холодоустойчивости листьев огурца и пшеницы в зависимости от типа низкотемпературного воздействия (ДРОП и ПНТ)

Вид	Время, сут	Контроль		ДРОП		ПНТ	
		ЦГ	ХФ	ЦГ	ХФ	ЦГ	ХФ
Огурец	2 сут	0	0	45	55	50	30
	6 сут	0	0	39	38	67	33
Пшеница	2 сут	0	0	42	50	47	37
	6 сут	0	0	37	37	56	36

Таким образом, повышенный уровень холодоустойчивости при ДРОП-воздействиях обеспечивается не только благодаря функционированию молекулярно-генетических механизмов, но и активному участию физиолого-биохимических механизмов, реализующих себя на посттранскрипционном и посттрансляционном уровнях. Это подтверждают полученные ранее [Икконен и др., 2015] и представленные в этой работе данные о нормальном функционировании фотосинтетического аппарата растений в варианте с ДРОП-воздействиями и показателях их газообмена, сопоставимых с контролем.

Работа выполнена с использованием научного оборудования Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук» при финансовой поддержке из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (№ темы 0221-2017-0051).

Литература

Дроздов С. Н., Будыкина Н. П., Курец В. К., Балагурова Н. И. Определение устойчивости растений к заморозкам // Методы оценки устойчивости растений к неблагоприятным условиям среды. – Л.: Колос, 1976. – С. 222–228.

Икконен Е.Н., Шибаева Т.Г., Титов А.Ф. Реакция фотосинтетического аппарата листа у *Cucumis sativus* L. на кратковременное ежесуточное понижение температуры // Физиология растений. – 2015. – Т. 62, № 4. – С. 528–532.

Марковская Е.Ф., Сысоева М.И., Шерудило Е.Г., Топчиева Л.В. Дифференциальная экспрессия генов в растении огурца в ответ на многократные кратковременные низкотемпературные воздействия // Физиология растений. – 2007. – Т. 54, № 5. – С. 686–691.

Титов А.Ф. Устойчивость активно вегетирующих растений к низким и высоким температурам: закономерности варьирования и механизмы. Автореферат дисс... докт. биол. наук. – М., – 1989. – 42 с.

Трунова Т.И., Зверева Г.Н. Влияние ингибиторов белкового синтеза на морозостойкость пшеницы // Физиология растений. – 1977. – Т. 24, № 2. – С. 395–402.

Gree D.H., Berry J.A., Bjorkman O. Photoinhibition of photosynthesis in bean leaves: role of light and temperature, and requirement for chloroplast-protein synthesis during recovery // Planta. – 1986. – V. 1. – P. 253–260.

**EFFECT OF PROTEIN SYNTHESIS INHIBITORS ON PLANT RESPONSE
TO PROLONGED PERMANENT AND SHORT-TERM DAILY EXPOSURES
TO LOW TEMPERATURE**

E.G. Sherudilo, T.G. Shibaeva, E.N. Ikkonen, A.F. Titov

Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russia, *sherudil@krc.karelia.ru*

Abstract. The effects of protein synthesis inhibitors (cycloheximide and chloramphenicol) on response of cucumber and wheat plants to prolonged permanent and short-term daily exposures to chilling temperatures (DROP) have been studied. Inhibitors retarded plant growth and reduced the rate of gas exchange in all plants, but decreases were most pronounced in the control and DROP-treated plants. There was shown that DROP-induced chilling tolerance enhancement occurs not only due to the activity of protein-synthesizing system, but also owing to physiological-biochemical mechanisms.

Keywords: *protein synthesis inhibitors, low temperature, chilling tolerance, gas exchange*

ЗАВИСИМОСТЬ РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ ОГУРЦА НА ДРОП-ВОЗДЕЙСТВИЯ ОТ ВЛАЖНОСТИ ВОЗДУХА И ОБЕСПЕЧЕННОСТИ ВОДОЙ

Т.Г. Шibaева, Е.Г. Шерудило, Е.Н. Икконен, А.Ф. Титов

Институт биологии – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра "Карельский научный центр Российской академии наук", Петрозаводск, Россия, shibaeva@krc.karelia.ru

Аннотация. Установлена зависимость реакции растений на ДРОП-воздействия (ежесуточные понижения температуры на 2 ч) от относительной влажности воздуха (ОВВ) и обеспеченности растений влагой. В условиях высокой ОВВ ДРОП-воздействия приводят к увеличению компактности растений, а низкая ОВВ нивелирует эффекты ДРОП. Показано, что ДРОП-воздействия по сравнению с «периодической засухой» являются более эффективным агроприемом, который может применяться как альтернатива использованию ретардантов.

Ключевые слова: низкая температура, водный стресс, компактность, газообмен, холодоустойчивость

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-826-830

Кратковременные ежесуточно повторяющиеся воздействия низких положительных (неповреждающих) температур способны оказывать на растения хорошо выраженный морфогенетический эффект, который, прежде всего, проявляется в торможении линейного роста надземных органов растений [Марковская и др., 2013; Hendriks, Ueber, 1995; Myster, Мое, 1995]. Эти наблюдения и результаты соответствующих экспериментов легли в основу агротехнического приема, получившего название ДРОП («temperature drop» в Европе и «temperature dip» или «cool morning pulse» в США, от англ. *drop* – падение, понижение), который применяется для получения компактной, более жизнеспособной рассады овощных культур и клумбовых растений и при выращивании цветочных растений в тепличных условиях. Во многих случаях данный агроприем позволяет полностью или частично отказаться от использования химических регуляторов роста (ретардантов). Однако, несмотря на широкое применение, он изучался, главным образом, в плане подбора параметров ДРОП-воздействий (используемая температура, продолжительность ее действия и время снижения температуры в суточном цикле), позволяющих получить наилучшие в практическом плане результаты [Марковская и др., 2013; Ueber, Hendriks, 1992; Erwin, Heins, 1995; Sysoeva et al., 1997]. Влияние внешних факторов на реакцию растений на ДРОП-воздействия изучено очень слабо, хотя такого рода информация крайне важна и в теоретическом, и в практическом плане. В ряде работ [Ueber, Hendriks, 1992; Stavang et al., 2007; Ikkonen et al., 2017] показано влияние светового фактора на реакцию растений на ДРОП-воздействия. В частности, отмечено, что эффекты ДРОП-воздействий на растения, прежде всего, различаются в зависимости от того, осуществляются они на свету или в темноте. Важную роль в реакции растений на ДРОП-воздействия могут играть и световые условия роста растений, а также светотребовательность растений и длительность фотопериода. В отличие от света, влияние водного фактора (относительной влажности воздуха и/или содержания воды в корнеобитаемой среде) на реакцию растений на ДРОП-воздействия не изучалось, хотя хорошо известно, что влажность воздуха и влагообеспеченность растений существенным образом влияют на их рост и морфогенез, а прием «периодической засухи» (искусственное создание нелетального водного дефицита) тоже используют в растениеводстве с целью торможения роста растений как альтернативу применению

ретардантов [Hendriks, Ueber, 1995; Carvalho et al., 2008]. Исходя из изложенного выше, цель данной работы заключалась в изучении влияния относительной влажности воздуха (ОВВ) и обеспеченности растений влагой (создаваемой определенным режимом полива) на реакцию растений огурца на ДРОП-воздействия, а также в сравнительной оценке эффективности применения двух агроприемов (ДРОП-воздействия и «периодическая засуха»), альтернативных использованию ретардантов.

С этой целью растения огурца (*Cucumis sativus* L.) выращивали в камере искусственного климата при температуре воздуха 23 °С, ФАР 150 мкмоль/(м² с), фотопериоде 12 ч. Все опыты проводили при условно низкой (30%) или высокой (80%) ОВВ. Начиная с 6-ых сут от замачивания семян, применяли разные режимы полива – ежедневный полив или полив после высыхания субстрата (1 раз в 2-3 дня), создавая тем самым условия так называемой «периодической засухи» (вариант «засуха»). Начиная с 14-ых сут от замачивания семян, часть растений с разными режимами полива в течение 6 сут подвергали действию температуры 10 °С в течение 2 ч (плюс 30 мин на снижение и 30 мин на повышение температуры) в конце ночного периода (вариант ДРОП). Контролем служили растения, которые поливались ежедневно и не подвергались низкотемпературным воздействиям.

Результаты исследований показали, что водный фактор, а именно ОВВ и влагообеспеченность растений значительным образом изменяют реакцию растений на ДРОП-воздействия по многим параметрам, причем не только количественно, но и качественно. При высокой ОВВ наблюдается типичный морфогенетический эффект ДРОП-воздействий, когда при уменьшении линейных размеров надземных органов, но несколько большем накоплении сухой биомассы, увеличивается (на 24%) компактность растения (т.е. количество сухого вещества на единицу высоты растения) (рисунок, таблица). Причиной большего накопления сухой биомассы растений под влиянием ДРОП-воздействий является более высокая скорость фотосинтеза без увеличения потерь на дыхание по сравнению с контрольными растениями. В условиях низкой ОВВ у контрольных растений наблюдалось значительное (до 50%) торможение всех ростовых процессов – и линейного роста, и накопления биомассы (рисунок), однако уменьшение высоты растений было больше, чем снижение сухого веса, что в результате привело к увеличению компактности контрольных растений. В этих условиях ДРОП-воздействия не дали дополнительного эффекта.

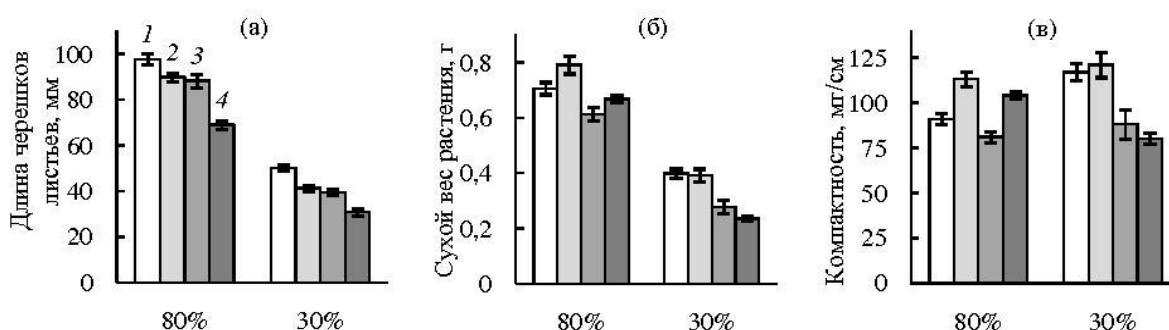


Рисунок. Длина черешков листьев (а), сухой вес растения (б) и компактность (в) контрольных растений огурца (1) и подвергавшихся ДРОП-воздействиям (2), «засухе» (3) и их совместному действию (ДРОП+«засуха») (4) при относительной влажности воздуха 80% или 30%.

Режим полива с созданием условий «периодической засухи» усиливал эффекты ДРОП-воздействий на растения, что проявлялось в еще большем уменьшении линейных размеров и повышении компактности (рисунок, таблица). Однако это происходило только в условиях высокой ОВВ, а при низкой ОВВ режим «периодической засухи» вызывал увеличение скорости транспирации и дыхания, что приводило к меньшему накоплению биомассы и уменьшению компактности растений.

Таблица.

Влияние ДРОП-воздействий, «периодической засухи» и их совместного действия на рост, развитие и устойчивость растений огурца (% от контроля).

Показатель	Варианты опыта					
	ОВВ 80%			ОВВ 30%		
	ДРОП	«засуха»	ДРОП+ «засуха»	ДРОП	«засуха»	ДРОП+ «засуха»
<i>Рост и развитие растений</i>						
Высота растений	90*	97	83*	95	92*	87*
Длина черешков листьев	92*	90*	71*	83*	79*	61*
Площадь листьев	103	77*	79*	90*	75*	59*
Количество листьев	100	100	80*	103	94	73*
Сухой вес растений	112*	87*	95*	98	69*	59*
Компактность	124*	89*	114*	103	75*	68*
<i>Водный режим</i>						
Относит. содержание воды	103	104	105	102	105	104
Транспирация	99	87*	79*	100	81*	90
Устьичная проводимость	97	81*	53*	103	80*	92
<i>Газообмен</i>						
Видимый фотосинтез	115*	95*	101	100	88*	90*
Дыхание	93	76*	60*	71*	68*	94
<i>Холодоустойчивость</i>						
Содержание МДА	95	48*	34*	100	93	83*
ОВЭ	102	57*	21*	65*	76*	65*

*Значимые различия с контролем. Показатели контрольных растений приняты за 100%. Содержание МДА и ОВЭ приведены для листьев растений после холодового теста.

Совместное действие ДРОП и «периодической засухи» выразилось в большем морфогенетическом эффекте, чем при их отдельном применении, но вследствие уменьшения сухого веса растений это привело к увеличению компактности на 14% только в условиях высокой ОВВ, тогда как повышение компактности под влиянием только ДРОП-воздействий составляло 24%.

Холодовой тест (4 °С в течение 24 ч и затем 23 °С в течение 24 ч) показал, что растения, подвергавшиеся совместному действию ДРОП-воздействий и «периодической засухи» оказались наиболее холодоустойчивыми. Вероятно, их более высокая устойчивость к низкой температуре, оцененная по содержанию малонового диальдегида (МДА) и относительному выходу электролитов (ОВЭ), в данном случае обусловлена большей устойчивостью к водному стрессу, вызванному действием низкой температуры. Во многих работах показано, что охлаждение влияет на теплолюбивые растения косвенно, через водный стресс, нарушая водный баланс растений (Janowiak, 1989). В этом случае первичной причиной холодовых повреждений у теплолюбивых видов является потеря тургора в результате нарушения контроля за устьичной проводимостью и потери воды в процессе транспирации при снижении способности корней их компенсировать. После возвращения в нормальные условия на высохших

частях листьев появляются некротические пятна, что мы и наблюдали в наших опытах в большей степени у контрольных растений, выросших в условиях высокой ОБВ.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о значительной зависимости реакции растений на ДРОП-воздействия от ОБВ и обеспеченности растений водой. В условиях высокой ОБВ ДРОП-воздействия оказывают хорошо выраженный морфогенетический эффект и приводят к увеличению компактности растений. В условиях низкой ОБВ эффекты ДРОП-воздействий на рост растений нивелируются ввиду сильного морфогенетического эффекта самой ОБВ и значительного снижения биомассы растений в результате ДРОП-воздействий в условиях «периодической засухи». Результаты работы также показали, что хотя морфогенетический эффект таких агроприемов как ДРОП-воздействия и «периодическая засуха» сопоставим в плане влияния на линейные размеры растений, тем не менее увеличение компактности растений происходит только под влиянием ДРОП-воздействий. При «периодической засухе» растения становятся меньше, но не компактнее. Следовательно, ДРОП-воздействия являются более пригодным в практическом отношении агроприемом, который может применяться как альтернатива использованию ретардантов для управления ростом и получения компактных растений. При высокой ОБВ ДРОП-воздействия в сочетании с «периодической засухой» приводят к увеличению компактности (хотя и в меньшей степени, чем ДРОП-воздействия в условиях нормального полива), а также к повышению устойчивости растений к водному стрессу, индуцированному низкой температурой. Это важно иметь в виду, так как современное растениеводство требует поиска относительно недорогих и безопасных для окружающей среды способов управления высотой и компактностью растений из-за строгих маркетинговых требований относительно размера рассады овощных культур, равно как и при выращивании декоративных культур.

Работа выполнена с использованием научного оборудования Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук» при финансовой поддержке из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (№ темы 0221-2017-0051).

Литература

Марковская Е.Ф., Сысоева М.И., Шерудило Е.Г. Кратковременная гипотермия и растение. – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2013. – 194 с.

Carvalho S.M.P., van Noort F., Postma R., Heuvelink E. Possibilities for producing compact floricultural crops. – Wageningen: Wageningen UR Greenhouse Horticulture, 2008. – Report 173. – 68 p.

Erwin J.E., Heins R.D. Thermomorphogenic responses in stem and leaf development // Hort. Sci. – 1995. – V. 30. – P. 940–949.

Hendriks L., Ueber E. Alternative methods of regulating the elongation growth of ornamental plants: a current assessment // – Acta Hortic. – 1995. – V. 378. – P. 159–167.

Ikkonen E.N., Shibaeva T.G., Titov A.F. The role of light in cucumber plant response to a diurnal short-term temperature drop // J. Stress Physiol. Biochem. – 2017. – V. 13, No. 2. – P. 35–44.

Janowiak F. Effect of water saturated atmosphere on chilling injuries of maize seedlings (*Zea mays* L.) // Acta Physiol. Plant. – 1989. – V. 11, No. 2. – P. 89–96.

Myster J., Moe R. Effect of diurnal temperature alternations on plant morphology in some greenhouse crops: a mini review // Sci. Hortic. – 1995. – V. 62. – P. 205–215.

Stavang J.A., Junttila O., Moe R., Olsen J.E. Differential temperature regulation of GA metabolism in light and darkness in pea // J. Exp. Bot. – 2007. – V. 58. – P. 3061–3069.

Sysoyeva M.I., Markovskaya E.F., Kharkina T.G. Optimal temperature drop for the growth and development of young cucumber plants // Plant Growth Regul. – 1997. – V. 6. – P. 1–5.

Ueber E., Hendriks L. Effects of intensity, duration and timing of a temperature drop on the growth and flowering of *Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch.// Acta Hortic. – 1992. – V. 327. – P. 33–40.

THE ROLE OF AIR HUMIDITY AND WATER DEFICITE IN CUCUMBER PLANT RESPONSE TO A TEMPERATURE DROP

T.G. Shibaeva, E.G. Sherudilo, E.N. Ikkonen, A.F. Titov

Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russia, shibaeva@krc.karelia.ru

Abstract. There has been established the dependence of plant responses to a short-term (2 h) daily temperature drop (DROP) on the relative air humidity (RH) and substrate water content. Under high RH DROP treatments increase plant compactness, but under low RH their effects are leveled. It is shown that DROP treatments are more effective than «periodic drought» for plant height control as an alternative to the use of plant growth retardants.

Keywords: *low temperature, water stress, compactness, gas exchange, cold resistance*

СОДЕРЖАНИЕ ПИГМЕНТОВ И ФЛАВОНОИДОВ У РАСТЕНИЙ АРКТИЧЕСКОЙ ФРАКЦИИ ФЛОРЫ ЗАПАДНОГО ШПИЦБЕРГЕНА

Н.Ю. Шмакова¹, Е.Ф. Марковская²

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Кольского научного центра Российской академии наук «Полярно-альпийский ботанический сад-институт имени Н.А. Аврорина», Кировск, Россия, *shmanatalya@yandex.ru*

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Петрозаводский государственный университет», Петрозаводск, Россия, *volev10@mail.ru*

Аннотация. Исследовано содержание пигментов пластид у 98 видов сосудистых растений на о. Западный Шпицберген (78°02' с.ш., 14°12' в.д.). Преобладают виды арктической фракции (85%) с циркумполярным ареалом. Содержание хлорофиллов составляет 0.4–2.6 мг/г, каротиноидов – 0.09–0.86 мг/г сырой массы; *a/b* – 1.7–4.3, соотношение хлорофиллов к каротиноидам – 1.5–5.4, размеры ССК–42–82%. Суммарное содержание флавоноидов у видов арктической фракции составляет 0.9–10.9% абс. сух. веса. Установлено, что у 70% видов имеется положительная связь между содержанием хлорофиллов и флавоноидов.

Ключевые слова: пигменты пластид, флавоноиды, сосудистые растения, Западный Шпицберген

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-831-834

Растительный мир и лишенобиота высоких широт представляет большой интерес в связи с резкой выраженностью экстремальности условий и зависимостью жизнедеятельности организмов от климатических факторов. Проблема формирования флоры видами с различными типами географического распространения связана с их биологическими возможностями и их адаптивным потенциалом, который определяется, прежде всего, их эколого-физиологическими особенностями. В качестве такой характеристики мы используем пигментный аппарат.

Нами исследовано 98 видов сосудистых растений (20 семейств и 49 родов) арктических тундр на о. Западный Шпицберген (78°02' с.ш., 14°12' в.д.), что составляет 60% флоры Шпицбергена. 85% исследованных видов приходится на арктическую фракцию, 8% - на виды гипоарктической и 7% – бореальной фракции. В арктическую фракцию входят арктические и преимущественно арктические, метаарктические и арктоальпийские группы видов.

Содержание хлорофиллов и каротиноидов определяли спектрофотометрическим методом (СФ-26, Россия) [Сапожников и др., 1978]. Долю Хл в светособирающем комплексе (ССК) рассчитывали, приняв, что практически весь Хл находится в ССК и соотношение хлорофиллов *a/v* равно 1.2. Определение содержания суммы флавоноидов в листьях сосудистых растений проводили спектрофотометрическим методом (при 410 нм) в пересчете на рутин и массу абсолютно сухого сырья (%) [Зайчикова и др., 1983].

Арктические и преимущественно арктические виды – в основном высокоарктические виды, часть видов прилегающих субарктических высокогорий. Это виды с наибольшей активностью у северного предела тундры, они наиболее характерны для подзоны арктических и северной части типичных тундр. Эта группа видов арктической фракции флоры Западного Шпицбергена составляет 59%. Наибольшее число видов приходится на семейства *Caryophyllaceae* и *Poaceae*, несколько меньше видов в семействах *Brassicaceae*, *Ranunculaceae*, *Cyperaceae*; другие семейства представлены единичными видами. Диапазон содержания хлорофиллов составляет 0.39–2.05 мг/г сырой массы, каротиноидов 0.15–0.59 мг/г сырой массы, сюда

вошли виды, как с низкими, так и с высокими значениями. Более 80% арктических видов имеют высокие и средние значения содержания пигментов. Соотношения хлорофиллов находятся в диапазоне – 1.7–4.3; хлорофиллов к каротиноидам – 1.5–4.9; содержание хлорофиллов в светособирающем комплексе (ССК) – 42–82%. В этой группе преобладают виды с циркумполярным типом распространения – 65%, представителей с амфиокеаническим типом распространения, куда относится и единственный однолетник *Euphrasia frigida* с минимальным содержанием хлорофиллов, меньше в 4 раза (16%). Равноценно представлены виды с преимущественно американскими, евразийскими и европейскими типами распространения. Единичный вид, *Deschampsia borealis*, имеет азиатско-американский тип распространения.

Метаарктические виды кроме Арктики встречаются в горах, непосредственно прилегающих к границе тундровой зоны, и являются частью одной крупной «метаарктической флоры», объединяющей флоры разных частей Арктики и субарктических высокогорий. На исследуемой нами территории это самая немногочисленная группа представлена по 1 виду из 7 семейств (*Salix polaris*, *Minuartia rubella*, *Saxifraga revularis*, *Cassiope tetragona*, *Polemonium boreale*, *Erigeron humulis*, *Carex misandra*). Диапазон содержания хлорофиллов у видов этой группы составляет 0.76–2.23 мг/г сырой массы, каротиноидов 0.21–0.57 мг/г сырой массы. Соотношения хлорофиллов находятся в диапазоне 2.8–3.7; хлорофиллов к каротиноидам – 3.6–4.6; хлорофиллов в светособирающем комплексе (ССК) 46–58%. Большинство видов – с циркумполярным типом распространения, по одному виду с амфиатлантическим, преимущественно американским и евразийским типами распространения.

Арктоальпийские виды по происхождению могут быть как арктическими, так и альпийскими. Они наиболее широко представлены в растительном покрове Шпицбергена, среди них много доминантов растительного покрова.

Исследовано 27 видов из 8 семейств, большинство составляют почти все виды семейства *Saxifragaceae* (10 из 14), *Caryophyllaceae*, *Brassicaceae*, *Polygonaceae*. Диапазон содержания хлорофиллов у видов составляет 0.39–2.57, каротиноидов – 0.09–0.86 мг/г сырой массы. Соотношения хлорофиллов находятся в диапазоне – 2.1–3.9; хлорофиллов к каротиноидам – 2.9–5.4; хлорофиллов в светособирающем комплексе (ССК) – 44–72%. Около 90% – циркумполярные виды, два вида – амфиатлантические. К этой группе относится единственный адвентивный североамериканский вид *Silene acaulis* с низким содержанием хлорофиллов (0.44 мг/г сырой массы), который характерен для европейского сектора Арктики. В эту группу входит еще один вид однолетников из флоры Шпицбергена – *Koenigia islandica* семейства *Polygonaceae*.

Флора Арктики представлена видами высших сосудистых растений с различными широтными и долготными географическими элементами и с различным диапазоном содержания хлорофиллов. Наибольший спектр широтных и долготных элементов отмечен в группе видов со средними величинами содержания хлорофиллов. Это означает, что содержание хлорофиллов, которое является генетически детерминированным [Любименко, 1916], может рассматриваться как фактор географического распространения растений. Среди арктических видов арктической фракции флоры большинство составляют виды со средними значениями содержания хлорофиллов, далее идет группа с высоким содержанием, участие видов с низкими значениями минимально. Метаарктическая группа этой же фракции отличается отсутствием видов с низкими значениями, два других диапазона содержания хлорофиллов представлены примерно равноценно. Арктоальпийская группа отличается от всех элементов арктической фракции, наоборот, высокой долей видов с низким содержанием хлорофиллов при доминировании среднего диапазона содержания

хлорофиллов. При этом доминирующую роль в растительном покрове Арктики имеют виды цветковых растений арктической фракции со средними значениями содержания хлорофиллов.

Флавоноиды – одна из наиболее широко распространенных антиоксидантных систем в мире растений. Флавоноиды как полифункциональные соединения имеют большое значение при адаптации автотрофных организмов в высоких широтах. Это связано с такими особенностями флавоноидов, как сочетание полифункциональности и видоспецифичности химического состава не только на уровне вида, но и популяций.

Диапазон содержания суммы флавоноидов у 54 видов сосудистых растений арктической фракции на Западном Шпицбергене оказался довольно широким: от 0.9 до 10.9% абс. сух. веса, причем в 2–3 раза выше, чем у растений Субарктики. Анализ содержания флавоноидов показал, что их количество не связано с таксономией, географическим ареалом и распространением, а определяется в большей степени биологическими особенностями вида, где ведущая роль отводится их метаболической составляющей. Поскольку большая часть изученных видов входит в арктическую фракцию, то они являются хорошо адаптированными к условиям Арктики.

