

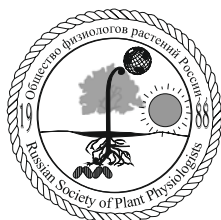
**Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry of Siberian Branch of  
Russian Academy of Sciences  
Federal Agency for Scientific Organizations of Russia  
Siberian Branch of Russian Academy of Sciences  
Russian Society of Plant Physiologists  
Vavilov Society of Genetics and Breeders**

**Factors of plant and microorganism  
resistance in extremal nature conditions  
and technogenic environment**

**Proceedings  
of the All-Russian Conference with International  
Participation and School for Young Scientists  
(Irkutsk, September 12 – 15, 2016)**

**Irkutsk-2016**

**Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН  
Федеральное агентство научных организаций России  
Сибирское отделение Российской академии наук  
Общество физиологов растений России  
Вавиловское общество генетиков и селекционеров**



**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-2016**

УДК 581.1:573:574:579.26  
ББК 28.58  
Ф18

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

**Факторы устойчивости растений и микроорганизмов в экстремальных природных условиях и техногенной среде:** Материалы Всероссийской научной конференции с международным участием и школы молодых ученых, 12 – 15 сентября 2016 г. – Иркутск : Изд-во Института географии им. В.Б. Сочавы СО РАН, 2016. – 276 с.

ISBN 978-5-94797-272-6

В сборнике представлены материалы Всероссийской научной конференции с международным участием и школы молодых ученых «Факторы устойчивости растений и микроорганизмов в экстремальных природных условиях и техногенной среде», состоявшейся 12 – 15 сентября 2016 г. в г. Иркутске. В данном издании приведены новейшие результаты российских и зарубежных ученых, посвященные современным проблемам формирования физиолого-биохимических защитных реакций организмов на воздействие абиотических и биотических факторов. Большое внимание уделяется биохимическим и генетическим механизмам устойчивости и выживанию растений и микроорганизмов в экстремальных природных условиях и техногенной среде. Рассматриваются современные методологические подходы для тестирования резистентности организмов и фитоценозов.

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 подготовлено при финансовой поддержке Федерального агентства научных организаций России (доп. Соглашение № 007-ГЗ/Ц4190/343/1 от 9.06.2016 г. между ФАНО России и СИФИБР СО РАН на предоставление субсидии на финансовое обеспечение проведения конференции) и гранта РФФИ № 16-04-20582 на проведение конференции.*

Ответственный редактор: д.б.н., проф. В.К. Войников  
Редакционная коллегия: д.б.н., проф. Г.Б. Боровский, д.б.н. О.И. Грабельных, к.б.н. Т.В. Копытина, д.б.н. Л.Е. Макарова, д.б.н. Т.П. Побежимова

Рецензенты: д.б.н., проф. И.Э. Илли  
д.б.н. В.И. Воронин

© Коллектив авторов, 2016

© Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, 2016

© Издательство Института географии им. В.Б. Сочавы СО РАН, 2016

ISBN 978-5-94797-272-6

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>ПЛЕНАРНЫЕ ДОКЛАДЫ</b> .....	13
<i>Берсимбаев Р.И., Кравченко А.П.</i> РОЛЬ TOR СИГНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ У <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> ПРИ СОЛЕВОМ СТРЕССЕ .....	14
<i>Боровский Г.Б., Коротаяева Н.Е., Уколова И.В.</i> ДЕГИДРИНЫ РАСТЕНИЙ .....	16
<i>Войников В.К.</i> ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОЙ И ИНФОРМАЦИОННОЙ СИСТЕМ В КЛЕТКАХ РАСТЕНИЙ ПРИ ТЕМПЕРАТУРНЫХ СТРЕССАХ.....	19
<i>Панов А.В., Вавилин В.А., Ляхович В.В.</i> СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МЕХАНИЗМОВ БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ РАДИКАЛОВ КИСЛОРОДА И АЗОТА .....	20
<i>Шпаковский Г.В., Спивак С.Г., Бабак О.Г., Бердичевец И.Н., Халилуев М.Р., Словохотов И.Ю., Клык В.Н., Шпаковский Д.Г., Шематорова Е.К.</i> РОЛЬ СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНАЛЬНЫХ СИСТЕМ В ФОРМИРОВАНИИ ЗАЩИТНЫХ РЕАКЦИЙ РАСТЕНИЙ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ АБИОТИЧЕСКИХ И БИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ.....	25
<i>Dmitriev A.P., Gushcha N.I., Dyachenko A.I., Grodzinsky D.M.</i> EFFECT OF RADIATION AND BIOTIC STRESS ON CULTIVATED PLANTS AND THEIR FUNGAL PATHOGENS .....	27
<b>ДОКЛАДЫ В РАМКАХ ШКОЛЫ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ</b> .....	29
<i>Константинов Ю.М.</i> ГОРИЗОНТАЛЬНЫЙ ПЕРЕНОС ДНК С УЧАСТИЕМ МИТОХОНДРИЙ КАК ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ФАКТОР И ПЕРСПЕКТИВЫ ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ.....	30
<i>Крутовский К.В.</i> ГЕНОМНЫЕ И ЭПИГЕНОМНЫЕ МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ .....	32
<i>Ломоватская Л.А.</i> СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ ИММУНИТЕТЕ РАСТЕНИЙ.....	33
<i>Панов А.В.</i> КОСМОС - РАСТЕНИЯ - ЖИВОТНЫЕ – ВНУТРЕННЯЯ СВЯЗЬ, ПРОИСХОЖДЕНИЕ И ЭВОЛЮЦИЯ .....	34
<i>Степанов А.В.</i> ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ МИКРОСКОПИИ ЖИВЫХ КЛЕТОК В ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ.....	35
<i>Шпаковский Г.В., Словохотов И.Ю., Спивак С.Г., Шематорова Е.К.</i> МИТОХОНДРИАЛЬНЫЕ ФЕРРЕДОКСИНЫ КАК ВАЖНЕЙШИЕ РЕГУЛЯТОРЫ ФУНКЦИЙ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ.....	37
<i>Шпаковский Г.В., Шпаковский Д.Г., Долудин Ю.В., Аралов А.В., Шематорова Е.К.</i> УНИКАЛЬНЫЕ ДЛЯ <i>НОМО SAPIENS</i> ФОРМЫ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ II И ИХ РОЛЬ В ЭВОЛЮЦИИ ЧЕЛОВЕКА .....	38
<b>СЕКЦИЯ 1. ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ЗАЩИТНЫЕ РЕАКЦИИ ОРГАНИЗМОВ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ АБИОТИЧЕСКИХ И БИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ</b> .....	39
<i>Абильфазова Ю.С.</i> ПИГМЕНТНЫЙ СОСТАВ ЛИСТЬЕВ ПЕРСИКА В УСЛОВИЯХ ЧЕРНОМОРСКОГО ПОБЕРЕЖЬЯ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ .....	40
<i>Алиева З.М.</i> ВЛИЯНИЕ ЗАСОЛЕНИЯ НА СОДЕРЖАНИЕ ХЛОРОФИЛЛА И ПРОНИЦАЕМОСТЬ МЕМБРАН У УКОРЕНЯЮЩИХСЯ ЧЕРЕНКОВ ВИНОГРАДА.....	42

<i>Андропова М.М., Корчагов С.А.</i> СОСТОЯНИЕ КУЛЬТУР СОСНЫ КЕДРОВОЙ СИБИРСКОЙ В УСЛОВИЯХ ГОРОДА ГРЯЗОВЕЦ ВОЛОГОДСКОЙ ОБЛАСТИ .....	44
<i>Антал Т.К., Софронова В.Е.</i> АНАЛИЗ ПЕРВИЧНЫХ ПРОЦЕССОВ ФОТОСИНТЕЗА В ХВОЕ СОСНЫ <i>PINUS SYLVESTRIS</i> ПРИ СЕЗОННОЙ АДАПТАЦИИ К НИЗКИМ ТЕМПЕРАТУРАМ .....	46
<i>Артемкина Н.А.</i> СОДЕРЖАНИЕ КОНДЕНСИРОВАННЫХ ТАННИНОВ В ХВОЕ ЕЛИ ( <i>PICEA ABIES</i> × <i>PICEA</i> <i>OBOVATA</i> LEDEB.): ВЛИЯНИЕ ВОЗРАСТА И УСЛОВИЙ ПРОИЗРАСТАНИЯ .....	48
<i>Атоев М.Х., Эргашев А., Абдуллаев А.</i> ВЛИЯНИЕ ХЛОРИДНОГО ЗАСОЛЕНИЯ НА РОСТОВЫЕ ПАРАМЕТРЫ СОРТОВ ПШЕНИЦЫ.....	50
<i>Баркина М.Ю., Смирнова Н.А., Веланский П.В., Воробьева Н.С., Давыдова Л.А., Санина Н.М., Костецкий Э.Я.</i> ИЗМЕНЕНИЕ СОСТАВА МОЛЕКУЛЯРНЫХ ВИДОВ МОНОГАЛАКТОЗИЛДИАЦИЛГЛИЦЕРОЛА ПРИ ТЕПЛОВОЙ И ХОЛОДОВОЙ АККЛИМАЦИЯХ МОРСКИХ МАКРОВОДОРОСЛЕЙ <i>ULVA</i> <i>LACTUCA</i> И <i>SACCHARINA JAPONICA</i> .....	52
<i>Батова Ю.В., Казнина Н.М., Лайдинен Г.Ф., Титов А.Ф.</i> ВЛИЯНИЕ НИЗКОЙ ПОЛОЖИТЕЛЬНОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В КОРНЯХ И ЛИСТЬЯХ ЯЧМЕНЯ .....	54
<i>Боровик О.А., Королева Н.А., Грабельных О.И., Побежимова Т.П., Войников В.К.</i> ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННОЙ САХАРОЗЫ НА АДАПТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ РАСТЕНИЙ ПРИ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУРАХ .....	56
<i>Бохирова М.К., Ниязмухамедова М.Б., Абдуллаев Х.А.</i> СОДЕРЖАНИЕ РАСТВОРИМЫХ УГЛЕВОДОВ У ХЛОПЧАТНИКА В УСЛОВИЯХ АБИОТИЧЕСКОГО СТРЕССА .....	58
<i>Бояркина С.В., Омеличкина Ю.В., Еникеев А.Г., Волкова О.Д., Шаффикова Т.Н.</i> ОТВЕТНЫЕ РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ ТАБАКА НА ВОЗДЕЙСТВИЕ БИОТРОФА <i>CLAVIBACTER</i> <i>MICHIGANENSIS</i> И НЕКРОТРОФА <i>PECTOBACTERIUM CAROTOVORUM</i> .....	60
<i>Бырса М.Н., Васильчук А.В.</i> ИЗМЕНЕНИЕ МОРФО-КУЛЬТУРАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ШТАММОВ <i>STREPTOMYCES CANOSUS</i> <i>CNMN-AC-02</i> И <i>STREPTOMYCES MASSASPOREUS</i> <i>CNMN-AC-06</i> ПОСЛЕ ЛИОФИЛИЗАЦИИ.....	62
<i>Валиулина А.Ф., Голованова Т.И., Подойникова П.А.</i> ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ <i>TRICHODERMA</i> ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ПРОДУКТИВНОСТИ ТОМАТОВ .....	64
<i>Глянько А.К., Ищенко А.А.</i> ОСОБЕННОСТИ ИММУНИТЕТА БОБОВОГО РАСТЕНИЯ ИНФИЦИРОВАННОГО КЛУБЕНЬКОВЫМИ БАКТЕРИЯМИ .....	66
<i>Гончарова А.М., Ломоватская Л.А., Макарова Л.Е., Кузакова О.В., Романенко А.С.</i> ВЛИЯНИЕ N-ФЕНИЛ-2-НАФТИЛАМИНА НА АКТИВНОСТЬ КОМПОНЕНТОВ АДЕНИЛАТЦИКЛАЗНОЙ СИГНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ И ВИРУЛЕНТНОСТЬ ФИТОПАТОГЕНОВ <i>PSEUDOMONAS SYRINGAE</i> PV. <i>PISI</i> И <i>CLAVIBACTER MICHIGANENSIS</i> SSP. <i>SEPEDONICUS</i> .....	69
<i>Горностай Т.Г., Оленников Д.Н., Захаров Ю.Б., Пензина Т.А., Боровский Г.Б.</i> ВЛИЯНИЕ СВЕТА НА СИНТЕЗ СТИРИЛПИРОНОВ В МИЦЕЛИИ <i>INONOTUS RHEADES</i> (PERS.) BONDARTSEV & SINGER.....	71
<i>Грабельных О.И., Побежимова Т.П., Федосеева И.В., Королева Н.А., Любушкина И.В., Боровик О.А., Войников В.К.</i> ТЕМПЕРАТУРНЫЙ СТРЕСС И ПОСЛЕДСТВИЯ ЕГО ВЛИЯНИЯ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ МИТОХОНДРИЙ.....	73
<i>Граскова И.А., Живетьев М.А., Газизова А.В., Перфильева А.И., Клименков И.В., Арсентьев К.Ю., Сухов Б.Г., Трофимов Б.А.</i> ВЛИЯНИЕ НАНОКОМПОЗИТОВ СЕЛЕНА, ИНКАПСУЛИРОВАННОГО В МАКРОМОЛЕКУЛЫ АРАБИНОГАЛАКТАНА, НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ФИТОПАТОГЕНА .....	75

<i>Гурина В.В., Озолина Н.В., Нестёркина И.С., Нурминский В.Н.</i> ВЛИЯНИЯ РАЗНЫХ ВИДОВ АБИОТИЧЕСКОГО СТРЕССА НА ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ВАКУОЛЯРНОЙ МЕМБРАНЫ.....	77
<i>Дадобоева М.Л., Юнусова Ш.Ш., Гиясидинов Б.Б., Хакимова Р.Ш., Солиева Б.А., Бохирова М.К., Абдуллаев Х.А.</i> РАСПРЕДЕЛЕНИЕ АССИМИЛЯТОВ И ФОРМИРОВАНИЕ УРОЖАЯ У ХЛОПЧАТНИКА ПРИ ИСКУССТВЕННОЙ РЕГУЛЯЦИИ ПЛОЩАДИ ЛИСТЬЕВ .....	79
<i>Джумаев Б.Б., Назар А., Гайратов М.Х., Мадаминов А., Сафаров Ё.Х.</i> ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАСТЕНИЙ, ДОМИНИРУЮЩИХ ВИДОВ РАЗНОТРАВНО-ЕЖОВОГО СООБЩЕСТВА И ЭСПАРЦЕТА СОРТА «ЗИДДИ» В УСЛОВИЯХ ВЫСОКОГОРЬЯ ГИССАРСКОГО ХРЕБТА .....	81
<i>Джумаев Б.Б., Хамроева Х.М., Нигмонов М., Давлятназарова З.Б., Гулов М.К.</i> ИЗУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ У РАЗНЫХ МУТАНТОВ АРАБИДОПСИСА ( <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> (L.) HEYNH.) ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ХЛОРИДНОГО ЗАСОЛЕНИЯ.....	83
<i>Дударева Л.В., Рудиковская Е.Г.</i> ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ СОДЕРЖАНИЯ ФОТОПРОТЕКТОРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ФЕНОЛЬНОЙ ПРИРОДЫ В ЛИСТЬЯХ <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> L. В ОТВЕТ НА ДЕЙСТВИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ .....	85
<i>Еникеев А.Г., Гамбург К.З.</i> ХОЛОДОВОЕ ХРАНЕНИЕ КУЛЬТУР РАСТИТЕЛЬНЫХ ТКАНЕЙ.....	87
<i>Залепкина С.А., Смирнов В.Ф., Борисов А.В., Мацулевич Ж.В., Смирнова О.Н., Артемьева М.М.</i> ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ Se-СОДЕРЖАЩИХ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ НА ЭКЗООКСИДОРЕДУКТАЗЫ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ.....	89
<i>Иванова М.В., Котеева Н.К., Суворова Г.Г.</i> АНАТОМО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ВИДОВ РОДА <i>LARIX</i> .....	91
<i>Изосимова А.В., Стручкова И.В.</i> ВЛИЯНИЕ СЕЛЕНИТА НАТРИЯ НА РОСТОВЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И АКТИВНОСТЬ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ ГРИБА <i>TRICHODERMA VIRENS</i> .....	94
<i>Икконен Е.Н., Шибаета Т.Г., Шерудило Е.Г., Титов А.Ф.</i> СООТНОШЕНИЕ ДЫХАНИЯ И ФОТОСИНТЕЗА У РАСТЕНИЙ ОГУРЦА, ПОДВЕРГНУТЫХ ДЕЙСТВИЮ КРАТКОВРЕМЕННЫХ ПОНИЖЕНИЙ ТЕМПЕРАТУРЫ .....	95
<i>Ищенко А.А., Глянько А.К.</i> ПРЕДПОЛАГАЕМАЯ РОЛЬ КАЛЬЦИЕВЫХ КАНАЛОВ В РЕГУЛЯЦИИ УРОВНЯ ОКСИДА АЗОТА В КОРНЯХ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА НА ФОНЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С СИМБИОТИЧЕСКИМИ И ПАТОГЕННЫМИ БАКТЕРИЯМИ .....	97
<i>Казанцева В.В., Гончарук Е.А., Загоскина Н.В.</i> ИЗМЕНЕНИЯ В ОБРАЗОВАНИИ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ ФЕНОЛЬНОЙ ПРИРОДЫ НА НАЧАЛЬНЫХ ЭТАПАХ РОСТА РАСТЕНИЙ ГРЕЧИХИ В ПРИСУТСТВИИ КАДМИЯ.....	99
<i>Камзолкина О.В., Киселица М.А., Кудрявцева О.А., Штаер О.В., Мажейка И.С.</i> ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРНОГО ФАКТОРА НА РОСТ МИЦЕЛИЯ И ДИНАМИКУ ЭНДОЦИТОЗА У БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ ИЗ РАЗНЫХ ЭКОЛОГО-ТРОФИЧЕСКИХ ГРУПП.....	101
<i>Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О.</i> ИНДУЦИРОВАНИЕ ДОНОРОМ ОКСИДА АЗОТА СТРЕСС-ПРОТЕКТОРНЫХ СИСТЕМ РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ В УСЛОВИЯХ ЗАСУХИ .....	103
<i>Китаева Т.Ю., Гаевский Н.А.</i> СЕЗОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ВНЕЛИСТОВЫХ ХЛОРОФИЛЛОВ ПОБЕГОВ ДРЕВЕСНЫХ И КУСТАРНИКОВЫХ РАСТЕНИЙ В ОТВЕТ НА ПОНИЖЕНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ .....	105
<i>Клюев Д.А., Шибаета Е.А., Смирнов В.Ф.</i> ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ ИМПУЛЬСНОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ МИКРОМИЦЕТОВ – ДЕСТРУКТОРОВ ПРОМЫШЛЕННЫХ МАТЕРИАЛОВ .....	107

<i>Кокорина Л.А., Симонова Е.В.</i> МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СТРУКТУРЕ МИКРОБНОЙ ПОПУЛЯЦИИ ПОД ВЛИЯНИЕМ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ .....	109
<i>Кондакова М.А., Уколова И.В., Боровский Г.Б., Войников В.К.</i> ВЛИЯНИЕ ГИПОТЕРМИИ НА СОСТАВ И АКТИВНОСТЬ СУПЕРКОМПЛЕКСОВ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ МИТОХОНДРИЙ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА <i>PISUM SATIVUM</i> L .....	111
<i>Кононова Н.А.</i> РАСПРОСТРАНЕНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ТИПОВ ГАЛОФИТОВ НА ПОЧВАХ С РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНЬЮ ЗАСОЛЕНИЯ (ПРИБРЕЖНАЯ ЗОНА ОЗ. КУРИНКА, ХАКАСИЯ) ....	113
<i>Кортаева Н.Е., Бельков В.И., Тарасенко В.И., Боровский Г.Б.</i> ВЛИЯНИЕ ТЕПЛОВОГО ШОКА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ <i>RHV3</i> И <i>RHV4</i> И НАКОПЛЕНИЕ БЕЛКА <i>RHV3</i> В ЗЕЛЕННЫХ ЛИСТЬЯХ <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> .....	115
<i>Корсукова А.В., Грабельных О.И., Боровик О.А., Побежимова Т.П., Горностаи Т.Г., Дорофеев Н.В., Соколова Н.А., Дударева Л.В., Войников В.К.</i> ФУНГИЦИДЫ ТРИАЗОЛЬНОЙ ПРИРОДЫ КАК ВОЗМОЖНЫЕ ЭКЗОГЕННЫЕ РЕГУЛЯТОРЫ ХОЛОДО- И МОРОЗОУСТОЙЧИВОСТИ ЗЛАКОВ .....	117
<i>Кушунина М.А., Николаева Ю.И., Мейчик Н.Р.</i> ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЙ АЗОТНОГО ПИТАНИЯ НА НЕКОТОРЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КЛЕТОЧНЫХ СТенок КОРНЕЙ ПШЕНИЦЫ .....	119
<i>Ловягина Е.Р., Сёмин Б.К.</i> ИНГИБИРОВАНИЕ ФС2 АНИОНАМИ F <sup>-</sup> СОПРОВОЖДАЕТСЯ ГЕНЕРАЦИЕЙ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> – УЧАСТНИКА H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /O <sub>2</sub> <sup>-</sup> СИГНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ .....	121
<i>Маевская С.Н., Николаева М.К., Воронин П.Ю.</i> ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ CO <sub>2</sub> /H <sub>2</sub> O-ГАЗООБМЕН И ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ УГЛЕВОДОВ В ЛИСТЬЯХ КУКУРУЗЫ В УСЛОВИЯХ ЗАСУХИ.....	123
<i>Макаров И.О., Сыромятина Е.В., Смирнов В.Ф., Самарцев И.В., Дикарева Н.В.</i> ДЕЙСТВИЕ ИЗЛУЧЕНИЯ ПОЛУПРОВОДНИКОВОГО ЛАЗЕРА НА РОСТ И РАЗВИТИЕ МИКРОМИЦЕТОВ – ДЕСТРУКТОРОВ ПРОМЫШЛЕННЫХ МАТЕРИАЛОВ.....	125
<i>Макарова Л.Е., Мориц А.С., Васильева Г.Г.</i> ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИЙ МУТУАЛИСТИЧЕСКОГО И АНТАГОНИСТИЧЕСКОГО ТИПА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НА СОДЕРЖАНИЕ НЕГАТИВНЫХ АЛЛЕЛОПАТИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ В СОСТАВЕ КОРНЕВЫХ ЭКССУДАТОВ РАСТЕНИЙ ГОРОХА .....	127
<i>Маляровская В.И., Белоус О.Г.</i> ВЛИЯНИЕ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ <i>HYDRANGEA MACROPHYLLA</i> .....	129
<i>Маркова Ю.А., Турская А.Л., Живетьев М.А., Соколова М.Г., Белоголова Г.А., Анганова Е.В., Духанина А.В., Степанов А.В., Кочерыгина Е.В., Макиева М.С., Граскова И.А., Савилов Е.Д.</i> БИОПЛЕНКИ КАК СТРАТЕГИЯ ВЫЖИВАНИЯ МИКРОБНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ПРИ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ УСЛОВИЯХ .....	131
<i>Ненько Н.И., Киселева Г.К., Ульяновская Е.В., Караваева А.В.</i> ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ СОПРЯЖЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ЯБЛОНИ К ЗАСУХЕ И ПАРШЕ .....	133
<i>Нестеров В.Н., Богданова Е.С., Розенцвет О.А.</i> БИОХИМИЧЕСКИЙ И СТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ ГАЛОФИТОВ ПРИЭЛЬТОНЬЯ .....	135
<i>Нохсоров В.В., Дударева Л.В., Чепалов В.А.</i> ЛИПИДНАЯ АДАПТАЦИЯ ТРАВЯНИСТЫХ РАСТЕНИЙ К УСЛОВИЯМ КРИОЛИТОЗОНЫ ЯКУТИИ ПРИ ГИПОТЕРМИИ .....	137
<i>Нурминская Ю.В., Прадедова Е.В., Копытина Т.В., Максимова Л.А., Еникеев А.Г.</i> ПЕРОКСИДАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ У КУЛЬТУР КЛЕТОК ТРАНСГЕННОГО ТАБАКА .....	139
<i>Нурминский В.Н., Нестёркина И.С., Озолина Н.В.</i> ОСОБЕННОСТИ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ВАКУОЛИ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ ПРИ АБИОТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ.....	141
<i>Перфильева А.И., Рихванов Е.Г.</i> РОЛЬ МИТОХОНДРИЙ В РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ СТРЕССОВЫХ ГЕНОВ ПРИ БИОТИЧЕСКОМ И ТЕПЛОМ ВОЗДЕЙСТВИЯХ .....	143

<i>Петров К.А., Перк А.А., Чепалов В.А.</i> ЛИПИДЫ ЗЕЛЕННОГО КРИОКОРМА И АДАПТАЦИЯ ЖИВОТНЫХ К ХОЛОДУ .....	145
<i>Пириев И.Т., Самедова А.Дж., Салаева Х.Л., Ширвани Т.С.</i> АЗОТНЫЙ ОБМЕН В МОЛОДЫХ РАСТЕНИЯХ ТЫКВЫ, ПОДВЕРГНУТЫХ ОДИНОЧНОМУ И КОМПЛЕКСНОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ НИКЕЛЯ И ЗАСОЛЕНИЯ .....	147
<i>Прадедова Е.В., Нимаева О.Д., Карпова А.Б., Саляев Р.К.</i> ВАКУОЛЯРНЫЕ СИСТЕМЫ ЗАЩИТЫ ОТ ЭКЗО- И ЭНДОГЕННЫХ ТОКСИЧНЫХ СОЕДИНЕНИЙ У КЛЕТОК КОРНЕПЛОДОВ СТОЛОВОЙ СВЕКЛЫ.....	149
<i>Ракитин В.Ю., Ракитина Т.Я., Прудникова О.Н.</i> УЧАСТИЕ СПЕРМИНА В АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ К УФ-В РАДИАЦИИ .....	151
<i>Рустамов А.Р., Эргашев А., Абдуллаев А., Кобиров Ю.Т.</i> ВЛИЯНИЕ ПОЧВЕННОЙ ЗАСУХИ НА СОДЕРЖАНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ ЛИСТЬЕВ ПОЛИПЛОДНЫХ ФОРМ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ .....	153
<i>Сайдаминов Х.Х., Атоев М.Х.</i> ВЛИЯНИЕ ПОЧВЕННОЙ ЗАСУХИ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ НЕКОТОРЫХ БОБОВЫХ КУЛЬТУР... ..	155
<i>Сатторов Б.Н., Ниязмухамедова М.М., Рахимов М.М., Косумбекова Ф.А., Камолов Н.</i> ИНТЕНСИВНОСТЬ ТРАНСПИРАЦИИ У ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ СОРТОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ, ВЫРАЩЕННОЙ В УСЛОВИЯХ ЖЁСТКОЙ БОГАРЫ ТАДЖИКИСТАНА.....	157
<i>Софронова В.Е., Дымова О.В., Головкин Т.К.</i> РОЛЬ ЭНЕРГИЗАЦИОННОГО ТУШЕНИЯ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА В ХВОЕ <i>PINUS SYLVESTRIS</i> ПРИ НИЗКИХ ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ ТЕМПЕРАТУРАХ В ОСЕННИЙ ПЕРИОД.....	159
<i>Стаматиди В.Ю.</i> ИССЛЕДОВАНИЕ ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ ПЕРСПЕКТИВНЫХ СОРТОВ ВИНОГРАДА.....	161
<i>Стаматиди В.Ю., Рыфф И.И.</i> ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЖАРОСТОЙКОСТИ СОРТОВ ВИНОГРАДА В КУЛЬТУРЕ ТКАНИ.....	163
<i>Степанов А.В., Николаенко Е.А., Федосеева И.В., Рихванов Е.Г.</i> ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ БТШ104 С МИТОХОНДРИЯМИ У ДРОЖЖЕЙ <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> .....	164
<i>Столбикова А.В., Шишпаренок А.А., Рудиковский А.В., Рудиковская Е.Г., Дударева Л.В.</i> РОЛЬ ГИББЕРЕЛЛИНОВ В ОБРАЗОВАНИИ КАРЛИКОВЫХ ФОРМ ЯБЛОНИ СИБИРСКОЙ ( <i>MALUS VASSATA</i> WOKH.) В УСЛОВИЯХ ЛЕСОСТЕПНОГО ЭКОТОНА.....	166
<i>Суслов М.А., Аль-Хаффаф И.И., Анисимов А.В., Абдрахимов Ф.А.</i> РОСТ РАСТЕНИЙ КАК ПОКАЗАТЕЛЬ УСТОЙЧИВОСТИ К ИЗМЕНЕНИЯМ ВНЕШНЕГО ДАВЛЕНИЯ.....	168
<i>Татарина Т.Д., Перк А.А., Бубякина В.В., Васильева И.В., Пономарев А.Г.</i> ДЕГИДРИНЫ ХВОЙНЫХ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ ЭКСТРЕМАЛЬНО НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР КРИОЛИТОЗОНЫ.....	170
<i>Уколова И.В., Кондакова М.А., Сидоров А.В., Боровский Г.Б., Войников В.К.</i> НОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ МИТОХОНДРИЙ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА <i>PISUM SATIVUM</i> .....	172
<i>Уланова Т.С., Стручкова И.В., Савельев В.Ю.</i> О ВЛИЯНИИ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ НА ГРИБ-БИОДЕСТРУКТОР <i>TRICHODERMA VIRENS</i> .....	174
<i>Федосеева И.В., Рихванов Е.Г., Пятрикас Д.В., Степанов А.В., Федяева А.В., Варакина Н.Н., Русалева Т.М., Боровский Г.Б., Войников В.К.</i> УЧАСТИЕ ВНУТРЕННЕЙ И ВНЕШНИХ НАДН-ДЕГИДРОГЕНАЗ В РАЗВИТИИ ТЕРМОТОЛЕРАНТНОСТИ И ПРОДУКЦИИ АФК В КЛЕТКАХ ДРОЖЖЕЙ <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> ПРИ ТЕПЛОМ ШОКЕ.....	175
<i>Федяева А.В., Ли И, Любушкина И.В., Рихванов Е.Г.</i> ИЗМЕНЕНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА КАК УНИВЕРСАЛЬНАЯ РЕАКЦИЯ КЛЕТОК РАСТЕНИЙ НА СТРЕССОРЫ АБИОТИЧЕСКОЙ ПРИРОДЫ.....	177
<i>Хайдаров Х.К., Таипулатов Й.Ш., Мукумов Ё.Б.</i> НЕКОТОРЫЕ ЗАЩИТНЫЕ РЕАКЦИИ ТУГАЙНОЙ РАСТИТЕЛЬНОСТИ НА АНТРОПОГЕННЫЕ ФАКТОРЫ .....	179



<i>Цивилева О.М., Цымбал О.А., Панкратов А.Н., Древо Я.Б., Перфильева А.И., Маркин А.В.</i> БИОХИМИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ВЫСШИХ ГРИБОВ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ СЕЛЕНОРГАНИЧЕСКИХ КСЕНОБИОТИКОВ.....	181
<i>Чернобровкина Н.П., Робонен Е.В.</i> ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА ХВОЙНЫХ В УСЛОВИЯХ ХАРАКТЕРНОГО ДЛЯ ФЕННОСКАНДИИ ДЕФИЦИТА БОРА.....	183
<i>Шибяева Т.Г., Шерудило Е.Г., Титов А.Ф.</i> ВЛИЯНИЕ КРАТКОВРЕМЕННЫХ ЕЖЕСУТОЧНЫХ ПОНИЖЕНИЙ ТЕМПЕРАТУРЫ В ТЕМНОТЕ И НА СВЕТУ НА РОСТ И УРОЖАЙНОСТЬ РАСТЕНИЙ.....	185
<i>Шигарова А.М., Грабельных О.И., Боровский Г.Б.</i> ВЛИЯНИЕ ГЕРМАТРАНОЛА НА СОДЕРЖАНИЕ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В КОРНЯХ ПШЕНИЦЫ ПРИ ГИПЕРТЕРМИИ.....	187
<i>Шмаков В.Н., Макаренко С.П., Дударева Л.В., Столбикова А.В., Соколова Н.А., Третьякова И.Н., Константинов Ю.М.</i> ИЗУЧЕНИЕ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА В КУЛЬТУРЕ <i>IN VITRO</i> ЛИСТВЕННИЦЫ СИБИРСКОЙ НА СТАДИИ РАННЕГО СОМАТИЧЕСКОГО ЭМБРИОГЕНЕЗА.....	189
<i>Axenov-Gribanov D.V., Voytsekhovskaya I.V., Protasov E.S., Penzina T.A., Gornostay T.G., Adelshin R.V., Timofeyev M.A.</i> ACTINOBACTERIA ISOLATED FROM A POLLEN GRAINS OF <i>PINUS SYLVESTRIS</i> AS A PROTECTION ELEMENT AGAINST PHYTOPATHOGENS.....	191

## **СЕКЦИЯ 2. АДАПТАЦИЯ ОРГАНИЗМОВ К ТЕХНОГЕННОМУ ЗАГРЯЗНЕНИЮ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ.....**

<i>Белоголова Г.А., Соколова М.Г., Гордеева О.Н., Пастухов М.В.</i> СВИНЕЦ В СИСТЕМЕ «ПОЧВА–РАСТЕНИЕ» И ЭФФЕКТ ТРАНСФОРМАЦИИ ЕГО ФАЗОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ПОЧВЕ ПОД ВЛИЯНИЕМ РИЗОБАКТЕРИЙ <i>AZOTOBACTER</i> И <i>BACILLUS</i> .....	194
<i>Верхозина Е.В.</i> ОСОБЕННОСТИ АНТИБИОТИКОУСТОЙЧИВОСТИ БАКТЕРИЙ МИКРОБИОЦЕНОЗА ОЗЕРА БАЙКАЛ В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ МЕСТООБИТАНИЯХ ЭКОСИСТЕМЫ.....	196
<i>Верхозина Е.В., Верхозина В.А.</i> РЕАКЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ ОЗЕРА БАЙКАЛ НА АНТРОПОГЕННОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ.....	198
<i>Волгушева А.А., Дрозденко Т.В.</i> ВЛИЯНИЕ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ЛИСТЬЕВ И КОРЫ ДЕРЕВЬЕВ В ГОРОДСКИХ ЭКОСИСТЕМАХ .....	200
<i>Головки Т.К., Шелякин М.А., Далькэ И.В., Захожий И.Г., Табаленкова Г.Н., Дымова О.В., Мальшев Р.В., Пыстина Т.Н.</i> ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ЛИШАЙНИКОВ В ЗОНЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ БОКСИТОВОГО РУДНИКА.....	202
<i>Денисова Т.П., Максимова Е.Н., Мельников Г.Ю.</i> ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОФЛОРЫ ЗАСОЛЕННЫХ ПОЧВ О. ОЛЬХОН.....	204
<i>Днепровский И.А.</i> МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ХВОИ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ В СОСНЯКАХ РАЗНОГО ВОЗРАСТА.....	206
<i>Казнина Н.М., Титов А.Ф., Лайдинен Г.Ф., Батова Ю.В.</i> НЕКОТОРЫЕ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ УСТОЙЧИВОСТИ <i>PHLEUM PRATENSE</i> (L.) К ТЯЖЕЛЫМ МЕТАЛЛАМ .....	208
<i>Матюшевская Е.В.</i> ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИ АКТИВНАЯ РАДИАЦИЯ КАК ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКТОР ДЛЯ ЛЕСНЫХ БИОГЕОЦЕНОЗОВ ПРИ АНТРОПОГЕННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ В ИЗМЕНЯЮЩИХСЯ КЛИМАТИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ.....	210
<i>Михайлова Т.А., Калугина О.В., Шергина О.В., Афанасьева Л.В.</i> ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМ ПРЕДБАЙКАЛЬЯ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ АНТРОПОГЕННЫХ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ.....	212

<i>Нарушко М.В., Мальчевский В.А., Петров С.А., Бажин А.С.</i> ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИЙ ИЗ МНОГОЛЕТНЕМЁРЗЛЫХ ПОРОД НА МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ОВСА ПОСЕВНОГО В УСЛОВИЯХ НЕФТЯНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ .....	214
<i>Поморцева К.А., Борисова Г.Г.</i> ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ГИДРОФИТОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ ИОНОВ КАДМИЯ .....	216
<i>Репкина Н.С., Таланова В.В.</i> ВЛИЯНИЕ КАДМИЯ НА АККУМУЛЯЦИЮ ПРОЛИНА У РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ И ОГУРЦА...	218
<i>Симонова Е.В., Максимова Е.Н.</i> РОЛЬ МИКРООРГАНИЗМОВ В УТИЛИЗАЦИИ ТЕХНОГЕННЫХ ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ ПРИРОДНОЙ СРЕДЫ .....	220
<i>Соколова Л.Г., Симакова А.А., Зорина С.Ю., Ломоватская Л.А., Кузакова О.В.</i> ФИТОТОКСИЧНОСТЬ ЗАГРЯЗНЕННЫХ ФТОРИДАМИ ПОЧВ ПО ОТНОШЕНИЮ К РАЗНЫМ ВИДАМ ПОЛЕВЫХ КУЛЬТУР .....	222
<i>Соколова М.Г., Белоголова Г.А., Акимова Г.П.</i> РИЗОСФЕРНЫЕ БАКТЕРИИ В ПРОЦЕССАХ РОСТА РАСТЕНИЙ И БИОСОРБЦИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ ПРИ ПОЛИЭЛЕМЕНТНОМ ЗАГРЯЗНЕНИИ ПОЧВ .....	224
<i>Соловьёва Е.С., Широких И.Г.</i> ОСОБЕННОСТИ РОСТА ИЗОЛЯТОВ СТРЕПТОМИЦЕТОВ В ПРИСУТСТВИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ.....	226
<i>Стасова В.В., Скрипальщикова Л.Н.</i> ВЛИЯНИЕ АНТРОПОГЕННЫХ ФАКТОРОВ НА АНАТОМИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ ЛИСТА БЕРЕЗЫ ПОВИСЛОЙ В Г. КРАСНОЯРСКЕ .....	228
<i>Третьякова М.С., Беловежец Л.А., Маркова Ю.А.</i> ИЗУЧЕНИЕ БИОДЕГРАДАЦИИ НЕФТИ БАКТЕРИЯМИ, ВЫДЕЛЕННЫМИ ИЗ ЭНДО- И РИЗОСФЕРЫ РАСТЕНИЙ.....	230
<i>Чукина Н.В., Тептина А.Ю., Логинова А.Д., Лежнин П.С., Шаихова Д.Р., Ситников И.А., Шарнина Т.Ф., Киселева И.С.</i> УСТОЙЧИВОСТЬ <i>ALYSSUM OBOVATUM</i> (С.А.МЕУ.) TURCZ. К АЭРОТЕХНОГЕННОМУ ЗАГРЯЗНЕНИЮ.....	232
<b>СЕКЦИЯ 3. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ УСТОЙЧИВОСТИ ОРГАНИЗМОВ .....</b>	<b>235</b>
<i>Байрамова Э.М., Золотовская Е.Д., Протопопова М.В., Войников В.К., Павличенко В.В.</i> ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ И ТИПА ЦИТОКИНИНА ДЛЯ МИКРОКЛОНАЛЬНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ ТОПОЛЯ БЕРЛИНСКОГО ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ ЭКСПЛАНТОВ.....	236
<i>Гамбург К.З.</i> ВЛИЯНИЕ ЗАМОРОЗКОВ НА ТРАНСГЕННЫЕ ЛИНИИ АРАБИДОПСИСА.....	238
<i>Коновалов А.Д., Павличенко В.В., Чепиного В.В., Протопопова М.В.</i> ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОБОСОБЛЕННОСТЬ ПОПУЛЯЦИЙ <i>WALDSTEINIA TERNATA</i> (ROSACEAE) КАК ПОСЛЕДСТВИЕ ГЛОБАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ КЛИМАТА ЧЕТВЕРТИЧНОГО ПЕРИОДА .....	240
<i>Одинцова Т.И., Коростылева Т.В., Истомина Е.А., Слезина М.П., Славохотова А.А.</i> ИССЛЕДОВАНИЕ НОВЫХ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ ПШЕНИЦЫ И ИХ РОЛИ В ИММУНИТЕТЕ РАСТЕНИЙ.....	242
<i>Осипова С.В., Пермьяков А.В., Пермьякова М.Д., Пшеничникова Т.А., Рудиковская Е.Г., Рудиковский А.В., Верхотуров В.В., Бернер А.</i> ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ КОЛЛЕКЦИЙ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ <i>TRITICUM AESTIVUM</i> L .....	244
<i>Павличенко В.В., Протопопова М.В., Войников В.К.</i> РАЗЛИЧНАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ К КАНАМИЦИНУ ТРАНСГЕННЫХ КЛОНОВ ТОПОЛЯ БЕРЛИНСКОГО, НЕСУЩИХ ГЕН <i>НPTII</i> .....	246

<i>Пермякова М.Д., Пермяков А.В., Осипова С.В., Пшеничникова Т.А., Шишпарёнок А.А., Рудиковская Е.Г., Рудиковский А.В., Верхотуров В.В., Бернер А.</i>	
ГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ РАЗНЫХ ФОРМ ЛИПОКСИГЕНАЗЫ ПШЕНИЦЫ ПРИ ВОДНОМ ДЕФИЦИТЕ .....	248
<i>Протопопова М.В., Павличенко В.В., Коновалов А.Д., Четиного В.В.</i>	
ИССЛЕДОВАНИЕ ИСТОРИЧЕСКОЙ ДИНАМИКИ НЕКОТОРЫХ РЕЛИКТОВЫХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ БАЙКАЛЬСКОЙ СИБИРИ В ТЕЧЕНИЕ ГЛОБАЛЬНЫХ КЛИМАТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ .....	250
<i>Юнусова Д.Р., Кутлунина Н.А.</i>	
ЕСТЬ ЛИ ИЗМЕНЕНИЯ В ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЕ <i>SCORZONERA GLABRA</i> (ASTERACEAE) В ОКРЕСТНОСТЯХ КАРАБАШКОГО МЕДЕПЛАВИЛЬНОГО КОМБИНАТА .....	252
<i>Krutovsky K.V., Romashkina I.V., Razdaivodin A.N., Radin A.I., Romashkin D.Y.</i>	
STUDY OF GENETIC MUTATIONS AND FLUCTUATING ASYMMETRY IN SCOTS PINE ( <i>PINUS SYLVESTRIS</i> L.) AND SILVER BIRCH ( <i>BETULA PENDULA</i> ROTH) POPULATIONS GROWING UNDER THE CHRONIC RADIOACTIVE CONTAMINATION.....	254
<b>СЕКЦИЯ 4. СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ ДЛЯ ТЕСТИРОВАНИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ОРГАНИЗМОВ И ФИТОЦЕНОЗОВ.....</b>	<b>257</b>
<i>Гетте И.Г., Пахарькова Н.В., Косов И.В.</i>	
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ МЕТОДОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ХВОИ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ В ПОСЛЕПОЖАРНЫХ СОСНЯКАХ.....	258
<i>Константинов Ю.М., Шмаков В.Н., Подсосонный В.А., Луценко Г.Н.</i>	
ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ТЕХНОГЕННЫХ ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАСТИТЕЛЬНЫХ МИТОХОНДРИЙ И КУЛЬТУРЫ <i>IN VITRO</i> .....	260
<i>Кузакова О.В., Ломоватская Л.А., Соколова Л.Г., Симакова А.А.</i>	
РАЗРАБОТКА МЕТОДА БИОТЕСТИРОВАНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ ПОЛЕВЫХ КУЛЬТУР К ВЫСОКИМ ДОЗАМ ФТОРИДА В ПОЧВЕ .....	262
<i>Курляндская Г.В., Бекетов И.В., Мельников Г.Ю., Денисова Т.П., Максимова Е.Н.</i>	
ИССЛЕДОВАНИЕ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ РЕАКЦИЙ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР НА НАНОЧАСТИЦЫ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА .....	264
<i>Мажейка И.С., Штаер О.В., Кудрявцева О.А., Буданова Е.В., Камзолкина О.В.</i>	
ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОГО МИЦЕЛИЯ ГРИБОВ С ПОМОЩЬЮ БЕЛКОВЫХ МАРКЕРОВ.....	266
<i>Нарайкина Н.А., Дерябин А.Н., Трунова Т.И.</i>	
ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ ХОЛОДОСТОЙКИХ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ К ГИПОТЕРМИИ....	269
<i>Шуплецова О.Н.</i>	
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТЕСТ-СИСТЕМ <i>IN VITRO</i> ДЛЯ ОЦЕНКИ АЛЮМОУСТОЙЧИВОСТИ ЯЧМЕНЯ .....	271
<b>АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ.....</b>	<b>273</b>

## **ПЛЕНАРНЫЕ ДОКЛАДЫ**

## РОЛЬ TOR СИГНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ У *ARABIDOPSIS THALIANA* ПРИ СОЛЕВОМ СТРЕССЕ

Р.И. Берсимбаев, А.П. Кравченко

НИИ Клеточной биологии и биотехнологии, ЕНУ им. Л.Н. Гумилева, Астана, Республика Казахстан, *ribers@mail.ru*

Рост живых организмов представляет собой комплекс сложных регулируемых процессов использования энергии и питательных веществ. В отличие от животных рост растений в значительной степени зависит от условий окружающей среды. Для поддержания клеточного гомеостаза растениям необходимо адаптироваться к множеству эндогенных и экзогенных сигналов, возникающих вследствие биотических и абиотических стрессов. Одним из таких факторов является высокая засоленность почв, что препятствует нормальному росту и развитию растений. Повышенная концентрация растворимых солей в почве оказывает стрессовое воздействие на рост растений, снижает способность растений поглощать воду и является причиной снижения урожайности большинства хозяйственно важных культур [Munns, Tester, 2008].

В условиях действия того или иного стресса у растений могут происходить определенные изменения во взаимодействии внутриклеточных сигнальных систем, приводящие к формированию адекватного метаболического ответа клетки и всего организма в целом. Среди известных сигнальных путей у эукариотических организмов, TOR (*Target of Rapamycin*) сигнальная система является центральным компонентом восприятия и трансдукции экзогенных сигналов окружающей среды и координирует рост клеток и целого организма. Ключевым элементом TOR сигнальной системы является TOR киназа.

Основной модельной системой для изучения механизмов внутриклеточной сигнализации, в том числе и TOR сигнализации, у растений в силу хорошей изученности его генома служит *Arabidopsis thaliana*. Геном *Arabidopsis thaliana* кодирует один TOR ген, последовательность которого высоко консервативна, около 40% последовательности идентичны нуклеотидным последовательностям TOR гена животных и дрожжей. Ген TOR экспрессируется во всех тканях *Arabidopsis thaliana*, при этом непосредственно TOR белок детектируется в основном в молодых растущих тканях, таких как кончики корней и меристемы листьев, что свидетельствует о пост-транскрипционной регуляции TOR экспрессии. Относительно недавно были разработаны АТФ-конкурентные TOR ингибиторы нового поколения (ингибиторы активного сайта TOR), которые нацелены на АТФ-связывающий участок киназного домена. Было установлено, что АТФ-азные конкурентные ингибиторы в дозозависимой манере тормозят рост первичных корней и корневых волосков, а также влияют на размер клеток меристематической зоны. Помимо TOR гена, были идентифицированы гены, кодирующие компоненты TOR комплекса 1, такие как белки RAPTOR и LST8. Взаимодействие между RAPTOR и HEAT повторами TOR гена было выявлено у *Arabidopsis thaliana*, что подтверждает существование TOR комплекса 1 у растений [Rexin et al., 2015].

У мутантных линий *Arabidopsis thaliana* с гиперэкспрессией TOR гена и RNAi линий с пониженной экспрессией было обнаружено, что уровень транскриптов TOR гена положительно коррелирует с размером растения и с устойчивостью к осмотическому и солевому стрессам. Активность S6K1 киназы, главной мишени TOR, ингибируется осмотическим стрессом. В ходе экспериментов с растениями *Arabidopsis thaliana*, мутантными по гену *AtRaptor*, было показано, что растения, несущие

подобные мутации, характеризовались гиперчувствительностью к различным видам стресса. Недавние исследования показали, что основным гормоном роста и развития растений ауксин активирует TOR, который в свою очередь регулирует экспрессию ауксин-индуцируемых генов [Deprost et al., 2007].

Таким образом, имеющиеся данные позволяют предположить важную роль TOR сигнальной системы в процессах роста и развития растений, но не менее актуальной задачей для исследований является сигнальная регуляция процессов адаптации растений к стрессовым факторам.

Результаты наших исследований показали, что снижение активности TOR комплекса ввиду нарушения функций его белков-партнеров негативно сказывается на фенотипических признаках растений при действии солевого стресса. Объектом исследования являлись растения дикого типа *Arabidopsis thaliana* (Col-8), T-ДНК инсерционные мутантные линии (*lst8-1* и *rap78*) по *AtLST8* и *AtRaptor* генам, кодирующим белки партнеры TOR комплекса 1. Мутантные линии по белкам-партнерам TOR комплекса 1 характеризуются повышенной чувствительностью к воздействию солевого стресса (100 мМ NaCl), что проявляется в прорастании семян, длине первичных корней и в формировании листовых пластинок. Так, например, рост первичных корней *lst8-1* и *rap78* мутантных линий на 30% и 20%, соответственно, более чувствителен к солевому стрессу в концентрации 100 мМ NaCl в сравнении с растениями дикого типа в таких же условиях.

Одним из основных гормонов, задействованным в регуляции клеточного ответа растений на действие стрессовых факторов, является гормон абсцизовая кислота (АБК). Наши исследования показали, что TOR киназа регулирует АБК метаболизм. Так, уровень гормона АБК в значительной степени снижается у мутантных линий *lst8-1* и *rap78*, кроме того, растения дикого типа *Arabidopsis thaliana*, обработанные АТФ-конкурентным TOR киназным ингибитором AZD-8055, также характеризовались низким уровнем накопления АБК в сравнении с контрольными растениями. Низкий уровень аккумуляции гормона АБК коррелирует со сниженной экспрессией генов биосинтеза абсцизовой кислоты ZEP, NCED3 и AAO3, кодирующих, соответственно, ферменты зеаксантин эпоксидаза, 9-цис-эпоксикаротиноид диоксигеназа и альдегидоксидаза. При этом важно отметить, что угнетение биосинтеза АБК коррелирует со стимуляцией экспрессии генов ее катаболизма при снижении активности TOR комплекса. В частности, уровень транскриптов *CYP707A2* гена, кодирующего фермент 8'-гидроксилазу АБК, значительно выше у *lst8-1* мутанта, чем у растений дикого типа [Kravchenko et al., 2015]. Представленные результаты указывают на вовлеченность TOR сигнального пути в регуляцию метаболизма АБК у *Arabidopsis thaliana*, что соответственно подтверждает важную роль TOR сигнального пути в ответе растений на солевой стресс.

#### Литература

Deprost D., Yao L., Sormani R., Moreau M., Leterreux G., Nicolai M., Bedu M., Robaglia C., Meyer C. The Arabidopsis TOR kinase links plant growth, yield, stress resistance and mRNA translation // EMBO Reports, 2007. – V. 8. – P. 864-870.

Kravchenko A., Citerne S., Jehanno I., Bersimbaev R.I., Veit B., Meyer C., Leprince A-S. Mutation in the Arabidopsis Lst8 and Raptor genes encoding partners of the TOR complex, or inhibition of TOR activity decrease abscisic acid (ABA) synthesis // Biochem. Biophys. Res. Commun., 2015. – V. 467. – P. 992-997.

Munns R., Tester M. Mechanisms of salinity tolerance // Annual Review of Plant Biology, 2008. – V. 59. – P. 651-681.

Rexin D., Meyer C., Robaglia C., Veit B. TOR signalling in plants // Biochem. J., 2015. – V. 470. – P. 1-14.

## ДЕГИДРИНЫ РАСТЕНИЙ

Г.Б. Боровский, Н.Е. Коротаева, И.В. Уколова

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

Растения – это организмы, вынужденные развить несколько эффективных биохимических механизмов, предотвращающих потерю воды и минимизирующих повреждения при дегидратации. Характерным защитным приспособлением растений является накопление белков позднего эмбриогенеза или LEA (Late Embryogenesis-Abundant) белков. Из нескольких классов обнаруженных LEA белков огромный интерес вызывает группа 2 (или II или LEA-D11) белков, которые называют также дегидринами (dehydrins). Данные белки накапливаются не только во время позднего эмбриогенеза, но и при действии многих стрессирующих факторов (засухе, низкой или высокой температуре, солевом стрессе и т.п.), что и определило наше к ним внимание.

Дегидрины присутствуют у всех растений, их также обнаружили у мхов, лишайников, водорослей и цианобактерий [Hanin et al., 2011]. Физиологическая роль дегидринов, связанная с адаптацией, активно исследовалась в прошедшие годы. Так, например, нами было показано, что дегидрины активно накапливались в проростках и узлах кущения злаковых при адаптации к низкой температуре и осенней адаптации в полевых условиях. Количество дегидринов было прямо пропорционально устойчивости растений к отрицательной температуре. При разакаливании весной или в контролируемых условиях снижение морозоустойчивости коррелировало со снижением содержания дегидринов в тканях растений. Синтез дегидринов и рост устойчивости кроме низкой температуры активировался экзогенной абсцизовой кислотой и засухой [Войников и др., 2004]. Сходные данные в мире были получены на огромном списке видов растений, что привело к использованию дегидринов в качестве молекулярных маркеров устойчивости растений к этим факторам [Hanin et al., 2011]. В то же время не только низкие температуры и засуха вызывают накопление дегидринов, напротив, список стрессовых воздействий, которым предположительно противостоят эти белки, продолжает расти. Кроме вышеупомянутых условий, дегидрины накапливаются при осмотическом стрессе, солевом стрессе, высокой температуре, окислительном стрессе и стрессе, вызванном избыточным содержанием ионов металлов [Hanin et al., 2011].

Локализация дегидринов в растительных клетках разнообразна. Их обнаруживают в ядре, хлоропластах, митохондриях, вакуолях, эндоплазматическом ретикулуме (ЭПР), различных мембранах клетки. Например, в нашей работе по изучению субклеточной локализации дегидринов в клетках озимой пшеницы иммунохимическим методом было показано их наличие во всех органеллах клеток, причем количество этих белков увеличивалось при холодной адаптации в ЭПР, ядре, межклеточном пространстве, а также в хлоропластах и митохондриях [Романенко и др., 2010]. В другой нашей работе было исследовано сезонное изменение количества и локализации дегидринов в хвое. Практически во всех компартментах хвои было зафиксировано многократное большее количество дегидринов ранней весной в сравнении с летним содержанием этих белков. Осенью количество дегидринов также возрастало, хотя и до меньших величин, относительно весенних, однако в митохондриях содержание дегидринов осенью было выше, чем весной [Korotaeva et al., 2015].

Поскольку защитный физиологический эффект дегидринов показан при разнообразных стрессах, активно исследуется их действие на молекулярном и

биохимическом уровне. Ясно, что молекулярное действие дегидринов связано с их структурой. Сама классификация дегидринов на данный момент основывается на наличии и последовательности определенного количества консервативных сегментов – Y, S, K. При этом по определению, дегидрины должны содержать как минимум один K-сегмент (EKKGIМKIKELPG), а остальные сегменты не являются обязательными. K-сегмент присутствует у дегидринов от 1 до 12 раз, иногда в виде тандемных повторов. S-сегмент, обогащенный остатками серина, обычно присутствует однократно. Сходный с нуклеотид-связывающим доменом бактерий и обогащенный тирозином Y-сегмент, обычно присутствует на N-конце дегидринов в количестве от 1 до 3 [Close, 1997]. Так называемый Ф-сегмент, обогащенный Gly, Thr и другими полярными аминокислотными остатками, является малоконсервативным. Он располагается между консервативными сегментами и вносит в структуру дегидринов неупорядоченность, относя дегидрины к классу внутренне неупорядоченных белков. Такие белки не имеют определенной вторичной и третичной структуры, очень гибкие и подстраивают свою структуру под свойства мишени, с которой взаимодействуют [Tompa, 2002]. Существование других последовательностей, которые ряд ученых предполагает характерными для дегидринов, пока не является общепризнанным [Graether, Boddington, 2014].

Было показано, что наличие большего числа K-сегментов является определяющим фактором при защите от замерзания. Судя по компартиментализации различных дегидринов, белки с Y-сегментом в составе, часто локализируются в ядре, вероятно, выполняя защитные функции там. Индукция синтеза этих дегидринов происходит в результате засухи или при солевом стрессе. Наиболее интересной структурной чертой дегидринов наряду с неупорядоченностью, является отсутствие у них гидрофобных участков. Несмотря на это, дегидрины способны взаимодействовать с мембранами, связываясь с рядом отрицательно заряженных фосфолипидов фосфатидилсеринем, фосфатидилглицерином и фосфатидной кислотой, но не фосфатидилхолином. Механизмы, благодаря которым дегидрины могут стабилизировать мембраны, еще предстоит определить. На сегодняшний момент установлено, что дегидрины, способные к мембранной локализации, снижают температуру фазового перехода липидного бислоя [Graether, Boddington, 2014].

Показано, что дегидрины могут предотвращать денатурацию ферментов при замораживании-размораживании. Так, при анализе протекторных свойств искусственных (с варьируемым количеством консервативных сегментов разных типов) и природных дегидринов на модельный фермент лактатдегидрогеназу (ЛДГ) было установлено, что основную роль в сохранении активности фермента играет K-сегмент. В то же время немалый вклад в защиту также вносит Ф-сегмент, придающий молекулярной структуре дегидринов неупорядоченность [Graether, Boddington, 2014]. По имеющимся данным при осуществлении криопротекции фермент не связывается с дегидрином. Предполагается, что механизм действия дегидрина аналогичен действию полиэтиленгликоля, который создает «молекулярный щит», предотвращающий повреждение макромолекул при замерзании. Ранее предполагавшаяся антифризная активность при детальном исследовании очищенных или клонированных дегидринов не подтвердилась [Graether, Boddington, 2014].

В модельных системах и с помощью трансгенных растений установлено, что дегидрины способны улавливать активные формы кислорода (АФК), количество которых возрастает при стрессах [Hanin et al., 2011]. Недавние исследования также показали, что некоторые дегидрины, в частности AtHIRD11 (KS-типа 98 аминокислот), могут предотвращать денатурацию белков, напрямую взаимодействуя с ионами тяжелых металлов, при этом основную роль играют остатки гистидина. Интересно,



вышеупомянутый дегидрин, будучи добавленным к раствору фермента без ионов металла, увеличивал активность ЛДГ в 1,5-2 раза по отношению к контролю [Hara et al., 2016]. Это действие дегидрина позволяет обсуждать тему шаперонной активности этих белков, однако, безусловно, механизм действия дегидринов должен отличаться от действия классических шаперонов, ввиду совершенно иной молекулярной структуры и отсутствия сайтов связывания с АТФ.

На основании собственных исследований и литературных данных мы считаем дегидрины мультифункциональными протекторами, которые способны одновременно защищать ключевые звенья метаболизма растительных клеток от разнообразных повреждающих факторов при стрессах.

*Работа была поддержана грантом РФФИ №16-54-00070.*

#### Литература

Войников В.К., Боровский Г.Б., Колесниченко А.В., Рихванов Е.Г. Стрессовые белки растений. – Иркутск: Изд-во института географии СО РАН, 2004. – 129 с.

Романенко А.С., Боровский Г.Б., Уколова И.В., Ломоватская Л.А. Субклеточная локализация дегидринов в растениях пшеницы при низкотемпературной адаптации // Биологические мембраны, 2010. – Т. 27, № 2. – С. 156-165.

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

Graether S.P., Boddington K.F. Disorder and function: a review of the dehydrin protein family // *Front. Plant Sci.*, 2014. – V.5, (576) – P. 1-12.

Hanin M., Brini F., Ebel C., Toda Y., Takeda S., Masmoudi K. Plant dehydrins and stress tolerance: versatile proteins for complex mechanisms // *Plant Signal. Behav.*, 2011. – P.V.6, I.10. – P. 1503-1509.

Hara M., Monna S., Murata T., Nakano T., Amano S., Nachbar M., Watzig H. The Arabidopsis KS-type dehydrin recovers lactate dehydrogenase activity inhibited by copper with the contribution of His residues // *Plant Science*, 2016. – V. 245, – P. 135-142.

Korotaeva N., Romanenko A., Suvorova G., Ivanova M.V., Lomovatskaya L., Borovskii G., Voinikov V. Seasonal changes in the content of dehydrins in mesophyll cells of common pine needles // *Photosynth. Res.*, 2015. – V. 124. – P. 159-169.

Tompa P. Intrinsically unstructured proteins // *Trends Biochem. Sci.*, 2002. – V. 27. – P. 527-533.

## **ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОЙ И ИНФОРМАЦИОННОЙ СИСТЕМ В КЛЕТКАХ РАСТЕНИЙ ПРИ ТЕМПЕРАТУРНЫХ СТРЕССАХ**

В.К. Войников

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

Одной из центральных проблем современной фитобиологии является исследование механизмов генетической детерминации устойчивости растений к неблагоприятным факторам внешней среды, среди которых особая роль отводится температуре. Действительно, изменение внешних условий, в том числе действие стрессовых температурных факторов, вызывает значительные изменения в метаболизме растительных клеток. При этом реализуется программа избирательной экспрессии генов, и осуществляются механизмы генетической детерминации устойчивости растений к стрессам. Осуществляется такая программа в системе целостной клетки и включает в себя множество этапов: рецепцию сигнала о действии стрессового фактора, трансдукцию сигнала в клетку и в геном, изменение экспрессии ряда генов, синтез белков (стрессовых белков) со специфическими функциями, функционирование этих белков, изменение метаболизма клетки. Протекают эти этапы согласованно, т.е. существует внутриклеточная интеграция, направленная на формирование устойчивости клетки к стрессу.

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 стрессовых генов и происходит синтез стрессовых белков, которые попадают в различные компартменты клетки, изменяя ее метаболизм и устойчивость к стрессу.

Таким образом, при стрессах в клетках растений реализуется программа избирательной экспрессии генов, в регуляции которой непосредственное участие принимают митохондрии. Изменение их энергетического состояния определяет редокс-состояние митохондриальной мембраны и регулирует экспрессию ядерных генов. Следовательно, ядерно-митохондриальная интеграция является важным компонентом в восприятии сигнала о воздействии на клетку стрессового фактора и в реализации механизмов генетической детерминации устойчивости растений к стрессовым нагрузкам.

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МЕХАНИЗМОВ БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ РАДИКАЛОВ КИСЛОРОДА И АЗОТА

А.В. Панов<sup>1,2</sup>, В.А. Вавилин<sup>1</sup>, В.В. Ляхович<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики», Новосибирск, Россия, *Alexander.panov55@gmail.com*

<sup>2</sup>Mercer University, Macon, Georgia, USA

Растения и животные принадлежат к принципиально разным видам, однако между ними существуют многочисленные связи, как в плане происхождения и эволюции, так и на молекулярном уровне. В последние годы с разработкой новых методов исследований структуры молекул было открыто, что в основе строения и основных функций клеток растений и животных лежат практически одни и те же молекулярные машины. Яркими примерами являются устройство и функция АТФ синтетазы митохондрий и тилакоидов хлоропластов, и трансмембранные переносчики ионов и метаболитов. К этому нужно отметить, что для высших растений митохондрии являются не менее важными, чем для высших животных организмов. Собственно только с появлением растительной клетки началась бурная эволюция жизни на нашей планете. Растительная клетка образовалась из протоклетки с митохондриями, когда в ней оказались в качестве симбионтов цианобактерии, ставшие хлоропластами. Это произошло примерно на миллиард лет позже появления клетки с митохондриями. Поэтому не удивительно, что многие метаболические процессы и механизмы воздействий внешней среды могут происходить в растениях и у животных сходным образом. Одним из важных разделов биологии животных и растений является воздействие активных радикалов кислорода (АРК) и азота (АРА), которые приводят к значительным изменениям в клетках, суммарно объединенными термином окислительный стресс (ОС). В процессе эволюции некоторые АРК и АРА приобрели сигнальные функции. В этой статье мы обсуждаем основные АРК и АРА с точки зрения их происхождения и биологического воздействия на живую клетку.

Радикалы кислорода и азота непрерывно образуются в атмосфере планеты под воздействием солнечной радиации, электрических разрядов, индустриальной деятельности человека. АРК и АРА образуются также в организмах растений, животных и человека.

**Свойства молекулярного кислорода (O<sub>2</sub>).** O<sub>2</sub> имеет структуру электронной оболочки, которая предрасполагает к образованию радикалов и делает O<sub>2</sub> химически очень активным. Одним из важных свойств O<sub>2</sub>, которое сделало возможным возникновение жизни, является тот факт, что кислород гораздо лучше растворяется в жирах, чем в воде [Subczynski, Hyde, 1983]. Поэтому биологические мембраны не только не являются барьером для O<sub>2</sub>, но концентрация его в липидной фазе мембран примерно в 4-5 раз выше, чем в цитоплазме. Скорость диффузии O<sub>2</sub> в мембранах почти в два раза выше, чем таковая для окиси азота, или нитроксильного радикала (<sup>•</sup>NO).

Многие радикалы образуются в атмосфере и поэтому могут влиять на организмы растений и животных.

**Синглетный кислород (СК)** образуется, когда под влиянием внешней энергии (солнечный свет или радиация) один из неспаренных e<sup>-</sup> изменяет свое положение, что позволяет не соблюдать спиновые ограничения. СК не является радикалом, поскольку он не содержит неспаренного электрона, но это очень реактивная химически форма кислорода с периодом полураспада в 72 минуты. Взаимодействия с растворителями,

однако, уменьшают время жизни до микросекунд или даже до наносекунд. Поэтому обычно СК вряд ли участвует в перекисном окислении липидов (ПОЛ), однако он образуется в освещенных хлоропластах, в линзе и ретине глаз млекопитающих, что сопровождается развитием катаракт и потери зрения [Halliwell, Gutteridge, 1984]. Это происходит потому, что возбуждение  $O_2$  до синглетного состояния происходит на некоторых биологических пигментах, таких, как хлорофиллы, ретиналь (родопсин), флавины или порфирины, когда они освещаются в присутствии кислорода.

**Озон ( $O_3$ )** является триатомарным аллотропом кислорода, и он гораздо менее стабилен, чем диатомарный аллотроп «обычного» кислорода  $O_2$ . Образуется озон из  $O_2$  под влиянием энергии ультрафиолетового излучения и при разрядах атмосферных электрических зарядов. В низких концентрациях озон присутствует в стратосфере, и в целом составляет 0.6 ppm (part per million). Хотя токсичность озона для животных и растений была известна давно, однако подробные исследования механизмов его повреждающего действия начались сравнительно недавно [Pryor et al., 1976]. Реакция озона, по-видимому, включает свободные радикалы, поскольку антиоксиданты, такие, как  $\alpha$ -токоферол и р-аминобензойная кислота, обладают защитным действием от повреждения озоном. В концентрации до 40 ppm в системе *in vitro*  $O_3$  активирует перекисное окисление липидов (ПОЛ); в более высоких концентрациях, то есть больше 3%, озон реагировал с алкенами с образованием озонидов по механизму, который не связан с образованием радикалов. Предполагается, что в водных эмульсиях озон помимо озонидов образует также свободные радикалы и пероксидные радикалы, поскольку антиоксиданты тормозили эти эффекты, но не влияли на образование озонидов.

**Супероксидный анион-радикал ( $O_2^{\bullet-}$ ) и гидропероксидный радикал ( $\cdot HO_2$ ).** **Влияние на окружающую среду.** Поскольку электрические константы имеют большое влияние на рКа, и диэлектрическая константа воздуха очень низкая, то  $O_2^{\bullet-}$ , образованный фотохимически, в атмосфере почти целиком присутствует в виде  $\cdot HO_2$ . Из-за того, что  $\cdot HO_2$  (протонированная форма  $O_2^{\bullet-}$ ) очень химически активен, он действует, как «очиститель» атмосферы путем деградации некоторых органических молекул, которые загрязняют атмосферу. Поэтому, химические свойства  $\cdot HO_2$  очень важны для геохимии Планеты. Гидропероксид, который образуется в тропосфере, в результате окисления гидрокарбонатов, отвечает за разрушение озона в стратосфере.

**Биологические эффекты  $O_2^{\bullet-}$  и  $\cdot HO_2$ .** В организмах животных и человека  $O_2^{\bullet-}$  – это первый радикал кислорода, который возникает во время нормальной дыхательной активности митохондрий, и обычно рассматривается как источник для возникновения почти всех остальных кислород-содержащих радикалов. Внутри митохондрий  $O_2^{\bullet-}$  образуется путем одноэлектронного восстановления  $O_2$ , контролируемого термодинамическими и кинетическими факторами, которые определяют взаимодействие потенциальных одно-электронных доноров с  $O_2$  [Murphy, 2009].

Сразу после открытия  $O_2^{\bullet-}$  считался наиболее опасным среди АРК, но позднее было показано, что сам по себе он сравнительно безобиден и плохо реагирует с полиненасыщенными жирными кислотами (ПНЖК) и аминокислотами [Bielski, 1978; Bielski et al., 1983]. Оказалось также, что в большинстве органов имеется две изоформы супероксид дисульфата: цитоплазматическая (Mn-SOD1) и митохондриальная (Cu, Zn-SOD2), которые очень быстро димутуируют  $O_2^{\bullet-}$  до  $H_2O_2$  [Murphy, 2009]. По этой причине полагали, что не сам  $O_2^{\bullet-}$ , а продукты его распада, прежде всего  $H_2O_2$  и продукт его распада гидроксильный радикал ( $OH^{\bullet}$ ), а также продукт реакции  $O_2^{\bullet-}$  с окисью азота ( $NO^{\bullet}$ ), радикал пероксинитрит ( $ONOO^{\bullet}$ ), являются основными радикалами, которые вызывают окислительный стресс (ОС).

Гидропероксидный радикал ( $\cdot\text{HO}_2$ ) даже в настоящее время не рассматривается большинством исследователей важным для развития процессов старения и ОС. Главная причина – содержание  $\cdot\text{HO}_2$  при рН клетки 7.2 слишком мало. Однако 20 лет назад было открыто перекисное окисление ПНЖК по, так называемому, изопростановому пути (ИППО) [Roberts, Fessel, 2004]. Главные отличия ИППЛ от «классического» ПОЛ состоят в том, что окислению подвергаются ПНЖК в составе фосфолипидов и конечные продукты имеют чрезвычайно высокую степень позиционной и стереоизомерии. Многие конечные продукты ИППЛ представляют собой очень активные  $\gamma$ -кетоальдегиды, образующие аддукты с лизиновыми остатками белков. Наш анализ показал, что единственным кандидатом на инициацию ИППЛ внутри мембран, особенно митохондрий, является  $\cdot\text{HO}_2$ . Мы предположили, что гидрофобная молекула  $\cdot\text{HO}_2$  вызывает образование изопростанов путем инициации цепной реакции, когда при абдукции первого Н атома из ПНЖК молекула  $\cdot\text{HO}_2$  превращается в две молекулы воды через промежуточные радикалы  $\cdot\text{O}$  и  $\cdot\text{HO}$ , которые еще более реактивны, чем сам гидропероксид. При этом из молекулы ПНЖК абстрагируется три атома Н, и молекула теряет две ненасыщенные связи [Панов, 2016].

**Гидроксильный радикал.** Гидроксильный радикал ( $\text{OH}\cdot$ ) является нейтральной формой гидроксил иона ( $\text{OH}^-$ ). Они чрезвычайно реактивны, и вследствие этого коротко живущие.  $\text{OH}\cdot$  образуются при разрушении гидропероксидов ( $\text{ROOH}$ ) и в химических реакциях в атмосфере, когда возбужденный атом кислорода реагирует с водой.  $\text{OH}\cdot$  образуются также в радиационной химии, поскольку при облучении образуются перекись водорода и кислород, что может приводить к коррозии труб охлаждающей системы реакторов. При радиоактивном облучении организма человека именно массовое образование в клетках  $\text{OH}\cdot$  вызывает «лучевую болезнь».

$\text{OH}\cdot$  образуются также при ультрафиолетовом облучении, когда УФ вызывает диссоциацию  $\text{H}_2\text{O}_2$ , и в Фентоновской химии, когда следовые количества восстановленных переходных металлов катализируют разрушение  $\text{H}_2\text{O}_2$  с образованием радикалов  $\text{OH}\cdot$  и окисление органических соединений.  $\text{OH}\cdot$  является главным химическим соединением, которое контролирует окислительную способность глобальных грингауз газов и загрязнений атмосферы Земли. Они являются также наиболее распространенными окислителями в тропосфере, то есть самой нижней части атмосферы. Понимание изменений в образовании и поведении  $\text{OH}\cdot$  очень важно для оценки влияния человека на атмосферу и климат.  $\text{OH}\cdot$  являются главными факторами, влияющими на концентрации и распространение органических поллютантов. Время полужизни  $\text{OH}\cdot$  в атмосфере меньше одной секунды. Кроме атмосферы Земли,  $\text{OH}\cdot$  присутствуют в космических количествах в межзвездной пыли.

Однако в организме животных  $\text{OH}\cdot$  не играет большой роли в развитии ОС, поскольку они реагируют неспецифически с первой молекулой, с которой столкнутся.

**Оксид азота** является молекулой с химической формулой  $\text{NO}$ . Она представляет собой свободный радикал ( $\cdot\text{NO}$ ) и является важным продуктом в химической промышленности.  $\cdot\text{NO}$  является побочным продуктом сжигания горючего и многих других веществ в воздухе, в двигателях внутреннего сгорания, угольных электростанциях и образуется в природе во время разрядов молний во время грозы. При взаимодействии с кислородом воздуха  $\cdot\text{NO}$  быстро окисляется в реакции:  $2\cdot\text{NO} + \text{O}_2 \rightarrow 2\text{NO}_2$ . В воде  $\cdot\text{NO}$  реагирует с кислородом и водой, образуя соединение  $\text{HNO}_2$  (азотистая кислота), соли которой называются нитритами или азотистокислотами.

*In vivo*  $\cdot\text{NO}$  образуется несколькими изоформами фермента нитрикоксид синтазы (НОС). У каждой изоформы НОС существует собственная функция. НОС окисляет гуанидиновую группу L-аргинина в процессе, который потребляет пять электронов, в результате чего образуется  $\cdot\text{NO}$  и стехиометрическое образование L-цитруллина.

Поскольку для образования одной молекулы  $\cdot\text{NO}$  требуется два кислорода, и период полужизни  $\cdot\text{NO}$  *in vivo* примерно 7 секунд, то для поддержания стационарной концентрации  $\cdot\text{NO}$  в 1  $\mu\text{M}$  требуется 120 нмоль  $\text{O}_2$  на 1 грамм ткани в 1 минуту! [Pacher et al., 2007].

У млекопитающих  $\cdot\text{NO}$  является в клетках важной сигнальной молекулой, которая вовлечена во многие физиологические и патологические процессы.  $\cdot\text{NO}$  является важным регулятором многочисленных процессов в нервной, иммунной и сердечно-сосудистой системах. Токсические эффекты  $\cdot\text{NO}$  скорее всего опосредованы продуктами его окисления. Наиболее токсичным продуктом окисления  $\cdot\text{NO}$  является пероксинитрит ( $\cdot\text{OONO}$ ).

**Пероксинитрит ( $\cdot\text{OONO}$ )** – это нестабильный структурный изомер нитрата,  $\text{NO}_3^-$ , который имеет такую же формулу, но другую структуру. Образование  $\cdot\text{OONO}$  имеет биологический смысл, поскольку супероксид и  $\cdot\text{NO}$  реагируют друг с другом в тканях, где они присутствуют одновременно. Ни  $\text{O}_2^\cdot$ , ни  $\cdot\text{NO}$  не являются сильными оксидантами в отношении большинства органических соединений. Однако  $\cdot\text{OONO}$  является сильным оксидантом. Пероксинитрит способен окислять ряд биомолекул, включая сульфиды, тиолы, деоксирибозу, липиды и аскорбат и некоторые белки.

В 1995 году было открыто, что углекислый газ ( $\text{CO}_2$ ) быстро реагирует с пероксинитритом и изменяет его реактивность, что оказалось важным для понимания биологических эффектов  $\cdot\text{OONO}$ . В жидкостях человека и в тканях концентрация  $\text{CO}_2$  равна примерно 1-2 мМ, и реакция  $\cdot\text{OONO}$  с углекислым газом в 50-100 раз быстрее, чем его разложение на радикалы  $\cdot\text{OH}$  и  $\cdot\text{NO}_2$ . Более того, другие биологические молекулы, такие как геммы белков, также реагируют с  $\cdot\text{OONO}$  с большой скоростью. В отсутствие  $\text{CO}_2$   $\cdot\text{OONO}$  медленно распадается на радикалы  $\cdot\text{OH}$  и  $\cdot\text{NO}_2$ , а в его присутствии пероксинитрит в быстрой реакции образует радикалы  $\text{CO}_3^\cdot$  и  $\cdot\text{NO}_2$  (Pryor et al., 2006). Радикалы  $\text{CO}_3^\cdot$  и  $\cdot\text{NO}_2$  реагируют сообща (*in concert*), как это происходит, когда  $\cdot\text{OONO}$  реагирует с  $\text{CO}_2$ . Вот эти два радикала и составляют эффективную нитратирующую систему, что очень важно для биологического нитрирования тирозиновых остатков в белках. Существует более чем 50 болезней у человека, которые показывают повышенные уровни 3-нитротирозина [Halliwell et al., 1999].