Выявлено, что в таких семействах, как *Salicaceae*, *Betulaceae*, *Papaveraceae*, *Polemoniaceae*, *Boraginaceae*, *Scrophulariaceae* отмечены виды только с высоким содержанием флавоноидов; в шести семействах: *Equisetaceae*, *Lycopodiaceae*, *Ranunculaceae*, *Rosaceae*, *Empetraceae*, *Cyperaceae* не встречено видов с высоким содержанием флавоноидов.

Среди всех исследованных представителей многовидовых семейств имеются виды с разным уровнем содержания флавоноидов. Так, в сем. *Saxifragaceae* есть виды как с очень высоким содержанием – *Saxifraga hirculus* (9.1%), так и с самым низким – *Saxifraga foliolosa* (0.9); в сем. *Caryophyllaceae* с высоким содержанием – *Silene acaulis* и *Honkenya pelloides* (7.8), с низким – *Arenaria pseudofrigida* (2.8) и *Stellaria humifusa* (3.0%).

Около 85% исследованных видов имеют высокие и средние значения величины содержания флавоноидов, что свидетельствует о важности участия этой группы вторичных метаболитов в процессе адаптации к условиям Крайнего Севера. Сравнение данных по содержанию флавоноидов у одних и тех же видов в разных условиях обитания подтверждает идею об увеличении концентрации этих соединений в более экстремальных условиях среды.

Одновременный анализ содержания фотосинтезирующих пигментов и флавоноидов у видов растений арктической фракции позволил выделить четыре основные группы видов.

В первую группу входят виды *Cassiope tetragona*, *Salix polaris*, *S. reticulata*, *Pedicularis dasyantha* с высоким содержанием зеленых пигментов и высоким содержанием флавоноидов. К этой же группе примыкают виды *Erigeron humilis*, *Potentilla hyparctica*, *Dryas octopetala* также с высоким содержанием хлорофиллов, но с несколько более низким содержанием флавоноидов.

Во вторую группу вошли виды *Arenaria pseudofrigida*, *Huperzia arctica*, у которых низкие содержания пигментов сочетаются с низким содержанием флавоноидов. Сюда же входят близкие к ним виды *Oxyria digyna*, *Braya purpurascens*, *Saxifraga cernua*, *S. cespitosa*, *Ranunculus pygmaeus*, у которых содержание флавоноидов несколько выше.

В третью группу вошли виды *Poa alpigena*, *Luzula wahlenbergii*, *Taraxacum arcticum*, *Saxifraga hieracifolia*, *Ranunculus sulphureus*, у которых высокие содержания хлорофиллов сочетаются с низким содержанием флавоноидов.

В четвертую группу вошли виды *Saxifraga oppositifolia*, *S. aizoides*, *Cochlearia groenlandica*, у которых низкое содержание хлорофиллов сочетается с высоким содержанием флавоноидов.

Выявлено, что у 70% видов увеличение содержания пигментов сопровождается увеличением содержания флавоноидов, что дает основание предполагать, что соединения группы флавоноидов активно участвуют в защите фотосинтетического аппарата большой группы арктических растений. Однако роль флавоноидов значительно шире и в отношении функциональной активности растений Арктики.

Известно, что одним из путей адаптации пигментного аппарата к условиям арктических широт является снижение содержания зеленых пигментов, которое, как предполагают, связано с понижением риска окислительного стресса. Для ряда видов так и оказалось: больше хлорофиллов – больше флавоноидов (группа 1), меньше хлорофиллов – меньше флавоноидов (группа 2). Поскольку хлоропласты являются основным источником внутриклеточных форм активного кислорода, то гликолизированные флавоноиды, присутствующие в хлоропластах, выполняют антиоксидантную функцию. Выявленная нами у ряда видов связь между содержанием пигментов и содержанием флавоноидов поддерживает представление об их участии в антиоксидантной защите растений Арктики. Высокое содержание флавоноидов у растений Западного Шпицбергена может быть связано с возрастанием экстремальности условий произрастания видов.

Литература

Зайчикова С.Г., Кривуш Б.А., Барабанов Е.А. Спектрометрический метод количественного определения суммы флавоноидов в траве зверобоя шероховатого // Современные методы исследований лекарственных растений. – М., 1983. – С. 103–109.

Любищенко В.Н. О превращениях пигментов пластид в живой ткани растения // Зап. Имп. АН. – Петроград, 1916. – Т. 33, № 12. – С. 1–274.

Сапожников Д.И., Маслова Т.Г., Попова О.Ф., Попова И.А., Королева О.Я. Метод фиксации и хранения листьев для количественного определения пигментов пластид // Ботанический журнал. – 1978. – Т. 63, № 11. – С. 1586–1592.

THE CONTENT OF PIGMENTS AND FLAVONOIDS IN PLANTS ARCTIC FRACTION ON WEST SPITSBERGEN

N. Shmakova¹, E. Markovskaya²

¹Polar Alpine Botanical Garden and Institute, Kirovsk, Russia, shmanatalya@yandex.ru

²Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Petrozavodsk State University», Petrozavodsk, Russia, volev10@mail.ru

Abstract. The content of pigment plastids was studied in 98 species of vascular plants on the island of Western Spitsbergen (78° 02'N, 14° 12'E). It has been established that species of the Arctic fraction (85%) with a circumpolar areal prevail. The range of chlorophyll content in this group is 0.4–2.6 mg/g wet weight, carotenoids – 0.09–0.86; the ratio of chlorophylls is 1.7–4.3, the ratio of chlorophylls to carotenoids is 1.5–5.4, the size of LHC-II is 42–82%. The range of the content of the sum of flavonoids in 54 species of vascular plants of the Arctic fraction was from 0.9 to 10.9% of abs. dry weights. It is found that 70% of species have a positive relationship between the content of chlorophylls and flavonoids.

Keywords: *plastid pigments, flavonoids, vascular plants, West Spitsbergen*

ПРИМЕНЕНИЕ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА В ЛЕСНЫХ ПИТОМНИКАХ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ СЕЯНЦЕВ ХВОЙНЫХ ПОРОД К ГРИБНЫМ ФИТОПАТОГЕНАМ

В.П. Шуканов, Л.А. Корытько, Е.В. Мельникова, С.Н. Полянская

Государственное научное учреждение «Институт экспериментальной ботаники имени В.Ф. Купревича Национальной академии наук Беларуси», Минск, Беларусь, *patphysio@mail.ru*

Аннотация. Выявлено, что применение защитно-стимулирующих составов фунгицидов и росторегулирующих препаратов (Экосил Плюс, Гидрогумат, Наноплант) способствует снижению процента инфицированных сеянцев сосны и ели в 1,5 раза после первой обработки и в 2–2,3 раза при повторной обработке. Болезнеустойчивость посадочного материала повышается за счет ингибирующего действия фунгицидов на фитопатогены и иммунизирующего влияния регуляторов роста на растения.

Ключевые слова: сеянцы сосны и ели, болезнеустойчивость, регуляторы роста, фунгициды

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-835-839

Одной из основных проблем, связанных с выращиванием посадочного материала в лесных питомниках является наличие инфекционных болезней растений, вызываемых различными патогенными микроорганизмами [Звягинцев, 2015]. Фитопатологические обследования питомников Беларуси с использованием современных методов показали, что структура фитопатогенных организмов на сеянцах и саженцах в последнее время сильно изменилась [Баранов и др., 2012; Малашевич, Дашкевич, 2016]. Наряду с хорошо известными и изученными болезнями древесных пород появляются, ранее не характерные для данного региона. Основным методом борьбы с грибными болезнями сеянцев древесных культур, по-прежнему, остается применение химических препаратов (фунгицидов), которые, как правило, токсичны не только для возбудителей болезней, но и негативно отражаются на самом посадочном материале, замедляя рост и нарушая морфогенез сеянцев [Ярмолевич и др., 2016]. Постоянное использование фунгицидов вызывает изменение чувствительности к ним патогенов, появление устойчивых штаммов возбудителей, что создает опасность возникновения эпифитотий. Кроме того, систематическое применение химических средств защиты приводит к серьезному ухудшению экологической ситуации. Однако эти негативные явления можно снизить путем целенаправленного использования росторегулирующих препаратов природного происхождения, способных интенсифицировать физиолого-биохимические процессы растений и, одновременно, повышать устойчивости их к болезням и стрессам. Поэтому современная система защиты сеянцев древесных пород от грибных болезней в лесных питомниках должна быть направлена на создание комплексных методов на основе использования химических фунгицидов и биологических препаратов.

Целью проводимой исследовательской работы было изучение эффективности применения регуляторов роста в защитно-стимулирующих составах (ЗСС) на основе фунгицидов для повышения болезнеустойчивости сеянцев сосны обыкновенной и ели обыкновенной, выращиваемых в условиях открытого грунта. В качестве росторегулирующих препаратов использованы Экосил Плюс, Гидрогумат и микроудобрение Наноплант. Экосил Плюс представляет собой сумму тритерпеновых кислот сибирской пихты, обогащенную композицией из более чем 30 легколетучих малополярных, моно- и сесквитерпеновых соединений и изопреноидов. Гидрогумат –

препарат на основе гуминовых, фульвовых кислот и природных микроэлементов. Микроудобрение Наноплант является нанопрепаратом, действующее вещество которого – наночастицы микроэлементов обладают свойством сверхпроницаемости через клеточные мембраны растения. Обработка семян проводилась двукратно за вегетационный период (с интервалом в 30 дней) путем опрыскивания по вегетирующей массе. Через 20 дней после обработок проводили фитомониторинг семян, определяя процент инфицированных растений в изучаемых образцах.

Результаты исследований выявили невысокую степень распространения болезней на сеянцах сосны и ели – 4,2 и 6,8% соответственно (табл. 1). Обнаружено, что введение в составы для обработок регуляторов роста способствовало повышению их фунгицидных свойств. Наилучшие результаты получены при использовании в композиционных составах препарата Наноплант, при котором процент распространения болезней снижался в 1,5 раза. Регуляторы роста Экосил Плюс и Гидрогумат также увеличивали способность фунгицидов подавлять развитие грибной микрофлоры, но в меньшей степени (на 5–20%).

Таблица 1.

Распространение болезней на сеянцах сосны и ели после однократной обработки защитно-стимулирующими составами

Вариант обработки	Сосна		Ель	
	Степень распространения %	Биологическая эффективность составов, %	Степень распространения %	Биологическая эффективность составов, %
Контроль	4,20±1,46		6,83±1,42	
Раёк	3,62±0,86	14	6,23±1,02	8
Раёк + Экосил Плюс	3,24±0,76	22	5,15±1,35	25
Раёк + Гидрогумат	3,10±0,71	26	6,06±0,79	11
Раёк + Наноплант	3,08±0,53	27	4,53±1,61	34
Титул Дуо	3,07±0,78	27	5,50±3,57	19
Титул Дуо+ Экосил Плюс	3,13±1,02	25	5,44±0,59	20
Титул Дуо + Гидрогумат	2,61±0,94	38	5,48±1,99	24
Титул Дуо + Наноплант	2,27±1,05	45	5,05±1,34	26
НСР ₀₀₅	0,17		0,21	

При повторной обработке тенденция понижения степени распространения болезней на сеянцах сосны и ели под действием защитно-стимулирующих составов сохранялась (табл. 2). В посевах сосны процент инфицированных растений в контроле был 4,6, при использовании смесей фунгицидов и росторегулирующих веществ он снижался в 2 – 2,3 раза. На сеянцах ели наблюдалась более высокая степень распространения болезней – в контроле было инфицировано до 9,6% растений, а в вариантах, обработанных защитно-стимулирующими составами, распространение болезней снижалось в 1,5–1,8 раз.

Для оценки природы устойчивости и регулирующего действия обработок защитно-стимулирующих составов фунгицидов и регуляторов роста в исследуемых образцах определяли несколько физиолого-биохимических показателей, характеризующих стрессо- и болезнестойчивость. К таковым критериям можно отнести – содержание продуктов перекисного окисления липидов мембран (так называемых ТБК-продуктов) и выход водорастворимых веществ из тканей растений.

Полученные результаты свидетельствуют, что практически во всех вариантах под воздействием препаратов после первой обработки количество продуктов перекисного

окисления липидов в тканях семян ели понижалось по сравнению с контролем на 10–30%. У растений сосны данный показатель был еще ниже: содержание ТБК-продуктов уменьшалось на 20–45% по отношению к контрольному уровню (табл. 3). После второй обработки тенденция к понижению содержания продуктов перекисного окисления липидов в тканях семян древесных культур также сохранялась.

Таблица 2.

Распространение болезней на сеянцах сосны и ели после двукратной обработки защитно-стимулирующими составами

Вариант обработки	Сосна		Ель	
	Степень распространения %	Биологическая эффективность составов, %	Степень распространения %	Биологическая эффективность составов, %
Контроль	4,60±0,92		9,67±1,22	
Раёк	3,23±0,83	30	5,32±0,97	45
Раёк + Экосил Плюс	2,06±0,56	55	4,80±1,29	50
Раёк + Гидрогумат	2,10±0,58	54	4,43±1,84	54
Раёк + Наноплант	1,98±0,67	57	5,76±1,43	51
Титул Дуо	2,93±1,78	36	6,00±1,57	38
Титул Дуо + Экосил Плюс	2,17±1,32	53	5,18±0,90	46
Титул Дуо + Гидрогумат	2,13±1,26	54	4,65±1,67	52
Титул Дуо + Наноплант	2,00±1,58	57	4,48±3,05	54
НСР ₀₀₅	0,13		0,24	

Таблица 3.

Влияние защитно-стимулирующих составов на уровень содержания продуктов перекисного окисления липидов в сеянцах ели и сосны

Вариант обработки	Однократная обработка		Двукратная обработка	
	мкМ/г сырой массы	%	мкМ/г сырой массы	%
Ель				
Контроль	35,83±0,12	100	32,16±0,16	100
Раёк	29,38±0,48	82	27,28±0,11	84
Раёк + Экосил Плюс	31,82±0,19	89	25,77±0,06	79
Раёк + Гидрогумат	34,32±0,62	96	23,62±0,11	72
Раёк + Наноплант	26,27±0,40	73	31,33±0,10	96
Титул Дуо	30,88±0,42	86	27,71±0,04	85
Титул Дуо + Экосил Плюс	33,32±0,43	93	32,56±0,06	100
Титул Дуо + Гидрогумат	33,78±0,50	94	31,90±0,06	98
Титул Дуо + Наноплант	24,23±0,25	68	30,91±0,11	95
Сосна				
Контроль	37,66±0,52	100	54,10±0,14	100
Раёк	23,39±0,13	62	45,39±0,21	84
Раёк + Экосил Плюс	21,48±0,24	57	42,17±0,14	78
Раёк + Гидрогумат	25,35±0,29	67	40,77±0,06	75
Раёк + Наноплант	20,18±0,19	54	45,68±0,11	84
Титул Дуо	19,61±0,27	52	41,37±0,14	76
Титул Дуо + Экосил Плюс	22,79±0,37	61	43,64±0,17	81
Титул Дуо + Гидрогумат	23,50±0,19	62	43,57±0,10	81
Титул Дуо + Наноплант	29,19±0,18	78	39,67±0,12	73
НСР ₀₀₅	0,9		1,3	

Кроме процесса окисления липидов мембран еще одной характеристикой устойчивости клеточных стенок можно считать такой показатель, как выход водорастворимых веществ из растительных тканей, отражающий собой два процесса: образование ассимилятов и проницаемость клеточной стенки (мембраны). При исследовании данного показателя было обнаружено, что выход водорастворимых веществ из тканей семян ели после первой обработки снижался на 10–40% при использовании композиционных составов на основе фунгицида Раек и на 10–35% при применении смесей в сочетании с фунгицидом Титул Дуо (табл. 4). У семян сосны наоборот наблюдалось увеличение выхода водорастворимых веществ из тканей, которое можно объяснить интенсификацией обмена веществ, поскольку уровень продуктов перекисного окисления липидов не указывает на усиление разрушения клеточных мембран. Повторная обработка посадочного материала вызывала снижение уровня выхода водорастворимых веществ из тканей семян ели, как ели, так и сосны, уменьшая этот показатель почти в 2 раза.

Таблица 4.

Влияние защитно-стимулирующих составов на выход водорастворимых веществ из тканей семян ели и сосны

Вариант обработки	Однократная обработка		Двукратная обработка	
	ppm/г сырой массы	%	ppm/г сырой массы	%
Ель				
Контроль	34,13±0,06	100	25,46±0,09	100
Раёк	30,33±0,12	89	14,13±0,10	55
Раёк + Экосил Плюс	28,93±0,12	85	14,86±0,09	58
Раёк + Гидрогумат	19,73±0,06	58	10,93±0,07	43
Раёк + Наноплант	25,53±0,08	75	12,93±0,07	51
Титул Дуо	31,39±0,08	92	11,33±0,06	45
Титул Дуо + Экосил Плюс	22,33±0,12	65	11,13±0,04	44
Титул Дуо + Гидрогумат	23,99±0,08	70	13,13±0,09	52
Титул Дуо + Наноплант	30,39±0,08	89	10,73±0,06	42
Сосна				
Контроль	10,59±0,08	100	9,33±0,03	100
Раёк	18,13±0,06	171	5,53±0,08	60
Раёк + Экосил Плюс	14,79±0,08	140	6,53±0,07	70
Раёк + Гидрогумат	17,19±0,03	162	5,33±0,09	57
Раёк + Наноплант	15,73±0,03	148	5,73±0,06	61
Титул Дуо	17,73±0,06	167	4,73±0,05	51
Титул Дуо + Экосил Плюс	16,19±0,13	153	3,73±0,04	40
Титул Дуо + Гидрогумат	18,06±0,10	170	4,33±0,03	46
Титул Дуо + Наноплант	16,73±0,03	158	4,60±0,01	49
НСР ₀₀₅	0,18		0,15	

Результаты биохимического анализа содержания продуктов перекисного окисления липидов в растительных тканях и величины выхода водорастворимых веществ отображают достоверное увеличение прочности клеточных мембран семян сосны и ели под влиянием обработок защитно-стимулирующими составами, что свидетельствует о повышении болезнестойчивости растений и подтверждается ранее отмеченным снижением степени инфицирования опытных вариантов. Исходя из вышеизложенного можно сделать вывод, что применение в защитно-стимулирующих

составах регуляторов роста положительно влияет на устойчивость сеянцев к грибной инфекции за счет ингибирующего действия фунгицидов на фитопатогены и иммунизирующего влияния регуляторов роста на растения.

Литература

Баранов О.Ю., Ярмолович В.А., Пантелеев С.В., Падутов В.Е. Молекулярно-генетическая диагностика инвазивных чужеродных видов фитопатогенных грибов лесных древесных пород // Лесное и охотничье хозяйство. – 2012. – № 6. – С.21–29.

Звягинцев В.Б. Глобализация проблем лесной фитопатологии / Проблемы лесной фитопатологии и микологии // Матер. IX Международной конференции, посвященной 90-летию со дня рождения профессора Н.И. Федорова. – 2015. – С. 89–90.

Малашевич Д.Г., Дашкевич Е.А. Лесное хозяйство республики Беларусь: современное состояние и стратегические направления // Актуальные проблемы лесного комплекса. – 2016. – № 46. – С. 31–35.

Ярмолович В.А., Баранов О.Ю., Пантелеев С.В., Дишук Н.Г., Азовская Н.О. Рекомендации по защите посадочного материала в лесных питомниках от наиболее распространенных болезней // Труды БГТУ. – 2016. – № 1. – С.187–190.

THE APPLICATION OF GROWTH REGULATORS IN FOREST TREE NURSERIES TO INCREASE THE RESISTANCE OF SEEDLINGS OF CONIFEROUS ROCKS TO CONIFERS TO FUNGAL PATHOGENS

V.P. Shukanov, L.A. Karytsko, E.V. Melnikova, S.N. Polyanskaya

V.F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of NAS of Belarus, Minsk, Belarus,
patphysio@mail.ru

Abstract. It was revealed that the use of protective-stimulating compositions of fungicides and growth regulating preparations (Ecosil Plus, Hydrohumate, Nanoplant) stimulates to reduce the percentage of infected seedlings of pine and spruce 1.5 times after the first treatment and 2-2.3 times for re-processing. The disease resistance of planting material is enhanced by the inhibitory effect of fungicides on phytopathogens and the immunizing effect of growth regulators on plants.

Keywords: *pine and spruce seedlings, disease resistance, growth regulators, fungicides*

ВЛИЯНИЕ ГРИБА АРБУСКУЛЯРНОЙ МИКОРИЗЫ *RHIZOPHAGUS IRREGULARIS* НА РАЗВИТИЕ ЛЮЦЕРНЫ ХМЕЛЕВИДНОЙ ПРИ ДЕФИЦИТЕ ФОСФОРНОГО ПИТАНИЯ

А.П. Юрков^{1,2,3}, А.А. Крюков¹, А.О. Горбунова^{1,2}, Л.М. Якоби¹, Н.И. Воробьев¹, М.Ф. Шишова²

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия, yurkovandrey@yandex.ru

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

³Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Российский государственный гидрометеорологический университет, Санкт-Петербург, Россия

Аннотация. Исследование посвящено изучению механизмов, контролирующих симбиотическую эффективность арбускулярной микоризы (АМ). Выявлены основные 4 фазы развития АМ-симбиоза. Показаны взаимосвязи развития АМ и скорости поступления фосфора в растения за счет АМ с параметрами фотосинтеза сильно микотрофной линии MIS-1 люцерны хмелевидной в условиях низкого уровня доступного для питания растений фосфора в субстрате.

Ключевые слова: арбускулярная микориза, люцерна хмелевидная, *Rhizophagus irregularis*, дефицит фосфора

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-840-843

Арбускулярная микориза (АМ) – самый распространенный симбиоз в наземных экосистемах, повсеместно распространенный в зоне тайги и встречающийся как во всех природных зонах России от полярной пустыни до субтропических лесов, так и в регионах с высотной поясностью вплоть до альпийских лугов. Его значимость для природных экосистем трудно переоценить. АМ играет важную роль в развитии растений, способствуя усилению их роста посредством улучшения минерального питания (особенно фосфорного). В связи с этим выявление особенностей развития эффективного АМ-симбиоза представляет собой актуальную и еще не до конца решенную задачу.

В настоящем исследовании проведен анализ основных параметров взаимодействия сильно микотрофного растения – линии MIS-1 люцерны хмелевидной (*Medicago lupulina*) со штаммом RCAM00320 АМ-гриба *Rhizophagus irregularis*, идентифицированным авторами в 2018 г [Крюков, Юрков, 2018]. Оценивали: 1) фазу развития АМ (φ°), характеризующую степень развития симбиотических структур АМ-гриба в коре корня растения-хозяина; 2) скорость притока фосфора в растение за счет АМ (I_p), характеризующую симбиотическую эффективность АМ (здесь – амплитуду симбиотического взаимодействия партнеров симбиоза); 3) содержание хлорофиллов “a” и “b” (Chl-a и Chl-b), в качестве ключевых параметров фотосинтетической активности растения-хозяина. Вегетационный эксперимент проведен по схеме Юркова с соавт. [Юрков и др., 2015]. Проведены: учет веса растений, содержания фосфора по методу Труога-Мейера после озоления материала в смеси серной и хлорной кислот по Гинсбург и Щегловой (1975); анализ содержания Chl-a и Chl-b методом спектрометрии в пробах листьев, экстрагированных 90% ацетоном по методу Джеффри и Хамфри (1975); определение концентрации растворимых белков в осадке ацетоновых

экстрактов по методу Брэдфорд (1976) спектрометрически с использованием в качестве градуировочного белка – яичного альбумина (поглощение на $\varphi = 695$ нм) и оценка микоризации с применением метода мацерации и окрашивания корней по Филипс и Хейман (1970), методом световой микроскопии по Травло с соавт. (1986) и расчета параметров микоризации [Воробьев и др., 2016]. Подробно методики описаны в работе Юрков с соавт. [Юрков и др., 2010].

Выявлено 4 фазы развития АМ: I фаза – $\varphi = 0-90^\circ$, в корнях растений присутствует только мицелий; II фаза – $\varphi = 90-180^\circ$, в корнях растений присутствует мицелий и арбускулы; III фаза – $\varphi = 180-270^\circ$, в корнях растений присутствуют мицелий, арбускулы и везикулы; IV фаза – $\varphi = 270-360^\circ$, в корнях растений присутствует мицелий и везикулы, арбускулы отсутствуют (Таблица), поэтому φ° рассчитана по формуле:

$$\varphi^\circ = \frac{90^\circ \cdot a + 180^\circ \cdot b + 270^\circ \cdot c + 360^\circ \cdot d}{a + b + c + d}, \quad (1)$$

где a , b , c и d – число полей зрения с I, II, III и IV фазой развития АМ в корне, соответственно. В качестве амплитуды симбиотического взаимодействия “гриб-растение” рассчитана прибавка содержания фосфора в растениях с АМ в заданный промежуток времени ($t_2 - t_1$) за вычетом содержания в растениях без АМ (I_p) – скорость притока фосфора в растение за счет АМ в период времени:

$$I_p = \frac{[P_2(+AM) - P_1(+AM)] - [P_2(-AM) - P_1(-AM)]}{t_2 - t_1}, \quad (2)$$

где $P_1(+AM)$, $P_2(+AM)$ – содержание фосфора в надземных частях растений с микоризой в момент времени t_1 и t_2 , соответственно (мг P_2O_5 /сут); $P_1(-AM)$, $P_2(-AM)$ – содержание фосфора в растениях без АМ в момент времени t_1 и t_2 , соответственно (мг P_2O_5 /сут). Для удобства работы с малыми числами проведено логарифмирование:

$$r_p = \ln(I_p \cdot 10^4). \quad (3)$$

Расчетными формулами для содержания хлорофиллов служили:

$$C_{Chl_a} = \frac{(11,93 \cdot (E_{663} - E_{750}) - 1,93 \cdot (E_{646} - E_{750})) \cdot V_{ucx}}{P}, \quad (4)$$

где C_{Chl_a} – содержание хлорофилла “а” в листовых пластинах (мкг/мл); E_{663} , E_{750} и E_{646} – значения поглощения экстракта в отн. ед. спектрофотометра СФ-26 (ЛОМО, Ленинград) на длинах волн $\square = 663, 750$ и 646 нм, соответственно; V_{ucx} – исходный объем экстракта в мл; P – разбавление.

$$C_{Chl_b} = \frac{(20,36 \cdot (E_{646} - E_{750}) - 5,5 \cdot (E_{663} - E_{750})) \cdot V_{ucx}}{P}, \quad (5)$$

где C_{Chl_b} – содержание хлорофилла “b” в листовых пластинах (мкг/мл). Затем рассчитывали относительное содержание хлорофиллов в пересчете на содержание белка.

Оценка φ° проведена на 5 ключевых этапах развития растения-хозяина: 1) на 14 сут от посадки и инокуляции (фаза развития растения – 1 настоящий лист); 2) на 21 сут (фаза развития растения – 2 настоящий лист); 3) на 28 сут (фаза развития растения – стеблевание); 4) на 35 сут (фаза развития растения – ветвление и бутонизация растений с АМ с задержкой развития растений без АМ в фазе стеблевания); 5) на 88 сут (заключительная фаза развития растения – плодоношение, опадание листьев). Измерение остальных параметров – в те же сроки кроме последнего, т.к. на 88 сут значения содержания хлорофиллов не корректны вследствие отмирания листьев, как и содержание фосфора, причем для расчета скорости притока последнего (I_p) необходим был бы еще более поздний срок учета для осреднения величины амплитуды

взаимодействия на последний срок. Биологическая повторность составила 8 растений. Достоверность различий между средними значениями оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента [Лакин, 1990].

Таблица.

Показатели развития АМ (φ°), интенсивности поступления фосфора за счет АМ (r_p) и содержания хлорофиллов а и б в различные стадии развития люцерны хмелевидной в условиях дефицита фосфорного питания

Срок, сут от посадки и инокуляции	№ фазы АМ	φ°	r_p	Содержание Chl-a в пересчете на белок, %		Содержание Chl-b в пересчете на белок, %	
				-АМ	+АМ	-АМ	+АМ
14	I	75,8	4,05	2,89	3,03	2,15	1,94
21	II	90,1	4,70	3,32	4,17*	1,46	1,25
28	II	113,0	5,64	2,08	3,83*	0,81	1,37*
35	III	232,1	6,04	4,18	7,44*	1,15	1,82*
88	IV	318,6	-	-	-	-	-

Примечание: “-АМ” и “+АМ” – варианты без инокуляции и с инокуляцией АМ-грибом. Наблюдался достоверный ($P < 0,05$) прирост фазы развития (φ°) и интенсивности поступления фосфора (r_p) за счет АМ в каждый последующий срок от посадки; 4,17* – значения достоверно ($P < 0,05$) выше в варианте с АМ в сравнении с вариантом без АМ.

Результаты показали активную смену фаз развития АМ в процессе онтогенеза сильно микотрофной линии MIS-1 *M. lupulina*. В условиях низкого уровня доступного для питания растений фосфора в почве развитие АМ проходило через все фазы развития, включая четвертую, предполагающую существенное снижение развития арбускул против значительного роста числа везикул при равномерном росте интенсивности поступления фосфора в растение за счет АМ (r_p). Фаза развития растения-хозяина при инокуляции АМ-грибом и при отсутствии инокуляции не различалась в 1-й срок учета – 14 сут от посадки – фаза развития 1-го настоящего листа. Однако наблюдалось ускорение роста АМ-растений, начиная с 21-х сут от посадки (у АМ-растений – фаза развитого 2-го настоящего листа, у растений без АМ – фаза начала развития 2-го настоящего листа). К этому сроку зафиксирован достоверный ($P < 0,05$) отклик на микоризацию по содержанию Chl-a. На 28-е сут от посадки наблюдался переход растений без АМ в фазу стеблевания и фаза развитого стеблевания у растений с АМ. К этому сроку выявлен достоверный ($P < 0,05$) отклик на микоризацию по содержанию Chl-b. Таким образом, АМ положительно влияла на рост, развитие и фотосинтез *M. lupulina*. В результате развития эффективного симбиоза ускорение фазы развития растений наблюдалось и на 35-е сут от посадки: растения с АМ перешли в фазу ветвления и бутонизации, а растения без АМ находились в фазе развитого стеблевания. К 88-м сут от посадки фаза растений с АМ и без АМ совпала и соответствовала фазе плодоношения с образованием зрелых плодов. При этом урожайность семян у растений с АМ и растений без АМ существенно различалась – вес зрелых семян с одного растения с АМ был выше такового с растения без АМ в 7,2 раза. Это свидетельствует, что эффективность АМ сохранялась на протяжении всего цикла развития люцерны хмелевидной, включая 4 фазу развития АМ, на которой обилие арбускул в корнях значительно снижено в отличие от активной 3-й фазы АМ. Согласно общим представлениям о механизмах формирования эффективной АМ предполагается, что основной поток симбиотрофного фосфора поступает в растение-хозяина через арбускулы, которые, тем самым, являются основными симбиотическими структурами [Smith, Read, 2008]. Однако полученные на сильно микотрофной линии MIS-1 данные о наличии симбиотической эффективности в более позднюю фазу активного развития

везикул и мицелия свидетельствуют в пользу наличия иных способов поступления симбиотрофного фосфора в АМ-растения. Выдвигается гипотеза о том, что в заключительную 4 фазу развития АМ (развитие мицелия и везикул) основное поступление фосфора в растение происходит не через арбускулы, а иными путями, среди которых можно предполагать следующие: 1) транспорт через межклеточные внутрикорневые гифы минерального фосфора; 2) поступление фосфора в составе фрагментов лизировавшихся грибных структур (везикул, арбускул и мицелия) внутри растений.

Работа поддержана грантами СПбГУ №1.37.534.2016, РФФИ-а №18-016-00220, РФФИ-офи м №15-29-02753, РФФИ №16-16-00118, государственным заданием 0664-2015-0011. Часть работы выполнена на оборудовании ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» ФГБНУ ВНИИСХМ и Ресурсного центра СПбГУ «Развитие молекулярных и клеточных технологий».

Литература

Воробьев Н.И., Юрков А.П., Проворов Н.А. Свидетельство №2016612112 от 12.02.2016 о регистрации программы ЭВМ "Программа вычисления индексов микоризации корней растений". – М.: Федеральная служба по интеллектуальной собственности. – 2016.

Крюков А.А., Юрков А.П. Оптимизация процедуры молекулярно-генетической идентификации грибов арбускулярной микоризы в симбиотическую фазу на примере двух близкородственных штаммов // Микология и фитопатология. – 2018. – Т. 52, №1. – С. 38–48.

Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высш. шк., 1990. – 352 с.

Юрков А.П., Шишова М.Ф., Семенов Д.Г. Особенности развития люцерны хмелевидной с эндомикоризным грибом. – Саарбрюккен: Изд-во LAP, 2010. – 215 с.

Юрков А.П., Якоби Л.М., Гапеева Н.Е., Степанова Г.В., Шишова М.Ф. Развитие арбускулярной микоризы у сильно микотрофного растения-хозяина – люцерны хмелевидной (*Medicago lupulina* L.) // Онтогенез. – 2015. – Т. 46, № 5. – С. 313–326.

Smith S.E., Read D.J. Mycorrhizal symbiosis. 3rd edn. – London: Academic Press, 2008. – 803 p.

THE EFFECT OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGUS *RHIZOPHAGUS IRREGULARIS* ON THE DEVELOPMENT OF BLACK MEDICK UNDER PHOSPHORUS DEFICIENCY CONDITIONS

A.P. Yurkov^{1,2,3}, A.A. Kryukov¹, A.O. Gorbunova^{1,2}, L.M. Jacobi¹, N.I. Vorobiev¹, M.F. Shishova²

¹All-Russian Research Institute for Agricultural Microbiology, St. Petersburg, Russia, yurkovandrey@yandex.ru

²St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

³Russian State Hydrometeorological University, St. Petersburg, Russia

Abstract. This research is devoted to the study of the mechanisms controlling the symbiotic efficiency of arbuscular mycorrhizae (AM). The main 4 phases of AM symbiosis development have been revealed. The relationship between the development of AM and the rate of phosphorus uptake into plants due to AM with photosynthesis parameters of a highly mycotrophic MIS-1 line of black medick is shown under conditions of a low available phosphorus level.

Keywords: *arbuscular mycorrhiza, Medicago lupulina, Rhizophagus irregularis, phosphorus deficiency*

АДАПТАЦИЯ К ВОЗДЕЙСТВИЮ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ НА УРОВНЕ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ H^+ -АТФазы ХЛОРОПЛАСТОВ

М.М. Якубова¹, З.М. Хамрабаева²

¹Центр инновационной биологии и медицины Академии наук Республики Таджикистан, Душанбе, Таджикистан, mukhiba@mail.ru

²Таджикский национальный университет, Душанбе, Таджикистан, zuhrah62@mail.ru

Аннотация. Исследована активность фермента H^+ - АТФазы хлоропластов исходной и мутантных форм хлопчатника и арабидопсиса, различающихся активностью и структурной организацией фотосинтетического аппарата. Выявлены его функциональные особенности в мембраносвязанном и солюбилизованном состояниях при воздействии различных факторов. Этанол в качестве модификатора мембран оказывал активирующее действие на АТФазную активность растворимого CF_1 как у хлопчатника, так и у арабидопсиса.

Ключевые слова: адаптация, стресс, H^+ -АТФаза, хлоропласт, этанол

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-844-846

В последние годы вопросы адаптации живых организмов к окружающей среде к изменению климата, воздействию антропогенного и техногенного факторов привлекают во всем мире повышенное внимание ученых и специалистов разных отраслей и направлений науки.

Раскрытие общих свойств биологических систем и объяснение причин их многообразия, выявление связей между их строением и условиями окружающей среды являются основополагающими для изучения механизмов адаптации. Теоретически любая биологическая система на уровне молекулярной организации, клетки, ткани, органа, организма, популяции, вида, биоценоза и экосистем может стать мишенью для воздействия тех или иных факторов. Поскольку значение разных классов и видов молекул для поддержания гомеостаза организма не одинаково, последствия этого воздействия различны. Механизмы биохимической адаптации могут проявляться как приспособительный защитный механизм, самообновление (механизм повышения чувствительности к внешним воздействиям), связь между самообновлением и адаптационной пластичностью, механизмы репарации структурных повреждений как буферная система, являющаяся приспособительным и защитным процессом [Якубова, 2011].

Изучение H^+ -АТФазы хлоропластов хлопчатника и арабидопсиса позволяет раскрыть общие свойства живых организмов и выяснить причины их многообразия и адаптации к воздействию стрессовых факторов на уровне их молекулярной организации. Известно, что H^+ - АТФаза хлоропластов является составной частью энзиматической системы, обеспечивающей аккумуляцию и использование энергии в ходе физиолого-биохимических процессов в организме [Junge, Nelson, 2015]. Исследование активности данного фермента и выявление его функциональных особенностей представляют еще больший интерес в связи с изучением мутантных форм растений, которые позволяет исследовать механизм действия генетических факторов на функциональную активность хлоропластов, а также выявить лимитирующие звенья в проявлении фотосинтетической активности. Исходя из этого, изучение АТФазы сопрягающего фактора CF_1 , выполняющего одну из ключевых функций в заключительном этапе энергетического метаболизма клетки, а также в процессе реализации энергии в метаболических процессах в хлоропластах растений позволит выявить воздействие того или иного фактора на отдельные субклеточные комплексы

(ферментные системы) на молекулярном уровне. Из хлоропластов хлопчатника и арабидопсиса нами впервые был выделен очищенный сопрягающий фактор CF₁, изучена его АТФазная активность и влияние на неё различных факторов. Были подобраны оптимальные условия функциональной активности мембраносвязанной АТФазы хлоропластов изученных растений: температура 37 °С, концентрация хлорофилла 1 мг/мл, соотношение компонентов субстрата Mg к АТФ равное единице, глутатион в концентрации 20 мМ. Установлено, что АТФазная активность хлоропластов у исследованных объектов была Ca²⁺-зависимой, а активация этанолом индуцировала его Mg – специфичность.

Было исследовано влияние этанола концентрацией от 5 до 30%. Значительный стимулирующий эффект оказывал этанол в концентрации 20-25%, выше которой начинался процесс ингибирования АТФазной активности. По абсолютным значениям активность фермента у мутанта Дуплекс хлопчатника значительно превосходила этот показатель у исходного сорта как в мембраносвязанном, так и в солюбилизованном состояниях. Различия АТФазной активности электрофоретически чистых препаратов CF₁, изолированных из двух форм хлопчатника, возможно, объясняются микрогетерогенностью этих форм CF₁.

Выявлена важная закономерность, указывающая на то, что более высокая активность фермента у растений, обладающих повышенной функциональной активностью хлоропластов, а также продуктивностью, связана не с изменением структуры Н⁺-АТФазы, а с особенностями мембранной организации фотосинтетического аппарата, в частности, изменением количественного состава основных полипептидов, а также белков, относящихся к светособирающему комплексу. Нами был установлен важный факт, свидетельствующий о том, что ответная реакция CF₁ в мембраносвязанном и растворимом состояниях в результате воздействия этанола, как модификатора мембраны на уровне белок-липидных взаимодействий у растений, относящихся к различным таксономическим группам (хлопчатник *Gossypium hirsutum* L. и арабидопсис *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.) выражается по-разному.

Проведение сравнительного исследования АТФазной активности CF₁ хлоропластов арабидопсиса в связанном с мембраной и растворимом состояниях показало, что в составе мембраны тилакоидов активность Mg-АТФазы в присутствии этанола у мутанта 58/15 в два раза превосходила таковую у двух других форм арабидопсиса. Сравнительное исследование АТФазной активности изолированного сопрягающего фактора 1 хлоропластов арабидопсиса показало, что эффективность действия спирта одинакова у всех форм арабидопсиса.

Хлоропласты растений, различающиеся по активности ФСА, характеризуются различным уровнем энергообмена и ответной реакцией на воздействие различных факторов, а качественный состав белков тилакоидной мембраны и соотношение ее компонентов обусловлено генетическими особенностями растения [Якубова, Хамрабаева, 2006].

Важно отметить, что проведенные исследования позволяют использовать АТФазную активность CF₁ тилакоидных мембран в качестве биохимического инструмента, определяющего потенциальные возможности хлоропластов для выявления адаптационных механизмов при отборе продуктивных форм растений.

Литература

Якубова М.М. Экологические аспекты биохимической адаптации // Известия Академии наук Республики Таджикистан. Отделение биологических и медицинских наук. – 2011. – № 1 (174). – С. 77–88.

Якубова М.М., Хамрабаева З.М. Особенности энерготрансформирующей системы хлоропластов хлопчатника и арабидопсиса // Известия Академии наук Республики Таджикистан. Отделение биологических и медицинских наук. – 2006. – № 2 (155). – С. 67–78.

Junge W., Nelson N. ATP synthase // Annu Rev Biochem. – 2015. – № 84. – P. 631–657.

ADAPTATION TO THE IMPACT OF STRESS FACTORS AT THE LEVEL OF MOLECULAR ORGANIZATION OF THE CHLOROPLASTS H^+ -ATPASE

M.M. Yakubova¹, Z.M. Khamrabaeva²

¹Centre of innovative biology and medicine of Academy Sciences of the Republic of Tajikistan, Dushanbe, Tajikistan, mukhiba@mail.ru

²Tajik national university, Dushanbe, Tajikistan, zuhrah62@mail.ru

Abstract. The activity of the enzyme H^+ - ATPase of chloroplasts of the initial and mutant forms of cotton and arabidopsis, differing in the activity and structural organization of the photosynthetic apparatus, was studied. Its functional features in membrane-bound and solubilized states are revealed under the influence of various factors. Ethanol as a membrane modifier exerted an activating effect on the ATPase activity of soluble CF_1 in both cotton and arabidopsis.

Keywords: *adaptation, stress, H^+ -ATPase, chloroplast, ethanol*

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ЗАЩИТНОГО ОТВЕТА РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ К ГРИБУ *DRECHSLERA SOROKINIANA* ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ САЛИЦИЛОВОЙ И ЖАСМОНОВОЙ КИСЛОТ

Л.Г. Яруллина^{1,2}, Р.Ф. Исаев³, Л.М. Яруллина², О.В. Цветков²

¹Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия, yarullina@bk.ru

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный университет», Уфа, Россия, zv347@yandex.ru

³Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Башкирский государственный аграрный университет», Уфа, Россия, elmira.nailevna.karimova@mail.ru

Аннотация. Изучали воздействие предпосевной обработки семян салициловой (СК) и жасмоновой (ЖК) кислотами на устойчивость листьев пшеницы к инфицированию *Drechslera sorokiniana*. Обработка СК и ЖК способствовала снижению степени пораженности листьев патогеном. Повышение устойчивости пшеницы к *D. sorokiniana* под влиянием сигнальных молекул было обусловлено накоплением пероксида водорода и активацией оксалаксоксидазы (ОхО). ЖК оказывала более интенсивное индуцирующее действие на активность ОхО и на содержание H₂O₂ по сравнению с СК.

Ключевые слова: пшеница, корневая гниль, салициловая кислота, жасмоновая кислота, индуцированная устойчивость

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-847-849

В большинстве регионов России корневую гниль вызывают в основном грибы из родов *Fusarium* и *Drechslera* (вид *Bipolaris sorokiniana*) [Чулкина, 1985]. Гриб *D. sorokiniana* является типичным некротрофом, паразитирует на подземных и надземных органах растений, однако, он способен поражать листья и семена. Патогенные свойства гриба обусловлены способностью секретировать гидролитические ферменты и токсины [Арога et al., 2002]. Поражение растений возбудителями корневых гнилей негативно отражается на количественных и качественных характеристиках урожая сельскохозяйственных культур.

Развитие устойчивости растений к возбудителя грибных болезней осуществляется в результате включения многих неспецифических защитных реакций, таких как генерация АФК, синтез защитных белков [Креславский и др., 2012]. Одна из форм АФК, перекись водорода, опосредует лигнификацию клеточной стенки, является сигнальной молекулой в запуске каскада защитных реакций растений, а в высокой концентрации может подавлять рост патогенов [Makandar et al., 2010]. Салициловая кислота и жасмоновая кислота являются сигнальными молекулами, механизм защитного действия которых связан с индукцией генерации активных форм кислорода в растительных тканях [Яруллина и др., 2016]. Эти вещества сами, не обладая антимикробной активностью, стимулируют защитные реакции клеток растений посредством активации синтеза ряда связанных с патогенезом белков. Учитывая широкую распространенность и высокую пластичность гриба *D. sorokiniana* весьма важное теоретическое и практическое значение имеют исследования защитной роли СК и ЖК к такому своеобразному патогену.

Исследования проводили на растениях пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Башкирская 24. Семена пшеницы перед посевом стерилизовали, часть из них обрабатывали салициловой и жасмоновой кислотами в концентрации 10^{-5} М и 10^{-7} М соответственно [Шакирова, 2001]. Суспензию конидий *D. sorokiniana* наносили на отрезки листьев 7-суточных растений, помещенные во влажную камеру. Степень поражения определяли по площади пораженных участков листьев через 4 сут после инокуляции [Дементьева, 1985].

Для выделения оксалаоксидазы листья пшеницы растирали в 0,1 М сукцинатном буфере рН 3,8 (1:3). Гомогенат центрифугировали (3000 об/мин, 20 мин), в супернатанте оценивали активность оксалаоксидазы спектрофотометрическим микрометодом [Vuletić, Šukalovich, 2000]. Для определения содержания H_2O_2 использовали краситель ксиленоловый оранжевый [Bindschedler et al., 2001].

Анализ развития возбудителя корневой гнили *D. sorokiniana* на листьях пшеницы показал, что в контроле площадь пораженных участков листьев составляла $23,8 \pm 1,7$ мм². У растений, предобработанных СК и ЖК, – $19,1 \pm 1,4$ мм² и $16,3 \pm 1,2$ мм² соответственно. Таким образом, предобработка растений пшеницы исследуемыми индукторами устойчивости снижала развитие на листьях гриба *D. sorokiniana* в среднем на 25%.

Биохимический анализ выявил, что предобработка растений СК повышала уровень H_2O_2 в листьях в среднем на 25% относительно контроля, предобработка ЖК – в среднем на 35% (таблица). Инфицирование листьев *D. sorokiniana* вызывало повышение в них уровня H_2O_2 , что обычно происходит при воздействии патогенов на растения. При этом в листьях предобработанных ЖК растений, уровень накопления H_2O_2 был выше, чем в варианте с обработкой СК.

Таблица.

Содержание H_2O_2 в листьях пшеницы сорта Жница при обработке СК и ЖК и заражении *D. sorokiniana*, мкМ/г сырого веса

Вариант	Время после инокуляции, ч		
	24	48	72
контроль	6.3 ± 0.02	7.6 ± 0.03	6.9 ± 0.04
инфицирование	10.7 ± 0.91	9.8 ± 0.98	8.1 ± 0.84
СК	8,4 ± 0.03	10,1 ± 0.05	8,4 ± 0.02
СК + инфицирование	13,1 ± 0.98	15,4 ± 0.96	13,8 ± 0.92
ЖК	7.9 ± 0.02	10.7 ± 0.84	8,7 ± 0.89
ЖК + инфицирование	14.6 ± 0.86	18.1 ± 0.93	14.6 ± 0.97

Изменение уровня H_2O_2 в растительных тканях происходит в результате многих метаболических процессов, в том числе и под влиянием ферментов про-/антиоксидантной системы. Наибольший вклад в накопление активных форм кислорода связан с активацией различных форм оксидаз, среди которых локализованная в клеточной стенке и плазмалемме – оксалаоксидаза [Caliskan, Cuming, 1998].

Результаты нашего исследования показали, что предобработка растений ЖК повышала активность оксалаоксидазы в среднем в 2-3 раза, предобработка СК – в 1,5-2 раза. Причем, в варианте опыта с использованием ЖК индукция активности фермента была ярко выражена уже через 24 ч от начала опыта и сохранялась на протяжении 48 ч.

Инфицирование листьев индуцировало активность оксалаоксидазы, что является характерной ответной реакцией растений. Причем, наибольшая активность фермента наблюдалась в ранние сроки опыта (24 ч после инокуляции). Интересно, что при инфицировании ЖК также оказывала более значительный стимулирующий эффект на активность оксалаоксидазы по сравнению с СК.

Таким образом, в ответ на инфицирование листьев пшеницы грибом *D. sorokiniana* происходит активация оксалаоксидазы и накопление H_2O_2 в растительных

тканях. СК и ЖК регулируют эти процессы, поэтому предобработка растений исследуемыми соединениями повышает устойчивость пшеницы к патогену. Причем, использование ЖК является более эффективным методом формирования защитного ответа в растениях пшеницы к некротрофному патогену *D. sorokiniana* по сравнению с СК. Это обусловлено тем, что под влиянием ЖК происходит интенсивная активация оксалатаксидазы. Повышение активности ОхО приводит к быстрому накоплению H₂O₂, модификации клеточной стенки посредством лигнификации, запуску каскада защитных реакций растений, что приводит к подавлению роста и развития патогена.

Литература

- Дементьева М.И. Фитопатология. – М.: Агропромиздат, 1985. – 397 с.
- Креславский В.Д., Лось Д.А., Аллахвердиев С.И., Кузнецов Вл. В. Сигнальная роль активных форм кислорода при стрессе у растений // Физиология растений. – 2012. – Т. 59, № 2. – С. 163–178.
- Чулкина В.А. Корневые гнили хлебных злаков. – Новосибирск: Наука, 1985. – 189 с.
- Шакирова Ф.М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам ее регуляция. – Уфа: Гилем, 2001. – 160 с.
- Яруллина Л.Г., Касимова Р.И., Максимов И.В. Сигнальные молекулы в регуляции защитного ответа растений пшеницы на инфицирование *Septoria nodorum* // Прикладная биохимия и микробиология. – 2016. – Т. 5, № 5. – С. 531–537.
- Apoga D., Akesson H., Jansson H.-B., Odham G. Relationship between production of the phytotoxin prehelminthosporol and virulence in isolates of the plant pathogenic fungus *Bipolaris sorokiniana* // Eur. J. Plant Pathol. – 2002. – V. 108. – P. 519–526.
- Bindschedler L.V., Minibayeva F., Gardner S.L., Gerrish C., Davies D.R., Bolwell G.P. Early signalling events in the apoplastic oxidative burst in suspension cultured French bean cells involve cAMP and Ca²⁺ // New Phytologist. – 2001. – V. 151. – P. 185–194.
- Caliskan M., Cuming A. C. Spatial specificity of H₂O₂-generating oxalate oxidase gene expression during wheat embryo germination // Plant. J. – 1998. – V. 15. – P. 165–171.
- Makandar R., Nalam V., Chaturvedi R., Jeannotte R., Sparks A.A., Shah J. Involvement of salicylate and jasmonate signaling pathways in arabidopsis interaction with *Fusarium graminearum* // Mol. Plant-Microbe Interaction. – 2010. – V. 23, No. 7. – P. 861–870.
- Vuletić M., Šukalovich V.H. Characterization of cell wall oxalate oxidase from maize roots // Plant Sci. – 2000. – V. 157. – P. 257–263.

FEATURES OF FORMATION OF THE PROTECTIVE RESPONSE OF WHEAT PLANTS TO THE FUNGUS *DRECHSLERA SOROKINIANA* UNDER THE INFLUENCE OF SALICYLIC AND JASMONIC ACIDS

L.G. Yarullina^{1,2}, R.F. Isaev³, L.M. Yarullina², V.O. Tsvetkov²

¹Institute of Biochemistry and Genetics - Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia, yarullina@bk.ru

²Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Bashkir State University», Ufa, Russia, zv347@yandex.ru

³Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education «Bashkir State Agrarian University», Ufa, Russia, elmira.nailevna.karimova@mail.ru

Abstract. The effect of presowing treatment of seeds with salicylic (SA) and Jasmine (JA) acids on the resistance of wheat leaves to infection with *Drechslera sorokiniana* was studied. Treatment with SA and JA contributed to the decline in the degree of infestation of the leaves by the pathogen. Increasing the resistance of wheat to *D. sorokiniana* under the influence of signal molecules was due to the accumulation of hydrogen peroxide and activation of oxalate oxidase (OxO). The JA had a more intense inducing effect on the activity of OxO and on the content of H₂O₂ in comparison with SA.