**Двуокись азота ( $\cdot\text{NO}_2$ )**. Двуокись азота образуется в ходе реакции пероксинитрита с  $\text{CO}_2$ . Другими источниками  $\cdot\text{NO}_2$  в организме могут быть пероксидазы, например миелопероксидаза и эозинофилпероксидаза, которые генерируют  $\cdot\text{NO}_2$ , используя нитрит в качестве субстрата. Очень важным для здоровья людей и, очевидно, растений является тот факт, что в загрязненном воздухе городов, особенно где есть химические производства и угольные электростанции, содержащаяся в воздухе двуокись азота может повреждать кожу и легкие. Двуокись азота индуцирует как окисление, так и нитрирование в клеточных мембранах, и в присутствии кислорода увеличивает реакции окисления, в сравнении с нитрированием [Pryor et al., 2006].

Из приведенного выше сравнительного анализа следует, что АРК и АРА играют большую роль в здоровье животного мира и растений, как опосредованно через влияние на состояние атмосферы земли, так и через специфические влияния на отдельные ткани и органы. Очевидно, что разные формы метаболической активности в растениях и у животных оказывают большое влияние на восприимчивость к окислительному стрессу, вызываемому отдельными радикалами. Сравнительный анализ воздействия АРК и АРА на растения и животных может дать полезную информацию для предотвращения вредных последствий загрязнения внешней среды и поиска растительных антиоксидантов для лечения и профилактики болезней человека.

#### Литература

- Панов А.В. Функциональная биоэнергетика. 2016. Create Space. ISBN 978 1534629356.
- Bielski B.H.J. Reevaluation of the spectral and kinetic properties of HO<sub>2</sub> and O<sub>2</sub><sup>-</sup> free radicals // Photochem. Photobiol., 1978. – V. 28. – P. 645-649.
- Bielski B.H., Arudi R.L. and Sutherland M.W. A study of the reactivity of HO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub><sup>-</sup> with unsaturated fatty acids // J. Biol. Chem., 1983. – V. 258. – P. 4759-4761.
- Halliwell B., Gutteridge J.M. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease // Biochem. J., 1984. – V. 218. – P. 1-14.
- Halliwell B., Zhao K., Whiteman M. Nitric oxide and peroxynitrite. The ugly, the uglier and the not so good: a personal view of recent controversies // Free Radic. Res., 1999. – V. 31. – P. 651-669.
- Murphy M.P. How mitochondria produce reactive oxygen species // Biochem. J., 2009. – V. 417. – P. 1-13.
- Pacher P., Beckman J.S., Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease // Physiol. Rev., 2007. – V. 87. – P. 315-424.
- Pryor W.A., Houk K.N., Foote C.S., Fukuto J.M., Ignarro L.J., Squadrito G.L., Davies K.J. Free radical biology and medicine: it's a gas, man! // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol., 2006. – V. 291. – P. 491-511.
- Roberts L.J., Fessel J.P. The biochemistry of the isoprostane, neuroprostane, and isofuran pathways of lipid peroxidation // Chem. Physics of Lipids, 2004. – V. 128. – P. 173-186.
- Subczynski W.K., Hyde J.S. Concentration of oxygen in lipid bilayers using a spin-label method // Biophys. J., 1983. – V. 41. – P. 283-286.

## РОЛЬ СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНАЛЬНЫХ СИСТЕМ В ФОРМИРОВАНИИ ЗАЩИТНЫХ РЕАКЦИЙ РАСТЕНИЙ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ АБИОТИЧЕСКИХ И БИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ

Г.В. Шпаковский<sup>1</sup>, С.Г. Спивак<sup>2,3</sup>, О.Г. Бабак<sup>2</sup>, И.Н. Бердичевец<sup>2,4</sup>, М.Р. Халилуев<sup>5</sup>, И.Ю. Словохотов<sup>1</sup>, В.Н. Клыков<sup>1</sup>, Д.Г. Шпаковский<sup>1</sup>, Е.К. Шематорова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия, *gvs@ibch.ru*

<sup>2</sup>Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь, *babak\_olga@mail.ru*

<sup>3</sup>Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь, *sve\_spivak@mail.ru*

<sup>4</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия, *i\_berdichevets@hotmail.ru*

<sup>5</sup>ФГБОУ ВО РГАУ – МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия, *marat131084@rambler.ru*

Важную роль в регуляции многих жизненных процессов играют низкомолекулярные соединения класса стероидов. Например, такие известные стероидные гормоны животных, как тестостерон, эстрадиол, прогестерон, альдостерон и кортизол участвуют в репродукции, развитии и поддержании гомеостаза. В конце 70-ых годов прошлого века особый класс стероидных гормонов, brassinosteroids, были обнаружены и у растений. К настоящему времени доказано, что brassinosteroids являются важнейшими регуляторами роста и развития, причём их способность повышать продуктивность растений, увеличивать урожай и улучшать качество некоторых сельскохозяйственных культур особенно ярко проявляется в неблагоприятных условиях внешней среды. Например, предобработка растений brassinosteroids приводит к снижению повреждающего действия как биотических (вирусы, бактерии, грибки), так и абиотических (низкая и высокая температуры, водный дефицит, тяжёлые металлы, гербициды) стресс-факторов, что указывает на участие этих гормонов в защитно-приспособительных реакциях, способствующих адаптации растений.

В ходе многолетних исследований на трёх модельных объектах (табак, наперстянка, томат) нам удалось показать, что многие из отмеченных выше гормональных функций может осуществлять и эндогенный (т.е. синтезируемый в самих растениях) прогестерон, до сих пор более известный как стероидный гормон млекопитающих, секретируемый яичниками и играющий важную роль в подготовке матки к установлению и последующему поддержанию беременности. Нам удалось перенести в растения и успешно в них экспрессировать полноразмерную кДНК гена *CYP11A1*, кодирующую у всех позвоночных животных цитохром P450<sub>SCC</sub> (*side-chain-cleaving*). В клетках стероидогенных тканей млекопитающих этот белок локализован во внутренней мембране митохондрий, где при активном участии двух других компонентов митохондриальной электронтранспортной цепи, аденодоксина и аденодоксинредуктазы катализирует реакцию отщепления боковой цепи холестерина с превращением его в прегненолон – общий предшественник всех стероидных гормонов животных. Хотя во всех изученных к настоящему времени протеомах растений не найдены цитохромы P450 «митохондриального» типа (the mito CYP clan), в 2002-2010 гг. мы показали, что этот уникальный только для животных ключевой



фермент стероидогенеза, цитохром CYP11A1 (P450<sub>SCC</sub>), успешно синтезирует прегненолон в митохондриях трансгенных растений табака, что приводит в дальнейшем к повышению в 3-5 раз уровня эндогенного прогестерона [Спивак и др., 2010]. Таким образом, нами впервые доказано, что отдельные компоненты систем биосинтеза стероидных гормонов животных и растений совместимы друг с другом *in vivo* и могут работать сообща, существенно улучшая процессы роста, развития и даже иммунитет растений. Действительно, по сравнению с растениями дикого типа полученные нами трансгенные растения табака, экспрессирующие кДНК CYP11A1 цитохрома P450<sub>SCC</sub> из коры надпочечников быка, имеют сокращенный период вегетативного развития, выражающийся, прежде всего, в раннем цветении и созревании семян, увеличенную биомассу и повышенную продуктивность (количество и качество семян) [Спивак и др., 2009], а также повышенный иммунитет к неспецифическому патогену Паслёновых *Botrytis cinerea* [Шематорова и др., 2014]. Уже первые поколения одной из линий трансгенного томата имеют более плотный и высокий стебель с увеличенными междоузлиями и проявляют большую устойчивость к засухе (водному голоданию).

Эти результаты хорошо согласуются с исследованиями других авторов по изучению влияния экзогенного прогестерона на физиологию и репродукцию растений. В этих работах было, в частности, показано, что прогестерон даже при очень низких концентрациях стимулирует созревание пыльцы и рост пыльцевой трубки у табака [Ylstra et al., 1995], индуцирует цветение и генеративное развитие у пшеницы и арабидопсиса, ускоряет и на свету, и в темноте рост семян *Arabidopsis thaliana*, улучшает рост *lh*-линии гороха с мутацией по гиббереллинам, стимулирует активность антиокислительного фермента каталазы у нута, ингибирует рост ряда патогенных и сапрофитных бактерий и грибов, таких, как *Rhizopus nigricans*.

В совокупности с недавними работами по обнаружению у растений мембранных стероидсвязывающих белков все эти данные указывают на регуляторную, по существу гормональную роль эндогенного прогестерона в растениях.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского (РФФИ, проект № 16-54-00227) и Белорусского республиканского (БРФФИ, проект № Б16Р-129) фондов фундаментальных исследований.*

#### Литература

Спивак С.Г., Бердичевец И.Н., Литвиновская Р.П., Драч С.В., Картель Н.А., Шпаковский Г.В. Некоторые особенности метаболизма стероидов в трансгенных растениях табака *Nicotiana tabacum*, несущих кДНК CYP11A1 цитохрома P450<sub>SCC</sub> из коры надпочечников быка // Биоорганическая химия, 2010. – Т. 36, № 2. – С. 241-250.

Спивак С.Г., Бердичевец И.Н., Ярмолинский Д.Г., Манешина Т.В., Шпаковский Г.В., Картель Н.А. Создание и характеристика трансгенных растений табака *Nicotiana tabacum* L., экспрессирующих кДНК CYP11A1 цитохрома P450<sub>SCC</sub> // Генетика, 2009. – Т. 45, № 9. – С. 1217-1224.

Шематорова Е.К., Словохотов И.Ю., Халилуев М.Р., Бердичевец И.Н., Баранова Е.Н., Бабак О.Г., Шпаковский Д.Г., Спивак С.Г., Шпаковский Г.В. Митохондрии как возможное место инициации синтеза стероидных гормонов в растениях // Журнал стресс-физиологии и биохимии, 2014. – Т. 10, № 4. – С. 85-97.

Ylstra B., Touraev A., Brinkmann A.O., Heberle-Bors E., Tunen A. Steroid hormones stimulate germination and tube growth of *in vitro* matured tobacco pollen // Plant Physiology, 1995. – V. 107, N. 2. – P. 639-643.

## EFFECT OF RADIATION AND BIOTIC STRESS ON CULTIVATED PLANT AND THEIR FUNGAL PATHOGENS

A.P. Dmitriev, N.I. Gushcha, A.I. Dyachenko, D.M. Grodzinsky

Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, Natl. Acad. Sci. of Ukraine, Kiev,  
*dmyt@voliacable.com*

The combined action of radiation and biotic stress on plants is a potential danger to the environment, at least for two reasons. First, low dose chronic irradiation can reduce the phytoimmunity potential of plants and, consequently, their ability to withstand infection. Second, they can act as mutagenic factors and enhance race formation that leads to the emergence of new clones in the populations of pathogenic microorganisms.

After the Chernobyl accident, a substantial increase in the rate of radiation mutagenesis could be expected, especially in the populations of plant pathogens, which are characterized by the high rates of reproduction [Grodzinsky, 2007]. Among these agents, pathogenic fungi cause the most diversified and harmful diseases of cultivated plants. We have previously shown that, under the influence of chronic low dose radiation, the aggressiveness of pathogenic fungi may be changed.

The aim of this work was to study the effect of the combined action of two stresses (radiation and biotic) on plants and to analyze changes in the race composition of the stem rust pathogen *Puccinia graminis* Pers. in the 30-km Chernobyl exclusion (ChE) zone.

Experiments were performed with seeds and plants of three wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars (Mironovskaya 808, Polesskaya 70 and Kiyanka), rye (*Secale cereale* L.) cv. Saratovskaya, and two maize (*Zea mays* L.) lines: original (W64A +/+) and high\_lysine *opaque* mutant form (W64A o2/o2), which is characterized by increased sensitivity to stressors. Seeds collected in the ChE zone and control seeds were sown in a greenhouse in soil free of radionuclides. The second part of the work was carried out in the field. In 10- and 30-km ChE zone experimental plots were set up, and the effects of radiation and biotic stresses on the immunity of cultivated plants were studied. We also assessed changes in the virulence and aggressiveness of phytopathogenic fungi. In parallel two maize lines were planted to assess the effect of radiation stress.

The results obtained suggest that the infection incidence on plants grown from Chernobyl seeds showed that chronic radiation led to decreasing of plant disease resistance. The analysis of powdery mildew incidence on three wheat cultivars (Mironovskaya 808, Polesskaya 70, and Kiyanka) revealed that disease severity in plants grown from seeds collected in ChE zone was by 1.5–2.0 times higher than that in plants grown from uncontaminated seeds. Similar data about a decrease in wheat plant resistance under the influence of radiation stress were obtained in greenhouse experiments also at inoculation with another pathogen, the causal agent of brown rust *P. triticana*. A disease severity of three wheat cultivar seedlings grown from seeds collected in ChE zone and artificially infected with brown rust spores was 1.5 times higher than that of uninfected seedlings.

We tried to elucidate the biochemical nature of the reduction in the disease resistance of plants under the influence of low radiation doses and have decided to start with an analysis of proteinase inhibitors, since the leaves and seeds of some plants contain inhibitors of phytopathogenic fungi enzymes, in particular, proteolytic enzymes, which the pathogen uses to break down host plant proteins.

Three cultivars of winter wheat, rye, and maize were grown on plots in ChE zone (the dose absorbed during the growth period was equal to 7–8 cGy for wheat and rye and 3 cGy for maize). Under the influence of low doses of chronic irradiation, activities of plant

inhibitors of proteinases (trypsin, chymotrypsin, and subtilisin) were reduced. Thus, in wheat and rye kernels, activity was reduced by 15–60% as compared to control. Proteinase inhibitors are known to produce stable complexes with proteolytic enzymes of phytopathogenic fungi, resulting in the loss of fungal activity [Dmitriev et al., 2015].

Reduced activity of proteinase inhibitors could be the cause of the reducing plant disease resistance under conditions of chronic irradiation. This assumption was confirmed in experiments with high\_lysine *opaque-2* mutant form of maize. Thus, the results, obtained independently in greenhouse and field trials in ChE zone, suggest that low doses of chronic radiation reduce plant resistance to the action of another (biotic) stress.

Under the influence of low doses of chronic irradiation, various changes could occur in pathogenic fungi, including changes in their virulence and aggressiveness. As a result of mutation, recombination, influx of migrants from other populations, new genes or their combinations may appear. In this regard, the structure of the inhabiting the ChE zone population of the fungus *P. graminis*, the very harmful causal agent of cereal stem rust developing on wheat, rye, barley, and oats was studied.

The disease is widespread, including in Ukraine and Russia and in some years leads to significant (up to 20–35%) yield losses. Rust diseases of small grain crops are difficult to control with resistant cultivars, because there are many different pathogenic races of the rust fungi. Genes for resistance to wheat and rye rust diseases may be very effective against some races, but fail completely against other races.

In a study of crop stands and also wild grasses in ChE zone, stem rust was found in 12 cereal species. The extent of disease development was 50–85% at virtually 100% disease incidence. Compared with uncontaminated with radionuclides territories, stem rust incidence on cereals in ChE zone was significantly higher. From samples of stem rust collected on experimental plots, 642 monopustul clones was isolated, among which 9 physiological pathogen races were revealed using the cultivars-differentiator, namely: 11, 21, 34, 40, 100, 189, 3k, as well as the race, tentatively called “X”, which characteristic is absent in the European Race Register. All isolated races manifested high virulence and induced responses in most test cultivars.

#### Conclusions

The effects of radionuclide contamination on innate plant disease resistance and virulence of plant pathogens have been studied.

The results obtained independently both in greenhouse and in field trials in 30-km Chernobyl exclusion zone demonstrated a decrease in plant disease resistance.

Analysis of biochemical mechanisms underlying the decrease in disease resistance revealed a reduction in activity of proteinase inhibitors in cultivated plants.

The data obtained suggest that active form- and race-producing processes occurred under chronic radiation in 30-km ChE zone. As a result a population structure of *Puccinia graminis* has been changed by appearance of a “new” population with high frequency of more virulent clones.

We believe that monitoring of microevolution processes in plants and their pathogens under conditions of technogenic accidents should provide better understanding on how serious the threats to agriculture are.

#### References

Grodzinsky D.M. Severe game of hide and seek. Chernobyl: aftereffects of disaster for man and nature (russ.). – St. Petersburg: Nauka, 2007. – P. 8-12.

Dmitriev A.P., Kovbasenko R.V., Avdeeva L.V., Lapa S.V. Signal systems of plants and induction of their resistance against biotic stress (ukr). – Kiev: Phenix, 2015. – 192 p.

**ДОКЛАДЫ В РАМКАХ  
ШКОЛЫ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ**

## ГОРИЗОНТАЛЬНЫЙ ПЕРЕНОС ДНК С УЧАСТИЕМ МИТОХОНДРИЙ КАК ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ФАКТОР И ПЕРСПЕКТИВЫ ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Ю.М. Константинов

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, [yukon@sifibr.irk.ru](mailto:yukon@sifibr.irk.ru)

Наблюдающийся в последние десятилетия быстрый прогресс в области полногеномного секвенирования позволил придти к важному заключению о том, что горизонтальный перенос генов (ГПГ) играет важную роль не только в эволюции геномов прокариот, но также достаточно широко распространен у эукариот. У представителей высших эукариот (животных, растений) с более высокой частотой ГПГ происходит в митохондриях. В соответствии с современными представлениями ГПГ в митохондрии может происходить с участием обнаруженного ранее природного механизма поглощения ДНК этими органеллами (митохондриального импорта ДНК) [Konstantinov et al., 1990; Koulintchenko et al., 2003, 2006]. Митохондриальный геном растений отличается от такового животных и дрожжей чрезвычайно большими размерами (200 – 2400 т.п.н.), наличием набора субгеномных колец и плазмидоподобных ДНК (плазмид), интенсивными процессами рекомбинации митохондриальной ДНК с участием протяженных повторов, толерантностью к включению ДНК немитохондриального происхождения. С геномами митохондрий растений связаны такие практически ценные свойства, как цитоплазматическая мужская стерильность, устойчивость к патотоксинам, адаптационная изменчивость. Хотя к настоящему времени благодаря достижениям геномики и транскриптомики достигнуты значительные успехи в исследовании организации митохондриального генома растений, ряд важных в теоретическом и практическом отношении вопросов и проблем, связанных со структурой и функциями генома этих органелл, остается нерешенным. В отношении митохондриальных геномов животных и человека также существует обширный список нерешенных проблем как теоретического, так и практического плана. Так, в современной медицине возникло такое новое направление как «митохондриальная медицина», целью которой является разработка диагностики и лечения постоянно расширяющегося списка митохондриальных болезней. Таким образом, сложившееся состояние исследований в области геномики и молекулярной генетики митохондрий высших эукариот делает весьма актуальным детальное изучение природной компетентности митохондрий к поглощению чужеродной ДНК (импорта ДНК в митохондрии) для последующего использования этих знаний в биологии, биотехнологии, сельском хозяйстве и биомедицине. В докладе будет проведен анализ результатов исследований импорта ДНК в митохондрии растительного и животного происхождения. Будет детально рассмотрена известная на сегодняшний день информация о специфичности импорта ДНК в митохондрии и его особенностях у растений, животных и дрожжей. К настоящему времени получено много сведений о присутствии митохондриальной ДНК (мтДНК) в системе циркуляции высших организмов (кровь, лимфа, флоэмный сок и др.) [Gahan, 2008, 2012]. Хотя биологические функции свободно циркулирующей мтДНК у высших организмов остаются недостаточно изученными, имеющиеся на сегодняшний день данные позволяют предполагать, что циркулирующая мтДНК может выступать в роли генетического и эпигенетических факторов [Gahan, 2013]. Таким образом, совокупность имеющихся данных об импорте ДНК в митохондрии высших эукариот позволяет рассматривать данный природный феномен в качестве явления, играющего

важную роль в генетических процессах всего организма. Задача исследователей в настоящий период состоит в детальном изучении его молекулярной природы с целью использования полученных знаний для разработки технологий направленной доставки генов в митохондрии *in vivo*.

#### Литература

Konstantinov Y.M., Podsoosny V.A., Lutsenko G.N. Translocation of bacterial vector plasmids into intact mitochondria of seedlings // *Maize Genetics Cooperation Newsletter*, 1990. – V. 64. – P. 67-68.

Koulintchenko M., Konstantinov Y., Dietrich A. Plant mitochondria actively import DNA via the permeability transition pore complex // *The EMBO Journal*, 2003. – V. 22. – P. 1245-1254.

Koulintchenko M., Temperley R.J., Mason P.A., Dietrich A., Lightowers R.N. Natural competence of mammalian mitochondria allows the molecular investigation of mitochondrial gene expression // *Human Molecular Genetics*, 2006. – V. 15. – P. 143-154.

Gahan P.B., Swaminathan R. Circulating nucleic acids in plasma and serum // *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2008. – V. 1137. – P. 1-6.

Gahan P.B. Biology of circulating nucleic acids and possible roles in diagnosis and treatment in diabetes and cancer // *Infectious Disorders – Drug Targets*, 2012. – V. 12. – P. 360-370.

Gahan P. Circulating nucleic acids: possible inherited effects // *Biological Journal of the Linnean Society*, 2013. – V. 110. – P. 931-948.

## ГЕНОМНЫЕ И ЭПИГЕНОМНЫЕ МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ

К.В. Крутовский<sup>1,2,3,4</sup>

<sup>1</sup>Гёттингенский университет им. Георга-Августа, Гёттинген, Германия, *konstantin.krutovsky@forst.uni-goettingen.de*

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

<sup>3</sup>ФГАОУ ВО Сибирский федеральный университет, Красноярск, Россия

<sup>4</sup>Техасский университет А&М, Колледж-Стейшен, Техас, США

Эпигенетические изменения в геномах растений и животных, вызванные влиянием окружающей среды и влияющие на экспрессию генов и, таким образом, на фенотипы, известны давно. Но только в последнее время появились методы, позволяющие изучать эти изменения на полногеномном уровне и сравнивать их между разными особями внутри видов, между разными видами и в поколениях. Оказалось, что некоторые эпигенетические изменения, такие как метилирование ДНК и ацетилирование гистонов могут объяснить больше адаптивных фенотипических различий, чем нуклеотидные замены или другие типы генетических мутаций. При этом эпигенетические изменения в отличие от генетических мутаций (если не считать редкие возвратные мутации) обратимы. Более того, недавно обнаружилось, что некоторые из них очень устойчивы и могут наследоваться в течение многих поколений. В докладе будут представлены примеры такой «эпигенетической памяти» в разных видах, в том числе лесных древесных видах. Кроме того, будут рассмотрены и обсуждены наиболее современные методы изучения метилирования ДНК (одного из основных эпигенетических механизмов регуляции экспрессии генов) и обнаружения эпигеномных маркёров с помощью полногеномного бисульфитного секвенирования и использования чувствительных к метилированию изоформ рестрикционных эндонуклеаз.

*Работа выполнена в рамках проекта «Геномные исследования основных бореальных лесообразующих хвойных видов и их наиболее опасных патогенов в Российской Федерации», финансируемого Правительством РФ (договор № 14.Y26.31.0004).*

## СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ ИММУНИТЕТЕ РАСТЕНИЙ

Л.А. Ломоватская

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

Современная концепция фитоиммунитета утверждает, что защита растений имеет многоуровневую систему с участием различных структур и механизмов специфического и неспецифического врожденного иммунитета.

Одной из центральных догм фитоиммунологии является теория «ген—на—ген», описывающая принципиальный механизм специфической устойчивости растений. Эта теория включает: 1) со стороны фитопатогенов гены авирулентности и кодируемые ими соединения, получившие название элиситоров; со стороны растений: 2) гены устойчивости и их продукты – рецепторы; 3) трансдукторы сигналов, передающие информацию на геном; 4) гены иммунного ответа и их продукты (PR-белки, фитоалексины, лигнин и др.).

Ключевой для начальной, детерминантной стадии заболевания является узнавание партнеров с помощью растительных рецепторов, локализованных в клеточных стенках и плазмалемме клеток растений, узнающих специфические метаболиты фитопатогенов. Такие метаболиты получили название патогенных молекулярных структур (pathogen-associated molecular patterns, PAMP). Считается, что PAMP характерны только для фитопатогенов, тогда как все остальные микроорганизмы обладают MAMP (от microbial-associated molecular patterns). Продукты деятельности литических ферментов фитопатогенов – фрагменты клеточных стенок растений, обладающие физиологической активностью, были названы молекулярными структурами патогенов, связанными с повреждением (damage-associated molecular patterns, DAMPs). Таким образом, узнавание и выявление PAMP, MAMP и DAMP осуществляется рецепторами, распознающими молекулярные структуры патогенов (pattern recognition receptors, PRRs). В результате активации специфическими лигандами у растений запускается иммунный сигналинг, приводящий к индукции защитных механизмов и предотвращению развития инфекции. Данный иммунный механизм получил название иммунитета, активируемого молекулярными структурами патогенов (pattern-triggered immunity) или PTI. Он является первым уровнем врожденного неспецифического иммунитета растений. Вторым уровнем защиты растений является специфический иммунитет (ETI), индуцируемый бактериальными эффекторами – факторами вирулентности, который обусловлен взаимодействием рецепторных белков (продукты *R*-генов растения) и эффекторов (продукты *Avr*-генов патогена) и соответствует классической концепции взаимодействия по принципу «ген-на-ген». В результате включения такой защиты происходит индукция реакции сверхчувствительности, которая реализуется как локализованная программируемая гибель растительных клеток. Активированные рецепторы перемещаются в ядро и непосредственно взаимодействуют с факторами транскрипции для запуска экспрессии защитных генов.

Представленная информация является основой событий, происходящих на детерминантной стадии фитопатогенеза. В пределах такого молекулярного диалога может реализоваться несколько защитных сценариев, как например: «модель приманки» (“bait-and-switch model”) или «обманная модель» (“decoy model”), описанная в рамках «сторожевой гипотезы».



## КОСМОС-РАСТЕНИЯ-ЖИВОТНЫЕ — ВНУТРЕННЯЯ СВЯЗЬ, ПРОИСХОЖДЕНИЕ И ЭВОЛЮЦИЯ

А.В. Панов<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики», Новосибирск, Россия, *Alexander.panov55@gmail.com*

<sup>2</sup>Mercer University, Macon, Georgia, USA

Недавние открытия в структуре митохондриальных и цитоплазматических белков привели к пониманию того, что многие ферменты являются на самом деле молекулярными машинами с «несократимой сложностью». Это понятие означает, что сложное строение молекулярных машин, построенных из десятков деталей, таково, что нельзя убрать ни одной детали, без того, чтобы машина перестала работать. Самое удивительное, это то, что такие молекулярные машины встечаются уже у самых древних, и, как считалось, эволюционно простейших организмов. И уже совсем поражает тот факт, что эти машины почти без изменений функционируют у всех живых организмов, включая растения и человека. Примерами таких устройств являются АТФ-синтаза тилакоидов хлоропластов и митохондрий животных.

Другой поразительный факт состоит в том, что прото-растительная клетка, от которой произошли все растения, появилась примерно на миллиард лет позже, чем прото-клетки, содержащие митохондрии, а это произошло через 1-2 миллиарда лет после создания кислородной атмосферы колониями цианоактерий.

Все эти новые факты заставляют нас пересмотреть наши традиционные взгляды на происхождение и эволюцию жизни на нашей планете, роль митохондрий в растительной клетке и взаимоотношения между растительным и животным мирами.

Мы рассмотрим происхождение и роль тяжелых элементов и воды в живых системах, проведем сравнительный анализ энергетического метаболизма у растений и животных на основе Неравновесной Термодинамики, а также соотношение Дарвиновской и недарвиновской эволюции.

Все перечисленные выше открытия, пока ставят перед учеными больше вопросов, чем ответов. Пока же научный мир предпочитает отмалчиваться, как будто не было открытий последних лет. Молодому поколению ученых, однако, предстоит работать в новых условиях, когда игнорировать новые проблемы уже будет нельзя.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ МИКРОСКОПИИ ЖИВЫХ КЛЕТОК В ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

А.В. Степанов

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

Флуоресцентные методы прочно вошли в жизнь современного биолога. Внедрение флуоресцентных зондов позволило значительно модернизировать методы молекулярной биологии, физиологии, протеомики и энзимологии. Что позволило значительно упростить их, повысить чувствительность, снизить вредность и расширить массовость. Что касается физиологии, то она получила незаменимый инструмент изучения поведения клеточных компартментов, макромолекул и низкомолекулярных веществ и их взаимодействия непосредственно внутри живой клетки. По изменению интенсивности, либо спектру флуоресценции введённого флуорофора можно отслеживать практически любой физиологический параметр. В связи с этим флуоресцентная микроскопия живых клеток получает всё большее распространение, и на данный момент без неё не обходится ни одна физиологическая публикация.

Несмотря на все достоинства и простоту, флуоресцентная микроскопия – это не волшебная палочка, и наряду с достоинствами имеет свои ограничения, недостатки, подводные камни, с которыми неминуемо сталкивается начинающий исследователь.

Цель данной работы помочь молодым исследователям разобраться в основах флуоресцентной микроскопии как таковой, кратко рассказать отличительные особенности прижизненного окрашивания от фиксировавшихся техник, помочь в выборе красок и достаточного оборудования для проведения конкретных физиологических исследований.

Главные вопросы, с которыми сталкивается любой исследователь – это: 1) что смотреть? 2) как смотреть? 3) на чём смотреть? и 4) как обрабатывать и представлять данные? Далее разберём по пунктам.

Что смотреть? Как для любой световой микроскопии объекты флуоресцентной микроскопии имеют ряд ограничений. Объект должен быть оптически прозрачным и помещаться на предметный столик микроскопа. Очень мало объектов удовлетворяет таким условиям. Большинство объектов можно специально готовить к проведению микроскопических экспериментов. Существует ряд способов, имеющих свои достоинства и недостатки: получение суспензии клеток, культуры клеток, толстые срезы тканей.

Как смотреть? На данный момент существует несколько поколений флуорофоров и способов доставки их в клетки. Классификация флуорофоров включает химические красители нескольких поколений (различающихся по яркости, стабильности флуоресценции, зависимости свечения от условий среды и так далее), флуоресцентные белки и квантовые точки. Спектр флуоресценции флуорофора также имеет ключевое значение для проведения прижизненных экспериментов: 1) чем больше длина волны возбуждения, тем менее оно разрушающе действует на клетку; 2) стандартный широкопольный флуоресцентный микроскоп максимум может разделить 4 спектральных канала, таким образом, в идеальных условиях можно вводить сразу 4 красителя при условии, что они не влияют друг на друга, и это не подрывает жизнеспособности клеток. От того, на каком красителе построена тест-система зависят способы введения: либо это предварительная трансформация в случае флуоресцентных белков, либо микроинъекция в отдельные клетки, либо модификация красителя до

формы способной самостоятельно проникать в клетку и простого окрашивания с отмывкой или без. В зависимости от используемой концентрации красителя могут работать прямым, либо обратным методом. По форме проведения эксперимента также различаются два способа: массовый – когда много клеток и мало точек среза информации и клеточный – когда выбираются отдельные клетки или клетка и параметр изучается в динамике, конкретно у этой клетки. Соответственно массовый метод показывает «среднюю температуру по больнице», но статистически достоверно, клеточный более показательный, но менее статистически достоверный.

На чём смотреть? Современная промышленность выпускает широкий набор так называемых биологических микроскопов, или микроскопов проходящего света, оснащённых флуоресцентными приставками различных модификаций. Главное разделение – прямые (классические) и инвертированные. Для физиологических экспериментов больше подходят инвертированные микроскопы, в которых возможна работа в культуральных сосудах, таких как чашки Петри, культуральные боксы и планшеты с дном, покровное стекло. Объект силой тяжести опускается на дно и не испытывает гипоксии и давления, как это происходит под покровным стеклом. По прецизионности микроскопы делятся на любительские (игрушки), учебные, лабораторные и исследовательские. Корректно провести и воспроизвести физиологический эксперимент на микроскопе классом ниже исследовательского очень сложно. Использование моторизованных микроскопов позволяет сводить к нулю погрешность, связанную с ошибками оператора, и воспроизводить каждый раз строго определённые условия, возбуждения и детекции флуорофора. Без моторизации этого сделать нельзя. Использование моторизованных световых заслонок позволяет облучать объект только во время снимка, причиняя гораздо меньший ущерб как флуорофору, так и клетке. С другой стороны, использование техники, позволяющей выполнять оптические срезы уже не совсем рационально и дорого для выполнения рутинных физиологических экспериментов.

Как обрабатывать и представлять результаты? Это самый сложный, дискуссионный и во многом не решённый вопрос. За редким исключением, в любом образце теоретически можно увидеть как доказательство, так и опровержение любой гипотезы. Поэтому делать какие-либо выводы без статистической обработки данных и постановки положительного и отрицательного контролей в физиологических экспериментах недопустимо. Многие объекты имеют автофлуоресценцию в видимом спектре, при превышении рекомендуемой концентрации возможны неспецифические окрашивания. Отклонение от оптимальных условий существования может привести к артефактам в работе даже самых безупречных красителей. В связи с чем, необходимо делать контроль адекватности работы красителя в ваших конкретных условиях.

Результаты физиологических экспериментов обычно представляют в виде графиков и диаграмм с подтверждением характерной локализации красителя микрофотографиями характерного эксперимента, однако конкретные технологии перевода сырых данных в диаграммы большинство исследователей в публикациях не приводят. Наиболее приглядно выглядят данные после калибровки и перевода в единицы измерения, принятые для исследованного параметра, однако большинство исследователей представляют интенсивность флуоресценции в качестве относительных единиц. Также можно представлять параметр как процент случаев или изменение интенсивности флуоресценции по отношению к контролю.

В случае, когда нельзя точно задать определённую форму и размер объекта, автоматический подсчёт данных становится практически невозможным. В любом случае, погрешность при автоматическом подсчёте будет всегда выше, так как программе весьма трудно понять, что такое объект и как отличить его от грязи.

## МИТОХОНДРИАЛЬНЫЕ ФЕРРЕДОКСИНЫ КАК ВАЖНЕЙШИЕ РЕГУЛЯТОРЫ ФУНКЦИЙ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ

Г.В. Шпаковский<sup>1</sup>, И.Ю. Словохотов<sup>1</sup>, С.Г. Спивак<sup>2</sup>, Е.К. Шематорова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия, *gvs@ibch.ru*

<sup>2</sup>Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь, *sve\_spivak@mail.ru*

Ферредоксины (FDX) растений, содержащие железо-серные кластеры 2Fe-2S, можно разделить на два класса по их локализации: пластидные и митохондриальные. Например, у модельного растения *Arabidopsis thaliana*, из девяти генов, кодирующих [2Fe-2S]-FDXs, шесть кодируют FDXs хлоропластов, а три – ферредоксины митохондриального типа (MFDXs), два из которых по первичной структуре обнаруживают явное сходство с аденодоксинами млекопитающих (бык, человек).

Ранее мы показали, что уникальный для Animalia ключевого фермент стероидогенеза – цитохром P450scs (CYP11A1) – может функционировать в растениях. Поскольку в митохондриях клеток животных монооксигеназная система CYP11A1 использует в качестве переносчиков электронов FAD-содержащий флавопротеид аденодоксинредуктазу и [2Fe-2S]-FDX аденодоксин, важно было понять, какие белки могут выполнять функцию этих партнёров цитохрома P450scs в растениях. С этой целью мы клонировали и установили первичную структуру кДНК аденонодоксиноподобных MFDXs табака, томата и наперстянки *Digitalis purpurea*, а также провели поиск белков-партнёров этих полипептидов в соответствующих растительных протеомах с помощью дрожжевой двухгибридной системы Interaction Trap. Многие из обнаруженных нами взаимодействий указывают на новые возможные функции ферредоксинов в митохондриях растений. В протеоме *Digitalis purpurea* MFDX2 взаимодействует с ферментом биосинтеза тиазола THI1, участвующим как в синтезе тиазолового кольца, так и в дальнейшей его конденсации с пиримидиновой группировкой с образованием тиаминпирофосфата (витамин B1). У растений синтез витамина B1 происходит и в хлоропластах, и в митохондриях, причём в каждой из органелл работает своя особая изоформа белка THI1, образующаяся в результате дифференциального использования двух альтернативных стартовых кодонов трансляции ATG. Основой реакции, катализируемой THI1, является включение атома серы, захватываемого из цистеина с помощью цистеиндесульфуразы Nfs1. В этом смысле реакция, катализируемая THI1, напоминает последнюю стадию синтеза витамина B8 (превращение детиобиотина в биотин), катализируемую биотинсинтазой BIO2 – единственную известную на сегодняшний день строго доказанную функцию MFDXs растений [J. Biol. Chem., 2003, 278: 24966-24975].

Мы также установили, что оба митохондриальных ферредоксина табака (MFDX1 и MFDX2) взаимодействуют с белком MORF9 и длиной (547 nt) некодирующей РНК нового типа, которая, с одной стороны, связывается с РНК-полимеразой II и стимулирует транскрипцию, а с другой – регулирует (причём как положительно, так и отрицательно) целый ряд компонентов дыхательной цепи растительных митохондрий, в частности белки Nad1 и Nad5 комплекса I и белок системы синтеза цитохрома *c* CcmF. Благодаря взаимодействию MFDX1 и MFDX2 табака с белком MORF9, не исключено их участие в процессинге (сплайсинг, редактирование) мРНК митохондрий.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 16-54-00227).*

## УНИКАЛЬНЫЕ ДЛЯ *HOMO SAPIENS* ФОРМЫ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ II И ИХ РОЛЬ В ЭВОЛЮЦИИ ЧЕЛОВЕКА

Г.В. Шпаковский, Д.Г. Шпаковский, Ю.В. Долудин, А.В. Аралов, Е.К. Шематорова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия, *gvs@ibch.ru*

Присущее человеку стремление познать не только окружающий мир, но и прежде всего самого себя возводит происхождение и эволюцию человека в одну из важнейших проблем современной науки. Симбиотическая гипотеза Ч. Дарвина о происхождении человека от высокоразвитых обезьян третичного периода (1871 г.) положила начало научному осмыслению этого вопроса, но лишь в 70-е годы прошлого века начали предлагаться возможные объяснения биологической эволюции человека с позиций молекулярной генетики. Важным достижением наступившей постгеномной эры стало осознание того, что одним из важнейших молекулярных механизмов прогрессивной эволюции сложных геномов являются сегментные дупликации, способствующие возникновению новых генных семейств. С позиций антропогенеза наибольший интерес представляют самые недавние, специфичные для высших приматов, дупликации.

Изучив молекулярную эволюцию двух таких «молодых» генных семейств: генов *POLR2J* системы транскрипции и *PMS2* системы репарации неспаренных нуклеотидов (MMR), мы показали, что появление и совершенствование генетической структуры обоих этих генных семейств чётко коррелируют с основными этапами биологической эволюции высших приматов, так что семейства генов *PMS2* и *POLR2J* могут рассматриваться в качестве достоверных молекулярных маркеров антропогенеза [Генетика, 2010, 46: 1254-1257]. Отобранные позитивной селекцией и дающие новые возможности изменения именно в таких базовых молекулярно-биологических процессах (MMR, транскрипция) только и могли создать предпосылки для генетического ароморфоза, который, несомненно, предшествовал возникновению и способствовал формированию рода *Homo*.

С целью проследить диверсификацию функций новых, специфичных для человека белков, образующихся в результате экспрессии генов *POLR2J2* и *POLR2J3*, с помощью генетического (дрожжевая двухгибридная система) и биохимических (соосаждения белков из клеточных лизатов, иммунопреципитация) подходов мы детально охарактеризовали взаимодействующие с этими белками полипептиды (белки-партнёры) в нервной (эмбриональный мозг) и иммунной (клеточная линия Jurkat) тканях человека [Цитология, 2013, 55: 172-177]. Выявленные спектры взаимодействий hRPB11 $\alpha$  и hRPB11 $\alpha$  показывают, что эти белки являются минорными изоформами субъединицы РНК-полимеразы P<sub>h</sub>RPB11 и входят в состав специфических РНК-полимеразных комплексов, по-новому регулирующих экспрессию (синтез, процессинг и экспорт мРНК из ядра к полисомам) целого ряда важнейших генов человека – нами впервые обнаружены некоторые из таких генов, в частности важные для функционирования центральной нервной системы *CLN3* и *MARCKS*. Всесторонне изучены взаимодействия трёх главных изоформ субъединицы POLR2J (hRPB11 $\alpha$ , hRPB11 $\beta$  и hRPB11 $\gamma$ ) с субъединицами POLR2C (hRPB3) и POLR2F (hRPB6) в составе соответствующих комплексов РНК-полимеразы II человека, состоящих из двенадцати субъединиц каждый. Показано, что взаимодействия именно этих белков (hRPB11-hRPB3 и hRPB11-hRPB6) определяют специфику каждого из трёх РНК-полимеразных комплексов *Homo sapiens*.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 14-04-01485).*

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

## ПИГМЕНТНЫЙ СОСТАВ ЛИСТЬЕВ ПЕРСИКА В УСЛОВИЯХ ЧЕРНОМОРСКОГО ПОБЕРЕЖЬЯ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ

Ю.С. Абиьфазова

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт цветоводства и субтропических культур, Сочи, Россия, [Citrus\\_Sochi@mail.ru](mailto:Citrus_Sochi@mail.ru)

Влажные субтропики России оптимальны и благоприятны для возделывания культуры персика. К сожалению, нарушение водно-термического режима не только снижает продуктивность, но и ухудшает качества плодов. Изучение физиологического состояния растений *Persica vulgaris* (Mill.) как в оптимальный период, так и в период стресса дает возможность выявить показатели, характеризующие их устойчивость к стресс-факторам [Абиьфазова, 2014; Рындин, 2014].

Наши исследования проводятся на растениях, выращиваемых на плантации института в опытно-технологическом отделе сектора плодовых культур ФГБНУ ВНИИЦиСК (0,5 га с площадью питания 5 x 2 м, 2004 - 2008 гг. посадки). Агротехника общепринятая для культуры персика.

Для установления адаптивного потенциала во влажных субтропиках России проводились физиолого-биохимические исследования различных сортов и клонов персика ранних, средних и поздних сроков созревания, что позволит оценить их функциональное состояние и подбор сортов, которые соответствовали бы нашему субтропическому региону [Абиьфазова, 2014; Клемешова, Белоус, 2013].

Для изучения особенностей физиолого-биохимических реакций на действие стресс-факторов были отобраны модельные сорта и клоны с различной степенью устойчивости. Использованы классические методы: активность фермента каталазы [Гунар, 1972]; определение хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов [Шлык, 1971]. Индикаторными органами для диагностики сортов персика являлись физиологически зрелые листья.

При обработке материала и оценке результатов исследований применяли математический пакет программ Excel XP.

Изучение пигментного состава и дыхательного фермента способствует выявлению путей повышения адаптационного потенциала, от которого зависит рост, развитие и продуктивность растений. Отсюда следует, что функциональная активность ассимиляционного аппарата тесно связана с уровнем содержания пигментов и активности дыхательного фермента. Так, в субтропической зоне воздействие на растения персика стрессовых факторов (прохладная и дождливая погода весной или же засуха летом) приводят к ответной реакции многих физиологических показателей, к сожалению, часто отрицательной.

Проведенные исследования (2012 – 2013 гг.) показали, что физиологическое состояние растений персика напрямую зависело от изменений окружающей среды. Полученными данными по активности фермента каталазы подтверждено, что высокая температура воздуха свыше +30 °С и влажность более 75% после холодной весны (когда растения ещё не успели адаптироваться) спровоцировали ингибирование окислительной способности листьев персика. Из этого следует, что сочетание засухи с жарой и высокой инсоляцией часто усиливают негативные последствия стрессов у растений – это нарушение фотосинтеза, дыхания и др.

Так, у сортов персика раннего срока созревания ферментативная активность каталазы была ниже в 1,6 раза, а у среднего и позднего сроков созревания в 1,4...1,9 раза в сравнении с 2012 годом, что связано с почвенно-климатическими условиями.

Параллельно была проведена работа и по фотосинтетической деятельности листьев персика. Однако пигментный комплекс растительного организма относится к числу систем, отличающихся значительной чувствительностью к изменяющимся условиям, поэтому пигменты отвечают на малейшие изменения среды – высокая температура, недостаточная водообеспеченность, вызывающие деструкцию хлоропластов и, тем самым, нарушая синтез хлорофилла *a* и *b*, при котором изменяется прочность связей в хлорофилл-белково-липоидном комплексе пластиды.

Так, в период активного нарастания ассимиляционной поверхности листьев персика установлено увеличение пластидных пигментов (хлорофиллов *a* и *b*) практически у всех опытных сортов и клонов, за исключением сортов раннего срока созревания Саммерсет и среднего срока созревания Санбим, Команче, у которых наблюдалось снижение хлорофиллов *a* и *b* в 1,3-1,4 раза в сравнении с контролем Редхавен. Вместе с тем с увеличением пигментов наблюдалось снижение индекса хлорофиллов (*a/b*) и увеличение соотношения суммы хлорофиллов к каротиноидам ( $(Ca+b)/карот.$ ), что приводило к усилению адаптивного потенциала персика у сортов: Фаворит Мореттини, Нектарин Склор, Эрли блоу Донецкий желтый, Лариса, Славутич и Редхавен (контроль). Кроме того, получен высокий уровень содержания каротиноидов у сортов Николай I, Спринголд, Бэйголд, свидетельствующий о роли их как светосборщиков и фотопротекторов в листьях персика, что косвенно указывает на лучшую энергообеспеченность организма растений. Установленный высокий показатель каротиноидов используют в качестве диагностического критерия оценки устойчивости к гидротермическим нарушениям.

В результате исследований у различных по срокам созревания и устойчивости сортов и клонов персика установлено сочетание стрессоров – высокая влажность почвы, низкие температуры воздуха весной во время цветения и образования завязи, роста побегов, а также высокая солнечная активность летом, характеризовали низкую окислительную способность и высокую фотосинтетическую деятельность листьев персика, которые достоверно отражали высокую вариабельность внутри опытных растений.

#### Литература

Абильфазова Ю.С. Физиолого-биохимические показатели устойчивости персика в зависимости от погодных условий Сочи // Садоводство и виноградарство, 2014. – № 4. – С. 42-44.

Клемешова К.В., Белоус О.Г. Сортная диагностика функционального состояния Актинидии сладкой. Основные абиотические стрессоры, диагностические показатели и методика диагностики. – Saarbrücken: Lap Lambert Academic Publishing, 2013. – 51 с.

Гунар И.И. Практикум по физиологии растений. – М.: Колос, 1972. – 168 с.

Рындин А.В., Белоус О.Г., Маляровская В.И., Притула З.В., Абильфазова Ю.С., Кожевникова А.М. Использование физиолого-биохимических методов для выявления механизмов адаптации субтропических, южных плодовых и декоративных культур в условиях субтропиков России // Сельскохозяйственная биология, 2014. – № 3. – С. 40-48.

Шлык А.А. Определение хлорофилла и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев // Биохимические методы в физиологии растений. – М.: Наука, 1971. – С. 154-170.



## ВЛИЯНИЕ ЗАСОЛЕНИЯ НА СОДЕРЖАНИЕ ХЛОРОФИЛЛА И ПРОНИЦАЕМОСТЬ МЕМБРАН У УКОРЕНЯЮЩИХСЯ ЧЕРЕНКОВ ВИНОГРАДА

З.М. Алиева

ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный университет», Махачкала, Россия,  
*zalieva@mail.ru*

Необходимость изучения солеустойчивости большого числа видов и сортов культурных и дикорастущих растений ставит проблему ее быстрой диагностики [Гончарова, 2011]. В качестве экспресс – показателя удобно использовать степень подавления регенерационной активности стеблевых черенков в условиях засоления, что нами ранее было проанализировано на примере большого числа травянистых растений [Алиева, Юсуфов, 2013]. Отмечено, что степень снижения регенерационной активности черенков в условиях засоления может рассматриваться как тестовый показатель, а концентрации солей, подавляющие ризогенез, у чувствительных видов и сортов лежат в более низких областях, чем у устойчивых. Для полуудревесневших и одревесневших черенков плодовых растений такая экспресс-оценка особенно актуальна, поскольку позволяет проводить ранний мониторинг солеустойчивости растений [Sincliar, Hoffman, 2003]. В то же время необходима комплексная оценка состояния черенков, включающая анализ не только морфологических, но физиолого-биохимических изменений в их тканях при укоренении в условиях засоления. В работе на примере культивируемых в растворах хлорида натрия черенков винограда проведено исследование содержания фотосинтетических пигментов в тканях листовых пластинок и состояния клеточных мембран, которое оценивали по выходу электролитов из высечек кондуктометрическим методом [Гришенкова, Лукаткин, 2005]. Объектом исследований служили растения винограда (*Vitis vinifera*), стеблевые трехглазковые черенки которого культивировали в растворах NaCl (0-100 мМ).

Изменения в регенерационной активности у черенков винограда в условиях засоления зависели от сорта и сопровождались снижением содержания хлорофилла в тканях листьев и повышением степени повреждения мембран, что приводило к увеличению выхода электролитов. Виноград в целом является относительно солеустойчивой культурой, что подтвердилось данными по регенерации стеблевых черенков в условиях засоления. Так, ризогенез черенков винограда ингибировался в более высоких концентрациях NaCl, чем алычи, айвы, гаранта, хурмы. При этом наблюдалась сортовая специфика реакции на засоление. Укоренение черенков происходило даже в растворах 50 и 75 мМ (сорт Агадаи Кишмиш, Рислинг). У винограда сорта Рислинг достоверное снижение выхода электролитов из высечек пластинок наблюдалось уже у черенков, культивируемых в растворах NaCl с концентрацией 10 мМ, а содержания хлорофилла и укореняемости – у культивируемых в растворах 20-40 мМ. У сорта Кишмиш содержание хлорофилла в листьях черенков, культивируемых в растворе 20 мМ, достоверно не отличалось от контрольных значений, и снижалось только в варианте 40 мМ. Достоверное повышение интенсивности выхода электролитов у этого сорта наблюдалось в вариантах с концентрацией NaCl 20 и 40 мМ. Влияние засоления на содержание хлорофилла в листовых пластинках черенков винограда подтверждалось результатами дисперсионного анализа.

Таким образом, выявлена связь между реализацией регенерационных процессов у черенков винограда в условиях засоления и изменениями, происходящими на

клеточном уровне (содержанием хлорофилла и состоянием мембран). Такой подход позволяет оценить ответную интегральную реакцию организма и может быть использован при оценке солеустойчивости.

#### Литература

Алиева З.М., Юсуфов А.Г. Индивидуальность и солеустойчивость растений и органов (Экологические аспекты). – Махачкала: Изд-во ДГУ, 2013. – 198 с.

Гончарова Э.А. Изучение устойчивости и адаптации культурных растений к абиотическим стрессам на базе мировой коллекции генетических ресурсов: Научное наследие профессора Г.В. Удовенко. – СПб.: ГНУ ВИР, 2011. – 336 с.

Гришенкова Н.Н., Лукаткин А.С. Определение устойчивости тканей к абиотическим стрессам с использованием кондуктометрического метода // Поволжский экологический журнал, 2005. – № 1. – С. 3-11.

Sinclair C., Hoffman A.A. Monitoring salt stress in grapevines: Are measures of plant trait variability useful // J. Appl. Ecol., 2003. – V. 40, N 5. – P. 928-937.

## СОСТОЯНИЕ КУЛЬТУР СОСНЫ КЕДРОВОЙ СИБИРСКОЙ В УСЛОВИЯХ ГОРОДА ГРЯЗОВЕЦ ВОЛОГОДСКОЙ ОБЛАСТИ

М.М. Андропова, С.А. Корчагов

Вологодский институт права и экономики ФСИН России, Вологда, Россия,  
mary1969@ya.ru, kors45@ya.ru

Роль растений в формировании экологического каркаса городов крайне велика. С одной стороны, являясь «зеленым фильтром», растения имеют огромное значение в создании и поддержании благоприятных условий для проживания населения, с другой - находятся под воздействием постоянных стресс-факторов техногенной среды, вызывающих снижение фитомассы, прироста, продуктивности, поражение болезнями и вредителями, сокращение срока вегетации, вплоть до гибели отдельных растений и изменения видового состава насаждений. Огромное значение в формировании насаждений играют природно-растительные условия, сложившиеся в ходе эволюционного развития территории.

Исследования проведены на трех участках культур сосны кедровой сибирской (*Pinus sibirica* du Tour), выращиваемой в условиях интродукции на территории г. Грязовца Вологодской области. Культуры созданы в 1969 г. В ходе подеревной инвентаризации обследовано 326 экземпляров сосны кедровой сибирской, у которых измерены диаметры и высоты деревьев, определены категории санитарного состояния в соответствии с методическими рекомендациями [Методические..., 2011], определены видимые пороки с учетом классификации по ГОСТ 2140-81 [Видимые пороки..., 2006].

В культурах сосны кедровой сибирской отмечается значительный прирост по диаметру ствола, средняя величина которого достигает более 0,5 см. В то же время наблюдается относительно низкий прирост деревьев по высоте ствола (0,20 м). В связи с этим к настоящему времени в культурах образовались невысокие стволы с большим диаметром, что, в конечном итоге, вызвало формирование сильно сбежистой древесины (табл. 1).

**Таблица 1**

**Средние параметрические показатели стволов сосны кедровой сибирской  
в культурах [Андропова, Корчагов, 2016]**

Показатели	Номер участка			Средние значения
	1	2	3	
Средний диаметр стволов на высоте 1,3 м, см	24,0±0,5	27,0±0,9	23,7±2,6	24,9±0,4
Средний годовой прирост по диаметру ствола, см	0,54	0,61	0,54	0,56
Высота ствола, м	9,6±0,4	7,8±1,0	9,2±0,4	8,9±0,5
Средний годовой прирост по высоте ствола, м	0,22	0,18	0,21	0,20

Значительную долю (в среднем 50%) составляют ослабленные деревья, что может являться следствием воздействия комплекса экологических факторов, а также техногенных воздействий, проявляющихся в условиях урбанизированной городской среды. По всей видимости, этими же причинами вызвано наличие значительного числа сильно ослабленных (20,9%) и усыхающих (10,5%) деревьев. На данном этапе онтогенеза образовался, хоть и в небольших количествах, сухостой текущего года и прошлых лет. 15% деревьев в настоящее время адаптировались к условиям внешней среды и не проявляют признаков ослабления (табл. 2).

Таблица 2

**Распределение числа деревьев сосны кедровой сибирской в культурах по категориям состояния, %**

Номер участка	Без признаков ослабления	Ослабленные	Сильно ослабленные	Усыхающие	Сухостой текущего года	Сухостой прошлых лет
1	33,3	25	-	41,7	-	-
2	12,2	65,3	8,2	14,3	-	-
3	13,6	47,9	25,7	8,2	1,6	3,1
Средние значения	15,0	50,0	20,9	10,5	1,5	2,1

Значительная часть деревьев (32,5%) имеет двойную сердцевину (двойную вершину). Вероятно, на формирование двух и более стволов деревьев у кедров сибирского влияет воздействие низких температур при высокой влажности воздуха, а также резкие перепады температуры воздуха при внезапных оттепелях в зимний период. По причине сильных морозов на стволах сосны также возникают морозобойные трещины, которые отмечены у 5,8% обследованных деревьев. Вследствие развития боковых побегов, из-за гибели основного, наблюдаются стволы с кривизной, доля которых достигает 5,8%. У единичных экземпляров отмечено наличие дупла, гнили и грибных поражений (табл. 3).

Таблица 3

**Наличие видимых пороков на стволах сосны кедровой сибирской, %**

Номер участка	Пороки						
	Кривизна ствола	Двойная сердцевина	Сухобокость	Морозобойные трещины	Грибные поражения	Гниль	Дупло
1	6,9	37,2	0,4	4,9	1,2	0,8	0,4
2	-	15,4	3,8	7,7	1,9	5,8	1,9
3	16,7	50,0	8,3	25,0	-	-	-
Средние значения	5,8	32,5	1,2	5,8	1,2	1,5	0,6

Таким образом, результаты проведенных исследований показывают, что сосна кедровая сибирская в условиях интродукции на территории г. Грязовца Вологодской области имеет значительные приросты по диаметру ствола при относительно низком росте его по высоте. При этом деревья сосны характеризуются преимущественно ослабленным состоянием с развитием двух и более вершин, что, вероятно, вызвано природно-растительными и техногенными факторами в районе произрастания культур.

Литература

Андропова М.М., Корчагов С.А. Рост и развитие сосны кедровой сибирской в Вологодской области // Лесной вестник, 2015. – Т. 19, № 6. – С. 45-49.

Видимые пороки древесины. Классификация, термины и определения, способы измерения: ГОСТ 2140-81. – Введ. 01.01.1982. – М.: Стандартинформ, 2006. – 121 с.

Методические рекомендации по проведению государственной инвентаризации лесов: Приказ Рослесхоза 10.11.2011 № 472. – КонсультантПлюс.

# АНАЛИЗ ПЕРВИЧНЫХ ПРОЦЕССОВ ФОТОСИНТЕЗА В ХВОЕ СОСНЫ *PINUS SYLVESTRIS* ПРИ СЕЗОННОЙ АДАПТАЦИИ К НИЗКИМ ТЕМПЕРАТУРАМ

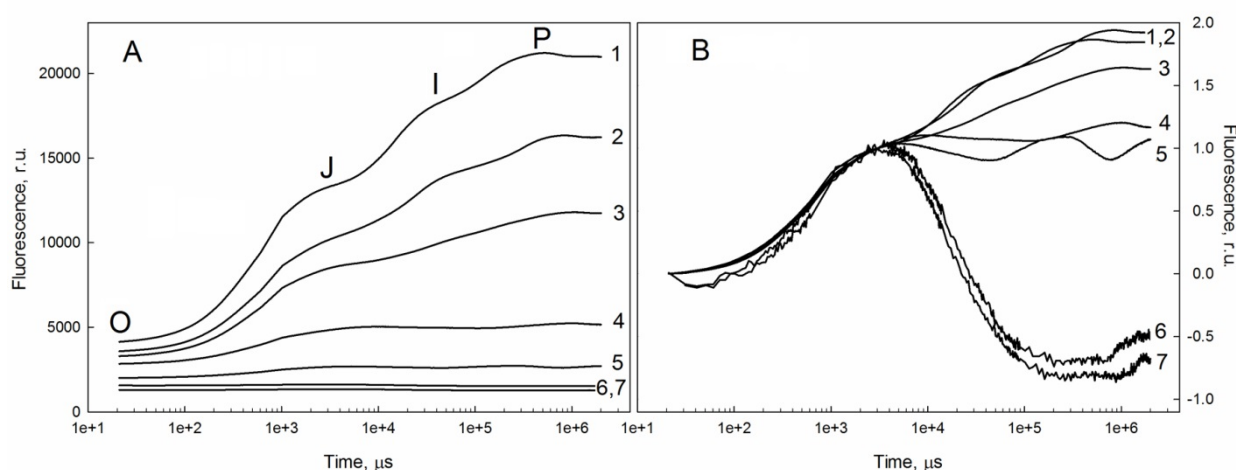
Т.К. Антал<sup>1</sup>, В.Е. Софронова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия, *taras\_an@mail.ru*

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, Россия, *vse07\_53@mail.ru*

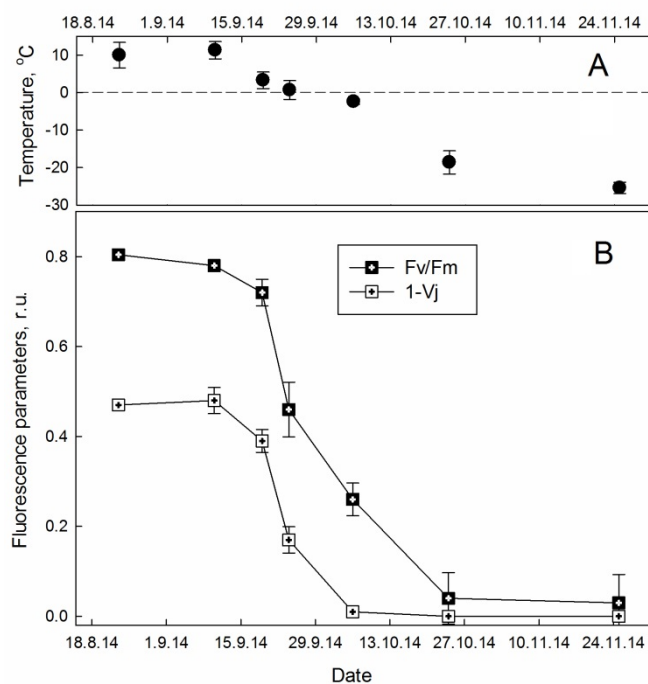
Вечнозеленые растения испытывают негативное воздействие низких температур в холодное время года, когда абсорбция световой энергии превосходит возможности ее утилизации в реакциях фотосинтеза. В этих условиях активируются фотозащитные механизмы, направленные на снижение количества поглощенной энергии, и ее безопасную диссипацию в хлоропласте. Измерение кинетики нарастания флуоресценции хлорофилла (ФХ), индуцированной светом высокой интенсивности, является информативным методом оценки эффективности преобразования энергии в световых реакциях фотосинтеза. В кинетике индукции ФХ различают несколько фаз (ОJIP), характеризующих последовательное восстановление акцепторной части ФС II (OJ), пластохинонового пула (ПХ) (JI) и пула переносчиков электронов за ПХ, включая ФС1 (IP). Уровни O и P на кинетической кривой соответствуют величине параметров  $F_0$  и  $F_m$ , соответственно.

На рис. 1 представлены сезонные (август – ноябрь) изменения ОJIP кривых в хвое текущего года *P. sylvestris*, произрастающих в окрестностях г. Якутска. Значительное снижение величины  $F_0$  (O) в период с августа по ноябрь (рис. 1A) свидетельствует об уменьшении содержания хлорофилла, а также о росте нерегулируемых тепловых потерь в антенне, которые ранее наблюдали у *Ephedra monosperma* при сезонной адаптации [Софронова и др., 2014].



**Рис. 1.** Индукционные кривые флуоресценции хлорофилла (ОJIP), измеренные на хвое текущего года *P. sylvestris* с помощью прибора РЕА (Hansatech, GB). А – оригинальные кривые, Б – кривые, нормированные на амплитуду фазы OJ (3 мс). 1, 2, 3, 4, 5, 6 и 7 соответствуют измерениям, проведенным 23.08, 9.09, 19.09, 24.09, 6.10, 24.10 и 25.11 2014 г., соответственно. Интенсивность возбуждающего света составляла 3000 мкмоль фотонов  $m^{-2} s^{-1}$ . Измерения проводили при температуре окружающей среды после 30 мин темновой адаптации. Каждая кривая получена путем усреднения как минимум 3 измерений.

Снижение переменной флуоресценции ( $F_v = F_m - F_o$ ) отражает накопление центров ФС2, не способных к восстановлению первичного хинонного акцептора Qa нарушения процесса фотохимического преобразования энергии в реакционном центре. На рис. 1В показаны ОЛР-кривые, нормированные на амплитуду фазы OJ. Нормировка позволяет оценить относительный вклад JР фазы в переменную флуоресценцию. Как известно, амплитуда JР фазы отражает способность переносить электрон с ФС2 в ПХ пул. Соответственно, уменьшение амплитуды этой фазы свидетельствует о накоплении Qb-невосстанавливающих центров ФС2. Вклад JР фазы резко снижался в ходе сезонной холодной адаптации. Кривые, снятые в конце октября и в ноябре, характеризовались падением выхода ФХ после достижения пика J, что характерно для центров с полностью инактивированным кислород-выделяющим комплексом (рис. 1В). На рис. 2 приведены сезонные изменения температуры (А) и параметров ФХ  $F_v/F_m$  и  $(1-V_j)$  (В), которые характеризуют накопление Qa- и Qb- невосстанавливающих центров, соответственно. Как видно из рисунка, содержание функциональных форм ФС2 резко снижалось при около нулевых значениях температуры (от 3-х до -3-х °С). В этом интервале температур фотохимическая активность центров ( $F_v/F_m$ ) падала на 70%, вероятно, из-за ингибирования ресинтеза D1 белка, а оставшиеся 30% фотохимически активных центров переходили в Qb-невосстанавливающее состояние, что может быть следствием снижения скорости диффузии ПХ.



**Рис. 2. Изменения среднесуточной температуры (А) и параметров флуоресценции хлорофилла (В) при сезонной адаптации *P. sylvestris*. Параметры флуоресценции ( $F_v/F_m$  и  $(1-V_j)$ ) рассчитаны из кривых на рис. 1.**

Таким образом, при около нулевых температурах наблюдалась полная функциональная инактивация ФС2, которая сопровождалась резким накоплением фотозащитных пигментов (данные не приведены). Предположительно, температурная инактивация ФС2 является частью процесса, регулирующего адаптацию фотосинтетического аппарата к низким температурам.

#### Литература

Софронова В.Е., Антал Т.К., Дымова О.В., Головки Т.К. Фотозащитные механизмы в фотосистеме II *Ephedra monosperma* в период формирования морозоустойчивого состояния // Физиология растений, 2014. – Т. 61, № 6. – С. 798-807.

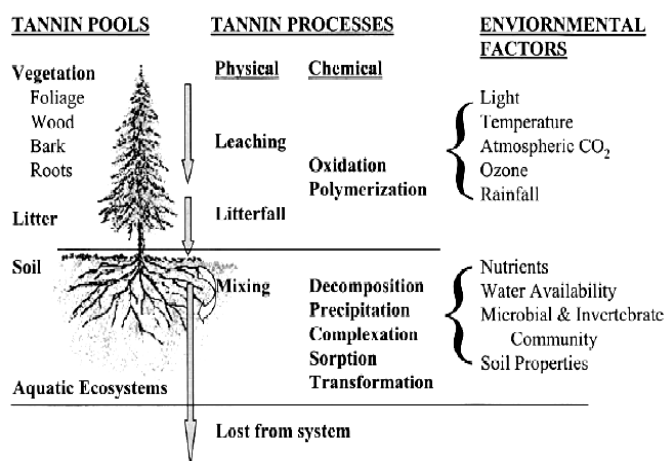
## СОДЕРЖАНИЕ КОНДЕНСИРОВАННЫХ ТАННИНОВ В ХВОЕ ЕЛИ *PICEA ABIES* × *PICEA OBOVATA* LEDEB.): ВЛИЯНИЕ ВОЗРАСТА И УСЛОВИЙ ПРОИЗРАСТАНИЯ

Н.А. Артемкина

Федеральное государственное учреждение науки Институт проблем промышленной экологии Севера Кольского НЦ РАН, Апатиты, Россия, [artemkina@inep.ksc.ru](mailto:artemkina@inep.ksc.ru)

Таннины – гетерогенная группа природных полифенольных соединений с молекулярной массой от 500 до 3000. В зависимости от вида, органа растений и условий произрастания содержание танинов может составлять до 40% от сухого сырья [Kraus et al., 2003]. Их химический характер чрезвычайно сложен, но они обычно классифицируются на две группы: гидролизуемые и конденсированные. Гидролизуемые таннины – сложные эфиры моносахаридов, главным образом глюкозы, и фенолкарбоновых кислот (галловой, дигалловой, эллаговой и др.). К конденсированным таннинам (проантоцианидинам) относят разнообразные по строению полигидроксифенольные соединения – в основном, производные флаван-3-олов (катехинов) и флаван-3,4-диолов (лейкоантоцианов), реже гидроксистильбенов [Запрометов, 1974].

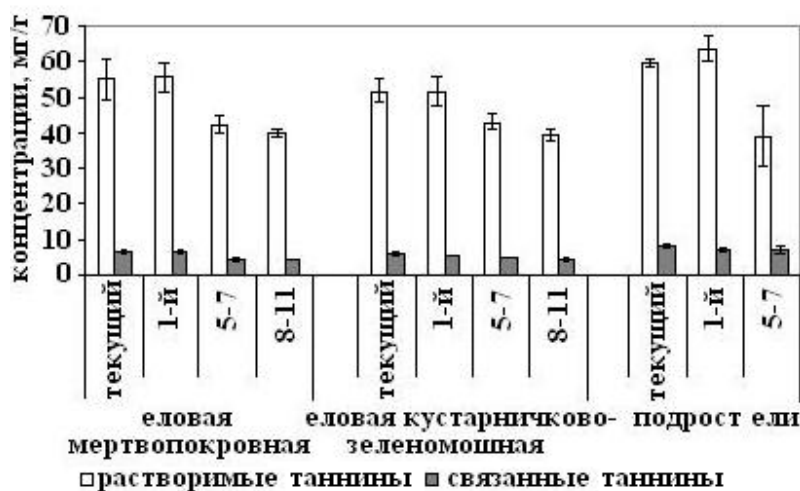
Предполагается, что первичная функция таннинов в растениях защита против травоядных животных [Barbehenn, Constabel, 2011]. В то же время все больше исследований сосредоточились на роли таннинов в регулировании питательного вещества почвы, которые, оказывая токсическое действие на микроорганизмы и запрещая действия ферментов, могут замедлить скорость разложения растительного опада [Horner et al., 1988] и минерализацию азота (N) [Northup et al., 1998], влияя, таким образом, на доступность азота (N) в пределах наземных экосистем [Hättenschwiler, Vitousek, 2000; Kraus et al., 2004] (рис. 1).



**Рис. 1. Пулы таннинов, процессы и факторы окружающей среды, влияющие на их производство и трансформацию в лесных экосистемах (представлен рисунок из обзора Kraus et al., 2003).**

В этой связи мы исследовали содержание проантоцианидинов в разновозрастной хвое *Picea abies* × *obovata*, формирующих три различные тессеры ельника кустарничково-зеленомошного (окрестности оз. Умбозеро; Кольский п-ов): еловую мертвопокровную, еловую кустарничково-зеленомошную и подрост ели. Количественное определение растворимых и связанных с клеточной стенкой конденсированных таннинов (проантоцианидинов) в образцах проводили фотоколориметрическим методом (555 нм) после реакции полученного извлечения и сухого остатка с раствором н-бутанол: HCl

v/v) [Ossipova et al., 2001]. Расчет количества танинов производили по калибровочному графику, построенному по конденсированным танинам листьев *Betula pubescens* ssp. *czerepanovii*.



**Рис. 2. Концентрации конденсированных танинов в разновозрастной хвое елей, формирующих три различные тессеры ельника кустарничково-зеленомошного.**

В результате исследований установили, что во всех исследуемых тессерах с увеличением возраста хвои ели происходит значительное снижение концентрации растворимых проантоцианидинов. В существенно меньшей степени такая закономерность касается связанных с клеточной стенкой конденсированных танинов. Содержание растворимых танинов составляет 88.8-31.4 мг/г, а связанных – 8.8-4.0 мг/г. (рис. 2).

Концентрации растворимых проантоцианидинов в подросте ели достоверно выше в хвое текущего и первого года, чем в аналогичной хвое ели мертвопокровной ( $P < 0.5$  и  $P < 0.4$  соответственно) и кустарничково-зеленомошной ( $P < 0.05$  и  $P < 0.2$  соответственно) тессер. Такое повышение концентраций может быть проявлением аллелопатического эффекта, ещё одним фактором влияния в данном случае может играть световой режим биогеоценоза. Концентрации танинов в еловой мертвопокровной и еловой кустарничково-зеленомошной тессерах – сопоставимы.

#### Литература

- Kraus T.E.C., Dahlgren R.A., Zasoski R.J. Tannins in nutrient dynamics of forest ecosystems - a review // *Plant and Soil*, 2003. – V. 256, N 1. – P. 41-66.
- Запретов М.Н. Основы биохимии фенольных соединений. – М.: Высшая школа, 1974. – 213 с.
- Barbehenn R.V., Constabel C.P. Tannins in plant-herbivore interactions // *Phytochemistry*, 2011. – V. 72, N 13. – P. 1551-1565.
- Horner J.D., Cates R.G., Gosz J.R. Tannin, nitrogen, and cell wall composition of green vs. senescent Douglas-fir foliage // *Oecologia*, 1987. – V. 72, N 4. – P. 515-519.
- Northup R.R., Dahlgren R.A. and McColl J.G. Polyphenols as regulators of plant-litter-soil interactions in northern California's pygmy forest: a positive feedback? // *Biogeochemistry*, 1998. – V. 42, N 1. – P. 189-220.
- Hättenschwiler S., Vitousek P.M. The role of polyphenols in terrestrial ecosystem nutrient cycling // *Trends in Ecology and Evolution*, 2000. – V. 15, N 6. – P. 238-243.
- Kraus T.E.C., Zasoski R.J., Dahlgren R.A. Fertility and pH effects on polyphenol and condensed tannin concentrations in foliage and roots // *Plant and Soil*, 2004. – V. 262, N 1. – P. 95-109.



## ВЛИЯНИЕ ХЛОРИДНОГО ЗАСОЛЕНИЯ НА РОСТОВЫЕ ПАРАМЕТРЫ СОРТОВ ПШЕНИЦЫ

М.Х. Атоев, А. Эргашев, А. Абдуллаев

Институт ботаники, физиологии и генетики растений АН РТ, Душанбе, Республика Таджикистан, [irshod1987@mail.ru](mailto:irshod1987@mail.ru)

Целью наших исследований явилось изучение действия нарастающих концентраций NaCl (0.1-0.5 М) на энергию прорастания и всхожесть семян различных видов и сортов пшеницы в лабораторных условиях. Также изучалось влияние солевого стресса (0.3% почвенного хлоридного засоления) на основные параметры роста и развития пшеницы в вегетационных опытах.

Объектами исследования служили сорта твёрдой пшеницы (*Triticum durum Desf.*) Президент и Шамь и мягкой пшеницы (*Triticum aestivum L.*) Алекс и Ормон, рекомендованные к посеву в Республике Таджикистан.

Результаты лабораторных опытов показали, что энергия прорастания семян (по методике Н.Н. Третьякова, 1990) сорта Президент по сравнению с контрольным вариантом в среде с 0.1 М NaCl снизилась на 30%, с 0.2 М NaCl – на 55%, а с 0.3 М – на 100%. Более высокие концентрации NaCl (0.4 - 0.5 М) практически полностью ингибировали процесс прорастания семян. Несмотря на то, что энергия прорастания семян сортов мягкой пшеницы Алекс и Ормон при концентрации 0.1 М NaCl была на 5 и 15% выше по сравнению с сортами Президент и Шамь, при использовании 0.2 М NaCl она снизилась на 20-25%. Общая всхожесть семян в контрольном варианте у всех испытанных сортов достигала 95%. В опытном варианте с 0.1 М NaCl у сортов Президент и Ормон она составляла 90%, у сортов Шамь и Алекс – 80 и 75% соответственно. При 0.2 М NaCl самый высокий показатель всхожести семян был у сорта Президент – 70%, а самый низкий – у сорта Ормон – 30%.

Уменьшение общей всхожести семян в варианте с 0.3 М NaCl у сортов твёрдой пшеницы Президент и Шамь составляло 68%, а у сортов мягкой пшеницы Алекс и Ормон 84.2 и 79%, соответственно. Всхожесть семян сортов твёрдой пшеницы Президент и Шамь при солевом стрессе, особенно при 0.2 М NaCl, была в 2-2.5 раза выше, чем у сортов мягкой пшеницы Алекс и Ормон. Если при использовании 0.3 М NaCl всхожесть семян сортов мягкой пшеницы оставалась на уровне 10-15%, то семена твёрдой пшеницы вообще не проросли. В целом сорта мягкой пшеницы по сравнению с другими изученными сортами оказались более устойчивыми, а сорта твёрдой пшеницы более уязвимыми к сильному солевому стрессу.

Длина восьмидневных проростков в контрольном варианте у всех изученных сортов была практически одинаковой. При слабом солевом стрессе (0.1 М NaCl) наблюдалась такая же закономерность. Сортные различия обнаружились при концентрации 0.2 и 0.3 М NaCl. Эти различия больше проявились между сортами твёрдой и мягкой пшеницы. Более сильный солевой стресс (0.2 М NaCl) оказал значительно больший ингибирующий эффект на сорта мягкой пшеницы Алекс и Ормон. В варианте с 0.3 М NaCl длина проростков у сортов мягкой пшеницы Алекс и Ормон по сравнению с контрольным вариантом уменьшилась на 96.7 и 99.6%, соответственно, а у сортов твёрдой пшеницы Президент и Шамь при этой концентрации соли семена не проросли вообще.

Результаты наших полевых опытов показали, что 0.3%-ное почвенное хлоридное засоление оказало существенное ингибирующее воздействие на основные параметры роста, развития и биомассы сортов пшеницы в различных фазах вегетации.

Уже в начале всходов было заметно, что в контрольном варианте (без внесения) всходы появились на 4-5 дней раньше, чем в опытном варианте (с внесением 0.3% NaCl). В фазе кущения проявлялось более заметное воздействие хлоридного засоления. Отрицательное влияние хлоридного засоления, прежде всего, сказалось на длину главного стебля, число листьев, кустистость и длину междоузлия сортов пшеницы. Так, если в фазе кущения в контрольном варианте длина главного стебля у сортов твёрдой пшеницы Президент и Шамь достигла 26.6 и 22.6 см, то в опытном варианте она составила 21.6 и 16.4 см. Длина главного стебля у сортов мягкой пшеницы в контрольном варианте составила 23.3 и 24.6 см, а в опытном варианте была на уровне 18.4 и 18.6 см. Число листьев у сортов Президент и Шамь уменьшилось на 10.4 и 5.6%, а у мягких сортов Алекс и Ормон на 15.4 и 17%, соответственно. Длина междоузлия как у сортов твёрдой пшеницы, так и мягкой пшеницы в варианте засоления уменьшились на 14.4 и 27.3%, соответственно.