Keywords: wheat, root rot, salicylic acid, jasmonic acid, induced resistance

РОЛЬ ЖАСМОНАТА И ОКСИДА АЗОТА (NO) В ИНДУЦИРОВАНИИ ЗАКРЫВАНИЯ УСТЬИЦ У РАСТЕНИЙ *ARABIDOPSIS THALIANA*

Т.О. Ястреб¹, Ю.Е. Колупаев^{1,2}, А.И. Кокорев¹, А.П. Дмитриев³

¹Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева, Харьков, Украина, plant_biology@ukr.net

²Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина, Харьков, Украина

³Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины, Киев, Украина, dmitriev.ap@gmail.com

Аннотация. Исследовали влияние метилжасмоната (МЖ), доноров и антагонистов оксида азота (NO) на состояние устьиц у растений *Arabidopsis thaliana* дикого типа (*Col-0*) и мутантов, дефектных по жасмонатному сигналингу (*jin1* и *coil*). Обработка эпидермиса листьев растворами МЖ вызывала уменьшение числа открытых устьиц и размеров устьичной апертуры только у растений дикого типа. У мутантов *jin1* и *coil* при действии МЖ эти показатели практически не изменялись. Влияние МЖ на состояние устьиц у растений *Col-0* практически полностью устранялось предварительной обработкой эпидермиса скавенджером оксида азота РТЮ и частично воздействием ингибиторов NO-синтазы животных (L-NAME) и нитратредуктазы (вольфрамата натрия). Доноры оксида азота (нитропруссид натрия, L-аргинин и нитрит натрия) уменьшали количество открытых устьиц и размер устьичной щели у растений всех исследуемых генотипов. Таким образом, NO задействован в реализации физиологических эффектов МЖ, а различные доноры оксида азота могут индуцировать закрытие устьиц независимо от восприятия жасмонатного сигнала.

Ключевые слова: метилжасмонат, оксид азота, устьица, *Arabidopsis thaliana*

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-850-854

В формировании реакции замыкающих клеток на изменение условий окружающей среды задействованы фитогормоны и сигнальные посредники. В этом отношении наиболее изучена роль абсцизовой кислоты (АБК). В последнее десятилетие значительное внимание уделяется и функциям жасмоновой кислоты и ее производных [Munemasa et al., 2011]. Показано, что жасмоновая кислота может влиять на состояние устьиц зависимым и независимым от АБК способами [de Ollas, Dodd, 2016].

Одна из функций оксида азота в стрессовых условиях – участие в регуляции устьичного аппарата растений. Показана его способность вызывать закрытие устьиц [Desikan et al., 2002] и выступать в роли сигнального посредника в реализации действия абсцизовой [Scuffi et al., 2016] и жасмоновой [Liu et al., 2005] кислот на состояние устьичного аппарата листьев. В частности, установлено, что при закрытии устьиц, индуцированном метилжасмонатом (МЖ), оксид азота является одним из промежуточных звеньев сигнальной цепи [Liu et al., 2005].

Целью работы было выяснить участие ферментативных систем, синтезирующих NO, в реализации действия МЖ на состояние устьичного аппарата, а также оценить влияние на него различных источников оксида азота у растений арабидопсиса дикого типа и дефектных по жасмонатному сигналингу.

В экспериментах использовали пятидневные растения *Arabidopsis thaliana* L. дикого типа (*Col-0*) и дефектных по жасмонатному сигналингу (*jin1* и *coil*), которые выращивали в водной культуре на среде Хогланда с модификациями при температуре 24/18°C (день/ночь), освещении 6000 лк и фотопериоде 10 ч [Ястреб и др., 2017]. Устьичную апертуру определяли по методике, описанной Ramirez et al. [2009]. Для достижения эффекта открывания устьиц эпидермис с абаксиальной поверхности розеточных листьев выдерживали в течение 2,5 ч на холодном белом свете (8000 лк) в чашках Петри с 10 мМ раствором KCl, приготовленном на 10 мМ Трис-HCl буфере (pH

6,15) без CO₂. После этого в среду вносили МЖ в конечных концентрациях от 10 до 400 мкМ и через 2,5 ч измеряли устьичную апертуру и процент открытых устьиц. При исследовании влияния антагонистов NO на проявление эффектов МЖ в среду инкубации эпидермиса за 1 ч до внесения МЖ добавляли скавенджер NO 2-phenyl-4,4,5,5-tetramethylimidazoline-1-oxyl-3-oxide (РТЮ – 200 мкМ), ингибитор NO-синтазы животных N^G-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME – 1 мМ) или ингибитор нитратредуктазы (вольфрамат натрия – 200 мкМ).

В отдельной серии экспериментов оценивали влияние на состояние устьичного аппарата потенциальных доноров оксида азота – нитропруссид натрия (НПН), нитрита натрия и L-аргинина в концентрациях от 0,5 до 2 мМ. Экспозиция эпидермиса листьев на среде с добавлением указанных соединений составляла 2,5 ч.

Инкубация эпидермиса розеточных листьев арабидопсиса дикого типа в среде, содержащей МЖ, вызывала уменьшение величины устьичной апертуры, пропорциональное концентрации фитогормона (табл. 1). Максимальный эффект достигался при использовании 200 и 400 мкМ МЖ. Под влиянием этих концентраций уменьшалось и относительное число открытых устьиц (табл. 1).

Таблица 1.

Концентрационная зависимость действия метилжасмоната на состояние устьиц у растений арабидопсиса дикого типа

Концентрация, мкМ	Ширина устьичной апертуры, мкм	Число открытых устьиц, %
Контроль	2,63 ± 0,07	92,4 ± 3,2
10	2,36 ± 0,12	100
50	1,48 ± 0,12	93,0 ± 3,0
200	1,05 ± 0,10	71,3 ± 3,3
400	0,97 ± 0,09	68,2 ± 3,4

У растений генотипов *coil* и *jin1* при обработке МЖ количество открытых устьиц оставалось близким к 100%, достоверно не менялась и величина апертуры устьичной щели (результаты не приведены).

Скавенджер оксида азота РТЮ практически полностью устранял эффект уменьшения апертуры устьиц у МЖ-обработанных растений дикого типа (табл. 2). Этот антагонист NO нивелировал и происходящее под влиянием МЖ уменьшение числа открытых устьиц. Нивелирование проявления эффекта МЖ на величину устьичной апертуры происходило также под влиянием ингибитора NO-синтазы животных (L-NAME) и ингибитора нитратредуктазы (вольфрамата натрия) (табл. 2). Обработка L-NAME частично, а вольфраматом натрия практически полностью снимала влияние МЖ на число открытых устьиц.

Таблица 2.

Действие метилжасмоната и антагонистов NO на устьичный аппарат растений арабидопсиса дикого типа

Вариант	Ширина устьичной апертуры, мкм	Число открытых устьиц, %
Контроль	2,58 ± 0,08	94 ± 2,8
МЖ (200 мкМ)	1,05 ± 0,05	72 ± 2,5
МЖ (200 мкМ) + РТЮ (200 мкМ)	2,41 ± 0,11	91 ± 3,0
МЖ (200 мкМ) + L-NAME (1 мМ)	1,38 ± 0,06	84 ± 2,0
МЖ (200 мкМ) + вольфрамат (200 мкМ)	1,54 ± 0,08	91 ± 2,5

Известна способность экзогенного оксида азота повышать содержание жасмоновой кислоты в клетках растений [Huang et al., 2004]. Показано, что транскрипционный фактор JIN1/MYC2 – один из ключевых компонентов жасмонатного сигналинга [Dombrecht et al., 2007] – участвует и в реализации ряда физиологических (стресс-протекторных) эффектов оксида азота [Ястреб и др., 2017]. Не исключено, что отдельные физиологические реакции NO могут реализовываться с прямым или опосредованным участием жасмоновой кислоты или ее производных. В связи с этим мы сравнили реакции устьиц на действие доноров NO (НПН и нитрита натрия) у растений арабидопсиса дикого типа и дефектных по жасмонатному сигналингу.

Обработка эпидермиса розеточных листьев НПН уменьшала величину устьичной апертуры и число открытых устьиц у растений дикого типа и обоих мутантов, дефектных по жасмонатному сигналингу (табл. 3). Полученные результаты свидетельствуют, что белки JIN1/MYC2 и COI1, задействованные в жасмонатном сигналинге, по-видимому, не причастны к реализации влияния экзогенного NO на состояние устьиц.

Таблица 3.

Влияние доноров оксида азота на состояние устьиц у растений арабидопсиса различных генотипов

Генотип	Контроль		НПН, 0,5 мМ	
	Ширина устьичной щели, мкм	Число открытых устьиц, %	Ширина устьичной щели, мкм	Число открытых устьиц, %
<i>Col-0</i>	2,06±0,04	93±2	1,30±0,05	70±2
<i>jnl1</i>	1,33±0,06	100	0,80±0,02	75±3
<i>coil</i>	2,46±0,06	97±1	1,46±0,04	77±3

В следующей серии экспериментов исследовали влияние обработки эпидермиса розеточных листьев потенциальными естественными источниками NO: L-аргинином и нитритом. Оба соединения в концентрациях 0,5–2,0 мМ вызывали уменьшение устьичной апертуры (табл. 4). При этом эффект нитрита оказался более заметным. L-аргинин и нитрит в концентрациях 1 и 2 мМ вызывали также уменьшение относительного числа открытых устьиц (табл. 4).

Таблица 4.

Концентрационная зависимость влияния L-аргинина и нитрита натрия на состояние устьиц у растений арабидопсиса дикого типа

Вариант	Ширина устьичной щели, мкм	Число открытых устьиц, %
Контроль	2,46 ± 0,08	93 ± 3,0
Аргинин, 0,5 мМ	2,10 ± 0,05	93 ± 3,0
Аргинин, 1 мМ	1,77 ± 0,09	82 ± 2,0
Аргинин, 2 мМ	1,81 ± 0,09	80 ± 2,5
NaNO ₂ , 0,5 мМ	1,67 ± 0,08	85 ± 2,5
NaNO ₂ , 1 мМ	1,43 ± 0,07	78 ± 3,2
NaNO ₂ , 2 мМ	1,41 ± 0,09	78 ± 3,3

Влияние L-аргинина на состояние устьичного аппарата подавлялось ингибитором NO-синтазы животных (L-NAME). В свою очередь, действие нитрита на величину устьичной апертуры и число открытых устьиц нивелировалось предварительной инкубацией эпидермиса в присутствии ингибитора нитратредуктазы (вольфрамата натрия) (результаты не приведены). Полученные результаты свидетельствуют о

возможности закрывания устьиц с участием NO, образующегося различными путями:: при окислении L-аргинина и при восстановлении нитрита.

Таким образом, оксид азота, образующийся, по-видимому, за счет как минимум двух различных механизмов, является необходимым сигнальным посредником в реализации устьичных эффектов МЖ. Образование NO по пути окисления L-аргинина и восстановления нитрата/нитрита может быть критически важным для формирования устьичных реакций, что показано также с использованием молекулярно-генетических методов [He et al., 2013]. При этом нельзя исключить вклад в регуляцию устьичного аппарата и других (минорных) путей синтеза оксида азота, например, реакций, катализируемых нитрит-NO-редуктазой плазматической мембраны, ксантиноксидоредуктазой пероксисом, а также процесса окисления полиаминов с помощью Cu-аминоксидазы [Глянько и др., 2013]. Однако выяснение их возможной роли в образовании NO при реализации физиологических эффектов жасмонатов и других фитогормонов нуждается в проведении дополнительных исследований.

Литература

Глянько А.К. Инициация синтеза оксида азота (NO) в корнях этиолированных проростков гороха (*Pisum sativum* L.) под влиянием N-соединений // Биохимия. – 2013. – Т. 78. – С. 520–526.

Ястреб Т.О., Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В., Дмитриев А.П. Действие донора оксида азота на солеустойчивость растений арабидопсиса дикого типа и мутантов *jin1* // Физиология растений. – 2017. – Т. 64. – С. 142–150.

de Ollas C., Dodd I.C. Physiological impacts of ABA–JA interactions under water-limitation // Plant Mol. Biol. – 2016. – V. 91. – P. 641–650.

Desikan R., Griffiths R., Hancock J., Neill S. A new role for an old enzyme: nitrate reductase-mediated nitric oxide generation is required for abscisic acid-induced stomatal closure in *Arabidopsis thaliana* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2002. – V. 99. – P. 16314–16318.

Dombrecht B., Xue G.P., Sprague S.J., Kirkegaard J.A., Ross J.J., Reid J.B., Fitt G.P., Sewelam N., Schenk P.M., Manners J.M., Kazan K. MYC2 differentially modulates diverse jasmonate-dependent functions in *Arabidopsis* // Plant Cell. – 2007. – V. 19. – P. 2225–2245.

He J.M., Ma X.G., Zhang Y., Sun T.F., Xu F.F., Chen Y.P., Liu X., Yue M., Role and interrelationship of Gα protein, hydrogen peroxide, and nitric oxide in ultraviolet B-induced stomatal closure in *Arabidopsis* leaves // Plant Physiol. – 2013. – V. 161. – P. 1570–1583.

Huang X., Stettmaier K., Michel C., Hutzler P., Mueller M.J., Durner J. Nitric oxide is induced by wounding and influences jasmonic acid signaling in *Arabidopsis thaliana* // Planta. – 2004. – V. 218. – P. 938–946.

Liu X., Shi W., Zhang S., Lou C. Nitric oxide involved in signal transduction of jasmonic acid-induced stomatal closure of *Vicia faba* L. // Chinese Sci. Bull. – 2005. – V. 50 – P. 520–525.

Munemasa S., Mori I.C., Murata Y. Methyl jasmonate signaling and signal crosstalk between methyl jasmonate and abscisic acid in guard cells // Plant Signal. Behav. – 2011. – V. 6. – P. 939–941.

Ramírez V., Coego A., López A., Agorio A., Flors V., Vera P. Drought tolerance in *Arabidopsis* is controlled by the OCP3 disease resistance regulator // Plant J. – 2009. – V. 58. – P. 578–591.

Scuffi D., Lamattina L., Garcia-Mata C. Decoding the interaction between nitric oxide and hydrogen sulfide in stomatal movement // Gasotransmitters in Plants, Signaling and Communication in Plants, L. Lamattina, C. Garcia-Mata (eds.). – Springer International Publishing Switzerland, 2016. – P. 271–288.

ROLE OF JASMONATE AND NITRIC OXIDE- INDUCED OF STOMATA CLOSURE IN *ARABIDOPSIS THALIANA*

T.O. Yastreb¹, Yu. E. Kolupaev^{1,2}, A.I. Kokorev¹, A.P. Dmitriev³

¹Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University, Kharkiv, Ukraine,
plant_biology@ukr.net

²Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, Ukraine

³Institute of cell biology and genetic engineering of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine,
dmitriev.ap@gmail.com

Abstract. The effects of methyl jasmonate (MJ), donors and antagonists of nitric oxide (NO) on stomata of *Arabidopsis thaliana* wild-type (*Col-0*) and mutants defective in jasmonate signaling (*jin1* and *coil*) were studied. Treatment of leaves epidermis with MJ solutions decreased the opened stomata number and the size of stomatal aperture only in wild-type plants. In MJ-treated *jin1* and *coil* mutants these parameters were not practically change. The MJ effects on stomata closure in *Col-0* plants were almost completely eliminated by preliminary epidermis treatment with nitric oxide scavenger PTIO and partly with inhibitors of animal NO-synthase (L-NAME) and nitrate reductase (sodium tungstate). Nitric oxide donors (sodium nitroprusside, L-arginine and sodium nitrite) reduced the number of opened stomata and the size of stomatal aperture. The data obtained suggest that NO is involved in realization of MJ physiological effects and various NO donors could induce the stomatal closure.

Keywords: methyl jasmonate, nitric oxide, stomata, *Arabidopsis thaliana*

SPECIFIC FEATURES OF THE EFFECT PROVIDED BY BIOSTIMULATION WITH EXOGENOUS AMINO ACID PREPARATIONS ON THE PRODUCTIVITY AND PROPERTIES OF SEA BUCKTHORN FRUIT (*HIPPOPHAE* L.)

V.G. Verzhuk¹, A.V. Pavlov¹, S.V. Murashev², M.V. Erastenkova²

¹The N.I. Vavilov Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St. Petersburg, Russia, vverzhuk@mail.ru

²St. Petersburg State Agricultural University, St. Petersburg – Pushkin, Russia, merastenkova@gmail.com

Abstract. In the northwestern agro-ecological region of the country, with its shortened plant growing season, plant resistance to various diseases, early harvests, and problems of their storage, a promising and effective intervention is the use of growth stimulants. To enhance growth, plants were treated with an amino acid preparation (glycine) at dosage rates 20, 40, 60, 80, 100 and 120 mg/l. The reference sample was treated with water. The experimental samples exceeded the reference in mean fruit weight; the greatest increase of fruit weight and dry matter content was observed in the 5th sample (fruit weight: 0.79 g, dry matter content: 10.2%). Sample No. 3 contained the highest amount of sugars, with the preparation's dosage 40 mg/l: 9.56%, which was higher than the reference by 2.44% (sample No. 1). This excess refers to monosaccharides and disaccharides. The content of malic, citric, oxalic and tartaric acids in all experimental samples was higher than in the reference; the best results were shown by sample No. 6, with the dosage 100 mg/l.

Keywords: *amino acid preparation (glycine), sea buckthorn berries, sugars, mono- and disaccharides, acids: malic, citric, oxalic and tartaric*

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-855-857

At present, an important role is assigned to exogenous regulation of plant growth and development, which may increase crop productivity and minimize harvest losses during storage. Bioactive substances provide for targeted regulation of physiological processes in plants and help to mobilize the potential embedded into the crop genome by nature and by breeding, but often unavailable for practical implementation. A promising instrument to shorten plant growing seasons and obtain earlier crop yields with high technological qualities and resistance to various diseases both in the field and during storage is the use of plant growth and development stimulants. They do not threaten to breach the ecological balance in the atmosphere, play a significant role in the resistance-aimed strategy, have high economic efficiency, and make it possible to achieve results that are not attainable by other practices or technologies. Amino acid plant growth regulators may appear in the form of a protein hydrolysate consisting of an amino acid/peptide mixture with molecular weight of individual components up to 1000 Da. Besides, they may be pure amino acids, such as glycine and alanine, whose efficiency has been studied on crops after treatment in the spring/summer period, and in autumn after harvesting. According to the data of various researchers, physical and chemical properties [Verzhuk, Murashev, 2009], respiration intensity [Kuznetsov et al., 2005], protective mechanisms [Murashev, 2013], and activity of fermentation processes [Ermakov, 1972; Murashev, Kolomicheva, 2013; Murashev, 2006] can be adjusted with plant growth regulators [Murashev, Sharagova, 2014; Troshin et al., 2004]. It will help to obtain plant products with increased nutritive value and the ability to be stored with minimal losses.

The aim of this work was researching the effect of biostimulation on productivity and fruit properties of the sea buckthorn cultivar **Oranzhevaya** developed at the M.A. Lisavenko Research Institute of Siberian Horticulture. The experiments were carried out jointly with the Vavilov Institute (VIR) and the Biochemistry Lab of St. Petersburg State Agricultural University. An amino acid preparation (glycine) was chosen as a biostimulant for sea buckthorn berries. Seven plant samples treated by the biostimulant in different concentrations

in order to study its effect on sea buckthorn productivity and fruit properties. Treatment of sea buckthorn plants was performed at Pushkin/Pavlovsk Laboratories, a Science & Production Association and a branch of VIR. In the budding phase, at a dry time of the day, the plants were sprinkled with a solution of the preparation in the following concentrations: 20, 40, 60, 80, 100 and 120 mg/l (experiment). Reference plants were treated with similar amounts of water. The stimulant's concentration was regarded as effective, if it was followed synchronously by the greatest increase of fruit weight and the highest content of bioactive substances in berries. The berries harvested in autumn were kept in standard refrigerators at +2...+4°C. Dry matter and water content in sea buckthorn berries was measured by drying them down to a constant weight at the temperature of 105°C. Organic acids were assessed by titration techniques followed by calculation of their amount. Mean weight of berries was measured by weighing. Optical density was identified on a spectrophotometer; all measurements were made with three replications and computation of a root-mean-square deviation. Weighing was used to assess the mean fruit weight for each dosage of the amino acid growth regulator used for treatments, and for the reference plants.

As a result, the mean weight of one sea buckthorn berry appeared to vary from 0.65 g to 0.79 g, while in the reference sample (treated only with water) this weight was 0.67 g. The number of berries was selected according to the existing technique [Ermakov et al., 1972].

Table 1.

The effect of treatment with an amino acid growth regulator on the mean fruit weight of a sea buckthorn samples (g)

Sample	Mean weight of one berry, g
1 (reference)	0.67
2 (20 mg/l)	0.73
3 (40 mg/l)	0.73
4 (60 mg/l)	0.65
5 (80 mg/l)	0.79
6 (100 mg/l)	0.67
7 (120 mg/l)	0.66

The obtained data witness that the experimental samples exceeded, as a rule, the reference sample in their mean fruit weight, but the greatest weight increase was observed in the 5th sample (0.79 g). Analysis of dry matter and water showed that the highest dry matter content was also in the 5th sample: 10.2% (1.5% higher than the reference). The 4th sample with the dosage 60 mg/l showed a very close value (10,1%). The concurrence of the data in weight increase and dry matter accumulation in the 5th sample proves the positive effect of biostimulation with amino acid preparations on plant productivity, which in its turn attests to the fact that the photosynthetic apparatus functions with higher efficiency under the influence of biostimulation.

As stated above, the greatest gain in biomass was recorded in the 5th sample, as it demonstrated both the best increase of mean fruit weight and the highest amount of dry matter. As far as the 4th sample is concerned, it showed an increase solely in dry matter content, while its fruit weight was less than in the reference sample, albeit only slightly. The flavor of sea buckthorn berries is determined by the content of carbohydrates (sugars), organic acids, their ratio, and also depends on the composition of carbohydrates, organic acids and other substances themselves. Sea buckthorn berries, according to various data [Salikhov et al., 2011; Plekhanova, 2000] contain 4-11% of sugars; our experimental samples, in their turn, contained 9.56% on average or 2.44% higher than the reference. The same may be said about monosaccharides and disaccharides. The remaining samples did not manifest any tendency towards an increase, except the 7th sample, but it showed only a very slight increase — only 0.44% higher than the reference. The content of organic acids in sea buckthorn fruit was 1.2–

3%. According to the data obtained, the content of acids (malic, citric, oxalic and tartaric) was higher in all the samples than in the reference plants, but the highest value was recorded in the 6th sample with the dosage of 100 mg/l. A tendency towards increasing the content of sugars in fruit was observed with the dosage of 40 mg/l. As for organic acids, all dosage rates stimulated an increase in their content.

Table 2.

Gains of biomass in fruit-bearing plant parts expressed through the mean weight of berries and dry matter (g, %)

Sample	Gain of mean weight, g	Gain of mean weight, %	Gain of try matter, g	Gain of dry matter, %
1 (reference)	0	0	0	0
2 (20 mg/l)	+0.06	+8.2	+0.009	+13.4
3 (40 mg/l)	+0.06	+8.2	+0.007	+10.8
4 (60 mg/l)	-0.02	-3.1	+0.007	+10.8
5 (80 mg/l)	+0.12	+15.2	+0.022	+27.5
6 (100 mg/l)	0	0	-0.007	-13.7
7 (120 mg/l)	-0.01	-1.5	-0.005	-9.4

Thus, the described experiments have shown that the use of biostimulants to enhance the growth and development of fruit-bearing plants, when the latter are treated with exogenous amino acid preparations, leads to a considerable increase in plant productivity, provides for safekeeping of the harvest, and adds to its biological value.

List of references

Kuznetsov V.V., Dmitrieva G.A. Plant physiology // Moscow: Vysshaya Shkola, 2005. –736 pp. [available in Russian]

Methods of biochemical plant research. Ed: A.I. Ermakov. – Leningrad: Kolos, 1972. – 456 pp. [available in Russian]

Murashev, S.V. Comparison of the efficiency and safety of protective mechanisms induced in plant organisms // Scientific Journal of ITMO University. Series “Processes and Devices of Food Industries”. – 2013. – No. 4. – P. – 28–31. [available in Russian]

Murashev S.V., Kolomicheva E.A. The effect of amino acid treatment on plant dormancy, formation of fruits, and their cold storage (theoretical provisions) // Scientific Journal of ITMO University. Series “Processes and Devices of Food Industries”. – 2013. – P. 83–86. [available in Russian]

Murashev S.V., Sharagova N.N. Physical and chemical properties of vegetable and fruit products and special features of their storage in cooled state // Vegetables of Russia. – 2014. – No. 1 (22). – P. 60–61. [available in Russian]

Murashev S.V. Theoretical and experimental research on the regulating effect of a collagen hydrolysate on the formation and cold storage of raw plant materials // Senior Doctorate Thesis (Technological Sciences). – St. Petersburg, 2006. [available in Russian]

Plekhanova M.M. Sea buckthorn. Handbook of a horticulturist. Ed: A.A. Yushev. St. Petersburg, 2000. – P. 250–267. [available in Russian]

Salikhov M.M. et al. Fruit and berry varieties and agricultural practices for the North of Russia. Catalogue of fruit and berry crop plants grown by the Plemzavod Maisky. – Agri-Production Complex, Vologda, 2011. – P. 146–149. [available in Russian]

Troshin L.P., Shcherbak V.S., Gavrilov R.B., Zamanidi P.K., Melnik N.I., Mislivsky A.S. The effect of growth stimulants on the yield and quality of grapevine plants // Polytopical electronic network scientific journal of the Kuban State Agricultural University, 2004. – P. 1–12. [available in Russian]

Verzhuk V.G., Murashev S.V. Modern technology of making fruit and berry produce with reinforced and permanently functioning protective mechanisms // Fruit and Berry Plant Growing in Russia. – 2009. – V. 22, No. 2. – P. 153–158. [available in Russian]

**DEVELOPMENT OF METHODS FOR CRYOCONSERVATION OF VEGETATIVE
SHOOTS (CUTTINGS) EMPLOYING VARIETIES OF RED CURRANT
(*R. RUBRUM* L.) FROM THE GENE POOL PRESERVED
AT THE POLAR EXPERIMENT STATION OF THE VAVILOV INSTITUTE**

V.G. Verzhuk, A.V. Pavlov, L.V. Sukhareva, I.I. Gracheva, T.D. Kuvaeva

The N.I. Vavilov Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St. Petersburg, Russia,
vverzhuk@mail.ru, lyubov.suxareva@yandex.ru

Abstract. The work on cryoconservation of vegetative shoots and buds of red currant was based on the technique developed by P. Forsline for dormant apple-tree buds, which we modified to make it applicable to our plant. Cuttings were selected from the collection of small fruit plants held by the Polar Experiment Station of VIR. They were cut into sections 7–8 cm long with 2–3 buds, and dried in an incubator at -4 – -5°C down to 28–32% moisture content. After that they underwent two-step freezing in Sanyo Medical Freezer MDF-U442(T), and were placed for long-term storage into liquid nitrogen vapor. Assessment of the cuttings' viability prior to their placement into nitrogen (initial), and after their storage and planting in the field showed their differences and variety-specific dependence. The minimum initial value for this parameter was $56.6\pm 5.0\%$ demonstrated by var. Natali (No. K-202), while the maximum of $90.0\pm 3.0\%$ was shown by var. Laplandia (No. K-315). The same correlation between these varieties was recorded after their cryopreservation and taking root in the field: $46.6\pm 5.0\%$ for var. Natali, and $76.6\pm 4.2\%$ for var. Laplandia. The remaining varieties demonstrated intermediate values, but had a rather good percentage of rooting after cryostorage.

Keywords: *cryoconservation, vegetative shoots, gene pool, berry plants, red currant, liquid nitrogen vapor*

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-858-860

At present, the importance of crop genetic diversity conservation is constantly growing. The problems of collecting, conservation, study and sustainable utilization of plant genetic resources are economically of national significance and great strategic import, and directly connected with the provision of both national and global food and environmental security [Verzhuk et al., 2007; Dzyubenko et al., 2016].

Today, when climatic, environmental and economic conditions are unstable both within and outside the country, there is a threat of irretrievable losses of valuable collection material representing vegetatively propagated fruit and berry plants. A practical solution to the problem is long-term storage of the endangered accessions under controlled conditions at low and ultralow temperatures, and establishment of plant genetic collections with improved health by means of *in vitro* culture [Butenko, 1964; Kalinin et al., 1980].

A promising method of fruit plant preservation is cryoconservation of vegetating plant parts (annual shoots, buds or meristems), seeds and pollen in liquid nitrogen or its vapor at the temperatures of -183 – -185°C [Verzhuk, Filipenko et al., 2012; Pavlov et al., 2016; Verzhuk, Pavlov et al., 2017]. Plant cells, tissues and organs are kept in a deep freeze environment in anabiotic state, and the material preserved at ultralow temperatures remains genetically stable, which prevents genetic changes typical of the organisms preserved under ordinary conditions [James, 1987; Kozaki et al., 1988; Benson, 2008].

The work on cryoconservation of vegetative shoots and buds of fruit and berry plants was based on the technique developed by P. Forsline [Forsline et al., 1998] for dormant apple-tree buds, which we modified, improved and applied to such cultivated plants as apricot, quince, cherry, pear, black currant, honeysuckle, bird cherry, etc.

While working out the technique for cryoconservation of red currant shoots, prior to their placement for storage in nitrogen vapor, the yearly gain of cuttings from different varieties underwent selection during the period of plant dormancy (November to December)

in the collection orchards at the Polar Experiment Station of the Vavilov Institute (VIR). Then, they were cut in the CryoLab into smaller sections: 7–8 cm long, with 2–3 buds per section, and predried in the INCUBATOR–818 device at -4° – 5°C down to the residual moisture of 28–32%. Prior to predrying (before freezing and placement for storage into nitrogen vapor), a reference batch of cuttings from the selected set of varieties underwent initial viability assessment in %. After predrying, the experimental plant material was gradually frozen in two steps. A decrease of negative temperatures was initially accomplished within a speed of -1° – 2°C every half hour. After reaching -30° – 32°C , freezing was accelerated by -3° – 4°C per hour, and the cuttings were frozen to -48° – 50°C using Sanyo Medical Freezer MDF–U442(T). Afterwards, laminated packages with the frozen accessions were placed into cryotanks (HB-0.5 m³) for long-term preservation in liquid nitrogen vapor at -183° – 185°C . After 5–6 months of storage, the cuttings of the studied varieties were removed from the cryotanks, rapidly unfrozen in cold water, and planted in spring in the field to evaluate their viability, growth and development during the entire growing season under the conditions of the field. Cryostorage research was performed for 7 red currant varieties: 1. Natali (K-202), 2. Rolan (K-309), 3. Zarya Zapolyarya (K-200), 4. Svetlana (K-201), 5. Tatyana (K-313), 6. Laplandia (K-315), 7. Det Van (K-204). Cultivated red currant has certain advantages if compared with black currant: it is more productive, as the average yield of black currant is 5 kg per bush against 8 kg with red currant. Valuable properties of red currant are earliness and longevity of fruiting: under favorable conditions its plants start to bear fruit in their third year after planting, and continue fructification for 20 years. An important trait of red currant is the ability of its berries to stay on the branches for a very long time after ripening — they do not fall, and often not only retain their flavor but even improve it due to accumulation of sugars. One more useful quality is the existence of early-ripening varieties whose berries reach maturity almost simultaneously with strawberry, and late-ripening ones which make it possible to consume fresh berries sometimes until late autumn.

Table.

Viability of red currant cuttings: a) initial (cuttings were grown in water inside a thermostatic room), b) planted in the field after cryopreservation in liquid nitrogen vapor.

NNo	Variety/Catalog No. of the Polar Experiment Station, VIR	a) Initial viability of cuttings and buds before cryopreservation when grown under light in water, %	b) Viability of cuttings and buds planted in the soil after cryostorage in liquid nitrogen vapor, %
Red currant (<i>R. rubrum</i> L.), Polar Experiment Station of VIR (Apatity), Pushkin/Pavlovsk Science & Production Association, 2015–2017			
1	Natali/K-202	56.6±5.0	46.6±5.0
2	Rolan/K-309	76.6±4.2	63.3±4.8
3	Zarya Zapolyarya/K-200	83.3±3.7	70.0±4.6
4	Svetlana/K-201	73.3±4.4	66.6±4.7
5	Tatyana/K-313	86.7±3.4	73.3±4.4
6	Laplandia/K-315	90.0±3.0	76.6±4.2
7	Det Van/K-204	83.3±3.7	73.3±4.4

Table presents the results of initial viability assessment for red currant cuttings after their segmentation at the collection site of the Polar Experiment Station of VIR (Apatity Town), and their viability rates after storage in liquid nitrogen vapor and transplanting in spring onto the field of the Pushkin/Pavlovsk Science & Production Association where they have successfully taken root and yielded new young shoots from their buds.

The analysis of viability data for the studied red currant varieties has disclosed variety-specific differences both in the initial version (prior to cryopreservation) and after long-term

storage of the cuttings in liquid nitrogen vapor, when they were transplanted into a field. Initial viability of the varieties was within the scope from 56.6±5.0% to 90.0±3.0%, while after they were transplanted into the field and took root, their viability decreased by a dozen or dozen and a half points and varied from 46.6±5.0% to 76.6±4.2%. Minimum values of this parameter were shown by var. Natali (K-202): 56.6±5.0% in the initial assessment, and 46.6±5.0% after storage in nitrogen vapor and establishment in the field. Maximum viability values were recorded for the cuttings of var. Laplandia (K-315): 90.0±3.0% (initial planting) and 76.6±4.2% (after cryostorage and planting in the field). The remaining varieties demonstrated intermediate values, but had a rather good percentage of rooting after cryostorage. During the spring/summer growing season the plants developed from their buds 2–3 young shoots which survived the winter well, and next spring produced new shoots. It should also be mentioned that the plants grown after cryostorage in nitrogen were less susceptible to various diseases and pests than the reference ones (which did not undergo cryopreservation in nitrogen vapor).

List of references

Arsenyeva T.V. Handbook of a horticulturist. St. Petersburg. – 2000. – P. 316–336. [available in Russian]

Benson E.E. Cryopreservation theory // In: Reed, B.M. Plant cryopreservation, A Practical Guide. – Springer, New York, 2008. – P. 15–32.

Butenko R.G. Culture of isolated tissues and plant physiology. – Moscow, 1964. – 18 p. [available in Russian]

Dzyubenko N.I., Goncharova E.A., Verzhuk V.G., Murashev S.V. Innovative trends and methods of prognosticating environmental safety and conservation of plant resources // Proceedings of a scientific and practical conference, Sept. 4–6, 2015, “Increasing the efficiency of modern horticulture to improve the structure of nutrition for the population of Russia”. Michurinsk – Naukograd RF, 2016. – P. 53–57. [available in Russian]

Forsline P.I., Towill L.E., Waddell J.W. et al. Recovery and longevity of cryopreserved dormant apple buds // J. Amer. Soc. Hort. Sci. – 1998. – V. 123, No. 3. – P. 365–370.

James E. Preservation of cells under low temperature conditions // In: Biotechnology of Crop Plants. – Moscow: Agropromizdat, 1987. – 301 pp. [available in Russian]

Kalinin F.L., Sarnatskaya V.V., Polishchuk V.E. Tissue culture methods in plant physiology and biochemistry. – Kiev, 1980. – 142 p. [available in Russian]

Kozaki I., Omura M., Matsuta N., Moriguchi T. Germplasm preservation of fruit trees // Preservation of Plant Genetic Resources. Japan International Operation Agency. – 1988. – P. 65–74.

Pavlov A.V., Porotnikov I.V., Verzhuk V.G., Vorobeykov G.A. Preservation of fruit and berry crop breeding material at ultralow temperatures // Scientific Journal of ITMO University. Series “Processes and Devices of Food Industries”, St. Petersburg, 2016. – No. 1. – P. 55–60. [available in Russian]

Verzhuk V.G., Pavlov A.V., Dzyubenko N.I., Novikova L.Y., Murashev S.V., Eremina O.V. Cryoconservation in liquid nitrogen: a promising method of preserving the biodiversity of stone and pome fruit crop plants // Fruit and Berry Plant Growing in Russia. – Moscow, 2017, vol. XXXXVIII, No. 1. – P. 33–36. [available in Russian]

Verzhuk V.G., Filipenko G.I., Safina G.F., Pavlov A.V., Zhestkov A.S. Cryoconservation as an efficient method of fruit and berry plant genetic resources preservation // Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding, V. 169. – St. Petersburg, 2012. – P. 270–279. [available in Russian]

Verzhuk V.G., Tikhonova N.G., Tikhonova O.A. Cryoconservation of the germplasm of black currant (*Ribes nigrum* L.) at ultralow temperatures // Intern. Conf. “Modern physiology: from molecules to ecosystems”. – Syktyvkar, 2007. – P. 152–153/ [available in Russian]

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

А

Абдуллаев А. – 264, 697, 700
Абдуллаев Р.А. – 109, 114
Абдуллаев Х.А. – 150, 245
Абдулсамат И. – 106
Абильфазова Ю.С. – 32
Абугалиева А.И. – 36, 501
Авальбаев А.М. – 72
Авезов Т.Ш. – 41
Азаркович М.И. – 43
Азизов А.А. – 50
Акимова Г.П. – 47
Акиншина Н.Г. – 50
Акулов А.Н. – 55
Аленькина С.А. – 61, 64
Алигусейнова Н.Р. – 68
Алиев К. – 106, 252, 402, 795
Алиев У.К. – 252
Алиева Г.П. – 259
Аллагулова Ч.Р. – 72, 506, 510
Аль-Зейди А.А.Ф. – 163
Амелин А.В. – 76, 804
Андреев И.М. – 81
Андреева А.А. – 84
Аникина Л.М. – 340, 608
Анисимов А.В. – 89
Аниськов А.А. – 799
Аннагиева М.А. – 634
Анохина Г.Б. – 93
Астахова Н.В. – 259
Асхадуллин Дам. Ф. – 55
Асхадуллин Дан. Ф. – 55
Атоев М.Х. – 264

Б

Базба Э.Г. – 98
Байбакова Е.В. – 102
Балнокин Ю.В. – 584, 790
Балясный И.В. – 708, 712
Банкина Т.А. – 340
Баранова Е.Н. – 484
Баранова Н.В. – 678
Баратова Н.Г. – 106, 252
Баркалова О.Н. – 307
Баташева Б.А. – 109, 114
Башмакова Е.Б. – 118
Безрукова М.В. – 123
Белимов А.А. – 809
Белоус О.Г. – 98, 127
Белоциценко Е.С. – 130, 135
Белькова Н.Л. – 268
Бендер О.Г. – 226
Бердникова О.С. – 312
Бердыев Д. – 256

Блохина С.Ю. – 608
Бовин А.Д. – 462
Богачёв И.Г. – 135
Богданова Е.С. – 139
Бойко Е.В. – 143, 229
Бондаревич Е.А. – 639
Боровик О.А. – 146, 238
Боровский Г.Б. – 146, 427, 435
Бохирова М.К. – 150
Бояркина С.В. – 216
Бруй И.Г. – 643
Будаговская Н.В. – 154
Будаговская О.Н. – 241, 512
Будаговский А.В. – 241, 512
Бужоряну Н.С. – 759
Букин Ю.С. – 321
Булгакова Е.В. – 159
Бурханова Г.Ф. – 190, 687, 720
Бурыгин Г.Л. – 289
Бурьянов Я.И. – 346, 350
Бухарина И.Л. – 163
Буцанец П.А. – 221
Быковская И.А. – 168, 589
Быстрова Е.И. – 336
Бычков И.А. – 170

В

Вавилова В.Ю. – 13
Валиева А.И. – 55
Валиулина А.Ф. – 175
Василова Н.З. – 55
Васильева И.В. – 180, 755
Ведяшкина О.А. – 484
Великсар С.Г. – 185
Верниченко И.В. – 589
Вертебный В.Е. – 340, 608
Верховод М.К. – 517
Веселова С.В. – 190, 687, 692
Ветчинникова Л.В. – 180
Видершпан А.Н. – 143
Вишневская Н.А. – 809
Воденеев В.А. – 749
Войников В.К. – 6, 238, 427
Волошина Т.В. – 195
Ворнику З.Н. – 678
Воробьев Н.В. – 708, 712, 840
Воронин В.И. – 9
Воронин П.Ю. – 554, 666
Воронков А.С. – 370, 375
Г
Гаврилова А.Ю. – 599
Гаджимустапаева Е.Г. – 199, 203
Гаевский Н.А. – 595, 733

- Гайсин И.А. – 623
 Галибина Н.А. – 207, 549, 558
 Гарипова М.И. – 764
 Гаркуша С.В. – 708, 712
 Гатауллина М.О. – 211, 773
 Гвильдис Д.Э. – 216
 Генерозова И.П. – 221
 Гизбрехт А.В. – 522
 Гизбрехт С.В. – 517, 522
 Глянько А.К. – 392
 Голденкова-Павлова И.В. – 29
 Голованова Т.И. – 175, 595
 Головацкая И.Ф. – 143, 226, 229
 Гончаров Н.П. – 13
 Гончарова А.М. – 233
 Гончарова Э.А. – 236
 Гончарук В.М. – 643
 Горбунова А.О. – 840
 Горина С.С. – 716
 Гра О.А. – 29
 Грабельных О.И. – 146, 238, 384
 Граскова И.А. – 321, 626, 674
 Гречкин А.Н. – 716
 Грибовская И.В. – 595
 Гринберг М.А. – 749
 Гродецкая Т.А. – 286
 Громова Е.Н. – 749
 Грошева Е.В. – 241, 512
 Гулевич А.А. – 484
 Гулов С.М. – 245
 Гуляева К.Н. – 599
 Гурина В.В. – 249, 544
- Д**
- Давлятназарова З.Б. – 106, 252, 402, 795
 Давлятова Д.М. – 256
 Дадобоева М.Б. – 245
 Даминава А.И. – 618, 623
 Данилова М.Н. – 84
 Денисова А.Ю. – 289
 Дерябин А.Н. – 259
 Джахмаева Д.А. – 68
 Джумаев Б.Б. – 264, 795
 Дмитриев А.П. – 850
 Дмитриева А.М. – 268
 Долбилина С.Е. – 307
 Долгих Е.А. – 406, 462
 Дорофеев Н.В. – 146, 273
 Дубровина А.С. – 742
 Дударева Л.В. – 278, 321, 682
 Дьяченко О.В. – 346, 350
- Е**
- Евлаков П.М. – 282, 286
 Евсеева Н.В. – 289
 Егоренкова И.В. – 293
 Емельянова Е.В. – 297, 302
- Еникеев А.Г. – 216
 Епринцев А.Т. – 93, 211, 423, 773
 Ершова А.Н. – 307, 312
 Есимбекова М.А. – 36
 Ефимова М.В. – 226, 316
- Ё**
- Ёдгоров Х. – 264
- Ж**
- Железняк Т.Г. – 678
 Живетьев М.А. – 321, 674
 Жигачева И.В. – 323
 Жидкова Е.Н. – 328
 Жужжалова Т.П. – 354
 Жуков А.В. – 332
 Жуковская Н.В. – 336
 Журавлева А.С. – 340
 Журавлева М.А. – 340
- З**
- Забанова Н.С. – 238
 Заплетин В.Ю. – 282
 Зартдинова Р.Ф. – 81
 Захарченко Н.С. – 346, 350
 Звейнек И.А. – 109, 114
 Землянухина О.А. – 354
 Злобин И.Е. – 17
 Зобова Н.В. – 733
 Зорина С.Ю. – 273
- И**
- Ибрагимова Д.Н. – 799
 Иваницкий А.Е. – 517, 522
 Иванов А.А. – 358
 Иванов В.Б. – 336
 Иванов Ю.В. – 17
 Иванова И.Д. – 517
 Иванова К.А. – 362
 Иванова М.В. – 366, 435
 Иванова Т.В. – 370, 375
 Иванова Ю.С. – 380
 Игнатов В.В. – 293
 Измайлов С.Ф. – 81
 Икконен Е.Н. – 384, 389, 821, 826
 Исаев Р.Ф. – 847
 Исламова Н.А. – 163
 Ищенко А.А. – 392
- К**
- Кабардаева К.В. – 29
 Кадырбаев М.К. – 226
 Казарцева А.Д. – 664
 Казыханова Г.Ш. – 510
 Калаев В.Н. – 354
 Камолов Н. – 256, 706
 Канаш Е.В. – 340, 527, 608
 Караваяева А.В. – 410, 540
 Карпова А.Б. – 648
 Карпычев И.В. – 790

- Картавцева Л.С. – 93
 Карташов А.В. – 17
 Карягин В.В. – 653, 655
 Каспарова И.С. – 106, 252, 402
 Катышева Н.Б. – 273
 Кауер Е.А. – 458
 Киеу Т.Х.Т. – 93
 Кириенко А.Н. – 406
 Киселев К.В. – 742
 Киселева Г.К. – 410, 540
 Киселева И.С. – 496
 Клименко Н.И. – 414
 Клименко О.Е. – 414
 Клушевская Е.С. – 418
 Ковалев В.С. – 708, 712
 Ковалева О.Н. – 109, 114
 Кожухметов К. – 36, 501
 Кокорев А.И. – 850
 Колупаев Ю.Е. – 850
 Комарова Н.Р. – 423
 Кондакова М.А. – 427
 Кондратенко Е.Я. – 13
 Кондратьев М.Н. – 430
 Кононов А.В. – 492
 Корецкая Ю.Л. – 466
 Коротаева Н.Е. – 435
 Корсукова А.В. – 146, 238
 Корытько Л.А. – 643, 835
 Кособрухов А.А. – 346, 358, 440
 Костромичева Е.В. – 604
 Косумбекова Ф.А. – 256, 706
 Котов А.А. – 443
 Котова Л.М. – 443
 Кофтин О.В. – 799
 Кочерина Н.В. – 527
 Креславский В.Д. – 346, 440
 Кривов С.А. – 458
 Крыжко А.В. – 448
 Крылова В.В. – 81
 Крюков А.А. – 840
 Кудрякова Н.В. – 170, 84
 Кузакова О.В. – 450
 Кузнецов В.В. – 84, 170
 Кузнецов Вл.В. – 17
 Кузнецова Л.Н. – 448
 Кузнецова Э.И. – 370, 375
 Кулаева О.А. – 362
 Кумахова Т.Х. – 370, 375
 Купряшина М.А. – 454
 Куренина Л.В. – 484
 Курносова Т.Л. – 168, 589
 Кусакин П.Г. – 362
- Л**
- Лазарева Е.А. – 26
 Лазукин А.В. – 458
 Лаптев Н.И. – 229
 Ларикова Ю.С. – 430
 Латовски Д. – 496
 Лезжов А.А. – 26
 Леппянен И.В. – 462
 Ли И – 781
 Лилиенберг А.И. – 458
 Лисник С.С. – 466
 Литвинский В.А. – 589
 Литягина С.В. – 571, 575
 Ловягина Е.Р. – 471, 475
 Локтюшкин А.В. – 475
 Ломоватская Л.А. – 233, 450, 786
 Лошкарева Т.В. – 229
 Лощинина Е.А. – 475
 Лубянова А.Р. – 123, 510
 Лукаткин А.С. – 484
 Лукшина Т.А. – 484
 Лунькова Н.Ф. – 336
 Любушкина И.В. – 238, 781
- М**
- Маевская С.Н. – 554
 Майорова О.В. – 584, 790
 Макарова Л.Е. – 488
 Макеева И.Ю. – 659
 Максимов А.П. – 492
 Максимов И.В. – 190, 687, 692, 720
 Максимов Т.Х. – 492
 Максимова Л.А. – 216
 Малева М.Г. – 496
 Маниязова Н.А. – 700
 Марковская Е.Ф. – 831
 Мартиросян В.В. – 440
 Мартиросян Ю.Ц. – 440
 Масимгазиева А.С. – 501
 Масленникова Д.Р. – 123, 506, 510
 Маслова М.В. – 241, 512
 Матора Л.Ю. – 289
 Мащенко Н.Е. – 759
 Мельникова Е.В. – 643, 835
 Минич А.С. – 517, 522
 Минич И.Б. – 517, 522
 Мирзорохимов А.К. – 150
 Мирская Г.В. – 527
 Мишко А.Е. – 540
 Моргунов А.И. – 501
 Мориц А.С. – 488
 Морозов С.Ю. – 26
 Мотылева С.М. – 531
 Мощенская Ю.Л. – 207, 549, 558
 Мурашев С.В. – 236
 Мустафаев О. – 29
 Мухтарова Л.Ш. – 716
 Мясоедов Н.А. – 584, 790

Н

Нарайкина Н.В. – 535
Неделяева О.И. – 584, 790
Ненько Н.И. – 410, 540
Неруш В.Н. – 749
Нестёркина И.С. – 249, 488, 544
Нестеров В.Н. – 544
Нефедьева Е.Э. – 102, 159
Никерова К.М. – 207, 549, 558
Никитина В.Е. – 61, 64, 454, 479
Николаева М.К. – 554
Нимаева О.Д. – 648
Ниязмухамедова М.Б. – 150, 256, 706
Новицкая Л.Л. – 207, 549, 558
Новожилов А.А. – 328
Ножкина О.А. – 626
Норбоева У.Т. – 563, 567
Норкулов Н.Х. – 106, 252
Носиков В.В. – 589
Нохсоров В.В. – 630
Нужная Т.В. – 190
Нурминский В.Н. – 544

О

Обручева Н.В. – 571, 575
Огнева З.В. – 742
Огородникова Т.И. – 89
Озолина Н.В. – 249, 544, 580
Октябрьский О.Н. – 703
Омеличкина Ю.В. – 216
Орлова Ю.В. – 584, 790
Осипова Л.В. – 168, 589
Осипова С.В. – 682

П

Павленко О.С. – 29
Павлова А.Г. – 592
Павлова А.М. – 595
Павловская Н.Е. – 599, 604
Панищева Д.В. – 531
Панкратенко А.В. – 26
Панова Г.Г. – 340, 608
Панфилова О.Ф. – 613
Пахомова В.М. – 618, 623
Пашковский П.П. – 17, 118
Перк А.А. – 180, 630, 755
Перфильева А.И. – 592, 626
Петров К.А. – 630
Петров Р.Е. – 492
Петрова Н.Е. – 180
Петрова О.Е. – 716
Пиголева С.В. – 346
Пильщикова Н.В. – 613
Пириев И.Т. – 634
Платонова Н.Б. – 127
Плотников А.А. – 123, 506, 510
Плюснин И.Н. – 143, 226

Пляскина И.Н. – 639
Побежимова Т.П. – 238
Подгорная М.Н. – 207, 549, 558
Полякова Е.А. – 146
Полянская С.Н. – 643, 835
Поморцев А.В. – 146, 273
Пономарев А.Г. – 180, 755
Попова Л.Г. – 584, 790
Прадедова Е.В. – 648
Прудников П.С. – 659
Прудникова О.Н. – 653, 655
Пузина Т.И. – 659
Пухальская Н.В. – 664
Пучкова Т.А. – 799
Пшеницына Т.С. – 708, 712