В фазе колошения в контрольном варианте длина главного стебля у сортов Президент и Шамь была на уровне 54.6 и 50.2 см, а в опытном варианте – 43.2 и 41.6 см. Число листьев у сортов Президент и Шамь в контрольном варианте составило 5.2 и 5.8 шт., и у сортов Алекс и Ормон – 5.6 и 5.6 шт. А в опытном варианте у изученных сортов число листьев было практически одинаковым. При этом уменьшение в варианте засоления составило 10.7–13.8 и 10.7–7.2%, соответственно.

Длина главного стебля в фазе цветения в контрольном варианте у сортов Президент и Шамь составляла 68 и 68.8 см, у сортов Алекс и Ормон – 70.2 и 61.8 см. В опытном варианте у сортов Президент и Шамь – 55.2 и 56.2 см, а у сортов Алекс и Ормон – 61.8 и 57.8 см. Число листьев у изученных сортов под воздействием засоления снизилось на 3.8 – 11.2%, соответственно.

В фазе молочно-восковой спелости наблюдалась такая же закономерность. Надо отметить, что при переходе к генеративной фазе развития растения пшеницы пострадали от засоления меньше, чем в начальных этапах развития. Это свидетельствует о постепенной адаптации и возобновлении темпов роста в средnezасолённых условиях почвы. Как видно из выше приведенных данных, во всех фазах развития растений твердые сорта от засоления пострадали больше, чем мягкие сорта.

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что солевой стресс вызывает достаточно широкий спектр изменений в формировании ростовых параметров и общей биомассы сортов пшеницы. Результаты наших вегетационных опытов показали, что сорта мягкой пшеницы оказались относительно солеустойчивее, чем сорта твёрдой пшеницы. Об этом свидетельствуют и многочисленные литературные сведения [Строгонов, 1973; Удовенко, 1977; Сабиржанова, 2005 и др.].

#### Литература

Сабиржанова И.Б. Механизм быстрого ростового ответа на натрий-хлоридное засоление у растений, различающихся по солеустойчивости: дисс. к. б. н. – Уфа. 2005. – 137 с.

Строгонов Б.П. Метаболизм растений в условиях засоления: XXXIII-е Тимирязевское чтение. – М.: Наука, 1973. – 51 с.

Третьяков Н.Н. Практикум по физиологии растений. – М.: Агропромиздат, 1990. – 270 с.

Удовенко Г.В. Солеустойчивость культурных растений. – Л.: 1977. – 214 с.

**ИЗМЕНЕНИЕ СОСТАВА МОЛЕКУЛЯРНЫХ ВИДОВ  
МОНОГАЛАКТОЗИЛДИАЦИЛГЛИЦЕРОЛА ПРИ ТЕПЛОВОЙ И ХОЛОДОВОЙ  
АККЛИМАЦИЯХ МОРСКИХ МАКРОВОДОРΟΣЛЕЙ  
*ULVA LACTUCA* И *SACCHARINA JAPONICA***

М.Ю. Баркина, Н.А. Смирнова, П.В. Веланский, Н.С. Воробьева, Л.А. Давыдова,  
Н.М. Санина, Э.Я. Костецкий

ФГБОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», Владивосток, Россия,  
*marybarkin@yandex.ru*

Морские макроводоросли – один из основных источников органического вещества и кислорода в Мировом океане, а для человека – ценный объект марикультуры. Они имеют широкое географическое распространение и естественные механизмы адаптации к сезонным климатическим изменениям окружающей среды.

Одним из главных факторов окружающей среды, определяющих рост и развитие морских макроводорослей и трав, является температура. Температурная адаптация живых клеток направлена, в первую очередь, на поддержание оптимального для функционирования жидкокристаллического состояния биологических мембран, обладающих динамической природой. Компенсаторные изменения липидного матрикса биомембран, получившие название *гомеовязкостной адаптации*, связаны, в первую очередь, с жирнокислотными остатками полярных липидов [Sinensky, 1974].

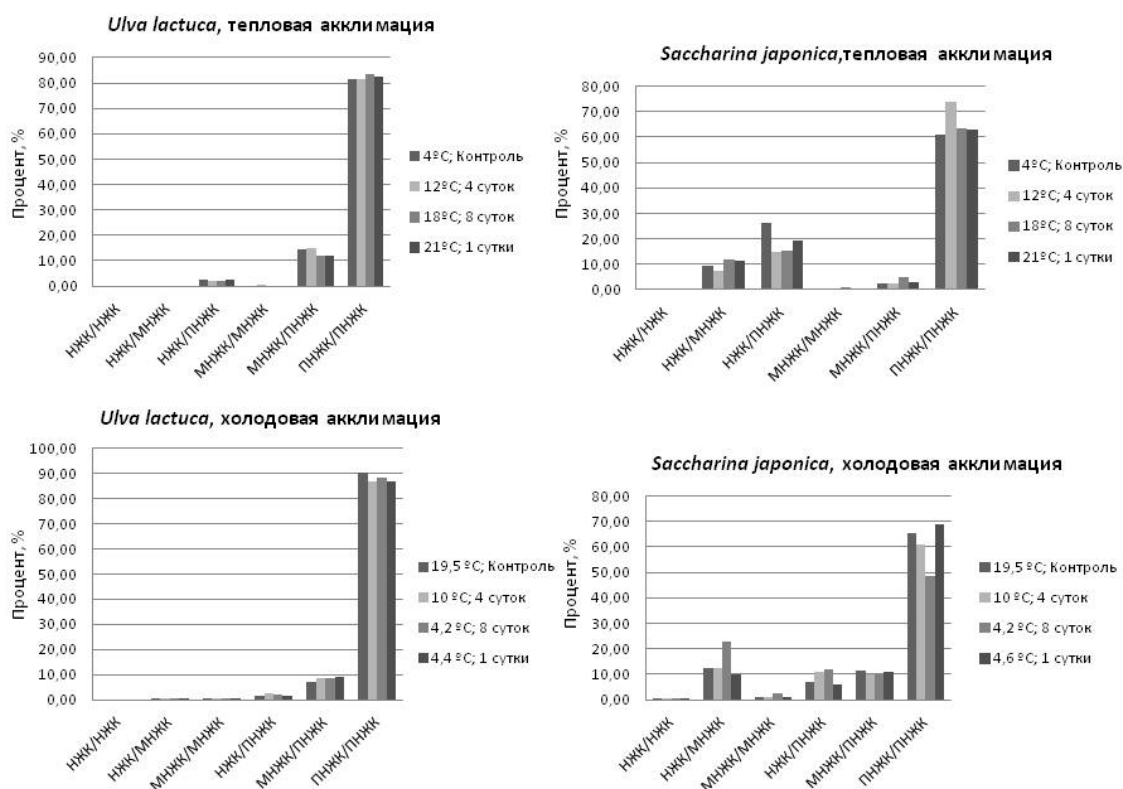
Моногалактозилдиацилглицерол (МГДГ) – доминирующий полярный липид тилакоидных мембран хлоропластов (40-55%), обеспечивающий их пластичность и являющийся кофактором фотосистем [Kern et al., 2009].

Целью настоящей работы было исследование изменений состава молекулярных видов МГДГ двух видов морских макрофитов *Saccharina japonica* (Phaeophyta) и *Ulva lactuca* (Chlorophyta) в процессе их тепловой и холодной акклимаций в условиях разной скорости прогрева морской воды. Водоросли были собраны в Японском море в зимний и летний сезоны для проведения тепловой и холодной акклимаций, соответственно. Эксперимент по тепловой акклимации проводили при повышении температуры морской воды в аквариуме от 4 °С до 20 °С, тогда как при холодной акклимации температуру понижали от 20 °С до 4 °С. Водоросли акклимировали при быстром (1 сутки) и медленном (8 суток) изменении температуры.

Анализ состава молекулярных видов, выполненный с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии – масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС), показал, что при медленной и быстрой тепловой и холодной акклимациях состав молекулярных видов МГДГ *U. lactuca* остается относительно неизменным, тогда как изменение состава молекулярных видов МГДГ *S. japonica* имеет выраженный характер (рисунок). Относительно постоянный состав молекулярных видов МГДГ *U. lactuca* при изменении температуры согласуется с установленным фактом о сравнительно небольшом изменении индекса ненасыщенности (ИН) МГДГ от лета к зиме [Sanina et al., 2008]. Определено, что главными молекулярными видами МГДГ *U. lactuca* являются липиды с двумя полиненасыщенными жирными кислотами (ПНЖК), на долю которых приходится более 80% от общей суммы молекулярных видов МГДГ. Отмечается высокое содержание видов МГДГ 18:3/16:4 и 16:4/18:4. В составе МГДГ *S. japonica* происходит значительное увеличение ПНЖК/ПНЖК видов при более длительном повышении температуры и уменьшение содержания этого молекулярного вида при более длительном понижении температуры. Однако при 1-суточных акклимациях данный эффект отсутствует. Наблюдается корреляция между

содержанием молекулярных видов ПНЖК/ПНЖК, насыщенные жирные кислоты (НЖК)/ПНЖК и НЖК/мононенасыщенные жирные кислоты (МНЖК), что может свидетельствовать об их конверсии при изменениях температурного режима. Значительный вклад в данную тенденцию вносят молекулярные виды 18:4/20:5, 16:0/18:2 и 16:0/18:1. В МГДГ *S. japonica* отмечается значительное падение ИН от лета к зиме (с 387 до 327) при увеличении общего содержания ПНЖК, главным образом, 18:4n-3 [Sanina et al., 2008].

В целом, изменения в составе молекулярных видов МГДГ при тепловой и холодной акклимациях обратны, однако у *U. Fenestrata* они носят более адекватный характер, чем у *L. japonica*, что, вероятно, связано с адаптацией ульвы к более стрессовым условиям мелководной зоны.



**Рисунок. Состав молекулярных видов моногалактозилдиацилглицерола (МГДГ) *Saccharina japonica* и *Ulva lactuca* при быстрой и медленной тепловой и холодной акклимациях (процент от суммы молекулярных видов МГДГ); НЖК – насыщенные жирные кислоты, МНЖК – мононенасыщенные жирные кислоты, ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты**

#### Литература

Kern J., Zouni A., Guskov A., Kraub N. In: Advances in Photosynthesis and Respiration. Lipids in Photosynthesis (Eds. Wada H., Murata N.) // Springer Science + Business Media B.V., 2009. – P. 203-242.

Sanina N., Goncharova S., Kostetsky E. // Phytochemistry, 2008. – V. 69, N 7. – P. 1517-1527.

Sinensky M. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1974. – V. 71, N 2. – P. 522-525.

## **ВЛИЯНИЕ НИЗКОЙ ПОЛОЖИТЕЛЬНОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В КОРНЯХ И ЛИСТЬЯХ ЯЧМЕНЯ**

Ю.В. Батова, Н.М. Казнина, Г.Ф. Лайдинен, А.Ф. Титов

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Россия, *batova@krc.karelia.ru*

В условиях Севера первостепенное значение для выживания растений имеет их способность адаптироваться к воздействию низких температур. К настоящему времени основные закономерности и особенности формирования холодоустойчивости однолетних и многолетних растений достаточно хорошо изучены, хотя некоторые аспекты этой проблемы требуют проведения дополнительных исследований. Например, известно, что корневая система значительно отличается от надземных органов по устойчивости к неблагоприятным температурам [Титов, Таланова, 2011]. Вместе с тем данных, позволяющих сопоставить реакцию клеток корня и листа на действие низких температур, недостаточно, и они зачастую противоречивы. Учитывая это, целью данного исследования явилось изучение влияния низкой положительной температуры на интенсивность перекисного окисления липидов и активность ряда ферментов-антиоксидантов в корнях и листьях ячменя.

С этой целью растения ячменя с. Зазерский 85 выращивали в течение 7 суток в камере искусственного климата на питательном растворе с добавлением микроэлементов при температуре воздуха 24 °С, его относительной влажности 60–70%, освещенности 10 клк и 14-часовом фотопериоде. По достижении растениями фазы начала второго листа одну часть проростков оставляли в прежних условиях (контроль), а другую подвергали воздействию температуры 4 °С (опыт). После 4-суточной экспозиции в корнях и листьях растений спектрофотометрически определяли интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) по накоплению малонового диальдегида (МДА), а также активность супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ) и гваяколовой пероксидазы (ПО) [Полесская и др., 2004; Синькевич и др., 2011].

Проведенные опыты показали, что низкая положительная температура вызывает существенное увеличение содержания в корнях ячменя МДА, но не оказывает влияния на интенсивность ПОЛ в листьях (таблица). При этом в корнях растений значительно (в 2.6 раза по отношению к контролю) увеличивалась активность СОД, тогда как активность КАТ и ПО достоверно не изменялась. В листьях активность СОД также возрастала, но в значительно меньшей степени, чем в корнях (на 55% по отношению к контролю), активность же КАТ и ПО снижалась примерно в 2 раза.

Высокая активность СОД в корнях в условиях действия температуры 4 °С говорит об усиленном образовании супероксид радикала и она является важным фактором защиты клеточных мембран от окисления [Мерзляк, 1999]. Отсутствие же изменений в активности КАТ и ПО, играющих важную роль в нейтрализации перекиси водорода в клетках корня [Rogozhin et al., 2001], могло способствовать накоплению в них пероксида и, как следствие, к развитию окислительного стресса, что подтверждает обнаруженное нами в корнях увеличение интенсивности ПОЛ.

Сравнительно низкая активность СОД, КАТ и ПО в листьях растений, подвергнутых воздействию температуры 4 °С, очевидно связана с невысоким содержанием в клетках активных форм кислорода (АФК). Об этом свидетельствует и отсутствие изменения в листьях интенсивности ПОЛ. Способность растений

поддерживать баланс АФК в клетках при продолжительном воздействии низкой температуры говорит об эффективной работе в листьях системы антиоксидантной защиты. Причем, судя по результатам наших опытов, роль КАТ и ПО в данном случае относительно невелика, а поддержание окислительно-восстановительного баланса, очевидно, достигается за счет активизации других компонентов антиоксидантной защиты.

Таблица

**Влияние температуры 4 °С на содержание МДА и активность антиоксидантных ферментов в корнях и листьях ячменя**

Показатель	Контроль	4°С
<i>Корень</i>		
Содержание МДА, мкмоль/г сырой массы	2.6±0.1	4.1±0.2*
Активность СОД, усл.ед.акт./мг белка	5.3±0.4	13.7±1.9*
Активность КАТ, ммоль/мг белка·мин	5.9±0.8	4.3±1.1
Активность ПО, ммоль/мг белка·мин	16.3±2.3	17.6±1.7
<i>Лист</i>		
Содержание МДА, мкмоль/г сырой массы	4.3±0.2	4.4±0.2
Активность СОД, усл.ед.акт./мг белка	2.6±0.2	4.0±0.1*
Активность КАТ, ммоль/мг белка·мин	39.9±5.7	22.9±2.1*
Активность ПО, ммоль/мг белка·мин	2.3±0.2	1.0±0.1*

\* – отличия от контроля достоверны при  $P \leq 0.05$

В целом, проведенное исследование показало, что даже относительно непродолжительное (4 суток) воздействие низкой положительной температуры (4 °С) вызывает у растений ячменя увеличение интенсивности ПОЛ в клетках корня, но не влияет на состояние мембран в клетках листа. Выявленные же различия в активности антиоксидантных ферментов в надземных и подземных органах растений, могут, хотя бы отчасти, объяснить их разную способность к низкотемпературной адаптации.

Литература

- Мерзляк М.Н. Активированный кислород и жизнедеятельность растений // Соросовский образовательный журнал, 1999. – № 9. – С. 20-26.
- Полесская О.Г., Каширина Е.И., Алехина Н.Д. Изменение активности антиоксидантных ферментов в листьях и корнях пшеницы в зависимости от формы и дозы азота в среде // Физиология растений, 2004. – № 5. – С. 686-691.
- Синькевич М.С., Нарайкина Н.В., Трунова Т.И. Процессы, препятствующие повышению интенсивности перекисного окисления липидов у холодостойких растений при гипотермии // Физиология растений, 2011. – № 6. – С. 875-882.
- Титов А.Ф., Таланова В.В. Локальное действие высоких и низких температур на растения. – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2011. – 166 с.
- Rogozhin V.V., Verkhoturov V.V., Kurilyuk T.T. The antioxidant system of wheat seeds during germination // Biology Bulletin, 2001. – N 2. – P. 126-133.

## ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННОЙ САХАРОЗЫ НА АДАПТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ РАСТЕНИЙ ПРИ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУРАХ

О.А. Боровик<sup>1</sup>, Н.А. Королева<sup>1</sup>, О.И. Грабельных<sup>1,2</sup>, Т.П. Побежимова<sup>1</sup>, В.К. Войников<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, [ol.borovik@mail.ru](mailto:ol.borovik@mail.ru)

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет», Иркутск, Россия

Адаптация к низким температурам сопровождается различными перестройками метаболизма растений, совокупность которых придает клеткам устойчивость к действию низких повреждающих температур [Трунова, 2007; Кошкин, 2010]. Важную роль в адаптации растений играют водорастворимые углеводы, функции которых разнообразны. Углеводы являются основными субстратами клеточного дыхания, субстратами для синтеза стрессовых белков и липидов и репарации этих макромолекул после низкотемпературного стресса, выступают в качестве криопротекторов и осморегуляторов [Головко, 1999; Трунова, 2007]. Имеются сведения о возможной сигнальной и антиоксидантной функции сахаров [Heidarvand and Amiri, 2010]. Роль эндогенных сахаров в повышении устойчивости к низким температурам не вызывает сомнения, однако интересен подход обогащения растений экзогенной сахарозой с целью понимания механизмов, регуляция активности которых зависит от углеводного статуса и способствует повышению холодо- и морозоустойчивости.

Целью настоящей работы явился анализ влияния экзогенной сахарозы (в контрольных условиях и в условиях низкотемпературного закаливания) на такие параметры как рост и морозоустойчивость этиолированных и зеленых растений озимой пшеницы, а также дыхательную активность изолированных из листьев митохондрий, содержание в листьях водорастворимых углеводов, фотосинтетических пигментов, пероксида водорода и синтез дегидринов.

Для повышения углеводного статуса и морозоустойчивости растений озимой пшеницы был использован методологический подход, заключающийся в обогащении растений сахарами путем их выращивания и закаливания на растворе 12%-ой сахарозы [Туманов, 1979]. В качестве объекта исследования использовали этиолированные и зеленые растения озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Иркутская. Зеленые растения выращивали при температуре 23/20 °С (16 ч фотопериод) и освещенности 250 мкмоль·(м<sup>2</sup>·с<sup>-1</sup>) в климатической камере KBW 720 (“Binder”, Германия) на опытной станции Фитотрон СИФИБР СО РАН. Этиолированные растения выращивали в темноте при 22 °С в инкубаторе MIR-154 (“Sanyo”, Япония). Закаливание этиолированных и зеленых растений проводили при 2 °С в присутствии и отсутствие сахарозы в темноте в течение 7 суток. Выращивание растений на 12%-ом растворе сахарозы проводили в темноте при температуре 22 °С в течение 7 суток.

Выращивание этиолированных и зеленых растений на растворе сахарозы, также как и закаливание в присутствии и отсутствие сахарозы приводило к ингибированию их роста и повышению морозоустойчивости. Наиболее морозоустойчивыми были растения, закаленные на растворе сахарозы. Закаливание этиолированных и зеленых растений в темноте и на растворе сахарозы, а также выращивание на растворе сахарозы при 22 °С приводило к увеличению содержания углеводов в листьях. В зеленых листьях наибольшее содержание углеводов было характерно для растений, закаленных на растворе сахарозы. Этиолированные растения в отличие от зеленых более активно

поглощали сахарозу из раствора при 22 °С. В этиолированных листьях наибольшее содержание сахаров было характерно для растений, выращенных при 22 °С и закаленных при 2 °С на растворе сахарозы (содержание сахаров не отличалось между вариантами).

Холодовое закаливание индуцировало синтез как высоко-, так и низкомолекулярных дегидринов в этиолированных и зеленых листьях. При этом были обнаружены низкомолекулярные дегидрины с молекулярной массой 24 и 18 кДа, синтез которых зависит от сахарозы. Выращивание растений на растворе сахарозы в контрольных условиях приводило к синтезу в листьях дегидринов с молекулярной массой 24 и 18 кДа, содержание которых также возрастало при закаливании растений на растворе сахарозы.

В работе было изучено влияние экзогенной сахарозы на содержание пероксида водорода и фотосинтетических пигментов (хлорофиллы *a* и *b*, каротиноиды) в листьях. Было выявлено, что выращивание этиолированных и зеленых растений на растворе сахарозы в контрольных условиях приводило к снижению содержания пероксида водорода в листьях. В то же время при закаливании на растворе сахарозы и в ее отсутствии не наблюдали значительных различий в его содержании.

При выращивании и закаливании этиолированных и зеленых растений озимой пшеницы на растворе сахарозы наряду с увеличением морозоустойчивости растений и повышением содержания углеводов на фоне активного дыхания происходила значительная активация цианид-резистентной альтернативной оксидазы (АО) при окислении малата, сукцината, НАДФ·Н и НАД·Н. В этих условиях выращивания отмечена повышенная активность «внешних» ротенон-нечувствительных НАД(Ф)·Н-дегидрогеназ независимо от типа ткани растений. При этом функционирование «внешних» НАД(Ф)·Н-дегидрогеназ было сопряжено с повышенной активностью АО.

Таким образом, выращивание растений на растворе сахарозы в контрольных условиях не зависимо от типа питания (гетеро- или фотоавтотрофный) сопровождалось накоплением водорастворимых углеводов в листьях, что приводило к изменению клеточного метаболизма. Под влиянием экзогенной сахарозы повышалась морозоустойчивость растений, индуцировался синтез низкомолекулярных дегидринов, усиливалось дыхание митохондрий за счет увеличения вклада в дыхание цитохромного пути (при окислении ряда субстратов), альтернативной оксидазы и «внешних» НАД(Ф)·Н-дегидрогеназ, снижалось содержание пероксида водорода в листьях. Закаливание на растворе сахарозы значительно повышало морозоустойчивость растений, а механизм сахаро-зависимой индукции дегидринов в листьях и сахаро-зависимой регуляции альтернативной оксидазы и «внешних» НАД(Ф)·Н-дегидрогеназ в митохондриях озимой пшеницы сохранялся и при действии низкой температуры.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №16-34-00105 мол\_а.*

#### Литература

- Головко Т.К. Дыхание растений (физиологические аспекты). – СПб.: Наука, 1999. – 204 с.
- Кошкин Е.И. Физиология устойчивости сельскохозяйственных культур. – М.: Дрофа, 2010. – 638 с.
- Трунова Т.И. Растение и низкотемпературный стресс. – М.: Наука, 2007. – 54 с.
- Туманов И.И. Физиология закаливания и морозостойкости растений. – М.: Наука, 1979. – 352 с.
- Heidarvand L. and Amiri R.M. What happens in plant molecular responses to cold stress? // Acta Physiol. Plant. – 2010. – V. 32. – P. 419-431.



## СОДЕРЖАНИЕ РАСТВОРИМЫХ УГЛЕВОДОВ У ХЛОПЧАТНИКА В УСЛОВИЯХ АБИОТИЧЕСКОГО СТРЕССА

М.К. Бохирова, М.Б. Ниязмухамедова, Х.А. Абдуллаев

Институт ботаники, физиологии и генетики растений АН Республики Таджикистан, Душанбе, *Mukadam.44@mail.ru*

У хлопчатника, выращенного в жёстких условиях климата Таджикистана, донорно-акцепторные отношения, морфобиологические и физиологические показатели имеют широкий диапазон изменчивости в разные фазы вегетации растений. Для определения и распределения ассимилятов в разных органах хлопчатника, выращенного в условиях стресса, необходимо изучить некоторые биохимические показатели, характеризующие продуктивность фотосинтеза.

Целью наших исследований явилось проведение сравнительного анализа содержания растворимых углеводов в листьях и черешках листьев в разные фазы хлопчатника после ручной дефолиации.

Объектом исследования служили растения тонковолокнистого хлопчатника *Gossypium barbadense* L., сорт 9326-В с нулевым типом ветвления селекции Вахшского филиала им. В.П. Красичкова Института земледелия Таджикской академии сельскохозяйственных наук.

Растения для опытов выращивали в одинаковых агротехнических условиях на экспериментальном участке Института ботаники, физиологии и генетики растений АН Республики Таджикистан, расположенном в восточной части Гиссарской долины на высоте 830 м над уровнем моря, согласно агрорекомендациям по выращиванию хлопчатника в Таджикистане [Научная система ведения сельского хозяйства Таджикистана, 2009]. Для опытов брали растения с одинаковым ростом и развитием.

Дефолиацию хлопчатника (ручное удаление листьев) проводили в двух направлениях: снизу вверх от семядольных листьев (ДСН) и сверху вниз от точки роста (ДСВ) в различные фазы развития растений. Контролем служили интактные растения со всеми листьями. В опытных вариантах удаляли 25%, 50%, 75% и 100% листьев от среднего их количества на растениях.

Содержание растворимых углеводов определяли по микрометоду Дюбуа [Dubois et al., 1956].

Результаты исследования показали, что в фазе бутонизации, при удалении листьев хлопчатника снизу вверх (ДСН) при 25% дефолиации содержание растворимых углеводов было на уровне контроля. При 50% и 75% удалении листьев снизу вверх содержание углеводов незначительно повысилось, а при 100% удалении листьев у вновь появившихся после дефолиации молодых листьях содержание растворимых углеводов повысилось в 1,1 раза. В черешках листа при 25% и при 50% удалении листьев содержание растворимых углеводов оставалось также на одинаковом уровне с контролем, но при 75% дефолиации снизу вверх содержание углеводов увеличилось в 1,7 раза по сравнению с вариантами 25 и 50% удаления.

При удалении листьев сверху вниз (ДСВ) содержание углеводов было ниже во всех вариантах опыта, но самое низкое их содержание было при 50% удалении листьев. В черешках листа содержание растворимых углеводов при 50% дефолиации листьев было относительно высоким и на одном уровне с контролем. При 25, 75 и 100% дефолиации листьев содержание растворимых углеводов оставалось почти на одинаковом уровне с контролем, но по сравнению с 50% удалением листьев понизилось в 1,5 раза.

В фазе цветения при дефолиации снизу вверх был обнаружен широкий диапазон изменчивости содержания углеводов. Самый высокий уровень содержания растворимых углеводов наблюдался при 50% удалении листьев, а самое низкое их содержание было при 100% дефолиации у вновь появившихся молодых листьях. В этой фазе в черешках листьев дефолированных растений было зафиксировано повышение содержания растворимых углеводов по сравнению с контролем. Так, при дальнейшем возрастании количества удаленных листьев самое высокое содержание растворимых углеводов было установлено при 100% удалении листьев. При удалении листьев сверху вниз самое высокое содержание растворимых углеводов наблюдали при 25% удалении листьев, а самое низкое – у вновь появившихся листьев после дефолиации. В то же время в черешках листьев контрольных растений уровень содержания растворимых углеводов был промежуточным, самый высокий уровень растворимых углеводов был при 75% удалении листьев, а самый низкий – при 25% дефолиации.

В фазе плодоношения листья хлопчатника по-разному реагировали на ручное удаление листьев снизу вверх. Так, самое высокое содержание растворимых углеводов было при 50% удалении листьев, а самое низкое – при 75% дефолиации. Промежуточные показатели содержания растворимых углеводов наблюдаются при 25 и 100% удалении листьев. В черешках листьев было самое высокое содержание растворимых углеводов при 50% удалении листьев, и самое низкое их содержание было у вновь появившихся листочков при 100% удалении. При дефолиации сверху вниз содержание углеводов было максимальным при 50% удалении листьев, оно было в 1,7 раза больше, чем в контроле. При дефолиации листьев сверху вниз у хлопчатника максимум содержания углеводов синтезировался при 50% удалении листьев.

В фазе созревания при дефолиации снизу вверх содержание растворимых углеводов в листе тонковолокнистого хлопчатника при 25% и 100% удалении листьев было почти на одном уровне с контролем, а при 75% удалении листьев содержание углеводов было больше, чем в контроле в 2.5 раза. В черешках листьев при 50% дефолиации содержание растворимых углеводов увеличивалось в 1.5 раза, при 25% и 75% удалении листьев снизу вверх содержание растворимых углеводов немного уменьшилось.

На основе полученных данных можно заключить, что под действием абиотического фактора – дефолиации, содержание растворимых углеводов в листьях и черешках листьев изменяется и имеет широкий диапазон изменчивости в процессе вегетации растений. Эти изменения, вероятно, обусловлены дисбалансом донорно-акцепторных отношений и распределением ассимилятов в разные органы растений хлопчатника.

#### Литература

Научная система ведения сельского хозяйства Таджикистана (на тадж. яз.) / Под ред. акад. ТАСХН Ахмедова Х.М., Набиева Т.Н., Бухориева Т.А. – Душанбе: Матбуот, 2009. – 764 с.

Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances // *Anal. Chem.*, 1956. – V. 28, N 3. – P. 350-356.

## ОТВЕТНЫЕ РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ ТАБАКА НА ВОЗДЕЙСТВИЕ БИОТРОФА *CLAVIBACTER MICHIGANENSIS* И НЕКРОТРОФА *PECTOBACTERIUM CAROTOVORUM*

С.В. Бояркина<sup>1</sup>, Ю.В. Омеличкина<sup>1,2</sup>, А.Г. Еникеев<sup>1</sup>, О.Д. Волкова<sup>1</sup>, Т.Н. Шафикина<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Иркутский национальный исследовательский технический университет», Иркутск, Россия, *klyuevskaya@ya.ru*

В природе на растения воздействуют стрессоры различной природы: биотические и абиотические. К биотическим стрессам относятся патогены отличающиеся по типу питания – биотрофы, в качестве источника питания использующие живые клетки растений и некротрофы, поселяющиеся только на предварительно убитой ими ткани.

Развитие инфекционного процесса также зависит от типа взаимоотношений между патогеном и растением хозяином, различают совместимые и не совместимые типы взаимоотношения. При этом в случае с некротрофным патогеном нельзя не учитывать степень агрессивности бактериального агента и вида иммунитета – специфического или неспецифического [Шафикина, Омеличкина, 2015].

Целью работы является сравнительный анализ развития защитных реакций растений табака *Nicotiana tabacum* (L) при воздействии биотрофного патогена *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* (*Cms*) и некротрофного патогена *Pectobacterium carotovorum* ssp. *carotovorum* (*Pc*), а также их экзосомных комплексов.

В качестве объектов исследования использовали растения табака *Nicotiana tabacum* (L) сорта Самсун, культивируемые *in vitro* в почве, и полученную на их основе суспензионную культуру клеток штамм *NtN*. Возбудитель кольцевой гнили картофеля – *Cms* штамм Ас1405 и возбудитель мягкой гнили картофеля *Pc* штамм В1247, патогены получены из ВКМ г. Пушкино.

Инфицирование растений табака *in vitro* патогеном *Pc* путем инокуляции листьев вызывало гибель растений в течение 48 часов, а инфицирование *Cms* приводило к развитию реакции сверхчувствительности (СЧ) [Омеличкина и др., 2010]. Листья табака также были инокулированы культуральной жидкостью, лишенной бактериальных клеток (*CF*), и термически инактивированной бактериальной суспензией (*DC*). Действие экзосомного комплекса как *Cms*, так и *Pc* приводило к развитию у растений табака реакции сверхчувствительности, что сопровождается индукцией реакции специфического эффектор – активируемого иммунитета. *CF Cms* и *CF Pc* более активна в отношении индукции СЧ реакции за счет содержания гидролитических ферментов и токсинов, выделяющихся бактерией в среду культивирования, которые в большой степени инактивируются при термической обработке. Необходимо отметить, что метаболиты *DC Cms* – более термостабильны, чем *DC Pc*, в то время как воздействие *CF Pc* более активно, чем *CF Cms*.

Оценивали одну из самых быстрых реакций на внедрение патогена – генерацию пероксида водорода. Инфицирование культуры клеток табака биотрофным и некротрофным патогенами показало протекающую в два этапа генерацию АФК: первый низко амплитудный пик генерации характеризует неспецифичный ответ на воздействие инфекционного агента, в то время как интенсивность и амплитуда второго пика может свидетельствовать о развитии реакций специфического эффектор-активируемого уровня иммунитета при инфицировании *Cms* и гибели клеток при

инфицировании *Pc*. Различия в интенсивности генерации АФК в культуре клеток табака при воздействии инфекционных агентов, различающихся по стратегии нападения, согласуются с результатами, полученными на целом растении.

Развитие системной устойчивости анализировали с помощью поэтапного инфицирования растений табака. На первом этапе проводили инокуляцию бактериальной суспензией *Cms*, CF *Cms*, DC *Cms*, CF *Pc* и DC *Pc*. Вторичное инфицирование растений табака осуществляли суспензией *Pc*.

Предварительная инокуляция растений табака *in vitro* метаболитами биотрофного и некротрофного патогена приводила к развитию устойчивости растения к последующему инфицированию *Pc* с КОЕ  $1 \times 10^9$  – наблюдалось полное или частичное отмирание листа, но гибель не происходила, и растение в целом сохраняло жизнеспособность, о чем свидетельствовало образование новых листьев.

Предварительная обработка растений суспензией биотрофного патогена *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* и экзометаболитами *Cms* и *Pc* индуцирует развитие системной устойчивости растения к последующему инфицированию некротрофом *Pectobacterium carotovorum* ssp. *carotovorum* в период одного вегетационного периода. Таким образом, полученные данные свидетельствуют в пользу синергизма при взаимодействии SA- и JA- сигнальных путей иммунитета растений в изучаемых нами фитопатосистемах.

Первичное инфицирование биотрофным патогеном *Cms* активирует иммунитет растения и приводит к индукции системной приобретенной устойчивости в период одной вегетации, определяющий устойчивость последующего поколения растений. Устойчивость к некротрофу *Pc* сохраняется у растений последующего поколения, что позволяет полагать о развитии иммунной памяти или эпигенетического наследования.

Детальное изучение состава и структуры экзометаболитов некротрофного и биотрофного патогена, которые наиболее эффективны в активации собственных иммунных сил растительного организма позволит создать экологически безопасные средства защиты растений от широкого круга фитопатогенов, что особенно актуально в условиях ухудшающейся экологической обстановки с повышающейся устойчивостью фитопатогенов к пестицидам.

#### Литература

Шафикова Т.Н., Омеличкина Ю.В. Молекулярно-генетические аспекты иммунитета растений к фитопатогенным бактериям и грибам // Физиология растений, 2015. – Т. 62, № 5. – С. 611-627.

Омеличкина Ю.В., Шафикова Т.Н., Алексеенко А.Л., Маркова Ю.А., Еникеев А.Г., Рихванов Е.Г. Ответные реакции растений и культуры клеток табака на заражение *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* // В мире научных открытий, 2010. – № 1-4. – С. 89-94.

## ИЗМЕНЕНИЕ МОРФО-КУЛЬТУРАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ШТАММОВ *STREPTOMYCES CANOSUS* CNMN-AC-02 И *STREPTOMYCES MASSASPOREUS* CNMN-AC-06 ПОСЛЕ ЛИОФИЛИЗАЦИИ

М.Н. Бырса, А.В. Васильчук

Институт микробиологии и биотехнологии АН Молдовы, Кишинев, Молдова,  
*mellon23@yandex.ru*

Актиномицеты рода *Streptomyces* являются уникальными микроорганизмами, поскольку их метаболизм протекает таким же образом, как и у прокариот – бактерий, однако тип роста схож с эукариотами – мицелиальными грибами. Они способны синтезировать широкий спектр биологически активных веществ, таких как: антибиотики, ферменты, аминокислоты, липиды, регуляторы роста растений и животных, витамины, адъюванты, фитогормоны и другие биологически активные вещества [Егоров, 2004; Зенова, 1992; Зуев, 2012; Красильников, 1970; Tutov, 1996].

Согласно последним литературным данным, стрептомицеты относятся к классу *Actinobacteria* [Whitman, 2012].

Обеспечение безопасности популяции штаммов – продуцентов биологически активных веществ является актуальной проблемой в области биотехнологии. Одной из отличительных особенностей актиномицетов считается высокая степень изменчивости, в том числе и штаммов рода *Streptomyces* [Зенова, 1992].

Существуют множество методов длительного хранения актиномицетов. Хранение периодическими пересевами штаммов рода *Streptomyces* может привести к появлению спонтанных вариантов внутри популяции. Эти варианты могут характеризоваться более высокой степенью биологической активности, но в подавляющем большинстве случаев они имеют более низкую степень активности. Именно поэтому необходимо сохранить основной состав популяции изучаемых штаммов [Kuznetsov, 1992]. Наиболее эффективным методом хранения является лиофилизация. Очень важно правильно выбрать параметры замораживания и сублимационной сушки для того, чтобы изменения в популяции культуры были минимальны [Аркадьева, 1989].

Целью наших исследований было изучение изменения морфо-культуральных свойств штаммов *Streptomyces canosus* CNMN-AC-02 и *Streptomyces massasporus* CNMN-AC-06 до и после лиофилизации.

Штаммы культивировали на пяти разных средах: 3-х синтетических (Чапека, Придхэма-Готтлиба, SR-I, источник углерода – глюкоза), 1 комплексной (Гаузе) и 1 органической (овсяный агар). Лيوфилизацию проводили под вакуумом при –87 –93 °С, предварительная шоковая заморозка при –50 °С. В качестве защитной среды использовали желатин 2,5% + глюкоза 7,5%. Морфо-культуральные свойства определяли классическими методами, цвет воздушного и субстратного мицелия, окрашивание среды – с помощью шкалы цветов Бондарцева [Бондарцев, 1954; Красильников, 1970; Нетрусов, 2005; Kuznetsov, 1992].

Результаты показали, что у штамма *S. canosus* CNMN-AC-02 размер колоний увеличился значительно на среде Чапека (с 2,0-7,0 до 2,5-10,2 мм), незначительно уменьшился при росте на средах Гаузе, овсяном агаре и Придхэма-Готтлиба и практически не изменился на среде SR-I.

На всех пяти средах у штамма *S. canosus* CNMN-AC-02 не наблюдалось окрашивания среды. Однако после лиофилизации на среде Чапека было замечено изменение цвета среды (до темно-розового оттенка).

Относительно типов колоний: на всех средах наблюдался лишь один тип, а на среде Гаузе – 2 типа. После лиофилизации у штамма *S. canosus* CNMN-Ас-02 на всех средах наблюдался лишь один тип колоний.

Сравнивая полученные данные до и после лиофилизации по изменению размеров колоний *S. massasporeus* CNMN-Ас-06, было замечено, что диаметр колоний после лиофилизации при росте на синтетических средах значительно меньше. Так, до лиофилизации на средах Чапека (3,0-5,0 мм), Придхэма-Готтлиба (2,5-6,0 мм), SR-I (8,0-13,5 мм); а после – диаметр колоний составил на Чапека (0,4-3,5 мм), Придхэма-Готтлиба (0,6-3,0 мм), SR-I (1,0-6,0 мм). На комплексной среде Гаузе и на органической среде (овсяном агаре), напротив, было замечено незначительное увеличение (от 2,0-7,0 до 4,0-6,5 мм; от 3,0-8,5 до 8,0-11,5 мм, соответственно).

Изменение окрашивания среды при росте штамма *S. massasporeus* CNMN-Ас-06 до лиофилизации можно было наблюдать на средах Гаузе и овсяном агаре, а после – и на среде Чапека. Оттенки цветов до лиофилизации: красновато-бурый, темно-коричневый, ореховый; после лиофилизации: темно-коричневый; темно-виннокрасный; грязно-бурофиолетовый.

Количество типов колоний до лиофилизации у *S. massasporeus* CNMN-Ас-06 при культивировании на изучаемых средах было следующее: Чапека и SR-I – 2 типа; Гаузе, овсяный агар и Придхэма-Готтлиба – 1 тип. После лиофилизации: Чапека – 1 тип; SR-I – 2 типа; Гаузе и Придхэма-Готтлиба – 3 типа; овсяный агар – 4 типа.

Таким образом, сравнив полученные результаты до и после лиофилизации, можно сделать вывод, что морфо-культуральные свойства изучаемых штаммов изменяются по-разному в зависимости от среды культивирования, а также под влиянием физических и разного рода стрессовых факторов, возникших при лиофилизации. Однако чтобы быть полностью уверенными в эффективности избранного метода хранения необходимо проверить культуры по биосинтетическим параметрам.

#### Литература

- Аркадьева З.А. Промышленная микробиология. – М.: Высш. шк., 1989. – 688 с.
- Бондарцев А.С. Шкала цветов. – М. - Л.: изд-во АН СССР, 1954. – 27 с.
- Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. – М.: Изд-во МГУ; Наука, 2004. – 528 с.
- Зенова Г.М. Почвенные актиномицеты. – М.: Изд-во МГУ, 1992. – 78 с.
- Зуев Н.П. Клинико-экспериментальное обоснование применения препаратов тилозина в ветеринарии // Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора ветеринарных наук. Краснодар, 2012. – 35 с.
- Красильников Н.А. Лучистые грибки. – М.: Наука, 1970. – 536 с.
- Нетрусов А.И. Практикум по микробиологии. – М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 603 с.
- Kuznetsov V.D., Filippova S.N., Kudryavtseva A.V. Intrapopulation variability of antibiotic biosynthesis in streptomycetes // Folia. Microbiol. Praha, 1992. – V. 37, N 4. – P. 283-285.
- Tutov I.K., Kravcov V.A., Verevkina M.N., Gheladze V.S., Kamenskii N.I. Prospects for the use of growth stimulants microorganisms TS-1 in the biological industry // Veterinary Gazette, 1996. – N 2. – P. 78-83.
- Whitman W. et al. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Volume 5: The Actinobacteria (Bergey's Manual of Systematic Bacteriology) // Springer New York Dordrecht Heidelberg London, 2<sup>nd</sup> edition, 2012. – 1750 p.

## ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ *TRICHODERMA* ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ПРОДУКТИВНОСТИ ТОМАТОВ

А.Ф. Валиулина, Т.И. Голованова, П.А. Подойникова

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования Сибирский федеральный университет, Красноярск, Россия, [valiulina1988@mail.ru](mailto:valiulina1988@mail.ru)

Микроорганизмы, заселяющие ризосферу растений могут оказывать как положительное, так и отрицательное влияние на рост и развитие растительного организма и, в конечном итоге, на его продуктивность. В настоящее время используется биологический метод защиты растений от патогенов. Он создан на основе микроорганизмов – антагонистов патогенов, повышающих устойчивость растений к стрессовым факторам внешней среды. Они снижают заболеваемость растений, повышают урожайность и качество продукции. Среди микроорганизмов-антагонистов большое внимание заслуживают грибы рода *Trichoderma*, которые оказывают благоприятное влияние на физиолого-морфологические параметры растений и повышают устойчивость растений к неблагоприятным факторам среды [Harman, 2000; Benitez et al., 2004; Голованова, Валиулина, 2015].

Целью настоящей работы является выяснение влияния грибов рода *Trichoderma* на продуктивность *Solanum lycopersicum*.

Объектами исследования служили растения томатов (*Solanum lycopersicum*), сорта Земляк. Перед посевом семян проводили их поверхностную стерилизацию 70%-ным этиловым спиртом, после чего семена были промыты дистиллированной водой и затем обработаны  $H_2O_2$  при  $t$  38-40 °С в течение 7-8 мин. Затем вновь промывали несколько раз стерильной дистиллированной водой. Избыток влаги с семян удаляли фильтровальной бумагой. Часть семян опудривали спорами гриба рода *Trichoderma asperellum* (титр  $10^8$ ), в качестве контроля были растения, семена которых не обработаны *T. asperellum*. Растения выращивали в условиях естественного освещения, освещенность на уровне проростков составляла 300 мкмоль фотонов  $m^{-2} c^{-1}$ , относительная влажность воздуха –  $75 \pm 3\%$ , температура –  $25 \pm 2$  °С. Растения выращивали в течение 28 суток, количество растений в каждом варианте – 100 штук.

Энергию прорастания и всхожесть семян определяли согласно ГОСТ 12038-84, площадь листовой поверхности – с помощью программы Image-J 1.45 на основе цифрового изображения, полученного путем сканирования (the HP Scanjet G3010 at 600 DPI), содержание пигментов измеряли спектрофотометрическим методом по молярным коэффициентам экстинкции на приборе Specol 1300, обладающем достаточной разрешающей способностью. Концентрацию пигментов рассчитывали согласно [Wintermans, 1965].

Сырую, сухую массу, размерные показатели, содержание пигментов, скорость электронного потока определяли на 14, 28 сутки после появления всходов.

Для изменения скорости фотосинтетического электронного транспорта (ETR) использовали флуориметр junior-РАМ (Германия) в режиме регистрации световой кривой фотосинтеза и индукционной кривой. Скорость фотосинтетического электронного транспорта рассчитывали по формуле [Genty et al., 1989].

Установлено, что стимулирующий эффект действия микромицет обнаруживался уже на самых ранних стадиях развития растений, начиная с прорастания семян. Предпосевная обработка семян спорами грибов *Trichoderma asperellum* приводила к повышению их энергии прорастания и всхожести. Это, вероятно, связано с тем, что обмен веществ у семян растений с внешней средой весьма ограничен, особенно в

период покоя, а интенсивный обмен веществ и биохимические превращения начинаются у них с момента подготовки к прорастанию и в процессе его, поэтому влияние метаболитов на само растение, на его состояние, на его ростовые процессы связано непосредственно с проникновением их в семена уже во время прорастания последних. *Trichoderma asperellum* оказывала существенное влияние на все изученные физиолого-морфологические параметры растений пшеницы: длину надземной и корневой системы, накопление сырой и сухой биомассы, на развитие ассимиляционного аппарата растений, о чем свидетельствует увеличение площади листовой поверхности по сравнению с контролем (таблица).

**Таблица**

**Влияние грибов рода *Trichoderma* на физиолого-морфологические параметры растений томатов**

Сутки	Сырая масса, г	Сухая масса, г	Длина надземной части, см	Длина корня, см	Длина целого растения, см	Площадь листьев, см <sup>2</sup>
Контроль: растения, семена которых не обработаны спорами <i>T. asperellum</i>						
14	0,184±0,008	0,013±0,001	5,5±0,2	2,3±0,1	7,80±0,2	1,8±0,03
28	2,370±0,630*	0,041±0,042	20,8±1,6	4,5±0,2	26,04±2,0	2,6±0,02
Опыт: растения, семена которых обработаны спорами <i>T. asperellum</i>						
14	0,356±0,038	0,016±0,004	7,3±0,3	2,6±0,5	9,90±0,8	4,1±0,04
28	3,800±0,050*	0,219±0,004*	25,7±1,5	5,2±0,4	30,16±1,7	6,0±0,02*

\* различия достоверны при  $p=0,05$

Наибольший эффект проявлялся на 28 сутки развития растений. Данные микромицеты оказывали положительное влияние на фотосинтетические пигменты, происходило увеличение хлорофиллов *a* и *b*, каротиноидов, содержание которых резко увеличивалось на 28 сутки. Одним из показателей функционального состояния растения является отношение общего содержания зеленых пигментов к каротиноидам, которое увеличивалось под влиянием *T. asperellum*. Показано, что спора гриба рода *Trichoderma* увеличивали скорость электронного потока, полученные данные достоверны.

На основании данных можно сделать заключение, что *Trichoderma asperellum* и биопрепараты, созданные на их основе можно использовать для повышения продуктивности томатов.

#### Литература

Голованов Т.И., Валиулина А.Ф. Роль грибов рода *Trichoderma* в адаптации растений томата к воздействию цинка // Сибирский Вестник сельскохозяйственных наук, 2015. – № 6 (247). – С. 57-64.

ГОСТ 12038-84. Межгосударственный стандарт. Семена сельскохозяйственных культур // Методы определения всхожести. Стандартинформ, 2011. – 64 с.

Benitez T., Rincon M., Limon M., Codon A. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains // International Microbiology, 2004. – V. 7. – P. 249-260.

Genty B., Briantais J-M., Baker N.R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence // Biochim. Biophys. Acta, 1989. – V. 990. – P. 87-92.

Harman G.E. Myths dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T22 // Plant Dis., 2000. – P. 377-393.

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.

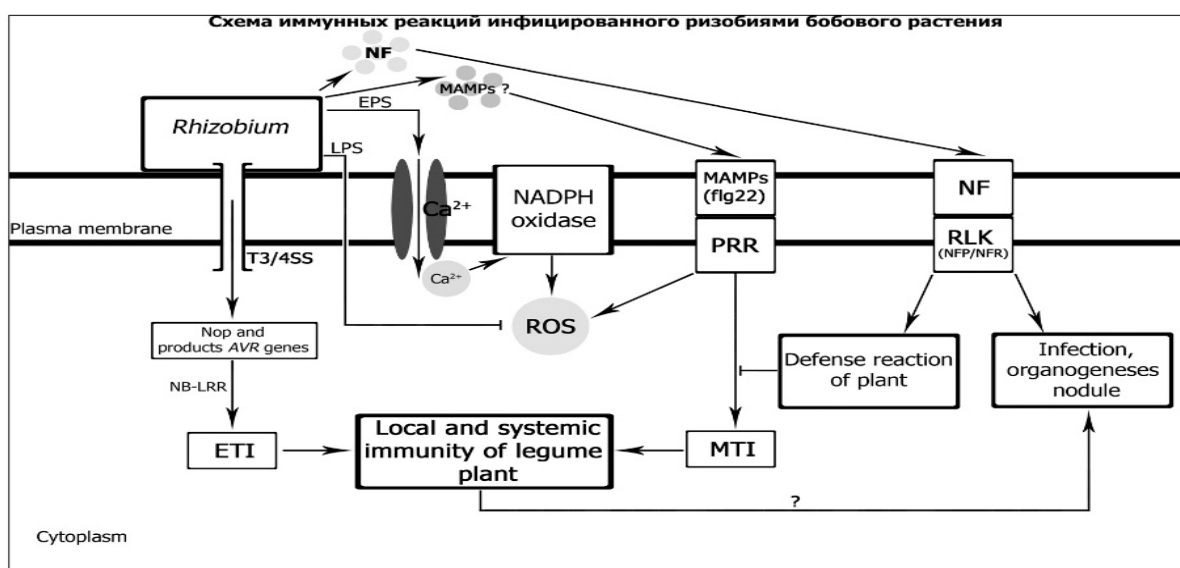


## ОСОБЕННОСТИ ИММУНИТЕТА БОБОВОГО РАСТЕНИЯ ИНФИЦИРОВАННОГО КЛУБЕНЬКОВЫМИ БАКТЕРИЯМИ

А.К. Глянько, А.А. Ищенко

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, [akglyanko@sifibr.irk.ru](mailto:akglyanko@sifibr.irk.ru)

Важным аспектом изучения бобово-ризобияльного симбиоза (БРС) является преодоление ризобиями защитной системы растения-хозяина [Глянько, 2016; Gourion et al., 2015], активирующейся на ранних стадиях инфекции [Okazaki et al., 2013]. «Сбои» внутреннего и внешнего характера в течение формирования БРС часто сопровождаются инициацией защитных реакций растения-хозяина (рисунок), аналогичных тем, которые наблюдаются при инвазии патогенов [Lohar et al., 2006]. Необходимо отметить, что важной особенностью формирования БРС является биохимическое соответствие ризобияльных Nod-факторов (NFs) мембранным рецепторам растения-хозяина (LysM, LRR-рецепторы киназы) [Denarie, Debelle, 1996]. Взаимодействие этих соединений вызывает каскад реакций, ведущих к блокированию защитных реакция, инициации инфекционного процесса и органогенезу клубенька [Nakagawa et al., 2011]. Специфические NFs, очевидно, являются микробными МАРМ-соединениями (microbial-associated molecular patterns), воспринимающиеся трансмембранными растительными рецепторами PRR (pattern recognition receptors), и относятся к неспецифической иммунной системе клеток растения МТИ (MAMP-triggered immunity). МТИ-система реагирует на вторжение любых бактерий включением защитных реакций и имеется у всех растений [Шафикова, Омеличкина, 2015]. Вторая врожденная иммунная система растений ЕТИ (effector-triggered immunity) – действует с участием NB-LRR – белковых продуктов *R*-генов растения и патогенных эффекторов - продуктов *Avr*-генов. МТИ- и ЕТИ-иммунные системы могут действовать против ризобий, но могут блокироваться ими при успешном инфицировании. Необходимо также отметить, что не весь корень одинаково восприимчив к ризобияльной инфекции [Соколова, 2001]. Поэтому можно предполагать, что система защиты растения от ризобий ослабляется только в корневой зоне, наиболее чувствительной к инфекции, и не теряет своей эффективности в других частях корня и органах растения (например, в эпикотилиях) [Васильева, 2004].



Следовательно, можно говорить о локальной и системной устойчивости растения хозяина к ризобиальной инфекции. В случае локальной инфекции ризобии подавляют защитные реакции растения-хозяина с помощью различных механизмов, в т. ч. характерных для фитопатогенов, например, поверхностных экзополисахаридов [Lehman, Long, 2013]. При системной устойчивости некоторые ризобии используют, как и фитопатогены, секреторные системы T3SS или T4SS для доставки эффекторных белков и других соединений в растительные клетки, которые могут узнаваться внутриклеточными доменами мембранных рецептор-подобных киназ (RLK), вызывая инициацию защитной системы ETI, что увеличивает устойчивость клеток к инвазии ризобий. Одним из таких эффекторных белков является NopL (nodulation outer protein L), который доставляется в растительную клетку секреторной системой T3SS и блокирует защитные реакции [Okazaki et al., 2013]. Участие MTI в подавлении симбиоза доказано в опытах с применением бактериального МАР-флагеллина (flg22) [Lopes-Gomes et al., 2012], обработка которым снижает реакцию *Lotus japonicas* на NFs и значительно уменьшает нодуляцию. Общеизвестно, что ризобиальные NFs обязательные соединения для запуска сигнального каскада при формировании БРС [Giraud et al., 2007]. Однако установлено, что некоторые штаммы ризобий (*Bradyrhizobium*) не имеют канонических *nodABC*-генов для синтеза NFs, но способны формировать клубеньки с растениями рода *Aeschynomene* [Bonaldi et al., 2011]. Неожиданным является то, что NFs воспринимаются и не бобовыми растениями: арабидопсисом, пшеницей, томатами [Liang et al., 2013]. Показано, что в этом случае наблюдается супрессия с МАР-связанного иммунитета растения. Делается вывод, что врожденная иммунная система бобового растения – MTI и ETI, активизируется в течение ранних стадий ризобиальной инфекции, а также участвует во внутриклеточных этапах формирования симбиоза. Противоположающим фактором при этом являются NFs, которые запускают каскад симбиотических реакций и супрессируют активность защитных систем растения-хозяина.

#### Литература

Васильева Г.Г. Активные формы кислорода и антиоксидантные ферменты на начальных стадиях взаимодействия гороха с клубеньковыми бактериями / Автореф. дис.... канд. биол. наук. – Иркутск, 2004. – 24 с.

Глянько А.К. Защитные системы бобового растения при инфицировании ризобиями // Вестник Харьков. нац. аграр. ун-та. Сер. Биол., 2016. – Вып. 1 (37). – С. 63-77.

Соколова М.Г. Физиологические особенности начальных этапов инфицирования корней гороха *Rhizobium leguminosarum* при разных температурах / Автореф. дис.... канд. биол. наук. – Иркутск, 2001. – 21 с.

Шафикова Т.Н., Омеличкина Ю.В. Молекулярно-генетические аспекты иммунитета растений к фитопатогенным бактериям и грибам // Физиология растений, 2015. – Т. 62. – С. 611-627.

Bonaldi K., Gargani D., Prin Y. et al. Nodulation of *Aeschynomene afraspera* and *A. indica* by photosynthetic *Bradyrhizobium* sp. strain ORS285: the nod-dependent versus the nod-independent symbiotic interaction // Mol. Plant-Microbe Interac., 2011. – V. 24. – P. 1359-1371.

Denarie J., Debelle F. *Rhizobium* lipo-chitoooligosaccharide nodulation factors // Annu. Rev. Biochem., 1996. – V. 65. – P. 503-535.

Giraud E., Moulin L., Vallenet D. et al. Legumes symbioses: absence of *Nod* genes in photosynthetic *Bradyrhizobium* // Science, 2007. – V. 316. – P. 186-194.

Gourion B., Barrabah F., Ratet P., Stacey G. Rhizobium-legume symbioses: the crucial role of plant immunity // Trends Plant Sci., 2015. – V. 20. – P. 186-194.

Lehman A.P., Long S.R. Exopolysaccharides from *Sinorhizobium meliloti* can protect against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-dependent damage // J. Bacteriol., 2013. – V. 195. – P. 5362-5369.

Liang Y., Cao Y., Tanaka K., Thibivilliers S., Wan J., Choi J., ho Kang C., Qiu J., Stacey G. Nonlegumes respond to rhizobial Nod factors by suppressing the innate immune response // Science, 2013. – V. 341. – P. 1384-1387.

Lohar D.P., Sharapova N., Endre G. et al. Transcript analysis of early nodulation events in *Medicago truncatula* // Plant Physiol., 2006. – V. 140. – P. 221-234.

Lopez-Gomez M., Sandal N., Stougaard J., Boller T. Interplay of flg22-induced defense responses and nodulation in *Lotus japonicus* // J. Exp. Bot., 2012. – V. 63. – P. 393-401.

Nakagava T., Kaku H., Shimoda Y. et al. From defense to symbiosis: limited alteration in the kinase domain of LysM receptor kinase are crucial for evolution of legume-*Rhizobium* symbioses // Plant J., 2011. – V. 65. – P. 169-180.

Okazaki S., Kaneko T., Sato S., Saeki K. Hijacking of leguminous nodulation signaling by the rhizobial type III secretion system // Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2013. – V. 110. – P. 17131-17136.

Saeki K. Rhizobial measures to evade host defense strategies and endogenous threats to persistent symbiotic nitrogen fixation // Cellular Mol. Life Sci., 2011. – V. 68. – P. 1327-1339.

## ВЛИЯНИЕ N-ФЕНИЛ-2-НАФТИЛАМИНА НА АКТИВНОСТЬ КОМПОНЕНТОВ АДЕНИЛАТЦИКЛАЗНОЙ СИГНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ И ВИРУЛЕНТНОСТЬ ФИТОПАТОГЕНОВ *PSEUDOMONAS SYRINGAE* PV. *PISI* И *CLAVIBACTER MICHIGANENSIS* SSP. *SEPEDONICUS*

А.М. Гончарова, Л.А. Ломоватская, Л.Е. Макарова, О.В. Кузакова, А.С. Романенко

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

Исследование молекулярных механизмов, лежащих в основе вирулентности бактерий, вызывающих заболевания у растений, остаются актуальной и глобальной проблемой и в настоящее время. Известно, что растения при помощи различных фенольных соединений, входящих в состав их корневых экссудатов, способны контролировать численность бактерий. Негативный аллелопатический регулятор – N-фенил-2-нафтиламин (N-ФНА) относительно недавно был обнаружен у бобовых растений. Было показано, что он подавляет рост симбиотических бактерий в планктонной культуре [Макарова и др., 2012], однако его влияние на фитопатогены, отличающиеся по специализации, до настоящего времени не было изучено.

Как известно, в регуляции роста и вирулентности болезнетворных микроорганизмов принимают участие их сигнальные системы [Jimenez et al., 2012]. Вторичный мессенджер аденилатциклазной сигнальной системы, цАМФ и аденилатциклаза (АЦ), его синтезирующая, относятся к индукторам, участвующим в регуляции метаболизма и патогенеза бактерий [Smith et al., 2004; Kereszt et al., 2011]. Большинство данных о роли цАМФ и аденилатциклазы бактерий в процессах экспрессии факторов вирулентности относятся к патогенам животных [McDonough, Rodriguez, 2012; Ono et al., 2014], в то время как растительные патогены изучены недостаточно.

В связи с этим целью нашей работы было изучение влияния различных концентраций N-ФНА, выделенного из экссудатов корней гороха (*Pisum sativum* L.), на рост и концентрацию цАМФ и факторов вирулентности у специфичного для гороха фитопатогена *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*, а также возбудителя кольцевой гнили картофеля *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus*.

В настоящей работе было показано, что N-ФНА в физиологической для гороха концентрации 9 мкМ существенно подавлял рост планктонной культуры специфического фитопатогена *P. syringae* pv. *pisi*, но не оказывал никакого эффекта на рост картофельного патогена *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus*, для которого горох не является растением-хозяином. Однако в присутствии N-ФНА в концентрации 45 мкМ также наблюдалось значительное ингибирование роста *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus*.

Известно, что цАМФ является одной из сигнальных молекул, участвующих в регуляции скорости роста клеток [McDonough, Rodriguez, 2012]. Оказалось, что при культивировании бактерий *P. syringae* pv. *pisi* с 9 мкМ N-ФНА уровень цАМФ снижался в клетках на 59%, и на 30% в среде культивирования. При этом в клетках *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* снижение уровня цАМФ проявлялось лишь под влиянием 45 мкМ N-ФНА.

В роли факторов вирулентности патогенных бактерий могут выступать пектиназы и целлюлазы, разрушающие клеточные стенки растений. В среде роста планктонной культуры *P. syringae* pv. *pisi* при действии 9 мкМ N-ФНА наблюдалась сниженная

активность данных ферментов. В самих клетках бактерий *P. syringae* pv. ферментативная активность практически не изменялась.

Также 9 мкМ N-ФНА не затрагивал активность целлюлазы и пектиназы в клетках *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus*. Однако при воздействии 45 мкМ N-наблюдалось снижение активности целлюлазы и пектиназы в среде культивирования *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus*.

Таким образом, исследования показали, что в фитопатосистемах, например горох – *P. syringae* pv. *pisi*, имеются специфические механизмы, способные регулировать численность и вирулентность патогена. Можно предположить, что у картофеля N-ФНА содержится в более высокой концентрации, на что указывает динамика роста и изменение факторов вирулентности *C. michiganensis* ssp. *Sepedonicus* под влиянием его более высокой концентрации.

#### Литература

Макарова Л.Е., Смирнов В.И., Клыба Л.В., Петрова И.Г., Дударева Л.В. Роль аллелопатических соединений в регуляции и формировании бобово-ризобиального симбиоза // Прикл. биохим. микробиол., 2012. – Т. 48, № 4. – С. 394-402.

Jimenez P.N., Koch G., Thompson J., Xavier K., Cool R., Quax W. The multiple signaling systems regulating virulence in *Pseudomonas aeruginosa* // MMBR, 2012. – V. 76, N 1. – P. 46-65.

Kereszt A., Mergaert P., Maroti G., Kondorosi E. Innate immunity effectors and virulence factors in symbiosis // Current opinion in microbiology, 2011. – V. 14, N 1. – P. 76-81.

McDonough K.A., Rodriguez A. The myriad roles of cyclic AMP in microbial pathogens: from signal to sword // Nature Rev. Microbiol., 2012. – V. 10, N 1. – P. 27-38.

Ono K., Oka R., Toyofuku M., Sakaguchi A., Hamada M., Yoshida S., Nomura N. cAMP signaling affects irreversible attachment during biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 // Microbes and Environments, 2014. – V. 29, N 1. – P. 104-106.

Smith R.S., Wolfgang M.C., Lory S. An adenylate cyclase-controlled signaling network regulates *Pseudomonas aeruginosa* virulence in a mouse model of acute pneumonia// Infect Immun., 2004. – V. 72, N 3. – P. 1677-1684.

Thomson N.R., Nasser W., McGowan S., Sebahia M., Salmond G.P.S. *Erwinia carotovora* has two Kdg R-like proteins belonging to the IcIR family to transcriptional regulators: identification and characterization of the RexZ activator and the KdR repressor of pathogenesis // Microbiology, 1999. – V. 145, N 7. – P. 1531-1545.

## ВЛИЯНИЕ СВЕТА НА СИНТЕЗ СТИРИЛПИРОНОВ В МИЦЕЛИИ *INONOTUS RHEADES* (PERS.) BONDARTSEV & SINGER

Т.Г. Горностай<sup>1</sup>, Д.Н. Оленников<sup>2</sup>, Ю.Б. Захаров<sup>3</sup>, Т.А. Пензина<sup>1</sup>, Г.Б. Боровский

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, [t.g.gornostay@yandex.ru](mailto:t.g.gornostay@yandex.ru)

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, Улан-Удэ, Россия, [olennikovdn@mail.ru](mailto:olennikovdn@mail.ru)

<sup>3</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт систем энергетики им. Л.А. Мелентьева СО РАН, Иркутск, Россия, [contain@mail.ru](mailto:contain@mail.ru)

Важнейшими факторами роста и развития базидиальных грибов являются температура, влажность и свет, роль которых изучается и активно используется в биотехнологии и промышленности при выращивании грибов. Влияние света на физиологические характеристики грибов активно исследуется, в основном, на объектах сельскохозяйственной фитопатологии. Понимание роли фактора освещенности в синтезе веществ лекарственных грибов важно как для фундаментальных основ физиологии и биохимии грибов, так и для решения задач управления накоплением целевых веществ в области биотехнологии. Результаты экспериментов на жидких средах с мицелием *Inonotus obliquus* по изучению действия источников света низкой интенсивности на синтез меланина [Поединок, 2013] ставят задачи более подробного рассмотрения закономерностей влияния фактора освещенности у представителей данного рода.

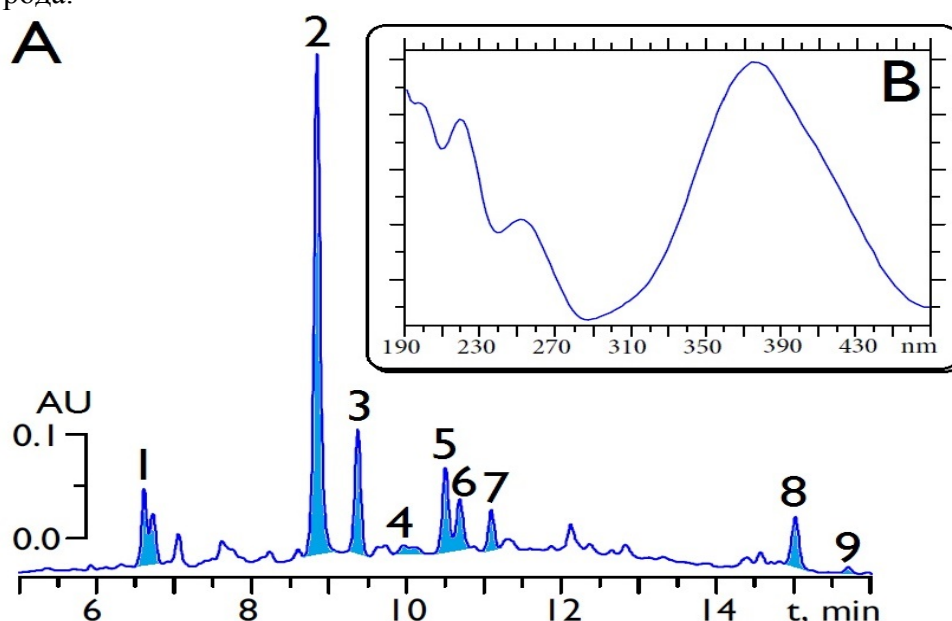


Рис. 1. А. Хроматограмма этилацетатной фракции мицелия *I. rheades* (идентифицированные стирилпироны: 1 – 3,14'-бигиспидинил, 2 – *транс*-гиспидин, 3 – *цис*-гиспидин, 4 – гифоломин В, 8 – 1,1-дистирилпирилэтан). В. Спектр поглощения гиспидина.

В работе был использован мицелий *I. rheades* штамм 0186, выращивание которого вели в стерильных камерах на древесных дисках *Betula pendula* при температуре 25 °С и различных условиях освещения (темнота/свет, разные диапазоны длины волн света – красный (625-630 нм), желтый (590-595 нм), зеленый (525-530 нм), синий (465-470 нм).

Мощность светового потока синего, зеленого и белого составляла 12,88 Вт/м красного, желтого 8,5 Вт/м<sup>2</sup>.

Согласно данным ВЭЖХ-УФ-МС для мицелия *I. rheades* характерно накопление стирилпиронов (рис. 1А), в составе которых были идентифицированы гиспидин, 3,14' бигиспидинил, гифоломин В и 1,1-дистирилпирилметан. В результате культивирования мицелия *I. Rheades* в световых камерах было выявлено, что при культивировании мицелия на белом свете усиливался синтез стирилпиронов, в частности гиспидина и его производных (рис. 2). При культивировании мицелия в камерах с освещением различными длинами волн ВЭЖХ анализ показал, что от красной к синей части спектра наблюдалось увеличение концентрации стирилпиронов в мицелии *I. rheades*.

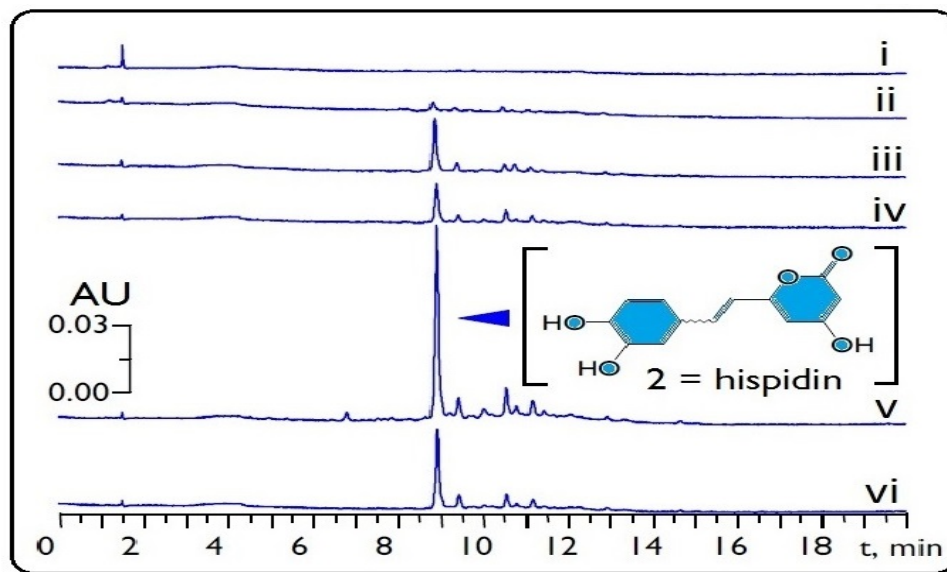


Рис. 2. Хроматограммы спиртовых извлечений из мицелия *I. rheades*, выращенного при различных световых режимах (i – темнота, ii – красный свет, iii – желтый свет, iv – зеленый свет, v – синий свет, vi – белый свет).

Выход биомассы мицелия также зависел от длины волны, причем наибольшее накопление (при пересчете на сухой вес) наблюдалось при использовании зеленого и желтого диапазонов спектра. В группах, освещаемых красным и синим участками спектра, масса мицелия была меньше в 1,2 и 1,4 раза, соответственно.

#### Литература

Поединок Н.Л. Световая регуляция роста и меланинообразования у *Inonotus obliquus* (Pers.) Pilat // *Biotechnologia acta*, 2013. – Т. 6, № 2 (150). – С. 115-120.

## ТЕМПЕРАТУРНЫЙ СТРЕСС И ПОСЛЕДСТВИЯ ЕГО ВЛИЯНИЯ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ МИТОХОНДРИЙ

О.И. Грабельных<sup>1,2</sup>, Т.П. Побежимова<sup>1</sup>, И.В. Федосеева<sup>1</sup>, Н.А. Королева Любушкина<sup>1,2</sup>, О.А. Боровик<sup>1</sup>, В.К. Войников<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, [grolga@sifibr.irk.ru](mailto:grolga@sifibr.irk.ru)

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет», Иркутск, Россия

Развитие окислительного стресса, связанного с избыточной генерацией активных форм кислорода (АФК), может быть одной из причин гибели растений при температурном стрессе. На культуре клеток и этиолированных проростках растений нами ранее было показано, что митохондрии в гетеротрофных тканях являются основным источником генерации АФК при тепловом и холодовом шоке. В генерации АФК в митохондриях принимают участие комплексы I, II и III дыхательной цепи [Møller, 2001; Gleason et al., 2011]. АФК, образующиеся в митохондриях, могут выступать в качестве сигнальных молекул, участвующих в передаче внутриклеточных сигналов, регуляции экспрессии генов и активации защитных систем клетки или запуске программ клеточной гибели [Rhoads et al., 2006]. Регуляция функционирования митохондрий важна для поддержания клеточного гомеостаза в клетках растений при стрессе [Schwarzlander, Finkemeir, 2013].

Целью работы явилось изучение влияния высоких и низких температур на содержание АФК в митохондриях, их интактность, окислительную и фосфорилирующую активность. В работе использовали 4-х суточные проростки кукурузы (*Zea mays* L., гибрид Катерина СВ) и 3-х суточные проростки озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L., сорт Иркутская), выращенные в темноте на влажной фильтровальной бумаге при 27 °С (кукуруза) и 24 °С (пшеница). Побеги проростков подвергали 30-ти минутному действию температур 0, 17, 22, 27, 32, 37, 42, 47 и 52 °С, после чего выделяли митохондрии и анализировали изучаемые параметры. В отдельном эксперименте 30-ти минутному действию изучаемых температур подвергались митохондрии, изолированные из побегов необработанных проростков.

В зависимости от температуры обработки побегов было различным и содержание АФК в изолированных из них митохондриях, которое оценивали с помощью H<sub>2</sub>DCF-DA. После действия повышенных (37 и 42 °С) и пониженных (22, 17 и 0 °С) температур на побеги кукурузы наблюдали рост содержания АФК в митохондриях, при этом наиболее значительно оно возрастало в митохондриях, изолированных из побегов, подвергнутых обработке температурами 37 °С (на 77%), 42 °С (на 86%), 17 °С (на 112%) и 0 °С (на 84%). Эти данные свидетельствуют, что генерация АФК в митохондриях возрастала при отклонении температуры от оптимальной и была высокой при температурах, не вызывающих гибели растений. Повышение (или снижение) температуры до повреждающих значений не приводило к дальнейшему росту АФК в митохондриях, что возможно связано с ограничением используемого метода определения АФК. Сходные результаты по содержанию АФК в митохондриях при температурном стрессе были получены и для побегов озимой пшеницы, у которой гибель проростков при повышенной температуре наступала раньше, чем у кукурузы.

Снижение интактности внешней мембраны митохондрий, оцениваемое по скорости аскорбат-зависимого цитохром *c*-стимулируемого цианид-чувствительного поглощения кислорода в отсутствие и в присутствии 0,04% Тритона Х-100, наблюдали в диапазоне температур 32 – 52 °С для озимой пшеницы и 47 – 52 °С для кукурузы.



Анализ окислительной активности митохондрий выявил, что все изученные работе температуры в той или иной степени вызывают снижение скорости окисления субстрата – сукцината при отклонении температуры от оптимальной. Наряду со снижением скорости окисления сукцината митохондриями кукурузы воздействие повышенных температур в диапазоне 42 – 52 °С приводило к снижению степени сопряжения процессов окисления и фосфорилирования в митохондриях, о чем свидетельствует падение КДК (коэффициента дыхательного контроля). Значительное ингибирование скорости окисления сукцината митохондриями при 52 °С сопровождалось отсутствием перехода митохондрий в состояние ДК. Изменения интактности митохондрий, их окислительной и фосфорилирующей активности наблюдали и в проростках озимой пшеницы, подвергнутых температурной обработке. При этом следует отметить, что митохондрии озимой пшеницы были менее термоустойчивыми, чем митохондрии кукурузы.

Одним из митохондриальных белков, принимающих участие в адаптации растений к различным стрессам, является цианид-резистентная альтернативная оксидаза (АО). Было выявлено участие АО в механизмах устойчивости растений к температурному стрессу. При снижении температуры обработки побегов кукурузы с 27 (температура выращивания) до 22, 17 и, особенно до 0 °С, в митохондриях возрастало цианид-резистентное дыхание (ЦРД). Если при температуре 27 °С в митохондриях ЦРД составляло около 8%, то при понижении температуры до 22, 17 и 0 °С оно возрастало до 12, 16 и 21%, соответственно. Увеличение ЦРД наблюдали и при повышении температуры обработки до 42 и 47 °С (до 14 и 19%, соответственно).

Изучение действия пониженных и повышенных температур на изолированные митохондрии кукурузы и озимой пшеницы выявило, что повреждения целостности наружной мембраны митохондрий и функционирования дыхательной цепи митохондрий наступают гораздо раньше, чем в митохондриях, изолированных из побегов, подвергнутых температурному воздействию. При этом, так же как и *in vivo*, митохондрии кукурузы были более термоустойчивыми, чем митохондрии пшеницы.