Р

Радченко Е.Е. – 109, 114
Ракитин В.Ю. – 653, 655
Ракитина Т.Я. – 653, 655
Расулов Б.Х. – 402
Рахимов М.М. – 256, 706
Рахманкулова З.Ф. – 666
Рекославская Н.И. – 21
Ржевский С.Г. – 286
Рихванов Е.Г. – 777, 781
Рогожин Е.А. – 670
Розенцвет О.А. – 139
Романенко А.С. – 450, 786
Романова И.М. – 674
Рошка Н.Д. – 678
Рощупкина К.А. – 64
Рудиковская Е.Г. – 278, 682
Рудиковский А.В. – 682
Румянцев С.Д. – 687, 692
Румянцева Н.И. – 55
Русаков Д.В. – 527, 608
Русина И.Ф. – 323
Рустамов А.Р. – 697
Рушина Н.А. – 527
Рыфф И.И. – 730

С

Савин Т.В. – 36
Садриддинов М. – 106
Саидова Л.Т. – 458
Саитова З.Р. – 764
Сайдаминов Х.Х. – 700
Салаева Х.Л. – 634
Саляев Р.К. – 21, 648
Самедова А.Д. – 634
Самойлова З.Ю. – 703
Сангаджиева О.Б. – 195
Сарвин Б.А. – 17
Сатторов Б.Н. – 706
Сафаров Ё.Х. – 264
Селиванова Н.В. – 93, 211

Семёнов А.А. – 216
Семенов К.Н. – 340, 608
Семенова Л.И. – 558
Семенова Н.В. – 321
Семин Б.К. – 471, 475
Сердюков Ю.А. – 458
Серебрякова О.С. – 180
Сидоров А.В. – 781
Сидорова В.А. – 389
Симон Е.В. – 143
Симонов В.С. – 531
Синенко О.С. – 496
Синькевич И.А. – 571, 575
Скаженник М.А. – 708, 712
Скурту Г.И. – 759
Смирнова Г.В. – 703
Смирнова Е.О. – 716
Соколова Л.Г. – 273
Соколова М.Г. – 47
Соколова Н.А. – 488
Соловьев А.Г. – 26
Соляникова И.П. – 297, 302
Сорокань А.В. – 720
Сорокина Т.В. – 423
Софронова В.Е. – 725
Софронова И.Н. – 207, 549, 558
Спиридонова Е.В. – 249, 544
Ставрианиди А.Р. – 17
Стаматиди В.Ю. – 730
Степанов А.В. – 238, 781
Столбиков А.С. – 21
Стржалка К. – 496
Струнникова О.К. – 809
Ступко В.Ю. – 733
Суворова Г.Г. – 366, 435
Сундырева М.А. – 738
Супрун А.Р. – 742
Сурова Л.М. – 744, 749
Суска-Малавская М. – 102
Суслов М.А. – 89
Сухов Б.Г. – 626
Сухов В.С. – 744, 749, 752
Сухова Е.М. – 749, 752

Т
Тарелкина Т.В. – 558
Татарина Т.Д. – 180, 755
Терентьева М.П. – 492
Титов А.Ф. – 821, 826
Титова Н.В. – 759
Тихомиров А.А. – 595
Тихомирова Н.А. – 595
Ткаченко О.В. – 289
Толстыко Е.А. – 26
Топоркова Я.Ю. – 716
Трегубова К.В. – 293

Третьякова А.В. – 544
Трунова Т.И. – 259, 535
Тюрин А.А. – 29

У
Удалова О.Р. – 340, 608
Уколова И.В. – 427
Ульяновская Е.В. – 410, 540
Ушакова С.А. – 595
Ушакова Я.В. – 738

Ф
Фадеев В.С. – 29
Фалалеева М.И. – 423
Фархутдинов Р.Г. – 764
Федина Е.О. – 769
Федорин Д.Н. – 773
Федосева И.В. – 777
Федяев В.В. – 764
Федяева А.В. – 781
Филинова Н.В. – 786
Фомина Е.А. – 146
Фомина М.Н. – 380
Фурс О.В. – 346, 350

Х
Хакимова Р.Ш. – 245
Халилова Л.А. – 584, 790
Хамрабаева З.М. – 844
Хамроева Х.М. – 795
Хомяков Ю.В. – 340, 608

Ц
Цветков О.В. – 847
Цивилева О.М. – 592, 799
Цуканова М.А. – 659
Цыганов В.Е. – 362
Цыганова А.В. – 362

Ч
Чарыков Н.А. – 340, 608
Чекалин Е.И. – 76, 804
Чепалов В.А. – 630, 725
Черепанова Е.А. – 692
Черкасова Н.Н. – 354
Черкасских М.В. – 773
Чесноков Ю.В. – 527
Чечёткин И.Р. – 769

Ш
Шакирова Ф.М. – 72, 123, 506, 510
Шапошников А.И. – 809
Шафикова Т.Н. – 216
Шахназарова В.Ю. – 809
Шевчук Т.В. – 346, 350
Шелоухова Н.А. – 813, 817
Шерстнева О.Н. – 744
Шерудило Е.Г. – 384, 821, 826
Шибеева Т.Г. – 384, 389, 821, 826
Ширвани Т.С. – 634
Шишова М.Ф. – 840

Шишпаренок А.А. – 682
Шмакова Н.Ю. – 831
Шугаев А.Г. – 221
Шуйская Е.В. – 666
Шуканов В.П. – 643, 835
Щ
Щеголев С.Ю. – 289
Э
Эргашев А. – 41, 697
Ю
Юлдашев Р.А. – 72
Юркевич М.Г. – 389
Юрков А.П. – 840
Я
Якоби Л.М. – 840
Яковлева И.М. – 130
Якубова М.М. – 844
Ямалеева А.А. – 764
Ярин А.Ю. – 769
Яруллина Л.Г. – 847
Яруллина Л.М. – 847
Ястреб Т.О. – 850

LIST OF AUTHORS

E-V

Erastenkova M.V. – 855
Gracheva I.I. – 858
Kuvaeva T.D. – 858
Li P. – 682
Murashev S.V. – 855
Pavlov A.V. – 855, 858
Sukhareva L.V. – 858
Verzhuk V.G. – 855, 858

СОДЕРЖАНИЕ

ПЛЕНАРНЫЕ ДОКЛАДЫ.....	5
<i>Войников В.К.</i> ЭНЕРГЕТИЧЕСКАЯ И ИНФОРМАЦИОННАЯ СИСТЕМЫ РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК ПРИ ФЛУКТУАЦИЯХ ТЕМПЕРАТУРЫ.....	6-8
<i>Воронин В.И.</i> БАКТЕРИАЛЬНАЯ ВОДЯНКА ХВОЙНЫХ В БАЙКАЛЬСКИХ ЛЕСАХ: ПРИЧИНЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ И РИСК ЭПИФИТОТИИ.....	9-12
<i>Гончаров Н.П., Кондратенко Е.Я., Вавилова В.Ю.</i> ГЕНЕТИКА АДАПТИВНОСТИ И АРХИТЕКТОНИКА ПШЕНИЦ.....	13-16
<i>Кузнецов Вл.В., Злобин И.Е., Карташов А.В., Сарвин Б.А., Ставрианиди А.Р., Пашиковский П.П., Иванов Ю.В.</i> ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИИ ХВОЙНЫХ К ЗАСУХЕ	17-20
<i>Саяев Р.К., Рекославская Н.И., Столбиков А.С.</i> ОПЫТ СОЗДАНИЯ ИННОВАЦИОННЫХ ВАКЦИН ПРОТИВ ОПАСНЫХ ВИРУСНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ НА БАЗЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСПРЕССИОННЫХ СИСТЕМ.....	21-25
<i>Соловьев А.Г., Толстыко Е.А., Лезжов А.А., Панкратенко А.В., Лазарева Е.А., Морозов С.Ю.</i> ТРАНСПОРТ РНК ПО ФЛОЭМЕ: РОЛЬ В ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ И ЗАЩИТНОМ ОТВЕТЕ РАСТЕНИЙ.....	26-28
<i>Тюрин А.А., Павленко О.С., Кабардаева К.В., Гра О.А., Фадеев В.С., Мустафаев О., Голденкова- Павлова И.В.</i> ТОНКИЙ ТРАНЛЯЦИОННЫЙ КОНТРОЛЬ мРНК РАСТЕНИЙ ПРИ ДЕЙСТВИИ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ СРЕДЫ: СЛОЖНАЯ ПАУТИНА МЕХАНИЗМОВ.....	29-30
СЕКЦИЯ 1. ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ЗАЩИТНЫЕ РЕАКЦИИ ОРГАНИЗМОВ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ АБИОТИЧЕСКИХ И БИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ.....	31
<i>Абильфазова Ю.С.</i> ВЛИЯНИЕ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ПИГМЕНТНЫЙ СОСТАВ ЛИСТЬЕВ ПЕРСИКА.....	32-35
<i>Абугалиева А.И., Есимбекова М.А., Кожжахметов К., Савин Т.В.</i> ФЕНОТИПИЧЕСКОЕ И ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ КОЛЛЕКЦИЙ ДИКИХ СОРОДИЧЕЙ ПШЕНИЦЫ (РОД AEGILOPS L.): ВЫЯВЛЕНИЕ ИСТОЧНИКОВ ПРИЗНАКОВ ДЛЯ СБАЛАНСИРОВАННОГО ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ И СОХРАНЕНИЯ «EX SITU».....	36-40
<i>Авезов Т.Ш., Эргашев А.</i> ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ АНТИОКСИДАНТОВ НА СОДЕРЖАНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ СОРТОВ МЯГКОЙ И ТВЁРДОЙ ПШЕНИЦЫ	41-42
<i>Азаркович М.И.</i> УСТОЙЧИВОСТЬ РЕКАЛЬЦИТРАНТНЫХ СЕМЯН К НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОМУ СТРЕССУ: РОЛЬ LEA-БЕЛКОВ И ДЕГИДРИНОВ.....	43-46
<i>Акимова Г.П., Соколова М.Г.</i> ВЛИЯНИЕ RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM НА ПРО- И АНТИОКСИДАНТНУЮ АКТИВНОСТЬ ПЕРОКСИДАЗЫ КОРНЕЙ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА НА НАЧАЛЬНЫХ ЭТАПАХ ИНФИЦИРОВАНИЯ.....	47-49
<i>Акиншина Н.Г., Азизов А.А.</i> ИЗМЕНЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЛИСТЬЕВ ПЛАТАНА И КАТАЛЬПЫ К ТЕМПЕРАТУРНЫМ ВОЗДЕЙСТВИЯМ НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ОНТОГЕНЕЗА.....	50-54
<i>Акулов А.Н., Валиева А.И., Василова Н.З., Асхадуллин Дан. Ф., Асхадуллин Дам. Ф., Румянцева Н.И.</i> ВЛИЯНИЕ ПОГОДНЫХ УСЛОВИЙ НА СОДЕРЖАНИЕ И СОСТАВ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЗЕРНЕ ФИОЛЕТОВОЗЕРНЫХ ЛИНИЙ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ.....	55-60
<i>Аленькина С.А., Никитина В.Е.</i> РОЛЬ ЛЕКТИНОВ АЗОСПИРИЛЛ В ПОВЫШЕНИИ АДАПТАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ СТРЕССА.....	61-63

<i>Аленькина С.А., Рошупкина К.А., Никитина В.Е.</i> ВЛИЯНИЕ ЛЕКТИНОВ АЗОСПИРИЛЛ НА СОДЕРЖАНИЕ ПРОЛИНА В КОРНЯХ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ.....	64-67
<i>Алигусейнова Н.Р., Джахмаева Д.А.</i> ИЗМЕНЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ CdSO ₄ ДЛЯ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ ПОД ВЛИЯНИЕМ САЛИЦИЛАТА НАТРИЯ.....	68-71
<i>Аллагулова Ч.Р., Юлдашев Р.А., Авальбаев А.М., Шакирова Ф.М.</i> ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ МЕТИЛЖАСМОНАТА И ЦИТОКИНИНА 6-БЕНЗИЛАМИНОПУРИНА НА РАСТЕНИЯ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ ЗАСУХИ.....	72-75
<i>Амелин А.В., Чекалин Е.И.</i> АДАПТИВНЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ РАСТЕНИЙ ПЕЛЮШКИ К АБИОТИЧЕСКИМ СТРЕССАМ И СЕЛЕКЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ ИХ РЕАЛИЗАЦИИ.....	76-80
<i>Андреев И.М., Крылова В.В., Зартдинова Р.Ф., Измайлов С.Ф.</i> ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОСОБЕННОСТЬ Ca ²⁺ -АТФазы СИМБИОСОМНОЙ МЕМБРАНЫ КОРНЕВЫХ КЛУБЕНЬКОВ БОБОВ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ ДЕТЕРМИНАНТ НОВОЙ, УНИКАЛЬНОЙ РОЛИ ЕЕ В КЛЕТОЧНОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ.....	81-83
<i>Андреева А.А., Данилова М.Н., Кудрякова Н.В., Кузнецов В.В.</i> ГЕНЫ БЕЛКОВ <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> , АССОЦИИРОВАННЫХ С ПЛАСТИДНОЙ РНК-ПОЛИМЕРАЗОЙ БАКТЕРИАЛЬНОГО ТИПА: ЭКСПРЕССИЯ В УСЛОВИЯХ АБИОТИЧЕСКОГО СТРЕССА	84-88
<i>Анисимов А.В., Огородникова Т.И., Суслов М.А.</i> МЕЖКЛЕТОЧНЫЙ ВОДООБМЕН ВО ВСАСЫВАЮЩЕЙ ЗОНЕ СЕГМЕНТА КОРНЯ: ИССЛЕДОВАНИЕ ГРАДИЕНТНЫМ МЕТОДОМ ЯМР.....	89-92
<i>Анохина Г.Б., Киеу Т.Х.Т., Картавцева Л.С., Селиванова Н.В., Епринцев А.Т.</i> РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ 2-ОКСОГЛУТАРАТДЕГИДРОГЕНАЗНОГО ФЕРМЕНТНОГО КОМПЛЕКСА В ЛИСТЬЯХ КУКУРУЗЫ ПРИ СОЛЕВОМ СТРЕССЕ.....	93-97
<i>Базба Э.Г., Белоус О.Г.</i> ВЛИЯНИЕ ГИДРОТЕРМИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ ВЕГЕТАЦИОННОГО ПЕРИОДА НА СОДЕРЖАНИЕ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ В ПЛОДАХ ЯБЛОНИ	98-101
<i>Байбакова Е.В., Нефедьева Е.Э., Суска-Малавская М.</i> ВЛИЯНИЕ ЦИПРОКОНАЗОЛА, ФЛУДИОКСОНИЛА И ПРЕПАРАТОВ НА ИХ ОСНОВЕ НА РОСТ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ И ЯЧМЕНЯ И ЗАРАЖЕННОСТЬ ЗЕРНОВОК ВОЗБУДИТЕЛЯМИ ГРИБНЫХ БОЛЕЗНЕЙ.....	102-105
<i>Баратова Н.Г., Давлятназарова З.Б., Абдулсамат И., Норкулов Н.Х., Каспарова И.С., Садриддинов М., Алиев К.</i> ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ У РАСТЕНИЙ <i>IPOMOEА VАTАTAS</i> ПРИ ХЛОРИДНОМ ЗАСОЛЕНИИ	106-108
<i>Баташева Б.А., Абдуллаев Р.А., Радченко Е.Е., Ковалева О.Н., Звейнек И.А.</i> ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ КОЛЛЕКЦИИ ЯЧМЕНЯ К ЗАСОЛЕНИЮ.....	109-113
<i>Баташева Б.А., Абдуллаев Р.А., Радченко Е.Е., Ковалева О.Н., Звейнек И.А.</i> РАЗВИТИЕ ПОЛОСАТОЙ ПЯТНИСТОСТИ ЯЧМЕНЯ В УСЛОВИЯХ ЮЖНОГО ДАГЕСТАНА.....	114-117
<i>Башмакова Е.Б., Паиковский П.П.</i> ИЗМЕНЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ГЛУТАТИОНОВОЙ СИСТЕМЫ У РАСТЕНИЙ <i>MIMULUS GUTTATUS</i> DC. В ОТВЕТ НА СОВМЕСТНОЕ ДЕЙСТВИЕ СУЛЬФАТОВ ЦИНКА И НИКЕЛЯ.....	118-122
<i>Безрукова М.В., Лубянова А.Р., Масленникова Д.Р., Плотников А.А., Шакирова Ф.М.</i> ВЛИЯНИЕ МЕТИЛЖАСМОНАТА НА КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ УРОВЕНЬ И ИММУНОРАСПРЕДЕЛЕНИЕ ФИТОГОРМОНОВ И ЛЕКТИНА ПШЕНИЦЫ ПРИ ОСМОТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ.....	123-126
<i>Белоус О.Г., Платонова Н.Б.</i> ИЗМЕНЕНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ РАСТЕНИЙ ЧАЯ ПОД ВЛИЯНИЕМ СРЕСС-ФАКТОРОВ ВЛАЖНЫХ СУБТРОПИКОВ РОССИИ.....	127-129

- Белошценко Е.С., Яковлева И.М.*
ВКЛАД КРАТКОВРЕМЕННОГО ТЕРМОСТРЕССА В РЕГУЛЯЦИЮ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ И
АНТИОКСИДАНТНЫХ ПРОЦЕССОВ У КРАСНЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ ЯПОНСКОГО МОРЯ... 130-134
- Богачёв И.Г., Белошценко Е.С.*
СЕЗОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ В ХВОЕ
ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ ИНТРОДУКЦИИ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА CUPRESSACEAE
.....135-138
- Богданова Е.С., Розенцвет О.А.*
ОЦЕНКА ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ РЕЛИКТОВОГО ВИДА *GLOBULARIA
PUNCTATA* В УСЛОВИЯХ СРЕДНЕГО ПОВОЛЖЬЯ.....139-142
- Бойко Е.В., Симон Е.В., Плюснин И.Н., Видерипан А.Н., Головацкая И.Ф.*
ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА НА МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ РАСТЕНИЙ
ОГУРЦА143-145
- Боровик О.А., Поморцев А.В., Корсукова А.В., Фомина Е.А., Полякова Е.А., Грабельных О.И.,
Дорофеев Н.В., Боровский Г.Б.*
ДЕГИДРИНЫ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ ХОЛОДОВОМ ЗАКАЛИВАНИИ И
РАЗЗАКАЛИВАНИИ: СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ УЗЛОВ КУЩЕНИЯ И ЛИСТЬЕВ.....146-149
- Бохирова М.К., Абдуллаев Х.А., Ниязмухамедова М.Б., Мирзорахимов А.К.*
ВОЗДЕЙСТВИЕ УМЕНЬШЕНИЯ ПЛОЩАДИ ЛИСТЬЕВ НА ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ
ПОКАЗАТЕЛИ РАСТЕНИЙ ХЛОПЧАТНИКА.....150-153
- Будаговская Н.В.*
ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ У РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ
ЗАСОЛЕНИЯ И БЛОКИРОВАНИЯ КАЛЬЦИЕВЫХ КАНАЛОВ154-158
- Булгакова Е.В., Нефедьева Е.Э.*
ВЛИЯНИЕ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ПРОРАСТАНИЕ СЕМЯН ГЛЕДИЧИИ С
ТВЕРДЫМИ ПОКРОВАМИ.....159-162
- Бухарина И.Л., Исламова Н.А., Аль-Зеяди А.А.Ф.*
ВЛИЯНИЕ ИНОКУЛЯЦИИ ТОМАТА ЭНДОФИТОМ *CYLINDROCARPON MAGNUSIANUM* НА
УСТОЙЧИВОСТЬ К ДЕЙСТВИЮ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ.....163-167
- Быковская И.А., Осипова Л.В., Курносова Т.Л.*
СОРТОВАЯ СПЕЦИФИКА ОТВЕТНЫХ РЕАКЦИЙ ЯЧМЕНЯ НА РАЗЛИЧНЫЕ СТРЕССЫ..168-169
- Бычков И.А., Кудрякова Н.В., Кузнецов В.В.*
МЕЛАТОНИН И ЕГО УЧАСТИЕ В РЕАКЦИЯХ ФОТООКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА
ARABIDOPSIS THALIANA170-174
- Валулина А.Ф., Голованова Т.И.*
РОЛЬ TRICHODERMA В ПОВЫШЕНИИ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ К ДЕЙСТВИЮ ЦИНКА
.....175-179
- Васильева И.В., Татаринова Т.Д., Ветчинникова Л.В., Перк А.А., Пономарев А.Г., Серебрякова
О.С., Петрова Н.Е.*
СОСТАВ ДЕГИДРИНОВ РАЗНЫХ ВИДОВ БЕРЕЗЫ В УСЛОВИЯХ ХОЛОДНЫХ РЕГИОНОВ
.....180-184
- Велисар С.Г.*
РОЛЬ КОМПЛЕКСА МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В РЕАЛИЗАЦИИ ПОТЕНЦИАЛА ЗИМОСТОЙКОСТИ
ТЕХНИЧЕСКИХ СОРТОВ ВИНОГРАДА185-189
- Веселова С.В., Бурханова Г.Ф., Нужная Т.В., Максимов И.В.*
ВЛИЯНИЕ ЭФФЕКТОРА *STAGONOSPORA NODORUM* SNTOX3 НА БИОСИНТЕЗ ЭТИЛЕНА И
РЕДОКС-МЕТАБОЛИЗМ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ.....190-194
- Волошина Т.В., Сангаджиева О.Б.*
ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ПРОИЗРАСТАНИЯ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ
НА ИХ ВОДНЫЙ СТАТУС, РОСТОВЫЕ ПРОЦЕССЫ И ПРОДУКТИВНОСТЬ.....195-198
- Гаджимустапаева Е.Г.*
ПРОИЗВОДСТВО ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР В НИЗКО-ПЛЕНОЧНЫХ ТУННЕЛЯХ В ДЕРБЕНТСКОМ
РАЙОНЕ, РД.....199-202

<i>Гаджимустапаева Е.Г.</i> ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ У КАПУСТЫ БРОККОЛИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СРОКА ВЫРАЩИВАНИЯ.....	203-206
<i>Галибина Н.А., Новицкая Л.Л., Мощенская Ю.Л., Никерова К.М., Подгорная М.Н., Софронова И.Н.</i> ОСНОВНЫЕ РЕГУЛЯТОРЫ РАЗВИТИЯ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КАМБИЯ У ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ.....	207-210
<i>Гатауллина М.О., Селиванова Н.В., Епринцев А.Т.</i> ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ФЕРМЕНТОВ МАЛАТДЕГИДРОГЕНАЗНОЙ СИСТЕМЫ В МЕЗОФИЛЛЕ ЛИСТЬЕВ КУКУРУЗЫ В СТРЕССОВЫХ УСЛОВИЯХ.....	211-215
<i>Гвильдис Д.Э., Омеличкина Ю.В., Бояркина С.В., Максимова Л.А., Семёнов А.А., Еникеев А.Г., Шафикова Т.Н.</i> ФТАЛАТЫ РАСТЕНИЙ И ИХ УЧАСТИЕ В ЗАЩИТНОМ ОТВЕТЕ ПРОТИВ ФИТОПАТОГЕНОВ.....	216-220
<i>Генерозова И.П., Буцанец П.А., Шугаев А.Г.</i> ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС У ПРОРОСТКОВ ГОРОХА В ПЕРИОД ВОССТАНОВЛЕНИЯ ПОСЛЕ ДЕЙСТВИЯ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ФАКТОРОВ.....	221-225
<i>Головацкая И.Ф., Кадырбаев М.К., Бендер О.Г., Плюснин И.Н., Ефимова М.В.</i> ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ 24-ЭПИБРАССИНОЛИДА НА РАСТЕНИЯ- РЕГЕНЕРАНТЫ КАРТОФЕЛЯ СОРТА ЛУГОВСКОЙ ПРИ АДАПТАЦИИ К УСЛОВИЯМ ГИДРОПОНИКИ.....	226-228
<i>Головацкая И.Ф., Лошкарева Т.В., Бойко Е.В., Лаптев Н.И.</i> ВЛИЯНИЕ СЕЛЕКТИВНОГО СВЕТА НА УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ <i>MELILOTUS ALBUS</i> К СЕЛЕНУ <i>IN VITRO</i>	229-232
<i>Гончарова А.М., Ломоватская Л.А.</i> ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ НАРИНГЕНИНА НА РОСТ, СИГНАЛИНГ И АКТИВНОСТЬ ФАКТОРОВ ВИРУЛЕНТНОСТИ У <i>RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM</i> BV. <i>VICSAE</i> И <i>PSEUDOMONAS SYRINGAE</i> PV. <i>PISI</i>	233-235
<i>Гончарова Э.А., Мурашев С.В.</i> ПЛОДОНОШЕНИЕ КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ И МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ РОЛЬ ВОДЫ «ОТ КОРНЯ ДО СЕМЕНИ».....	236-237
<i>Грабельных О.И., Побежимова Т.П., Боровик О.А., Забанова Н.С., Степанов А.В., Любушкина И.В., Корсукова А.В., Войников В.К.</i> АЛЬТЕРНАТИВНАЯ ОКСИДАЗА МИТОХОНДРИЙ И УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ К ГИПО- И ГИПЕРТЕРМИИ.....	238-240
<i>Грошева Е.В., Маслова М.В., Будаговский А.В., Будаговская О.Н.</i> РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ СНИЖЕНИЯ ЗАРАЖЕННОСТИ СЕМЯН РЕДКОЙ ДЕКОРАТИВНОЙ КУЛЬТУРЫ <i>ORMOSIA NOSIETI</i>	241-244
<i>Гулов С.М., Абдуллаев Х.А., Дадобоева М.Б., Хакимова Р.Ш.</i> ОСОБЕННОСТИ РОСТА ПОБЕГОВ И ФОРМИРОВАНИЕ ЛИСТОВОЙ ПОВЕРХНОСТИ У ЦИТРУСОВЫХ В РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ ВЫРАЩИВАНИЯ.....	245-248
<i>Гурина В.В., Озолина Н.В., Нестёркина И.С., Спиридонова Е.В.</i> ГЛИКОГЛИЦЕРОЛИПИДЫ ТОНОПЛАСТА ПОД ВЛИЯНИЕМ АБИОТИЧЕСКИХ СТРЕССОВ.....	249-251
<i>Давлятназарова З.Б., Алиев К., Баратова Н.Г., Норкулов Н.Х., Каспарова И.С., Алиев У.К.</i> АКТИВНОСТЬ ПЕРОКСИДАЗ В РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНАХ РАСТЕНИЙ БАТАТА В УСЛОВИЯХ СОЛЕВОГО СТРЕССА.....	252-255
<i>Давлятова Д.М., Ниязмухамедова М.Б., Бердыев Д., Рахимов М.М., Косумбекова Ф.А., Камолов Н.</i> СОДЕРЖАНИЕ ВОДЫ В ЛИСТЬЯХ НЕКОТОРЫХ ГАЛОФИТОВ И КСЕРОФИТОВ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В АРИДНОЙ ЗОНЕ ТАДЖИКИСТАНА.....	256-258
<i>Дерябин А.Н., Астахова Н.В., Алиева Г.П., Трунова Т.И.</i> ЗАВИСИМОСТЬ ФОРМИРОВАНИЯ ХОЛОДОУСТОЙЧИВОСТИ У РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ ОТ ОСОБЕННОСТЕЙ УГЛЕВОДНОГО МЕТАБОЛИЗМА.....	259-263