Таким образом, флуктуации температур вызывают изменения в способности митохондрий растений генерировать АФК, при этом происходят изменения целостности митохондрий и их окислительной и фосфорилирующей активности. Сохранение фосфорилирующей активности митохондрий при температурном стрессе является гарантией того, что клетки растений останутся жизнеспособными, если же процесс фосфорилирования при стрессе нарушается, то они погибают.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект №15-04-06533-а).*

#### Литература

Gleason C., Huang S., Thatcher L.F., Foley R.C., Anderson C.R., Carroll A.J., Millar A.H., Singh K.B. Mitochondrial complex II has a key role in mitochondrial-derived reactive oxygen species influence on plant stress gene regulation and defense // Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2011. – V. 108 (26). – P. 10768-10773.

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.

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. – P. 357–366.

Schwarzlander M., Finkemeir I. Mitochondrial energy and redox signaling in plants // Antioxid. Redox Signal., 2013. – V. 18. – P. 2122-2144.

## ВЛИЯНИЕ НАНОКОМПОЗИТОВ СЕЛЕНА, ИНКАПСУЛИРОВАННОГО В МАКРОМОЛЕКУЛЫ АРАБИНОГАЛАКТАНА, НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ФИТОПАТОГЕНА

И.А. Граскова<sup>1</sup>, М.А. Живетьев<sup>1</sup>, А.В. Газизова<sup>1</sup>, А.И. Перфильева<sup>1</sup>, И.В. Клименков, К.Ю. Арсентьев<sup>2</sup>, Б.Г. Сухов<sup>3</sup>, Б.А. Трофимов<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, *graskova@sifibr.irk.ru*

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Лимнологический институт СО РАН, Иркутск, Россия

<sup>3</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН, Иркутск, Россия

В последнее время актуальными являются разнообразные антисептические нанокomпозитные субстанции, у которых эффективные антимикробные свойства могут задаваться как наночастицами, так и специфическими бактериотропными полимерами, входящими в состав нанокomпозитов. В последнем случае можно направленно создавать антимикробные нанокomпозиты с целевой трофической доставкой наночастиц к микробным клеткам.

Перспективным средством для оздоровления картофеля могут быть композиты, состоящие из трофических для бактерий полисахаридов, таких как  $\beta$ -полисахарид арабиногалактана и селеновых частиц, которые способны проявлять разнообразные антимикробные свойства.

С помощью различных видов микроскопии исследовали действие содержащих селен нанокomпозитов на жизнеспособность бактериальных клеток возбудителя кольцевой гнили картофеля *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*, штамм Ac 1405.

Наночастицы селена хорошо визуализировались в просвечивающем электронном микроскопе, имели относительно равномерное распределение в полисахаридной матрице, форму близкую к сферической и размеры 50-80 нм (средний диаметр частиц составил 67 нм).

Элементный состав бактерий до и после добавления нанокomпозита отслеживали на растровом электронном микроскопе JEOL JSM6390 LA. Растровая электронная микроскопия имеет ряд важных преимуществ перед другими видами микроскопий: эта методика неразрушающая, с относительной простотой подготовки образцов для анализа. Немаловажным является и экспрессность метода (малое время, необходимое от момента загрузки образца в камеру до получения изображения), а также широкий спектр анализируемых твердых тел.

Изменение формы бактериальных клеток при контакте с нанокomпозитами выявляли на электронно-сканирующем микроскопе FEI Company Quanta 200. Клетки патогена утолщались и укорачивались уже через 24 часа совместной инкубации. На более высоких разрешениях наблюдались частицы селена внутри бактериальных клеток.

Визуализацию агрегации селена на поверхности клеток проводили на сканирующем зондовом микроскопе «СММ-2000». Этим же методом выявили разрушение клеточной стенки под воздействием селенсодержащих нанокomпозитов.

Изменение жирнокислотного состава бактериальных клеток после инкубации в присутствии нанокomпозита и изменение степени насыщенности жирных кислот

определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Было предположено, что жирнокислотный состав бактерий *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* существенно изменяется после обработки нанокompозитом селена, в результате чего смещается степень насыщенности жирных кислот, что приводит к изменению жидкостно-кристаллических свойств клеточных мембран бактерий, а это, в свою очередь, может менять способность бактериальных клеток к агрегации, изменять их форму и даже приводить к разрушению клеточных мембран и гибели бактерий.

Так как клеточная стенка у исследуемых бактерий очень толстая и не такая лабильная, как у соматических клеток млекопитающих, то возможность эндоцитоза или фагоцитоза наночастиц для них несколько проблематична. На полученных нами фотографиях было хорошо видно, как электронплотные частицы поодиночке или небольшими кластерами адсорбируются на клеточной стенке. Возможно, здесь они инактивируют естественные механизмы мембранного транспорта ионов и питательных субстратов, что в конечном итоге блокирует жизнедеятельность клетки.

Селен в зависимости от условий и концентрации может выступать как в роли прооксиданта, так и антиоксиданта. На некоторых кадрах видны разрывы в клеточной стенке бактерий. У таких клеток внутренний матрикс существенно просветлен. Вероятно, через такие повреждения внутрь погибающих клеток проникают частицы нанокompозита.

Таким образом, можно сказать, что наличие частиц селена внутри клеток является не причиной, а следствием ее гибели. А сам процесс клеточной смерти, по-видимому, запускается в результате поверхностной сорбции частиц.

С помощью просвечивающего электронного микроскопа показана целевая трофическая доставка к бактериальным клеткам селеновых наночастиц за счет их арабиногалактанной матрицы. Ранее нами уже было показано, что нанокompозиты с содержанием селена проявляют бактерицидный эффект по отношению к *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*. Результаты визуализации взаимодействия микробных клеток с нанокompозитами могут служить еще одним подтверждением губительного действия нанокompозитов.

*Работа поддержана интеграционной программой «Фундаментальные исследования и прорывные технологии как основа опережающего развития Байкальского региона и его межрегиональных связей» и грантом РФФИ № 15-34-51309-мол\_нр.*

## ВЛИЯНИЯ РАЗНЫХ ВИДОВ АБИОТИЧЕСКОГО СТРЕССА НА ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ВАКУОЛЯРНОЙ МЕМБРАНЫ

В.В. Гурина, Н.В. Озолина, И.С. Нестёркина, В.Н. Нурминский

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, *nichka.g@bk.ru*

При стрессе у растений происходят определённые изменения метаболизма, которые защищают их от негативных последствий. Нарушение структуры мембран является первым звеном стрессового воздействия. Действие стрессовых факторов вызывает существенные изменения в составе мембранных липидов. Жирные кислоты (ЖК), входящие в состав липидов мембраны, выполняют важную роль в клетке. Показано, что ЖК активируют защитные реакции на транскрипционном уровне и способны менять конформацию и активность внутриклеточных белков и метаболитов [Hou et al., 2015]. Вакуолярная мембрана так же, как и другие клеточные мембраны, участвует в ответе клетки на стрессовые воздействия, но до настоящего времени её роль в этом процессе недостаточно изучена. Целью исследования было изучение зависимости ЖК состава липидов вакуолярной мембраны от воздействия абиотических стрессов.

Объектом исследования служили корнеплоды столовой свеклы (*Beta vulgaris* L.), сорт Модана в период покоя. Для создания гиперосмотического стресса корнеплоды в течение 3-х суток выдерживали на открытом воздухе при комнатной температуре, что приводило к увеличению осмоляльности клеточного сока. Для создания гипоосмотического стресса корнеплоды выдерживали в течение суток в дистиллированной воде, в результате чего уменьшалась осмоляльность клеточного сока. Для создания окислительного стресса кусочки ткани корнеплода инкубировали в растворе 100 мМ  $H_2O_2$  в течение суток. В контрольном варианте инкубацию проводили в дистиллированной воде. Для характеристики стрессового воздействия на корнеплоды использовали кондуктометрический метод. Определение содержания диеновых конъюгатов проводили по методу [Владимиров, 1972]. Вакуолярные мембраны получали по методу [Саляев и др., 1981]. Чистоту использованных в экспериментах изолированных мембран оценивали по ферментам-маркерам [Ozolina et al., 2013]. Из вакуолярных мембран, выделенных из контрольных и подвергнутых разным видам стрессового воздействия корнеплодов, экстрагировали липиды по методу [Bligh, Dyer, 1959]. Метилловые эфиры ЖК из экстрагированных липидов получали и определяли по методу [Dobson, Christie, 2002]. Статистическую значимость различий сравниваемых средних значений оценивали с помощью U-критерия Манна-Уитни.

Изменения содержания ЖК в процентном содержании при гипоосмотическом стрессе были незначительными и мало отличались от контроля. При гиперосмотическом и окислительном стрессах обнаружено повышение процентного содержания насыщенных ЖК в тонопласте. Такая же закономерность отмечалась ранее при солевом стрессе и было показано, что она вызывает адаптивный эффект снижения проницаемости мембран для ионов натрия [Wu et al., 2005].

По литературным данным известно, что насыщенные ЖК более устойчивы к окислительному повреждению [Portero-Otin et al., 2001], повышение их содержания вызывает уменьшение эластичности мембран [Los et al., 2013]. Можно предположить, что обнаруженные в нашем исследовании особенности изменения процентного состава ЖК вакуолярной мембраны при окислительном и гиперосмотическом стрессах представляют часть адаптивного механизма растительной клетки и могут быть связаны

с уменьшением интенсивности транспортных процессов, происходящих в нормальных условиях на этой мембране.

Достоверные различия при стрессовых воздействиях на вакуолярную мембрану отмечены в процентном содержании лауриновой (C12:0), миристиновой (C14:0) и стеариновой (C18:0) ЖК. Особенно интересны изменения в содержании лауриновой ЖК. Она полностью отсутствовала в составе липидов тонопласта у корнеплодов, не испытывавших стресс, и появлялась только после стресса. Это позволяет предположить её участие в запуске защитных реакций при разных стрессовых воздействиях. Необходимо отметить также значительные изменения в процентном содержании миристиновой и стеариновой ЖК, которые увеличивались в липидах тонопласта при всех стрессовых воздействиях и были максимальными при окислительном стрессе. Ранее уже отмечалось, что лауриновая и миристиновая ЖК участвуют в ослаблении повреждений, вызванных окислительным воздействием [Zemanova et al., 2015].

Таким образом, изучение зависимости ЖК состава липидов вакуолярной мембраны от воздействия абиотических стрессов показало существенную роль вакуолярной мембраны в адаптационных механизмах растительной клетки, которая связана с повышением процентного содержания насыщенных ЖК и уменьшением эластичности мембраны.

#### Литература

Владимиров Ю.А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю.А. Владимиров [и др.]. М.: Наука, 1972. – 252 с.

Салаяев 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 // Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, 1959. – V. 37, N 8. – P. 911-917.

Dobson G., Christie W.W. Mass spectrometry of fatty acid derivatives // European Journal of Lipid Science and Technology, 2002. – V. 104, N 1. – P. 36-43.

Hou Q., Ufer G., Bartels D. Lipid signaling in plant responses to abiotic stress // Plant Cell and Environment, 2015. – V. 39, N 5. – P. 1029-1048.

Los D.A., Mironov K.S., Allakhverdiev S.I. Regulatory role of membrane fluidity in gene expression and physiological functions // Photosynthesis Research, 2013. – V. 116, N 2-3. – P. 489-509.

Ozolina N.V., Nesterkina I.S., Kolesnikova E.V., Salyaev R.K., Nurminsky V.N., Rakevich A.L., Martynovich E.F., Chernyshov M.Yu. Tonoplast of Beta vulgaris L. contains detergent-resistant membrane microdomains // Planta, 2013. – V. 237, N 4. – P. 859-871.

Portero-Otin M., Bellmut M., Ruiz M., Barja G., Palmola R. Correlation of fatty acid unsaturation of the liver mitochondrial phospholipid classes in mammals to their maximum life span potential // Lipids, 2001. – V. 36, N 5. – P. 491-498.

Wu J., Seliskar D., Gallagher J. The response of plasma membrane lipid composition in callus of the halophyte *Spartina patens* (Poaceae) to salinity stress // American Journal of Botany, 2005. – V. 92, N 5. – P. 852-858.

Zemanova V., Pavlik M., Kyjakova P., Pavlikova D. Fatty acid profiles of ecotypes of hyperaccumulator *Noccaea caerulescens* growing under cadmium stress // Journal of Plant Physiology, 2015. – V. 180, N 1. – P. 27-34.

## РАСПРЕДЕЛЕНИЕ АССИМИЛЯТОВ И ФОРМИРОВАНИЕ УРОЖАЯ У ХЛОПЧАТНИКА ПРИ ИСКУССТВЕННОЙ РЕГУЛЯЦИИ ПЛОЩАДИ ЛИСТЬЕВ

М.Л. Дадобоева<sup>1</sup>, Ш.Ш. Юнусова<sup>1</sup>, Б.Б. Гиясидинов<sup>2</sup>, Р.Ш. Хакимова<sup>1</sup>, Б.А. Солиева<sup>2</sup>,  
М.К. Бохирова<sup>2</sup>, Х.А. Абдуллаев<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Худжандский Государственный университет им. академика Б. Гафурова,  
Душанбе, Республика Таджикистан, *tolib-r@rambler.ru*

<sup>2</sup>Институт ботаники, физиологии и генетики растений АН РТ, Душанбе,  
Республика Таджикистан, *bako.76@mail.ru*

Формирование урожая у растений, в том числе у хлопчатника, зависит от особенностей распределения ассимилятов между вегетативными и репродуктивными органами. В этой связи изучение баланса распределения ассимилятов между органами и динамики накопления биомассы имеет практическое значение для разработки методов регуляции плодоношения растений, повышения их урожайности.

Целью настоящей работы явилось исследование распределения ассимилятов между органами растений хлопчатника и формирования урожая при искусственной регуляции площади листьев.

Материалом для опытов служил тонковолокнистый хлопчатник *Gossypium barbadense* L. сорт 9906-И с неопредельным типом ветвления.

Дефолиацию растений (ручное удаление листьев) проводили одновременно в двух направлениях: снизу вверх от семядольных листьев и сверху вниз от точки роста в фазах цветения, плодообразования и созревания урожая.

В опытных вариантах в общей сумме как снизу, так и сверху одновременно удаляли 25%, 50%, 70% и 100% листьев от их общего количества на растении. Контролем служили интактные растения хлопчатника с сохранением всех сформировавшихся листьев.

Для анализа распределения и накопления ассимилятов по органам хлопчатника в зависимости от степени дефолиации в конце вегетации растений определяли массу корня и надземных органов путём их высушивания до постоянного веса в термостате при температуре 106 °С.

Результаты анализа распределения ассимилятов по органам растения хлопчатника показали, что дефолиация, проведённая в фазе цветения хлопчатника снизу и сверху в общем объёме 25, 50, 75 и 100% достоверно не повлияла на массу вегетативных органов: корня, стебля, листьев и плодовых ветвей. Биологическая масса и масса хлопка-сырца с одного растения при удалении 25% листьев также достоверно не изменились. Достоверные различия по этим показателям продуктивности хлопчатника наблюдались в вариантах опыта, где было удалено 50, 75 и 100% листьев. Так, биомасса опытных растений по сравнению с контролем уменьшилась в варианте 50% дефолиации на 23.4%, в варианте 75% удаления листьев на 30% и в варианте 100%-ной дефолиации на 33.4%. Масса хлопка-сырца по указанным выше вариантам дефолиации достоверно снизилась на 32.7, 36.8 и 53.1%, соответственно. При этом соотношение биологического и хозяйственного урожая хлопчатника (индекс урожая) значительно изменилось и составляло 29.0-37.8, против  $K_{хоз}$  контрольных растений – 41.9. Обычно высокий индекс урожая свидетельствует об эффективном использовании продуктов фотосинтеза на формирование хозяйственного урожая.

Частичное (25, 50, 75%) и полное (100%) удаление листьев в фазу плодоношения хлопчатника, а также к концу вегетации приводило к достоверному (при  $P=0.01$  и  $0.05$ )

уменьшению массы вегетативных органов: корня, стебля, листьев, черешков листьев, плодовых ветвей по сравнению с контрольными растениями. Общая биологическая продуктивность растений уменьшилась на 15.2-40.3%, а хозяйственный урожай – на 11.2-16.6%. Индекс урожая увеличился на 47-56%. Как в предыдущей фазе развития растений в общей сумме удаление 25% листьев нижних и верхних ярусов достоверно не повлияло на накопление сухой массы вегетативных и репродуктивных органов.

Анализ массы отдельных органов в конце вегетации показал, что масса корня в варианте 25% удаления листьев и сокращения их площади уменьшилась на 42.3%, а при 50, 75 и 100% дефолиации растений в 2.0, 4.0 и 3.8 раза, соответственно. Эти результаты свидетельствуют о том, что дефолиация привела к уменьшению и истощению корневой системы из-за меньшего притока ассимилятов или отсутствия донора ассимилятов – листьев.

У дефолированных растений в фазе созревания-раскрытия коробочек в конце вегетации наблюдается уменьшение массы стебля в вариантах 25 и 50% удаления листьев в 1.2 и 1.4 раза по сравнению с контролем, соответственно, а 75 и 100% удаление листьев привело к уменьшению массы стебля – в 2.3 и 2.8 раза.

25%-ная дефолиация в фазу созревания приводила к уменьшению размера листовой поверхности растения в 1.8 раза, 50% в 2 раза и 75% в 5.5 раза, то есть после дефолиации темпы образования новых листьев замедлились.

Аналогичные изменения также наблюдались и в показателях массы черешков листьев. Масса плодовых ветвей, генеративных органов (бутоны, цветки и завязи) и створок раскрытых коробочек во всех вариантах опыта существенно не изменялась.

Дефолиация в этой фазе развития растений меньше повлияла на формирование биологической и хозяйственной продуктивности растений (общая биомасса растений уменьшилась на 7.3-26.5%, а хозяйственный урожай снизился на 4.4-13.2%), то есть почти не влияла на массу хлопка-сырца с одного растения и сухую массу раскрытых коробочек. Индекс хозяйственного урожая  $K_{хоз.}$  в вариантах 25 и 50% удаления листьев и сокращения их площади был на уровне контрольных растений (38%). В вариантах 75 и 100% удаления листьев коэффициент хозяйственной эффективности был высоким и составлял 50%.

Таким образом, результаты наших исследований показали, что характер направления и распределения ассимилятов по органам хлопчатника в различные фазы развития растений и под влиянием дефолиации меняется. При удалении листьев в фазах плодоношения и созревания большое количество ассимилятов направляется не на рост вегетативных органов, а на формирование репродуктивных органов и хозяйственного урожая. Полученные данные свидетельствуют о том, что путём искусственной регуляции площади листьев можно создать разное соотношение биологического и хозяйственного урожая у хлопчатника при моделировании процессов плодообразования и формирования урожая растений.

## ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАСТЕНИЙ, ДОМИНИРУЮЩИХ ВИДОВ РАЗНОТРАВНО-ЕЖОВОГО СООБЩЕСТВА И ЭСПАРЦЕТА СОРТА «ЗИДДИ» В УСЛОВИЯХ ВЫСОКОГОРЬЯ ГИССАРСКОГО ХРЕБТА

Б.Б. Джумаев<sup>1</sup>, А. Назар<sup>2</sup>, М.Х. Гайратов<sup>2</sup>, А. Мадаминов<sup>1</sup>, Ё.Х. Сафаров<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт ботаники, физиологии и генетики растений АН Республики Таджикистан, Душанбе, *bahshullo@mail.ru*

<sup>2</sup>Таджикский государственный педагогический университет имени С. Айни, Душанбе

Уникальный по своему географическому положению Таджикистан, где 93% составляют горы, представляет собой естественную лабораторию для проведения эколого-физиологических исследований и механизмов адаптации растений к различным факторам внешней среды. На южном склоне Гиссарского хребта, на высоте 2350 м над уровнем моря, в окрестностях Биологической станции Института ботаники, физиологии и генетики растений АН Республики Таджикистан «Сиёкух», где нами проводятся эколого-физиологические исследования, в одних и тех же природно-климатических условиях широко распространены разные типы растительности, отличающиеся друг от друга по видовому составу, по морфобиологическим и экологическим особенностям растений. С другой стороны – растительность естественных фитоценозов южного склона Гиссарского хребта представляет основу летних пастбищ и сенокосов. С целью улучшения естественного травостоя и создания культурных пастбищ в условиях высокогорий проводится интродукция кормовых растений из местной флоры страны или путём возделывания новых сортов. Сравнительное сопоставление биологического разнообразия видов одного и того же семейства предоставляет уникальную возможность для изучения механизмов адаптации растений к разным экологическим условиям и стрессовым факторам.

Нами в течение многих лет проводятся сравнительные комплексные физиолого-биохимические исследования видов растений разнотравно-ежового растительного сообщества, характерных для этого района, а также кормового растения эспарцета сорта «Зидди», возделываемого сотрудниками института в условиях высокогорья.

В данной работе приводятся результаты изучения потенциальной интенсивности фотосинтеза (ПИФ), содержания пластидных пигментов и общего азота у видов, доминирующих растений разнотравно-ежового (*Dactylis glomerata* L., *Vicia tenuifolia* Roth., *Geranium collinum* Steph. ex Willd., *Lathyrus pratensis* L.) растительного сообщества высокогорья Гиссарского хребта и эспарцета сорта «Зидди».

ПИФ определяли радиометрическим методом (<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>). Содержание пластидных пигментов определяли путём экстракции 80%-ным раствором ацетона, а содержание общего азота путём сжигания растительной навески в серной кислоте.

Изучение ПИФ у видов, доминирующих растений разнотравно-ежового сообщества и кормового растения эспарцета сорта «Зидди» показало, что среди изученных видов растений этот показатель варьирует в широких пределах. Так, ПИФ листьев растений ежа сборная, вика тонколистная, герань холмовая, чина луговая и эспарцета сорта «Зидди» была соответственно 16.0, 19.0, 35.0, 76.0 и 55.0 мг CO<sub>2</sub>/г сухой массы · ч. Из этих данных видно, что величина ПИФ у разных представителей растений одного и того же семейства бобовых – дикая форма вики тонколистной от чины луговой отличается почти в 4 раза, а эспарцет сорта «Зидди» занимает промежуточное положение. У изученных нами растений содержание хлорофилла *a* в



два раза больше, чем содержание хлорофилла *b*, а содержание каротиноидов занимает промежуточное значение. Самое высокое содержание суммы хлорофиллов (*a+b*) обнаружено в листьях эспарцета сорта «Зидди» (2.80 мг/г сырой массы), а самое низкое – в листьях ежи сборной (1.04 мг/г сырой массы). Максимальное содержание общего азота обнаружено в листьях эспарцета сорта «Зидди», а минимальные – в листьях ежа сборной. Содержание общего азота и пластидных пигментов в листьях эспарцета положительно коррелирует с ПИФ.

Таким образом, наши исследования показали, что виды местных бобовых в одном и том же растительном сообществе, а также нового кормового растения – эспарцет сорт «Зидди» отличаются друг от друга по величине ПИФ, содержанию общего азота и пластидных пигментов. Выявленные различия могут быть обусловлены генетическими особенностями и разным возрастом растений, неодинаковым физиологическим состоянием особей и степени их адаптации. Полученные результаты необходимо учитывать при анализе механизмов адаптации растений к условиям высокогорий и изменению климата, при оценке кормовой ценности и биологической продуктивности растительных сообществ.

## ИЗУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ У РАЗНЫХ МУТАНТОВ АРАБИДОПСИСА (*ARABIDOPSIS THALIANA* (L.) HEYNH.) ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ХЛОРИДНОГО ЗАСОЛЕНИЯ

Б.Б. Джумаев<sup>1</sup>, Х.М. Хамроева<sup>2</sup>, М. Нигмонов<sup>1</sup>, З.Б. Давлятназарова<sup>1</sup>, М.К. Гулов<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт ботаники, физиологии и генетики растений АН РТ, Душанбе, Республика Таджикистан, *bahshullo@mail.ru*

<sup>2</sup>Таджикский медицинский университет имени Абуали ибн Сино, Душанбе, Республика Таджикистан

Глобальные изменения климата ведут к ряду негативных последствий, таких как засуха, опустынивание, повышение засоления почв, и в целом отрицательно влияют на природные эко- и агросистемы. В Таджикистане более двадцати процентов поливных земель подвергнутых засолению. Кроме того, наблюдается тенденция увеличения масштабов вторичного засоления почв.

Поэтому в сельскохозяйственном производстве, наряду с поиском различных солеустойчивых сортов растений, очень важным является оценка засоленности почв с использованием маркерных (индикаторных) растений. В этом плане использование различных мутантов и диких видов арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana* L.) является уникальным, поскольку они имеют короткий срок вегетации и в течение одного года могут давать до четырех поколений.

Исходя из этого, целью данной работы являлось исследование влияния различных концентраций NaCl на энергию прорастания и степень всхожести семян арабидопсиса, как модельного объекта.

В опытах были использованы дикая форма Enkheim и ряд мутантных линий арабидопсиса: Flavi 1-1 (58/15), 90 Clavatus, 931/1(Asymmetrica) [Генет. коллекция арабидопсиса... Атлас, 2010].

Опыты по изучению энергии прорастания и всхожести семян проводились согласно общепринятым методикам [Третьякова, 1990]. Семена арабидопсиса стерилизовали 96% этанолом в воронке Шорта, затем переносили на чашки Петри, покрытые фильтровальной бумагой и замоченные дистиллированной водой (контроль), а семена опытного растения – раствором разных концентраций NaCl (от 50 до 200 мМ). Растения выращивали в термостате (ТС-80 М-2, Россия) при температуре 24 °С.

Полученные данные показывают, что различные концентрации NaCl по-разному воздействуют на энергию прорастания и степень всхожести семян изученных объектов. В опытном варианте наблюдалось значительное угнетение ростовых процессов, по сравнению с растениями контрольного варианта. При этом следует отметить, что мутантные формы арабидопсиса были более чувствительными к воздействию различных концентраций солей по сравнению с дикой формой. Так, наименьшее значение энергии прорастания и всхожести семян наблюдается у мутанта Flavis-1 (27.5 и 35.0%), а наибольшая величина обнаружена у мутанта Asymmetrica (77.5 и 85.0%) соответственно. При этом дикая форма Enkheim и мутант Clavatus занимают среднее положение по этим двум показателям.

Сравнительный анализ обоих изученных показателей (т.е. энергия прорастания и всхожесть семян) под воздействием разных концентраций NaCl показывает, что концентрации 100 и 75 мМ незначительно влияют на энергию прорастания (24.4 и 21.1%), и существенно на всхожесть семян (36.6 и 23.1%, соответственно). При этом концентрация соли 150 мМ оказалась пороговой для всех изученных растений (учет после 7-го дня прорастания).

Биометрические расчеты показали, что в среднем, у всех растений опытного варианта, по сравнению с растениями контроля, происходило угнетение энергии прорастания на 17.3%, а всхожести – на 25.6% (при значении контрольного варианта 49.4%). Т.е. наблюдалось снижение уровня изученных показателей почти на 50%. При этом, коэффициент вариации (%) изученных параметров указывает, что уровень изменчивости под влиянием NaCl значительно превышает нормальный порог и составляет 45.0 и 43.8% (по обоим изученным показателям, соответственно).

Таким образом, высокая концентрация NaCl отрицательно влияет на ростовые процессы семян, что, по всей видимости, связано с воздействием на фитогормональный и водный баланс, препятствующий митотическому делению клеток проростков изученных форм и линий растений арабидопсиса.

*Авторы выражают благодарность Усмановой О.В. за предоставление семенного материала из фонда коллекции Arabidopsis thaliana (L.) академика Усманова П.Д.*

#### Литература

Генетическая коллекция арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.). Атлас. Редактор-составитель О.В. Усманова. – Душанбе: ООА «Контраст», 2010. – 96 с.

Третьякова Н.Н. Практикум по физиологии растений. – М.: Агропромиздат, 1990. – 270 с.

## ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ СОДЕРЖАНИЯ ФОТОПРОТЕКТОРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ФЕНОЛЬНОЙ ПРИРОДЫ В ЛИСТЬЯХ *ARABIDOPSIS THALIANA* L. В ОТВЕТ НА ДЕЙСТВИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Л.В. Дударева, Е.Г. Рудиковская

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, [laser@sifibr.irk.ru](mailto:laser@sifibr.irk.ru)

К настоящему времени тот факт, что низкоинтенсивное лазерное излучение инфракрасного и видимого диапазонов при определенных условиях оказывает стимулирующее влияние на живые ткани, в том числе и растительные, можно считать доказанным [Kreslavski, 2012; Passarella, Karu, 2014]. Однако пути этого влияния, вклад в их осуществление физических характеристик излучения, а также ключевые соединения, участвующие в реализации действия света лазера, по-прежнему, остаются предметом дискуссии. 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 проявляется в характерных биохимических изменениях в тканях, не зависящих от природы стрессора. Реакции растений, обеспечивающие долговременную адаптацию, напротив, большей частью оказываются зависимыми от характера неблагоприятного воздействия. Поскольку в случае облучения растений низкоинтенсивным светом лазера имеет место избыточная освещенность, логично предположить, что неспецифической реакцией на это воздействие может быть синтез фотопротекторных соединений. Известно, что наряду с каротиноидами, алкалоидами и микоспорин-подобными аминокислотами, фотозащитные функции у растений выполняют соединения фенольной природы, в том числе антоцианы, кемпферол, кверцетин и их гликозиды [Соловченко, Мерзляк, 2008].

В связи с этим целью представляемой работы был сравнительный анализ динамики изменений содержания антоцианов, кверцетина, кемпферола и их гликозидов, а также общего содержания липофильных фенольных соединений в листьях *Arabidopsis thaliana* L. при действии стимулирующих доз облучения светом гелий-неонового лазера ( $\lambda=632,8$  нм). Показано, что общее содержание липофильных фенольных соединений в листьях облученных и необлученных растений арабидопсиса на протяжении времени наблюдения изменялось незначительно. В то же время в содержании водорастворимых флавоноидов кемпферола, кверцетина и их гликозидов после облучения произошли заметные изменения. Через 1 час после облучения содержание кверцетина было значительно выше в опыте, чем в необлученном контроле ( $90,8 \pm 2,3$  мкг/г и  $35,1 \pm 0,8$  мкг/г сухого веса, соответственно). Содержание кемпферола, напротив, более чем в три раза уменьшилось в этот же период в облученных образцах по сравнению с контролем (с  $10,4 \pm 0,5$  мкг/г до  $2,3 \pm 0,3$  мкг/г сухого веса). Считается, что фотопротекторное действие фенольных соединений может быть связано с тем, что они являются эффективными перехватчиками свободных радикалов, в том числе свободно-радикальных АФК, которые как предполагается, вовлечены в индукцию синтеза фотопротекторных соединений фенольной природы. При избыточном излучении в тканях растений происходит увеличение содержания флавоноидов с большим числом ОН-групп. 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. Такой результат,

возможно, обусловлен различием в содержании ОН-групп в фенильном кольце – у кемпферола одна такая группа, а у кверцетина две. Особый интерес представляет динамика изменений содержания антоцианов под влиянием света лазера. В первый час после облучения оно увеличилось на порядок по сравнению с контролем: с  $228,1 \pm 5,0$  мкг/г до  $2041,2 \pm 6,2$  мкг/г сухого веса. Через сутки после облучения это различие уменьшилось, но все еще оставалось заметно более высоким, чем в необлученном контроле –  $1106,1 \pm 9,3$  мкг/г сухого веса.

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.

#### Литература

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.

Passarella S., Karu T. Absorption of monochromatic and narrow band radiation in the visible and near IR by both mitochondrial and non-mitochondrial photoacceptors results in photobiomodulation // *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2014. – V. 140. – P. 344-358.

Соловченко А.Е., Мерзляк М.Н. Экранирование видимого и УФ излучения как механизм фотозащиты у растений // *Физиология растений*, 2008. – Т. 55, № 6. – С. 803-822.

## ХОЛОДОВОЕ ХРАНЕНИЕ КУЛЬТУР РАСТИТЕЛЬНЫХ ТКАНЕЙ

А.Г. Еникеев, К.З. Гамбург

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, [gamburg@sifibr.irk.ru](mailto:gamburg@sifibr.irk.ru)

Культуры тканей, для которых установлены оптимальный состав среды, параметры роста, клеточные характеристики, способность к дифференциации клеток и регенерации растений, синтезу вторичных веществ, представляют большую лабораторную и прикладную ценность. В результате этого в интенсивно работающих с культурами тканей лабораториях образуются обширные коллекции культур, сохранение которых требует больших затрат труда и ресурсов. Лаборатории, работающие с культурами растительных тканей, нуждаются в методах их длительного сохранения, которые не должны быть чрезмерно трудозатратными и дорогостоящими. Одним из таких методов является содержание культур тканей при низких положительных температурах.

Нам было необходимо сохранять в течение нескольких лет не трансформированную культуру ткани моркови, две культуры тканей моркови, трансформированных двумя штаммами *Agrobacterium tumefaciens* – 8628 и С58С1 [Маркова и др., 1995], и культуру опухолевых клеток скорзonerы. Эксплантаты культур тканей (50-70 мг сырого веса) помещали в пенициллиновые флаконы с 6 мл питательной среды, которые плотно закрывали алюминиевой фольгой, инкубировали 6 дней при 26 °С и затем переносили в термостат с температурой 3 °С на 4, 6, 8, 10 и 12 месяцев. После этого флаконы переносили в комнату с температурой 26 °С и выдерживали несколько дней, а затем пересаживали эксплантаты на свежую среду и культивировали 3 недели. Определяли степень некроза и способность к возобновлению роста. Для увеличения холодоустойчивости использовали сахарозу в более высоких, чем в обычной среде (3%) концентрациях 5, 7 и 9%.

В таблице 1 показано, что повышение до 5% положительно сказывалось на росте всех 4-х культур, а более высокие концентрации уменьшали рост по сырому весу.

Таблица 1

### Влияние сахарозы на сырой вес тканей (мг на 1 флакон) при их культивировании при 26 °С в течение 28 дней

Культуры	Концентрация сахарозы в питательной среде, %			
	3	5	7	9
Скорзонеря	1780 ± 90	1940 ± 70	1270 ± 250	770 ± 80
Морковь норм.	850 ± 60	1330 ± 150	1150 ± 80	590 ± 100
Морковь 8628	2030 ± 380	2800 ± 0.30	1530 ± 150	640 ± 110
Морковь С58С1	2580 ± 340	3830 ± 0.10	2090 ± 640	1240 ± 230

Трансформированные культуры росли значительно интенсивнее, чем нормальная культура ткани моркови. Так, сырой вес культуры ткани моркови С58С1 достигал 3.8 г на флакон, в котором содержалось всего 6 мл питательной среды. Содержание сухого вещества возрастало при повышении концентрации сахарозы и достигало 10 – 13% при 9% сахарозы. Хранение культур при 3 °С замедляло их рост, уменьшало число оставшихся живыми эксплантатов и усиливало их некротизацию (табл. 2). Однако при возвращении их к 26 °С оставшиеся живыми участки тканей, высаженные на свежую среду, возобновляли рост. Повышение концентрации сахарозы в питательной среде способствовало лучшему сохранению культур. Особенно отчетливо этот эффект наблюдался при 7% сахарозы и в некоторых случаях при 9% (табл. 2). Следует отметить,

что в первом пассаже на свежей среде при 26 °С после холодового хранения ростовой индекс был значительно ниже, чем у культур, постоянно росших при 26 °С. Особенно низкой была скорость возобновленного роста культур, хранившихся при 3% сахарозы. Очевидно, 10-месячное пребывание культур при 3 °С вызывало неблагоприятные изменения клеток, которые не позволяли им возобновить нормальную скорость размножения. Однако в следующих пассажах скорость роста восстанавливалась.

**Таблица 2**

**Влияние сахарозы на жизнеспособность культур тканей после 10 месяцев хранения при 3 °С**

% сах. →	Число живых культур				% некрозов				Ростовой индекс, Pf: Pin			
	3	5	7	9	3	5	7	9	3	5	7	9
Скорзонера	2	1	5	0	–	–	–	–	7	7	12	0
Морк. норм.	1	2	4	7	99	97	96	89	3	4	9	11
Морк. 8628	0	3	6	5	78	92	75	80	-	9	22	18
Морк. С58С1	2	6	7	6	78	91	75	80	6	26	29	25

Pf – конечный сырой вес, Pin – начальный сырой вес эксплантата.

Трансформированные культуры тканей моркови отчетливо отличались от нормальной культуры более высокой скоростью роста при 26 °С и лучшим сохранением жизнеспособности при 10-месячном пребывании культур при 3 °С. Можно было предположить, что трансформация штаммами агробактерии, придавшая полученным культурам способность к самостоятельному обеспечению клеток ауксином и цитокинином, обеспечила это их преимущество. Но работа, выполненная А.Г. Еникеевым с соавт. (2001) по сравнению устойчивости к длительному хранению при низкой температуре нетрансформированной культуры ткани табака и культуры ткани, трансформированной штаммом А699, не содержащим генов синтеза ИУК и зеатина в *T-ДНК*, показала, что и в этом случае трансформированная культура сохранялась лучше, чем не трансформированная (табл. 3).

**Таблица 3**

**Ростовой индекс нормальных (Nt N) и трансформированных (Nt 699) каллусов табака после длительного хранения при 3 °С**

Хранение при +3 °С (мес.)	NtN		Nt 699	
	1-ый опыт	2-ой опыт	1-ый опыт	2-ой опыт
4	8,3±2,0	3,6±1,0	18,2±3,1	17,8±3,1
5	1,1±0,1	1,6 ± 0.2	6,5±1,9	11,9±0,2
6	1,5±0,2	2,0 ± 0.4	5,9±0,9	4,1±0,8

Можно предположить, что какие-то элементы *T-ДНК*, имеющиеся у всех трех штаммов агробактерии, не связанные с синтезом фитогормонов, обуславливают повышенную устойчивость к длительному холодovому хранению. Изучение этого явления представляет интерес для дальнейшей работы. Побочные эффекты агробактериальной трансформации наблюдались и в других работах [Yabor et al., 2006].

**Литература**

Маркова Т.А., Гамбург К.З., Гаманец Л.В., Еникеев А.Г. Активность индолилацетамид гидролазы в трансформированных клетках скорзонеры (козельца) и моркови // Физиология растений, 1995. – Т. 42. – № 5. – С. 672-678.

Еникеев А.Г., Гамбург К.З., Гаманец Л.В и др. Сохранение культуры ткани при низкой положительной температуре: эффект сахарозы // Биотехнология, 2001. – № 6. – С. 25-30.

Yabor L., Arzola M., Aragon C. et al. Biochemical side effects of genetic transformation of pineapple // Plant Cell, Tissue Org. Cult., 2006. – V. 86. – P. 63-67.

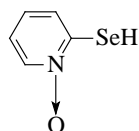
# ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ Se-СОДЕРЖАЩИХ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ НА ЭКЗООКСИДОРЕДУКТАЗЫ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ

С.А. Залепкина<sup>1</sup>, В.Ф. Смирнов<sup>1</sup>, А.В. Борисов<sup>2</sup>, Ж.В. Мацулевич<sup>2</sup>, О.Н. Смирнова<sup>1</sup>, М.М. Артемьева<sup>1</sup>

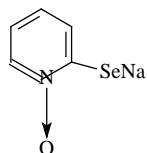
<sup>1</sup>ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия, *biodeg@mail.ru*

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Нижегородский государственный технический университет им. Р.Е. Алексеева», Нижний Новгород, Россия, *obchim@nntu.nnov.ru*

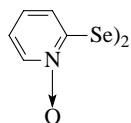
В настоящее время селенсодержащие гетероциклические соединения считаются одними из наиболее перспективных биологически-активных соединений, которые находят применение в различных областях медицины, ветеринарии, сельского хозяйства, в том числе и в качестве фунгицидных и бактерицидных препаратов [Bayse et al., 2013; Espinosa-Ortiz et al., 2013]. Установлено, что соединения данного класса обладают разнообразной биологической активностью, однако механизм их действия остается малоизученным. Знание молекулярных механизмов биологического действия данных соединений важно как для лучшего понимания их роли в процессах метаболизма клетки, так и для научно-обоснованного применения их в качестве средств защиты от биоповреждений конкретных материалов. В частности известно, что экзооксидоредуктазы (каталазы, пероксидазы, фенолоксидазы) микроскопических грибов способны участвовать в деструкции природных (древесина) и синтетических (фенопласты, ПВХ, акрилаты) полимерных материалов [Смирнов и др., 2010]. В связи с этим целью данной работы стала сравнительная оценка влияния 2-селанил-1-пиридин-1-оксида (1) и некоторых его структурных аналогов (2), (3), (4), (5) на активность указанных ферментов.



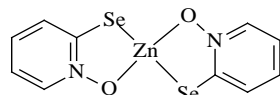
2-селанил-1-пиридин-1-оксид (1)



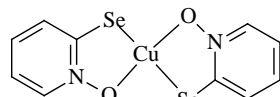
пиридин-1-оксид селенолят натрия (2)



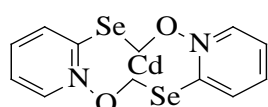
2,2'-бис(N-оксипиридин)-диселенид (3)



бис(2-селен-N-оксипиридин)цинк(II) (4)



бис(2-селен-N-оксипиридин)медь(II) (5)



бис(2-селен-N-оксипиридин)кадмий(II) (6)

Для исследования были выбраны микроскопические грибы (*Aspergillus oryzae*, *Aspergillus terreus* и *Penicillium chrysogenum*), которые являются активными



продуцентами данных ферментов, а также одними из наиболее распространенных биодеструкторов различных материалов [Горбань и др., 2011]. Активность ферментов определялась на 10, 13, 16 и 19 сутки культивирования. В качестве индукторов синтеза экзооксидоредуктаз использовались сосновые опилки. Установлено, что активность экзокаталазы всех исследуемых микромицетов в наибольшей степени на протяжении всего периода культивирования подавлял пиридин-1-оксид селенолят натрия (2). Активацию данного фермента в конце культивирования вызывали 2,2'-бис(N-оксипиридин)-диселенид (3) и бис(2-селен-N-оксипиридин)кадмий(II) (6). На активность пероксидаз исследуемых микромицетов изучаемые соединения влияли разным образом. Бис(2-селен-N-оксипиридин)цинк(II) (4) в наибольшей степени снижал активность пероксидазы *Aspergillus oryzae*, пиридин-1-оксид селенолят натрия (2) снижал активность пероксидазы *Penicillium chrysogenum*, 2,2'-бис(N-оксипиридин)-диселенид (3) снижал активность пероксидазы *Aspergillus terreus*. В то же время, активность пероксидаз всех исследуемых грибов увеличивал бис(2-селен-N-оксипиридин)медь(II) (5). Также данное соединение увеличивало активность фенолоксидаз всех исследуемых микроскопических грибов. Возможно, активация фенолоксидазы комплексом меди связана с тем, что фенолоксидаза представляет собой медьсодержащий гликопротеин, содержание меди в котором составляет приблизительно 0,24% [Леонтьевский и др., 1996]. Поскольку медь является биогенным металлом, который присутствует в окружающей среде, его концентрации могут играть важную роль в превращениях ферментов и их стабильности. Вероятно, данное соединение можно будет использовать в биотехнологических производствах, для активации данных ферментов. 2,2'-бис(N-оксипиридин)-диселенид (3) и 2-селанил-1-пиридин-1-оксид (1) подавляли активность изучаемых фенолоксидаз. Активность фенолоксидазы *Aspergillus oryzae* также снижалась при добавлении в культуральную среду бис(2-селен-N-оксипиридин)кадмий(II) (6) и бис(2-селен-N-оксипиридин)цинк(II) (4). Полученные результаты свидетельствуют о том, что наличие селена и тяжелых металлов в среде играет важную роль в регуляции активности внеклеточных ферментов. Из данных биохимических исследований видно, что в наибольшей степени активность всех исследуемых ферментов подавлял пиридин-1-оксид селенолят натрия (2), 2-селанил-1-пиридин-1-оксид (1) и 2,2'-бис(N-оксипиридин)-диселенид (3), что позволяет рекомендовать данные соединения к использованию в качестве биоцидов для защиты материалов, в деструкции которых активное участие принимают данные ферменты.

#### Литература

Горбань М.В., Ямпольская Т.Д. Физиологические аспекты деструкции синтетических и природных полимеров коллекционными и аборигенными штаммами микромицетов // Известия Самарского научного центра РАН, 2012. – № 1-9.

Леонтьевский Л.А. Изучение физико-химических и каталитических свойств оксидазы-1 из гриба *Panus tigrinus* и лакказы из гриба *Coriolu sversicolor* // Биохимия, 1996. – Т. 61, № 10. – С. 1785-1792.

Смирнов В.Ф., Мочалова А.Е., Смирнова О.Н. и др. Микробная деструкция композиционных материалов на основе природных и синтетических полимеров // Поволжский экологический журнал, 2010. – № 5. – С. 54-57.

Bayse C.A., Brumaghim J.L. Biochalcogen Chemistry: The Biological Chemistry of Sulfur, Selenium, and Tellurium // ACS Symposium Series. Am.Chem.Soc.: Washington. DC. 2013. – P. 223.

Espinosa-Ortiz E.J., Lens N.L.P. Selenium stress in fungi: Potential applications // Proceeding of the 3rd International Conference on Research Frontiers in Chalcogen Cycle Science and Technology, Delft, The Netherlands, 27th-28th May. – 2013. – P. 31-37.

## АНАТОМО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ВИДОВ РОДА *LARIX*

М.В. Иванова<sup>1</sup>, Н.К. Котева<sup>2</sup>, Г.Г. Суворова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, *omaria-84@yandex.ru*

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, Россия

Лиственница – главная, наиболее распространенная лесообразующая порода России. Лиственничные леса занимают площадь 278 млн га, что составляет около 40% всей лесопокрытой площади нашей страны. Исследования показали, что *L. sibirica* и *L. gmelinii* очень далеки друг от друга в системе рода *Larix* и принадлежат к разным видовым сериям этого рода [Дылис, 1961], кроме того, эти виды очень специфичны по своим экологическим особенностям [Абаимов и др., 1997; Милютин, 2003].

Фотосинтез – одно из основных внешних проявлений жизнедеятельности растений и их реакции на изменение окружающих условий, в силу чего его можно считать индикаторным процессом [Суворова, 2009]. Фотосинтез и его зависимость от внешних факторов определяют биологическую продуктивность растений и в целом растительных экосистем. В настоящее время неизвестно, имеются ли отличия в функции ассимиляционного аппарата двух исследуемых видов лиственниц, и как это определяет их распространение. В связи с этим целью работы являлось изучение структурных и функциональных компонентов фотосинтетического аппарата в течение вегетации у естественно произрастающей на исследуемой территории *Larix sibirica* Ledeb. и интродуцированной *Larix gmelinii* Rupr.

Для изучения анатомо-морфологических особенностей хвои использовали стандартные методы световой и электронной микроскопии. Фотосинтетическое поглощение углекислого газа регистрировали с использованием многоканальной установки, смонтированной на основе ИК-газоанализатора «Infralyt-4». Содержание хлорофилла в хвое определяли с помощью спектрофотометра СФ 56 (ЛОМО, Россия) в вытяжке с ацетоном [Шлык, 1971]. Долю хлорофиллов, включенных в состав светособирающих комплексов ФС II от общей суммы хлорофиллов, рассчитывали с учетом того, что весь хл *b* находится в ССК ФС II и соотношение хл *a/b* в ССК равно 1,2 [Maslova, Popova, 1993]. Параллельно с исследованиями углекислотного газообмена и структуры хвои проводили наблюдения за факторами среды.

Анализ данных анатомо-морфологических исследований показал, что хвоя *L. sibirica* имеет большие размеры, чем хвоя *L. gmelinii*. Важной отличительной особенностью является наличие в хвое *L. gmelinii* механической ткани – склеренхимы. В хвое *L. sibirica* склеренхимные клетки представлены в гораздо меньшей степени и часто отсутствуют. В среднем в течение вегетации у *L. gmelinii* размеры хлоропластов и площадь клетки, занятая ими, больше, чем у *L. sibirica*. Гранальная система хлоропластов исследуемых видов лиственниц отличается тем, что в активный период вегетации *L. sibirica* имеет более теневую структуру мембран, по сравнению с *L. gmelinii*. Это, безусловно, имеет взаимосвязь с эффективностью их фотосинтеза, поскольку для некоторых вечнозеленых хвойных показано, что более низкому уровню гранальности и соответственно, более «световому» типу организации мембран хлоропластов соответствует более высокий уровень фотосинтетической продуктивности в течение периода вегетации [Иванова, Суворова, 2014].

Морфометрический анализ показал, что у *L. sibirica* длина клеточных стенок мезофилла, обращенных в межклеточное пространство и не занятых хлоропластами, больше, чем у *L. gmelinii* в 2,5-5 раз. Этот показатель характеризует большую потерю CO<sub>2</sub> из клеток мезофилла в межклеточное пространство у *L. sibirica* по сравнению с *L. gmelinii* и свидетельствует о большей фотосинтетической эффективности *L. gmelinii*. Известно, что уровень поглощения CO<sub>2</sub> прямо зависит от площади поверхности хлоропластов, обращенных в межклеточное пространство в расчете на единицу поверхности листа [Evans et al., 1994].

Для *L. gmelinii* и в естественных условиях показан более длительный период вегетации: ранее начало распускания почек, роста хвои и более позднее пожелтение хвои. Показано, что в условиях исследуемого периода вегетации процесс фотосинтеза *L. gmelinii* менее лимитирован внешними факторами, по сравнению с *L. sibirica*.

Было показано, что у *L. sibirica* температура воздуха и почвы влияют на содержание хлорофилла, который в свою очередь оказывает влияние на процесс фотосинтеза. У *L. gmelinii* динамика содержания хлорофилла определяется запасом доступной почвенной влаги, температурой воздуха и почвы и не оказывает прямого влияния на фотосинтез.

При анализе динамики содержания хлорофилла в ССК ФС II, выявили, ее схожесть для обоих видов лиственниц. Интересно отметить, что динамика содержания хлорофилла в ССК ФС II и динамика гранального индекса *L. sibirica* и *L. gmelinii* имеют одинаковую тенденцию в исследуемый период вегетации. Это является вполне очевидным в связи с тем, что, как известно, ССК и комплекс ФС II в основном локализованы в гранальных участках мембраны тилакоидов, а ФС I и сопрягающий комплекс расположены в зонах контакта мембраны с матриксом хлоропласта (в стромальных тилакоидах и концевых участках тилакоидов гран) [Anderson, 1981].

На основании всего вышесказанного следует сделать вывод, что в условиях вегетации структурно-анатомическая организация фотосинтетического аппарата интродуцированной *L. gmelinii* позволила ей проявлять высокий фотосинтетический потенциал в условиях, отличающихся от естественных условий ее произрастания. Для *L. gmelinii* была свойственна большая сезонная пластичность (вариабельность) ультраструктурных признаков, связанных с фотосинтетической функцией. При одинаковом уровне фотосинтетической активности, *L. sibirica* и *L. gmelinii* проявляют различную степень взаимосвязи с факторами среды. Таким образом, в условиях периода вегетации процесс фотосинтеза *L. gmelinii* был менее лимитирован внешними факторами, по сравнению с *L. sibirica*, что, в частности, объясняется структурными особенностями фотосинтетического аппарата хвои *L. gmelinii*.

#### Литература

- Абаимов А.П., Бондарев А.И., Зырянова О.А., Шитова С.А. Леса Красноярского Заполярья. – Новосибирск: Наука. Сиб. предприятие РАН, 1997. – 208 с.
- Дылис Н.В. Лиственница Сибири и Дальнего Востока. – М., 1961. – 209 с.
- Иванова М.В., Суворова Г.Г. Структура и функция фотосинтетического аппарата хвойных в условиях юга Восточной Сибири. – Иркутск: Изд-во Института географии им. В.Б. Сочавы СО РАН, 2014. – 82 с.
- Милютин Л.И. Биоразнообразие лиственниц России // Хвойные бореальной зоны, 2003. – № 1. – С. 6-9.
- Суворова Г.Г. Фотосинтез хвойных пород в условиях Сибири. – Новосибирск: Академич. изд-во «ГЕО», 2009. – 196 с.

Шлык А.А. Определение хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев / Биохимические методы в физиологии растений. – М.: Наука, 1971. – С. 154-169.

Anderson J.M. Consequences of spatial separation of photosystem 1 and 2 in thylakoid membranes of higher plant chloroplasts // FEBS Lett., 1981. – V. 124. – P. 1-10.

Evans J.R., Caemmerer S., Setchell B., Hudson G.S. The relationship between CO<sub>2</sub> transfer conductance and leaf anatomy in transgenic tobacco with a reduced content of Rubisco // Plant Physiol., 1994. – V. 21. – P. 475-495.

Maslova T.G., Popova I.A. Adaptive properties of the plant pigment systems // Photosynthetica, 1993. – V. 29. – P. 195-203.

## ВЛИЯНИЕ СЕЛЕНИТА НАТРИЯ НА РОСТОВЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И АКТИВНОСТЬ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ ГРИБА *TRICHODERMA VIRENS*

А.В. Изосимова, И.В. Стручкова

ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия, [annizosimova@mail.ru](mailto:annizosimova@mail.ru)

Пищевым источником органического селена часто являются сельскохозяйственные растения, в свою очередь обогащаемые селеном за счет более дешевых неорганических соединений этого элемента, чаще всего – селенита натрия [Sadykova et al., 2012]. При внесении под сельскохозяйственные культуры селенит натрия способен оказать негативное влияние на почвообитающие микроскопические грибы и в результате привести к снижению плодородия почв и продуктивности сельхозугодий.

Целью данной работы являлось изучение влияния селенита натрия на ростовые характеристики и активность супероксиддисмутазы гриба *Trichoderma virens*, широко распространенного в почвах, а также применяемого в качестве биопестицида и препарата, повышающего устойчивость растений к неблагоприятным условиям произрастания.

Выращивая гриб на селенитсодержащих средах и на контрольной среде без его добавления, сопоставляли: диаметр 2х- и 3х-суточных колоний, сырую массу двухнедельного мицелия, продолжительность фазы прорастания спор и лаг-фазы, длину гиф через 12,5; 15; 17,5 и 19 часов после посева, а также активность супероксиддисмутазы (СОД). О влиянии селенита на активность отдельных изоформ СОД двухнедельного мицелия судили по результатам электрофореза в ПААГе и реакции обесцвечивания нитросинего тетразолия [Остерман, 2002]. В микроскопических исследованиях использовали программно-аппаратный комплекс длительной микросъемки (программа Score photo). Изображения обрабатывали в программе ImageJ.

Показано, что:

- диаметр трехсуточных колоний *T. virens* под действием селенита натрия в концентрации 50, 100 и 200 мкМ уменьшается по сравнению с контролем в 1,2; 1,3; 1,4 раза, соответственно; под влиянием концентрации 5 мкМ уменьшения диаметра колонии *T. virens* не происходит;
- биомасса мицелия в двухнедельной погруженной культуре при глубинном культивировании в присутствии селенита натрия 50 мкМ снижается в 3,2 раза по сравнению с контролем, а мицелий приобретает красную окраску;
- прорастание спор в контроле и опыте начинается практически одновременно, на 9-10 час культивирования; длина гиф молодого мицелия *T. virens* (в первые 10 часов после прорастания) при воздействии селенита натрия в концентрации 50 мкМ достоверно не отличается от контроля;
- активность Mn- и Cu/Zn- изоформ СОД двухнедельного мицелия *T. virens* под действием 50мкМ селенита натрия возрастает.

### Литература

Остерман Л.А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот. – М.: МЦНМО, 2002. – 248 с.

Sadykova V.S., Gromovykh T.I., Kazennova D.V., Cheremnykh E.G., Brusnikina L.I. Production of a Feed Additive Based on SeleniumContaining Mycelium of Fungi of the Genus *Trichoderma* // Russian Agricultural Sciences, 2012. – V. 38, N 3. – P. 234-238.

## СООТНОШЕНИЕ ДЫХАНИЯ И ФОТОСИНТЕЗА У РАСТЕНИЙ ОГУРЦА, ПОДВЕРГНУТЫХ ДЕЙСТВИЮ КРАТКОВРЕМЕННЫХ ПОНИЖЕНИЙ ТЕМПЕРАТУРЫ

Е.Н. Икконен, Т.Г. Шибаета, Е.Г. Шерудило, А.Ф. Титов

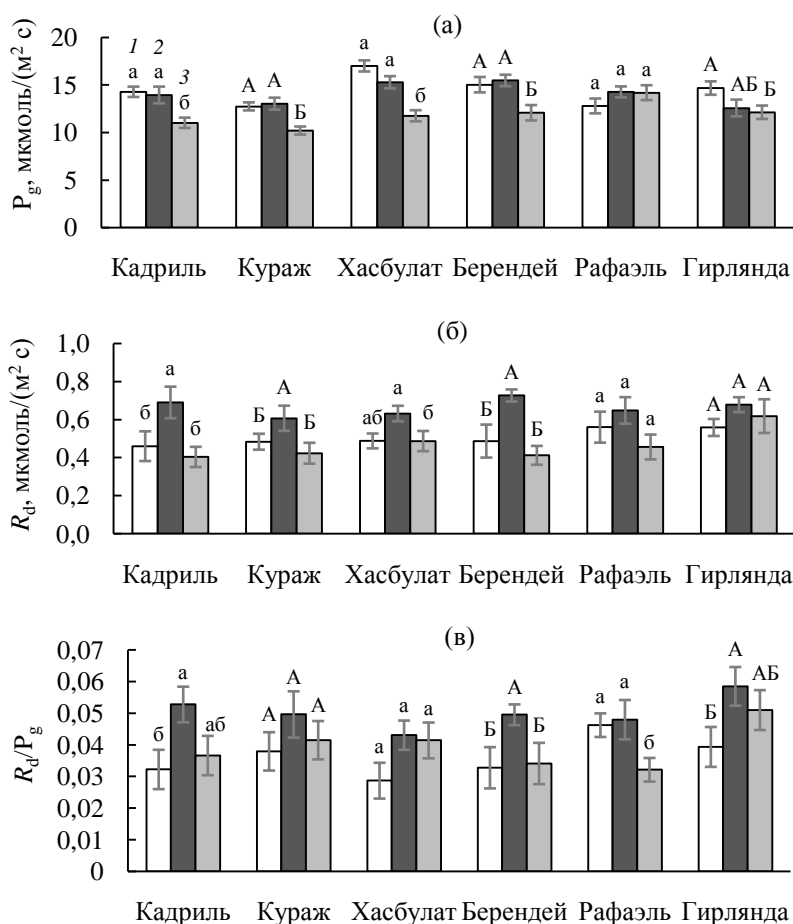
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии КарНЦ РАН, Петрозаводск, Россия, *likkonen@gmail.com*

Дыхание и фотосинтез являются двумя газообменными процессами тесно связанными между собой. В оптимальных условиях в дневное время скорость фотосинтеза значительно превосходит скорость дыхания. Однако соотношение их скоростей не является постоянной величиной [Головко, 1999]. Даже небольшое отклонение от оптимальных условий может вызвать у растений изменение соотношения дыхания и фотосинтеза ( $R_d/P_g$ ). Например, было показано, что понижение температуры роста растений существенно отражается на величине данного соотношения [Рахманкулова, 2009]. Однако эффект низкотемпературного воздействия на физиологическое состояние растений, одним из показателей которого является  $R_d/P_g$ , может различаться в зависимости от того происходит оно днем или ночью. Также возможны различия в степени и/или характере влияния низкой температуры на величину  $R_d/P_g$  у растений, отличающихся по своему отношению к свету. В связи с этим, задачей данной работы являлась сравнительная оценка влияния кратковременных ежесуточных понижений температуры (ДРОП-падение от англ. *drop*) в ночное или дневное время на соотношение дыхания и фотосинтеза у гибридов огурца, различающихся по требовательности к световым условиям.

Растения огурца (*Cucumis sativus* L., светолюбивые гибриды Кадриль F1, Кураж F1, Хасбулат F1 и теневыносливые гибриды Берендей F1, Рафаэль F1, Гирлянда F1) выращивали при температуре 25/20 °С день/ночь. В период роста первого листа часть растений ежедневно в течение 2 ч подвергали действию температуры 9 °С в конце темного (ДРОП в темноте), а часть растений – в начале светового (ДРОП на свету) периода. Измерения газообмена проводили с использованием фотосинтетической системы НСМ-1000 (“Walz”, Германия).

Как показали результаты исследования, влияние ежесуточных 2-часовых понижений температуры на скорость фотосинтеза ( $P_g$ ) и темнового дыхания ( $R_d$ ) у листьев всех исследованных гибридов существенно различалось в зависимости от того понижалась температура ночью или днем. Например, если действие ДРОП в темноте не отражалось на скорости фотосинтеза, то ДРОП на свету вызывал его снижение на 25% у светолюбивых и на 12% у теневыносливых гибридов (рис. а). Скорость темнового дыхания листьев увеличивалась в среднем на 32% у всех гибридов при ДРОП-воздействиях в темноте и незначительно ( $P>0.05$ ) снижалась у большинства гибридов при ДРОП на свету (рис. б). В результате действия ДРОП в темноте величина  $R_d/P_g$  возрастала у всех гибридов независимо от их требовательности к свету, хотя и не у всех гибридов эти изменения были статистически достоверны (рис. в). У всех гибридов, за исключением теневыносливого Рафаэля прослеживалась тенденция к повышению величины  $R_d/P_g$  при действии ДРОП на свету.

Таким образом, полученные результаты показали, что соотношение дыхания и фотосинтеза в значительной степени зависит от того, в какой из периодов в суточном цикле, в темновой или световой, растения подвергались действию ДРОП. Под влиянием ДРОП в темноте у гибридов огурца происходило большее, чем при ДРОП на свету, повышение величины  $R_d/P_g$  вне зависимости от их отношения к свету. Но если в



**Рисунок. Гроссфотосинтез при ФАР 1000  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \text{c})$  (а), темновое дыхание (б) и отношение темнового дыхания к гроссфотосинтезу (в) в листьях огурца светолюбивых (Кадриль, Кураж, Хасбулат) и теневыносливых (Берендей, Рафаэль, Гирлянда) гибридов, не подвергавшихся (1) и подвергавшихся ДРОП-воздействиям в темноте (2) и на свету (3).**

результате воздействия ДРОП в темноте значение  $R_d/P_g$  увеличивалось за счет повышения скорости дыхания, то незначительный рост данного показателя при ДРОП на свету связан со снижением скорости фотосинтеза. Следовательно, вне зависимости от требовательности гибридов огурца к свету кратковременные ежесуточные понижения температуры способны вызывать смещение их углеродного баланса в сторону увеличения потерь углерода, при этом в большей степени у растений, испытывавших понижения температуры в ночное время. Повышение же величины  $R_d/P_g$  указывает на рост у растений под влиянием ДРОП затрат на поддержание. Следствием этого, в свою очередь, может быть некоторое торможение роста растений, что, видимо, объясняет успешность применения в практике тепличного растениеводства данного агротехнического приема, позволяющего получать более компактную и жизнеспособную рассаду овощных и цветочных культур.

*Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования научным оборудованием ИБ КарНЦ РАН в рамках госзадания (№ темы 0221-2014-0002) и частично поддержана РФФИ (проект № 14-04-00840\_a).*

#### Литература

- Головки Т.К. Дыхание растений. Физиологические аспекты. – СПб.: Наука, 1999. – 204 с.
- Рахманкулова З.Ф. Уровни регуляции энергетического обмена в растениях // Вестник Башкирского университета, 2009. – Т. 14, № 3 (I). – С. 1141-1154.

## ПРЕДПОЛАГАЕМАЯ РОЛЬ КАЛЬЦИЕВЫХ КАНАЛОВ В РЕГУЛЯЦИИ УРОВНЯ ОКСИДА АЗОТА В КОРНЯХ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА НА ФОНЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С СИМБИОТИЧЕСКИМИ И ПАТОГЕННЫМИ БАКТЕРИЯМИ

А.А. Ищенко, А.К. Глянько

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, *aspt25@yandex.ru*

Оксид азота (NO) многофункциональная сигнальная молекула, играющая ключевую роль в широком спектре физиолого-биохимических процессов у растений, животных и микроорганизмов. В частности, NO контролирует гомеостаз ионов кальция ( $\text{Ca}^{2+}$ ) в клетках организмов, так как участвует тем или иным образом в регуляции всех типов кальциевых каналов и транспортеров  $\text{Ca}^{2+}$ . В свою очередь кальций также оказывает влияние на синтез NO [Глянько и др., 2014].

Таким образом, целью настоящей работы было в краткосрочных опытах изучить влияние ингибитора кальциевых каналов (400 мкМ  $\text{LaCl}_3$ ) на изменение динамики NO в корнях этиолированных проростков гороха на фоне взаимодействия с клубеньковыми и патогенными бактериями. Полученные результаты представлены на рис. 1.

Как видно из данных, представленных на рис. 1а, в нормальных условиях наблюдались колебания в уровне NO, которые проявлялись в виде увеличения уровня NO через 10, 30 и 50 мин и снижения его через 20, 40 и 60 мин. При добавлении в среду инкубации ингибитора кальциевых каналов уровень NO снижался по отношению к контролю и оставался на этом уровне на протяжении всего эксперимента. Кроме того, следует отметить, что на фоне  $\text{LaCl}_3$  отсутствовали, характерные для нормальных условий, флуктуации в уровне оксида азота.

При инокуляции клубеньковыми бактериями, так же как и в предыдущем варианте, наблюдались колебания в динамике NO, которые проявлялись в увеличении уровня NO через 10 и 40 мин и снижении его через 20 и 60 мин. При добавлении хлорида лантана в среду инкубации с ризобиями наблюдалось прямо противоположное, по сравнению с контролем, изменение динамики уровня NO (рис. 1б).

При заражении патогеном (*Pseudomonas syringae* pv. *pisi*), в отличие от предыдущих вариантов, наблюдалось резкое увеличение интенсивности флуоресценции оксида азота в первые 20 мин взаимодействия с бактериями. В промежутке с 20 до 50 мин уровень NO постепенно снижается, а через 1 час снова увеличивается. В целом следует отметить, что по сравнению с инокуляцией клубеньковыми бактериями при взаимодействии с патогеном уровень NO находится на постоянно повышенном уровне, а при добавлении в среду инкубации с патогеном  $\text{LaCl}_3$ , так же 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.

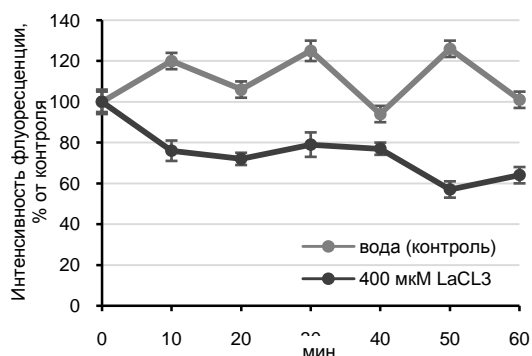
Таким образом, обобщив полученные результаты можно выявить следующие закономерности:

- различные биотические факторы неодинаково влияют на динамику уровня оксида азота в корнях этиолированных проростков гороха, что в свою очередь может использоваться как своеобразный код для передачи сигнала о природе действующего фактора;

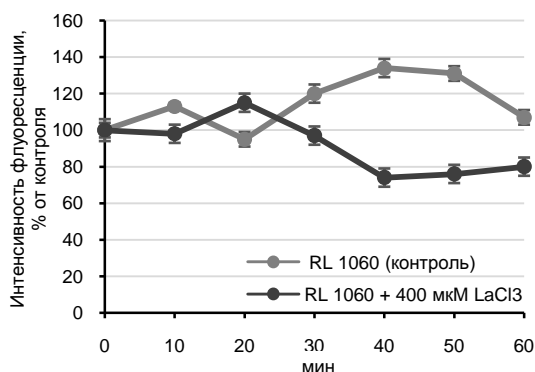
- выше описанные процессы, по-видимому, зависят от активности кальциевых каналов, и соответственно уровня кальция, так как ингибирование кальциевых каналов



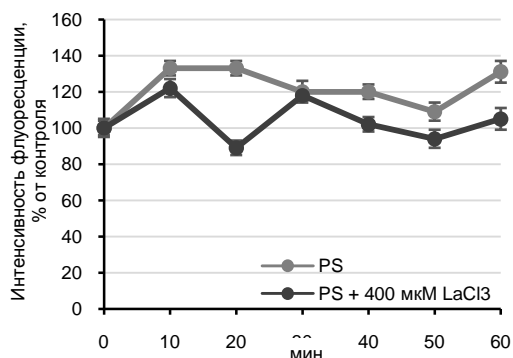
в нормальных условиях вызывает снижение уровня оксида азота в корнях проростков гороха. Кроме того, следует отметить отсутствие флуктуаций в уровне NO на фоне действия  $\text{LaCl}_3$ , а также тенденцию к снижению уровня NO при действии биотических факторов.



а)



б)



в)

**Рис. 1.** Влияние ингибитора кальциевых каналов на динамику интенсивности флуоресценции оксида азота в корнях этилированных проростков гороха на фоне: а) - воды; б) - взаимодействия с клубеньковыми бактериями *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*; в) - взаимодействия с патогенными бактериями *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*.

#### Литература

Глянько А.К., Ищенко А.А., Степанов А.В. Влияние кальция и ризобияльной инфекции (*Rhizobium leguminosarum*) на динамику содержания оксида азота (NO) в корнях этилированных проростков гороха (*Pisum sativum* L.) // Прикладная биохимия и микробиология, 2014. – Т. 50, № 6. – С. 587-592.

## ИЗМЕНЕНИЯ В ОБРАЗОВАНИИ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ ФЕНОЛЬНОЙ ПРИРОДЫ НА НАЧАЛЬНЫХ ЭТАПАХ РОСТА РАСТЕНИЙ ГРЕЧИХИ В ПРИСУТСТВИИ КАДМИЯ

В.В. Казанцева, Е.А. Гончарук, Н.В. Загоскина

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

**Введение.** Вопросы устойчивости растений к техногенным воздействиям являются одним из важных и приоритетных научных направлений современности. К числу наиболее опасных токсикантов относятся тяжелые металлы, в том числе кадмий (Cd) [Алексеев, 1987]. Он легко поступает из почвенного раствора в корневую систему и надземные органы растений, накапливаясь в них. Это приводит к повреждению корневой системы, хлорозу листьев и задержке роста [Серегин, Иванов, 2001]. Отмечаются также изменения в транспирации и фиксации углекислого газа, фотосинтезе, проницаемости клеточных мембран, активности ряда ферментов и других метаболических процессах [Wahid et al., 2009].

Кадмий, так же как и другие тяжелые металлы, выступает в роли индуктора окислительного стресса в растительных клетках, что отражается на образовании активных форм кислорода [Ammar et al., 2008]. И в этом случае важная роль принадлежит антиоксидантной системе защиты, включающей как высокомолекулярные, так и низкомолекулярные соединения. К числу низкомолекулярных антиоксидантов относятся фенольные соединения – одни из наиболее распространенных в растениях представителей вторичных метаболитов [Запрометов, 1993]. Их антиоксидантные свойства связаны с наличием в структуре фенольных гидроксильных групп, которые легко отдают свой атом водорода при взаимодействии со свободными радикалами, что способствует ингибированию процессов радикально-цепного окисления в организме, защищая таким образом биомолекулы (липидные мембраны, белки, ДНК) от окисления, что особенно важно в условиях стрессовых воздействий.

К числу фенол-продуцирующих видов растений, вызывающих большой интерес, относятся представители рода *Fagopyrum* Mill., широко культивируемые во многих странах мира. В частности, гречиха обыкновенная (*F. esculentum* Moench), которая является одной из важнейших крупяных и медоносных культур России. Она, помимо пищевой ценности, широко применяется в народной медицине и фармакологии [Куркин, 2007]. Именно из ее листьев получают препарат рутин (3-О-рутинозид кверцетина), обладающий антиоксидантными, ангиопротекторными, антибактериальными и гепатопротекторными свойствами.

Целью работы являлось изучение действия различных концентраций Cd на рост и содержание фенольных соединений в проростках гречихи обыкновенной.

**Объекты и методы исследования.** Объектом исследования являлись проростки гречихи (*F. esculentum* Moench) российской селекции: сорт Девятка, селекции ВНИИ зернобобовых и крупяных культур РАСХН. Для их получения семена предварительно выдерживали в воде (контроль) или в водных растворах металла (32 – 97 мкМ), используя для этого соль Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, а затем помещали в рулоны из фильтровальной бумаги и выращивали на тех же растворах в течение 14 дней в условиях факторостата при 16-час. фотопериоде и 24 °С.

Определяли высоту надземной части проростков и длину корней. Фенольные соединения извлекали из измельченного растительного материала 96%-ным этанолом.

В экстрактах спектрофотометрическим методом определяли содержание суммы растворимых фенольных соединений [Запрометов, 1971], которое рассчитывали по рутину.

**Результаты и обсуждение.** Уже на стадии прорастания семян в присутствии ионов  $Cd^{2+}$  отмечалось значительное снижение их всхожести и дружности прорастания. Для 14-дневных проростков отмечено значительное (в 4-8 раз) уменьшение длины корней по сравнению с контролем, более выраженное при высоких концентрациях металла. В случае гипокотилей эффект был меньше (в среднем на 35-40%). Следовательно, Cd оказывал более выраженное действие на рост корней, что отмечалось и в литературе [Серегин, Иванов, 2001].

Определение содержания фенольных соединений как важных низкомолекулярных антиоксидантов показало, что в семядольных листьях проростков всех исследованных вариантов их уровень был значительно выше, чем в гипокотилеях (таблица). Этот эффект может быть следствием функционирования в листьях проростков хлоропластов – одних из основных мест биосинтеза этих вторичных метаболитов [Запрометов, 1993].

**Таблица**

**Содержание суммы растворимых фенольных соединений (мг/г сухой массы) в проростках гречихи контрольного и опытных (Cd) вариантов**

Орган растения	контроль	32 мкМ Cd	65 мкМ Cd	97 мкМ Cd
Семядольный лист	170,11±8,02	130,05±6,78	128,04±6,01	109,67±5,89
Гипокотиль	38,03±2,65	28,31±1,99	20,03±1,21	18,45±1,15

В случае действия Cd содержание фенольных соединений как в семядольных листьях, так и в гипокотилеях проростков гречихи снижалось по сравнению с контрольным вариантом. Эти изменения были практически одинаковыми (в среднем на 30%) и мало зависели от концентрации металла в растворе.

Исходя из этих данных, можно заключить, что наличие Cd в почвенном растворе замедляет рост проростков гречихи (особенно их корневой системы), что, по-видимому, сопровождается снижением их способности к образованию фенольных соединений.

**Литература**

Алексеев Ю.В. Тяжелые металлы в почвах и растениях. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 250 с.

Серегин И.В., Иванов В.Б. Физиологические аспекты токсического действия кадмия и свинца на высшие растения // Физиология растений, 2001. – Т. 48, № 4. – С. 606-630.

Wahid A., Arshad M., Farooq M. Cadmium phytotoxicity: responses, mechanisms and mitigation strategies // Organic farming, pest control and remediation of soil pollutant. – Netherlands: Springer, 2009. – P. 371-403.

Ammar W.B., Nouairi I., Zarrouk M., Ghorbel M.H., Jemal F. Antioxidative response to cadmium in roots and leaves of tomato plants // Biologia Plantarum, 2008. – V. 52 (4). – P. 727-731.

Запрометов М.Н. Фенольные соединения: распространение, метаболизм и функции в растениях. – М: Наука, 1993. – 275 с.

Куркин В.А. Фармакогнозия. – Самара: ООО Офорт», Сам ГМУ, 2007. – 1180 с.

Запрометов М.Н. Фенольные соединения и методы их определения // Биохимические методы в физиологии растений. – М.: Наука, 1971. – С. 185-197.

## ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРНОГО ФАКТОРА НА РОСТ МИЦЕЛИЯ И ДИНАМИКУ ЭНДОЦИТОЗА У БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ ИЗ РАЗНЫХ ЭКОЛОГО-ТРОФИЧЕСКИХ ГРУПП

О.В. Камзолкина, М.А. Киселица, О.А. Кудрявцева, О.В. Штаер, И.С. Мажейка

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия,  
o-kamzolkina@yandex.ru

Эндоцитоз – это уникальный способ поглощения крупных частиц, воды, веществ и микроорганизмов, сопровождающийся изменением структуры, формы и размеров плазматической мембраны, формированием и отделением везикул, их транспортом и слиянием с мембранными компонентами внутри клетки [Hawes et al., 1995]. В результате эндоцитоза клетка получает для своей жизнедеятельности гидрофильный материал, который иначе не проникает через липидный бислой клеточной мембраны. Эндоцитоз подразделяют на два типа: фагоцитоз и пиноцитоз. Для грибов показан пиноцитоз, который представляет собой везикулярное поглощение капелек жидкости с растворенными в ней молекулами или ионами. Эндоцитоз у грибов участвует в апикальном росте гиф, во взаимодействии грибов с представителями других царств, данный процесс вносит свой вклад в обмен феромонами у дрожжевых грибов и ряд других процессов [Wessels, 1986; Toshima et al., 2006; Higuchi et al., 2009; Камзолкина и др., 2015]. До конца не выяснены вопросы, касающиеся роли эндоцитоза в питании грибного мицелия.

В качестве модельных объектов использовали базидомицеты, имеющие разные типы питания (патогены и сапротрофы) и обитающие на разных питательных субстратах (почва, древесина, корнеплоды).