<i>Джумаев Б.Б., Ёдгоров Х., Атоев М.Х., Сафаров Ё.Х., Абдуллаев А.</i> НЕКОТОРЫЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ У РАЗНЫХ СОРТОВ БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ ЗАСУХИ	264-267
<i>Дмитриева А.М., Белькова Н.Л.</i> ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНА, КОДИРУЮЩЕГО ПРОДУКЦИЮ 2,4-ДИАЦЕТИЛ-ФЛОРОГЛЮЦИНОЛА, В ГЕНОМАХ БАКТЕРИЙ РОДА <i>PSEUDOMONAS</i>	268-272
<i>Дорофеев Н.В., Поморцев А.В., Соколова Л.Г., Зорина С.Ю., Катъшева Н.Б.</i> РЕАКЦИЯ УЗЛОВ КУЩЕНИЯ ОЗИМОГО ТРИТИКАЛЕ В ПЕРИОД ВЕСЕННЕГО ВОЗОБНОВЛЕНИЯ РОСТА НА РАЗНЫЕ УРОВНИ УВЛАЖНЕНИЯ ПОЧВЫ.....	273-277
<i>Дударева Л.В., Рудиковская Е.Г.</i> УЧАСТИЕ ФОТОПРОТЕКТОРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ФЕНОЛЬНОЙ ПРИРОДЫ В РЕАКЦИИ ТКАНЕЙ ЛИСТЬЕВ <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> НА ДЕЙСТВИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ.....	278-281
<i>Евлаков П.М., Заплетин В.Ю.</i> МОРФОАНАТОМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТОПОЛЕЙ КАК ПОКАЗАТЕЛЬ ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ.....	282-285
<i>Евлаков П.М., Ржевский С.Г., Гродецкая Т.А.</i> ОЦЕНКА МОРОЗОУСТОЙЧИВОСТИ ТОПОЛЕЙ В УСЛОВИЯХ ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ.....	286-288
<i>Евсеева Н.В., Ткаченко О.В., Бурьгин Г.Л., Денисова А.Ю., Матора Л.Ю., Щеголев С.Ю.</i> РАСТИТЕЛЬНО-БАКТЕРИАЛЬНЫЕ АССОЦИАЦИИ ПРИ ОСМОТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ В УСЛОВИЯХ <i>IN VITRO</i>	289-292
<i>Егоренкова И.В., Трегубова К.В., Игнатов В.В.</i> ГИДРОЛИТИЧЕСКИЕ ЭКЗОФЕРМЕНТЫ РОСТСТИМУЛИРУЮЩИХ РИЗОБАКТЕРИЙ <i>RAENIBACILLUS POLYМУХА</i>	293-296
<i>Емельянова Е.В., Соляникова И.П.</i> ИЗУЧЕНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЮГЛОНА НА ИНТАКТНЫЕ И ИММОБИЛИЗОВАННЫЕ МИКРОБНЫЕ КЛЕТКИ.....	297-301
<i>Емельянова Е.В., Соляникова И.П.</i> РЕАКЦИИ ИНТАКТНЫХ И ИММОБИЛИЗОВАННЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КЛЕТОК НА БЕНЗОАТ И ЕГО ПРОИЗВОДНЫЕ	302-306
<i>Ершова А.Н., Баркалова О.Н., Долбилина С.Е.</i> РЕГУЛЯЦИЯ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ФОРМ В-ГЛЮКОЗИДАЗЫ РАСТЕНИЙ МЕТАБОЛИТАМИ И ФАКТОРАМИ СРЕДЫ.....	307-311
<i>Ершова А.Н., Бердникова О.С.</i> АКТИВНОСТЬ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ЛИПОКСИГЕНАЗЫ РАСТЕНИЙ ГОРОХА В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ И CO ₂ -СРЕДЫ.....	312-315
<i>Ефимова М.В.</i> ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ПОВЫШЕНИЯ СОЛЕУСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ <i>SOLANUM TUBEROSUM</i> L. БРАССИНОСТЕРОИДАМИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СПОСОБА ВОЗДЕЙСТВИЯ	316-320
<i>Живетъев М.А., Семенова Н.В., Дударева Л.В., Граскова И.А., Букин Ю.С.</i> БИОИНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ, ЭКСТРАГИРОВАННЫХ ИЗ <i>VERONICA CHAMAEDRYS</i> , <i>ALCHEMILLA SUBCRENATA</i> И <i>ANDROMEDA POLYFOLIA</i>	321-322
<i>Жигачева И.В., Русина И.Ф.</i> ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МИТОХОНДРИЙ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА В УСЛОВИЯХ ДЕФИЦИТА ВОДЫ.....	323-327
<i>Жидкова Е.Н., Новожилов А.А.</i> ФИТОНЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ДРЕВЕСНО-КУСТАРНИКОВЫХ РАСТЕНИЙ ПО СИСТЕМЕ БИОТЕСТОВ.....	328-331
<i>Жуков А.В.</i> ВЛИЯНИЕ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ УСЛОВИЙ СРЕДЫ НА СОСТАВ И СОДЕРЖАНИЕ В РАСТЕНИЯХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ С ОЧЕНЬ ДЛИННОЙ ЦЕПЬЮ.....	332-335

<i>Жуковская Н.В., Быстрова Е.И., Лунькова Н.Ф., Иванов В.Б.</i> КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ ИЗМЕНЕНИЕ СКОРОСТИ РОСТА КОРНЯ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СТРЕССОВЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ.....	336-339
<i>Журавлева М.А., Банкина Т.А., Канаиш Е.В., Семенов К.Н., Чарыков Н.А., Аникина Л.М., Удалова О.Р., Хомяков Ю.В., Вертебный В.Е., Журавлева А.С., Панова Г.Г.</i> ВЛИЯНИЕ АДДУКТА ФУЛЛЕРЕНА C ₆₀ С ТРЕОНИНОМ НА ПРОДУКТИВНОСТЬ, ЭЛЕМЕНТНЫЙ И БИОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ ЗАСУХИ	340-345
<i>Захарченко Н.С., Пиголева С.В., Фурс О.В., Креславский В.Д., Кособрюхов А.А., Дьяченко О.В., Бурьянов Я.И., Шевчук Т.В.</i> ПОВЫШЕННАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ К БИОТИЧЕСКИМ И АБИОТИЧЕСКИМ СТРЕССАМ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ РАПСА С СИНТЕТИЧЕСКИМ ГЕНОМ АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА ЦЕКРОПИНА P1	346-349
<i>Захарченко Н.С., Фурс О.В., Дьяченко О.В., Бурьянов Я.И., Шевчук Т.В.</i> ПОЛУЧЕНИЕ БИОБЕЗОПАСНЫХ БЕЗМАРКЕРНЫХ РАСТЕНИЙ <i>CAMELINA SATIVA</i> L. С ПОВЫШЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ФИТОПАТОГЕНАМ	350-353
<i>Землянухина О.А., Черкасова Н.Н., Жужжалова Т.П., Калаев В.Н.</i> ПОЛУЧЕНИЕ И БИОХИМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА РЕГЕНЕРАНТОВ САХАРНОЙ СВЁКЛЫ С УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ЭДАФИЧЕСКИМ ФАКТОРАМ.....	354-357
<i>Иванов А.А., Кособрюхов А.А.</i> ОБРАТИМОСТЬ ПОВРЕЖДЕНИЙ МЕМБРАН КЛЕТОК ЛИСТЬЕВ ПШЕНИЦЫ ПОСЛЕ КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ ВОДНО-СОЛЕВОГО СТРЕССА.....	358-361
<i>Иванова К.А., Кулаева О.А., Кусакин П.Г., Цыганова А.В., Цыганов В.Е.</i> РОЛЬ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ТИОЛОВ В ПРОЦЕССАХ ФОРМИРОВАНИЯ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ СИМБИОТИЧЕСКОГО КЛУБЕНЬКА ГОРОХА ПОСЕВНОГО (<i>PISUM SATIVUM</i>)	362-365
<i>Иванова М.В., Суворова Г.Г.</i> ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ СУММАРНЫХ ЛИПИДОВ ХВОЙНЫХ В УСЛОВИЯХ ВЕГЕТАЦИИ.....	366-369
<i>Иванова Т.В., Воронков А.С., Кузнецова Э.И., Кумахова Т.Х.</i> ОСОБЕННОСТИ ПЛОДОВ МУШМУЛЫ (<i>MESPILUS GERMANICA</i>) В СВЯЗИ С АДАПТАЦИЕЙ К ГОРНЫМ УСЛОВИЯМ ПРОИЗРАСТАНИЯ.....	370-374
<i>Иванова Т.В., Воронков А.С., Кумахова Т.Х., Кузнецова Э.И.</i> ПЛОДЫ <i>SYDONIA OBLONGA</i> В УСЛОВИЯХ ВЫСОТНОЙ ПОЯСНОСТИ.....	375-379
<i>Иванова Ю.С., Фомина М.Н.</i> ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ВЫРАЩИВАНИЯ НА ФОРМИРОВАНИЕ КАЧЕСТВА В ЗЕРНЕ ГОЛОЗЕРНОГО ОВСА.....	380-383
<i>Икконен Е.Н., Грабельных О.И., Шерудило Е.Г., Шibaева Т.Г.</i> ВЛИЯНИЕ КРАТКОВРЕМЕННЫХ ПЕРИОДИЧЕСКИХ ПОНИЖЕНИЙ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ПУТИ ДЫХАНИЯ ТЕПЛОЛЮБИВЫХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ.....	384-388
<i>Икконен Е.Н., Сидорова В.А., Шibaева Т.Г., Юркевич М.Г.</i> ОЦЕНКА ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО ОТКЛИКА <i>ALLIUM CEP A</i> L. НА СОДЕРЖАНИЕ ШУНГИТА В ПОЧВЕ.....	389-391
<i>Ищенко А.А., Глянько А.К.</i> ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ БОБОВОГО РАСТЕНИЯ С РАЗЛИЧНЫМИ ШТАММАМИ КЛУБЕНЬКОВЫХ И ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ НА УРОВНЕ ОТДЕЛЬНЫХ КОМПОНЕНТОВ КАЛЬЦИЕВОЙ И NO-СИНТАЗНОЙ СИГНАЛЬНЫХ СИСТЕМ.....	392-396
<i>Канаиш Е.В., Мирская Г.В., Русаков Д.В., Чесноков Ю.В.</i> ОПТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЛИСТЬЕВ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ И ОТЗЫВЧИВОСТИ НА ВНЕСЕНИЕ АЗОТНЫХ УДОБРЕНИЙ.....	397-401
<i>Каспарова И.С., Давлятназарова З.Б., Алиев К., Расулов Б.Х.</i> ЭНДОГЕННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ФОТОСИНТЕЗА ЛИСТЬЕВ ХЛОПЧАТНИКА ПРИ КОРНЕВОЙ ГИПОКСИИ.....	402-405

<i>Кириенко А.Н., Долгих Е.А.</i> РЕГУЛЯЦИЯ РАЗВИТИЯ СИМБИОТИЧЕСКИХ СТРУКТУР ПРИ БОБОВО-РИЗОБИАЛЬНОМ СИМБИОЗЕ С УЧАСТИЕМ LYSM-РЕЦЕПТОРА K1.....	406-409
<i>Киселева Г.К., Ненько Н.И., Караваяева А.В., Ульяновская Е.В.</i> ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АДАПТАЦИИ СОРТОВ ЯБЛОНИ С РАЗЛИЧНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ПАРШЕ В УСЛОВИЯХ ВЫСОКОТЕМПЕРАТУРНОГО СТРЕССА.....	410-413
<i>Клименко О.Е., Клименко Н.И.</i> ОПРЕДЕЛЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ПЛОДОВЫХ РАСТЕНИЙ К КИСЛОТНОМУ СТРЕССУ.....	414-417
<i>Клушевская Е.С.</i> ИЗМЕНЧИВОСТЬ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ <i>PINUS SYLVESTRIS</i> L. В КОНТРАСТНЫЕ ПО МЕТЕОУСЛОВИЯМ ГОД.....	418-422
<i>Комарова Н.Р., Сорокина Т.В., Фалалева М.И., Епринцев А.Т.</i> РОЛЬ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ И ЛЦО-ПОДОБНОЙ ГЛИКОЛАТОКСИДАЗЫ В АДАПТИВНОЙ РЕАКЦИИ КЛЕТОЧНОГО МЕТАБОЛИЗМА В РАСТЕНИЯХ ПРИ ЗАТОПЛЕНИИ ИХ КОРНЕВОЙ СИСТЕМЫ.....	423-426
<i>Кондакова М.А., Уколова И.В., Боровский Г.Б., Войников В.К.</i> МИТОХОНДРИАЛЬНЫЕ ДЕГИДРИНЫ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА: ЛОКАЛИЗАЦИЯ И НАТИВНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ В НОРМЕ И ПРИ ГИПОТЕРМИИ.....	427-429
<i>Кондратьев М.Н., Ларикова Ю.С.</i> РОЛЬ ОМИЧЕСКОЙ И СИСТЕМОЙ БИОЛОГИИ В ПОНИМАНИИ ОТВЕТНЫХ АБИОТИЧЕСКИХ СТРЕССОВЫХ РЕАКЦИЙ У РАСТЕНИЙ.....	430-434
<i>Коротаева Н.Е., Иванова М.В., Суворова Г.Г., Боровский Г.Б.</i> ДЕГИДРИНЫ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ И ЕЛИ СИБИРСКОЙ В СЕЗОННОМ ЦИКЛЕ.....	435-439
<i>Кособрюхов А.А., Мартиросян Ю.Ц., Креславский В.Д., Мартиросян В.В.</i> ДИНАМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ АКТИВНОСТИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ПРИ ИЗМЕНЕНИИ ОТНОШЕНИЯ СИНЕГО ДИАПАЗОНА СПЕКТРА ФАР К КРАСНОМУ.....	440-442
<i>Котова Л.М., Котов А.А.</i> РОЛЬ ГИББЕРЕЛЛИНОВ В КОРРЕЛЯТИВНОМ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ ПОБЕГОВ У РАСТЕНИЙ ГОРОХА.....	443-447
<i>Крыжко А.В., Кузнецова Л.Н.</i> АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ ЭКСТРАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ КАРТОФЕЛЯ НА <i>BACILLUS</i> <i>THURINGIENSIS</i>	448-449
<i>Кузакова О.В., Ломоватская Л.А., Романенко А.С.</i> МОДУЛЯЦИЯ УРОВНЯ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА И КОМПОНЕНТОВ АДЕНИЛАТЦИКЛАЗНОЙ СИГНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ В КОРНЯХ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЭФФЕКТИВНОСТИ ШТАММОВ <i>RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM</i> BV. <i>VICEAE</i>	450-453
<i>Купряшина М.А., Никитина В.Е.</i> ВЛИЯНИЕ ФЕРУЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА ФЕНОЛОКСИДАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ АЗОСПИРИЛЛ.....	454-457
<i>Лазукин А.В., Сердюков Ю.А., Саидова Л.Т., Лилленберг А.И., Кауер Е.А., Кривов С.А.</i> ДЕЙСТВИЕ ОБРАБОТКИ ПРОДУКТАМИ ПОВЕРХНОСТНОГО РАЗРЯДА СЕМЯН ОЗИМОЙ РЖИ НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ И АНТИОКСИДАНТНЫЕ ФЕРМЕНТЫ ПРОРОСТКОВ.....	458-461
<i>Лептянен И.В., Бовин А.Д., Долгих Е.А.</i> УЧАСТИЕ ГЕТЕРОТРИМЕРНЫХ G-БЕЛКОВ В СИГНАЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ РАСТЕНИЙ ГОРОХА С СИМБИОТИЧЕСКИМИ И ПАТОГЕННЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ.....	462-465
<i>Лисник С.С., Корецкая Ю.Л.</i> АКТИВНОСТЬ НИТРАТРЕДУКТАЗЫ, ПЕРОКСИДАЗЫ И СОДЕРЖАНИЕ ПРОЛИНА В ЛИСТЬЯХ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ ПРИ ИЗБЫТКЕ МАРГАНЦА В СРЕДЕ.....	466-470
<i>Ловягина Е.Р., Семин Б.К.</i> МЕХАНИЗМ СНИЖЕНИЯ КИСЛОРОД-ВЫДЕЛЯЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ ФОТОСИСТЕМЫ 2 ПРИ КИСЛЫХ pH.....	471-474
<i>Локтюшкин А.В., Ловягина Е.Р., Семин Б.К.</i> ТОКСИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ ТЕРБИЯ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ФОТОСИСТЕМЫ 2 ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ.....	475-478

<i>Лощинина Е.А., Никитина В.Е.</i> ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ СТРЕССОВЫХ МЕТАБОЛИТОВ КСИЛОТРОФНЫХ БАЗИДИОМИЦЕТОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ МИКРООРГАНИЗМОВ	479-483
<i>Лукаткин А.С., Лукишина Т.А., Ведяшкина О.А., Куренина Л.В., Гулевич А.А., Баранова Е.Н.</i> СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ БИОХИМИЧЕСКИХ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ ИСХОДНОЙ И ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ ЛИНИЙ ТАБАКА <i>IN VITRO</i> НА ДЕЙСТВИЕ ТЕМПЕРАТУРНОГО СТРЕССА.....	484-487
<i>Макарова Л.Е., Мориц А.С., Соколова Н.А., Нестеркина И.С.</i> ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТАВА ФТАЛАТОВ В КОРНЕВЫХ ЭКССУДАТАХ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА, ИНОКУЛИРОВАННЫХ <i>RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM</i> BV. <i>VISEAE</i> И <i>PSEUDOMONAS</i> <i>SYRINGAE</i> PV. <i>PISI</i> ПРИ РАЗНЫХ ТЕМПЕРАТУРАХ.....	488-491
<i>Максимов Т.Х., Кононов А.В., Максимов А.П., Петров Р.Е., Терентьева М.П.</i> ОСОБЕННОСТИ УГЛЕРОДНОГО И ВОДНОГО ЦИКЛОВ ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМ КРИОЛИТОЗОНЫ В КОНТЕКСТЕ ГЛОБАЛЬНОГО ИЗМЕНЕНИЯ КЛИМАТА.....	492-495
<i>Малева М.Г., Синенко О.С., Киселева И.С., Латовски Д., Стржалка К.</i> РЕАКЦИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА РАЗНОВОЗРАСТНЫХ КЛЕТОК МЕЗОФИЛЛА ЯЧМЕНЯ НА ТЕМПЕРАТУРНОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ.....	496-500
<i>Масимгазиева А.С., Абуғалиева А.И., Моргунов А.И., Кожахметов К.</i> ХАРАКТЕРИСТИКА КОРНЕВОЙ СИСТЕМЫ И СКРИНИНГ НА ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТЬ ДИКИХ СОРОДИЧЕЙ ПШЕНИЦЫ.....	501-505
<i>Масленникова Д.Р., Аллагулова Ч.Р., Плотников А.А., Шакирова Ф.М.</i> ВЛИЯНИЕ NO НА СОСТОЯНИЕ КОМПОНЕНТОВ ГЛУТАТИОНОВОГО КОМПЛЕКСА В УСЛОВИЯХ ЗАСОЛЕНИЯ.....	506-509
<i>Масленникова Д.Р., Лубянова А.Р., Плотников А.А., Казыханова Г.Ш., Аллагулова Ч.Р., Шакирова Ф.М.</i> СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ МЕТИЛЖАСМОНАТА И 6-БЕНЗИЛАМИНОПУРИНА НА АНТИОКСИДАНТЫЙ СТАТУС РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ ОБЕЗВОЖИВАНИИ.....	510-511
<i>Маслова М.В., Грошева Е.В., Будаговский А.В., Будаговская О.Н.</i> ЛАЗЕРНАЯ ДИАГНОСТИКА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ РАСТЕНИЙ ТОМАТА ПРИ ОЦЕНКЕ ИХ УСТОЙЧИВОСТИ К ТОКСИНАМ БАКТЕРИИ <i>CLAVIBACTER</i> <i>MICHIGANENSIS</i>	512-516
<i>Минич А.С., Минич И.Б., Иваницкий А.Е., Верховод М.К., Иванова И.Д., Гизбрехт С.В.</i> ОТВЕТНЫЕ РОСТОВЫЕ РЕАКЦИИ ПРОРОСТКОВ <i>CUCUMIS SATIVUS</i> НА ПРЕДПОСЕВНУЮ ОБРАБОТКУ СЕМЯН ПЛАЗМОЙ БАРЬЕРНОГО РАЗРЯДА.....	517-521
<i>Минич И.Б., Минич А.С., Иваницкий А.Е., Гизбрехт А.В., Гизбрехт С.В.</i> ВЛИЯНИЕ ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО НИЗКОИНТЕНСИВНОГО УЗКОПОЛОСНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА МОРФОГЕНЕЗ И ПРОДУКТИВНОСТЬ <i>LACTUCA SATIVA</i>	522-526
<i>Мирская Г.В., Канаиш Е.В., Кочерина Н.В., Рушина Н.А., Русаков Д.В., Чесноков Ю.В.</i> КАРТИРОВАНИЕ QTL, ОПРЕДЕЛЯЮЩИХ ПРОЯВЛЕНИЕ ПРИЗНАКОВ ЗЕРНОВОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ У ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ (<i>TRITICUM AESTIVUM</i> L.), ПРИ РАЗЛИЧНЫХ УРОВНЯХ АЗОТНОГО ПИТАНИЯ.....	527-530
<i>Мотылева С.М., Симонов В.С., Панищева Д.В.</i> МЕТАБОЛИЧЕСКОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ ЛИСТЬЕВ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА <i>PRUNUS</i> L. ДЛЯ ПОИСКА БИОМАРКЕРОВ УСТОЙЧИВОСТИ К КЛЯСТЕРОСПОРИОЗУ.....	531-534
<i>Нарайкина Н.В., Трунова Т.И.</i> АКТИВНОСТЬ ИЗОФОРМ КАТАЛАЗЫ ПРИ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОМ ЗАКАЛИВАНИИ КОНТРОЛЬНЫХ И ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ ГЕНОМ <i>DESA</i> Δ 12-АЦИЛ-ЛИПИДНОЙ ДЕСАТУРАЗЫ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ.....	535-539
<i>Ненько Н.И., Киселева Г.К., Ульяновская Е.В., Мишко А.Е., Караваева А.В.</i> ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ СОРТОВ ВИНОГРАДА НА ВОЗДЕЙСТВИЕ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ ЛЕТНЕГО ПЕРИОДА.....	540-543
<i>Нестеркина И.С., Озолина Н.В., Спиридонова Е.В., Гурина В.В., Нурминский В.Н., Третьякова А.В., Нестеров В.Н.</i> РОЛЬ ЛИПИДНЫХ РАФТОВ В ЗАЩИТНЫХ МЕХАНИЗМАХ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ..	544-548