В работе использовали природные изоляты и коллекционные штаммы видов и родов: *Armillaria* sp. (ксилотроф-паразит), *Coprinopsis cinerea* (гумусовый сапротроф), *Fomitopsis pinicola* и *Pleurotus ostreatus* (ксилотрофы-сапротрофы), *Rhizoctonias olani* (паразит/симбиотроф). Температурные оптимумы роста мицелия у исследуемых видов грибов определяли по скорости роста на чашках Петри со средой Чапека в трех повторностях. В качестве инокулята использовали диски агара с мицелием (Ø 0.5 см). Культивировали грибы в темноте при температурах 0, 8 °С в холодильнике, 15, 22, 28 °С в термостате. Динамику эндоцитоза изучали при следующих температурных режимах: 0, 8, 15, 22, 28 °С с использованием окрашивания мицелия флуоресцентным маркером эндоцитоза АМ4-64 по модифицированному нами методу, описанному [Lee et al., 2007]. Микроскопировали после инкубации при каждом температурном режиме.

Результаты экспериментов позволили выделить три типа динамики эндоцитоза при разных температурных режимах у изученных видов базидиальных грибов: первый тип эндоцитоза характерен для паразита *R. solani*, второй – для гумусового сапротрофа *C. cinerea* и третий – для ксилотрофов *Armillaria* sp., *F. pinicola*, *P. ostreatus*.

1). У *R. solani* эндоцитоз при 0 °С не наблюдали, при 8 °С эндоцитоз протекал с низкой скоростью. Повышение температуры (15, 22 и 28 °С) значительно повышало скорость эндоцитоза.

2). Эндоцитоз, характерный для *C. cinerea*, протекал с высокой скоростью в диапазоне температур от 0 до 22 °С. При 28 °С скорость эндоцитоза значительно снижалась.

3). Эндоцитоз, характерный для *Armillaria* sp., *F. pinicola* и *P. ostreatus*, протекал в более широком диапазоне температур. Динамика эндоцитоза у ксилотрофа-паразита *Armillaria* sp. при разных температурах сходна с динамикой эндоцитоза у ксилотрофов-

сапротрофов *F. pinicola* и *P. ostreatus*. По литературным источникам известно одно сообщение по изучению динамики эндоцитоза у ксилотрофа-сапротрофа *Lentinula edodes* [Lee et al., 2007], согласно которому эндоцитоз протекает в широком диапазоне температур от 0 до 25 °С, то есть относится к третьему типу.

Сравнение динамики эндоцитоза и скорости роста при одинаковых температурных режимах у исследуемых видов базидиальных грибов выявило определенную корреляцию. Так например, при 0 °С мицелий грибов не растет, но поглощает АМ4-64 (за исключением *R. solani*). При 8 °С мицелий всех видов грибов растет медленно, кроме *F. pinicola*, для которого и скорость эндоцитоза выше в сравнении с другими видами. Повышение температуры до 15 °С и выше увеличивала скорость эндоцитоза, такая же тенденция характерна для роста мицелия исследуемых видов грибов. Скорость роста мицелия всех исследуемых видов грибов положительно коррелирует с динамикой эндоцитоза при температурах 22 и 28 °С. При температурах ниже 22 °С положительная корреляция сохраняется только для патогена *R. solani*. Можно предположить, что эндоцитоз у мицелиальных базидиомицетов принимает непосредственное участие в поглощении питательных веществ в процессе роста мицелия, причем более тесная связь между процессами роста мицелия и эндоцитоза характерна для патогенного гриба *R. solani*.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 16-04-00814.*

#### Литература

Камзолкина О.В., Штаер О.В., Кудрявцева О.А., Мажейка И.С. Эндоцитоз у грибов // Материалы VII всероссийской микологической школы-конференции с международным участием «Биотические связи грибов: мосты между царствами», ред. Дьяков М.Ю. 2015. – «СТД-Восток» Москва, ЗБСМГУ. – С. 50-66.

Hawes C., Crooks K., Coleman J., Satiat-Jeuemaitre B. Endocytosis in plants: fact or artifact? // Plant Cell Environ., 1995. – V. 18. – P. 1245-1252.

Higuchi Y., Arioka M., Kitamoto K. Endocytic recycling at the tip region in the filamentous fungus *Aspergillus oryzae* // Communicative and Integrative Biology, 2009. – V. 2. – P. 327-328.

Lee M.T., Szeto C.Y.Y., Ng T.P., Kwan H.S. Endocytosis in the shiitake mushroom *Lentinula edodes* and involvement of GTPase LeRAB7 // Eukaryotic Cell, 2007. – V.6, N 12. – P. 2406-2418.

Toshima J., Kaksonen M., Martin A.C., King D.S., Drubin D.G. Spatial dynamics of receptor-mediated endocytic trafficking in budding yeast revealed by using fluorescent alpha-factor derivatives // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 2006. – V. 103. – P. 5793-5798.

Wessels J.G.H. Cell wall synthesis in apical hyphal growth // Int. Rev. Cytol., 1986. – V. 104. – P. 7-79.

## ИНДУЦИРОВАНИЕ ДОНОРОМ ОКСИДА АЗОТА СТРЕСС-ПРОТЕКТОРНЫХ СИСТЕМ РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ В УСЛОВИЯХ ЗАСУХИ

Ю.В. Карпец, Ю.Е. Колупаев, Т.О. Ястреб

Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева, Харьков, Украина, [plant\\_biology@mail.ru](mailto:plant_biology@mail.ru)

Оксид азота (NO) является сигнальной молекулой-радикалом, задействованной во многих физиологических процессах растений, в т.ч. в адаптации к действию стрессоров. Имеются сведения о повышении его содержания у растений в ответ на действие неблагоприятных факторов различной природы [Zhao et al., 2009; Shi et al., 2012; Карпец и др., 2015]. Во многих экспериментах показано положительное влияние на растения экзогенного оксида азота (обработки донорами NO, например, нитропруссидом натрия – НПН) в условиях действия стресс-факторов различной природы. В частности, сообщается о положительных эффектах доноров NO на растения разных видов при осмотическом и солевом стрессах [Tan et al., 2008; Wu et al., 2011].

Известно, что оксид азота может индуцировать ферментативную антиоксидантную систему растений. При этом, однако, есть сведения и о возможности прямого ингибирующего влияния оксида азота на антиоксидантные ферменты [Begara-Morales et al., 2011]. Предполагается, что оксид азота участвует и в регуляции содержания у растений совместимых осмолитов, обладающих различными протекторными свойствами, в частности, пролина. Однако влияние NO на содержание пролина у растений разных видов неоднозначно [Lopez-Carrion et al., 2008; Tan et al., 2008]. Большинство данных о стресс-протекторном действии доноров NO на растения показано на клеточных культурах, каллусах, изолированных органах и других модельных объектах. В то же время сведения о его влиянии на устойчивость растений к стресс-факторам, в частности, к засухе в экспериментальных условиях, приближенных к естественным, немногочисленны. В связи с изложенным целью работы было исследовать влияние обработки донором оксида азота НПН на водный статус и функционирование антиоксидантной и осмопротекторной систем растений ячменя (*Hordeum vulgare* L.) при почвенной засухе.

Растения сорта Гелиос выращивали в пластиковых контейнерах (почва чернозем типичный тяжелосуглинистый) при влажности субстрата – 70% от ПВ, освещении – 5 клк, фотопериоде – 16 ч, температуре 25/20 °С (день/ночь). Перед созданием условий засухи растения в возрасте 10 сут опрыскивали растворами НПН в концентрации 2 мМ, контроль – опрыскивание дистиллированной водой. Оптимальная концентрация донора оксида азота была выбрана на основании результатов предварительных опытов. Засуху создавали в течение шести суток, начиная с 10-го дня выращивания растений уменьшением нормы полива с постепенным снижением влажности почвы до 25–30% от ПВ.

Обработка растений НПН увеличивала массу растений, выращиваемых в физиологически нормальных условиях (таблица). Под влиянием засухи масса растений относительно соответствующего контроля снижалась почти в 1,5 раза, при этом обработка НПН нивелировала отрицательное действие засухи. Донор оксида азота значительно смягчал вызываемые засухой эффекты снижения содержания воды в листьях и проявление водного дефицита.

Под влиянием НПН отмечалось повышение содержания хлорофилла в листьях, как в обычных условиях, так и на фоне засухи (таблица).

Таблица

**Влияние засухи и НПН на массу растений ячменя, показатели водного режима, содержание хлорофилла и осмолитов и активность антиоксидантных ферментов в листьях**

Вариант	СМ	СВ	ВД	Хл	Про	Сах	Кат	АПО	ГПО
Контроль	149±4	89,16±0,16	5,11 ±0,43	63,7±1,03	4,94±0,12	61,6±1,4	40,6±1,4	48,4±1,6	19,2±0,4
НПН	176±6	90,14±0,18	3,55 ±0,36	71,3±1,13	5,22±0,16	73,5±1,6	54,9±1,7	59,9±1,5	17,3±0,5
Засуха	106±6	86,77±0,15	22,07±1,14	60,6±1,22	6,22±0,20	53,8±1,8	36,0±1,0	51,8±1,3	13,3±0,4
Засуха + НПН	150±5	89,43±0,17	9,72±0,65	68,3±1,26	5,75±0,15	63,7±1,7	44,9±1,3	63,7±1,9	14,9±0,6

Примечания: СМ – сырая масса растений (мг), СВ – содержание воды (%), ВД – водный дефицит (%), Хл – суммарное содержание хлорофиллов (мг/г сухой массы), Про – содержание пролина (мг/г сухой массы), Сах – содержание сахаров (мг/г сухой массы), Кат – активность каталазы (ммоль Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>/(г сухой массы · мин)), АПО – активность аскорбатпероксидазы (мкмоль аскорбата/(г сухой массы · мин)), ГПО – активность гваяколпероксидазы (усл. ед./г сухой массы · мин)).

При засухе происходило повышение содержания пролина в листьях. Донор оксида азота не оказывал существенного влияния на этот показатель как в обычных условиях, так и в варианте с засухой. В то же время обработка НПН существенно увеличивала содержание сахаров в листьях (таблица), которые также обладают осмопротекторными свойствами.

Засуха вызывала снижение активности каталазы в листьях, обработка НПН индуцировала ее повышение в обычных и стрессовых условиях (таблица). Также под влиянием НПН происходило повышение активности аскорбатпероксидазы в листьях в нормальных условиях увлажнения и особенно при засухе. Засуха вызывала снижение активности гваяколпероксидазы в листьях. НПН не влиял на этот показатель как при нормальном поливе, так и при засухе (таблица).

Таким образом, обработка НПН в условиях засухи способствовала нормализации показателей водного статуса растений, вызывала повышение содержания в листьях хлорофиллов, сахаров и активности антиоксидантных ферментов. Влияние донора NO на водный статус может быть связано с его участием в регуляции состояния устьиц [Xu et al., 2015]. Можно полагать, что оксид азота способен влиять и на углеводный обмен. В литературе имеются сведения о повышении в условиях засухи содержания сахаров у растений арабидопсиса, трансформированных геном NO-синтазы животных [Shi et al., 2014]. Другим звеном эффектов NO является антиоксидантная система [Shi et al., 2014]. В целом полученные результаты согласуются со сведениями о положительном влиянии оксида азота на ключевые антиоксидантные ферменты. Влияние донора NO на содержание пролина, по-видимому, неоднозначное и существенно зависит от видовых особенностей и экспериментальных условий. Так, у растений пшеницы при осмотическом стрессе, вызываемом действием ПЭГ, происходило повышение содержания пролина [Tan et al., 2008]. В то же время у растений китайской капусты, обработанных НПН, при солевом стрессе содержание пролина было ниже, чем у необработанных [Lopez-Carrion et al., 2008]. У растений огурца при засухе предобработка НПН уменьшала содержание пролина в корнях [Arasimowicz-Jalonek, 2009]. Противоположный эффект (повышение содержания пролина) выявлен под влиянием НПН у растений томатов в условиях солевого стресса [Wu et al., 2011]. В целом обработка донором оксида азота в условиях наших экспериментов заметно влияла на различные протекторные системы ячменя и существенно повышала устойчивость растений к почвенной засухе.

## СЕЗОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ВНЕЛИСТОВЫХ ХЛОРОФИЛЛОВ ПОБЕГОВ ДРЕВЕСНЫХ И КУСТАРНИКОВЫХ РАСТЕНИЙ В ОТВЕТ НА ПОНИЖЕНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ

Т.Ю. Китаева, Н.А. Гаевский

ФГАОУ ВПО «Сибирский федеральный университет», Красноярск, Россия, [tykitayeva@sfu-kras.ru](mailto:tykitayeva@sfu-kras.ru).

Одним из главных стрессоров окружающей среды для растений Сибири считается низкая температура из-за длительного и сильного воздействия. Отрицательные температуры в этом регионе держатся более трех месяцев (с декабря по февраль) и достигают  $-27\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Для адаптации к сезонному воздействию низких температур в растениях происходят приспособительные изменения на всех уровнях организации, включая биохимические и физиологические изменения в тканях. Лиственные растения умеренных широт лишаются наиболее богатых хлорофиллом органов при наступлении таких изменений, сопровождающих состояние покоя. Это приводит к тому, что до прихода низких отрицательных температур значение внелистных пигментов древесных и кустарниковых растений в холодное время года возрастает. Они продолжают обеспечивать энергией процессы перехода в состояние покоя и выхода из него. Сезонные изменения активности внелистных содержащих хлорофилл тканей могут служить показателем способности растений адаптироваться к воздействию низких температур. Смена сезонов кроме влияния на активность, сказывается на количестве пигментов, которое варьирует в различных тканях у различных видов растений [Харук, 1982].

Таким образом, целью данного исследования было изучение особенностей распределения хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов, а также динамики фотосинтетической активности в побегах некоторых представителей древесных и кустарниковых форм растений Юга Сибири в периоды активной вегетации и покоя. Объектами исследования были двух-шести летние побеги *Acer negundo* L., *Betula pendula* Roth, *Syringa josikaea* Jacq. Fil, *Populus nigra* L. В этих видах фотосинтетические пигменты были обнаружены во всех трех основных тканях стебля, которые можно легко идентифицировать визуально – коре, древесине, сердцевине. Сбор образцов проводили в летний (май-июль) и зимний (январь-февраль) периоды на территории лесного массива Академгородка в окрестностях Красноярска. Анализу были подвергнуты исключительно свежесобранные образцы. Функциональную активность регистрировали на РАМ флуориметре IMAGE РАМ (модули MINI и MAXI) фирмы Walz, Германия. Квантовый выход ФС2 (Y(II)), а также максимальная и фоновая флуоресценции были измерены на поперечных срезах побегов высотой 2-4 мм. При проведении количественного анализа пигментов небольшой фрагмент побега с помощью острого ножа разделяли на фрагменты, соответствующие указанным тканям, измельчали и растирали в ступке с добавлением стекла и 96% этилового спирта. Оптическую плотность раствора пигментов измеряли на спектрофотометре Specol 1300 (фирмы Analytik Jena, Германия). Количество хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов рассчитывали на единицу сырой массы по [Lichtenthaler, 1987]. При исследовании экстрактов с низкой оптической плотностью использовали флуориметр ФЛ3003 (КрасГУ) для регистрации флуоресценции хлорофилла *a*. В этом случае концентрацию пигмента определяли на основе градуировочной зависимости.

Полученные данные свидетельствуют о неоднородности распределения зеленых и желтых пигментов по тканям побега в радиальном направлении вне зависимости от



сезона. Содержание хлорофилла *a* в коре колебалось от 14,2 до 423,1 мкг×г<sup>-1</sup> (с.м.), хлорофилла *b* – от 8,9 до 199,7 мкг×г<sup>-1</sup> (с.м.). В большинстве изученных образцов наблюдали постепенное уменьшение количества пигментов по направлению от коры к сердцевине, реже – резкое увеличение количества пигментов в сердцевине. Все исследованные виды характеризовались наименьшим содержанием каротиноидов в области древесины. В побегах клена и березы по этому параметру наблюдали различия, не зависящие от сезона – наибольшее количество желтых пигментов у березы регистрировали в коре, у тополя – в сердцевине. В целом зимние пробы содержат больше каротиноидов, чем летние. Отношение хлорофилла *a* к хлорофиллу *b* в большинстве случаев было близко 2, однако в июле в древесине тополя и сердцевине клена, а также в феврале в сердцевине сирени отношение превышало 4. Отношение суммы хлорофиллов к сумме каротиноидов в июле колебалось от 0 (сердцевина сирени) до 2 в коре клена (1,9), сирени и тополя (2,3), древесине клена (2,4). В феврале пределы наблюдаемых различий этого показателя практически не изменились: от 0,3 в сердцевине сирени до 2,8 в коре сирени. По сравнению с летними данными величина отношения у коры клена (1,5) и тополя (1,8), увеличилось у коры сирени (2,8), не изменилось у древесины клена (2,3).

Потенциальная фотохимическая активность тканей побега характеризовалась величиной квантового выхода ФС 2 (Y(II)) до 0,66 летом, и была близка к нулю в зимний период (февраль). У большинства видов (независимо от сезона) по направлению от сердцевины к коре увеличивался квантовый выход Y(II). На основании этого был сделан вывод о том, что фотосинтетическая активность по мере приближения к внешним слоям побега растет. При этом не было установлено прямой связи между количеством пигментов и их фотосинтетической активностью. Ткани побегов в холодное время года содержали больше хлорофиллов, чем в теплое, но проявляли минимальную фотосинтетическую активность.

Существующую разницу в содержании пигментов в различные сезоны нельзя объяснить выбором способа расчета количества пигментов на сырую массу, при котором на результат мог оказывать влияние процесс обезвоживания тканей побега в зимний период. Поэтому было высказано предположение о том, что наблюдаемые большие различия возникли из-за изменения основной функции хлорофилла: если в период вегетации – это осуществление фотосинтеза, то в период покоя – это может быть запасание питательных веществ или защита пигментов от фотодеструкции. Полученные результаты указывают на значительные видовые различия в реакции нелистового фотосинтетического аппарата на сезонные изменения температуры, причиной которых могут быть сроки начала и конца вегетации и состояния вынужденного зимнего покоя.

#### Литература

Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes // *Methods Enzymol.* 1987. – 148:350. – 382 с.

Харук В.И., Терсков И.А. Внелистовые пигменты древесных растений. – Новосибирск: Наука, 1982. – 88 с.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ ИМПУЛЬСНОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ МИКРОМИЦЕТОВ – ДЕСТРУКТОРОВ ПРОМЫШЛЕННЫХ МАТЕРИАЛОВ

Д.А. Ключев, Е.А. Шibaева, В.Ф. Смирнов

ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия, [biodeg@mail.ru](mailto:biodeg@mail.ru)

Микроскопические грибы способны осуществлять биodeградацию полимеров природного и искусственного происхождения с помощью различных экзометаболитов – агрессивных продуктов жизнедеятельности, выделяемых мицелием в окружающую среду.

Под действием экзометаболитов полимер разрушается и утрачивает свои первоначальные свойства. Это явление приносит пользу человеку как основа многих биотехнологических процессов и путей утилизации различных промышленных отходов [Leja, Lewandowicz, 2010]. Однако подобная биodeградация крайне нежелательна в других ситуациях, таких как использование грибом в качестве источников питания промышленных материалов и изделий с неизбежным ухудшением их эксплуатационных характеристик и сокращением срока службы [Lugauskas et al., 2003].

В качестве физического фактора воздействия на грибные организмы могут выступать электромагнитные поля. Они способны изменять скорость прорастания спор и роста мицелия грибов [Быстрова и др., 2009], спектр грибных экзометаболитов и активность отдельных внутри- и внеклеточных ферментов [Manoliu et al., 2005; Potenza et al., 2012]. В то же время зависимость величины и знака биоэффекта от характеристик и режима воздействия электромагнитного поля до сих пор не известна.

Наименее изученными являются биоэффекты слабых низкочастотных (< 1 мТл; <300 Гц) переменных магнитных полей, возникающих при работе обычных бытовых и промышленных электроприборов.

Целью нашего исследования являлось изучение действия слабого импульсного магнитного поля на рост грибов – биodeструкторов различных промышленных материалов.

Для воздействия на гриб использовали слабое низкочастотное импульсное электромагнитное поле (далее – МП), которое создавали с помощью источника VL 2 (пачки по 20 импульсов длительностью 227 мкс с индукцией 1.5 мТл, следующие с частотой 15 Гц). Для создания поля использовали генератор фирмы Electro–Biology Inc. (EBI). Время экспозиции гриба в поле составляло 30, 90, 150 и 210 минут.

Культивирование грибов осуществляли на жидкой и твердой питательных средах Чапека-Докса. Нами исследовалось действие МП на рост биомассы и скорость роста колоний. Рост биомассы измеряли в граммах, скорость роста колоний – в см/день.

Объектом исследования являлись микромицеты–биodeструкторы *Aspergillus niger*, *Penicillium cyclopium*, *Alternaria alternata*, полученные из Всероссийской коллекции микроорганизмов. Известно, что различные штаммы грибов этих видов активно разлагают многие природные и синтетические полимерные материалы.

В результате эксперимента было выявлено влияние слабого низкочастотного импульсного магнитного поля на прирост биомассы и скорость роста колоний грибов. Действие МП на рост биомассы было неоднозначным. Для *Penicillium cyclopium* имело место снижение роста биомассы относительно контроля во всех вариантах опыта (30–210 минут). Для *Aspergillus niger* кратковременное воздействие (30 минут) приводило к увеличению биомассы, а более длительное время экспозиции (150 и 210 минут) ингибировало рост биомассы *Aspergillus niger*. У гриба *Alternaria alternata* наблюдалось

увеличение роста биомассы при времени экспозиции 90 и 210 минут и снижение при 30 и 150 минут.

Действие МП не приводило к существенному изменению скорости роста колоний исследованных грибов. Незначительное ингибирование отмечалось для колоний гриба *Aspergillus niger* и *Alternaria alternata* в пределах 6-11%, тогда как экспозиции длительностью 90 и 150 минут, напротив, приводили к увеличению скорости роста гриба *Penicillium cyclopium* в пределах 12-21%. Неоднозначное действие слабого импульсного поля на рост биомассы и скорость роста колоний исследуемых грибов определяется их физиолого-биохимическими особенностями.

#### Литература

Быстрова Е.Ю. [и др.] Влияние постоянного магнитного и экранированного геомагнитного полей на развитие колоний микромицетов // Микология и фитопатология, 2009. – Т. 43, № 5. – С. 438-446.

Leja K., Lewandowicz G. Polymer biodegradation and biodegradable polymers – a review // Polish J. of Environ. Stud., 2010. – V. 19, N 2. – P. 255-266.

Lugauskas A., Levinskaitė L., Pečiulytė D. Micromycetes as deterioration agents of polymeric materials // International Biodeterioration & Biodegradation, 2003. – V. 52. – P. 233-242.

Manoliu A., Oprica L., Olteanu Z., Neacsu I., Rusu I., Creanga D., Bodale I. The magnetosensitivity of some cellulolytic fungi revealed by means of the soluble protein response to electromagnetic field exposure // Analele ȘTIINȚIFICE ale universitatii “AL. I. CUZA” IAȘI T. I, s. Biofizică, Fizică medicală și Fizica mediului, 2005. – P. 77-80.

Potenza L., Saltarelli R., Polidori E., Ceccaroli P., Amicucci A., Zeppa S., Zambonelli A., Stocchi V. Effect of 300 mT static and 50 Hz 0.1 mT extremely low frequency magnetic fields on magnetic *Tuber borchii* mycelium // Can. J. Microbiol., 2012. – V. 58(10). – P. 1174-1182.

## **МОРФО - ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СТРУКТУРЕ МИКРОБНОЙ ПОПУЛЯЦИИ ПОД ВЛИЯНИЕМ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ**

Л.А. Кокорина, Е.В. Симонова

ГБОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет», Иркутск,  
Россия, *lubovkokorina1990@yandex.ru; evsimonova@yandex.ru*

Изменчивость в структуре микробной популяции это выражение ее адаптационных возможностей на внешние воздействия. В связи с этим значительный интерес представляют исследования по изучению изменчивости микроорганизмов в зависимости от условий их обитания. Одним из признаков, на основе которого можно оценивать устойчивость микробной популяции в различных экологических условиях, является морфотип. В связи с этим цель исследования – оценка влияния лазерного излучения на изменчивость морфотипа микробной популяции в динамике ее развития.

Моделью для изучения функционально-морфологических особенностей микробной популяции использована периодическая культура дрожжей, которая фактически отражает естественные условия ее развития, поскольку находится в состоянии перестройки метаболизма в соответствии с параметрами среды обитания. В качестве фактора, влияющего на развитие периодической культуры, была использована стандартная питательная среда, подвергавшаяся воздействию лазерного излучения с длиной волны 532 нм при экспозиции 20 и 60 секунд.

В период лаг-фазы, предшествующей экспоненциальной фазе роста, отмечается типичная форма микробной клетки в контрольном варианте, которая связана с задержкой деления клетки, но периода когда активно идет биосинтетический процесс [Рыбальченко, 2003]. В опытных вариантах в этот период при воздействии лазерного излучения в течение 20 секунд обнаруживаются клетки крупной овальной формы, тогда как при экспозиции 60 секунд клетки модельной культуры мелкие и имеют округлую форму. При этом следует также отметить и то, что жизнеспособность микробной популяции опытного варианта в этот период ниже по сравнению с контролем (показатель КОЕ/мл), а сам период лаг-фазы растягивается на 72 часа.

В экспоненциальную стадию роста микробной культуры в контроле можно выделить крупные, слегка удлинённые клетки шаровидной (овальной) формы. В аналогичный период роста, в условиях эксперимента как при экспозиции лазера 20, так и 60 секунд, наблюдается изменение морфотипа, связанного с переходом типичной формы клетки в палочковидную средних размеров. При этом следует отметить, что период экспоненциального роста в контроле длится 72 часа, тогда как в опытных вариантах он составляет всего лишь 24 часа, а концентрация клеток в культуральной среде отстает от контрольного значения на два порядка.

В момент окончания эксперимента в контрольном варианте модельная культура находится в стадии стационарного роста. В этот период выделены крупные клетки палочковидной формы.

В отличие от нее опытные варианты, минуя стадию стационарного роста, выходят в период гибели культуры. В этот период в опытном варианте при воздействии лазера в течение 20 секунд преобладали мелкие полиморфные клетки, а при действии лазера в течение 60 секунд среди очень мелких круглых клеток преобладали мелкие палочковидные формы.

На основании выше изложенного следует, что морфотип клеток изменяется в зависимости от стадии развития периодической культуры. Под влиянием лазерного излучения наблюдали снижение жизнеспособности модельной культуры. На это

указывает величина КОЕ, которая в стадию экспоненциального роста достигала значения на два порядка выше в контроле, чем в опытных вариантах. Испытывая неблагоприятные условия развития при воздействии лазерного излучения, микробная культура вынуждена отвечать приспособительным механизмом – формированием покоящихся форм клеток (мелкий размер клетки).

#### Литература

Рыбальченко О.В. Морфо–физиологические аспекты взаимодействий микроорганизмов в микробных сообществах // Автореф. дис. ... док. биол. наук. – Санкт-Петербург: ВАК РФ 03.00.23, Биотехнология, 2003.

## ВЛИЯНИЕ ГИПОТЕРМИИ НА СОСТАВ И АКТИВНОСТЬ СУПЕРКОМПЛЕКСОВ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ МИТОХОНДРИЙ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА *PISUM SATIVUM* L.

М.А. Кондакова, И.В. Уколова, Г.Б. Боровский, В.К. Войников

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, *kondakova-marina@mail.ru*

Митохондрии играют важную роль в формировании ответа на изменяющиеся условия окружающей среды. Эти органеллы настраивают метаболизм клетки в соответствии с ее нуждами, что главным образом обеспечивается реакциями окислительного фосфорилирования. В настоящее время имеются единичные работы по изучению влияния таких стрессовых факторов, как гипоксия, низкое значение pH, аноксия, тепловой шок и гербициды, на нативную организацию ЭТЦ митохондрий растений [Millar et al., 2004; Ramirez-Aguilar et al., 2011; Rurek et al., 2015; Taylor et al., 2005]. Однако информация о действии низких температур пока отсутствует. Поэтому целью нашего исследования стало изучение изменений надмолекулярной организации дыхательной цепи митохондрий этиолированных проростков гороха в условиях гипотермии различной интенсивности.

Исследование проводили на этиолированных проростках гороха сорта «Аксацкий усатый 55». В работе применяли три типа воздействия: закаливающее, при котором 5-и суточные контрольные проростки проходили холодовую адаптацию в течение 7 суток при +7 °С; мягкое стрессирование 6-и суточных контрольных проростков в течение 7 суток при +2 °С и жесткое стрессирование 6-и суточных контрольных побегов в течение 1.5 часов при -7 °С. Контрольными служили 6-и суточные проростки, выращенные при 20 °С в темноте. В экспериментах использовали фракции митохондрий, очищенных в градиенте перколла [Stupnikova et al., 2006]. Белки внутренней митохондриальной мембраны солибилизировали мягким детергентом дигитонином [Sunderhaus et al., 2007]. С помощью одномерного (1DBNE) и двумерного голубого нативного электрофорезов (2DBN/BNPAGE) с последующей энзимографической детекцией активности дыхательных комплексов в геле, а также электрофореза с денатурирующей второй мерой (2DBN/SDSPAGE) изучали изменения в составе и активности компонентов дыхательной цепи проростков гороха в условиях гипотермии [Sabar et al., 2005; Sunderhaus et al., 2007; Wittig et al., 2007].

Установлено, что повреждающие отрицательные и низкие положительные температуры приводят к развитию окислительного стресса. В этих условиях крупные суперкомплексы, состоящие из комплексов I, III<sub>2</sub> и IV, распадаются, что сопровождается накоплением индивидуальных комплексов I и III<sub>2</sub>, а также небольшим увеличением содержания ассоциации дыхательных ферментов III<sub>2</sub>+IV.

Показано, что гипотермия любой интенсивности вызывает уменьшение содержания большинства обнаруженных суперкомплексов, таких как I+III<sub>2</sub>+IV<sub>n</sub>, I+III<sub>2</sub>+IV, Va+NDA+NDB+AOX и Vb+NDA+NDB+AOX, при этом не происходит формирования новых ассоциаций дыхательных ферментов. Содержание мегакомплекса (II+III<sub>2</sub>+IV<sub>1-4</sub>)<sub>n</sub> снижается только в условиях жесткого стресса, а при закаливании и мягком стрессе, напротив, наблюдается его увеличение.

Детекция активности дыхательных ферментов в геле показала, что обнаруженные изменения в содержании компонентов дыхательной цепи отражаются и на их активности. Так, показано, что гипотермия любой интенсивности приводит к снижению

активности суперкомплексов I+III<sub>2</sub>+IV и I+III<sub>2</sub>+IV<sub>n</sub>, что сопровождается ростом активности ассоциации, состоящей из комплексов III и IV. Активность мегакомплекса меняется аналогично изменениям его содержания. Активность АТФ-синтазы также снижается при всех изучаемых обработках. Интересно, что жесткий стресс сильнее, чем закаливание и мягкий стресс, подавляет работу дыхательных ферментов в составе некоторых суперкомплексов.

В условиях низкотемпературного стресса снижение активности большинства суперкомплексов сопровождается увеличением активности I-го монокомплекса, не ассоциирующего с другими дыхательными ферментами. Причем, чем сильнее стрессовая нагрузка, тем выше его НАДН-окисляющая способность. Кроме того, в условиях жесткого стресса увеличивается и активность отдельно расположенного комплекса II, в то время как функциональное состояние мажорной формы IV-го комплекса существенно не меняется.

Обнаруженные изменения при закаливании предположительно носят адаптивный характер и необходимы для менее интенсивного, но устойчивого и контролируемого дыхания, а при низкотемпературном стрессе они являются результатом повреждений и, скорее всего, направлены на смягчение неблагоприятного воздействия.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 14-04-01233 а.*

#### Литература

Millar A.H., Trend A.E., Heazlewood J.L. Changes in the mitochondrial proteome during the anoxia to air transition in rice focus around cytochrome-containing respiratory complexes // *J. Biol. Chem.*, 2004. – V. 279, N 38. – P. 39471-39478.

Ramirez-Aguilar S.J., Keuthe M., Rocha M., Fedyaev V.V., Kramp K., Gupta K.J., Rasmusson A.G., Schulze W.X., van Dongen J.T. The composition of plant mitochondrial supercomplexes changes with oxygen availability // *J. Biol. Chem.*, 2011. – V. 286. – P. 43045-43053.

Rurek M., Woyda-Ploszczyca A. M., Jarmuszkiewicz W. Biogenesis of mitochondria in cauliflower (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) curds subjected to temperature stress and recovery involves regulation of the complexome, respiratory chain activity, organellar translation and ultrastructure // *Biochim. Biophys. Acta*, 2015. – V. 1847. – P. 399-417.

Sabar M., Balk J., Leaver C.J. Histochemical staining and quantification of plant mitochondrial respiratory chain complexes using blue-native polyacrylamide gel electrophoresis // *The Plant Journal*, 2005. – V. 44, N 5. – P. 893-901.

Stupnikova I., Benamar A., Tolleter D., Grelet J., Borovskii G., Dorne A-J., Macherel D. Pea seed mitochondria are endowed with a remarkable tolerance to extreme physiological temperatures // *Plant Physiol.*, 2006. – V. 140. – P. 326-335.

Sunderhaus S., Eubel H., Braun H.P. Two-Dimensional Blue Native/Blue Native polyacrylamide gel electrophoresis for the characterization of mitochondrial protein complexes and supercomplexes // *Methods Mol. Biol.*, 2007. – V. 372. – P. 315-324.

Taylor N.L., Heazlewood J.L., Day D.A., Millar A.H. Differential impact of environmental stresses on the pea mitochondrial proteome // *Mol. Cell. Proteomics*, 2005. – V. 4. – P. 1122-1133.

Wittig I., Schagger H. Electrophoretic methods to isolate protein complexes from mitochondria // *Methods in cell biology*, 2007. – V. 80. – P. 723-741.

## РАСПРОСТРАНЕНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ТИПОВ ГАЛОФИТОВ НА ПОЧВАХ С РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНЬЮ ЗАСОЛЕНИЯ (ПРИБРЕЖНАЯ ЗОНА ОЗ. КУРИНКА, ХАКАСИЯ)

Н.А. Кононова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биофизики  
СО РАН, Красноярск, Россия, [nata\\_slyusar@mail.ru](mailto:nata_slyusar@mail.ru)

Галофиты являются экологически, физиологически и биохимически специализированными растениями, способными нормально функционировать и продуцировать в условиях засоленной среды и орошения соленой водой [Ventura et al., 2013]. В эволюции галофитов приспособление растений к условиям засоления осуществлялось через соленакопление, солевыведение и соленепроницаемость. Соответственно этим приспособлениям различают три основные эколого-физиологические группы галофитов соленакапливающие (эугалофиты); солевыведяющие (криногалофиты), соленепропускающие (гликогалофиты) [Шахов, 1956].

Целью данного исследования является изучение особенностей распределения физиологических типов галофитов на почвах с различной степенью засоления в условиях прибрежной зоны оз. Куринка.

Объектом данного исследования являются растительные сообщества береговой зоны горько-соленого оз. Куринка Алтайского района Республики Хакасия (53°26'25"с.ш. 91°35'42"в.д. – 53°24'43"с.ш. 91°35'46"в.д.). Озеро располагается у подножия куэстовой гряды. Площадь его зеркала 120 га, общая минерализация высокая, изменяется по площади и глубине от 72 до 108 г/л [Кривошеев, 1991].

Исследования проводились в период с 2004 по 2015 гг. Для определения видового состава и почвенных параметров были выполнены маршрутные и стационарные наблюдения. Тестовые участки располагались на разных берегах озера. Латинские названия видов приведены по Каталогу флоры Республики Хакасия (1999). Степень засоления почвы определена с помощью кондуктометра Dist 4 (Hanna). Значения электропроводности переводились в г/л с коэффициентом пересчета 0,75.

Прибрежная зона озера имеет различный характер рельефа, в зависимости от которого изменяется зона распространения засоления. Самыми пологими являются северный и восточный берега, границы засоления находятся на расстоянии до 150 м от береговой линии.

В результате исследований определен видовой состав растений, распространенных на береговой зоне озера. Видовое разнообразие низкое, всего отмечено 57 видов высших сосудистых растений, из которых типичными растениями солончаков (галофитами) являются 20.

На участке исследования отмечены галофиты, относящиеся ко всем физиологическим типам. Наибольшее число солеустойчивых видов отмечено на северном побережье (55,6%) и в восточной части озера (23%). Практически на всем побережье озера преобладают гликогалофиты, доля которых для северного, западного и южного берега составляет 55, 72, 72%, соответственно.

На северном берегу доля эугалофитов (таблица) составляет 25%, что свидетельствует о значительной степени засоления почвы (СЗ). Типичные солянки-эугалофиты *Suaeda linifolia* Pall., *Suaeda corniculata* (С.А. Mey.) Bunge, *Salicornia europaea* L., произрастающие на северном берегу, представляют собой галосуккулентные формы, для которых повышенная концентрация солей в почве



необходима для нормального роста и плодоношения. Прибрежная зона восточного берега представляет собой песчаный плес без растительности. Далее следует узкая полоса эугалофитов *S. europaea* и пятна *S. corniculata* с участием гликогалофита *Puccinellia tenuissima* Litv. ex V. Krecz. Для южного берега характерно отсутствие эугалофитов, так как заболоченная узкая прибрежная полоса и крутой подъем не способствует формированию соляноквых группировок.

Таблица

**Распределение эколого-физиологических групп галофитов побережья оз. Куринка**

Эколого-физиологические группы галофитов	Берег (количество видов, шт (%))			
	северный	южный	западный	восточный
Эугалофиты	5 (25)	1 (14)	1 (14)	3 (50)
Криногалофиты	4 (20)	1 (14)	1 (14)	0
Гликогалофиты	11 (55)	5 (72)	5 (72)	3 (50)
Максимальная СЗ на трансекте, г/л	7,2	1,6	2,52	2,1

Криногалофиты по степени солеустойчивости занимают пограничное положение между эу- и гликогалофитами. Они способны существовать в условиях высокой СЗ, выводя излишки солей через специальные железы, расположенные на листьях. Наибольшее число криногалофитов представлено на северном берегу. К ним относится *Limonium gmelinii* (Willd.) O. Kuntze, *Triglochin ritinum* L., *Glaux maritima* L.

Гликогалофиты способны выдерживать достаточное засоление почвы, но физиологическая потребность в солях их несколько меньше, чем у эугалофитов и криногалофитов. Типичный гликогалофит *Puccinellia tenuissima* Litv. ex V. Krecz является содоминантом в некоторых растительных сообществах на северном и южном берегах и является достаточно продуктивным видом для данных условий [Слюсарь, 2010]. *Iris biglumis* Vahl. произрастает на расстоянии свыше 100 м от местообитаний с максимальной СЗ. На западном, сильно нарушенном выпасом КРС берегу, *I. biglumis* формирует довольно крупные группировки, площадью свыше 100 м<sup>2</sup>.

На участке исследования большинство галофитов приурочены к почвам со СЗ до 2%, однако на северном берегу в местах солевых вытопов концентрация солей может достигать 34 г/л. На таких пятнах единично встречается *S. europaea* с высотой не более 10 см.

Таким образом, растительность прибрежной зоны оз. Куринка имеет существенные различия видового состава, что связано с особенностями рельефа местности и расстоянием от зеркала озера. Большинство видов-галофитов относится к физиологическому типу гликогалофитов. Наибольшее число эугалофитов расположено на северном берегу, где степень засоления почвы максимальна.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-34-00402 мол\_а.*

Литература

Кривошеев А.С. Лечение и отдых на озерах Красноярского края. – Красноярск: МП "Красноярск", 1991. – 93 с.

Слюсарь (Кононова) Н.А., Печуркин Н.С., Зоркина Т.М. Особенности накопления надземной фитомассы растительности галофитных лугов в условиях разной степени засоления почв // Доклады академии наук, 2010 – Т. 432, № 1. – С. 138-141.

Шахов А.А. Солеустойчивость растений. – М.: АН СССР, 1956. – 552 с.

Ventura Y., Sagi M. Halophyte crop cultivation: The case for *Salicornia* and *Sarcocornia* // Environmental and Experimental Botany, 2013 – V. 92. – P. 144-153.

## ВЛИЯНИЕ ТЕПЛООВОГО ШОКА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ *PHB3* И *PHB4* И НАКОПЛЕНИЕ БЕЛКА *PHB3* В ЗЕЛЕННЫХ ЛИСТЬЯХ *ARABIDOPSIS THALIANA*

Н.Е. Коротаева, В.И. Бельков, В.И. Тарасенко, Г.Б. Боровский

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, [matmod@sifibr.irk.ru](mailto:matmod@sifibr.irk.ru)

Прохибитины – структурные белки мембран, которые, предположительно, имеют антистрессовые, антиапоптотические и сигнальные функции, а также участвуют во встраивании в мембраны специфических белковых комплексов [Van Aken, 2010]. Это универсальные белки клеток растений, животных и микроорганизмов, которые присутствуют во внутренних мембранах митохондрий и хлоропластов, тонопласте и плазмалемме [Van Aken, 2010]. Прохибитины классифицируют по строению их генов на два типа: безинтронный или малоинтронный I тип и полиинтронный II тип. У арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana* L. Heyhn) к I типу относятся прохибитины AtPhb3, AtPhb4 и AtPhb5. AtPhb3 и AtPhb4, помимо уже упомянутых мест размещения в клетке, локализованы, соответственно, в ядерной мембране и клеточной стенке. Экспрессия многих генов, которые значительно активируются окислительным, солевым или другими абиотическими стрессами, изменяется при мутации гена *phb3*, что говорит об его регуляторной роли при ответе на стресс [Van Aken, 2010]. Факторы, которые принимают участие в осуществлении регуляции стрессового ответа этим прохибитинном, в настоящее время интенсивно изучаются. Одним из таких факторов может быть изменение уровня экспрессии генов или содержания белка Phb3. С другой стороны, остается много неясного относительно связи прохибитинов с процессами адаптации к тепловому шоку (ТШ). По сути, единственным фактом по этому вопросу в настоящее время является активация экспрессии генов прохибитинов арабидопсиса *Atphb2*, *Atphb3*, *Atphb4*, *Atphb6* тепловым шоком, представленная в базе данных AtGenExpress Visualization Tool (<http://jsp.weigelworld.org/expviz/expviz.jsp>). Целью данной работы было более подробно описать ответную реакцию прохибитина арабидопсиса Phb3 на уровне транскриптов и белков на воздействие ТШ в зеленых листьях арабидопсиса. Для этого использовали 25-дневные растения арабидопсиса (*Col-0*), выросшие на грунте в ростовых камерах с режимом день-ночь (24 °C, 16 ч и 22 °C, 8 ч). Для выделения мРНК с последующим синтезом кДНК и количественной ПЦР с праймерами к *phb3* и *phb4* использовали зеленые листья. Из листьев также выделяли общий белок; Phb3 и стрессовые белки идентифицировали после Western Blot с помощью первичных антител против Phb3 [Snedden, 1997] или против стрессовых белков (*Agrisera*). Содержание белков нормализовали по актину.

В ходе предварительных экспериментов подбирали режим обработки тепловым шоком. Оказалось, что “жесткий” ТШ 50 °C (3 ч) оказывает на растения летальное действие, которое в полной мере проявляется через 14 сут после обработки. Предварительное закаливание температурой 45 °C (3 ч) с последующим “отдыхом” при нормальной температуре (22-24 °C) в течение 21 ч устраняет летальное действие температуры 50 °C на листья и растения в целом. Закаливания при температуре 35 °C (3 ч) с таким же временем “отдыха” достаточно для частичного устранения летального действия ТШ 50 °C (3 ч), при этом растения полностью теряют листья, однако, способны восстановиться через 14 суток после ТШ. Таким образом, в течение закаливания при 45 °C (3 ч) и 21 ч, следующих после закаливания, происходят изменения, способные предотвратить гибель листьев арабидопсиса от “жесткого” ТШ. По результатам количественной ПЦР, содержание мРНК *phb3* в листьях арабидопсиса

после ТШ претерпевало очень незначительные изменения, независимо от интенсивности температурной обработки (рис. 1). Изменение содержания мРНК *phb4* было еще слабее и не зависело от интенсивности ТШ. Через 21 ч после любой из обработок ТШ содержание мРНК этих белков снижалось по сравнению с контролем (рис. 1).

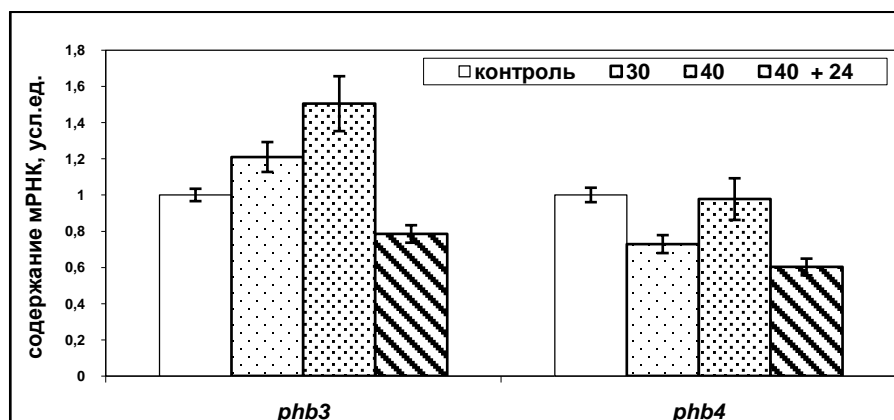


Рис. 1. Изменение содержания мРНК *phb3* и *phb4* под действием ТШ. Перед выделением мРНК часть растений была закалена при 35 или 45 °С в течение 3 ч; после 45 °С часть растений была оставлена в ростовой камере при температуре выращивания на 21 ч (40+24). Контроль – растения без обработки. Приведен результат типичного эксперимента в виде средних арифметических и стандартного отклонения. Уровень транскриптов исследуемых генов в контроле был принят за 1. В качестве референсных генов были использованы ядерные гены *YLS8* и *AP2M*.

По данным Western Blot, ни одна из закаливающих обработок значительно не повлияла на содержание белка Phb3 в листьях, хотя закаливание при 35 и 45 °С вызывало явное увеличение содержания стрессовых белков Hsp101, Hsp70 и Hsp17,7, которое соответствовало степени воздействия, что указывало на наличие в листьях стрессового ответа (рис. 2). Таким образом, на уровне транскриптов и белка показано, что содержание Phb3 в листьях арабидопсиса в условиях данного тестирования практически не изменяется под действием ТШ различной интенсивности и, вероятно, слабо связано с адаптацией к ТШ. Авторы выражают благодарность д-ру Hillel Fromm (Israel) за предоставленные первичные антитела против Phb3.

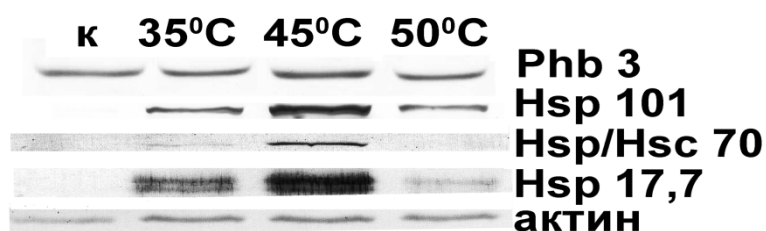


Рис. 2. Изменение содержания белка Phb3 и стрессовых белков под действием ТШ. Розетки арабидопсиса подвергали 3-часовой обработке ТШ при 35, 45 или 50 °С с последующим выделением общего белка, электрофорезом и Western Blot. Контроль – растения без температурной обработки. Белки были визуализированы с помощью вторичных антител, конъюгированных с щелочной фосфатазой (Sigma).

#### Литература

Snedden W.A., Fromm H. Characterization of the plant homologue of prohibitin, a gene associated with antiproliferative activity in mammalian cells // Plant Mol. Biol., 1997. – N 33. – P. 753-756.

Van Aken O., Whelan J., Van Breusegem F. Prohibitins: mitochondrial partners in development and stress response // Trends in Plant Science, 2010. – N 5. – P. 275-282.

## ФУНГИЦИДЫ ТРИАЗОЛЬНОЙ ПРИРОДЫ КАК ВОЗМОЖНЫЕ ЭКЗОГЕННЫЕ РЕГУЛЯТОРЫ ХОЛОДО- И МОРОЗОУСТОЙЧИВОСТИ ЗЛАКОВ

А.В. Корсукова<sup>1,2</sup>, О.И. Грабельных<sup>1,2</sup>, О.А. Боровик<sup>1</sup>, Т.П. Побежимова<sup>1</sup>, Т.Г. Горноста́й<sup>1</sup>, Н.В. Дорофеев<sup>1</sup>, Н.А. Соколова<sup>1</sup>, Л.В. Дударева<sup>1</sup>, В.К. Войников<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет», Иркутск, Россия, [avkorsukova@gmail.com](mailto:avkorsukova@gmail.com)

Низкотемпературная адаптация травянистых растений характеризуется усилением синтеза стрессовых белков, увеличением содержания сахаров, ненасыщенных жирных кислот (ЖК), ингибированием процессов дыхания и др. Данные изменения клеточного метаболизма, а также замедление ростовых процессов, происходящие в том числе вследствие увеличения содержания эндогенной абсцизовой кислоты (АБК), определяют переход растений в состояние покоя и формирование устойчивости к неблагоприятным температурам [Трунова, 2007; Титов, Таланова, 2011]. Ретарданты – производные 1,2,4-триазола, способствующие замедлению роста растений посредством нарушения синтеза гиббереллина и увеличения содержания АБК [Прусакова, Чижова, 1998; Чижова и др., 2005], используются в сельском хозяйстве в качестве системных фунгицидов – ингибиторов  $S^{14}$ -деметилирования [Попов и др., 2003]. Можно предположить, что тебуконазол (1-(4-хлорфенил)-4,4-диметил-3-(1H-1,2,4-триазол-1-илметил)-3-пентанол), как и другие производные триазола, благодаря влиянию на баланс фитогормонов будет способствовать формированию устойчивости растений к низким температурам. В связи с тем, что в настоящее время актуальным является поиск химических соединений, способствующих повышению холодо- и морозоустойчивости, а относительно участия тебуконазола в механизмах низкотемпературной адаптации растений имеется недостаточно сведений, целью работы явилось изучение влияния тебуконазола на некоторые физиолого-биохимические параметры, определяющие устойчивость этиолированных (выращенных в темноте при 24 °С) проростков мягкой яровой (сорт «Новосибирская 29») и озимой (сорт «Иркутская») пшеницы (*Triticum aestivum* L.) и озимой ржи (*Secale cereale* L., сорт «Чулпан») к низким температурам. Для обработки семян использовали тебуконазол-содержащий фунгицид (содержание тебуконазола 60 г/л) – протравитель (1,5 мкл препарата на г семян, мкл/г) «Бункер» (ЗАО Фирма «Август»), а для обработки 2-х суточных проростков – 1 мМ раствор тебуконазола (Tebusonazol PESTANAL, “Sigma-Aldrich”, Германия). В течение 7-ми суток при 2 °С проводили холодное закаливание 3-х суточных проростков. Затем проростки промораживали при –6, –7, –8, –10 °С в течение суток. Раззакаливание проростков осуществляли, повышая температуру от –8 до 4 °С в течение 4-х суток. После чего в течение суток проростки промораживали при –6 °С.

Ретардантный эффект тебуконазола в составе препарата «Бункер» проявлялся на всех исследуемых злаках. Ростингибирующее действие не сопровождалось гибелью клеток их колеоптилей.

Обработка семян пшеницы препаратом «Бункер» приводила к повышению выживаемости проростков (выживаемость озимой ржи составляла 100% независимо от варианта опыта). Выживаемость холодозакалённых проростков озимой пшеницы после промораживания при –7, –8 и –10 °С увеличилась в 1,4, 1,6 и 2,5 раза, а раззакалённых – в 1,5 раза. Выживаемость холодозакалённых проростков яровой пшеницы после

промораживания при  $-8$  и  $-10$  °C составляла 37% и 25%, а раззакалённых – 10%, тогда как контрольные растения погибали. Выживаемость холодозакалённых проростков яровой пшеницы после промораживания при  $-6$  и  $-7$  °C увеличилась в 1,7 и 2,8 раза.

Тебуконазол-содержащий препарат увеличивал содержание ненасыщенных ЖК в побегах злаков, главным образом,  $\alpha$ -линоленовой кислоты. Повышение степени ненасыщенности ЖК наблюдали в незакалённых проростках всех исследуемых злаков, выращенных из обработанных семян. После закаливания более высоким уровнем ненасыщенности ЖК характеризовались проростки озимых из обработанных семян.

У холодозакалённых проростков яровой и озимой пшеницы, выращенных из обработанных семян, наблюдалось появление дополнительных дегидринов. Наиболее значительно повышалось содержание полипептида с мол. массой 27 кДа, который присутствовал и после раззакаливания злаков. У холодозакалённых проростков озимой ржи из обработанных семян не наблюдали появление новых дегидринов, однако после раззакаливания полипептиды с мол. массами 16 и 23 кДа продолжали детектироваться.

У всех исследуемых злаков, выращенных из обработанных семян, наблюдали увеличение содержания сахаров как при нормальных температурных условиях, так и при холодовом закаливании, и более экономное расходование сахаров в процессе роста, что было наиболее выражено в проростках озимой пшеницы. При раззакаливании проростков озимых злаков, выращенных из обработанных семян, интенсивность их дыхания поддерживалась на уровне дыхания закалённых растений, что, вероятно, способствовало поддержанию содержания сахаров на высоком уровне.

Изучение окислительной и фосфорилирующей активности изолированных митохондрий озимой пшеницы показало, что в контрольных условиях тебуконазол, в отличие от препарата «Бункер», подавляющего в целом перенос электронов по дыхательной цепи, значительно снижает скорость окисления малата, действуя на комплекс I дыхательной цепи. При этом тебуконазол ингибирует цитохромный путь, в то время как тебуконазол-содержащий протравитель подавляет транспорт электронов и по цитохромному, и по альтернативному пути. У митохондрий из холодозакалённых растений тебуконазол и препарат «Бункер», главным образом при окислении малата, приводят к некоторому усилению окислительной активности, связанному с увеличением вклада альтернативного пути и функционированием альтернативной оксидазы, необходимой для адаптации растений к низким температурам.

Рассмотренные выше метаболические изменения, наблюдаемые в проростках, выращенных из семян, обработанных тебуконазол-содержащим фунгицидом «Бункер», направлены на повышение их холодо- и морозоустойчивости. Таким образом, представляется перспективным изучение возможности применения тебуконазол-содержащего протравителя семян как препарата, повышающего устойчивость злаков к низким температурам.

#### Литература

Попов С.Я., Дорожкина Л.А., Калинин В.А. Основы химической защиты растений: Учебное пособие. – М.: Арт-Лион, 2003. – 208 с.

Прусакова Л.Д., Чижова С.И. Применение производных триазола в растениеводстве // Агрехимия, 1998. – № 10. – С. 37-44.

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

Титов А.Ф., Таланова В.В. Локальное действие высоких и низких температур на растения. – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2011. – 166 с.

Чижова С.И., Павлова В.В., Прусакова Л.Д. Содержание абсцизовой кислоты и рост растений ярового ячменя под действием триазолов // Физиология растений, 2005. – Т. 52, № 1. – С. 108-114.

## ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЙ АЗОТНОГО ПИТАНИЯ НА НЕКОТОРЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КЛЕТОЧНЫХ СТЕНОК КОРНЕЙ ПШЕНИЦЫ

М.А. Кушунина, Ю.И. Николаева, Н.Р. Мейчик

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия, *mkushunina@gmail.com*

Для растений азот является макроэлементом – веществом, необходимым в больших количествах. Растения способны усваивать азот как в форме нитрата ( $\text{NO}_3^-$ ), так и в форме аммония ( $\text{NH}_4^+$ ), причем оптимальные для роста концентрации нитрата и аммония варьируют в зависимости от вида, возраста растения, pH среды и ее типа (почвенная или водная культура; [Haynes, Goh, 1978]). Количество и форма поступающего в растение азота влияют на многие физиологические параметры, в том числе, на структуру и ионообменные свойства клеточных стенок (КС), которые определяют ионный состав среды, омывающей клеточную мембрану, контролируют внеклеточный транспорт растворенных веществ, влияют на механические и осмотические явления в процессе роста клеток. В первичной КС растений выделяют три сети полимеров [Carpita, Gibeaut, 1993]: 1) целлюлоза+«гемицеллюлозы» (или сшивающие гликаны, представлены глюкуроноарабиноксиланами у злаков и ксилоглюканами у остальных семенных растений); 2) пектины (гомогалактуронаны и рамногалактуронаны); 3) структурные белки (гидроксипролин-обогащенные гликопротеины – экстенсины, пролин- и глицин-обогащенные, а также арабиногалактановые белки). Очевидно, что при изменении количества и формы поступающего в растение азота должен изменяться количественный и качественный состав белков КС, что, в свою очередь, окажет влияние на свойства КС, в частности, на способность к растяжению, набуханию и связыванию ионов. Однако информация о влиянии различных условий азотного питания на свойства КС корней растений отсутствует.

Цель настоящего исследования заключалась в выявлении изменений состава азотсодержащих структурных полимеров КС корней пшеницы *Triticum aestivum* L. при изменении азотного питания. Растения выращивали в водной культуре на питательной среде Прянишникова (3 мМ  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) или ее модифицированных вариантах: без азота, с  $\text{NH}_4^+$  (6 мМ) или  $\text{NO}_3^-$  (6 мМ) в качестве источника азота. Выделение КС проводили из корней 20-дневных растений путем последовательной обработки корней 1% NaOH (24 ч), дистиллированной водой, затем 1% HCl (24 ч) и дистиллированной водой до исчезновения хлорид-ионов в промывных водах. Элементный анализ образцов высушенных корней 20-дневных растений и изолированных из них КС проводили с использованием автоматического CNH-анализатора. Содержание первичных аминогрупп в изолированных КС проводили методом неводного титрования в уксусной кислоте. Следует отметить, что современные биохимические методы не позволяют полностью выделить структурные белки КС, имеющие разветвленные цепи, прочно связанные в единую сеть с углеводной частью матрикса [Albenne et al., 2014]. Поэтому их содержание оценивали по содержанию азота в КС учетом фактора конверсии азот-белок (6,25).

По данным элементного анализа корни растений, выращенных на среде без азота, содержали 1,6% азота, на среде с  $\text{NH}_4^+$  – 2,9%, с  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  – 3,9%, с  $\text{NO}_3^-$  – 4,1%. Содержание азота в КС корней также было минимальным в отсутствие азота (1,2%),

$\text{NH}_4^+$  и  $\text{NO}_3^-$  варианты не отличались между собой по этому показателю (1,7%), а в  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  варианте содержание азота достигало 1,9%. Доля азота в КС от общего содержания азота в биомассе была минимальна в  $\text{NO}_3^-$  варианте (18,6%), а максимальное значение этого параметра наблюдалось в  $-\text{N}$  варианте (43,4%). Во всех вариантах КС корней характеризовались высоким содержанием первичных аминокрупп: от 0,55 до 0,66 ммоль/г сухой массы КС у растений, выращенных на среде без азота и с  $\text{NH}_4^+$ , соответственно. Поэтому расчет содержания структурных белков в КС по данным элементного анализа проводили согласно существующим представлениям о том, что в их состав входит только 10% (по массе) первичных аминокрупп. Полученные значения изменялись от 3,1 ( $-\text{N}$  вариант) до 7,4% ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$  вариант) и близки к данным литературы по содержанию структурных белков в растительной КС [Carpita, Gibeaut, 1993].

Анализ полученных данных показал, что отсутствие азота в среде выращивания ожидаемо приводит к снижению содержания этого элемента как в корнях, так и в изолированной из них КС, по сравнению с другими вариантами среды. Однако в этом варианте наблюдается преимущественное включение азота в состав КС, о чем свидетельствует высокая доля азота КС от общего содержания азота в корнях (43,4%), которая на 15–25% выше, чем в других вариантах. Вместе с тем, результаты показывают, что в  $-\text{N}$  варианте азот включается не в структурные белки, а в другие компоненты КС. Исходя из высокой доли азота первичных аминокрупп от общего азота КС (63%), можно предположить, что этими компонентами являются гидроксиаминокислоты (Hyp, Tyr, Ser, Thr), связанные по гидроксильной группе с углеводной частью гликопротеинов или других компонентов КС.

У растений, выращенных на среде с  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , напротив, содержание структурных белков в КС максимально, а доля азота первичных аминокрупп – минимальна (45,6%) по сравнению с другими вариантами. Это свидетельствует о том, что при смешанном питании активизируются процессы синтеза белка, при этом подавляющая часть азота накапливается в протопласте (доля азота в КС от общего азота биомассы – 24,5%). При нитратном питании, вероятно, происходит не только включение  $\text{NO}_3^-$  в органические соединения, но и его запасание в вакуоли, поскольку в данном случае доля азота КС от общего азота корней самая низкая.

Таким образом, форма поступающего в растения азота и его наличие в среде оказывает существенное влияние на состав азотсодержащих структурных полимеров КС корней пшеницы. В дальнейшем планируется изучение изменения ионообменных свойств апопласта корней, которые непосредственно определяются составом полимеров КС.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-34-00201мол\_а (анализ компонентов КС), а также в рамках Госзадания Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова (тема № АААА-А16-116021660106-0; культивирование растений).*

#### Литература

Albenne C., Canut H., Hoffmann L., Jamet E. Plant cell wall proteins: A large body of data, but what about runaways? // *Proteomes*, 2014. – V. 2. – P. 224-242.

Carpita N.C., Gibeaut D.M. Structural models of primary cell walls in flowering plants, consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth // *Plant Journal*, 1993. – V. 3. – P. 1-30.

Haynes R., Goh K.M. Ammonium and nitrate nutrition of plants // *Biological Reviews*, 1978. – V. 53. – P. 465-510.

## ИНГИБИРОВАНИЕ ФС2 АНИОНАМИ F<sup>-</sup> СОПРОВОЖДАЕТСЯ ГЕНЕРАЦИЕЙ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> – УЧАСТНИКА H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/O<sub>2</sub><sup>-</sup> СИГНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

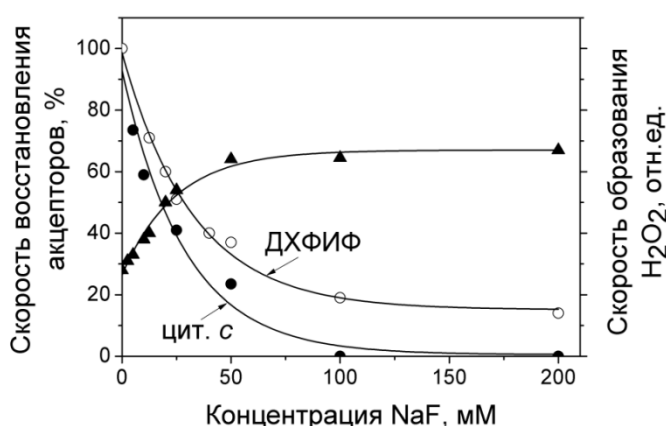
Е.Р. Ловягина, Б.К. Сёмин

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия, *Elena.Lovyagina@gmail.com*

Фотосистема 2 (ФС2) окислительных фотосинтетических организмов содержит очень сильные окислители и восстановители, индуцируемые светом, которые приводят к ее быстрому разрушению – фотоингибированию. Фотоингибирование сопровождается разрушением белков, играющих важную структурную и функциональную роль в ФС2. Одним из таких белков является белок реакционного центра D1, период обмена которого при сильном освещении укорачивается ~ в 10 раз (менее 1 часа). Этот белок играет также важную роль в функционировании КВК, поскольку связывает его каталитический кластер Mn<sub>4</sub>CaO<sub>5</sub>.

Учитывая необходимость быстрой замены белка D1 в ответ на его разрушение, можно предположить существование эффективной обратной связи между КВК и генетическим аппаратом, обеспечивающим синтез этого белка. Подобная обратная связь может осуществляться посредством небольших сигнальных молекул, на роль которых в последнее время выдвигаются молекулы активных форм кислорода (АФК), таких как перекись водорода и супероксидный анион-радикал [Креславский и др., 2012]. Для ФС2 сигнальная роль АФК представляется весьма вероятной, поскольку их генерация регистрируется при различных нарушениях функции КВК [Pospíšil, 2012].

Ранее мы установили, что в мембранных препаратах ФС2, из КВК которых экстрагированы катион кальция (ФС2(-Ca)) и внешние белки PsbQ и PsbP, но сохранены Mn-кластер и белок PsbO, наблюдается «эффект разобщения» [Semin et al., 2008]. Этот эффект заключается в том, что при полном ингибировании выделения кислорода электронный транспорт к искусственным акцепторам электронов сохраняется. Механизм эффекта: каталитический центр КВК без кальция окисляет воду не до молекулярного кислорода, а до перекиси водорода, продолжая генерировать поток электронов через ФС2 [Semin et al., 2013].



**Рис. 1.** Влияние NaF на скорости восстановления искусственных акцепторов и генерации H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> препаратами ФС2(-Ca).

Концентрация хлорофилла – 20 мкг/мл, 2,6-дихлорфенолиндофенола (ДХФИФ) – 40 мкМ, цитохрома *c* – 20 мкМ. Для определения H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> использовали 5 мМ 3-(диметиламино)бензойную кислоту, 0,1 мМ 3-метил-2-бензотиазолинон гидразони 3 ед./мл пероксидазы хрена. 100% скорости восстановления ДХФИФ и цитохрома *c* – 90 и 7 мкмоль/мг Хл.·ч.

В представленной работе мы изучили процессы, сопутствующие инактивации электрон-транспортной цепи ФС2(-Ca) ингибитором КВК – анионами фтора. Концентрацию генерируемой перекиси водорода определяли с помощью колориметрического метода, позволяющего работать с мембранными препаратами ФС2 в присутствии экзогенного акцептора электронов [Hillierand, Wydrzynski, 1993].



Генерацию  $O_2^{\bullet-}$  регистрировали с использованием цитохрома *c*, восстановление которого определяли спектрофотометрически, измеряя изменение оптической плотности в области 548 нм.

Установлено, что светозависимый электронный транспорт через ФС2(-Ca) к искусственным акцепторам сопровождается образованием  $H_2O_2$ , которое практически полностью (на 86% при использовании в качестве акцептора электронов 2,6-диметил-*p*-бензохинона) блокируется диуроном. Обработка мембранных препаратов ФС2(-Ca) возрастающими концентрациями NaF приводит не только к полному ингибированию электрон-транспортной активности при концентрации 100 мМ, но и к значительному увеличению образования перекиси водорода (рис. 1). При использовании в качестве акцептора электронов цитохрома *c* и 2,6-диметил-*p*-бензохинона генерация перекиси увеличивалась более, чем в 2 раза при концентрации ионов фтора 100 мМ.

Мы исследовали этот процесс более подробно и установили, что в присутствии анионов фтора субстратом окисления по-прежнему является вода, которая окисляется до промежуточного продукта – перекиси водорода. Необходимо отметить, что в интактных частицах ФС2 генерация  $H_2O_2$  на свету наблюдается и без анионов фтора (без нарушений КВК), однако механизм генерации перекиси в этом случае другой. Мы установили, что в аэробных условиях  $H_2O_2$  генерируется на акцепторной стороне ФС2, и её источником является молекулярный кислород в растворе. Последовательность процессов, приводящая к синтезу  $H_2O_2$ , следующая: на акцепторной стороне ФС2 при освещении молекулярный кислород восстанавливается, после чего дисмутация супероксидного анион-радикала приводит к образованию перекиси водорода. Следует отметить, что в присутствии анионов фтора синтез  $H_2O_2$  регистрируется и в анаэробных условиях, т.е. её источником является каталитический центр КВК.

Таким образом, при ингибировании КВК анионами фтора механизм окисления воды полностью переключается на производство перекиси водорода, т.е. система переключается на генерацию сигнала SOS о деструкции КВК. Учитывая тот факт, что интенсивное выделение перекиси водорода ФС2 также имеет место при инактивации функции выделения кислорода рядом других ингибирующих факторов [Semin et al., 2013; Lovyagina & Semin, 2016], можно предположить, что подобный механизм защиты ФС2 носит универсальный характер.

#### Литература

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.

Hillier W., Wydrzynski T. Increases in peroxide formation by the photosystem II oxygen evolving reactions upon removal of the extrinsic 16, 22 and 33 kDa proteins are reversed by  $CaCl_2$  addition // Photosynth. Res., 1993. – V. 38. – P. 417-423.

Lovyagina E.R., Semin B.K. Mechanism of inhibition and decoupling of oxygen evolution from electron transfer in photosystem II by fluoride, ammonia and acetate // J. Photochem. Photobiol., B: Biology, 2016. – V. 158. – P. 145-153.

Pospišil P. Molecular mechanisms of production and scavenging of reactive oxygen species by photosystem II // Biochim. Biophys. Acta, 2012. – V. 1817. – P. 218-231.

Semin B.K., Davletshina L.N., Ivanov I.I., Rubin A.B., Seibert M. Uncoupling of processes of molecular synthesis and electron transport in the  $Ca^{2+}$ -depleted PSII membranes // Photosynth. Res., 2008. – V. 98. – P. 235-249.

Semin B.K., Davletshina L.N., Timofeev K.N., Ivanov I.I., Rubin A.B., Seibert M. Production of reactive oxygen species in decoupled,  $Ca^{2+}$ -depleted PSII and their use in assigning a function to chloride on both sides of PSII // Photosynth. Res., 2013. – V. 117. – P. 385-399.

## ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ CO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O-ГАЗООБМЕН И ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ УГЛЕВОДОВ В ЛИСТЬЯХ КУКУРУЗЫ В УСЛОВИЯХ ЗАСУХИ

С.Н. Маевская, М.К. Николаева, П.Ю. Воронин

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

**Введение.** Засуха является одним из неблагоприятных факторов внешней среды, ограничивающих рост, продуктивность и выживание растений. В настоящее время частота, интенсивность и продолжительность засух увеличиваются. В связи с этим исследование ответных реакций растений на водный дефицит имеет решающее значение для выяснения механизмов адаптации и устойчивости растений к одному из наиболее распространенных неблагоприятных факторов внешней среды. Ответная реакция растений на действие стрессора включает множественные морфологические, физиологические и биохимические изменения и зависит от вида растений и стадии онтогенеза, скорости развития водного дефицита, его интенсивности и продолжительности действия [Chaves et al., 2009].

**Задачей работы** являлось изучение временной последовательности изменений ряда физиологических и биохимических показателей листа при адаптации проростков кукурузы (*Zea mays* L., сорт Лучистая) к прогрессирующей почвенной засухе. С этой целью определяли водный статус листа, содержание растворимых углеводов, крахмала, пролина, пигментов и МДА, а также интенсивность фотосинтетического CO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O-газообмена.

**Условия выращивания.** Растения выращивали на смеси песка и дерново-подзолистой почвы (2 : 1) при интенсивности света 200 мкмоль/(м<sup>2</sup> с), 16-часовом фотопериоде и температуре 25/20 °С (день/ночь). Полив опытных растений прекращали на десятый день после появления всходов. Продолжительность засухи составляла 2, 3, 5 и 6 суток. За это время влажность почвы в опыте снизилась до 12% от влагоемкости почвы (ВП). При выращивании контрольных растений влажность почвы поддерживали на уровне 60% ВП. Пробы для анализа брали из средней части растущего третьего листа.

**Результаты.** Прекращение полива опытных растений кукурузы вызвало последовательное увеличение интенсивности водного дефицита: от мягкого (2 и 3 суток) до умеренного (5 суток) и близкого к жесткому (6 суток), когда относительное содержание воды в листе снизилось по сравнению с контролем на 19.8%. Прогрессирующая почвенная засуха вызвала значительные изменения углеводного метаболизма. Через 2 суток после начала засухи содержание редуцирующих сахаров и сахарозы увеличилось, соответственно, в 1.3 и 1.5 раза, через 6 суток содержание редуцирующих сахаров выросло в 10 раз, содержание сахарозы – в 4 раза. Согласно современным представлениям, накопление гексоз при водном дефиците является одним из ранних ответов на засуху [Kameli, Lösel, 1995; Pelleschi et al., 1997; Sicher, Barnaby, 2012]. На первом этапе засухи (3 суток) содержание крахмала по сравнению с контролем снижалось на 24%, однако, в условиях более жесткой засухи повысилось на 30%. Одновременно с повышением содержания растворимых сахаров после 2, 3, 5 и 6 суток засухи содержание пролина увеличилось, соответственно, в 2, 3, 17 и 34 раза. Известно, что растворимые углеводы и пролин играют важную роль в осмотической регуляции и обезвреживании АФК [Кузнецов, Шевякова 1999; Sharma et al., 2011; Kaur, Asthir, 2015]. Кроме того, при биосинтезе пролина активно потребляется НАДФ·Н, что уменьшает перевосстановленность ЭТЦ фотосинтеза [Sharma et al., 2011]. Несмотря на

увеличение содержания растворимых углеводов и пролина, после 3 суток засухи в листьях опытных растений незначительно повысилось содержание МДА. При более продолжительной засухе (5 и 6 суток) содержание МДА увеличилось по сравнению с контролем, соответственно, на 31 и 56%. Полученные данные показывают, что в листьях накапливались АФК и активировался процесс перекисного окисления липидов. В этих условиях содержание хлорофилла и каротиноидов не снижалось, что свидетельствует об устойчивости систем синтеза пигментов у данного сорта кукурузы. На вторые сутки после прекращения полива фотосинтетический  $\text{CO}_2/\text{H}_2\text{O}$ -газообмен листьев опытных растений снизился ~ на 20%. Через 6 суток наблюдалось почти 3<sup>x</sup>-кратное синхронное снижение фотосинтеза и транспирации листьев. Постоянство эффективности использования воды на транспирацию в течение всего периода опыта демонстрирует устьичный контроль фотосинтеза [Chaves, 1991; Воронин, Федосеева, 2012].

**Выводы.** Сравнительное исследование влияния водного дефицита разной интенсивности на метаболизм углеводов и пролина показало, что у данного сорта кукурузы содержание этих соединений начинало увеличиваться уже через двое суток после прекращения полива. На всех этапах засухи накопление пролина происходило более интенсивно, чем редуцирующих сахаров и сахарозы. После 6 суток засухи содержание крахмала повысилось на 30%. Засуха в течение 3, 5 и 6 суток вызывала активацию перекисного окисления липидов, что привело к увеличению содержания МДА. Содержание пигментов в листьях опытных растений не отличалось от контроля. Интенсивность фотосинтетического  $\text{CO}_2/\text{H}_2\text{O}$  – газообмена листа в первые дни засухи изменялась незначительно. После 6 суток засухи интенсивность фотосинтеза и транспирации снизились на 70%, что было вызвано закрыванием устьиц.

#### Литература

- Кузнецов Вл.В., Шевякова Н.И. Проллин при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция // Физиология растений, 1999. – Т. 46. – С. 321-336.
- Chaves M.M. Effects of water deficit on carbon assimilation // J. Exp. Bot., 1991. – V. 42. – P. 1-16.
- Chaves M.M., Flexas J., Pinheiro C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanism from whole plant to cell // Ann. Bot., 2009. – V. 103. – P. 551-560.
- Pelleschi S., Rocher J.-P., Prioul J.-L. Effect of water restriction on carbohydrate metabolism and photosynthesis in mature maize leaves // Plant Cell Environ., 1997. – V. 20. – P. 493-503.
- Kameli A., Lösel D.H. Contribution of carbohydrates and other solutes to osmotic adjustment in wheat leaves under water stress // J. Plant Physiol., 1995. – V. 145. – P. 363-366.
- Kaur G., Asthir B. Proline: a key player in plant abiotic stress tolerance // Biol. Plant., 2015. – V. 59. – P. 609-619.
- Sicher R.C., Barnaby J.J. Impact of carbon dioxide enrichment on the responses of maize leaf transcripts and metabolites to water stress // Physiol. Plant., 2012. – V. 144. – P. 238-253.
- Sharma S., Villamor J.G., Verslues P.E. Essential role of tissue-specific proline synthesis and catabolism in growth and redox balance at low water potential // Plant Physiol., 2011. – V. 157. – P. 292-304.
- Воронин П.Ю., Федосеева Г.П. Устьичный контроль фотосинтеза у отделенных листьев древесных и травянистых растений // Физиология растений, 2012. – Т. 59. – С. 309-315.

## ДЕЙСТВИЕ ИЗЛУЧЕНИЯ ПОЛУПРОВОДНИКОВОГО ЛАЗЕРА НА РОСТ И РАЗВИТИЕ МИКРОМИЦЕТОВ – ДЕСТРУКТОРОВ ПРОМЫШЛЕННЫХ МАТЕРИАЛОВ

И.О. Макаров, Е.В. Сыромятина, В.Ф. Смирнов, И.В. Самарцев, Н.В. Дикарева

ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия, [biodeg@mail.ru](mailto:biodeg@mail.ru)

В последнее время значительное внимание уделяется изучению действия лазерных излучений на биологические объекты. Следует отметить, что достаточное количество работ посвящено исследованию животных объектов, в меньшей степени – растительных объектов, и сравнительно небольшое количество исследований касается изучения воздействия лазерного излучения на микроскопические грибы.