<i>Никерова К.М., Галибина Н.А., Мощенская Ю.Л., Новицкая Л.Л., Подгорная М.Н., Софронова И.Н.</i>	
ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ АОС – БИОХИМИЧЕСКИЙ ИНДИКАТОР СЦЕНАРИЯ КСИЛОГЕНЕЗА ПРИ РАЗНОМ СООТНОШЕНИИ ПОДВИЖНЫХ ФОРМ АЗОТА И ФОСФОРА В ПОЧВЕ.....	549-553
<i>Николаева М.К., Маевская С.Н., Воронин П.Ю.</i>	
ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОТВЕТЫ ПРОРОСТКОВ КУКУРУЗЫ НА ЗАСУХУ И РЕГИДРАТАЦИЮ.....	554-557
<i>Новицкая Л.Л., Галибина Н.А., Мощенская Ю.Л., Никерова К.М., Тарелкина Т.В., Подгорная М.Н., Софронова И.Н., Семенова Л.И.</i>	
ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ КАМБИАЛЬНОЙ ЗОНЫ БЕРЕЗЫ ПОВИСЛОЙ НА НАРУШЕНИЕ ТРАНСПОРТА АССИМИЛЯТОВ	558-562
<i>Норбоева У.Т.</i>	
ВОДНЫЙ ОБМЕН И СОЛЕУСТОЙЧИВОСТЬ СОРТОВ ХЛОПЧАТНИКА.....	563-566
<i>Норбоева У.Т.</i>	
ПОЧВЕННОЕ ЗАСОЛЕНИЕ И СОЛЕУСТОЙЧИВОСТЬ СОРТОВ ХЛОПЧАТНИКА.....	567-570
<i>Обручева Н.В., Литягина С.В., Синькевич И.А.</i>	
РОЛЬ ПЛАЗМАЛЕММНОЙ Н ⁺ -АТФазы В ПРОРАСТАНИИ СЕМЯН.....	571-574
<i>Обручева Н.В., Синькевич И.А., Литягина С.В.</i>	
ВЫХОД СЕМЯН КОНСКОГО КАШТАНА ИЗ ГЛУБОКОГО ПОКОЯ И АКТИВАЦИЯ ПЛАЗМАЛЕММНОЙ Н ⁺ -АТФазы.....	575-579
<i>Озолина Н.В.</i>	
МЕЖМЕМБРАННЫЕ КОНТАКТЫ В ЗАЩИТЕ КЛЕТКИ ОТ СТРЕССОВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ.....	580-583
<i>Орлова Ю.В., Майорова О.В., Халилова Л.А., Мясоедов Н.А., Неделяева О.И., Попова Л.Г., Балнокин Ю.В.</i>	
РАСПРЕДЕЛЕНИЕ КАЛИЯ В СИСТЕМЕ ЦЕЛОГО РАСТЕНИЯ У ГАЛОФИТА <i>SUAEDA ALTISSIMA</i> (L.) PALL. В УСЛОВИЯХ ЗАСОЛЕНИЯ.....	584-588
<i>Осипова Л.В., Курносова Т.Л., Быковская И.А., Верниченко И.В., Носиков В.В., Литвинский В.А.</i>	
ВЛИЯНИЕ МИНЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ НА АДАПТИВНЫЕ РЕКЦИИ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ ПРИ ДЕЙСТВИИ АБИОТИЧЕСКОГО СТРЕССА.....	589-591
<i>Павлова А.Г., Перфильева А.И., Цивилева О.М.</i>	
ИЗУЧЕНИЕ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ВОЗБУДИТЕЛЯ КОЛЬЦЕВОЙ ГНИЛИ КАРТОФЕЛЯ <i>CLAVIBACTER MICHIGANENSIS</i> SSP. <i>SEPEDONICUS</i> В ПРИСУТСТВИИ МЕТАЛЛОСОДЕРЖАЩИХ ПРЕПАРАТОВ ИЗ ВЫСШИХ ГРИБОВ.....	592-594
<i>Павлова А.М., Тихомиров А.А., Гаевский Н.А., Голованова Т.И., Тихомирова Н.А., Ушакова С.А., Грибовская И.В.</i>	
МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ПРОДУКЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ РАСТЕНИЙ <i>NASTURTIUM</i> <i>OFFICINALE</i> R. ВР. ПРИ РАЗЛИЧНЫХ УРОВНЯХ ЗАСОЛЕНИЯ ПРИМЕНИТЕЛЬНО К УСЛОВИЯМ ЗАМКНУТОЙ ЭКОСИСТЕМЫ.....	595-598
<i>Павловская Н.Е., Гаврилова А.Ю., Гуляева К.Н.</i>	
РАЗЛИЧНЫЕ ФОРМЫ СМЕРТИ РАСТЕНИЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ БИОТИЧЕСКИХ И АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ	599-603
<i>Павловская Н.Е., Костромичева Е.В.</i>	
ГОРДЕЦИН - НОВОЕ БИОЛОГИЧЕСКОЕ СРЕДСТВО ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ ОТ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БОЛЕЗНЕЙ.....	604-607
<i>Панова Г.Г., Канаиш Е.В., Семенов К.Н., Чарыков Н.А., Хомяков Ю.В., Аникина Л.М., Удалова О.Р., Вертебный В.Е., Русаков Д.В., Блохина С.Ю.</i>	
ПРИМЕНЕНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ ФУЛЛЕРЕНА ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ К ОКИСЛИТЕЛЬНОМУ СТРЕССУ.....	608-612
<i>Панфилова О.Ф., Пильщикова Н.В.</i>	
ВОДНЫЙ СТРЕСС В ЖИЗНИ СРЕЗКИ РОЗЫ (<i>ROSA HYBRIDA</i> L.)	613-617

<i>Пахомова В.М., Дамина А.И.</i> ПРИМЕНЕНИЕ АНТИОКСИДАНТОВ В РАСТЕНИЕВОДСТВЕ ПРИ ДЕЙСТВИИ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ СРЕДЫ.....	618-622
<i>Пахомова В.М., Дамина А.И., Гайсин И.А.</i> АДАПТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР ПРИ ДЕЙСТВИИ И ПОСЛЕДЕЙСТВИИ ХЕЛАТНЫХ МИКРОУДОБРЕНИЙ С АНТИОКСИДАНТНЫМ ЭФФЕКТОМ.....	623-625
<i>Перфильева А.И., Граскова И.А., Ножкина О.А., Сухов Б.Г.</i> НАНОКОМПОЗИТЫ СЕЛЕНА В ПРИРОДНЫХ МАТРИЦАХ, ИХ ВЛИЯНИЕ НА КАРТОФЕЛЬ И ВОЗБУДИТЕЛЬ КОЛЬЦЕВОЙ ГНИЛИ.....	626-629
<i>Петров К.А., Нохсоров В.В., Перк А.А., Чепалов В.А.</i> ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ ОСЕННЕГО КРИОКОРМА ЖИВЫХ ОРГАНИЗМОВ В УСЛОВИЯХ ЯКУТИИ.....	630-633
<i>Пириев И.Т., Самедова А.Д., Аннагиева М.А., Салаева Х.Л., Ширвани Т.С.</i> ИЗУЧЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ АЗОТНОГО МЕТАБОЛИЗМА РАСТЕНИЙ ТЫКВЫ ПРИ КОМПЛЕКСНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ КОБАЛЬТА И ЗАСОЛЕНИЯ.....	634-638
<i>Пляскина И.Н., Бондаревич Е.А.</i> ВЛИЯНИЕ ХЛОРИДНОГО ЗАСОЛЕНИЯ НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ПРОРОСТКОВ ДИКОРАСТУЩИХ ЗЛАКОВ ВОСТОЧНОГО ЗАБАЙКАЛЯ.....	639-642
<i>Полянская С.Н., Шуканов В.П., Корытько Л.А., Мельникова Е.В., Гончарук В.М., Бруй И.Г.</i> ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ НОВЫХ ПРЕПАРАТОВ ФУНГИЦИДНОГО И РЕГУЛЯТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ НА РАСТЕНИЯ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ.....	643-647
<i>Прадедова Е.В., Карпова А.Б., Нимаева О.Д., Саляев Р.К.</i> СИСТЕМА АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ВАКУОЛИ. СРАВНЕНИЕ СИСТЕМЫ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ ВАКУОЛЕЙ, ПЛАСТИД И МИТОХОНДРИЙ КЛЕТОК КОРНЕПЛОДОВ СТОЛОВОЙ СВЕКЛЫ	648-652
<i>Прудникова О.Н., Карягин В.В., Ракитина Т.Я., Ракитин В.Ю.</i> УФ-В ИНДУЦИРОВАННОЕ ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ПОЛИАМИНОВ И УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ <i>ARABIDOPSIS THALIANA ACL5 SPMS 1-1</i>	653-654
<i>Прудникова О.Н., Карягин В.В., Ракитина Т.Я., Ракитин В.Ю.</i> УЧАСТИЕ СИГНАЛЬНОГО ПУТИ ЭТИЛЕНА В УФ-В ИНДУЦИРОВАННОМ НАКОПЛЕНИИ АБК В <i>ARABIDOPSIS THALIANA WT</i> И НЕ СИНТЕЗИРУЮЩЕМ СПЕРМИН МУТАНТЕ <i>SPMS 1-1</i>	655-658
<i>Пузина Т.И., Макеева И.Ю., Прудников П.С., Цуканова М.А.</i> ПРОЦЕССЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ У <i>SOLANUM TUBEROSUM</i> ПРИ ДЕЙСТВИИ ГИПОТЕРМИИ И ЗАСУХИ.....	659-663
<i>Пухальская Н.В., Казарцева А.Д.</i> ДИНАМИКА РОСТА ВЫСОКОСОЛЕВЫХ И НИЗКОСЕЛЕВЫХ КОРНЕЙ ПРОРОСТКОВ ТРИТИКАЛЕ.....	664-665
<i>Рахманкулова З.Ф., Шуйская Е.В., Воронин П.Ю.</i> РАЗНАЯ РОЛЬ ПРОЛИНА В ЗАЩИТНЫХ МЕХАНИЗМАХ C ₃ И C ₄ КСЕРО-ГАЛОФИТОВ РОДА <i>ATRIPLEX</i> В УСЛОВИЯХ ВОДНОГО ДЕФИЦИТА И ЗАСОЛЕНИЯ.....	666-669
<i>Рогожин Е.А.</i> СРАВНИТЕЛЬНЫЙ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЗАЩИТНЫХ БЕЛКОВ И ПЕПТИДОВ ДИКОРАСТУЩИХ И КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА СЛОЖНОЦВЕТНЫЕ (<i>COMPOSITAE</i>): ВЫЯВЛЕНИЕ ДЕТЕРМИНАНТ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИХ ПОВЫШЕННУЮ УСТОЙЧИВОСТЬ К БИОТИЧЕСКИМ СТРЕССОВЫМ ФАКТОРАМ.....	670-673
<i>Романова И.М., Живетьев М.А., Граскова И.А.</i> БИОИНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ ИЗОФЕРМЕНТНОГО СОСТАВА ПЕРОКСИДАЗЫ ХВОИ <i>PINUS SYLVESTRIS L.</i>	674-677
<i>Рошка Н.Д., Баранова Н.В., Ворнику З.Н., Железняк Т.Г.</i> НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ВОЗДЕЛЫВАНИЯ ПАССИФЛОРЫ В МОЛДОВЕ.....	678-681
<i>Рудиковская Е.Г., Дударева Л.В., Шишпаренок А.А., Li P., Осипова С.В., Рудиковский А.В.</i> ЗАКОНОМЕРНОСТИ НАКОПЛЕНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ В ПЛОДАХ ЯБЛОНИ СИБИРСКОЙ, ЯБЛОНИ ДОМАШНЕЙ И ИХ ГИБРИДОВ, ВЫРАЩЕННЫХ В УСЛОВИЯХ ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ.....	682-686

<i>Румянцев С.Д., Бурханова Г.Ф., Веселова С.В., Максимов И.В.</i> РОЛЬ САЛИЦИЛАТ- И ЖАСМОНАТ-ЗАВИСИМЫХ СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ В РАЗВИТИИ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ К ОБЫКНОВЕННОЙ ЗЛАКОВОЙ ТЛЕ <i>SCHIZAPHIS</i> <i>GRAMINUM</i> , ИНДУЦИРОВАННОЙ ЭНДОФИТНЫМИ БАКТЕРИЯМИ РОДА <i>BACILLUS</i>	687-691
<i>Румянцев С.Д., Веселова С.В., Черепанова Е.А., Максимов И.В.</i> РОЛЬ ИЗОПЕРОКСИДАЗ РАСТЕНИЙ В СТАНОВЛЕНИИ УСТОЙЧИВОСТИ ПШЕНИЦЫ К ОБЫКНОВЕННОЙ ЗЛАКОВОЙ ТЛЕ <i>SCHIZAPHIS GRAMINUM</i>	692-696
<i>Рустамов А.Р., Эргашев А., Абдуллаев А.</i> ВЛИЯНИЕ ПОЧВЕННОЙ ЗАСУХИ НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКУЮ ПРОДУКТИВНОСТЬ У ПОЛИПЛОИДНЫХ СОРТОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ.....	697-699
<i>Сайдаминов Х.Х., Абдуллаев А., Маниязова Н.А.</i> КАЧЕСТВО ЗЕРНА РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ФАСОЛИ В УСЛОВИЯХ ПОЧВЕННОЙ ЗАСУХИ.....	700-702
<i>Самойлова З.Ю., Смирнова Г.В., Октябрьский О.Н.</i> РОЛЬ РЕГУЛЯТОРА ОБЩЕГО ОТВЕТА PsoS В ОБРАЗОВАНИИ БИОПЛЕНОК БАКТЕРИЯМИ <i>ESCHERICHIA COLI</i> В ПРИСУТСТВИИ РАСТИТЕЛЬНЫХ ПОЛИФЕНОЛОВ.....	703-705
<i>Сатторов Б.Н., Ниязмухамедова М.Б., Косумбекова Ф.А., Камолов Н., Рахимов М.М.</i> ВЛИЯНИЕ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ДИНАМИКУ НАКОПЛЕНИЯ И РАСПРЕДЕЛЕНИЯ БИОМАССЫ У РАЗНЫХ ОРГАНОВ ПШЕНИЦЫ МЕСТНОЙ СЕЛЕКЦИИ И ИНТРОДУЦИРОВАННОЙ ИЗ РОССИИ В ТАДЖИКИСТАН.....	706-707
<i>Скаженник М.А., Воробьев Н.В., Ковалев В.С., Гаркуша С.В., Пшеницына Т.С., Балясный И.В.</i> ВЛИЯНИЕ ПОНИЖЕННЫХ ТЕМПЕРАТУР НА ПОЛУЧЕНИЕ ВСХОДОВ РИСА	708-711
<i>Скаженник М.А., Воробьев Н.В., Ковалев В.С., Гаркуша С.В., Пшеницына Т.С., Балясный И.В.</i> ПРОДУКТИВНОСТЬ И УСТОЙЧИВОСТЬ К ПОЛЕГАНИЮ СОРТОВ РИСА.....	712-715
<i>Смирнова Е.О., Топоркова Я.Ю., Горина С.С., Петрова О.Е., Мухтарова Л.Ш., Гречкин А.Н.</i> АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭТЕРОЛЕНОВОЙ КИСЛОТЫ ЕЕ ГЕОМЕТРИЧЕСКИХ ИЗОМЕРОВ – ПРОДУКТОВ ЛИПОКСИГЕНАЗНОГО КАСКАДА РАСТЕНИЙ.....	716-719
<i>Сорокань А.В., Бурханова Г.Ф., Максимов И.В.</i> САЛИЦИЛОВАЯ И ЖАСМОНОВАЯ КИСЛОТЫ ВО ВЗАИМОДЕЙСТВИИ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ С ПАТОГЕННЫМИ И ЭНДОФИТНЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ.....	720-724
<i>Софронова В.Е., Чепалов В.А.</i> ПИГМЕНТНЫЙ КОМПЛЕКС РАСТЕНИЙ ОВСА ПОСЕВНОГО В УСЛОВИЯХ ОСЕННЕГО ЗАКАЛИВАНИЯ.....	725-729
<i>Стаматиди В.Ю., Рыфф И.И.</i> ВЛИЯНИЕ ЗАСУХИ НА УРОЖАЙ СОРТОВ ВИНОГРАДА.....	730-732
<i>Ступко В.Ю., Зобова Н.В., Гаевский Н.А.</i> СРАВНЕНИЕ МЕТОДОВ СКРИНИНГА РЕАКЦИИ ЛИСТОВОГО АППАРАТА ПШЕНИЦЫ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К ОСМОТИЧЕСКОМУ СТРЕССУ.....	733-737
<i>Сундырева М.А., Ушакова Я.В.</i> ИЗМЕНЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ЛИСТЬЕВ ВИНОГРАДА С КОНТРАСТНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К МИЛДЬЮ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ИММУНОИНДУЦИРУЮЩИХ ОБРАБОТКАХ.....	738-741
<i>Супрун А.Р., Огнева З.В., Дубровина А.С., Киселев К.В.</i> ДЕЙСТВИЕ Р-КУМАРОВОЙ И КОФЕЙНОЙ КИСЛОТЫ, А ТАК ЖЕ УЛЬТРАФИОЛЕТА-С НА НАКОПЛЕНИЕ СТИЛЬБЕНОВ И ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ, УЧАСТВУЮЩИХ В БИОСИНТЕЗЕ СТИЛЬБЕНОВ В ХВОЕ ЕЛИ АЯНСКОЙ <i>PICEA JEZOENSIS</i>	742-743
<i>Сурова Л.М., Шерстнева О.Н., Сухов В.С.</i> АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ СИГНАЛОВ НА УСТОЙЧИВОСТЬ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ГОРОХА ПОСЕВНОГО ПРИ ДЕЙСТВИИ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ФАКТОРОВ СРЕДЫ	744-748
<i>Сухов В.С., Сухова Е.М., Громова Е.Н., Сурова Л.М., Неруш В.Н., Гринберг М.А., Воденев В.А.</i> ФОТОХИМИЧЕСКИЙ ИНДЕКС ОТРАЖЕНИЯ – КАК ИНСТРУМЕНТ МОНИТОРИНГА СТРЕССОВЫХ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ОТВЕТОВ РАСТЕНИЯ НА ЛОКАЛЬНОМ И СИСТЕМНОМ УРОВНЕ	749-751

- Сухова Е.М., Сухов В.С.
МОДЕЛИРОВАНИЕ СВЕТОВОЙ ЗАВИСИМОСТИ НЕФОТОХИМИЧЕСКОГО ТУШЕНИЯ
ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА И ЕЕ ПЕРСПЕКТИВЫ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ОПТИЧЕСКОЙ
МОДЕЛИ ЛИСТА752-754
- Татарнинова Т.Д., Перк А.А., Пономарев А.Г., Васильева И.В.
ОСОБЕННОСТИ СЕЗОННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ДЕГИДРИНОВ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ
УСТОЙЧИВОСТИ *PICEA OBOVATA* LEDEV. В УСЛОВИЯХ КРИОЛИТОЗОНЫ.....755-758
- Титова Н.В., Скурту Г.И., Бужоряну Н.С., Мащенко Н.Е.
ВЛИЯНИЕ ПРИРОДНЫХ БАВ НА ФОТОСИНТЕЗ И ТРАНСПИРАЦИЮ РАСТЕНИЙ
ГРУШИ.....759-763
- Фархутдинов Р.Г., Федяев В.В., Саитова З.Р., Гарипова М.И., Ямалеева А.А.
ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПОПУЛЯЦИЙ *PHYSCIA STELLARIS* (L.) NYL.
ГОРОДА СТЕРЛИТАМАК.....764-768
- Федина Е.О., Ярин А.Ю., Чечёткин И.Р.
БРАССИНОСТЕРОИДЫ. НОВЫЙ АСПЕКТ В РЕГУЛЯЦИИ ФИТОИММУНИТЕТА.....769-772
- Федорин Д.Н., Гатауллина М.О., Черкасских М.В., Епринцев А.Т.
РОЛЬ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ В ТРАНСДУКЦИИ СВЕТОВОГО СИГНАЛА,
РЕГУЛИРУЮЩЕГО ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ФЕРМЕНТОВ ЦИКЛА КРЕБСА В
КУКУРУЗЕ.....773-776
- Федосеева И.В., Рихванов Е.Г.
РЕАКЦИЯ КЛЕТОК *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* НА ТЕПЛОВОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ С
НАРУШЕНИЕМ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ МИТОХОНДРИЙ.....777-780
- Федяева А.В., Любушкина И.В., Степанов А.В., Ли И, Сидоров А.В., Рихванов Е.Г.
МИТОХОНДРИАЛЬНЫЙ МЕМБРАННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ И АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА,
КАК ИНДИКАТОРЫ СТРЕССОВОГО СОСТОЯНИЯ РАСТЕНИЙ.....781-785
- Филинова Н.В., Ломоватская Л.А., Романенко А.С.
ИЗМЕНЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА И цАМФ В ТРАНСГЕННЫХ
РАСТЕНИЯХ КАРТОФЕЛЯ *IN VITRO* СОРТА СКАРЬ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УСТОЙЧИВОСТИ К
БАКТЕРИАЛЬНОМУ ВОЗБУДИТЕЛЮ КОЛЬЦЕВОЙ ГНИЛИ786-789
- Халилова Л.А., Майорова О.В., Орлова Ю.В., Карпычев И.В., Мясоедов Н.А., Неделяева О.И.,
Попова Л.Г., Балнокин Ю.В.
ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ БЕЛКА МЕМБРАННЫХ МИКРОДОМЕНОВ *ARABIDOPSIS THALIANA* FLOT1
В РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА NA^+/H^+ АНТИПОРТЕРА *SOS1*790-794
- Хамроева Х.М., Джумаев Б.Б., Давлятназарова З.Б., Алиев К.
ЭКЗОГЕННЫЕ АНТИОКСИДАНТЫ И ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В УСЛОВИЯХ
ЗАСОЛЕНИЯ У МУТАНТНОЙ ЛИНИИ *ARABIDOPSIS THALIANA* L. HEYNH.795-798
- Цивилева О.М., Пучкова Т.А., Кофтин О.В., Аниськов А.А., Ибрагимова Д.Н.
ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ БАЗИДИОМИЦЕТОВ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ
НЕКОТОРЫХ ПРИРОДНЫХ ГЕТЕРОЦИКЛОВ.....799-803
- Чекалин Е.И., Амелин А.В.
АДАПТИВНЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ РАСТЕНИЙ ПЕЛЮШКИ К БИОТИЧЕСКИМ
СТРЕССАМ.....804-808
- Шапошников А.И., Вишневецкая Н.А., Шахназарова В.Ю., Струнникова О.К., Белимов А.А.
ВЛИЯНИЕ *FUSARIUM CULMORUM* И *PSEUDOMONAS FLUORESCENS* НА СОСТАВ
ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ В КОРНЕВЫХ ЭКССУДАТАХ ЯЧМЕНЯ.....809-812
- Шелухова Н.А.
ОБРАБОТКА РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ ПО ЛИСТУ И УЛУЧШЕНИЕ ХАРАКТЕРИСТИК
ПРОРАСТАЮЩИХ СЕМЯН ПРИ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУРАХ.....813-816
- Шелухова Н.А.
ФОТОСТИМУЛЯЦИЯ РАСТЕНИЙ ТОМАТОВ В УСЛОВИЯХ ХОЛОДОВОГО СТРЕССА...817-820
- Шерудило Е.Г., Шибяева Т.Г., Икконен Е.Н., Титов А.Ф.
ЗАВИСИМОСТЬ РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ НА ДЛИТЕЛЬНОЕ ПОСТОЯННОЕ И
КРАТКОВРЕМЕННОЕ ПЕРИОДИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР ОТ
БИОСИНТЕЗА БЕЛКА НА 70S И 80S РИБСОМАХ.....821-825

<i>Шиббаева Т.Г., Шерудило Е.Г., Икконен Е.Н., Титов А.Ф.</i> ЗАВИСИМОСТЬ РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ ОГУРЦА НА ДРОП-ВОЗДЕЙСТВИЯ ОТ ВЛАЖНОСТИ ВОЗДУХА И ОБЕСПЕЧЕННОСТИ ВОДОЙ	826-830
<i>Шмакова Н.Ю., Марковская Е.Ф.</i> СОДЕРЖАНИЕ ПИГМЕНТОВ И ФЛАВОНОИДОВ У РАСТЕНИЙ АРКТИЧЕСКОЙ ФРАКЦИИ ФЛОРЫ ЗАПАДНОГО ШПИЦБЕРГЕНА	831-834
<i>Шуканов В.П., Корытько Л.А., Мельникова Е.В., Полянская С.Н.</i> ПРИМЕНЕНИЕ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА В ЛЕСНЫХ ПИТОМНИКАХ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ СЕЯНЦЕВ ХВОЙНЫХ ПОРОД К ГРИБНЫМ ФИТОПАТОГЕНАМ.....	835-839
<i>Юрков А.П., Крюков А.А., Горбунова А.О., Якоби Л.М., Воробьев Н.И., Шишова М.Ф.</i> ВЛИЯНИЕ ГРИБА АРБУСКУЛЯРНОЙ МИКОРИЗЫ <i>RHIZORHAGUS IRREGULARIS</i> НА РАЗВИТИЕ ЛЮЦЕРНЫ ХМЕЛЕВИДНОЙ ПРИ ДЕФИЦИТЕ ФОСФОРНОГО ПИТАНИЯ.....	840-843
<i>Якубова М.М., Хамрабаева З.М.</i> АДАПТАЦИЯ К ВОЗДЕЙСТВИЮ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ НА УРОВНЕ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ H^+ - АТФазы ХЛОРОПЛАСТОВ.....	844-846
<i>Яруллина Л.Г., Исаев Р.Ф., Яруллина Л.М., Цветков О.В.</i> ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ЗАЩИТНОГО ОТВЕТА РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ К ГРИБУ <i>DRECHSLERA SOROKINIANA</i> ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ САЛИЦИЛОВОЙ И ЖАСМОНОВОЙ КИСЛОТ.....	847-849
<i>Ястреб Т.О., Колупаев Ю.Е., Кокорев А.И., Дмитриев А.П.</i> РОЛЬ ЖАСМОНАТА И ОКСИДА АЗОТА (NO) В ИНДУЦИРОВАНИИ ЗАКРЫВАНИЯ УСТЬИЦ У РАСТЕНИЙ <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i>	850-854
<i>Verzhuk V.G., Pavlov A.V., Murashev S.V., Erastenkova M.V.</i> SPECIFIC FEATURES OF THE EFFECT PROVIDED BY BIOSTIMULATION WITH EXOGENOUS AMINO ACID PREPARATIONS ON THE PRODUCTIVITY AND PROPERTIES OF SEA BUCKTHORN FRUIT (<i>HIPPOPHAE L.</i>).....	855-857
<i>Verzhuk V.G., Pavlov A.V., Sukhareva L.V., Gracheva I.I., Kuyeva T.D.</i> DEVELOPMENT OF METHODS FOR CRYOCONSERVATION OF VEGETATIVE SHOOTS (CUTTINGS) EMPLOYING VARIETIES OF RED CURRANT (<i>R. RUBRUM L.</i>) FROM THE GENE POOL PRESERVED AT THE POLAR EXPERIMENT STATION OF THE VAVILOV INSTITUTE.....	858-860
АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ.....	861

Научное издание

**Механизмы устойчивости растений и микроорганизмов
к неблагоприятным условиям среды**

**Сборник материалов (в двух частях)
Всероссийской научной конференции
с международным участием и школы молодых ученых
(Иркутск, 10–15 июля 2018 г.)**

ЧАСТЬ I

Техническая редакция и оригинал макет
О.И. Грабельных, Т.П. Побежимова, И.В. Федосеева, Л.Е. Макарова

Дизайн обложки
Ю.А. Розина, Н.В. Дорофеев, Т.В. Копытина

Подписано в печать 03.07.2018 г.
Формат 60×90/8. Гарнитура Times New Roman. Бумага Ballet.
Уч.-изд. л. 96,4. Усл. печ. л. 102,6. Тираж 300 экз. Заказ № 816.

Издательство Института географии им. В.Б. Сочавы СО РАН
664033, Иркутск, ул. Улан-Баторская, 1