Известно, что лазерное излучение, так же как и обычный свет, может поглощаться, отражаться, рассеиваться, переизлучаться биологической средой [Тучин, 2010]. Любые химические или физические воздействия, меняющие активность экзометаболитов, изменяют у грибов и скорость биодegradации трансформируемых этими ферментами материалов [Shah, 2008]. Учитывая тот факт, что многие микроскопические грибы способны участвовать в деструкции как природных, так и синтетических полимеров [Lugauskas et al., 2004], а также то, что эта деструктивная деятельность имеет как негативный (повреждение различных материалов), так и позитивный (вопросы, связанные с утилизацией различных загрязнений) характер [Leja, Lewandowicz, 2010], вне всякого сомнения, высокий интерес представляет исследование действия лазерного излучения на жизнедеятельность микроскопических грибов.

Таким образом, целью наших исследования являлось изучение воздействия лазерного излучения на жизнедеятельность грибов – активных биодеструкторов различных природных и синтетических полимеров.

Объектами исследования выступали микромицеты *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Penicillium cyclopium*, полученные из Всероссийской коллекции микроорганизмов. Данные грибы способны участвовать в деструкции различных промышленных и природных материалов.

Для воздействия на микромицеты использовался многомодовый полупроводниковый InGaP/GaAs/InGaAs лазер полоскового типа, изготовленный в НИФТИ ННГУ. Режим работы лазера непрерывный, длина волны генерации 980 нм. Изучено воздействие лазера на грибы при двух показателях мощности – 0,3 Вт и 0,7 Вт, время экспозиции для каждой мощности составляло 5 и 10 минут.

Было исследовано воздействие лазерного излучения на рост биомассы и радиальную скорость роста колоний, микромицеты при этом культивировались на жидкой и твердой среде Чапека-Докса, соответственно. Биомассу измеряли в граммах, скорость роста колоний – в мм/сутки.

Воздействие лазерного излучения привело к изменениям, как радиальной скорости роста колоний, так и роста биомассы. Для *A. alternata* и *A. niger* показано ингибирование роста биомассы при слабых кратковременных (0,3 Вт, 5 мин) и сильных долговременных (0,7 Вт, 10 мин) воздействиях. Кратковременное сильное воздействие (0,7 Вт, 5 мин) у *A. alternata* привело к незначительному ингибированию роста биомассы, в то время как у *A. niger* данное воздействие вызвало активацию роста биомассы по сравнению с контрольным образцом. Слабое долговременное (0,3 Вт, 10 мин) воздействие не вызвало значительных изменений роста биомассы у *A. niger*, однако привело к значительному ингибированию его у *A. alternata*. Для *P. Cyclopium*

ингибирование роста биомассы показано только для сильного долговременного воздействия, для других воздействий показана активация роста биомассы, достигающая пика при слабом долговременном воздействии.

Воздействие лазерного излучения на радиальную скорость роста показало ингибирующий эффект для всех объектов при всех вариантах воздействия. Наибольший ингибирующий эффект достигается при слабом кратковременном воздействии. Наименьший ингибирующий эффект для *A. alternata* и *P. cyclopium* показан при сильном кратковременном воздействии, для *A. niger* – сильном долговременном.

Неоднозначность полученных результатов может быть связана с физиолого-биохимическими особенностями данных микромицет.

*Работа выполнена при поддержке стипендии Президента Российской Федерации молодым ученым и аспирантам, осуществляющим перспективные научные исследования и разработки по приоритетным направлениям модернизации российской экономики № СП-109.2016.3 и частичной поддержке Министерства образования и науки России (базовая часть государственного задания № 2014/134, проект 3423).*

#### Литература

Тучин В.В. Лазеры и волоконная оптика в биомедицинских исследованиях. – 2-е изд., испр. и доп. – М.: ФИЗМАТЛИТ, 2010. – 488 с.

Leja K., Lewandowicz G. Polymer biodegradation and biodegradable polymers – a review // Polish J. of Environ. Stud., 2010. – V. 19, N 2. – P. 255-266.

Lugauskas A., Prosychevas I., Levinskaite L., Jasklevicius B. Physical and chemical aspects of long-term biodeterioration of some polymers and composites // Environ. Toxicol., 2004. – V. 19, N 4. – P. 318-28.

Shah A.A. Biological degradation of plastics: A comprehensive review// Biotechnology Advances, 2008. – V. 26. – P. 246-265.

## ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИЙ МУТУАЛИСТИЧЕСКОГО И АНТАГОНИСТИЧЕСКОГО ТИПА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НА СОДЕРЖАНИЕ НЕГАТИВНЫХ АЛЛЕЛОПАТИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ В СОСТАВЕ КОРНЕВЫХ ЭКССУДАТОВ РАСТЕНИЙ ГОРОХА

Л.Е. Макарова, А.С. Мориц, Г.Г. Васильева

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

В составе растительных экзометаболитов выявлен большой спектр разнообразных по химической структуре фенольных соединений, влияющих на жизнедеятельность микроорганизмов и служащих нередко для них трофическим материалом [Макарова, 2012]. Участие фенольных соединений корневых экссудатов в растительно-микробных взаимодействиях наиболее успешно изучено в бобово-ризобияльном симбиозе. В экссудатах бобового растения среди многообразия представленных в них ароматических соединений, наличествуют не только стимулирующие, но и подавляющие рост и развитие микрофлоры и даже некоторых высших растений. Веществами такого негативного действия у бобовых растений являются фитоалексины изофлавоноидного происхождения. Наряду с ними в составе корневых экссудатов трех видов бобовых культур (*Pisum sativum* L., *Glycine max* L. MERR. и *Vicia faba* L. var. *major* Hartz) выявлены соединения аналогичного действия на живые организмы [Макарова и др., 2012]. Это N-фенил-2-нафтиламин и сложноэфирные соединения *o*-фталевой кислоты, которые ингибировали рост *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* [Макарова и др., 2012].

**Таблица**

**Количества дибутил-фталата, пизатина и N-фенил-2-нафтиламина, выделенные корнями проростков гороха за 1 сут экспозиции на водной среде с *R. Leguminosarum* bv *viciae* и *Ps. siringae* pv. *pisi* (в контроле среда без бактерий)**

Вариант	Пикомоль/ корень		
	дибутил- <i>o</i> -фталат	пизатин	N-фенил-2-нафтиламин
Контроль	4776,4±515,1	15812,3±1072,6	678,8±57,7
<i>R.leguminosarum</i> bv. <i>viciae</i>	3898,8±101,8	22308,9±2269,0	778,5±82,5
<i>P.siringae</i> pv. <i>pisi</i>	4248,7±261,2	21788,4±2601,5	472,0±53,8

В результате ВЭЖХ-анализа получены результаты (таблица), из которых следовало, что бактерии *R. Leguminosarum* bv *viciae* и *Pseudomonas siringae* pv. *pisi*, по-разному влияли на секрецию корнями только N-фенил-2-нафтиламина. На среде с ризобиями количество N-фенил-2-нафтиламина, выделяемое корнем 1 проростка, слабо, но возрастало, а на среде с патогеном – немного снижалось. При этом оба вида бактерий одинаково усиливали секрецию пизатина (в 1,4 раза) и практически не влияли на содержание дибутил-*o*-фталата. Учитывая общую высокую концентрацию перечисленных веществ и способность при этом ингибировать рост микроорганизмов, а также изменения этой концентрации от условий произрастания растения [Макарова, Дударева, 2013], все эти вещества вполне можно отнести к числу факторов регуляции концентрации бактерий в ризосфере растения-хозяина.

Соединения *o*-фталевой кислоты могут подавлять многие виды бактерий [Макарова и др., 2012]. Однако ряд видов бактерий, включая представителей из рода *Pseudomonas*, способны частично катаболизировать фталаты, высвобождая *o*-фталевую кислоту [Пастухова и др., 2010]. *o*-Фталевая кислота может быть продуктом деструкции фенантроновых и нафталиновых структур бактериями из рода *Pseudomonas* и, в случае, когда она является конечным продуктом деструкции этих соединений, тогда ее накопление в клетках бактерий становится для последних летальным [Krishnan et al., 2004]. В нашем эксперименте после внесения субстрата дибутил-фталата в среду с *R. leguminosarum* bv *viciae* и *P. siringae* pv. *pisi* количество его в среде снижалось в процессе экспозиции и появлялись другие виды фталатов, где бутиловые группировки замещались на октиловые, 8-метил-нониловые и т.д. При этом никаких других ароматических соединений не выявлено в инкубационной среде, куда в качестве субстрата вносили дибутил-фталат. Это, по-видимому, говорит о неспособности использованных нами видов бактерий к дальнейшей деструкции фталатов. Может статься, образование фталатов с различными нециклическими группировками, эфирно-связанными с *o*-фталевой кислотой, это один из путей снижения токсичности последней для тех же бактерий.

Путь катаболизма *N*-фенил-2-нафтиламина до образования нафталиновых фрагментов у бактерий неизвестен. Различное содержание в экссудатах корней, на которые действовали *R. leguminosarum* и *P. siringae* pv. *pisi*, потенциально может указывать на различную у них интенсивность деструкции данного вещества. Результаты исследований продуктов деградации *N*-фенил-2-нафтиламина, полученные методом ГХ-МС – анализа, показали, что оба вида бактерий, использованных нами в экспериментах, способны метаболизировать его с образованием в основном дибутилфталата и диоктилфталата. Таким образом, у бактерий *R. leguminosarum* и *P. siringae* pv. *pisi* существуют одинаковые пути метаболизации *N*-фенил-2-нафтиламина с образованием сложноэфирных соединений *o*-фталевой кислоты. Различия в количестве *N*-фенил-2-нафтиламина в составе корневых экссудатов гороха, выявленные при внесении в зону их корней *R. leguminosarum* и *P. siringae* pv. *pisi*, по-видимому, обусловлены неодинаковой активностью этих видов бактерий в катаболизации *N*-фенил-2-нафтиламина. Оба вида бактерий не способны осуществлять деструкцию *o*-фталевой кислоты, но при этом при их действии происходит этерификация этой кислоты по карбоксильным группам с образованием нескольких видов фталатов.

#### Литература

Макарова Л.Е. Физиологическое значение фенольных соединений при формировании бобово-ризобияльного симбиоза на этапе преинфекции // Вестник ХНАУ, 2012. – Вып. 2(26). – С. 25-40.

Макарова Л.Е., Дударева Л.В. Регуляция бобово-ризобияльного симбиоза при различных температурах и участии *N*-фенил-2-нафтиламина // Агрохимия, 2013. – № 9. – С. 59-64.

Макарова Л.Е., Смирнов В.И., Клыба Л.В., Петрова И.Г., Дударева Л.В. Роль аллелопатических соединений в регуляции и формировании бобово-ризобияльного симбиоза // Прикл. биохимия и микробиология, 2012. – Т. 48, № 4. – С. 394-402.

Пастухова Е.С., Егорова Д.О., Ястребова О.В., Плотникова Е.Г. Бактерии-деструкторы орто-фталевой кислоты, выделенные из отходов калийного производства // Вестник Пермского университета. Биология, 2010. – Вып. 3. – С. 24-28.

Krishnan S., Prabhu Y., Phale P.S. *o*-Phthalic acid, a dead-end product in one of the two pathways of phenanthrene degradation in *Pseudomonas* sp. Strain PP2 // Indian Journal of Biochemistry & Biophysics, 2004. – V. 41. – P. 227-232.

## ВЛИЯНИЕ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ *HYDRANGEA MACROPHYLLA*

В.И. Маляровская, О.Г. Белоус

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

Ежегодные летние засухи (до 1,5 – 2-х месяцев) наносят значительный ущерб многим видам декоративных растений Черноморского побережья Краснодарского края, к числу которых принадлежит и красивоцветущий кустарник *Hydrangea macrophylla*. В неблагоприятные по водообеспеченности периоды у *H. macrophylla* наблюдался водный дефицит, в результате которого снижалась декоративность растений, которая фенотипически проявлялась в пожелтении и опадении листьев и увядании соцветий [Маляровская, Белоус, 2009, 2010, 2012]. В связи с этим была поставлена задача, изучить ферментативную активность в листьях *Hydrangea macrophylla* в течение вегетации (2011-2013 гг.) в зависимости от влияния почвенно-климатических факторов, которые оказывают непосредственное воздействие на рост и развитие растений, влияя на функциональное состояние растений. Микроусловия изучаемых участков различались как по почвенным характеристикам (рН почвенного раствора в саду-музее «Дерево Дружбы» – 7,1, в Субтропическом ботаническом саду Кубани (СБСК) – 6,3), так и по освещенности, температуре воздуха и влажности почвы.

Оценивая активность каталазы в динамике, было отмечено, что в оптимальный период (май 2013 г.) активность каталазы у растений на участке в саду-музее «Дерево дружбы» в среднем была около 175,5 мл O<sub>2</sub>/г, а у растений, произрастающих на территории СБСК, – 236,8 мл O<sub>2</sub>/г. Причем это на 23,8 и 75,3 мл O<sub>2</sub>/г выше, чем в 2012 году, отличавшимся продолжительным периодом засухи, который длился со 2-ой декады июня по последнюю декаду августа.

По мере нарастания действия стресс-факторов (повышение температуры воздуха до 28 °С, понижение влажности почвы до 24%) практически у всех сортов гидрангеи крупнолистной, независимо от мест произрастания, отмечалось понижение ферментативной активности. Кроме того, выявлены генотипические различия: наибольшая активность каталазы за весь период исследований установлена у сортов *f. rosea*, '*Sester Teresa*', '*Altona*', '*Draps Wonder*' (контроль). Вместе с тем, в неблагоприятный период вегетации (август) наименьшей активностью фермента характеризовались сорта '*Bichon*' и '*Madam Hamard*' (99,6 и 120,3 мл O<sub>2</sub>/г, соответственно), наибольшей '*Draps Wonder*', *f. rosea* (128,4 и 133,3 мл O<sub>2</sub>/г, соответственно). Усиление ферментативной активности в период засухи свидетельствует о включении у более устойчивых сортов защитных механизмов в ответ на действие стресс-факторов.

В оптимальный период (май) активность пероксидазы у сортов была в среднем около 12 ус. ед., в то время, как в стрессовый период она повышалась в 3,2–3,5 раза (в среднем – 39,6 ус. ед.), при этом одновременно происходило понижение активности каталазы. Существует мнение, что повышение активности одного железосодержащего фермента – пероксидазы может сопровождаться ингибированием активности другого железосодержащего фермента – каталазы [Сарбаева, Воскресенская, 2008].

Для каждого фермента существует оптимальное значение рН среды, при котором он проявляет максимальную активность. В литературе имеются противоречивые данные по оптимуму рН для каталазы, по одним источникам оптимум ее активности



может наблюдаться при рН=6,5, а в более кислых и щелочных средах активность фермента уменьшается [Цегарем, Пруидзе, 1990]. Другой автор приводит данные, что оптимум рН равен 7,6 [Плешков, 1980]. Переход к большей или меньшей (по сравнению с оптимальной) концентрации водородных ионов сопровождается более или менее равномерным падением активности фермента.

Нами установлено, что в оптимальный период вегетации (май) содержание рН клеточного сока в листьях гидрангеи, произрастающей на территории сада-музея «Дерево дружбы», составляло – 4,8, а в СБСК – 4,5. При наступлении засушливого периода четко проявлялись сортовые различия, выражающиеся в том, что минимальный рН был отмечен у относительно устойчивого сорта '*Draps Wonder*' (контроль), составляя 4,3 (СБСК) – 4,8 (сад-музей «Дерево Дружбы»), а наибольший у менее устойчивого сорта '*Bichon*' – в среднем 5,05. Выявлена общая закономерность: независимо от микроучастка, в течение вегетации у всех сортов наблюдалось понижение величины рН клеточного сока на 0,2-0,3 единицы. При этом наши данные не противоречат результатам других исследователей [Гетко, 1989; Илькун, 1971, 1978].

Таким образом, различия в ферментативной активности и рН клеточного сока в листьях различных сортов гидрангеи крупнолистной одного участка, по сравнению с другим, может свидетельствовать о более ошутимом стрессе, что выражается в усиленном накоплении перекисей и соответственно, в повышенной активности ферментов. Следовательно, растения гидрангеи, приспосабливаясь к почвенно-климатическим условиям, более активно сопротивляются действию факторов внешней среды, и такой показатель, как активность окислительных ферментов листьев, четко на это реагирует.

#### Литература

Гетко Н.В. Растения в техногенной среде. Структура и функция ассимиляционного аппарата. – Минск: Наука и техника, 1989. – 208 с.

Илькун Г.М. Газоустойчивость растений. – Киев: Наукова думка, 1971. – 146 с.

Илькун Г.М. Загрязнители атмосферы и растения. – Киев: Наукова думка, 1978. – 246 с.

Маляровская В.И., Белоус О.Г. Концентрация клеточного сока в листьях гидрангеи крупнолистной (*Hydrangea macrophylla*) при разных режимах температуры и влажности // Сельскохозяйственная биология, 2009. – Вып. 3. – С. 48-51.

Маляровская В.И., Белоус О.Г. Методические рекомендации по оценке засухоустойчивости гидрангеи крупнолистной (*Hydrangea macrophylla* Ser.) // Субтропическое и декоративное садоводство. ВНИИЦиСК, Сочи, 2012. – Вып. 47. – С. 228-246.

Маляровская В.И., Белоус О.Г. О водном режиме гидрангеи крупнолистной (*Hydrangea macrophylla*) в условиях субтропиков России // Сельскохозяйственная биология, 2010. – № 5. – С. 112-117.

Плешков Б.П. Биохимия сельскохозяйственных растений. – М.: Колос, 1980. – 495 с.

Сарбаева Е.В., Воскресенская О.Л. Оценка активности железосодержащих оксидаз у декоративных растений в условиях урбанизированной среды // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия «Экология и безопасность жизнедеятельности». – М.: Изд-во РУДН, 2008. – № 4. – С. 23-27.

Цегарем М.П., Пруидзе Г.Н. Субклеточная локализация каталазы в листьях чайного растения // Субтропические культуры, 1990. – № 4. – С. 47-51.

## БИОПЛЕНКИ КАК СТРАТЕГИЯ ВЫЖИВАНИЯ МИКРОБНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ПРИ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ УСЛОВИЯХ

Ю.А. Маркова<sup>1,2</sup>, А.Л. Турская<sup>1</sup>, М.А. Живетьев<sup>1</sup>, М.Г. Соколова<sup>1</sup>, Г.А. Белоголова<sup>3</sup>, Е.В. Анганова<sup>4</sup>, А.В. Духанина<sup>4</sup>, А.В. Степанов<sup>1</sup>, Е.В. Кочерыгина<sup>2</sup>, М.С. Макиева<sup>2</sup>, И.А. Граскова<sup>1</sup>, Е.Д. Савилов<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, [juliam06@mail.ru](mailto:juliam06@mail.ru)

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Иркутский национальный исследовательский технический университет», Иркутск, Россия

<sup>3</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт геохимии им. А.П. Виноградова СО РАН, Иркутск, Россия

<sup>4</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАН, Иркутск, Россия

Биопленки это один из способов существования микроорганизмов. Во внешней среде биопленки состоят из разных видов микроорганизмов, включая бактерии, дрожжи, гифы грибов и одноклеточные водоросли. Основным признаком данной стратегии выживания является наличие внеклеточного матрикса, состоящего главным образом из полисахаридов, белков и нуклеиновых кислот. Этот слой матрикса защищает микробные клетки от высыхания, ультрафиолетового излучения, действия антибиотиков и иммунной защиты организма, если биопленки образуются в организме животных или растений.

В работе мы изучали образование биопленок при внесении в среду культивирования различных компонентов, таких как сахара, многоатомные спирты, экстракты лекарственных растений, тяжелые металлы. Также определяли влияние температуры культивирования. Основной средой культивирования был забуференный физиологический раствор (ЗФР). Исследуемые виды микроорганизмов – *Escherichia coli* штамм XL1-Blue, *Pectobacterium carotovorum* ВКМ В-1247, условно-патогенные и патогенные энтеробактерии, выделенные от людей, больных острыми кишечными инфекциями, поступивших на лечение в Иркутскую областную инфекционную больницу – *Enterobacter cloacae*, *E. aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii*, *Citrobacter freundii*, *Shigella sonnei* и *Sh. flexneri*; ризосферные микроорганизмы – *Bacillus mucilaginosus* и *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum*.

Было установлено, что культивирование в голодной среде, ЗФР, не способствует образованию биопленок, хотя при этом может наблюдаться увеличение концентрации бактерий в планктонной форме. Вероятно, это связано тем, что биосинтез компонентов матрикса сопряжен с большими энергетическими и ресурсными затратами и не может проходить в голодных условиях. Таким образом, несмотря на то, что состояние биопленки образуется в неблагоприятных условиях, этого не происходит в состоянии строгого ответа, которое включается в состоянии голода.

Следует отметить до настоящего времени нет четко установленных сведений о механизме влияния того или иного источника углерода на формирование биопленок, за исключением глюкозы. Ее недостаток в среде стимулирует их образование. И действительно, внесение глюкозы в среду культивирования стимулировало образование биопленок относительно голодных условий, в то же время скорость их разрушения также была высокой по сравнению с внесением других углеводов. Из других соединений высокой стимулирующей активностью по отношению в

фитопатогену *P. carotovorum* обладал многоатомный спирт – инозит. В литературе сведения о подобной роли данного соединения отсутствуют. Исследование его воздействия на другие микроорганизмы показали разную степень активации биопленкообразования.

Определение влияния температуры показало, что наиболее оптически плотные биопленки формируются при благоприятной температуре культивирования 30 – 37 °С.

Так как было установлено, что изучение действия различных соединений на образование биопленок нецелесообразно проводить в голодных условиях, все эксперименты по оценке действия тяжелых металлов или экстрактов растений проводились в ЗФР с добавлением 5% глюкозы. Оказалось, что средние не критические для выживания микробных клеток концентрации тяжелых металлов (Cd), мышьяка, экстрактов лекарственных растений, корневых экссудатов зараженных растений оказывают стимулирующее действие на формирование биопленок. Это свидетельствует о том, что эти факторы неблагоприятно воздействуют на микробные клетки, вероятно стимулируя переключение с планктонной формы существования на многоклеточную.

Таким образом, несмотря на то, что переход в состояние биопленки является ответом микробной популяции на неблагоприятные условия, не все стрессоры стимулируют этот процесс. Скорее всего, для образования биопленок необходимы относительно благоприятные условия, которые способствуют лучшему росту микробной популяции (температура и наличие источников углерода) и ее переходу в стационарную фазу роста. Усиление биопленкообразования может вызвать внесение в среду соединений, неблагоприятно воздействующих на микробные клетки: антибиотиков, ряда растительных метаболитов, тяжелых металлов – в этом случае концентрация стрессора не должна быть губительной для микроорганизма.

*Работа поддержана интеграционной программой «Фундаментальные исследования и прорывные технологии как основа опережающего развития Байкальского региона и его межрегиональных связей» и грантом РФФИ 15-05-03919.*

## ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ СОПРЯЖЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ЯБЛОНИ К ЗАСУХЕ И ПАРШЕ

Н.И. Ненько, Г.К. Киселева, Е.В. Ульяновская, А.В. Караваева

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства», Краснодар, Россия, *nenko.nataliya@yandex.ru*

В связи с изменениями погодно-климатических условий и участвовавшими эпифитотиями болезней в Северо-Кавказском регионе России для стабилизации плодоношения плодовых агроценозов большое значение имеет возделывание иммунных к парше сортов яблони, устойчивых к засухе.

Сравнение сортов яблони с различной устойчивостью к парше (иммунных и не иммунных) в периоды наибольшей напряженности стрессовых факторов летнего вегетационного периода по физиолого-биохимическим показателям позволило выявить адаптационные механизмы сопряженной устойчивости растений яблони к био- и абиотическим стрессорам.

Объектами исследований служили иммунные к парше сорта яблони: Рассвет, Фортуна, Союз, Дейтон, Лигол и не иммунные: Родничок, Эрли Мак, Пирос, Золотое летнее, Алые паруса.

Использованы современные высокоточные физиолого-биохимические методы исследования активности пероксидазы, содержания фенолкарбоновых, хлорогеновой, абсцизовой кислот, лигнина, с применением высокоэффективного аналитического оборудования по соответствующим методикам [Ненько и др., 2015].

Летние периоды 2013 – 2015 гг. в ОПХ «Центральное» (г. Краснодар) были жаркими. Температура воздуха в июле и августе 2013-2014 гг. достигала 35-37 °С; в 2015 г. – 38-39 °С. Количество выпавших осадков в августе по сравнению с июнем и июлем снижалось, и в августе 2014 - 2015 гг. отмечалась засуха (осадки – 0 мм при температуре воздуха 36 и 38 °С, соответственно).

Засуха приводит к адаптивным изменениям вторичного обмена веществ растений, происходит накопление ингибиторов роста фенольной природы (хлорогеновой, фенолкарбоновых кислот). Фенольным соединениям отводится большая роль в устойчивости растений против патогенов. Они участвуют в окислительном метаболизме, являются предшественниками лигнина, выполняют роль фунгицидов [Кошкин, 2010].

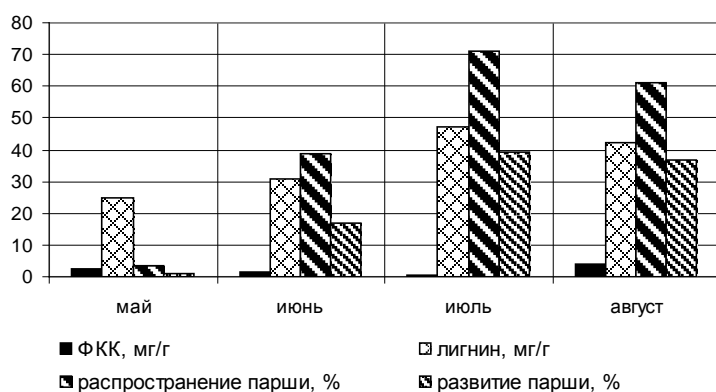
Обнаружено, что в августе 2013-2015 гг. в условиях высокотемпературного стресса у иммунных к парше сортов яблони Рассвет, Фортуна, Союз, Дейтон, Лигол содержание фенолкарбоновых кислот на 11,4 - 34,0% , хлорогеновой – на 15,0 - 42,1%, абсцизовой – на 11,4-23% выше, чем у сортов Родничок, Эрли Мак, Пирос, Золотое летнее, Алые паруса, отличающихся восприимчивостью к парше. Абсцизовая кислота повышает устойчивость растений не только к засухе, предотвращая потерю клетками воды, в т. ч. через механизм закрывания устьиц, ее протекторные свойства проявляются при патогенезе [Skriver, Mundy, 1990]. В формировании защитных реакций растений к патогенам большое значение имеет генерация активных форм кислорода, участвующих в метаболизме фенольных соединений, регуляции проницаемости мембран.

В модельном опыте изучена устойчивость сортов винограда к высокотемпературному стрессу по показателю изменения проницаемости (повреждения) клеточных мембран (КП). Установлено, что в августе 2015 г. в листовом аппарате яблони сортов Рассвет и Дейтон, КП увеличивается, что приводит к повышению проницаемости клеточных мембран и выходу катионов в цитозоль. Это,

возможно, связано с активацией репарационных процессов, а у остальных изучаемых сортов КП снижается (Родничок, Фортуна, Лигол), либо изменяется незначительно (Союз, Эрли Мак), что характеризует их адаптацию к высокотемпературному стрессу.

У сортов Фортуна, Союз, Родничок и Дейтон устойчивость мембран к повреждению преимущественно коррелировала с активностью пероксидазы, разрушающей перекисные соединения, содержанием фенолкарбоновых кислот, защищающих липиды от окисления, у Эрли Мак – с содержанием фенолкарбоновых кислот и у сортов Лигол и Прикубанское – с активностью пероксидазы.

К числу важнейших биохимических процессов, проявляющихся как при механическом повреждении растительных тканей, так и в ходе развития ответных реакций на внедрение патогенов, относится лигнизация [Кошкин, 2010]. При изучении устойчивости растений яблони к поражению паршой в летний период 2015 г. на примере сорта Лигол установлено, что развитие и распространение парши снижается при увеличении содержания в листьях хлорогеновой кислоты ( $K_{коррел.} = -1,0$ ), являющейся метаболическим предшественником лигнина, и лигнина, создающих неблагоприятные условия для фитопатогена (рисунок).



**Рисунок. Биохимическая характеристика устойчивости яблони сорта Лигол к поражению паршой на протяжении лета 2015 г.**

Ферментом, активно включаемым в процесс лигнизации, является пероксидаза. Ее активность многократно увеличивается в тканях, инфицированных

фитопатогенами. В июле 2015 г. среди изучаемых сортов самое высокое значение активности пероксидазы было у сорта Лигол.

Таким образом, выявлены адаптационные механизмы устойчивости сортов яблони к поражению паршой и засухе. Установлено, что биохимическая адаптация сортов яблони к засухе достигается за счет синтеза повышенного количества фенолкарбоновых, хлорогеновой, абсцизовой кислот, пероксидазы. Выделены наиболее значимые физиолого-биохимические показатели, обуславливающие иммунную устойчивость растений яблони к парше (содержание фенолкарбоновых кислот, лигнина).

*Поддержано грантом №16-44-230077-р\_юг\_а Российского фонда фундаментальных исследований и администрации Краснодарского края.*

#### Литература

Кошкин Е.И. Физиология устойчивости сельскохозяйственных культур: учебник. - М.: Дрофа, 2010. – 638 с.

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.

Skriver K., Mundy J. Gene expression in response to abscisic acid and osmotic stress // Plant Cell, 1990. – N 2. – P. 503-512.

## БИОХИМИЧЕСКИЙ И СТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ ГАЛОФИТОВ ПРИЭЛЬТОНЬЯ

В.Н. Нестеров, Е.С. Богданова, О.А. Розенцвет

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт экологии Волжского бассейна РАН, Тольятти, Россия, [nesvik1@mail.ru](mailto:nesvik1@mail.ru)

Исследования галофитов, жизнедеятельность которых часто проходит в экстремальных для большинства растений континентальной флоры условиях среды, необходимы для выявления механизмов адаптации видов в природных популяциях. В настоящей работе исследованы структурные и биохимические особенности дикорастущих галофитов Приэльтона. Бассейн озера Эльтон – район, относящийся к Прикаспийской низменности, отличительной особенностью которого является резкий недостаток влаги, высокие инсоляция и температура в летне-осенний период.

Отбор растительного материала и его анализ производили в июне и июле 2012–2015 гг. (Розенцвет и др., 2016). Объектами исследования были эугалофиты *Salicornia perennans*, *Halocnemum strobilaceum*, криногалофит *Limonium gmelinii*, гликогалофит *Artemisia santonica*. Растения *H. strobilaceum* и *S. perennans* произрастали на более минерализованных почвах, а *L. gmelinii* и *A. santonica* на менее минерализованных почвах (содержание солей составляло до 8 и 3 % от сух. м. почвы, соответственно).

Надземные органы *H. strobilaceum* и *S. perennans* накапливали  $\text{Na}^+$  в количестве 120–140 мг/г сух. м., имели высокую оводненность листьев (80–90%), обладали высоким числом устьиц на 1 см<sup>2</sup> листа (5667 – 8750 шт.) и числом хлоропластов (60–120 шт. на клетку). В сравнении с эугалофитами криногалофит *L. gmelinii* и гликогалофит *A. santonica* накапливали в 2-3 раза меньше  $\text{Na}^+$ , но аккумулировали в 1,2–2 раза больше углерода в надземных органах (345 – 436 мг/г сух. м.), имели меньшую оводненность листьев (70–80 %), меньшее число устьиц (3000–4500 шт. на 1 см<sup>2</sup> листа) и число хлоропластов на клетку (35–40 шт.). Однако содержание суммарных липидов (4–7 мг/г сыр. м.), зеленых пигментов (0,4 мг/г сыр. м.), мембранных белков (2 мг/г сыр. м.) в листьях *H. strobilaceum* и *S. perennans* было меньшим в 2-5 раз, чем у видов *L. gmelinii* и *A. santonica*. Кроме того, *L. gmelinii* и *A. santonica* обладали в 2-3 раза большим уровнем ПОЛ (0,055–0,081 мкмоль/г сыр. м.) в сравнении с *H. strobilaceum* и *S. perennans*.

На основе данных структурных и биохимических параметров построена ССА-диаграмма, показывающая связь данных характеристик с факторами среды, такими как уровень засоления (S) и влажность почвы (H) (рисунок). Однонаправленность векторов, характеризующих факторы внешней среды и биохимические компоненты растений, говорит о положительной корреляции, которая тем сильнее, чем ближе находятся оба типа векторов друг к другу. Противоположные направления векторов свидетельствуют об отрицательной взаимосвязи между соответствующими характеристиками, а угол в 90° – об очень низкой взаимосвязи параметров. В соответствии с этим установлено, что специфическая структура тканей и клеток *S. perennans* (1) и *H. strobilaceum* (2) положительно коррелирует с более высоким содержанием солей в почве. В тоже время *H. strobilaceum* имеет отрицательную корреляцию с влажностью почвы. Для видов *L. gmelinii* (3) и *A. santonica* (4) векторы большинства биохимических характеристик направлены в противоположную от фактора засоление сторону. Следовательно, растения, приуроченные к более минерализованной почве «расплачиваются» за адаптацию более низкими концентрационными значениями биополимеров – пигментов,

липидов и белков в сравнении с видами, занимающими менее минерализованные участки.

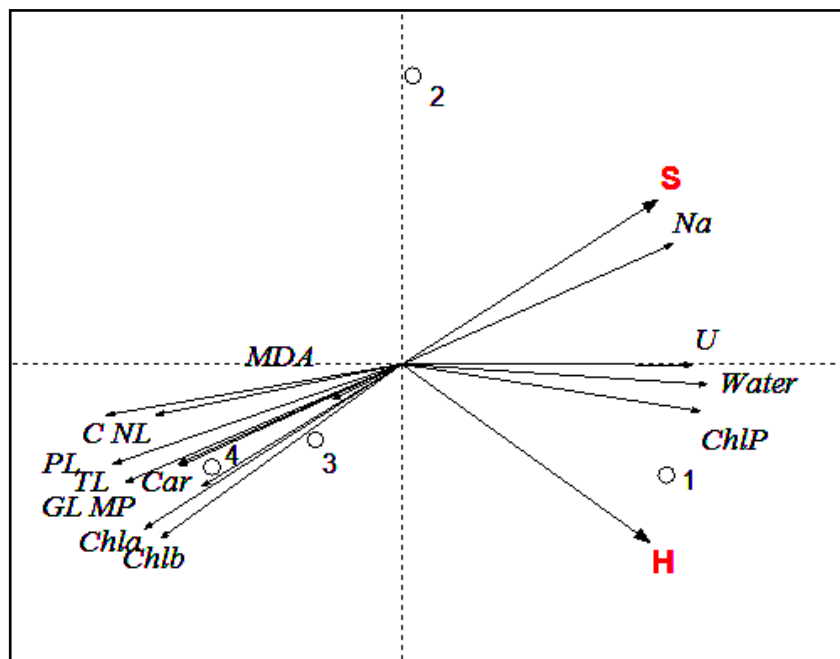


Рисунок. Ординационная ССА–диаграмма взаимосвязи факторов среды и некоторых биохимических и структурных параметров листьев галофитов.

1,2,3,4 – виды растений *S. perennans*, *H. strobilaceum*, *L. gmelinii*, *A. santonica*, соответственно. S – фактор засоление почвы; H – фактор увлажнение почвы; Na – содержание  $\text{Na}^+$  в листьях; U – число устьиц на ед. площади листа; Water – оводненность листьев; ChlP – число хлоропластов на клетку палисадной ткани мезофилла; C – содержание C в листьях. TL – содержание общих липидов в листьях; NL – содержание нейтральных липидов; PL – содержание фосфолипидов; GL – содержание гликолипидов; MP – содержание мембранных белков; Chl – содержание хлорофиллов; Car – содержание каротиноидов; MDA – уровень перекисного окисления липидов, определяемый по МДА.

#### Литература

Розенцвет О.А., Нестеров В.Н., Богданова Е.С., Табаленкова Г.Н., Захожий И.Г. Биохимическая обусловленность дифференциации галофитов по типу регуляции солевого обмена в условиях Приэльтона // Сибирский экологический журнал, 2016.– № 1. – С. 117-126.

## ЛИПИДНАЯ АДАПТАЦИЯ ТРАВЯНИСТЫХ РАСТЕНИЙ К УСЛОВИЯМ КРИОЛИТОЗОНЫ ЯКУТИИ ПРИ ГИПОТЕРМИИ

В.В. Нохсоров<sup>1</sup>, Л.В. Дударева<sup>2</sup>, В.А. Чепалов<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВПО «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова», Якутск, Россия, *nohvasyavas@mail.ru*

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, *laser@sifibr.irk.ru*

<sup>3</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, Россия, *cva74@mail.ru*

Как известно, многие злаково-осоковые избыточно-увлажненные и заболоченные аласные луга, арктофилево-пушицевые и хвощовые фитоценозы Центрально-Якутского, Яно-Индигирского флористического районов Якутии подвергаются ежегодно длительному заливанию паводковыми водами. В этих условиях вегетация растений начинается поздно, они часто не успевают пройти весь цикл роста и развития, и, уходя под снег, сохраняют значительную свою часть (до 20-50%) в зеленом замороженном состоянии, при этом происходит криоконсервация зеленой массы в виде так называемого зеленого криокорма.

С другой стороны, экстремально низкие температуры зимой и весьма высокие температуры летом, приводящие к дефициту влаги в воздухе и почве обуславливают ускоренное прохождение северными травянистыми растениями этапов онтогенеза. Здесь интересно то, что многие виды злаковых и осоковых обладают высокой возобновляемостью при преждевременном отмирании их надземной части (раннее старение, стравливание травоядными животными, действие града, ветра, хозяйственное скашивание и т.д.). Поэтому, выросшие из прикорневых почек поврежденных растений молодые побеги (отава), закаленные сентябрьскими низкими положительными температурами в естественных условиях и замороженные при наступлении отрицательных температур воздуха, уходят под снег частично с зелеными листьями.

В связи с этим с целью проведения комплексных эколого-физиологических и биохимических исследований липидной адаптации травянистых и древесно-кустарниковых растений Севера к условиям криолитозоны при гипотермии использовали районированные в Якутии сорта кормовых трав местной селекции: кострец безостый (*Bromopsis inermis* Leys) сорта Аммачаан, овес посевной (*Avena sativa* L.) сорта Нюрбинский, а также дикорастущие виды хвощей пестрого (*Equisetum variegatum* Schleich. ex Web) и камышкового (*E. scirpoides* Michx).

Для выращивания культурных злаковых растений кострец безостый высевался в оптимальные для климатического региона сроки (конец мая – начало июня), затем в фазе начала колошения (вторая декада июля) растения скашивали с целью стимулирования закладки новых вегетативных побегов. Овес посевной, наоборот, сеяли в более поздние сроки (в середине июля), значительно сдвинутые относительно общепринятых (конец мая – начало июня). Отрастающие новые побеги костреца безостого (отава) и овса посевного проходили период закаливающих среднесуточных низких положительных температур воздуха от +10 до 0 °С. В начале октября, замороженные естественным холодом растения уходили под снег в зеленом состоянии в фазе трубкования. В результате были получены данные, отражающие действие первой и второй фаз холодной адаптации на липиды, фосфолипиды (ФЛ) и жирные



кислоты (ЖК) травянистых растений, произрастающих при гипотермии (холодовом закаливании) в условиях криолитозоны Якутии.

Экстракцию липидов проводили по модифицированному методу Smolenska et al. (1977), способность растений синтезировать эти вещества оценивали по количеству экстрагированных суммарных липидов (СЛ). Количественное определение содержания фосфолипидов – по методу Vaskovsky et al. (1975), анализ полученных метиловых эфиров жирных кислот (ЖК) – методом газожидкостной хроматографии с использованием хромато-масс-спектрометра 5973/6890N MSD/DS (Agilent Technology, USA).

Как свидетельствуют результаты анализа, наблюдаются два типа динамики изменения содержания суммарных липидов в листьях овса в зависимости от срока посева. Во-первых, с увеличением возраста растений в листьях *A. sativa* летнего посева (31.05) в период 07.07 по 25.07 шло постепенное накопление ОЛ, которое менялось от 98,9 до 129,3 мг/г сух. массы. С августа по сентябрь уровень ОЛ снижался. Во-вторых, второй срок сева (15.07) способствовал более высокому содержанию ОЛ в листьях *A. sativa* (от 128,2 до 155 мг/г сух. массы). В дальнейшем количество ОЛ повышалось до конца сентября (30.09), когда средняя температура воздуха становилась отрицательной. В летнее время (06.06–18.08) у многолетнего злака *B. inermis* в вариантах без срезки надземной части отмечалось низкое содержание ОЛ (от 25,8 до 75,5 мг/г сух. массы) по сравнению с отавой. Во всех осенневегетирующих побегах костреца безостого, отрастающих после срезки растений, начиная с последней декады августа по мере закаливания *B. inermis* к низким температурам, наблюдали значительное увеличение ОЛ, содержание которых варьировало в пределах от 93,3 до 136,8 мг/г сух. массы. Что касается суммарных СЛ хвощей, то в летних побегах *E. variegatum* и *E. scirpoides* (155,8 и 241,4 мкг/г сух. массы) выявлено относительно низкое содержание этих соединений в отличие от осенних образцов (250,0, 210,0 и 239,4, 262,6 мкг/г сух. массы) соответственно.

В результате исследования индивидуального состава ФЛ овса посевного и костреца безостого и хвощовых были выявлены следующие ФЛ: фосфатидилхолин (ФХ), фосфатидилинозит (ФИ), фосфатидилэтаноламин (ФЭ), фосфатидилглицерин (ФГ), фосфатидная кислота (ФК) и дифосфатидилглицерин (ДФГ). Все обнаруженные ФЛ характеризовались индивидуальной динамикой содержания в течение исследуемого периода. Результаты анализа показали, что основными ФЛ в листьях злаковых являлись ФХ и ФЭ, причем их содержание в листьях многолетнего костреца безостого было выше, чем у овса посевного. Осенью, в период наступления низких положительных температур, количество ФХ и ФЭ увеличивалось в листьях овса на 391,1 и 82,4%, у костреца на 362,3 и 134,3%, у хвоща пестрого – 272,6 и 199,3%, у хвоща камышкового – на 113,2 и 113,1%, соответственно, по сравнению с летними показателями. Все исследованные нами злаки и хвощи Якутии, во время холодового предзимнего закаливания содержат в своих вегетативных органах суммарно значительно большее количество ЖК, чем в другие периоды вегетации.

Таким образом, содержание, как суммарных липидов, так и мембранных фосфолипидов, особенно фосфатидилхолина и фосфатидиламина в органах всех закаленных низкими положительными температурами в естественных условиях криолитозоны Якутии осенневегетирующих растений значительно возросло по сравнению с летневегетирующими.

## ПЕРОКСИДАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ У КУЛЬТУР КЛЕТОК ТРАНСГЕННОГО ТАБАКА

Ю.В. Нурминская, Е.В. Прадедова, Т.В. Копытина, Л.А. Максимова, А.Г. Еникеев

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, [julosti@yandex.ru](mailto:julosti@yandex.ru)

При изучении свойств трансгенных растений принято выбирать для исследования признаки, которые могли бы измениться вследствие экспрессии введённого целевого гена. Нередко изучают активность ферментов, ответственных за стрессовые реакции организма, например пероксидаз [Кваско, Матвеева, 2013]. Нельзя упускать из виду, что событие внедрения в геном растения некой генетической конструкции не может быть проигнорировано защитными системами организма, поэтому изменение активности многих ферментов может быть следствием именно защитных процессов. Анализ активности гваяколовой пероксидазы (КФ 1.11.1.7) у растений с разными векторными вставками позволил бы пролить свет на вопрос оправданности изучения такой активности у трансгенных растений для исследования работы целевого гена. В связи с этим целью данного исследования была оценка влияния трансформации на пероксидазную активность у нескольких семенных поколений трёх линий трансгенных клеточных культур табака.

В качестве таких линий были выбраны следующие трансформанты.

1. Клетки, трансформированные обезоруженным агробактериальным штаммом At699 (маркерные гены *nptII* и *gus*) (поколения T<sub>0</sub>-T<sub>6</sub>) [Нурминская и др., 2014].

2. Клетки, трансформированные штаммом LVA 4400 с маркерным геном *nptII* и трансгеном *hsp101* (прямая последовательность) (поколения T<sub>0</sub>-T<sub>6</sub>) [Еникеев и др., 2010].

3. Клетки, трансформированные штаммом LVA 4400 с маркерным геном *nptII* и трансгеном *hsp101* (обратная последовательность) (поколения T<sub>0</sub>-T<sub>3</sub>) [Еникеев и др., 2010].

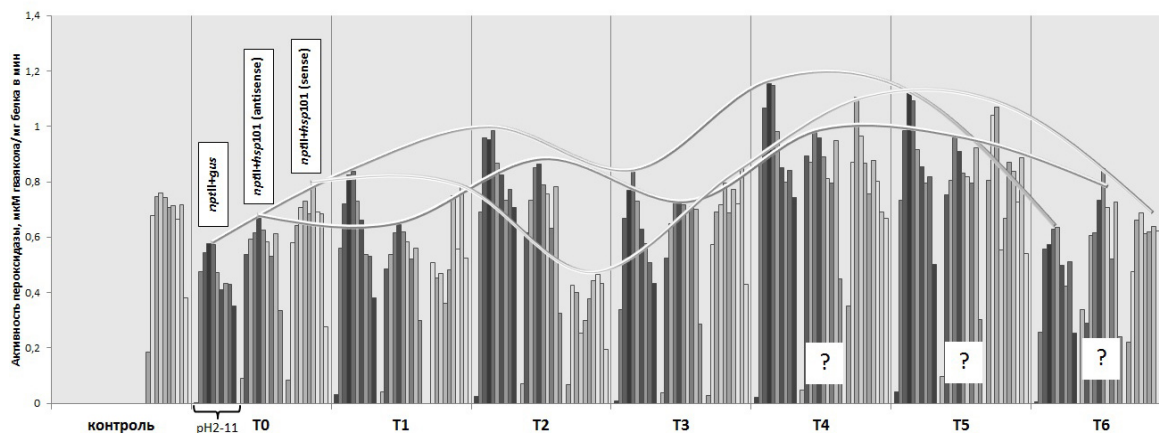
У всех изученных линий присутствие гена *nptII* было доказано ПЦР-анализом. От растений всех семенных поколений трансгенного табака были получены клеточные культуры. Активность гваяколовой пероксидазы измеряли при различных рН (от 2 до 11) цитратно-фосфатного буфера.

Выявили, что клетки табака, трансформированного генетической конструкцией без каких-либо целевых генов, демонстрировали волнообразно изменяющуюся в поколениях активность пероксидазы, причём некоторые поколения (а именно T<sub>2</sub>, T<sub>4</sub>, T<sub>5</sub>) обладали активностью, превосходящей контрольные значения. Оптимумы рН фермента у опытных и контрольных растений не различались (рисунок).

У клеток, трансформированных конструкцией с целевым геном белка теплового шока *hsp101* в смысловой последовательности, изменения активности пероксидаз также присутствовали, однако имели иной вид. Значения превышали контрольные у поколений T<sub>4</sub> и T<sub>5</sub> при рН 4 и 5. Изменение оптимумов для пероксидазной активности у растений с геном *hsp101* свидетельствовало об изменении изоферментного состава пероксидаз после трансформации.

Трансформированные клетки с антисмысловой последовательностью гена *hsp101* демонстрировали промежуточные значения пероксидазной активности, показывая высокую степень корреляции со значениями у клеток без целевого гена (*nptII+gus*). Это позволило вычислить возможные значения активности пероксидазы у поколений T<sub>0</sub>-T<sub>3</sub>, однако эти предполагаемые значения, безусловно, нуждаются в проверке. Оптимумы

pH у этих растений для пероксидазной активности были сходны с нормальными. Интересно, что при изучении устойчивости к неблагоприятным факторам клеток поколения T<sub>0</sub> трёх изученных линий (высокая температура, высокие концентрации ионов фтора, заражение патогенной бактерией) данная культура клеток также занимала промежуточное положение. Наиболее же устойчивыми были клетки с геном *hsp101* в сенсовой ориентации [Enikeev et al., 2015]. Это совпало с высокой пероксидазной активностью клеток этой линии в поколении T<sub>0</sub> (рисунок).



**Рисунок. Пероксидазная активность при различных значениях pH у трёх линий трансгенного табака. Первые столбцы: конструкция *nptII+gus*; вторые столбцы: конструкция *nptII+hsp101* (antisense); третьи столбцы: конструкция *nptII+hsp101* (sense). Столбцы под вопросом – возможная активность пероксидаз у поколений T<sub>4</sub>-T<sub>6</sub> клеток линии с *hsp101* (antisense).**

Волнообразная картина изменения активности пероксидаз у трёх линий клеток трансформированных растений наводит на мысль, что в метаболизме данных клеток происходят процессы, причина которых имеет одну природу. Наиболее вероятной причиной данного можно предположить событие трансформации. По-видимому, следует с осторожностью подходить к использованию такого параметра, как активность пероксидаз, для анализа свойств трансгенных растений, так как на уровень такой активности может влиять и само событие трансформации, и структура векторной последовательности.

#### Литература

Еникеев А.Г., Копытина Т.В., Семёнова Л.А., Шафикова Т.Н., Гаманец Л.В., Волкова О.Д., Швецов С.Г., Русалёва Т.М. Культуры клеток табака, трансформированные геном *hsp101*, обладают повышенной устойчивостью к фториду калия // Доклады Академии наук, 2010. – Т. 430, № 1. – С. 137-138.

Кваско О.Ю., Матвеева Н.А. Підвищення антиоксидантної активності та активності супероксиддисмутази у трансгенних рослинах цикорію *Cichorium intybus* L. // Биополимеры и клетка, 2013. – Т. 29, № 2. – С. 163-166.

Нурминская Ю.В., Максимова Л.А., Копытина Т.В., Еникеев А.Г. Анализ уровня стабильности развития трансгенных растений табака в пяти поколениях // Физиол. биохим. культурных растений, 2014. – Т. 46, № 2. – С. 158-164.

Enikeev A.G., Kopytina T.V., Maximova L.A., Nurminskaya Yu.V., Shafikova T.N., Rusaleva T.M., Fedoseeva I.V., Shvetsov S.G. Physiological Consequences of Genetic Transformation: Result of Target Gene Expression or Stress Reaction? // Journal of Stress Physiology & Biochemistry, 2015. – V. 11, N 2. – P. 64-72.

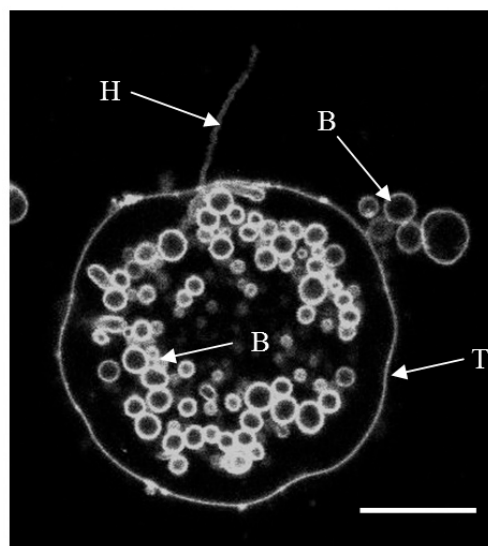
## ОСОБЕННОСТИ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ВАКУОЛИ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ ПРИ АБИОТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ

В.Н. Нурминский, И.С. Нестёркина, Н.В. Озолина

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, [cell@sifibr.irk.ru](mailto:cell@sifibr.irk.ru)

Проведено исследование особенностей строения изолированных вакуолей, а также микровязкости вакуолярных мембран клеток корнеплода столовой свеклы (*Beta vulgaris* L.). Для визуализации мембраны и ее элементов, изучения морфологической структуры мембран, а также для оценки микровязкости липидного бислоя применялась конфокальная микроскопия (конфокальный люминесцентный сканирующий лазерный микроскоп MicroTime 200 (PicoQuant GmbH, Германия). Были использованы следующие флуоресцентные зонды: лаурдан (2-(диметиламино)-6-додеканоилнафталин), АНС (8-анилино-1-нафталинсульфоновая кислота), бис-АНС, дифенилгексатриен (ДФГ) и филиппин.

При исследовании препаратов изолированных вакуолей во всех случаях отчетливо регистрировались элементы тонопласта, везикулы и объекты, которые внешне имеют вид нитей (рис. 1), являющиеся, по-видимому, трубчатыми трансвакуолярными нитями (мембранными трубчатые структурами (МТС)). Наблюдавшееся в наших исследованиях отпочковывание везикул от мембраны изолированной вакуоли происходило, скорее всего, по типу эндоцитоза или экзоцитоза. Гипер- или гипоосмотические условия вызывали увеличение количества везикул, при этом наблюдался распад вакуолей на большое количество мелких везикул. Нарушение целостности мембраны не всегда приводило к распаду вакуоли. При возникновении локального дефекта мембраны вакуоль теряла внутреннее содержимое, т.е. часть мембранных трубок могла выходить наружу, а затем место дефекта «залечивалось», и целостность вакуолярной мембраны восстанавливалась.



**Рис. 1.** Изображение изолированной вакуоли, меченной флуоресцентным зондом лаурдан. Оптический срез на расстоянии 5 мкм от поверхности подложки. *В* – везикулы, *Т* – тонопласт, *Н* – «трансвакуолярные нити». Об. 60×, масштабный отрезок – 10 мкм.

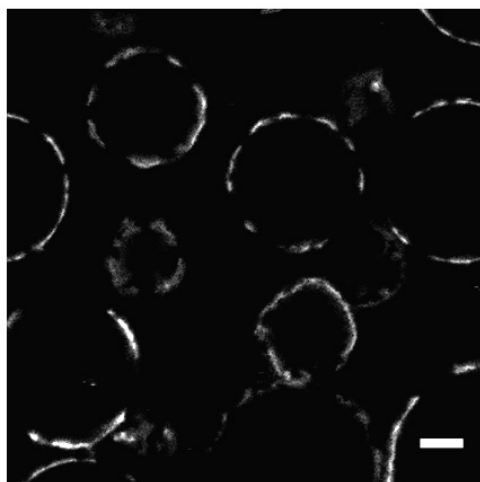
В нашем исследовании было обнаружено, что длина МТС варьирует в широких пределах и может достигать более 300 мкм, что в несколько раз превышает средний диаметр вакуоли, 60 мкм. Посредством метода цейтраферного сканирования было установлено, что везикулы, связанные с МТС, могут перемещаться в пространстве относительно закрепленных к подложке изолированных вакуолей. Это перемещение может быть объяснено либо движением везикул по МТС, либо смещением целиком

МТС с закрепленными к ней везикулами. В последнем случае, возможно, происходит изменение длины МТС.

Логично предположить, что обнаруженные нами такие элементы мембранной структуры, как везикулы и МТС участвуют в реализации некоторых функций клетки (например, транспортной функции). Можно предположить, что обнаруженные нами трубчатые структуры имеют липид-белковую природу, поскольку они хорошо окрашиваются используемыми нами мембранными зондами, и обладают такой же микровязкостью, как и сама вакуолярная мембрана (микровязкость оценивалась по значениям генерализованной поляризации (GP) флуоресценции лаурдана). Кроме того, мы предполагаем, что обнаруженные нами структуры вакуолярной мембраны определенным образом связаны с элементами цитоскелета.

Примечательно, что, мембрана изолированной вакуоли окрашивается неоднородно, судя по интенсивности флуоресценции мембранных зондов лаурдан, АНС, бис-АНС,ДФГ и филиппин. Особенно это заметно при сканировании верхней (по отношению к подложке) поверхности вакуоли, при этом значительная площадь мембраны оказывается в фокальной плоскости микроскопа. На снимках были отчетливо видны ярко флуоресцирующие участки и треки внутри вакуолярной мембраны. Они характеризуются повышенной интенсивностью флуоресценции, которая примерно в 10 раз выше интенсивности флуоресценции рядом расположенных участков мембраны. Зная, что зонд АНС и бис-АНС имеет большее сродство к белкам, можно предположить, что эти треки могут оказаться участками повышенного содержания белковых структур мембраны, попавшие в зону сканирования микроскопа. Установлено, что такие участки обладают высокой подвижностью.

Применение стерин-связывающего мембранного зонда филиппина позволило выявить на мембране изолированных вакуолей крупные домены (области) двух типов: стерин-содержащие и безстериновые (рис. 2). Кроме того, регистрировались мелкие стерин-обогащенные участки.



**Рис. 2.** Изолированные вакуоли, меченные флуоресцентным зондом филиппин (5 мкМ), конфокальный срез в центральной области вакуолей. Об. 60х, масштабные отрезки – 10 мкм.

Проведенные исследования позволяют сделать вывод, что вакуоль растительной клетки имеет сложную морфологию, которая подвергается существенным изменениям при стрессовых воздействиях.

*В работе использовалось оборудование Байкальского аналитического центра (ЦКП) ИИЦ СО РАН.*

## РОЛЬ МИТОХОНДРИЙ В РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ СТРЕССОВЫХ ГЕНОВ ПРИ БИОТИЧЕСКОМ И ТЕПЛОВОМ ВОЗДЕЙСТВИЯХ

А.И. Перфильева, Е.Г. Рихванов

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

В ответ на стрессовое воздействие у растений повышается содержание стрессовых белков, которые защищают их от гибели. При тепловом воздействии активируется экспрессия генов белков теплового шока (БТШ), а при биотическом воздействии экспрессия генов PR (pathogenesis resistant) белков [Lee et al., 2012; Qu et al., 2013]. Активацию экспрессии БТШ и PR белков регулируют одни и те же сигнальные молекулы: активные формы кислорода (АФК), ионы кальция, оксид азота и салициловая кислота. Содержание этих сигнальных молекул возрастает при тепловом и биотическом воздействиях. Данные факты позволяют предполагать, что регуляция экспрессии генов БТШ и PR белков имеет один или несколько общих знаменателей.

Митохондрия представляет собой центр пересечения практически всех сигнальных систем клетки. В митохондриях образуется АФК и оксид азота [Blokina, Fagerstedt, 2010]. Митохондрии модулируют уровень внутриклеточного кальция [Carraretto et al., 2016]. В свою очередь оксид азота, салициловая кислота и  $Ca^{2+}$  влияют на активность митохондрий. Вполне вероятно, что митохондрии растительной клетки, либо, являясь источником сигнальных молекул, либо их приемником играют важную роль в регуляции экспрессии стрессовых генов при тепловом и биотическом воздействиях.

Процесс регуляции митохондриями экспрессии ядерных генов называется митохондриальная ретроградная регуляция [Leister, 2012]. Примером ретроградной регуляции у растений является активация экспрессии генов альтернативной оксидазы (АОХ) [Vanlerberghe et al., 2009]. АОХ является дополнительной митохондриальной оксидазой, которая катализирует окисление убихинона и восстановления кислорода до воды, минуя комплексы III и IV дыхательной цепи. Экспрессия генов АОХ активируется при нарушении функционирования митохондрий, а также при биотическом и температурном воздействии. Принимая во внимание, что гены БТШ и PR-белков активируется сигнальными молекулами, которые либо образуются в митохондриях, либо могут влиять на активность этих органелл, можно предполагать, что митохондриальная ретроградная регуляция не ограничена регуляцией экспрессии АОХ, а затрагивает многие, если не все, стрессовые гены. Митохондрия, таким образом, представляет собой не столько энергетическую станцию клетки, сколько командный пункт битвы растительной клетки за выживание.

Каким же образом митохондрии могут осуществлять ретроградную регуляцию? Одной из функций АОХ является предотвращение перевосстановления митохондриальной дыхательной цепи. АОХ активируется при биотическом и температурном стрессе, следовательно, перевосстановление дыхательной цепи наблюдается в обоих случаях. Перевосстановление может наблюдаться либо при недостатке АДФ и повышении соотношения НАДН/НАД<sup>+</sup>, либо в результате нарушения функционирования отдельных компонентов дыхательной цепи. Поскольку на ранних этапах теплового и биотического воздействия, как правило, повышается дыхание, вероятной причиной перевосстановления является недостаток АДФ и/или повышение соотношения НАДН/НАД<sup>+</sup>. В этом случае следует ожидать повышения митохондриального потенциала (МП). Соответственно, активация АОХ или повышение

экспрессии, кодирующих его генов, будет снижать МП. Показано, что повышение МП может происходить при тепловом и биотическом воздействиях. От значения МП зависит транспорт кальция в митохондрии и митохондриальная продукция АФК. В свою очередь, салициловая кислота и оксид азота снижают МП. Таким образом, все сигнальные системы, способные активировать экспрессию генов БТШ и PR-белков, либо зависят от МП, либо могут его модулировать. Следовательно, значение МП может являться тем самым общим знаменателем активации экспрессии генов БТШ и PR-белков. От повышения МП или его снижения будет зависеть активация или подавление экспрессии тех или иных генов.

Возникает вопрос, если МП определяет экспрессию как БТШ, так и PR белков, то почему при тепловом воздействии экспрессируются БТШ, а при биотическом PR белки? Напрашивается ответ, что специфичность достигается в результате строго определенной для каждого стрессового воздействия пространственной и временной динамики изменения МП. В этой связи представляет интерес вопрос, как комбинированный эффект теплового и биотического воздействий, скажется на экспрессии стрессовых белков, таких как, БТШ и PR-белки. Данная проблема имеет важное практическое значение, неизвестно, как происходящее в настоящее время глобальное потепление, скажется на распространении патогенных микроорганизмов в растениях. Не исключено, что потепление приведет к нарушению экспрессии генов PR-белков, что скажется на восприимчивости растений к патогенам.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ мол\_а № 16-34-00806.*

#### Литература

Blokhina O., Fagerstedt K.V. Reactive oxygen species and nitric oxide in plant mitochondria: origin and redundant regulatory systems // *Physiol. Plant.*, 2010. – V. 138. – P. 447-462.

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. – P. 203-207.

Carraretto L., Checchetto V., De Bortoli S., Formentin E., Costa A., Szabò I., Teardo E. Calcium flux across plant mitochondrial membranes: possible molecular players // *Front. Plant. Sci.*, 2016. – V. 7. – P. 354.

Lee J.H., Yun H.S., Kwon C. Molecular communications between plant heat shock responses and disease resistance // *Mol. Cells*, 2012. – V. 34. – P. 109-116.

Leister D. Retrograde signaling in plants: from simple to complex scenarios // *Front. Plant. Sci.*, 2012. – V. 3. – P. 135.

Vanlerberghe G.C, Cvetkovska M., Wang J. Is the maintenance of homeostatic mitochondrial signaling during stress a physiological role for alternative oxidase? // *Physiol. Plant.*, 2009. – V. 137. – P. 392-406.

## ЛИПИДЫ ЗЕЛЕННОГО КРИОКОРМА И АДАПТАЦИЯ ЖИВОТНЫХ К ХОЛОДУ

К.А. Петров, А.А. Перк, В.А. Чепалов

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, Россия, *kap\_75@bk.ru*

Высшие растения в ходе онтогенеза накапливают разнообразные питательные вещества – белки, углеводы (глюкозу, фруктозу, сахарозу, крахмал и др.), липиды (жирные масла). Жирные масла растений – важнейший пищевой продукт в рационе травоядных животных, в том числе якутской лошади, обеспечивающий значительную часть энергетических потребностей их организмов и служащий источником незаменимых жирных кислот (ЖК). Основой практически всех жирных масел являются триацилглицерины (ТАГ) – сложные эфиры трехатомного спирта глицерина, все ОН-группы которого этерифицированы остатками ЖК.

Теория поэтапного повышения криорезистентности растительного организма И.И. Туманова (1940, 1979) лежит в основе существования огромной группы многолетних травянистых растений, произрастающих, главным образом, в умеренных и северных климатических зонах Земли. В средних широтах температуры воздуха часто опускаются до минус 20-40 °С. Севернее этих широт лежит зона многолетней мерзлоты, где температура воздуха еще ниже. Длительное изучение особенностей роста, развития и питательной ценности травянистых растений криолитозоны, проведенной многими поколениями исследователей, позволило нам сделать следующие выводы:

Во-первых, злаково-осоковые избыточно-увлажненные и заболоченные аласные луга, арктофилево-пушицевые и хвощовые фитоценозы Центрально-Якутского, Яно-Индибирского флористического районов Якутии, подвергаются ежегодно длительному заливанию паводковыми водами. В этих условиях вегетация растений начинается поздно, они часто не успевают пройти весь цикл роста и развития, и, уходя под снег, сохраняют значительную свою часть (до 20-50%) в зеленом замороженном состоянии, при этом происходит криоконсервация зеленой массы в виде так называемого нажировочного корма. По данному показателю особо выделяются три вида хвощовых. Например, у хвощей речного (*Equisetum fluviatile* L.) на долю зеленой части приходится около 20%, пестрого и камышкового (*E. variegatum* Schleich. ex Web и *E. scirpoides* Michx.) – 100%. Зимнезеленые части отмеченных выше растений всегда сохраняют на зиму повышенное содержание питательных веществ. Также к нажировочным растениям относятся некоторые злаки, гидрофитные осоки и большинство пушиц.

Во-вторых, злаковые и осоковые растения, произрастающие на аласных лугах Центральной и Северо-Восточной Якутии обладают высокой возобновляемостью при нанесении им тех или иных механических повреждений (стравливание травоядными животными, хозяйственное скашивание, действие града, ветра и т.д.). Поэтому новые побеги, вырастающие из прикорневых почек поврежденных растений, также не успевают пройти цикл развития и при наступлении отрицательных температур воздуха замороженные естественным холодом растения уходят под снег частично с зелеными листьями.

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 расходе углеводов на дыхание. По средним многолетним данным, в Центральной Якутии период с температурами, подходящими для прохождения первой фазы закаливания (дневные температуры до 10–15 °С, ночные – до минус 1–2 °С), приходится на II–V пентады сентября. Именно в этот период у растений наблюдается накопление липидов, фосфолипидов (ФЛ) и их ЖК, основных энергетических материалов растений, используемых ими в процессе дыхания.

Результаты наших исследований показали, что в процессе холодового закаливания травянистых растений (*Avena sativa*, *Bromopsis inermis*, *E. variegatum* и *E. scirpoides*) к низким положительным температурам в естественных условиях Центральной и Северо-Восточной Якутии содержание жирных масел, входящих в состав клеток, значительно увеличивается. В связи с этим в данном сообщении обсуждается общая концепция механизмов устойчивости растений и животных к длительной гипотермии в условиях криолитозоны Якутии. Предполагается, что в регуляции биоэнергетики травоядных животных особое значение имеет биохимическая ценность их кормовой базы, которую создают осенне-вегетирующие и зимнезеленые растения, уходящие под снег в зеленом состоянии (зеленый криокорм). Подвергаясь закаливанию осенью, цельные растения, а также их отава, накапливают максимальное количество энергоемких и биологически активных веществ, включая такие важные, как ФЛ и их ЖК.

Таким образом, формируются ценные по биохимическому составу корма, консервируемые естественным холодом и способствующие перезимовке северных видов животных. Содержание в них значительного количества полиненасыщенных жирных кислот липидов, играющих ключевую роль в качестве нажировочного и антиоксидантного факторов, позволяют формировать уникальный состав запасных жиров как у не впадающих в спячку, так и у зимне-спящих животных. По-видимому, особая роль липидов в регуляции адаптации организмов к холоду связана с их влиянием на термогенез при длительном низкотемпературном стрессе. Свободные жирные кислоты становятся не только основным субстратом окисления в митохондриях, но и важнейшим регулятором-разобшителем дыхания и окислительного фосфорилирования, упрощающим превращение энергии дыхательных субстратов в тепло.

Осеннее накопление и зимнее расхождение фосфолипидов у не впадающих в спячку и зимне-спящих организмов – это лишь следствие особенности их метаболизма, определяемого изменением уровня жировых запасов. Исходя из многочисленных данных о значительном влиянии сдвигов состава, как фосфолипидов в целом, так и их отдельных жирных кислот, на свойства липопротеиновых мембран клеток организмов, следует полагать, что этим путем, во многом, регулируется адаптация организмов к холоду.

## АЗОТНЫЙ ОБМЕН В МОЛОДЫХ РАСТЕНИЯХ ТЫКВЫ, ПОДВЕРГНУТЫХ ОДИНОЧНОМУ И КОМПЛЕКСНОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ НИКЕЛЯ И ЗАСОЛЕНИЯ

И.Т. Пириев, А.Дж. Самедова, Х.Л. Салаева, Т.С. Ширвани

Институт ботаники Национальной Академии наук Азербайджана, Баку, Азербайджан, *shirvani\_ts@hotmail.com*

Для понимания механизмов адаптации растений к экстремальным условиям среды и определения адаптационных возможностей организма значительный интерес представляет исследование изменений их физиолого-биохимических процессов в период адаптации к конкретному стрессовому воздействию. Использование азота в растениях, накопление и распределение между органами различных азотсодержащих соединений являются необходимыми процессами роста, развития и жизнеспособности организма в оптимальных и стрессовых условиях. Изучение количественных изменений ключевых параметров азотного обмена – различных форм азота – у растений, подвергнутых токсическому воздействию тяжелых металлов и засоления, важно для понимания их роли в формировании адаптивного потенциала и устойчивости растений к этим экологическим стрессовым факторам. В настоящее время оба фактора приобретают особую актуальность во всем мире, в том числе и в Азербайджане, в связи с усилением антропогенной нагрузки на природную среду. В представленной работе дан анализ специфики ответных реакций растений тыквы на длительное воздействие никеля в условиях хлоридного засоления на примере изменения содержания общего, белкового и небелкового азота в их надземных и подземных органах.

Проводились еженедельные исследования токсичности Ni (50 мкМ), добавленного отдельно и совместно с NaCl (100 мМ) в питательный раствор Кнопа (0,5 N, pH 6,0), на растения *Cucurbita pepo* L., выращенные в течение 21 дня. Различные формы азота в органах растений определяли по Лясковскому [1963].

Анализ полученных нами данных показал, что избыток Ni в среде выращивания вызывал адаптивную перестройку основных показателей азотного метаболизма в растениях *Cucurbita pepo* по мере продолжительности его воздействия. Особый интерес для нас представляют данные по динамике распределения белкового азота (рис. А), являющегося важным показателем активности биосинтетических процессов и критерием устойчивости растительного организма [Сергейчик, Сергейчик, 2002]. Как видно из рисунка, в вариантах с использованием одиночных токсикантов (NaCl, Ni) в стебле наблюдалось их ингибирующее воздействие на содержание белкового азота в большей степени, чем в корне, составляя в первом сроке опыта 69% (стебель) и 75% (корень) от контроля и в том, и в другом варианте. В последующие сроки (14 дн.) его содержание в обоих органах снижается под влиянием одного никеля: на 15% в стеблях и на 14% в корнях. В третьем же сроке опыта, когда 21-дневные растения начинают адаптироваться к новым условиям за счет мобилизации защитно-приспособительных механизмов, в том числе и активации синтеза новых белковых соединений, необходимых растению для метаболизации токсикантов, содержание белкового азота резко возрастает и в побегах (на 40% по сравнению с 14-дн. растениями) и особенно в корнях (на 50%) в варианте только с Ni. При совместном действии NaCl и Ni содержание белкового азота в корнях 21-дн. растений повышается на 67% относительно 14-дн. растений и становится на уровне контрольных образцов, а в стеблях – на 44% и составляет 82% от контроля.

Наиболее убедительным свидетельством биосинтетической активности растений является показатель отношения белкового азота к небелковому. В наших экспериментах корни 21-дн. растений превосходили по этому показателю стебли во всех вариантах опыта и корни контрольных растений, и особенно в варианте совместного использования хлорида натрия и никеля (рис. Б).

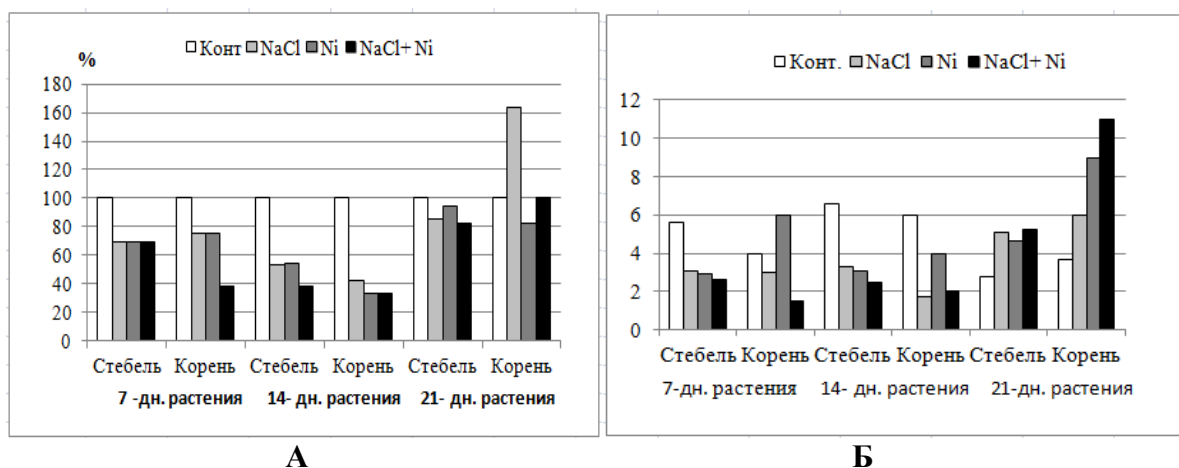


Рис. Динамика распределения белкового азота (в расчете на 1 растение в % от контроля) (А) и отношения белкового азота к небелковому (Б) в органах растений тыквы, подвергнутых воздействию NaCl и Ni в зависимости от длительности опыта.

Более усиленный вклад корневой системы относительно стебля растения, находящегося под стрессом, в обеспечение организма белковыми азотистыми соединениями свидетельствует об устойчивости растений к конкретному стрессу [Сергейчик, Сергейчик, 2002; Абдрашева, 2013], в нашем случае к Ni и Ni+NaCl. Полученные данные в целом говорят о высоком адаптационном потенциале *Cucurbita pepo* к токсичности никеля и о протекторном эффекте среднего засоления при адаптации растений тыквы к его избытку, что, в свою очередь, свидетельствует о наличии кросс-адаптации в организме при совместном действии солей натрия и никеля, что было показано и для других видов растений [Стеценко, 2014].

#### 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, ч. 2. – С. 233-235.

Лясковский Г.М. К вопросу определения азотистых веществ в растении колориметрическим методом // Научные труды Харьковского сельхоз. института. – Киев, 1963. – Т. 42. – С. 104-114.

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.

Стеценко Л.А. Влияние никеля на содержание атропина в растениях *Atropa belladonna* L. при умеренном засолении // Матер. XI Межд. науч.-метод. конф. «Интродукция, сохранение и использование биологического разнообразия культурных растений». – Махачкала, 2014, ч. 2. – С. 63-66.

## ВАКУОЛЯРНЫЕ СИСТЕМЫ ЗАЩИТЫ ОТ ЭКЗО- И ЭНДОГЕННЫХ ТОКСИЧНЫХ СОЕДИНЕНИЙ У КЛЕТОК КОРНЕПЛОДОВ СТОЛОВОЙ СВЕКЛЫ

Е.В. Прадедова<sup>1</sup>, О.Д. Нимаева<sup>1</sup>, А.Б. Карпова<sup>2</sup>, Р.К. Саляев<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, [praded@sifibr.irk.ru](mailto:praded@sifibr.irk.ru)

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет», Иркутск, Россия

Устойчивость растения к действию стрессовых факторов во многом зависит от эффективности внутриклеточного обезвреживания токсичных метаболитов, образующихся при реализации защитных ответных реакций. Как правило, общей ответной реакцией на действие любого фактора является усиление окислительных процессов, которые зачастую приводят к несанкционированному окислению эндогенных соединений. Спонтанно окисляемые соединения могут проявлять «нежелательную» для клеточного метаболизма активность. К таким соединениям относятся, например, альдегиды [Коржов и др., 2007].

Чужеродные соединения (ксенобиотики), как и другие стрессовые факторы, способны активизировать окислительные процессы. При этом клетки испытывают двойную нагрузку токсического действия со стороны ксенобиотиков и реакционных метаболитов, образованных в ходе несанкционированного окисления [Romero-Puertas et al., 2004].

В растении функционируют разнообразные механизмы многоуровневой системы детоксикации, деятельность которых связана с обезвреживанием ксенобиотиков и удалением метаболитических ядов [Colemann et al., 1997]. Располагаясь в разных клеточных структурах, они подвергают вредоносные соединения поэтапной химической трансформации. В зависимости от места локализации, системы детоксикации составлены из определенных функциональных элементов, в связи с этим они отличаются специализацией и эффективностью. Центральная вакуоль тоже содержит собственную детоксикационную систему. Несмотря на убеждение в том, что центральная вакуоль играет ключевую роль в защите клетки от разнообразных факторов, в действительности ее защитные механизмы, в том числе детоксикационные, во многом не известны [Ferrerres et al., 2011].

Цель настоящей работы направлена на изучение вакуолярных систем, причастных к обезвреживанию ксенобиотических и эндогенных ядов. В качестве ксенобиотических ядов рассматривали гербициды, а эндогенных вредоносных метаболитов – альдегиды. Первоочередные задачи состояли в следующем: 1) установить причастность вакуолярной системы глутатиона к детоксикации ксенобиотических соединений; 2) определить способность ксенобиотиков усиливать окислительные процессы в вакуолярном содержимом; 3) выявить в вакуолях системы, причастные к детоксикации альдегидов. Объектом исследования служили изолированные вакуоли клеток корнеплодов столовой свеклы (*Beta vulgaris* L.).

Глутатион-S-трансферазы (GST, КФ 2.5.1.18), относимые к глутатионовой системе, являются неотъемлемым элементом детоксикационных процессов. Результаты исследования вакуолярных GST показали, что они способны взаимодействовать с гербицидами (глифосатом, фтородифеном и клопиралидом). Вакуоли содержат глутатион, необходимый для реакций глутатионирования ксенобиотиков глутатионтрансферазами. Его концентрация в среднем составляла 300 мкМ/мг белка.

Гербициды в вакуолярном содержимом способны повышать окислительные процессы. Накопление активных форм кислорода (АФК) в вакуолярных экстрактах происходило с диуроном и 2,4-Д. Оба гербицида способствовали образованию  $O_2^{\cdot-}$  и  $H_2O_2$ . Подавление АФК-генерации ингибиторами металлопротеинов (азидом натрия, цианидом калия и т.п.), позволило предположить взаимодействие с гербицидами вакуолярных оксидоредуктаз.

По всей видимости, GST вакуолей обезвреживают не только ксенобиотики, но и эндогенные яды, например, такие как альдегиды. Установлено взаимодействие вакуолярных GST с этакриновой кислотой (производное фенилуксусной кислоты), которая структурно подобна альдегидам, генерируемым в растительной клетке при окислительном стрессе.

В результате поиска других ферментативных систем, способных взаимодействовать с альдегидами, в вакуолях была выявлена активность алкогольдегидрогеназы (АДГ, КФ 1.1.1.1, 1.1.1.2). Прежде этот фермент считался исключительно цитозольным, несмотря на то, что некоторые факты говорили о возможном его присутствии в вакуолях [Sarry et al., 2007]. Следует отметить, что активность других маркерных ферментов цитозоля, таких как НАД- и НАДН-зависимая малатдегидрогеназа и глюкозо-6-фосфат дегидрогеназа, в вакуолях клеток корнеплодов столовой свеклы не обнаружена. Выявляемая в вакуолях АДГ быстро утрачивала активность в ходе продолжительных процедур экстракции и диализа вакуолярных экстрактов, была чрезвычайно чувствительна к аминокислотам, 2-меркаптоэтанолю и др. В вакуолях АДГ представлена двумя изоформами. Ее активность с ацетоальдегидом оказалась довольно высокой при низких значениях pH. Для нормального функционирования АДГ необходим НАДН, его присутствие в вакуолях также установлено.

Полученные результаты убеждают в том, что вакуолярные системы детоксикации клеток корнеплодов столовой свеклы довольно разнообразны. Обладая такими системами, вакуоли должны вносить ощутимый вклад в защиту клеток от повреждающего действия эндо- и экзогенных ядов.

#### Литература

Коржов В.И., Жадан В.Н., Коржов М.В. Роль системы глутатиона в процессах детоксикации и антиоксидантной защиты // Журн. АМН Украины, 2007. – Т. 13. – С. 3-19.

Coleman J.O.D., Blake-Kalff M.M.A., Davies T.G.E. Detoxification of xenobiotics by plants: chemical modification and vascular compartmentation // Trends Plant Sci., 1997. – V. 2. – P. 144-151.

Ferreres F., Figueiredo R., Bettencourt S., Carqueijeiro I., Oliveira J., Gil-Izquierdo A., Pereira D.M., Valentao P., Andrade P.B., Duarte P., Barcelo A.R., Sottomayor M. Identification of phenolic compounds in isolated vacuoles of the medicinal plant *Catharanthus roseus* and their interaction with vacuolar class III peroxidase: an  $H_2O_2$  affair? // J. Exp. Botany, 2011. – V. 62. – P. 2841-2854.

Romero-Puertas M.C., Rodriguez-Serrano M., Corpas F.J., Gomez M., Del Rio L.A., Sandalio L.M. Cadmium-induced subcellular accumulation of  $O_2^{\cdot-}$  and  $H_2O_2$  in pea leaves // Plant, Cell and Environment, 2004. – V. 27. – P. 1122-1134.

Sarry J.E., Chen S., Collum R.P., Liang S., Peng M., Lang A., Naumann B., Dzierszynski F., Yuan C.X., Hippler M., Rea P.A. Analysis of the vacuolar luminal proteome of *Saccharomyces cerevisiae* // FEBS Journal, 2007. – V. 274. – P. 4287-4305.

## УЧАСТИЕ СПЕРМИНА В АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ К УФ-В РАДИАЦИИ

В.Ю. Ракитин, Т.Я. Ракитина, О.Н. Прудникова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия, [rakit@ippras.ru](mailto:rakit@ippras.ru)

Ранее мы показали, что УФ-В радиация вызывает в растениях *A. thaliana* торможение роста, увеличение синтеза стрессовых гормонов этилена и АБК, а также путресцина – предшественника высших полиаминов спермидина и спермина, которые осуществляя протекторные функции, интенсивно расходуются при стрессе [Ракитин, 2008, 2009].

Полиамины (ПА) осуществляют защитные функции при окислительном стрессе, связывая свободные радикалы и АФК, предотвращая повреждение нуклеиновых кислот и перекисное окисление липидов [Kaur-Sawhney et al., 2003; Кузнецов и др., 2006]. Эффективность защитного действия ПА зависит от количества аминогрупп в молекуле, что предполагает инактивацию АФК за счет окисления спермина, в то время как синтезируемый из путресцина спермидин расходуется для поддержания необходимого уровня спермина [Drolet et al., 1986; Ha et al., 1998]. По этой причине успешное функционирование антиоксидантной защиты в первую очередь зависит от регуляции гомеостатического уровня спермидина (Spd) и спермина (Spm) [Bhanagar et al., 2002], при котором растения готовы инактивировать АФК сразу после воздействия биогенных и абиогенных стрессоров до активации синтеза самих ПА и индуцибельных антиоксидантных энзимов.

Данная работа предпринята для выяснения того, насколько критической является низкая концентрация спермина при адаптации к УФ-В радиации сперминдефицитного мутанта *Arabidopsis thaliana spms-1-1*. Содержание свободного и конъюгированного спермина у растений *spms-1-1* составляет соответственно 5,8 и 3,4% от такового у *wt* [Imai et al., 2004]. По фенотипу мутантные растения сходны с растениями дикого типа.

Растения выращивали в чашках Петри на агаризованной среде Велиминского–Гихнера. На 15-й день после посева семян растения облучали умеренной (9 кДж/м<sup>2</sup>), высокой (18 кДж/м<sup>2</sup>) или летальной (27 кДж/м<sup>2</sup>) дозами УФ-В.

УФ-В радиация вызывала дозозависимую потерю воды, торможение роста, а при высокой и летальной дозе (18 кДж и 27 кДж) сильное повреждение и гибель растений *A. thaliana* как дикого типа (*wt*), так и *spms1-1*. Различия в преодолении УФ-В стресса растениями *spms1-1* и *wt* не было обнаружено. На 1, 3, 5, 7, 13 сутки различий в потере сырой массы, торможении роста и степени повреждения у облученных УФ-В растений мутанта и дикого типа не наблюдалось. Не было обнаружено различия в выживаемости между мутантами *spms1-1* и растениями *wt*.

Таким образом, дефицит содержания спермина в *spms1-1* не является лимитирующим фактором при адаптации к УФ-В.

### Литература

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.

Ha H.C., Sirisoma N.S., Kuppusamy P., Zweier J.L., Woster P.M., Casero R.A. The natural polyamine spermine functions directly as a free radical scavenger // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998. – V. 95. – P. 11140-11145.

Imaia A., Akiyamab T., Katoc T., Satoc S., Tabatac S., Kotaro T., Yamamotoa, Takahashia T. Spermine is not essential for survival of *Arabidopsis* // FEBS Letters 556, 2004. – P. 148-152.

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.

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.

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.

## ВЛИЯНИЕ ПОЧВЕННОЙ ЗАСУХИ НА СОДЕРЖАНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ ЛИСТЬЕВ ПОЛИПЛОДНЫХ ФОРМ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

А.Р. Рустамов, А. Эргашев, А. Абдуллаев, Ю.Т. Кобилов

Институт ботаники, физиологии и генетики растений АН РТ, Душанбе,  
Республика Таджикистан, *Anis.rustamov@gmail.com*

Под воздействием почвенной засухи у растений пшеницы происходят ингибирование физиолого-биохимических процессов, в результате чего общая и хозяйственная продуктивность снижается.

При этом помимо роста, развития, фотосинтеза, водообмена и других функции могут существенно изменяться скорость и направленность синтеза и накопления многих биохимических компонентов клеток. Исходя из этого, нами изучались влияние продолжительной почвенной засухи на содержание фотосинтетических пигментов листьев мягкой пшеницы в течение вегетации.

**Таблица**

**Содержание фотосинтетических пигментов листьев сортов мягкой пшеницы различных фаз развития растений (мг/г сырой массы)**

Сорт	Фаза развития растений	Вариант	Хл. а	Хл. b	a+b	a/b	Каротиноиды	Хл/к
Голоколоска	Трубкавание	Контроль	1.15±0.1	0.98±0.0	2.13	1.2	0.28±0.1	7.6
		Опыт	1.06±0.1	0.71±0.0	1.77	1.4	0.25±0.2	6.8
Галгалос		Контроль	1.20±0.1	1.05±0.3	2.25	1.1	0.30±0.1	7.5
		Опыт	1.06±0.0	0.73±0.0	1.89	1.2	0.26±0.0	7.2
Зафар		Контроль	1.21±0.2	0.90±0.1	2.11	1.3	0.43±0.0	4.9
		Опыт	1.09±0.0	0.60±0.2	1.69	1.8	0.31±0.0	5.4
Голоколоска	Колошение	Контроль	1.05±0.1	0.93±0.0	1.98	1.3	0.35±0.0	5.6
		Опыт	0.86±0.1	0.41±0.0	1.27	2.0	0.20±0.0	2.4
Галгалос		Контроль	1.16±0.1	0.95±0.3	2.11	1.2	0.37±0.0	5.7
		Опыт	0.96±0.0	0.73±0.0	1.6	1.3	0.22±0.0	7.2
Зафар		Контроль	1.31±0.0	0.97±0.1	2.28	1.3	0.40±0.0	5.7
		Опыт	1.08±0.1	0.72±0.0	1.8	1.5	0.28±0.0	6.4
Голоколоска	Цветение	Контроль	1.01±0.1	0.87±0.0	1.88	1.1	0.32±0.0	5.8
		Опыт	0.94±0.1	0.71±0.0	1.65	1.3	0.25±0.1	10
Галгалос		Контроль	1.08±0.1	0.95±0.3	2.03	1.5	0.34±0.1	5.9
		Опыт	0.93±0.0	0.69±0.2	1.62	1.3	0.22±0.2	7.3
Зафар		Контроль	1.40±0.0	0.93±0.1	2.33	1.5	0.47±0.1	4.9
		Опыт	0.82±0.0	0.70±0.1	1.52	1.1	0.31±0.0	4.9
Голоколоска	Молочно-восковая спелость	Контроль	0.90±0.1	0.81±0.0	1.71	1.1	0.31±0.1	5.5
		Опыт	0.87±0.2	0.60±0.3	1.47	1.4	0.29±0.0	7.7
Галгалос		Контроль	0.95±0.4	0.72±0.1	1.67	1.3	0.33±0.3	5.0
		Опыт	0.89±0.2	0.61±0.1	1.50	1.4	0.21±0.2	7.1
Зафар		Контроль	1.33±0.1	0.91±0.0	2.24	1.4	0.43±0.1	5.2
		Опыт	1.1±0.2	0.80±0.1	1.90	1.3	0.28±0.0	6.7



Объектами исследования служили сорта мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) Голоколоска и Галгалос, полученные из коллекции ВИР им. Н.И. Вавилова и местный сорт Зафар.

Полевые опыты проводились на экспериментальном участке Института ботаники, физиологии и генетики растений Академии наук Республики Таджикистан, расположенном в восточной части Гиссарской долины на высоте 834 м над ур. м.

Растения выращивались в вегетационных сосудах. Сосуды были разделены на две группы: 1. растения выращивались в условиях оптимальной почвенной влажности 78-80% от ППВ (предельная полевая влагоемкость) – контроль (полив); 2. растения выращивались в условиях недостаточной почвенной влажности 50-55% от ППВ – опыт (засуха).

Данные таблицы показывают, что в фазе трубкования под воздействием почвенной засухи происходит снижение количества зеленых пигментов у всех изученных сортов, и в большей степени за счет хл. b. В этот период по содержанию каротиноидов между вариантами опыта у сортов Голоколоска и Галгалос разница незначительна, а у сорта Зафар при почвенной засухе содержание желтых пигментов заметно ниже, чем у растений контрольного варианта (полив).

В фазе колошения и цветения содержание зеленых пигментов у изученных сортов также как и в предыдущей фазе при почвенной засухе ниже, чем в условиях оптимального водообеспечения. Сумма желтых пигментов в листьях в целом несколько больше, чем в фазе трубкования, однако различие между вариантами опыта сохраняется, т. е. при почвенной засухе содержание их меньше.

В фазе молочно-восковой спелости содержание хл. a и b в листьях значительно падает, особенно заметно в опытном варианте (засуха).

Следует отметить, что среди изученных сортов местный сорт Зафар отличался более стабильным и сравнительно высоким содержанием как зеленых, так и желтых пигментов во всех фазах развития растений.

## ВЛИЯНИЕ ПОЧВЕННОЙ ЗАСУХИ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ НЕКОТОРЫХ БОБОВЫХ КУЛЬТУР

Х.Х. Сайдаминов, М.Х. Атоев

Институт ботаники, физиологии и генетики растений АН Республики Таджикистан, Душанбе, Республика Таджикистан, *Habib-25041986@mail.ru*

В последние годы внимание многих исследователей направлено на изучение действия глобальных климатических изменений на экосистемы. В первую очередь, это вызвано тем, что развитие промышленности привело к выбросу в атмосферу большого количества веществ, которые оказывают вредное воздействие на окружающую среду и жизнедеятельность человека. Повышение содержания в атмосфере углекислого газа приводит к усилению парникового эффекта и, как следствие, к повышению глобальной температуры. Повышение температуры вызывает атмосферную засуху и на протяжении длительного времени может усилить эвапотранспирацию, приводящую к иссушению корнеобитаемого слоя почвы и повышению содержания солей. В связи с этим исследования физиологии устойчивости сельскохозяйственных растений к засухе и поиски путей её повышения стали актуальной задачей современного растениеводства. Для более глубокого изучения физиологии устойчивости растений к стрессовым факторам, индуцируемым изменением климата, в круг исследований вовлекаются различные растительные объекты. Одним из объектов, характерных для республик Центральной Азии, являются бобовые культуры. Известно, что зернобобовые культуры являются культурами, используемыми как источник питания для человека в Таджикистане. Фасоль, горох, маш, конские бобы и другие являются одними из наиболее древних и распространенных культур в Таджикистане, как продукты питания. Ценность бобовых культур в большой степени определяется их химическим составом и пищевыми достоинствами.

Объектами исследования служили сорта бобовых культур – фасоль «Чёрный глаз», Фасоль пёстрая и Маш «Золотистая фасоль». Полевые опыты проводились на экспериментальном участке Института ботаники, физиологии и генетики растений АН РТ, г. Душанбе. Растения выращивались в вегетационных сосудах (22 кг почвы). Сосуды разделили на две группы: 1 – влажность почвы 70-80% от ППВ, условно «контроль», 2 – влажность почвы 40-50% от ППВ, условно «опыт».

Полученные нами экспериментальные данные по влиянию почвенной засухи показали, что этот исследуемый фактор приводит к снижению высоты растений к окончанию вегетационного периода. В фазе стеблевания наблюдались изменения между опытными и контрольными вариантами. Этот показатель составил у растений фасоли «Чёрный глаз» в контрольном варианте 18,7 см, в опытном варианте – 16,3 см, у Фасоли пёстрой в контрольном варианте – 23,5 см, в опытном варианте – 19,4 см, у растений маша в контрольном варианте – 16 см и в опытном варианте – 12,6 см. В фазе бутонизации разница по высоте растений между контрольными и опытными вариантами у растений фасоли «Чёрный глаз» составила 14,4 см, у растений сорта Фасоль пёстрой – 14,2 см, а у растений маша – 8,4 см. В фазе цветения у фасоли «Чёрный глаз» разница составила 13,7 см, у Фасоли пёстрой – 19,3 см и у маша – 10,7 см, соответственно. В фазе плодоношения разница между опытными и контрольными вариантами у растений фасоли «Чёрный глаз» была больше и составляла 21 см, у сорта Фасоли пёстрой разница составляла 15,7 см, т.е. заметного различия между фазами не было, а у растений маша – 6,9 см. Максимальное различие между вариантами наблюдалось у фасоли «Чёрный глаз» и у Фасоли пёстрой в фазе созревания, которое

составляло 44,5 см и 20,3 см, соответственно. А у растений маша разница в этой фазе составляла 6,5 см.

Полученные данные показывают, что начиная от фазы стеблевания до полной спелости зерна, в опытных вариантах изученных сортов существенные изменения по высоте растений наблюдались у растений фасоли «Чёрный глаз» и у фасоли пёстрой. У созревших растений фасоли «Чёрный глаз» в контрольном варианте высота растений достигала 82,2 см, у Пёстрой фасоли – 55,3 см, растений маша – 49,5 см, в опытном варианте у фасоли «Чёрный глаз» – 37,6 см, у растений фасоли пёстрой – 35 см, у растений маша – 43 см, соответственно. В работе также обсуждается влияние почвенной засухи на динамику накопления сырой и сухой биомассы у исследуемых бобовых культур.

## ИНТЕНСИВНОСТЬ ТРАНСПИРАЦИИ У ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ СОРТОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ, ВЫРАЩЕННОЙ В УСЛОВИЯХ ЖЁСТКОЙ БОГАРЫ ТАДЖИКИСТАНА

Б.Н. Сатторов<sup>1</sup>, М.Б. Ниязмухамедова<sup>1</sup>, М.М. Рахимов<sup>2</sup>, Ф.А. Косумбекова<sup>1</sup>, Н. Камолов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт ботаники, физиологии и генетики растений АН РТ, Душанбе, Республика Таджикистан, *Mukadam.44@mail.ru*

<sup>2</sup>Таджикский государственный университет им. С. Айни, Душанбе, Республика Таджикистан

Исследование водного режима растений имеет исключительно важное научное и практическое хозяйственное значение в современном растениеводстве. В этом плане наибольший интерес представляет изучение водного режима растений при интродукции. Данные по определению интенсивности транспирации позволяют определить адаптационные свойства сельскохозяйственных сортов к засухе, высокой температуре и других экологических условий выращивания, для оценки о перспективности внедрения сортов в тех или иных зонах выращивания культуры, для сортового и адресного размещения.

В этой связи нами были проведены комплексные исследования по изучению водного режима интродуцированных сортов в условиях жёсткой богары.

Целью наших исследований явился сравнительный анализ интенсивности транспирации в дневной и сезонной динамике в листьях пшеницы сортов местной селекции и интродуцированных российских сортов мягкой пшеницы.

Объектом исследований служили российские сорта пшеницы, которые любезно предоставлены профессором Н.В. Тупицыным из Ульяновской сельскохозяйственной академии Российской Федерации – три российских сорта – Волжская-100, Волжская качественная и Волжская-Сз, в качестве стандарта был сорт местной селекции – Зафар. Растения были выращены на экспериментальном участке Института ботаники, физиологии и генетики Академии наук Республики Таджикистан (г. Душанбе, восточная часть Гиссарской долины, 834 м над ур. м.) – в условиях богары.

Интенсивность транспирации определяли методом быстрого взвешивания срезанных листьев на торзионных весах по Л.А. Иванову и др. (1950).

Результаты исследования показали, что интенсивность транспирации в листьях пшеницы сорта Волжская-100, нарастала с утра до полудня (12 ч.), где была зафиксирована максимальная интенсивность транспирации, затем к вечеру наблюдали резкую потерю воды листьями, почти в 2-3 раза. В фазах трубкования и цветения максимум интенсивности транспирации был утром в 8 ч., затем в течение дня наблюдали понижение интенсивности. В листьях пшеницы Волжская-100 максимальную интенсивность транспирации в дневной и сезонной динамике наблюдали в полдень.

У пшеницы сорта Волжская качественная утром (8 ч.) в фазах кущения, трубкования и колошения листья имели максимальную интенсивность транспирации, начиная с фазы колошения и до конца вегетации имели максимальную интенсивность транспирации в 12 часов дня и до вечера интенсивность транспирации уменьшилась в фазе кущения в 1.4 раза, в фазе трубкования в 1.8 раза, в фазе колошения почти в 1.3 раза, в 15 ч. интенсивность транспирации понизилась в 2 раза и 18 ч. вечера – в 3.7 раза.

У пшеницы Волжская-Сз листья активно транспирировали в полдень, максимум был в фазе кущения, затем во всех фазах вегетации интенсивность транспирации уменьшалась от 1.1 до 1.7 раза.

Местный сорт Зафар показал умеренную потерю воды, листья экономно расходовали влагу, только в полдень в фазах цветения и молочной спелости наблюдали интенсивную транспирацию, а к вечеру наблюдали низкий расход воды, почти в 2 раза.

Влияние атмосферной и почвенной засухи показало широкий диапазон изменчивости, как у местного сорта Зафар, так и у интродуцированных сортов пшеницы.

Таким образом, исследования пшеницы местного и интродуцированных сортов в условиях жесткой богары, позволит выделить их как доноры засухоустойчивости, которые в комплексе с другими хозяйственно-ценными признаками и свойствами представляют интерес при селекции на засухоустойчивость, скороспелость и высокое качество зерна.

## РОЛЬ ЭНЕРГИЗАЦИОННОГО ТУШЕНИЯ ФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА В ХВОЕ *PINUS SYLVESTRIS* ПРИ НИЗКИХ ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ ТЕМПЕРАТУРАХ В ОСЕННИЙ ПЕРИОД

В.Е. Софронова<sup>1</sup>, О.В. Дымова<sup>2</sup>, Т.К. Головко<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, Россия, vse07\_53@mail.ru

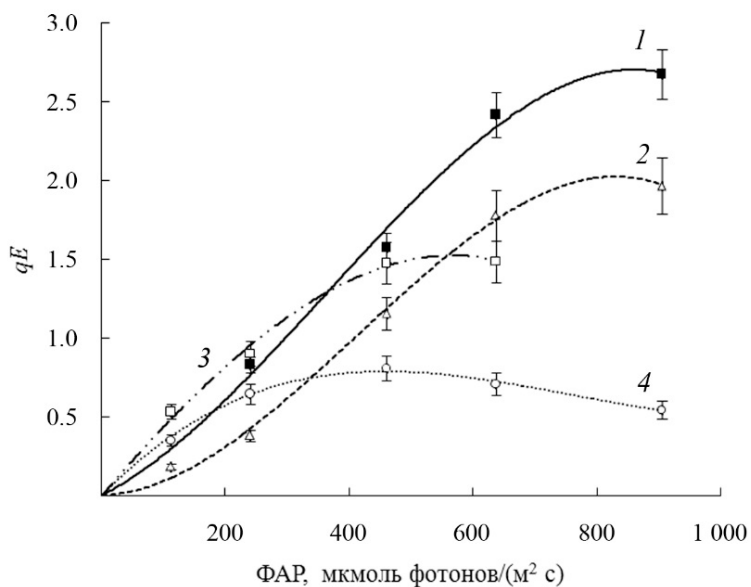
<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Коми научного центра УрО РАН, Сыктывкар, Россия, golovko@ib.komisc.ru

Энергизационное тушение ( $qE$ ) ответственно за релаксацию избыточного пула синглетного Хл ( $^1\text{Хл}^*$ ) и в летние месяцы является мажорным компонентом нефотохимического тушения избыточной солнечной энергии у растений. Оно развивается в секундном и минутном временном диапазоне в результате понижения рН люмена тилакоидов и связанного с ним протонирования PsbS белка и дезоксидации виолаксантина (Вио) в зеаксантин (Зеа). Наличие Зеа и протонированного PsbS белка создает условия для образования центров тепловой диссипации в антенных пигмент-белковых комплексах (ПБК), которые отводят энергию возбуждения от РЦ ФС II. Сведения о функционировании этого механизма при низких положительных температурах в естественных условиях у вечнозеленых растений весьма ограничены.

В данной работе представлены результаты изучения зависимости  $qE$  от плотности потока фотонов в хвое *Pinus sylvestris* при сезонном снижении температуры в августе–сентябре 2014 г. В опытах использовали хвою текущего года 25–30-летних деревьев, произрастающих на территории Ботанического сада Института биологических проблем криолитозоны СО РАН (62°15' с.ш., 129°37' в.д.). Индукционные кривые флуоресценции (Фл) Хл регистрировали в полевых условиях *in vivo* при действии актиничного света в течение 10 мин с последующим измерением темновой релаксации параметров Фл Хл. Величину  $qE$  рассчитывали по формуле:  $qE = F_m/F_m' - F_m/F_m''$ , где  $F_m$  – максимальный выход Фл после наложения насыщающей вспышки света после 30 мин темновой адаптации,  $F_m'$  – максимальный выход Фл в конце периода освещения,  $F_m''$  – максимальный выход Фл через 10 мин. темновой релаксации [Müller et al., 2001].

Световые зависимости  $qE$  описывались полиномиальными трендами второго порядка с одним максимумом насыщения. Величины достоверности аппроксимации не ниже 0.98. При сезонном снижении температуры максимумы насыщения смещались влево (рисунок). Скорость увеличения  $qE$  на начальном участке (112–305 мкмоль фотонов/(м<sup>2</sup> с) кривых 3 и 4, полученных при низких положительных температурах в конце сентября (среднесуточная и дневная 5.3 и 3.3 °С, соответственно) была выше, чем у кривых 1 и 2, зарегистрированных в более теплый период. При этом ночные температуры были равны 0.9±2.4 и –1.3±1.5 °С. Очевидно, в этот период низкие ночные температуры способствуют сохранению пула Зеа вследствие низкой активности зеаксантинэпоксидазы [Reinhold et al., 2008]. Поскольку формирование трансмембранного протонного градиента в тилакоидах протекает быстрее и в меньшей степени зависит от температуры, чем взаимопревращения пигментов виолаксантинового цикла [Finazzi et al., 2004], индукция  $qE$  за счет протонирования антенных ПБК на фоне уже имеющегося пула Зеа в конце сентября идет интенсивнее при низких и умеренных интенсивностях ФАР. Это явление можно рассматривать как защитную функцию  $qE$  тушения от избыточного света у *P. sylvestris*, особенно в холодные осенние утренние часы.

Сильное подавление индукции  $qE$  при интенсивностях ФАР выше 400 мкмоль фотонов/(м<sup>2</sup> с) при температурах ниже 10 °С ведет к частичной фотодеструкции Хл.



**Рисунок. Зависимость  $qE$  от плотности потока фотонов при сезонном снижении температуры в осенний период. Измерения проводили на неотделенной хвое *P. sylvestris* в полевых условиях ( $n=3$ ). Дневная средняя температура воздуха в дни экспериментов: 1 – 21.3, 2 – 16.0, 3 – 5.3, 4 – 2.6 °C.**

В период холодной адаптации содержание Хл ( $a + b$ ) в хвое текущего года снижалось от  $2.32 \pm 0.07$  (16 августа) до 1.84...1.08 мг/г сухой массы (5 и 26 сентября). При этом среднесуточная температура с 5 до 26 сентября упала с 9.1 до 1.1 °C, что несомненно приводило к торможению процессов ресинтеза Хл. Поскольку фотодеструкция Хл является результатом избыточного образования синглетного кислорода ( $^1O_2^*$ ) при взаимодействии  $^3Хл^*$  (триплетного хлорофилла) с молекулярным кислородом [Dall'Osto et al., 2006], можно полагать, что при сезонном снижении температуры происходит увеличение пула  $^3Хл^*$  вследствие ослабления релаксации  $^1Хл^*$  через  $qE$  тушение. Уменьшение содержания Хл в результате сезонного ослабления  $qE$  тушения при интенсивностях ФАР выше 350-400 мкмоль фотонов/( $m^2$  с) позволяет при низких положительных температурах снизить количество поглощенной пигментами листа солнечной энергии. Это можно рассматривать как один из защитных фотоадаптивных ответов, позволяющих сохранить фотосинтетический аппарат вечнозеленой хвои *P. sylvestris* в сезонном климате.

#### Литература

Dall'Osto L., Lico C., Alric J., Giuliano G., Havaux M., Bassi R. Lutein is needed for efficient chlorophyll triplet quenching in the major LHCII antenna complex of higher plants and effective photoprotection *in vivo* under strong light // BMC Plant Biol., 2006. – V. 6. – P. 32. <http://www.biomedcentral.com/1471-2229/6/32>.

Müller P., Li X.P., Niyogi K.K. Non-photochemical quenching. A response to excess light energy // Plant Physiol., 2001. – V. 125. – P. 1558-1566.

Finazzi G., Johnson G. N., Dall'Osto L., Joliot P., Wollman F.-A., Bassi, R. A zeaxanthin-independent nonphotochemical quenching mechanism localized in the photosystem II core complex // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 2004. – V. 101. – P. 12375-12380.

Reinhold C., Niczyporuk S., Beran K.Chr., Jahns P. Short-term down-regulation of zeaxanthin epoxidation in *Arabidopsis thaliana* in response to photo-oxidative stress conditions // Biochim. Biophys. Acta, 2008. – V. 1777. – P. 462-469.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ ПЕРСПЕКТИВНЫХ СОРТОВ ВИНОГРАДА

В.Ю. Стаматиди

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «ВНИИВиВ «Магарач» РАН», Ялта, Россия, *stamatidi777@mail.ru*

Виноградарство является высокорентабельной и перспективной отраслью сельского хозяйства Крыма. Получение высококачественной продукции является одним из приоритетных направлений его развития.

В нашей работе основное внимание сосредоточено на факторах высоких температур и недостатка влаги. В виноградарстве в силу традиционного размещения виноградников в теплом сухом климате проблема недостатка воды ощущается особенно остро. Не случайно на конференции, посвящённой вопросам виноградарства в изменяющемся климате, прозвучало мнение, что «никогда ещё со времён филлоксерного кризиса у винодельческой отрасли не было такой острой нужды пересмотреть стратегии и методы работы на будущее». На территории Крыма засуха бывает каждый второй год.

Жара и засуха является одним из основных факторов внешней среды, ингибирующих многие метаболические процессы и, в итоге, лимитирующих рост и урожайность растений [Кузнецов, Дмитриева, 2011].

Нилов Н.Г. предлагает ведение мониторинга водного режима у сортов винограда [Нилов, 2003].

Целью исследований является сравнительная оценка сортов по устойчивости к жаре и засухе для совершенствования сортового состава. Материалом для исследования были классический сорт Мускат белый и новый сорт Цитронный Магарача. В работе был использован метод измерения водного потенциала листьев [Scholander et al., 1965]. На основе данных температуры и относительной влажности воздуха рассчитывался показатель VPD.

В 2014-2015 гг. на южном берегу Крыма измерялись дневные водные потенциалы, отражающие атмосферную засуху. Показатели измерялись на 30 кустах по 10 кустов в 3-х повторностях у каждого сорта. Из рисунка видно, что водные потенциалы Цитронного Магарача ниже, чем у Муската белого.

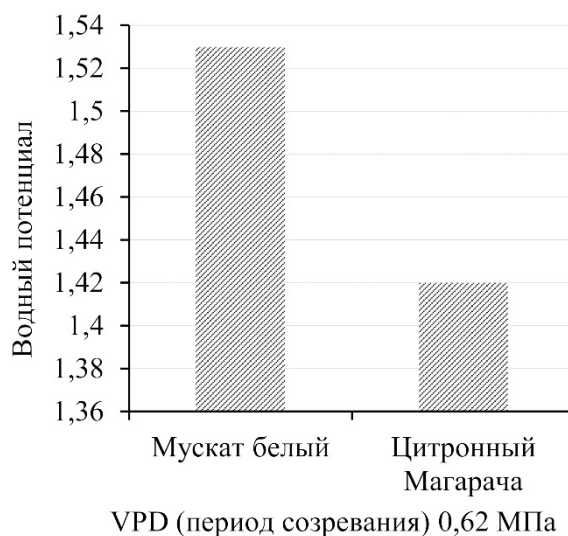


Рисунок. Зависимость водных потенциалов от VPD, ГУП «Массандра».



Впервые проводится изучение водного режима сортов селекции «Магарача» – Цитронный Магарача. Экспериментально доказано, что по дневным водным потенциалам сорт Цитронный Магарача обладает большей жаро- и засухоустойчивостью по сравнению с сортом Мускат белый. При этом урожай сорта Цитронный Магарача превышает таковой Муската белого (таблица). По показателям качества Цитронный Магарача незначительно уступает Мускату белому, что видно из таблицы.

**Таблица**

**Количественные и качественные показатели урожая винограда  
2014-2015 гг., ГУП «Массандра»**

Название сорта	Урожайность, кг/куст	Массовая концентрация сахаров, г/100 см <sup>3</sup>	pH
Мускат белый	4,07±0,31	28,10	3,65
Цитронный Магарача	5,58±0,3	27,85	3,50

**Литература**

- Кузнецов Вл.В., Дмитриева Т.А. Физиология растений. – М.: Абрис, 2011. – 786 с.  
 Нилов Н.Г. Фитомониторинг как новая знаковая система при построении информационных технологий в виноградарстве // Виноградарство и виноделие: Сб. науч. тр. НИВиВ «Магарач». – Т. XXXIII. – Ялта, 2003. – С. 25-29.  
 Scholander P.F., Hammel H.J., Bradstreet A., Hemmingsen E.A. Sap pressure in vascular plants // Science, 1965. – V.148. – P. 339-346.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЖАРОСТОЙКОСТИ СОРТОВ ВИНОГРАДА В КУЛЬТУРЕ ТКАНИ

В.Ю. Стаматиди, И.И. Рыфф

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «ВНИИВиВ «Магарач» РАН», Ялта, *stamatidi777@mail.ru*

Культура винограда в основном распространена в южных районах с повышенными летними температурами. При избыточной тепловой нагрузке проявляется сортовая дифференциация по жаростойкости. При экстремальных условиях с высокими температурами ингибируется фотосинтез [Кузнецов, Дмитриева, 2011], что сказывается на снижении количественных и качественных показателей урожая. Жаростойкость виноградных растений в полевых условиях определялась по площади побурения листьев [Барабальчук и др., 1990]. Нами изучалась устойчивость к высоким температурам у растений винограда в культуре ткани. Исследовалась реакция на устойчивость к жаре двух сортов винограда: Мюллер Тургау и Рислинг Магарача. Экспланты выращивались на модифицированной среде Мурасиге-Скуга. Через 6 недель культивирования выросшие растения выдерживали при температуре 48 °С в течение 150 мин. После данного прогревания измеряли площади побурения листьев, т.е. площади повреждённых участков листовой поверхности. Выяснили, что у сорта Мюллер Тургау суммарная площадь поражённой листовой поверхности у растений составляет  $77 \pm 0,89\%$ , а у сорта Рислинг Магарача данная площадь была  $39 \pm 0,75\%$ . По полученным результатам сделали вывод, что сорт Рислинг Магарача относится к жаростойким, а сорт Мюллер Тургау не обладает устойчивостью к высоким температурам. Таким образом, чем больше площадь побурения листьев, тем ниже устойчивость к условиям жары. Применение метода культуры ткани в диагностике жаростойкости винограда позволяет повысить достоверность за счёт оценки площади побурения листьев целого растения, включенных в общий метаболизм, а не отделённых листьев. Кроме того, применение культурального метода разрешает увеличить количество изучаемых объектов, что также способствует повышению достоверности полученных результатов.

### Литература

- Кузнецов Вл.В., Дмитриева Т.А. Физиология растений. – М.: Абрис, 2011. – 786 с.  
Барабальчук К.А., Трошин Л.П., Нилов Н.Г. Методические указания по оценке генофонда винограда на жаростойкость. – Москва: ВАСХНИЛ, 1990. – 13 с.

## ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ БТШ104 С МИТОХОНДРИЯМИ У ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

А.В. Степанов<sup>1</sup>, Е.А. Николаенко<sup>2</sup>, И.В. Федосеева<sup>1</sup>, Е.Г. Рихванов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, [stepanov@sifibr.irk.ru](mailto:stepanov@sifibr.irk.ru)

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет», Иркутск, Россия

Агрегация повреждённых и неправильно свёрнутых белков является защитным механизмом против протеотоксического стресса, нарушение работы этого механизма приводит к развитию амилоидных заболеваний и заболеваний, обусловленных старением клеток и организмов [Rikhvanov et al., 2005]. Агрегация защищает клетки от нарушения белкового гомеостаза при действии резкого, либо хронического стресса [Spokoini et al., 2012]. Изменение функционирования митохондрий (изменение потенциала на внутренней митохондриальной мембране (ВММ), изменение формы и размеров митохондрий, повышение продукции АФК) часто являются характеристиками развития клеточного стресса. Повышение температуры с 30 до 39 °С у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* приводит к повышению потенциала на ВММ, повышению продукции АФК, синтезу БТШ, появлению белковых агрегатов. Повышение температуры может приводить к нарушению биосинтеза белка на рибосомах, процессинга и фолдинга белков. Многие агрегаты имели связь не только с эндоплазматическим ретикулумом, но и с функциональными митохондриями [Tyedmers et al., 2010]. Либо энергия митохондрий необходима для формирования, или деструкции подобных агрегатов, либо сами митохондрии каким-то образом причастны к образованию подобных агрегатов?

С помощью митохондриальных ингибиторов и разобщителей повышали или снижали митохондриальный потенциал в контрольных условиях и при действии мягкого теплового стресса 39 °С 30 минут, и изучали образование агрегатов, их форму, расположение в клетке и связь с митохондриями и ядром.

Инкубация клеток с ингибитором ТЕТ (triethyltin bromide) при температуре выращивания 30 °С приводила не только к повышению потенциала на ВММ, но и к изменению морфологии митохондрий, они набухали и округлялись. Сигнал БТШ104, слитый с зелёным флуоресцентным белком GFP (ЗФБ), повышался и собирался в отдельные ядра флуоресценции в областях, приближенных к областям локализации митохондрий. Повышение температуры инкубации до 39 °С также приводило к повышению окрашивания митохондрий, однако не меняло критически их морфологию. Сигнал БТШ104-ЗФБ также повышался и собирался в отдельные ядра флуоресценции в областях, приближенных к областям локализации митохондрий. Снижение потенциала на ВММ во время мягкого теплового стресса 39 °С 30 минут, в присутствии 20 мкМ разобщителя СССР (carbonyl cyanide *m*-chlorophenyl hydrazone) предотвращало повышение синтеза БТШ104-ЗФБ и образование ядер флуоресценции, что подтверждает ранее полученные нами данные [Rikhvanov et al., 2005].

Добавление ТЕТ во время мягкого теплового стресса (30 °С) ещё больше повышало потенциал на ВММ. На морфологию же митохондрий совместное действие теплового стресса и ТЕТ имело промежуточный характер. Митохондрии несколько набухали и детабулировались, но не настолько сильно как при действии одного ТЕТ. Интересно, что образования ядер флуоресценции при этом не происходило, что может говорить об отсутствии образования белковых агрегатов в данных условиях. Либо об

отсутствии повышения синтеза БТШ104. Возможно, имеют место и два события одновременно.

Интересным оказалось использование протонофора СССР в меньших концентрациях. Так, добавление СССР в концентрациях 2, 4 и 20 мкМ снижало потенциал на ВММ пропорционально концентрации как при 30 °С, так и при 39 °С. Однако оказалось, что действие 4 мкМ СССР на образование ядер флуоресценции БТШ104-ЗФБ различается. В контрольных условиях СССР в данной концентрации сам вызывает образование ядер флуоресценции, а в стрессовых предотвращает.

Большинство образованных нашими воздействиями агрегатов имели места соприкосновения с митохондриями. Как и ранее описано другими авторами, например при эндоплазматическом стрессе [Tyedmers et al., 2010], флуоресценция БТШ104-ЗФБ не полностью колокализировалась с флуоресценцией митохондрий. Однако многие агрегаты имели чёткие места соприкосновения с ними. При мягком тепловом стрессе агрегаты довольно долго и стабильно взаимодействовали с митохондриями и даже могли передвигаться по ним. Причём связь агрегатов наблюдалась как с энергизованными, так и с разоблёнными митохондриями.

Добавление антиоксиданта токоферола во время мягкого теплового стресса снижало среднее количество агрегатов, снижая гиперполяризацию на треть.

Таким образом, как повышение, так и понижение митохондриального потенциала может сопровождаться повышением синтеза БТШ104 и образованием белковых агрегатов, с которыми БТШ104 связывается. Наиболее вероятным посредником между образованием белковых агрегатов и изменением метаболизма митохондрий служат митохондриальные АФК. Все исследованные агрегаты имели некоторую ассоциацию с митохондриями, которая не зависела от степени энергизованности митохондрий.

#### Литература

Rikhvanov E.G., Varakina N.N., Rusaleva T.M., Rachenko E.I., Knorre D.A., Voinikov V.K. Do mitochondria regulate the heat-shock response in *Saccharomyces cerevisiae*? // *Curr. Genet.*, 2005. – V. 48. – P. 44-59.

Spokoini R., Moldavski O., Nahmias Y., England J.L., Schuldiner M., Kaganovich D. Confinement to organelle-associated inclusion structures mediates asymmetric inheritance of aggregated protein in budding yeast // *Cell Rep.*, 2012. – P. 738-747.

Tyedmers J., Mogk A., Bukau B. Cellular strategies for controlling protein aggregation // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2010. – V. 11, N 11. – P. 777-788.

Zhou C., Slaughter B.D., Unruh J.R., Eldakak A., Rubinstein B., Li R. Motility and segregation of Hsp104-associated protein aggregates in budding yeast // *Cell*, 2011. – V. 147, N 5. – P. 1186-1196.

## РОЛЬ ГИББЕРЕЛЛИНОВ В ОБРАЗОВАНИИ КАРЛИКОВЫХ ФОРМ ЯБЛОНИ СИБИРСКОЙ (*MALUS BACCATA* BORKH.) В УСЛОВИЯХ ЛЕСОСТЕПНОГО ЭКОТОНА

А.В. Столбикова, А.А. Шишпаренок, А.В. Рудиковский, Е.Г. Рудиковская, Л.В. Дударева

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, [laser@sifibr.irk.ru](mailto:laser@sifibr.irk.ru)

Как известно, экотоны являются «естественными лабораториями» для изучения целого ряда эволюционных процессов, в том числе видообразования. Одна из таких зон находится на территории республики Бурятия в Селенгинской Даурии, у подножия Хамбинского хребта. Здесь, в условиях лесо-степного экотона, обнаружены карликовые формы яблони сибирской (*Malus baccata* L. Borkh) [Рудиковский и др., 2008]. Предполагалось, что переход от высокорослых к карликовым формам яблонь обусловлен недостатком влаги в весенне-летний период, неравномерностью выпадения осадков и тонким плодородным слоем почвы. Однако при выращивании таких экземпляров в более благоприятных условиях экспериментального участка СИФИБР СО РАН в городе Иркутске карликовость деревьев сохраняется. Генетический анализ показал, что хотя карликовые и высокорослые растения являются экологическими морфами одного вида *Malus baccata*, карликовая форма образует отдельный фенотип [Рудиковский и др., 2013]. Очевидно, что подобные изменения в морфологии и генетике яблони не могут происходить без изменений в биохимических процессах в растительных тканях.

Ранее было показано, что у найденных в Селенгинской Даурии карликовых форм яблони снижено соотношение содержания ИУК/АБК за счет снижения количества ИУК. Этот показатель для высокорослых деревьев всегда был больше единицы, а для карликовых меньше [Рудиковский и др., 2013]. Очевидно, что в формировании карликовости яблони сибирской в условиях Селенгинской Даурии участвуют не только ауксины, но и другие фитогормоны, в том числе гиббереллины, которые, как известно, обеспечивают передачу сигналов при адаптации к неблагоприятным условиям произрастания и участвуют в регуляции роста и дифференциации растительных тканей. Известно, что низкий эндогенный уровень гиббереллинов может быть причиной снижения роста растений.

Поэтому целью нашей работы был анализ чувствительности к гиббереллину карликовых форм яблони сибирской (*Malus baccata* Borkh.) и оценка эндогенного содержания гиббереллинов в листьях ее высокорослой и карликовой форм.

Обе формы яблони выращивали на экспериментальном участке СИФИБР СО РАН. На конусы нарастания наносили по 10 мкл гибберелловой кислоты – GA3 (1 мг/мл) в водном растворе Твин-20. Контроль обрабатывали 10 мкл водного раствора Твин-20. Обработка проводилась один раз в неделю в течение месяца.

Эксперимент, проведенный летом 2013 года, показал, что конусы нарастания, обработанные экзогенной гибберелловой кислоты, имели на 50% более высокую скорость роста, чем контрольные (30,8±3,2 см и 20,5±3,2 см, соответственно). Повторный эксперимент, проведенный в 2015 году, подтвердил эту тенденцию: скорость роста обработанных конусов увеличивалась на 29,6% (16,1±1,2 см – контроль, 20,9±1,9 см – опыт). Эти результаты показали, что клетки меристемы верхушечной части побегов карликовой формы сибирской яблони чувствительны к гиббереллину. Можно утверждать, что мутации в генах-репрессорах исследуемой карликовой формы

яблони сибирской нет, и гиббереллиновый сигнал, инициирующий растяжение интеркалярных меристем, не блокируется.

О содержании в тканях эндогенных гиббереллинов судили по способности растительного экстракта, содержащего фитогормоны, увеличивать рост карликовых растений гороха. В качестве сред использовали: содержащий гормоны экстракт из листьев карликовой и высокорослой яблони, стандартные растворы гибберелловой кислоты в трех концентрациях: 0,0001%, 0,00001% и 0,000001%. В контрольном опыте средой для выращивания служила деионизованная вода. Опыт проводили в 16-ти независимых экспериментах. По окончании опыта проводили замеры длины проростков с точностью до 1 мм. Показано, что проростки гороха, выращенные на экстрактах из тканей листьев карликовой (5,9±1,2 мм) и высокорослой (8,0±1,7 мм) яблони, были существенно ниже, чем проростки, выращенные на средах с добавлением гиббереллина (12,2±2,6 мм для 0,000001% раствора). При этом проростки, выращенные на экстракте листьев карликовой яблони, имели достоверно меньший рост, чем контрольные. Отсутствие стимуляции роста гороха в обоих экстрактах из листьев яблони и даже достоверное снижение ростовых показателей в случае карликовой яблони может свидетельствовать не только о низких содержаниях гиббереллина в листьях яблони в целом, но и наличием в экстракте листьев карликовой яблони ретардантного фактора или комплекса таких факторов. Можно предположить, что это соединения фенольной природы (такие как флоридзин, кверцетин, хлорогеновая кислота), которые, как известно, ингибируют не только синтез гормонов, но и их транспорт.

Таким образом, проведенные исследования показали, что низкорослые формы яблони сибирской чувствительны к гиббереллину. Это позволяет думать, что карликовый статус яблони не был вызван мутацией в генах-репрессорах гиббереллинового сигнала и, по всей вероятности, обусловлен климатом района произрастания. В формировании карликового статуса яблони сибирской, возможно, участвуют эндогенные ретардантные соединения или комплекс таких соединений. Карликовость в данном случае, вероятно, может быть рассмотрена как адаптивная модификация, которая расширяет возможности организма для выживания и размножения в конкретных условиях внешней среды. Возникающие в подобных условиях наследственные изменения могут подхватываться естественным отбором, и таким путем вид может более активно осваивать новые экологические ниши и достигает более эффективной приспособляемости к ним.

#### Литература

Рудиковский А.В., Рудиковская Е.Г., Дударева Л.В., Кузнецова Е.В. Уникальные и редкие формы яблони сибирской Селенгинского района Бурятии // Сибирский экологический журнал, 2008. – № 2. – С. 327-333.

Рудиковский А.В., Потемкин О.Н., Рудиковская Е.Г., Кузнецова Е.В. Начальный этап образования форм у яблони сибирской // Turczaninowia, 2012. – Т. 15, Вып. 3. – С. 75-82.

Рудиковский А.В., Столбикова А.В., Дударева Л.В., Рудиковская Е.Г., Побежимова Т.П. Сравнительный анализ содержания индолил-3-уксусной и абсцизовой кислот в побегах карликовой и высокорослой форм сибирской яблони в природных условиях и при интродукции // Известия ИГУ. Серия «Биология. Экология», 2013. – Т. 6, № 2. – С. 34-42.

## РОСТ РАСТЕНИЙ КАК ПОКАЗАТЕЛЬ ИХ УСТОЙЧИВОСТИ К ИЗМЕНЕНИЯМ ВНЕШНЕГО ДАВЛЕНИЯ

М.А. Суслов<sup>1</sup>, И.И. Аль-Хаффаф<sup>2</sup>, А.В. Анисимов<sup>1</sup>, Ф.А. Абдрахимов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань, Россия, [makscom87@mail.ru](mailto:makscom87@mail.ru)

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань, Россия, [ibrahimalasady1986@gmail.com](mailto:ibrahimalasady1986@gmail.com)

В растениях одним из физиологических процессов, чувствительных к изменениям абиотических факторов внешней среды является рост. Основное внимание исследователей направлено на изучение реакции растений на изменение таких параметров среды как температура, влажность и т.д., при этом фактор давления остаётся преимущественно «в тени». Кажется невероятным, но по некоторым данным, верхняя граница диапазона гидростатического давления в клетках и тканях растений может достигать 10 МПа (100 атмосфер) [Reygonnet et al., 2014] и в этой связи интересным становится вопрос – способно ли растение «переживать» воздействие повышенного давления атмосферного воздуха? Цель данной работы – на примере растений кукурузы дать характеристику резистентности растений к повышению внешнего давления воздуха на основе данных о скорости роста корней, регистрируемых непосредственно при действии повышенного давления воздуха до 2 МПа. Технический аспект реализации данной цели заключался в разработке и изготовлении специальной камеры высокого давления для интактных растений с прозрачным дном из прочного кварцевого стекла, что позволяет сканировать и получать изображения корней растений непосредственно при действии давления. Полученные изображения обрабатывали в программе *Mac Biophotonics Image J*, где и получали данные о длине корней с точностью до 0.1 мм. Показано, что при воздействии повышенного давления воздуха 2 МПа растения сохраняют начальную скорость роста в течение первых 4 часов экспозиции под давлением (рисунок).

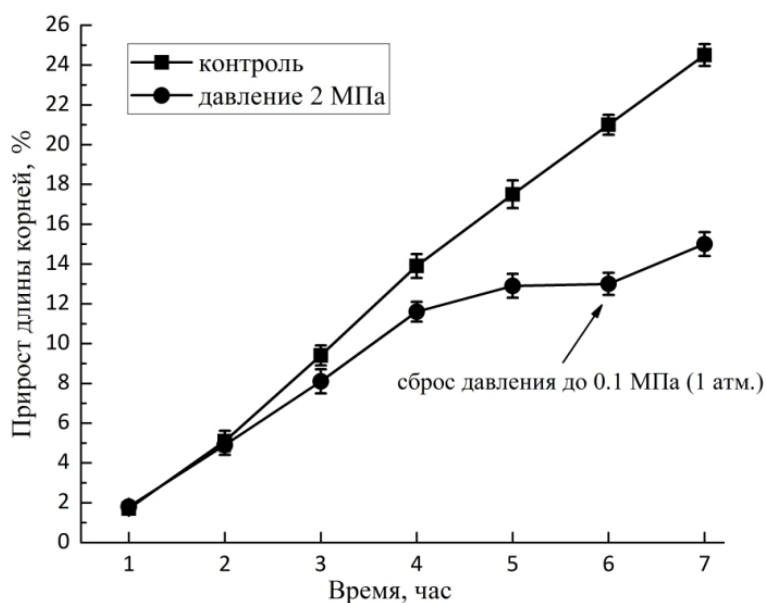


Рисунок. Прирост длины корней 3-х дневных проростков кукурузы (в течение 7 часов) в процентах к первоначальной длине, измеренный для контрольных растений и для растений, подверженных воздействию внешнего давления воздуха 2 МПа.

Снижение скорости роста регистрируется на 5-й час воздействия с полным ингибированием роста к 6-6.5 часам. Однако после сброса внешнего давления до нормального уровня (атмосферное давление) рост корней возобновляется уже в течение первых 30 минут. Очевидно, что растения в природе не испытывают воздействия таких давлений и значение в 2 МПа, что в 20 раз больше атмосферного, при действии в течение 6-7 часов является для них серьёзным стрессом. Но факт быстрого восстановления скорости роста после сброса давления свидетельствует о том, что клетки и ткани растений остаются не повреждёнными, что также подтверждается опытом по окраске корней Эвансом синим (данные не приведены). Таким образом, растения проявляют достаточно высокую устойчивость к такому стрессовому воздействию как повышение внешнего давления до 2 МПа.

#### Литература

Peyronnet R., Tran D., Girault T., Frachisse J.-M. Mechanosensitive channels: feeling tension in a world under pressure // *Front. Plant Sci. (Plant Physiology)*, 2014. – V. 5:558, doi: 10.3389/fpls.2014.00558.



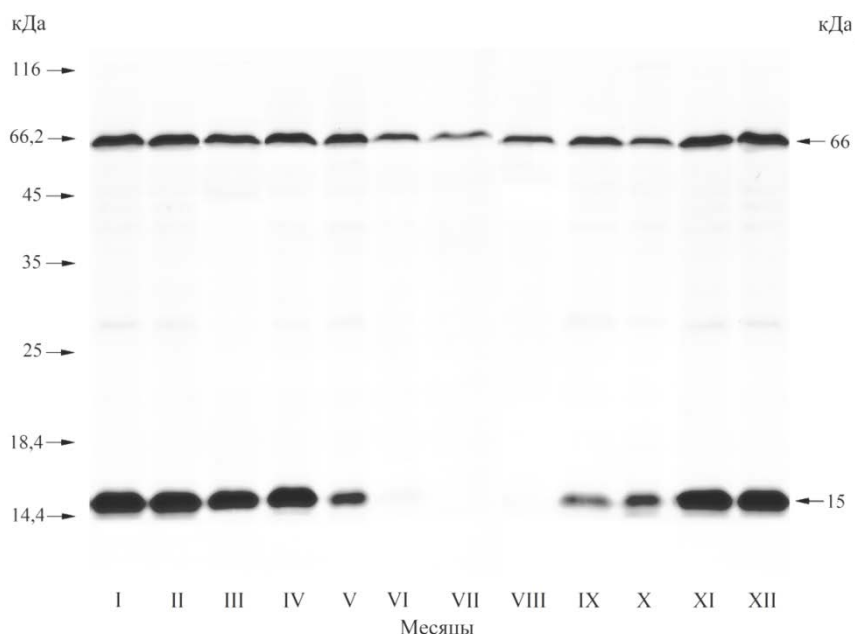
## ДЕГИДРИНЫ ХВОЙНЫХ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ ЭКСТРЕМАЛЬНО НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР КРИОЛИТОЗОНЫ

Т.Д. Татарина, А.А. Перк, В.В. Бубякина, И.В. Васильева, А.Г. Пономарев

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, Россия, [t.tatarinova@gmail.com](mailto:t.tatarinova@gmail.com); [anaponomarev@yandex.ru](mailto:anaponomarev@yandex.ru)

Экстремально низкие температуры (средняя в январе до  $-42^{\circ}\text{C}$ ) и многолетняя мерзлота являются главными факторами, определяющими жизнедеятельность растений в условиях Центральной Якутии. В процессах адаптации древесных растений к холоду, в т. ч. хвойных, важная роль отводится стрессовым белкам-дегидринам [Kontunen-Soppela, Laine, 2001; Korotaeva et al., 2012], вероятно, участвующим в защите биополимеров и мембран клеток от повреждений, вызванных дегидратацией [Hara, 2010]. Целью работы явилось изучение сезонных изменений состава дегидринов основных лесообразующих хвойных пород – сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) и лиственницы Каяндера (*Larix cajanderi* Mayr) в условиях экстремального климата криолитозоны. Сбор образцов (2-летняя хвоя сосны, 1-летние побеги лиственницы) проводили в 2009-2014 гг. в окрестностях г. Якутска ( $62^{\circ}$  с.ш.,  $129^{\circ}$  в.д.). Выделение суммарных белков, аналитический электрофорез, блоттинг белков и идентификацию дегидринов осуществляли как приведено в работе [Ponomarev et al., 2014].

В годовом цикле развития *P. sylvestris* среднемолекулярный 66 кДа дегидрин представлен в хвое во все сезоны с некоторым уменьшением в летние месяцы (рис. 1).

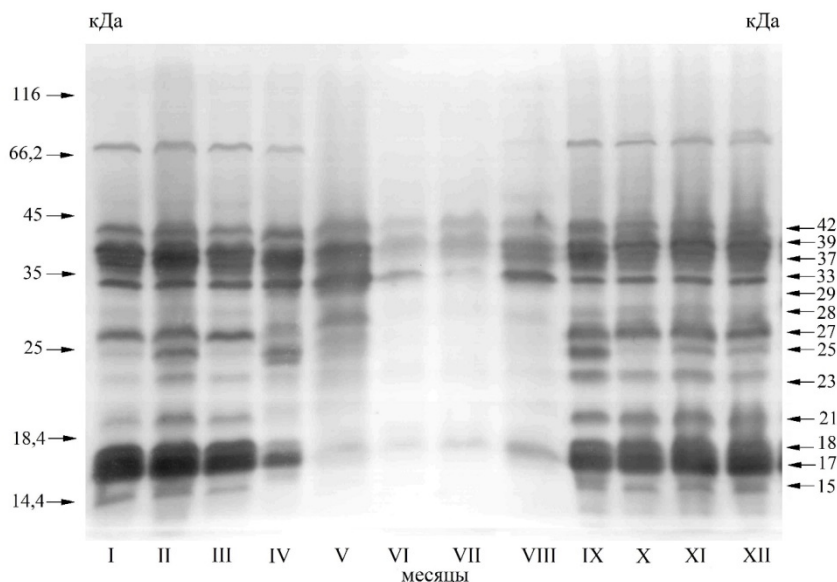


**Рис. 1.** Сезонные изменения дегидринов в хвое сосны обыкновенной Центральной Якутии. Слева указаны молекулярные массы стандартов, справа – молекулярные массы полипептидов.

Наиболее выражена сезонная динамика у низкомолекулярного 15 кДа дегидрина, который полностью отсутствовал во время вегетации и появлялся вновь в начале осени с затуханием роста растений и снижением содержания воды в их тканях. Стабильный уровень этого стрессового белка у сосны во время зимнего покоя предполагает его

вероятную связь с формированием морозостойкости растений. Эти данные согласуются с физиологической ролью дегидринов в противодействии холодовой дегидратации [Kontunen-Soppela, Laine, 2001].

Существенной особенностью дегидринов из побегов лиственницы Каяндера, в отличие от хвои сосны обыкновенной, является их необычайно высокое разнообразие. У всех изученных экземпляров *Larix cajanderi* выявляется почти непрерывный спектр дегидринов в области 14-45 кДа. Ход сезонных изменений дегидринов побегов лиственницы Каяндера в целом аналогичен таковым в хвое сосны обыкновенной (рис. 2).



**Рис. 2. Сезонные изменения дегидринов в побегах лиственницы Каяндера Центральной Якутии. Слева указаны молекулярные массы стандартов, справа – молекулярные массы полипептидов.**

Для побегов лиственницы также свойственны накопление дегидринов в период осенней подготовки растений к покою, их высокий уровень в зимние месяцы (ноябрь-март) и затем спад весной (апрель-май).

Таким образом, впервые у двух хвойных видов растений (*P. sylvestris* и *L. cajanderi*), произрастающих в условиях Центральной Якутии, с использованием специфических антител выявлены стрессовые белки-дегидрины со стабильно высоким уровнем в период зимнего покоя, что предполагает их возможное участие в формировании экстремальной морозостойкости растений криолитозоны.

*Работа выполнена в рамках НИР по проекту № 0376-2014-0006, тема VI.56.1.6.*

#### Литература

- Hara M. The multifunctionality of dehydrins: an overview // *Plant Signal. Behav.*, 2010. – V. 5, N 5. – P. 1-6.
- Kontunen-Soppela S., Laine K. Seasonal fluctuation of dehydrins is related to osmotic status in scots pine needles // *Trees*, 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.
- Ponomarev A.G., Tatarinova T.D., Perk A.A., Vasilieva I.V., Bubyakina V.V. Dehydrins associated with the development of frost resistance of asian white birch // *Russian J. Plant Physiol.*, 2014. – V. 61, N 1. – P. 105-111.

## НОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ МИТОХОНДРИЙ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА *PISUM SATIVUM*

И.В. Уколова, М.А. Кондакова, А.В. Сидоров, Г.Б. Боровский, В.К. Войников

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

Организация и состав суперкомплексов дыхательной цепи митохондрий в различных видах и на разных фазах развития растений активно изучаются в последние 15 лет. Полученные данные позволяют выявить общие закономерности и особенности в строении ЭТЦ митохондрий различных видов растений. Так, обнаружено, что основной ассоциацией дыхательных комплексов в растениях является суперкомплекс I+III<sub>2</sub>, который отличается высокой стабильностью [Chaban et al., 2014]. Остальные суперкомплексы, такие как I+III<sub>2</sub>+IV<sub>1-4</sub> и III<sub>2</sub>+IV, выявлены не во всех изучаемых видах. Это может быть связано как с видовыми особенностями организации ЭТЦ митохондрий, так и с условиями выделения и солюбилизации органелл и проведения голубого нативного электрофореза.

В последнее время большинство исследователей для изучения состава дыхательной цепи митохондрий используют наиболее мягкий неионный детергент дигитонин, который лучше других подобных соединений сохраняет нативную конформацию белков [Wittig et al., 2006; Sunderhaus et al., 2007]. В своей работе мы также использовали дигитонин, а солюбилизацию митохондриальных белков проводили только со свежeweделенными органеллами, обладающими высокой степенью чистоты и интактности, хорошей активностью и сопряженностью процессов окисления и фосфорилирования. Также, для максимального сохранения нативного состояния белковых структур мы использовали более мягкие условия проведения нативного голубого фореза (BNE), снижая концентрацию Кумасси G250 в первой мере разделения после половины пробега в 10 раз.

Ранее Taylor с соавторами [2005] предприняли попытку изучения организации дыхательной цепи митохондрий зеленых растений гороха при помощи более жесткого детергента додецилмальтозида, разбивающего суперкомплексы на отдельные комплексы или более мелкие ассоциации дыхательных комплексов. В результате исследований авторы обнаружили в составе электрон-транспортной цепи только один суперкомплекс I+III<sub>2</sub> и отдельно функционирующие дыхательные ферменты. При помощи методов одномерного и двумерного голубого нативного форезов (1D BNE, 2D BNE/BNE) с последующим энзимографическим окрашиванием ферментативной активности отдельных комплексов в геле, иммуноблоттинга и масс-спектрометрического анализа двумерных 2D BNE/SDS-гелей получены новые данные по организации дыхательной цепи митохондрий проростков гороха. Результаты наших исследований показали, что дыхательная цепь митохондрий этиолированных проростков гороха имеет сложную организацию и в нативном состоянии представлена: мажорным суперкомплексом I+III<sub>2</sub>+IV+NDA; четырьмя респирасомами, включающими разное количество копий комплекса IV (I+III<sub>2</sub>+IV<sub>n</sub>); суперкомплексом III<sub>2</sub>+IV+NDA+NDB; мегакомплексом (II+III<sub>2</sub>+IV)<sub>n</sub> с предполагаемой молекулярной массой около 10000 кДа; а также двумя АТФ-синтасомами, Va и Vb, в состав которых входят альтернативные внутренние (NDA) и внешние (NDB) НАД(Ф)Н-дегидрогеназы и АOX. Подобные отличия между нашими данными и данными Taylor с соавторами [2005] могут быть связаны не только с фазой развития растений гороха, но и с использованием нами более мягкого детергента, щадящими условиями проведения

BNE, а также применением иммунохимического анализа с антителами на альтернативные ферменты.

Присутствие во внутренней мембране митохондрий гороха суперкомплексов, в составе которых обнаружены NDA, NDB и АОХ, а именно: суперкомплексов I+III<sub>2</sub>+IV+NDA, III<sub>2</sub>+IV+NDA+NDB и АТФ-синтазом Va(b)+NDA+NDB+АОХ, является новой информацией, так как ранее считалось, что альтернативные ферменты не связаны с дыхательными надмолекулярными структурами [Eubel et al., 2003]. Обнаруженная ассоциация NDA и NDB с комплексами III<sub>2</sub>+IV образует респирасомоподобную структуру, т.е. автономную мультиферментную машину, выполняющую весь цикл переноса электронов от НАД(Ф)Н на молекулярный кислород. Пока есть только единичные сведения о связи внутренней НАД(Ф)Н-дегидрогеназы Ndi1 с комплексами III<sub>2</sub> и IV в митохондриях *Saccharomyces cerevisiae* [Matus-Ortega et al., 2015]. Ассоциация альтернативных ферментов с АТФ-синтазой обнаружена впервые, и ее функциональную значимость еще предстоит выяснить.

Выявленный мегакомплекс (II+III<sub>2</sub>+IV)<sub>n</sub> также не был ранее обнаружен в митохондриях растений. Более того, считается, что комплекс II не входит в состав суперкомплексов, и имеются лишь единичные сведения о его ассоциации с другими дыхательными ферментами ЭТЦ митохондрий [Acin-Perez et al., 2008].

Помимо обнаруженных суперкомплексов в дыхательной цепи митохондрий гороха все дыхательные комплексы присутствуют и в виде монокомплексов, причём IV-ый комплекс имеет три формы – IVa, IVb и IVc. Комплексы IVa и IVb имеют схожий состав и отличаются дополнительной субъединицей с массой 50 кДа, которая предположительно может выполнять регуляторную функцию.

Полученные результаты дополняют и расширяют имеющиеся данные о составе ЭТЦ растительных митохондрий и позволяют предположить её более сложную нативную организацию, чем считалось ранее.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ, проект № 14-04-01233 а.*

#### Литература

- Acin-Perez R., Fernandez-Silva P., Peleato M.L., Perez-Martos A., Enriquez J.A. Respiratory active mitochondrial supercomplexes // *Mol. Cell*, 2008. – V. 32. – P. 529-539.
- Chaban Y., Boekema E.J., Dudkina N.V. Structures of mitochondrial oxidative phosphorylation supercomplexes and mechanisms for their stabilization // *Biochimica et Biophysica Acta*, 2014. – V. 1837. – P. 418-426.
- Eubel H., Jansch L., Braun H.P. New insights into the respiratory chain of plant mitochondria. Supercomplexes and a unique composition of complex II // *Plant Physiology*, 2003. – V. 133. – P. 274-286.
- Matus-Ortega M.G., Cárdenas-Monroy C.A., Flores-Herrera O., Mendoza-Hernández G., Miranda M., González-Pedrajo B., Vázquez-Meza H., Pardo J.P. New complexes containing the internal alternative NADH dehydrogenase (Ndi1) in mitochondria of *Saccharomyces cerevisiae* // *Yeast*, 2015. – V. 32, N 10. – P. 629-641.
- Sunderhaus S., Eubel H., Braun H.P. Two-dimensional Blue Native/Blue Native polyacrylamide gel electrophoresis for the characterization of mitochondrial protein complexes and supercomplexes // *Methods Mol. Biol.*, 2007. – V. 372. – P. 315-324.
- Taylor N.L., Heazlewood J.L., Day D.A., Millar A.H. Differential impact of environmental stresses on the pea mitochondrial proteome // *Mol. Cell. Proteomics*, 2005. – V. 4. – P. 1122-1133.
- Wittig I., Carozzo R., Santorelli F.M., Schagger H. Supercomplexes and subcomplexes of mitochondrial oxidative phosphorylation // *Biochimica et Biophysica Acta*, 2006. – V. 1757. – C. 1066-1072.

## О ВЛИЯНИИ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ НА ГРИБ-БИОДЕСТРУКТОР *TRICHODERMA VIRENS*

Т.С. Уланова, И.В. Стручкова, В.Ю. Савельев

ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия,  
tanya.ulanova.94@mail.ru

Микроскопические грибы, являясь активными биодеструкторами, могут разрушать различные изделия и сооружения, а также негативно влиять на здоровье человека, поэтому рост этих организмов на промышленных материалах нежелателен. Известны факты усиления роста микромицетов под действием переменных электромагнитных полей (ЭМП) [Nagy, 2004]. Ранее нами также было показано, что ЭМП с промышленной частотой 50 Гц и индукцией 0,5 мТл вызывало активацию роста мицелия *Trichoderma virens* на твердой питательной среде на 19,2% по сравнению с контролем [Есипенок и др., 2015]. Однако отмечается, что частотно-амплитудные зависимости и механизмы этого биоэффекта изучены слабо [Pazur, 2007]. По одной из существующих в настоящее время гипотез, влияние ЭМП на живые организмы связывают с его воздействием на  $Ca^{2+}$  – ион, важный для нормального протекания множества внутриклеточных процессов [Hallen et al., 2008]. Согласно теории циклотронного резонанса [Бинги, 2011], в условиях нашей лаборатории частота ЭМП, совпадающая с частотой резонанса для ионов  $Ca^{2+}$ , равна 34,5 Гц.

В связи с этим целью нашей работы являлось изучение влияния ЭМП 34,5 Гц и амплитудой магнитной индукции 0,5 мТл на ростовые характеристики микромицета *Trichoderma virens* ВКМ F – 1117 – известного биодеструктора промышленных материалов, включенного во многие наборы тест-организмов для лабораторных испытаний грибостойкости и фунгицидности. В работе использовали два варианта посева гриба в центр чашки Петри: конидии инокулировали уколом, мицелий – пробкой. После инокуляции гриб растили на полной питательной среде Чапека-Докса в течение 3-х суток в соленоиде магнитной установки. ЭМП создавалось широкодиапазонным декадным генератором ГЗ-49А с подачей тока через усилитель переменного тока LV 103. Естественное геомагнитное поле не экранировали. Контрольные образцы выращивали без воздействия ЭМП в аналогичных условиях.

Предварительные результаты показали, что ЭМП с частотой 34,5 Гц и амплитудой магнитной индукции 0,5 мТл стимулирует рост микромицета. Влияние ЭМП более выражено на стадии прорастания микромицета.

### Литература

Бинги В.Н. Принципы электромагнитной биофизики. – М.: ФИЗМАТЛИТ, 2011. – 592 с.

Есипенок О.Ю., Уланова Т.С., Стручкова И.В. Слабые низкочастотные магнитные поля как экологический фактор, влияющий на микроскопический гриб *Trichoderma virens* // Принципы и способы сохранения биоразнообразия: Материалы VI Всероссийской конференции с международным участием. – Йошкар-Ола, 2015 г.: Марийский гос. ун-т, 2015. – С. 222-223.

Hallen H.E., Trail F. The L-type calcium ion channel cch1 affects ascospore discharge and mycelial growth in the filamentous fungus *Gibberella zeae* (anamorph *Fusarium graminearum*) // Eukaryotic cell, 2008. – V. 7. – P. 415-424.

Nagy P., Fischl G. Effect of static magnetic field on growth and sporulation of some plant pathogenic fungi // Bioelectromagnetics, 2004. – T. 25. – P. 316-318.

Pazur A., Shimek C., Galland P. Magnetoreception in microorganisms and fungi // Central European Journal of Biology, 2007. – P. 597-659.

## УЧАСТИЕ ВНУТРЕННЕЙ И ВНЕШНИХ НАДН-ДЕГИДРОГЕНАЗ В РАЗВИТИИ ТЕРМОТОЛЕРАНТНОСТИ И ПРОДУКЦИИ АФК В КЛЕТКАХ ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* ПРИ ТЕПЛОВОМ ШОКЕ

И.В. Федосеева, Е.Г. Рихванов, Д.В. Пятрикас, А.В. Степанов, А.В. Федяева, Н.Н. Варакина, Т.М. Русалева, Г.Б. Боровский, В.К. Войников

Федеральное государственное учреждение наук Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Россия, [fedoseeva@sifibr.irk.ru](mailto:fedoseeva@sifibr.irk.ru)

Дыхательная цепь *Saccharomyces cerevisiae*, в отличие от растений и животных, не содержит комплекс I. Однако так же, как и у растений в дрожжевой ЭТЦ функционируют три НАДН-дегидрогеназы (внешние Nde1 и Nde2 и внутренняя Ndi1). НАДН-дегидрогеназы могут участвовать в образовании АФК в клетках дрожжей, но роль данных ферментов в образовании АФК при тепловом воздействии изучена недостаточно. Поэтому целью настоящей работы являлось изучение роли внутренней и внешних НАДН-дегидрогеназ в термотолерантности клеток *S. cerevisiae*. Для этого оценивали жизнеспособность, уровень генерации АФК, митохондриального потенциала и синтез Hsp104, используя мутанты по генам *NDE1*, *NDE2* и *NDI1*.

### Материалы и методы

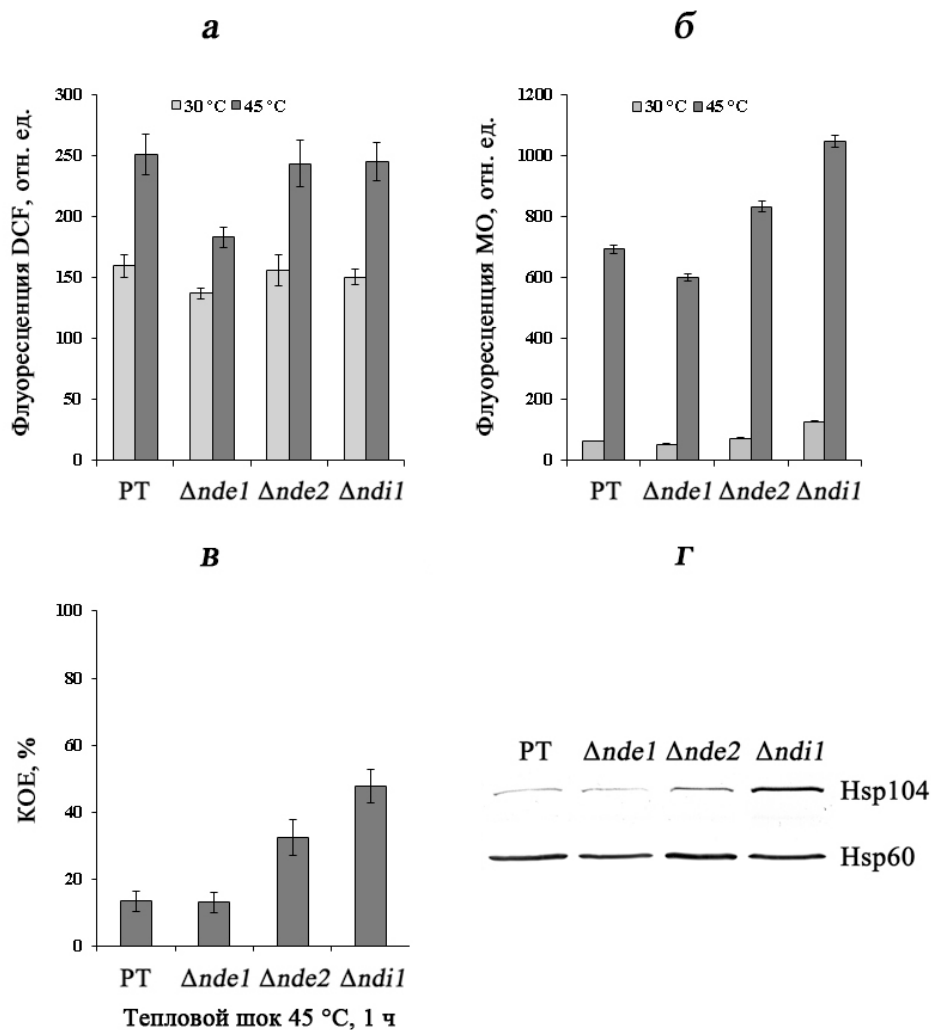
В работе использовали штамм родительского типа *S. cerevisiae* W303-1A и изогенные ему мутанты по генам, кодирующим внешние ( $\Delta nde1$ ,  $\Delta nde2$ ) и внутреннюю НАДН-дегидрогеназу ( $\Delta ndi1$ ), находящиеся в стационарной фазе. Выращивание дрожжей, определение термотолерантности, уровня генерации АФК, митохондриального потенциала, выделение белков и вестерн-блоттинг проводили согласно ранее опубликованным методикам [Rikhvanov et al., 2005].

### Результаты и обсуждение

Переход в стационарную фазу характеризуется повышением термотолерантности и повышением конститутивного синтеза Hsp104. Экспрессия генов *NDE1* и *NDE2* также повышается в стационарной фазе. Тепловой шок 45 °С индуцировал в клетках дрожжей штамма родительского типа (РТ) повышение продукции АФК (рис. 1а). Повышение продукции АФК сопровождалось повышением митохондриального мембранного потенциала (рис. 1б). В клетках мутанта, у которого отсутствует ген *NDE1*, наблюдалось пониженное образование АФК и одновременно происходило снижение митохондриального мембранного потенциала. Различий по продукции АФК и митохондриальному мембранному потенциалу не наблюдалось у мутанта  $\Delta nde2$  по сравнению с клетками родительского типа. У мутанта  $\Delta ndi1$  уровень АФК оставался на том же уровне, что и в клетках родительского типа при тепловом шоке, однако значение митохондриального мембранного потенциала было выше.

Чтобы изучить роль НАДН-дегидрогеназ в развитии термотолерантности, клетки подвергали тепловому шоку 45 °С. Полученные результаты показали, что наибольшей устойчивостью обладали клетки мутанта  $\Delta ndi1$  (рис. 1в). Клетки мутанта  $\Delta nde2$  также были более устойчивы к тепловому шоку. Клетки мутанта  $\Delta nde1$  не отличались по термотолерантности от клеток родительского типа.

Чтобы изучить связь между термотолерантностью и синтезом БТШ, анализировали содержание Hsp104. В стационарной фазе у дрожжей Hsp104 синтезируется конститутивно. Мутация *ndi1* приводила к повышению количества Hsp104. В клетках мутанта  $\Delta nde2$  количество белка также превышало контрольный уровень, а у  $\Delta nde1$  количество Hsp104 не отличалось от клеток штамма родительского типа (рис. 1г).



**Рис. 1.** Влияние делеций генов *NDE1*, *NDE2* и *NDI1* на уровень АФК (а), митохондриальный мембранный потенциал (б), термотолерантность (в) и синтез БТШ (г) в клетках дрожжей *S. cerevisiae*

Таким образом, мутации в генах *NDE2* и *NDI1* приводят к увеличению термотолерантности. Повышение термотолерантности объясняется увеличением конститутивного синтеза Hsp104. Делеция гена *NDE1* приводила к снижению продукции АФК, однако это никак не влияло на термотолерантность и синтез Hsp104 в стационарной фазе. Хотя мы не наблюдали повышенный уровень АФК у  $\Delta ndi1$  мутанта, можно предположить, что делеция этого гена всё же приводит к повышению уровня АФК при обычной температуре инкубации. Это сопровождается повышением конститутивного синтеза Hsp104, а также антиоксидантных ферментов, таких как супероксиддисмутаза, каталаза и др. Повышение активности антиоксидантных ферментов компенсирует увеличение продукции АФК у  $\Delta ndi1$  мутанта при тепловом шоке.

#### Литература

Rikhvanov E.G., Varakina N.N., Rusaleva T.M., Rachenko E.I., Knorre D.A., Voinikov V.K. Do mitochondria regulate the heat-shock response in *Saccharomyces cerevisiae*? // Curr. Genet., 2005. – V. 48. – P. 44-59.

# ИЗМЕНЕНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА КАК УНИВЕРСАЛЬНАЯ РЕАКЦИЯ КЛЕТОК РАСТЕНИЙ НА СТРЕССОРЫ АБИОТИЧЕСКОЙ ПРИРОДЫ

А.В. Федяева<sup>1</sup>, И Ли<sup>2</sup>, И.В. Любушкина<sup>1</sup>, Е.Г. Рихванов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, *fedyayeva.anna@mail.ru*

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО Иркутский ГАУ, Иркутская обл., Иркутский р-он, п. Молодежный, Россия, *li05161020@163.com*

Стрессовые воздействия абиотической и биотической природы приводят к усилению генерации активных форм кислорода (АФК) [Zhang et al., 2009]. Митохондрии являются одним из сайтов генерации АФК [Navrot et al., 2007]. Общепринято, что повреждающее стрессовое воздействие вызывает снижение митохондриального потенциала (МП), что приводит к усилению продукции АФК [Vianello et al., 2007]. Однако есть факты указывающие, что на ранней стадии может наблюдаться повышение МП. Поэтому в данной работе изучили, как температурное воздействие и обработка гербицидом диуроном влияют на изменение МП в культуре клеток растений.

## Материалы и методы

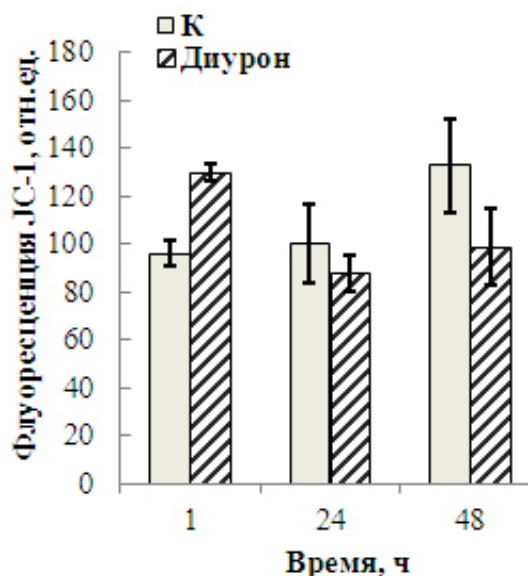
В работе использовали культуры клеток озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) и арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana*). Изменение МП оценивали по флуоресценции красителя JC-1 (красный канал) с помощью флуоресцентного микроскопа Axio Observer Z1.

## Результаты

Было выявлено, что на ранней стадии тепловое (45 °С, 30 мин) и холодное (–8 °С, 1 ч) воздействие приводит к повышению МП в клетках озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Повышение МП сопровождалось усилением продукции АФК и гибелью клеток [Lyubushkina et al., 2014; Федяева и др., 2014].

На следующем этапе изучили влияние гербицида диурона на изменение МП в культуре клеток *A. thaliana*.

Диурон (200 мкМ) вносили в культуру клеток (100 мкл) арабидопсиса и инкубировали 1, 24, 48 ч. Через вышеуказанные промежутки времени оценивали жизнеспособность, морфологию клеток и изменение МП (рисунок). Как видно из диаграммы (рисунок) через час после внесения диурона в культуру клеток происходило повышение МП. Однако после 24 и 48 ч инкубации с диуроном наблюдалось снижение потенциала до контрольного уровня.



**Рисунок.** Изменение уровня митохондриального мембранного потенциала в клетках культуры *A. thaliana* после внесения 200 мкМ диурона. Параметр определяли через 1, 24, 48 ч. **Обозначения:** К – контрольная культура клеток, инкубируемая при 26 °С. Диурон – культура клеток, инкубируемая при 26 °С в присутствии диурона. n=3, M±S.E.



### Обсуждение

В работе показано, что тепловое и холодное воздействие, а также обработка гербицидом диуроном приводили к повышению МП в клетках растений, если измерение МП проводили сразу же (10-60 мин) после воздействия. Очевидно, что после более продолжительного воздействия повышение МП не происходит и может наблюдаться его снижение [Lyubushkina et al., 2014; Федяева и др., 2014]. Поскольку абиотические воздействия различной природы приводят к одному и тому же эффекту, повышению МП, то это явление можно рассматривать как универсальную реакцию растений на стрессовое воздействие.

Таким образом, подобно температурному воздействию, гербицид диурон приводит к изменению митохондриального мембранного потенциала.

*Коллектив авторов выражает благодарность за помощь в научной работе А.В. Сидорову и А.В. Степанову.*

### 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.

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.

Navrot N., Rouhier N., Gelhaye E., Jacquot J-P. Reactive oxygen species generation and antioxidant systems in plant mitochondria // Physiologia Plantarum, 2007. – V. 129. – P. 185-195.

Vianello A., Zancani M., Peresson C., Petrusa C., Casolo V., Krajnakova J., Patui S., Braidot E., Macrı F. Plant mitochondrial pathway leading to programmed cell death // Physiologia Plantarum, 2007. – V. 129. – P. 242-252.

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.

## НЕКОТОРЫЕ ЗАЩИТНЫЕ РЕАКЦИИ ТУГАЙНОЙ РАСТИТЕЛЬНОСТИ НА АНТРОПОГЕННЫЕ ФАКТОРЫ

Х.К. Хайдаров, Й.Ш. Ташпулатов, Ё.Б. Мукумов

Самаркандский госуниверситет им. А. Навои, Республика Узбекистан,  
*haydarov@rambler.ru*

Пойменная растительность, или тугаи, Центральной Азии занимают особое место среди богатого разнообразия мировой флоры, являясь уникальными объектами дикой природы. Благодаря этому тугаи включены во Всемирный список 200 экосистем Всемирного Фонда Охраны Природы.

Тугайные заросли ранее были широко распространены в Центральной Азии. За последние 60-70 лет под влиянием абиотических, биотических и антропогенных факторов произошло сокращение их площадей, а естественное и искусственное возобновление происходит очень медленно. В результате этого в настоящее время от них остались лишь небольшие участки в бассейнах рек Атрек, Мургаб, Теджен, Тарим, Чу, Или, Зарафшан, Сырдарья и Амударья.

На сокращение площадей тугайных зарослей существенное влияние оказывают антропогенные факторы (сельское хозяйство, засоление, эксплуатация ирригационных сооружений и промышленных объектов). Они страдают от неустойчивого использования лесных ресурсов местным населением – в них происходит интенсивная пастьба скота, рубка леса, пожары, сбор лекарственных трав.

В результате выпрямления речных русел, зарегулирования стока многих равнинных рек возникают нарушения в гидрохимическом и гидробиологическом режиме. Помимо этого катастрофические наводнения, увеличение сброса азота и фосфора в водоемы и водотоки привело к гибели ландшафтов речных пойм. И все эти факторы приводят к замедлению роста и развития, а иногда и к гибели тугайной растительности.

В ответ на экстремальные воздействия в растениях происходят разнообразные перестройки биологических и физиологических процессов, направленные на адаптацию организма к новым условиям и повышение устойчивости.

Учитывая актуальность данной темы, нами были организованы экспедиции по тугаям поймы рек Амударья, Сырдарья, Зарафшана, для чего были выбраны участки, где проводились исследования по изучению защитной реакции тугайной растительности к антропогенным факторам. При этом особое внимание уделялось местам, где происходили пожары и рубка леса.

Как известно, пожары наносят серьезные травмы деревьям, ослабляют их, обуславливают образование ветровала и бурелома, снижают водоохранно-защитные и другие полезные функции, способствуют размножению вредных насекомых. Воздействуя на все компоненты леса, они вносят серьезные изменения в лесные биогеоценозы и экосистемы в целом. Наблюдения за растениями опытного участка показали, что в первый год после пожара не смогли восстановиться *Lycium turcomanicum*, *Suaeda arcuata*, *Atriplex tatarica*, *Zygophyllum oxianum*, *Melilotus officinalis*, *Bromus lanceolatus*, *Kochia scoparia*, *Erigeron canadensis*, *Bromus tectorum*, *Polygonum aviculare*.

Из всех растений вегетативно разрослись *Karelinia caspia*, *Potentilla reptans*, которые после пожара снова прошли этапы своего индивидуального развития, находясь на стадии цветения, и которые увеличили свою численность. Этот факт мы объясняем наличием почек возобновления у этих растений, расположенных на веретеновидных

утолщенных корнях, от которых и произошло отрастание новых побегов, как и у *Centaurea squarrosa*.

Низкочувствительным к пожару оказались *Calama grostisdubia* и *Phragmitis communis*, средняя высота стебля у которых составила 3 см. Плотная дерновина при прохождении огня этого вида обгорает лишь с поверхности, при этом узел кушения не повреждается, и растение быстро отрастает.

Дерновинный крупный злак *Erianthus ravennae* полностью отрос в первый год после пожара и достигал в высоту 30 см, причем интенсивность этого процесса приближалась к естественному процессу осеннего отрастания на участках, не тронутых пожаром. Такая закономерность в особенностях восстановления этого злака была так же отмечена и другими учеными. Восстановление в первый год после пожара было зафиксировано нами и у *Acroptilon repens* за счет корневых отпрысков.

Большинство видов тугайных растений формирует свои заросли после пожара путем вегетативного размножения, которое осуществляется у них с помощью корнеотпрысков. К таким видам относятся *Halimodendron halodendron*, *Glycyrrhiza glabra*, *Trachomitum scabrum* и многие корневищные злаки.

Как было указано выше, особый ущерб причиняет тугаям рубка деревьев местным населением. Естественное возобновление деревьев на вырубках происходит преимущественно вегетативным способом. В то же время восстанавливающиеся насаждения после сплошной рубки по хозяйственной ценности менее значительны. Неблагоприятные условия и отмирание скелетных ветвей приводит к просыпанию спящих почек в базальной части ствола *Elaeagnus angustifolia*, *Hippophae erhamnoides* и видов рода *Populus* в природных древостоях, с формированием жизненной формы – порослеобразующее дерево. Такие побеги растут очень быстро и достигают 100-300 см в год.

Наши наблюдения показали, что некоторые тугайные растения, такие как *Elaeagnus angustifolia*, *Tamarix hispida*, *Glycyrrhiza glabra* в зависимости от изменения внешних условий приобрели гигрофитные, мезофитные, ксерофитные и даже галофитные признаки. Это можно рассматривать как эволюционно predetermined реакцию видов на неблагоприятные эдафические условия существования. В процессе своего онтогенеза они проявляют чрезвычайную пластичность по отношению к засолению. Например, такие виды растений как *Elaeagnus angustifolia*, *Tamarix hispida*, *Populus diversifolia*, *P. pruinosa*, *Glycyrrhiza glabra* показали, что от всходов до зрелого возраста переживают серию экологических этапов как от гидроморфного незасоленного к солончаковому, затем к автоморфному.

У некоторых растений хорошо развито вегетативное размножение при помощи отводков, корневых отпрысков, порослью и вегетативными побегами. После обрезки ветвей любая наклонившаяся и прикоснувшаяся к влажной земле ветвь может укорениться, и это тоже одно из явлений защитной реакции растений. К таким растениям относятся *Elaeagnus angustifolia*, *Tamarix hispida* – виды рода *Salix* и *Populus*.

Таким образом, формирование устойчивости растений к неблагоприятным биотическим факторам представляет собой сложный, многокомпонентный процесс, включающий как специфические, так и общие (неспецифические) реакции.

## БИОХИМИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ВЫСШИХ ГРИБОВ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ СЕЛЕНОРГАНИЧЕСКИХ КСЕНОБИОТИКОВ

О.М. Цивилева<sup>1</sup>, О.А. Цымбал<sup>2</sup>, А.Н. Панкратов<sup>2</sup>, Я.Б. Древко<sup>3</sup>, А.И. Перфильева<sup>4</sup>,  
А.В. Маркин<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов, Россия, *tsivileva\_o@ibppm.ru*

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет» им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия, *olegtsymbal1990@yandex.ru*

<sup>3</sup>ФГБОУ ВПО «Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова», Саратов, Россия, *drevkoyar@gmail.com*

<sup>4</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, *alla.light@mail.ru*

Развитие, которое получила химия селенорганических соединений за последние 20-30 лет, обусловлено их высокой реакционной способностью и практической значимостью. В начале XXI века стали известны бициклические бензаннелированные селеносодержащие гетероциклические соединения. Синтетические селеноорганические соединения являются перспективными объектами микробиологических исследований в связи с такими аспектами, как необходимость поиска нетоксичных прекурсоров элементного селена, новых биоматериалов и субстанций с антиоксидантными свойствами, новых антибактериальных препаратов [Chan et al., 2007; Pietka-Ottlik et al., 2008].

В данной работе использовали следующие селенорганические соединения: (1) 1,5-дифенил-3-селенпентандион-1,5 (диацетофенонилселенид, бис(бензоилметил)селенид, препарат ДАФС-25); (2) 2,4-дифенил-7,8-бензо-5,6-дигидро-4*H*-селенохромен; (3) 2-(*p*-бромфенил)-4-фенил-7,8-бензо-5,6-дигидро-4*H*-селенохромен; (4) перхлорат 2,4-дифенил-7,8-бензо-5,6-дигидроселенохромилия.

Базидиальные культивируемые грибы рассматриваются как перспективное экологически чистое сырье для создания лечебно-профилактических и медицинских препаратов широкого спектра действия. Селенизированный мицелий лекарственных грибов – ценное сочетание пищевого продукта с высокой биологической активностью природных комплексов. Стало очевидным резкое снижение токсичности вводимого в организм селена при переходе от селенита натрия к элементному селену Se(0) и сохранение при этом положительной регуляторной функции экзогенного селена в отношении селеноферментов. Используемые в настоящее время способы получения субмикроселена не удовлетворительны с точки зрения токсичности прекурсоров Se(0).

Нами показано [Tsymbal, 2015], что биохимический отклик на присутствие органического селенида (1) в культурах более 20 штаммов лекарственных грибов – биодеструкция до Se(0). Интересно, что в процессе генезиса элементного селена в грибных культурах поверхность мицелия стабилизирует его аморфную красную форму, то есть неустойчивую аллотропную модификацию селена. Серый селен также выявлен нами в этих условиях с использованием методов спектроскопии комбинационного рассеяния (КР) света и трансмиссионной электронной микроскопии. Значения комбинационного сдвига в спектрах КР образцов селена, отвечающие валентным колебаниям связей Se-Se, полностью согласуются с данными литературы для красного и серого селена. Очевидно, при деструкции органического селенида микокультурами первоначально образующийся красный селен способен переходить в термодинамически более устойчивую кристаллическую серую аллотропную

модификацию при комнатной температуре. В абиотических условиях самопроизвольный переход твёрдого красного селена в серый начинается лишь при температуре не ниже 110 °С. По-видимому, тонкодисперстное состояние селена в момент выделения в жидкой среде снижает энергию активации фазового перехода.

Выявлена корреляция сайтов локализации селена и серы при получении из органического селенида субмикрочастиц селена с использованием высших грибов. С использованием метода сканирующей электронной микроскопии получали изображение исследуемого участка образца мицелия путем регистрации отраженных электронов, а также карты распределения атомов селена и серы посредством метода энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии. Выделены участки с микрочастицами, из которых видно, что в местах наибольшей концентрации Se увеличена и концентрация атомов S. Обнаруженное частичное совпадение мест локализации селена и серы свидетельствует о выделении селена в местах локализации атомов серы. Это согласуется с предположением о роли аминокислотных остатков L-цистеина как восстановителей органического селенида до элементного селена.

Оказалось, что среди биотехнологически важных ответных реакций культур высших грибов на воздействие Se-ксенобиотиков – образование субстанций с антибактериальными свойствами. При изучении антимикробной активности продуктов метаболизма селенорганических соединений грибами культуры особый интерес для нас представляли гибридные органо-неорганические биоконпозиты потенциально антимикробного элементного селена, получаемые на основе внеклеточных метаболитов лекарственных базидиомицетов [Tsybmal et al., 2015]. Первоначально нами выявлен бактерицидный эффект образцов на основе *Ganoderma applanatum* в отношении *Staphylococcus aureus*. В дальнейшей работе использовали объекты исследования – ксилотрофные базидиомицеты родов *Ganoderma*, *Grifola*, *Laetiporus*, *Lentinula*, *Pleurotus*, фитопатогенные бактерии *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* (Cms) (СИФИБР СО РАН), *Micrococcus luteus*, *Pectobacterium carotovorum* ssp. *carotovorum*, *Pectobacterium atrosepticum*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas viridiflava*, *Xanthomonas campestris* (ИБФРМ РАН). Селен-содержащие внеклеточные изоляты получали на основе культур грибов, выращенных в присутствии селенорганических соединений (1-4).

Выявлено определяющее влияние природы Se-соединения как компонента питательных сред гриба на изучаемую биологическую активность. Обнаружена бактериостатическая и бактерицидная активность исследованных субстанций, изготовленных с использованием грибов рода *Ganoderma*, в отношении Cms. Показаны видоспецифические особенности проявления антибактериального эффекта селеновых биоконпозитов, полученных на основе грибов разных видов. Новые данные об антибактериальной активности культур макробазидиомицетов содействуют осуществлению выделения и очистки в дальнейшем антимикробных продуктов грибного происхождения.

#### Литература

Chan G., Hardej D., Santoro M., Lau-Cam C., Billack B. Evaluation of the antimicrobial activity of ebselen: role of the yeast plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase // J. Biochem. Mol. Toxicol., 2007. – V. 21, N 5. – P. 252-264.

Pietka-Ottlik M., Wójtowicz-Młochowska H., Kołodziejczyk K., Piasecki E., Młochowski J. New organoselenium compounds active against pathogenic bacteria, fungi and viruses // Chem. Pharm. Bull. (Tokyo), 2008. – V. 56, N 10. – P. 1423-1427.

Tsybmal O.A., Tsivileva O.M., Pankratov A.N., Markin A.V. Promising biomedical potential of the mushrooms mycelia enriched with selenium // Russian Immunological Journal, 2015. – V. 9(18), N 2(1). – P. 767-769.

## ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА ХВОЙНЫХ В УСЛОВИЯХ ХАРАКТЕРНОГО ДЛЯ ФЕННОСКАНДИИ ДЕФИЦИТА БОРА

Н.П. Чернобровкина, Е.В. Робонен

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт леса Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Россия, *chernobrovkina50@bk.ru*

Дефицит бора для растительности отмечается во многих регионах по всему миру. Это Новая Зеландия, Скандинавские страны, Западное Забайкалье, Северо-Запад России [Wikner, 1983; Lehto et al., 2000; Ивонис, Чернобровкина, 2002; Чернобровкина и др., 2007, 2008, 2015; Кашин, 2012; Davis, 2015]. Разрабатываются рекомендации по внесению борных удобрений в хвойных лесах [Saarsalmi, 2005; Davis, 2015]. Дополнительное обеспечение бором древесных растений повышает интенсивность поглощения элементов питания, процессов фотосинтеза, роста, семеношения, способствует повышению устойчивости к засухе и формированию микоризных окончаний. С целью изучения механизмов адаптации хвойных растений к дефициту бора и для разработки методов диагностики обеспечения их бором необходимы сведения, касающиеся физиолого-биохимических показателей хвойных в связи с борным обеспечением.

На примере сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в условиях южной Карелии при выращивании двухлетних сеянцев в лесных питомниках, а также 10-летних растений в лесных культурах было проведено исследование показателей роста и семеношения, содержания азота, аминокислот, липидов, жирных кислот и фенольных соединений в хвое при естественном дефиците бора, характерном для большей части территории в Карелии, а также при дополнительном борном обеспечении.

Содержание бора в органах сеянцев сосны зависело от уровня минерального питания и варьировало в широком диапазоне (6 – 461 мг (кг сухого вещества)<sup>-1</sup>). Большая часть бора локализовалась в хвое, где его содержание изменялось под воздействием обеспеченности бором растений в наибольшей степени по сравнению с другими органами. Повышение биомассы сеянцев в результате внесения в почву определенных доз борной кислоты в условиях лесного питомника свидетельствовало о дефиците бора для их оптимального роста. Внесение в почву макро- и микроэлементов способствовало снижению поступления бора в хвою.

Опрыскивание 10-летней сосны обыкновенной водными растворами борной кислоты и сернокислого цинка не повлияло на прирост верхушечного и боковых побегов, на размеры и массу хвои, но способствовало увеличению числа деревьев с макростробилами и мужскими побегами.

Общее содержание липидных соединений в хвое сеянцев сосны при дефиците бора было повышенным. Дополнительное обеспечение бором растений способствовало снижению содержания липидных соединений в хвое. Одной из причин последнего могло быть стимулирование использования липидов в хвое сеянцев при оптимизации их борного обеспечения. При низком обеспечении бором сеянцев сосны отмечался повышенный уровень короткоцепочечных жирных кислот в хвое. При этом наблюдалось увеличение суммы ненасыщенных жирных кислот липидов и индекса ненасыщенности жирных кислот хвои в основном за счет содержания линоленовой и гексадекатриеновой кислот. При неблагоприятных условиях борного питания сеянцев происходило повышение содержания не только ненасыщенных, но и короткоцепочечных ЖК. Повышенный их уровень в суммарных липидах хвои при неблагоприятных условиях борного питания, по-видимому, способствовал адаптации хвойного растения к таким условиям.

В условиях дефицита бора у сеянцев сосны обыкновенной отмечался низкий уровень свободных аминокислот в хвое. Оптимизация борного питания сеянцев повышала азотный статус хвойного растения, очевидно, путем стимуляции синтеза аминокислот и белков в хвое, поскольку отмечалось повышение содержания общего, белкового, небелкового азота и суммы свободных аминокислот. При этом содержание большинства свободных аминокислот в хвое увеличивалось. Отмечалась тенденция к снижению уровня пролина, лейцина и орнитина, а содержание лизина, фенилаланина, глицина и гистидина снижалось.

При искусственном инфицировании двухлетних сеянцев сосны обыкновенной грибом *Phacidium infestans* на низком и оптимальном фонах минерального питания, отмечали гибель растений в условиях дефицита бора и в вариантах с высокой дозой борной кислоты. Инокуляция фацидиозом приводила к повышению содержания фенольных соединений в хвое во всех вариантах эксперимента, кроме оптимального по бору, который характеризовался максимальной устойчивостью сеянцев к воздействию патогена. Предполагается, что при внесении указанных доз борной кислоты под сеянцы происходит изменение метаболизма фенольных соединений в растениях, которое, в свою очередь, и повышает устойчивость сеянцев к заражению.

*Исследования выполнены с использованием оборудования Центра коллективного пользования «Аналитическая лаборатория» Института леса КарНЦ РАН.*

*Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных исследований ОБН РАН «Биологические ресурсы России: динамика в условиях глобальных климатических и антропогенных воздействий» в рамках проекта № 01201257867 и бюджетной темы № гос. регистр. 01201353234.*

#### Литература

- Ивонис И.Ю., Чернобровкина Н.П. Влияние микроэлементов и гибберсиба на рост и семеношение сосны обыкновенной // Лесоведение, 2002. – № 3. – С. 79-84.
- Кашин В.К. Бор в почвах и растениях Западного Забайкалья // Почвоведение, 2012. – № 4. – С. 421-428.
- Чернобровкина Н.П., Дорофеева О.С., Ильинова М.К., Робонен Е.В., Верещагин А.Г. Жирнокислотный состав суммарных липидов хвои сеянцев сосны обыкновенной в связи с обеспеченностью бором // Физиология растений, 2008. – Т. 55, № 3. – С. 404-411.
- Чернобровкина Н.П., Робонен Е.В. Содержание азота, бора и аминокислот в хвое сеянцев сосны обыкновенной при регуляции азотного и борного обеспечения // Тр. КарНЦ РАН, 2015. – № 12. – С. 35-44.
- Чернобровкина Н.П., Робонен Е.В., Иготти С.А., Дорофеева О.С., Шенгелия И.Д. Влияние обеспеченности бором сеянцев сосны обыкновенной на рост в различных условиях минерального питания // Лесоведение, 2007. – № 4. – С. 1-8.
- Davis M., Henley D., Coker G., Smaill S. Effect of boron application on tree form and growth in young *Pseudotsuga menziesii* trees in montane sites in the South Island of New Zealand // New Zealand Journal of Forestry Science, 2012. – V. 42. – P. 47-55.
- Lehto T., Kallio E., Aphalo P.J. Boron mobility in two coniferous species // Ann. Bot., 2000. – V. 86. – P. 547-550.
- Saarsalmi A., Tamminen P. Boron, phosphorus and nitrogen fertilization in Norway spruce stands suffering from growth disturbances // Silva Fennica, 2005. – V. 39. – P. 351-364.
- Wikner B. Distribution and mobility of boron in forest ecosystems // Communications Institution Forestalis Fenniae, 1983. – N 116. – P. 131-141.

## ВЛИЯНИЕ КРАТКОВРЕМЕННЫХ ЕЖЕСУТОЧНЫХ ПОНИЖЕНИЙ ТЕМПЕРАТУРЫ В ТЕМНОТЕ И НА СВЕТУ НА РОСТ И УРОЖАЙНОСТЬ РАСТЕНИЙ

Т.Г. Шibaева, Е.Г. Шерудило, А.Ф. Титов

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Россия, [shibaeva@krc.karelia.ru](mailto:shibaeva@krc.karelia.ru)

В контролируемых условиях внешней среды на примере нескольких видов теплолюбивых растений (*Cucumis sativus* L., *Lycopersicon esculentum* Mill., *Capsicum annuum* L.) установлено, что влияние на растения кратковременных (2 ч) ежесуточных низкотемпературных (8-12 °С) воздействий (ДРОП, от англ. *drop* – падение) в значительной мере может различаться в зависимости от того осуществляется оно в присутствии света (в начале дня) или в темноте (в конце ночи). При действии ДРОП на свету снижение биометрических показателей растений (высота, площадь и число листьев, биомасса) было значительно заметнее, чем при действии ДРОП в темноте (табл.). Так, например, растения разных видов, подвергавшиеся световому ДРОП, имели площадь листьев на 22-37% меньше, чем у контрольных растений, в то время как растения, испытывавшие темновой ДРОП, отличались от контрольных на 12-21%. Имеются данные, что при снижении температуры на свету у некоторых видов экспрессируются гены, участвующие в инактивации гиббереллинов, тогда как в темноте это не происходит [Stavang et al., 2007]. Однако ДРОП оказывает влияние на линейный рост растений и на свету, и в темноте, хотя во втором случае слабее, чем в первом. Это говорит о том, что торможение скорости роста может происходить и вследствие не связанного с гиббереллинами краткосрочного охлаждения тканей. Отмеченное в наших опытах уменьшение площади листьев растений в результате действия ДРОП на свету и в темноте можно считать весьма положительным с практической точки зрения, так как в основном нежелательное при выращивании рассады удлинение стебля происходит в то время, когда листья соседних растений начинают затенять друг друга в условиях плотной посадки. Более ощутимое снижение биомассы при понижении температуры на свету, вероятно, объясняется фотоингибированием, которое может рассматриваться как адаптивный механизм «подстройки» фотосинтетических процессов к существующим световым условиям при неблагоприятной температуре. Это подтверждается более низкими значениями потенциального квантового выхода фотохимической активности ФСII ( $F_v/F_m$ ) и более высокой интенсивностью перекисного окисления липидов (ПОЛ), оцениваемого по содержанию МДА, в случае действия ДРОП на свету (табл.). Снижение количества фотосинтетических пигментов, возможно, тоже вносит определенный вклад в торможение процесса накопления биомассы растениями, т.к. их содержание уменьшается при световом ДРОП сильнее, чем при темновом ДРОП (табл., рис.). У растений томата и перца отмечался больший прирост устойчивости клеток листа к 5-минутному промораживанию в результате действия ДРОП на свету (табл.).

Оценка влияния последствия ДРОП на хозяйственную продуктивность растений, высаженных в теплицы, показала, что темновой ДРОП, применявшийся в период выращивания рассады, не влияет на общую урожайность томата, перца и огурца, но увеличивает раннюю урожайность томата и перца (табл.), что для этих культур весьма важно, т.к. реализационная цена ранней продукции значительно выше, чем поздней. Световой ДРОП или не оказывал влияния на урожайность по сравнению с контролем, или даже приводил к ее снижению.

Полученные данные согласуются с мнением о том, что необходимо различать фотоингибирование при низких температурах и действие холода в отсутствие света (в



ночное время), так как «мишени» низкотемпературного действия в первом и втором случаях могут быть разные и, соответственно, отклик растений может быть неодинаковым. Вполне очевидно, что свет способен усиливать негативное влияние холода на растения, вызывая в условиях низких температур более глубокие нарушения и/или повреждения в реакционных центрах фотосистем.

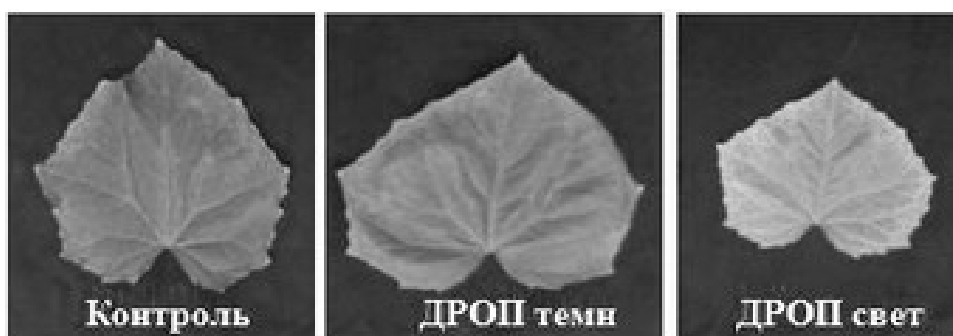
**Таблица**

**Влияние ДРОП в темноте (Т) и на свету (С) на рост, содержание хлорофиллов и МДА, величину  $F_v/F_m$ , холодоустойчивость (ХУ), раннюю и общую урожайность растений**

Показатель	Огурец		Перец		Томат	
	Т	С	Т	С	Т	С
Сухой вес растения	80*	55*	96	73*	86	58*
Площадь листьев	79*	63*	92	78*	88*	74*
Высота растения	88*	74*	78*	81*	95*	83*
Число листьев	79*	82*	94*	93*	97	104
Содержание Хл <i>a + b</i>	101	59*	99	95	95	76*
Содержание МДА	104	119*	92	108*	108	92
$F_v/F_m$	0.811	0.795*	0.806*	0.800*	0.817	0.809*
Прирост ХУ, °С	1.8*	1.6*	2.0*	2.7*	2.8*	3.4*
Ранняя урожайность	112	51*	150*	100	115*	99
Общая урожайность	113	60*	102	94	98	92

Сухой вес растения, площадь листьев, высота растения, число листьев, содержание Хл, МДА, ранняя и общая урожайность представлены в % от контроля (показатели контрольных растений приняты за 100%). Значения  $F_v/F_m$  представлены в абсолютных величинах, а прирост ХУ означает увеличение ХУ по отношению к контролю.

\*- значимые различия с контролем (при  $P < 0.05$ )



**Рисунок. Листья растений *Cucumis sativus* L., выращенных при температуре дня и ночи 26/20 °С (контроль) и подвергавшихся действию ежесуточных понижений температуры до 9 °С в конце ночи (ДРОП темновой) или в начале дня (ДРОП световой)**

#### Литература

Stavang J.A., Junttila O., Moe R., Olsen J. Differential temperature regulation of GA metabolism in light and darkness in pea // J. Exp. Bot., 2007. – V. 58, N 11. – P. 3061-3069.

*Работа выполнена в рамках госзадания (№ темы 0221-2014-0002) и частично поддержана РФФИ (проект № 14-04-00840\_a).*

## ВЛИЯНИЕ ГЕРМАТРАНОЛА НА СОДЕРЖАНИЕ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В КОРНЯХ ПШЕНИЦЫ ПРИ ГИПЕРТЕРМИИ

А.М. Шигарова<sup>1</sup>, О.И. Грабельных<sup>1,2</sup>, Г.Б. Боровский<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, *anas\_shig@mail.ru*

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет», Иркутск, Россия

В природе растения подвергаются ряду неблагоприятных факторов, в том числе резким перепадам температур и дефициту влаги. Это обуславливает необходимость поиска химических соединений, имеющих биологическую активность и непосредственно или через стимуляцию защитных механизмов растений увеличивающих устойчивость и урожайность. Из числа биологически активных веществ (БАВ) интерес для растениеводства могут представлять трициклические хелатные германиевые эфиры триэтаноламина (герматраны) [Карцев и др., 1983]. В нашей работе мы исследовали действие вещества из этого класса – моногидрата 1-гидроксигерматрана –  $N(CH_2CH_2O)_3GeOH \cdot H_2O$  (далее герматранол). Это вещество, синтезированное в ИрИХ СО РАН, представляет собой белый кристаллический порошок, хорошо растворимый и, в отличие от силатранов, гидролитически устойчивый в воде [Хромова и др., 1985]. Было установлено, что герматраны, подобно силатранам, повышают устойчивость растений к действию неблагоприятных факторов [Воронков и др., 1988].

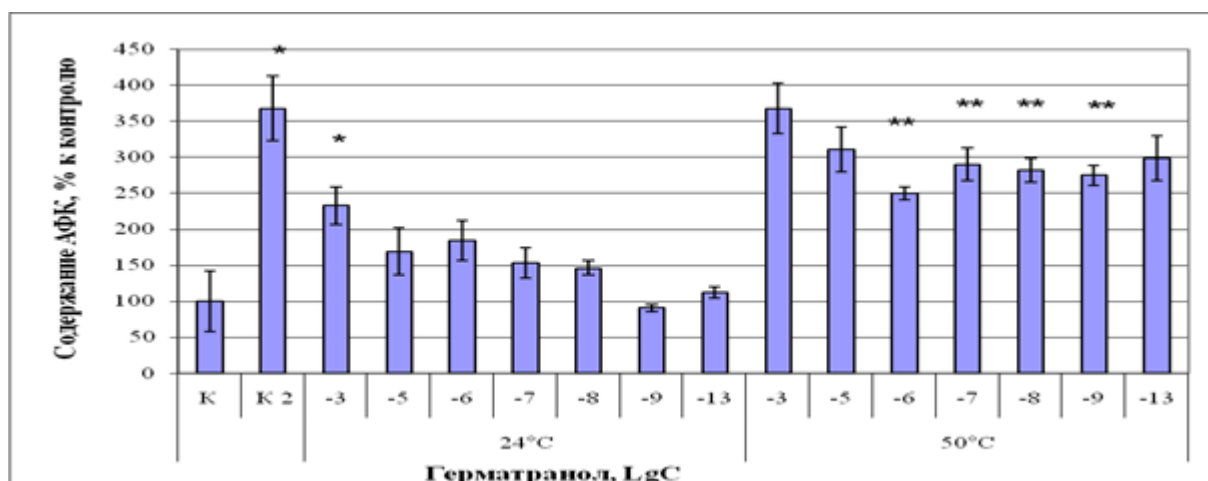


Рисунок. Влияние герматранола на содержание АФК в корнях пшеницы при контрольной температуре (24 °C) и после действия жесткого теплового стресса (50 °C).

LgC – логарифм молярных концентраций герматранола. К – контроль, содержание АФК в проростках при 24 °C; К2 – контроль, содержание АФК в проростках при 50 °C. За 100% принято содержание АФК в проростках пшеницы, выращенных при 24 °C без воздействия герматранола.

\*- статистически значимые отличия от К1; \*\* - статистически значимые отличия от К2 (по *f*-критерию Фишера,  $p \leq 0.05$ ).

АФК активно участвуют в регуляции роста и развития растений и рассматриваются как важные сигнальные молекулы, активирующие экспрессию стрессовых генов. В то же время, избыточное количество АФК ведет к развитию программируемой гибели клеток или к некрозу. Температурный стресс, как правило, сопровождается значительным повышением уровня АФК, что приводит к окислительному стрессу [Креславский и др., 2012]. Если исследуемое нами вещество

снижает содержание АФК при гипертермии, то такое действие может защищать растительную клетку от повреждений при высокой температуре.

В экспериментах использовали двухсуточные проростки пшеницы сорта Новосибирская 29, выращенные при 24 °С на дистиллированной воде, которые помещали на 8 ч в 50 °С (гипертермия) в присутствии исследуемого вещества или без него. Вещество было исследовано в концентрациях от  $10^{-3}$  М до  $10^{-13}$  М. Содержание АФК в корнях пшеницы определяли с использованием красителя 2,7-дихлорофлуоресцеин диацетата ( $H_2DCF-DA$ ) [Грабельных и др., 2014].

Отмечено значительное повышение содержания АФК при высокой температуре ( $K_2 - 50$  °С) в сравнении с контролем ( $K_1 - 24$  °С) (рисунок). Такое повышение содержания АФК свидетельствует о развитии окислительного стресса при «жесткой» гипертермии, которое является одним из следствий действия высокой температуры. Герматранол при 24 °С в концентрации  $10^{-3}$  М увеличивал содержание АФК. При «жесткой» гипертермии (50 °С) в присутствии герматранола в концентрациях от  $10^{-6}$  М до  $10^{-9}$  М наблюдалось снижение содержания АФК примерно на 25 - 30% по сравнению с действием одной высокой температуры ( $K_2 - 50$  °С), соответственно можно предположить, что в указанных условиях растворы герматранола оказывают антиоксидантное действие. Возможно, что такое снижение содержания АФК при действии герматранола является одним из факторов, повышающих количество выживших проростков пшеницы в условиях высокой температуры [Шигарова и др., 2016]. Из полученных результатов следует, что растворы герматранола в определенных концентрациях могут оказывать антиоксидантное действие. Неизвестно, самостоятельно ли действует герматранол в качестве антиоксиданта или влияет опосредованно, модулируя выделение АФК крупнейшим внутриклеточным источником АФК в этиолированных клетках – митохондрией. Детальные биохимические механизмы действия этого соединения на растительную клетку нуждаются в дальнейшем изучении, но очевидно, что герматранол способен повышать устойчивость проростков к действию повышенных температур.

#### Литература

Воронков М.Г., Барышок В.П. Атраны - новое поколение биологически активных веществ // Вестник РАН, 2010. – Т. 80, № 11. – С. 985-992.

Воронков М.Г., Левит Т.Х., Кириллов А.Ф., Барышок В.П., Козьмик Р.А. Действие герматранола на морозостойкость винограда // Доклады АН СССР, 1988. – Т. 299, № 2. – С. 509-512.

Карцев Г.Н., Акиншина Г.А., Игнатьева С.И., Хромова Н.Ю., Гар Т.К. Герматраны // ЖОХ, 1983. – Т. 53, № 8. – С. 1795.

Креславский В.Д., Лось Д.А., Аллахвердиев С.И., Кузнецов В.В. Сигнальная роль активных форм кислорода при стрессе у растений // Физиология растений, 2012. – Т. 59, № 2. – С. 163-178.

Хромова Н.Ю., Гар Т.К., Миронов В.Ф. Герматраны и их аналоги. – М.: НИИТЭХИМ, 1985. – 42 с.

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 // Биохимия, 2014. – Т. 79, № 6. – С. 645-660.

Шигарова А.М., Грабельных О.И., Барышок В.П., Боровский Г.Б. Возможные механизмы влияния герматранола на термоустойчивость проростков пшеницы // Прикладная биохимия и микробиология, 2016. – Т. 52, № 4. – С. 1-6.

## ИЗУЧЕНИЕ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO* ЛИСТВЕННИЦЫ СИБИРСКОЙ НА СТАДИИ РАННЕГО СОМАТИЧЕСКОГО ЭМБРИОГЕНЕЗА

В.Н. Шмаков<sup>1</sup>, С.П. Макаренко<sup>1</sup>, Л.В. Дударева<sup>1</sup>, А.В. Столбикова<sup>1</sup>, Н.А. Соколова<sup>1</sup>, И.Н. Третьякова<sup>2</sup>, Ю.М. Константинов<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, [shmakovv@sifibr.irk.ru](mailto:shmakovv@sifibr.irk.ru)

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН, Красноярск, Россия, [culture@ksc.krasn.ru](mailto:culture@ksc.krasn.ru)

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет», Иркутск, Россия, [yukon@sifibr.irk.ru](mailto:yukon@sifibr.irk.ru)

Несмотря на долгую историю исследования соматического эмбриогенеза и экспериментальных работ в области изучения процессов морфогенеза и регенерации растений в условиях *in vitro*, до сих пор остаются не разработанными научные основы микрклонального размножения для большинства древесных, в частности основных лесообразующих видов – хвойных. Это обусловлено недостатком знаний о морфогенетических потенциях органов и тканей этих видов, молекулярных механизмах переключения и регуляции процессов соматического эмбриогенеза. Два десятилетия назад было установлено, что важную роль в судьбе клеток играет клеточный стресс, приводящий к переключению развития дифференцированных клеток на путь эмбриогенеза. В связи с этим соматический эмбриогенез предложено рассматривать как ответ на стресс, связанный с процессами развития (“developmental stress”) [Feher, 2015]. Очевидно, что при этом важную роль, как и при других видах стресса [Huang, 2006; Лось, 2014], играют перестройки жирнокислотного (ЖК) и липидного состава клеток, перешедших на путь соматического эмбриогенеза. Целью данной работы было сравнительное изучение жирно-кислотного профиля суммарных липидов каллуса лиственницы сибирской на стадии раннего эмбриогенеза.

В качестве материала для индукции соматического эмбриогенеза использовали изолированные зиготические зародыши на стадии инициации семядолей из семян, собранных с деревьев лиственницы сибирской в возрасте 40-60 лет и выращиваемых на питательной среде АИ [Третьякова, 2012]. ЖК-состав суммарных липидов эмбриогенных и неэмбриогенных каллусов изучали с использованием метода газожидкостной хроматографии-масс-спектрометрии [Макаренко, 2010]. Исследования проводили не менее чем в 3-х аналитических и биологических повторностях.

В составе липидов эмбриогенных и неэмбриогенных каллусов главными насыщенными жирными кислотами были пальмитиновая и стеариновая. В меньшем количестве обнаружены арахидовая и бегеновая, а также минорные насыщенные ЖК с длиной углеводородной цепи C14-C17 и их изомеры. В составе главных ненасыщенных ЖК идентифицированы олеиновая, линолевая, линоленовая, а также необычные ЖК Δ5-серии (таксолеиновая, пиноленовая), характерные для хвойных. При этом содержание олеиновой и таксолеиновой кислот в клетках эмбриогенного каллуса было выше, чем в клетках неэмбриогенного, в то время как количество пальмитиновой, линолевой и пиноленовой кислот в эмбриогенном каллусе, напротив, оказалось сниженным. Наиболее интересным из всей совокупности полученных результатов является факт высокого содержания олеиновой кислоты в эмбриогенных каллусах, в среднем, составляющего 43% от суммы жирных кислот. Именно этот результат был

положен в основу предположения о том, что содержание олеиновой кислоты в составе суммарных липидов каллусов, а также отношение содержания олеиновой к линолевой кислоте может быть использовано для выявления морфогенных линий лиственницы сибирской (*Larix sibirica*) на стадии раннего эмбриогенеза. Для подтверждения этой гипотезы был проведен сравнительный анализ состава главных ЖК (вес. % от суммы жирных кислот) суммарных липидов клеток различных растительных тканей и органов с таковым, полученным нами на основе эмбриогенного каллуса лиственницы сибирской. В анализе были использованы следующие ткани и органы растений: эмбриогенный каллус, соматические эмбрионы различных растительных видов; неэмбриогенный каллус хвойных из эксплантов различного происхождения; хвоя представителей семейства *Pinaceae*; корни различных растительных видов; зрелые семена, зародыши и мегагаметофиты хвойных; пыльца представителей семейства *Pinaceae*. В результате исследования выявлено сходство полученных нами данных по относительному содержанию олеиновой к линолевой кислоте в клетках эмбриогенного каллуса лиственницы сибирской с таковым для пыльцы представителей рода *Pseudotsuga*; зародышей, листьев и соматических эмбрионов на начальной стадии развития жожоба (*Simmondsia chinensis*); эмбрионально-суспензорной массы *Picea glauca*. В целом, сравнительный анализ всего спектра главных жирных кислот суммарных липидов клеток тканей и органов различных растительных видов показал уникальность ЖК-спектра эмбрионального каллуса лиственницы сибирской на ранней стадии развития соматических эмбрионов. Таким образом, можно заключить, что профиль главных жирных кислот суммарных липидов эмбриогенных линий лиственницы сибирской в стадии эмбрионально-суспензорной массы имеет уникальный характер в сравнении с ЖК-составом различных растительных тканей и органов. Предложено использовать определение содержания олеиновой кислоты в составе суммарных липидов каллусов, а также отношения содержания олеиновой кислоты к линолевой для выявления морфогенных линий лиственницы сибирской на стадии раннего эмбриогенеза [Макаренко и др., 2016]. В дальнейшем представляет значительный научно-практический интерес изучение ЖК-состава на других стадиях эмбриогенеза (предсозревания, созревания и прорастания соматических зародышей) как лиственницы сибирской, так и других видов хвойных.

*Исследование поддержано проектом РФФИ-Сибирь № 14044-04118.*

#### Литература

- Feher A. Somatic embryogenesis – Stress-induced remodeling of plant cell fate // *Biochimica et Biophysica Acta*, 2015. – 1849, N 4. – P. 385-402.
- Plant-Environment Interactions. Ed. Huang, B. 3rd Edition. – CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton – London – New York, 2006. – 388 p.
- Лось Д.А. Десатуразы жирных кислот. – М.: Научный мир, 2014. – 372 с.
- Макаренко С.П., Константинов Ю.М., Шмаков В.Н., Коненкина Т.А. Жирнокислотный состав липидов каллусов двух видов сосны *Pinus sibirica* и *Pinus sylvestris* // *Физиология растений*, 2010. – Т. 57, № 5. – С. 790-794.
- Макаренко С.П., Шмаков В.Н., Дударева Л.В., Столбикова А.В., Семёнова Н.В., Третьякова И.Н., Константинов Ю.М. Жирнокислотный состав суммарных липидов эмбриогенных и неэмбриогенных каллусных линий лиственницы // *Физиология растений*, 2016. – Т. 63, № 2. – С. 267-274.
- Третьякова И.Н., Ворошилова Е.В., Шуваев Д.Н., Пак М.Э. Перспективы микроклонального размножения хвойных в культуре *in vitro* через соматический эмбриогенез // *Хвойные бореальной зоны*, 2012. – XXX, № 1. – С. 180-186.

## ACTINOBACTERIA ISOLATED FROM A POLLEN GRAINS OF *PINUS SYLVESTRIS* AS A PROTECTION ELEMENT AGAINST PHYTOPATHOGENS

D.V. Axenov-Gribanov<sup>1</sup>, I.V. Voytsekhovskaya<sup>1</sup>, E.S. Protasov<sup>1</sup>, T.A. Penzina<sup>1,2</sup>, T.G. Gornostay<sup>2</sup>, R.V. Adelshin<sup>1,3</sup>, M.A. Timofeyev<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Biology at Irkutsk State University, Irkutsk, Russia, [denis.axengri@gmail.com](mailto:denis.axengri@gmail.com)

<sup>2</sup>Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, Irkutsk, Russia, [penzina1968@gmail.com](mailto:penzina1968@gmail.com)

<sup>3</sup>Irkutsk Anti-Plague Research Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russia, [adelshin@gmail.com](mailto:adelshin@gmail.com)

Actinobacteria are mostly filamentous soil living bacteria and are an important source for drugs like antibiotics, immunosuppressant, insecticides and fungicides being the products of secondary or specialized metabolism [Tiwari, Gupta, 2013]. Thus the aim of the study was the isolation and initial characterization of actinobacteria from the male cones of *Pinus sylvestris* filled with the pollen.

The initial screening of 93 actinobacteria-like isolates arisen from plating the suspension of pine male cones resulted in selection of 18 independent colonies that differ by morphological features like pigmentation, aerial mycelium formation, spores color, size and growth rate. 16S rRNA gene sequence based phylogenetic analysis of the obtained strains showed that fourteen out of eighteen of them belong to genus *Streptomyces*. This finding is not surprising as Streptomycetes are the most represented strains from similar plant sources. In the same time two strains were found to be *Micromonospora* species. Two other belong to *Rhodococcus* and *Amycolatopsis* genera. Strains of *Micromonospora* and *Amycolatopsis* are especially interesting in terms of secondary metabolism potential since both of these genera are well known antibiotics producer of giving high chances for isolation of new metabolites.

16S rRNA sequences form a tight clade with several representatives of respective genera (Figure). This finding indicates the diversity of actinobacteria species that could be isolated from the pine cones and pollen.

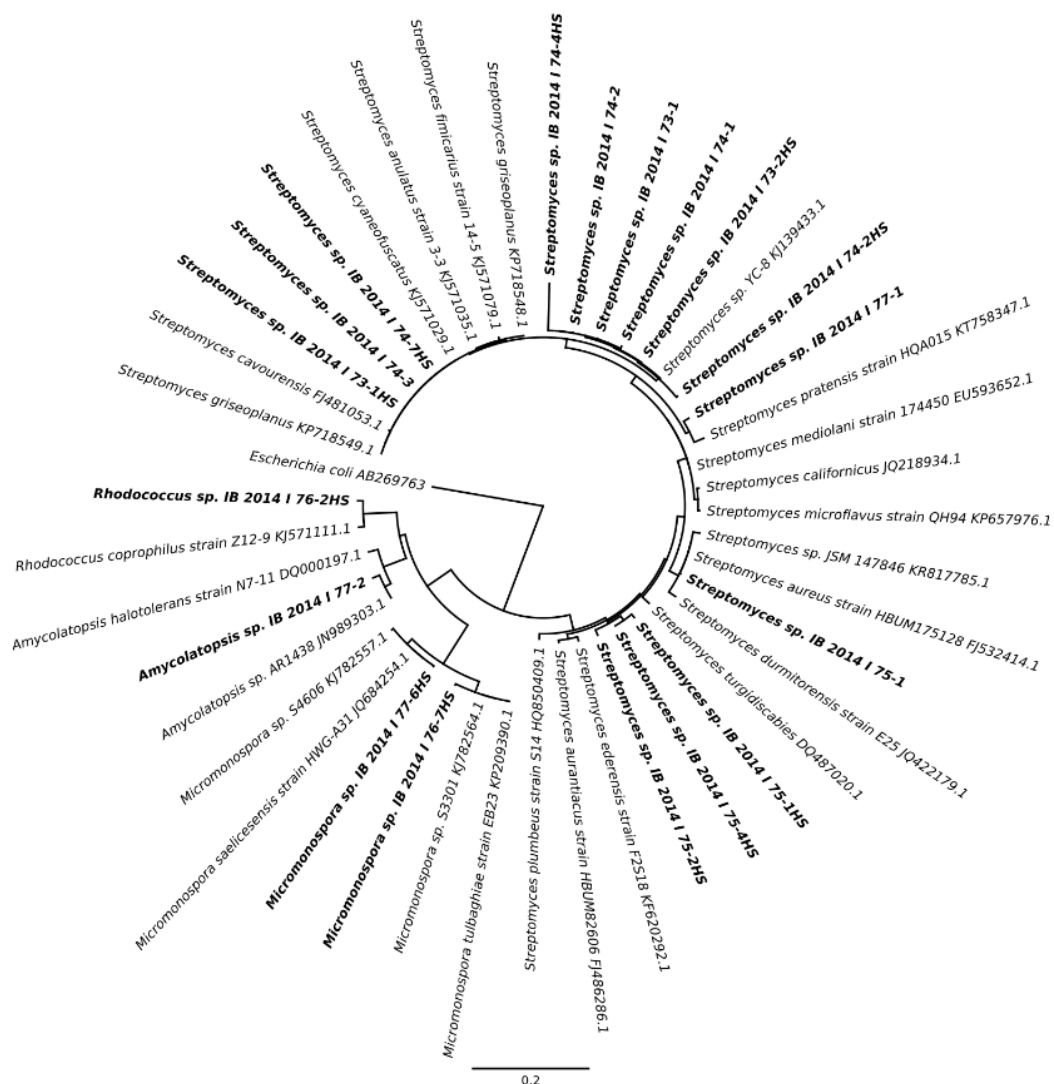
Strains were cultivated on different nutrient mediums and secondary metabolites were extracted accordingly to [Sarker et al., 2005]. Metabolites produced by the strains grown in different mediums were tested for antimicrobial and antioxidant activities. Majority of the strains were found to produce compounds inhibiting the growth of fungi, including pathogenic *Candida albicans*. Several strains were active against Gram-positive (*Bacillus subtilis* ATCC 66337) and Gram-negative (*Pseudomonas putida* KT 2440, *Escherichia coli* ATCC25922) bacteria.

The continuous combat with the pathogenic bacteria requires a supply of new effective weapons. Especially dangerous in this aspect are Gram-negative pathogenic bacteria. This creates the stable demand for new antibacterials, especially active against Gram-negative strains. This is why strains producing metabolites capable of inhibiting the growth of *E. coli* and *P. putida* in our tests are of particular interest. We conducted the dereplication analysis of the metabolites produced by the strain *Streptomyces* sp. IB 2014 I 74-3 that showed activity against *P. putida* and *E. coli*.

Modern mass spectrometry methods allow not only the general analysis of secondary metabolites but also provide the possibility for identification of individual compounds using information from pre-existing databases. There sixty five major compounds were detected in the extract of *Streptomyces* sp. IB 2014 I 74-3 strain. Eight compounds could be preliminarily predicted based on characteristics from the Dictionary of Natural Products database. Thus in

the extract of *Streptomyces* sp. IB 2014 I 74-3 grown on the ISP media were found 3,6-Dihydroxy-1-phenazinecarboxylic acid, the family of Saframycin compounds - Saframycin Y3, Saframycin S, and Saframycin A, Decyano, 14-oxo, 1,4-hydroquinone, Galtamycinone; 3'-O-[2,6-Dideoxy-β-D-arabino-hexopyranosyl-(1→4)-2,3,6-trideoxy-α-D-threo-hexopyranoside], Pradimicin A; 3A-O-Deglycosyl, Platencin A4 - 13R and 4S, Antibiotic SS 8201B and Streptothricin; Streptothricin D, 4'-Decarbamoyl, 6'-carbamoyl [Whittle et al., 2003].

The high proportion of biologically active strains producing antibacterial and especially antifungal compounds might reflect their employment in protecting of pollen from phytopathogens.



**Figure. Phylogenetic tree of actinobacteria isolated from the male cones of *P. sylvestris* filled with pollen grains based on the 16S rRNA gene sequences**

#### Литература

- Sarker S., Latif Z., Gray A. Natural products isolation. – Springer Science & Business Media, 2005. – 280 p.
- Tiwari K., Gupta R.K. Diversity and isolation of rare actinomycetes: an overview // Crit. Rev. Microbiol., 2013. – N 39. – P. 256-94.
- Whittle M., Willett P. Evaluation of similarity measures for searching the dictionary of natural products database // J. Chem. Inf. Comput. Sci., 2003. – N 43. – P. 449-457.

**СЕКЦИЯ 2.**  
**АДАПТАЦИЯ ОРГАНИЗМОВ К ТЕХНОГЕННОМУ**  
**ЗАГРЯЗНЕНИЮ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ**



## СВИНЕЦ В СИСТЕМЕ «ПОЧВА–РАСТЕНИЕ» И ЭФФЕКТ ТРАНСФОРМАЦИИ ЕГО ФАЗОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ПОЧВЕ ПОД ВЛИЯНИЕМ РИЗОБАКТЕРИЙ *AZOTOBACTER* И *BACILLUS*

Г.А. Белоголова<sup>1</sup>, М.Г. Соколова<sup>2</sup>, О.Н. Гордеева<sup>1</sup>, М.В. Пастухов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт геохимии им. А.П. Виноградова СО РАН, Иркутск, Россия, *gabel@igc.irk.ru*

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, *SokolovaMG@sifibr.irk.ru*

Свинец характеризуется как элемент прочно связанный с почвенными компонентами, так как большую роль в его иммобилизации играют органические вещества. Этот элемент обычно связан со стабильной структурой гуматов, что снижает его доступность для растений. Учитывая, что в присутствии ризосферных бактерий подвижность свинца и его фазовые соединения могут меняться, был проведен эксперимент по изучению форм нахождения этого элемента. Известно, что почвенные бактерии являются мощным катализатором миграционных процессов химических элементов в окружающей среде.

Основной целью представленных исследований являлось изучение влияния ризосферных бактерий *Azotobacter* и *Bacillus* на биогеохимические процессы свинца в системе «почва – растение», его фазовое состояние в ризосферной части почвы и исследование влияния ризобактерий на особенности поступления свинца в растения и трансформацию его соединений в почве. Для эксперимента использовали биопрепарат на основе ризосферных бактерий, разработанный в Томском государственном университете, который является экологически чистым, нетоксичным, безопасным для человека и животных, и хорошим стимулятором роста растений [Вайшла и др., 2007].

Детально методика проведения эксперимента приведена в статье, где рассмотрены закономерности распределения концентраций As в системе «почва – растение» [Belogolova et al., 2015]. В данном случае изучены эти же почвы с различной степенью загрязнения свинцом и выращенные на них растения (овес, пшеница, горох, редис). Источником загрязнения почв являлись отходы бывшего Ангарского металлургического завода (АМЗ) по производству мышьяка, расположенного в черте города Свирска (Южное Прибайкалье). Техногенные почвы для эксперимента были отобраны в 10, 100, 500 м от зоны загрязнения и для сопоставления - в 15 км от этого объекта. Каждая проба почв разделена на исходную (контроль) и обработанную биопрепаратами (опыт). Выращивание растений (пшеница, овес, горох, редис) проводили в сосудах с объемом почвы до 8 кг в одинаковых условиях Фитотрона Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН. Растения выращивали 37 дней, так как на техногенных почвах они начинали высыхать. Для химического анализа использовали растения, высушенные до воздушно-сухого состояния. Из почв, на которых выросли растения, (из ризосферной части) выделены постадийные вытяжки: легкообменная, карбонатная, органическая, гидроксида Fe. Отдельно проанализирована вытяжка этилендиаминтетраацетата (ЭДТА), которая могла характеризовать хелатные соединения свинца. В данных фракциях проанализированы концентрации свинца, относительно которых рассчитаны коэффициенты биологического накопления К<sub>б</sub> для растений, выращенных в контрольном и опытном эксперименте. Значения К<sub>б</sub> для растений рассчитаны как отношение среднего содержания свинца (для растений в надземной и корневой части на участке), к концентрации свинца в различных фракциях ризосферной части почвы.

Коэффициенты биологического накопления Pb в растениях

Участки	Кб относительно фракции Pb в почве				
	Легко-обменная	Карбонатная	Органическая	Гидроксид Fe	ЭДТА
1 15 км	<u>*22.9</u> **20.8	<u>10.5</u> <b>13.7</b>	<u>15.3</u> 9.5	<u>1.3</u> 1.2	<u>0.18(7.4)</u> 0.11 (7,5)
2 500 м	<u>4.2</u> <b>5.4</b>	<u>7.7</u> <b>10.3</b>	<u>4.5</u> <b>6.0</b>	<u>0.39</u> <b>0.49</b>	<u>0.13 (7,7)</u> <b>0.14 (8,0)</b>
3 100 м	<u>8.8</u> <b>11.8</b>	<u>13.8</u> <b>15.7</b>	<u>2.3</u> <b>4.3</b>	<u>1.15</u> <b>1.63</b>	<u>0.18 (6,6)</u> <b>0.36 (7,3)</b>
4 10 м	<u>5.1</u> 2.7	<u>6.1</u> 2.8	<u>4.6</u> 2.1	<u>0.96</u> 0.45	<u>0.16 (7,0)</u> 0.10 (6,3)

Примечание: участки 1-4 – расстояние от источника загрязнения. В скобках – рН<sub>водн</sub> почв. \*Контроль. \*\*Опыт. Жирным шрифтом выделены повышенные значения при сопоставлении контроля и опыта.

Анализ значений Кб показывает, что при низких содержаниях Pb в почве, поступление его в растения увеличивается в легкообменных формах, включая и органические его соединения, а в опыте наблюдается незначительное снижение Кб. Тенденция накопления Pb в растениях относительно подвижных форм Pb, но с меньшей интенсивностью, прослеживается и для техногенных почв участков 2 – 4. Аккумуляция Pb в растениях резко снижается относительно гидроксидов Fe и хелатных его соединений в почве опыта участка 4, что характеризуется низкими значениями Кб в растениях. Это указывает на иммобилизацию свинца в ризосферной части почвы в хелатных соединениях и с гидроксидами Fe за счет ризобактерий *Azotobacter* и *Bacillus*, которые могли сорбировать свинец в этих соединениях. В результате на этом участке установлен эффект биокристаллизации свинца в ризосферной части техногенной почвы опыта. Такое состояние свинца прослеживается по результатам рентгеноспектрального электронно-зондового микроанализа техногенных почв и по его высоким концентрациям в гидроксидах Fe и хелатных соединениях почв опыта. В результате наблюдается значительное снижение содержания Pb в растениях, выращенных на максимально загрязненных почвах, инокулированных ризобактериями (участок 4). Повышенные значения Кб в растениях опыта на участках 2, 3 обусловлены увеличением щелочности почв, что инициировало сорбцию свинца на корнях растений. В надземной части растений, выращенных на почвах с добавлением биоконцентрата, содержание свинца снижалось на всех участках. Полученные результаты указывают на высокую биогеохимическую активность ризобактерий *Azotobacter* и *Bacillus* относительно различных соединений свинца в почве и их способность сдерживать поступление свинца в растения. Авторы выражают глубокую благодарность О.Б. Вайшля за предоставленную возможность исследования биопрепаратов.

Исследования выполнены при финансовой поддержке гранта РФФИ № 15-05-03919.

#### Литература

Вайшля О.Б., Ведерникова А.А., Бондаренко А.П. Микробиологические аспекты гипергенеза. – Томск: ТМЛ-Пресс, 2007. – 288 с.

Belogolova G.A., Sokolova M.G., Gordeeva O.N., Vaishlya O.B. Speciation of arsenic and its accumulation by plants from rhizosphere soils under the influence of *Azotobacter* and *Bacillus* bacteria // J. Geochem. Exploration, 2015. – 149. – С. 52-58.

## ОСОБЕННОСТИ АНТИБИОТИКОУСТОЙЧИВОСТИ БАКТЕРИЙ МИКРОБИОЦЕНОЗА ОЗЕРА БАЙКАЛ В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ МЕСТООБИТАНИЯХ ЭКОСИСТЕМЫ

Е.В. Верховина

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт земной коры СО РАН, Иркутск, Россия, *verhel@crust.irk.ru*

Озеро Байкал является основным источником пресной питьевой воды в регионе и в прилегающих областях, поскольку формирование качества воды реки Ангары определяется качеством воды Байкала. Антропогенное влияние на озеро усиливается с каждым годом, особенно в его южной части. Это обусловлено не только относительно высокой плотностью проживающего здесь населения, но и развитием в этом районе интенсивного отечественного и международного туризма, строительством частных гостиниц, бань, саун, дачных поселков. Очень сильную антропогенную нагрузку испытывает литоральная зона озера п. Листвянка, расположенного в истоке реки Ангары. Поэтому выявление влияния антропогенного фактора на формирование качества воды южной котловины озера Байкал, несомненно, актуально и общественно значимо.

Бактерии являются наиболее важным компонентом в экосистеме водоемов, именно они принимают активное участие в формировании качества воды и улучшению санитарно - гигиенического состояния. Применение различных химиотерапевтических препаратов, включая антибиотики, повлекло изменение биологических свойств возбудителей заболеваний и способствовало распространению множественной лекарственной устойчивости бактерий. Условно-патогенные микроорганизмы также были выявлены в других водных экосистемах Восточной Сибири [Савилов и др., 2008].

Нами исследованы штаммы бактерий, выделенные в два этапа: за период 2000-2003 гг. (120 штаммов) и за период 2005-2014 гг. (120 штаммов). Исследовались пробы воды, отобранные в литоральной (прибрежной) зоне оз. Байкал (п. Листвянка, г. Байкальск, г. Слюдянка). Кроме того, исследовались бактериальные штаммы, выделенные из глубоководных кернов донных осадков озера с глубины осадков 1,3 км и возраста более 5 млн. лет. За все время исследований протестировано 240 штаммов бактерий, составивших 21,5% от всех выделенных изолятов микробиоценозов.

Определение антибиотикоустойчивости микроорганизмов проводили в соответствии с общепринятыми методиками [Определение..., 2004], интерпретацию результатов – по стандартам NCCLS. Исследована резистентность к 12 антимикробным препаратам (АМП), принадлежащим к 10 фармакологическим группам: пенициллины, амфениколы, ансамицины, карбапенемы, монобактамы, цефалоспорины, миногликозиды, фторхинолоны, тетрациклины, сульфаниламиды. Микроорганизмы, имеющие значения зон подавления роста в рамках «moderately susceptible», относили к чувствительным, «intermediate» – к устойчивым штаммам.

Общий анализ чувствительности бактерий к действию каждого антибиотика в отдельности показал, что наиболее эффективное воздействие обнаруживали гентамицин и цефазолин. Количество штаммов, чувствительных к ним, составило 67,3% и 59,1%. Штаммы, устойчивые к действию всех антибиотиков составляют 1,3% от всех выделенных бактериальных штаммов, чувствительные ко всем антибиотикам – 6,2%.

Следует отметить, что множественная устойчивость бактерий литоральной зоны п. Листвянка упала с 26,3% до 19,2% за исследованные годы. С 2001 по 2014 годы

выявлено, что наиболее устойчивы все исследованные микроорганизмы оз. Байкал к тетрациклину и ампициллину, эти антибиотики неэффективны. Наиболее эффективными за все годы исследований являются пefлоксацин, цефатоксим, гентамицин [Верхозина и др., 2011]. Следует отметить появление устойчивых к антибиотикам штаммов в зимний период по сравнению с летне-весенним сезоном. В зимний период бактерии более устойчивы к действию антибиотика. Вероятно, это вызвано тем, что зимой мы больше употребляем антибиотики и человеческие бактерии, попадая в воду оз. Байкал при проведении массовых ледовых мероприятий, обладают повышенной устойчивостью к антибиотикам. Результаты исследований показали высокую чувствительность выделенных штаммов к гентамицину, рифамицину, цефазолину, а также к хлоранфениколу, тетрациклину, ампициллину, гентамицину, цефазолину, пefлоксацину, диоксидину. В истоке реки Ангары – к пefлаксоцину, гентамицину, цефазолину. Микроорганизмы, выделенные из кернов донных осадков озера Байкал, характеризуются высокой чувствительностью практически ко всем антибиотикам, использованным в опыте.

Появление в воде Байкала и истоке реки Ангары [Савилов и др., 2008] штаммов бактерий, устойчивых к антибиотикам не безопасное явление. Это говорит не только об индикации качества воды, но и о возможной патогенности микрофлоры. Такие бактериальные штаммы не только выживают в воде озера, но и несут генетическую информацию о факторах патогенности байкальской микрофлоры. Применение различных химиотерапевтических препаратов, включая антибиотики, повлекло изменение биологических свойств возбудителей заболеваний и способствовало распространению множественной лекарственной устойчивости бактерий.

Таким образом, проведенными исследованиями установлено, что в литоральной зоне оз. Байкал, испытывающей антропогенное влияние, появляются штаммы микроорганизмов, устойчивые к широкому спектру антибиотиков. Появление в воде антибиотикоустойчивых бактериальных штаммов говорит не только о человеческом загрязнении, но и о возможной патогенности этой микрофлоры. Бактериальные штаммы, выделенные из глубоководных кернов донных осадков озера с глубины осадков 1,3 км и возраста более 5 млн. чувствительны ко всем антибиотикам, т.е. там не прослеживается влияние антропогенного фактора. В целом, результаты исследований показали, что частота встречаемости антибиотикоустойчивых штаммов бактерий водных экосистем зависит от степени антропогенного загрязнения их среды обитания. Это явление можно рассматривать как индикатор антропогенного влияния.

#### Литература

Верхозина Е.В., Верхозина В.А., Савилов Е.Д., Анганова Е.В. Выявление антибиотикоустойчивых микроорганизмов в экстремальных местообитаниях экосистемы озера Байкал // Экология и геохимическая деятельность микроорганизмов экстремальных местообитаний: материалы междунар. конф. (Улан-Удэ-Улан-Батор, 5-16 сентября 2011 г.). – С. 46-48.

Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: Методические указания. – М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 91 с.

Савилов Е.Д., Мамонтова Л.М., Анганова Е.В., Астафьев В.А. Условно-патогенные микроорганизмы в водных экосистемах Восточной Сибири и их роль в оценке качества вод // Бюллетень СО РАМН, 2008. – № 1 (129). – С. 47-51.

## РЕАКЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ ОЗЕРА БАЙКАЛ НА АНТРОПОГЕННОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ

Е.В. Верховина<sup>1</sup>, В.А. Верховина<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт земной коры СО РАН (ИЗК СО РАН), Иркутск, Россия, [verhel@crust.irk.ru](mailto:verhel@crust.irk.ru)

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Иркутский национальный исследовательский технический университет», Иркутск, Россия, [verhval@mail.ru](mailto:verhval@mail.ru)

Одной из актуальнейших проблем в экологических исследованиях является выяснение роли микроорганизмов и возможной их изменчивости в процессах превращения веществ, поступающих в экосистемы при антропогенном влиянии. Многими исследователями выявлена четкая связь между инфекционными заболеваниями и антропогенным загрязнением водоемов. Микроорганизмы способны реагировать на поступление многих веществ в экосистемы водоемов, и микробиологические методы часто оказываются более информативными, чем химические, так как позволяют определять не валовое содержание элементов, а их физиологически активные формы. В последние годы отмечается нарастание антибиотикоустойчивости не только возбудителей заболеваний, но и бактерий природных микробиоценозов, в том числе и водных экосистем, что определяет актуальность микробиологического мониторинга водных объектов [Савилов, 2009; Мамонтова и др., 2000].

Сравнение состава бактериопланктона по наличию или отсутствию ферментов эндонуклеаз рестрикции (рестриктаз) также позволяет оценить изменение структуры микроорганизмов. Известно, что специфичность рестриктазы определяет характеристику бактерии, из которой она выделена. Поэтому этот фермент может служить характеристикой специфичности самой бактерии-продуцента [Оно, 1984]. Бактерии – продуценты рестриктаз, известные ранее лишь теоретически, были выделены из озера Байкал в районах антропогенного влияния (вблизи п. Листвянка и г. Байкальска). В настоящее время антропогенное воздействие на озеро усиливается с каждым годом, особенно в районе его южной части. Указанное положение обусловлено не только относительно высокой плотностью проживающего здесь населения, но и развитием в этом районе интенсивного отечественного и международного туризма.

Бактерии – продуценты рестриктаз, известные ранее лишь теоретически, были обнаружены лишь в районах антропогенного влияния. Так, например, штамм бактерий *Flavobacterium aquatil* – продуцент рестриктазы Fau I был выделен из воды оз. Байкал в районе п. Листвянка. Штамм бактерии *Acinetobacter calcoaceticus* – продуцент рестриктазы Aca I был выявлен в районе г. Байкальска. Продуцент *Bacillus sphaericus* эндонуклеазы рестрикции Bsi I, который является новым ферментом среди известных рестриктаз, был выделен из этого же района. В районе истока Ангары выделен штамм бактерии *Curtobacterium citrium*, продуцент Cci NI, который является изошизомером Not I [Верховина и др., 2004].

Чаще всего выделяются рестриктазы HaeIII и XhoI, ClaI. Частота встречаемости остальных найденных рестриктаз составляет от 4 до 7% (таблица). Результаты исследований спектра ферментов рестрикции, определенных из штаммов микроорганизмов, выделенных из глубоководной части экосистемы Байкала, где антропогенного влияния не выявлено, рестриктазы были обнаружены лишь в 0,2% случаев, что входит в ошибку опыта.

Таблица

## Частота встречаемости ферментов рестриктаз в процентах за период 2005-2014 гг.

Прототип	Сайт узнавания	% встречаемости
HaeIII	5'-GGCC-3'	14
ClaI	5'-ATCGAT-3'	9
PstI	5'-CTGCAG-3'	4
Bpu10I	5'-CCTNAGC-3'	5
Sau96I	5'-GGNCC-3'	7
MboI	5'-GATC-3'	7
EcoRII	5'-CCWGG-3'	5
XhoII	5'-RGATCY-3'	4
BalI	5'-TGGCCA-3'	4
XhoI	5'-CTCGAG-3'	9
EcoRV	5'-GATATC-3'	4
VamHI	5'-GGATCC-3'	4

Качественное изменение бактериопланктона по наличию или отсутствию рестриктаз выявлено в районах антропогенного влияния. В бактериях, полученных из чистых участков озера и кернов донных осадков, рестриктазы в бактериальных штаммах обнаруживаются редко и являются хорошо известными [Верхозина и др., 2016].

Таким образом, проделанные оригинальные исследования с использованием молекулярных методов в экологических задачах дают возможность судить о качественном изменении микроорганизмов в прибрежной части Байкала, находящейся под антропогенным влиянием. Полученные результаты многолетних исследований показали, что микроорганизмы являются хорошими индикаторами на ранней стадии антропогенного влияния и являются вкладом в решение проблемы надежности индикации качества воды, именно на ранней стадии антропогенного влияния, что крайне необходимо для прогноза дальнейшего развития опасных антропогенных воздействий на пресноводные экосистемы, в том числе и на экосистему Байкала.

## Литература

Савилов Е.Д. Инфекционная патология в условиях техногенного загрязнения окружающей среды: клинико-эпидемиологические исследования / Е.Д. Савилов, С.В. Ильина. – Новосибирск: Наука, 2009. – 248 с.

Мамонтова Л.М., Савилов Е.Д., Протодряконов А.П., Маркова Ю.А. Инфекционная “агрессивность” окружающей среды: Концепция микробиологического мониторинга. – Новосибирск: Наука, 2000. – 240 с.

Оно С. Генетические механизмы прогрессивной эволюции (пер. с англ. под ред. Б.Н. Сидорова). – М.: Мир, 1984. – 96 с.

Верхозина В.А., Верхозина Е.В., Гончар Д.А., Дедков В.С., Дегтярев С.Х., Куснер Ю.С. Микроорганизмы озер Байкал и Ньяса как индикаторы антропогенного влияния и перспектива их использования в биотехнологии // Прикладная биохимия и микробиология, 2004. – Т. 40, № 4. – С. 455-459.

Верхозина Е.В., Верхозина В.А., Верхотуров В.В., Анганова Е.В., Савилов Е.Д. Поиск штаммов-продуцентов эндонуклеаз рестрикции (рестриктаз) среди микроорганизмов оз. Байкал и их применение в экологических и биотехнологических исследованиях // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология, 2016. – № 1 (16). – С. 44-50.

## ВЛИЯНИЕ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ЛИСТЬЕВ И КОРЫ ДЕРЕВЬЕВ В ГОРОДСКИХ ЭКОСИСТЕМАХ

А.А. Волгушева<sup>1</sup>, Т.В. Дрозденко<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия, [volg-alena@yandex.ru](mailto:volg-alena@yandex.ru)

<sup>2</sup>Псковский государственный университет, Псков, Россия, [tboichuk@mail.ru](mailto:tboichuk@mail.ru)

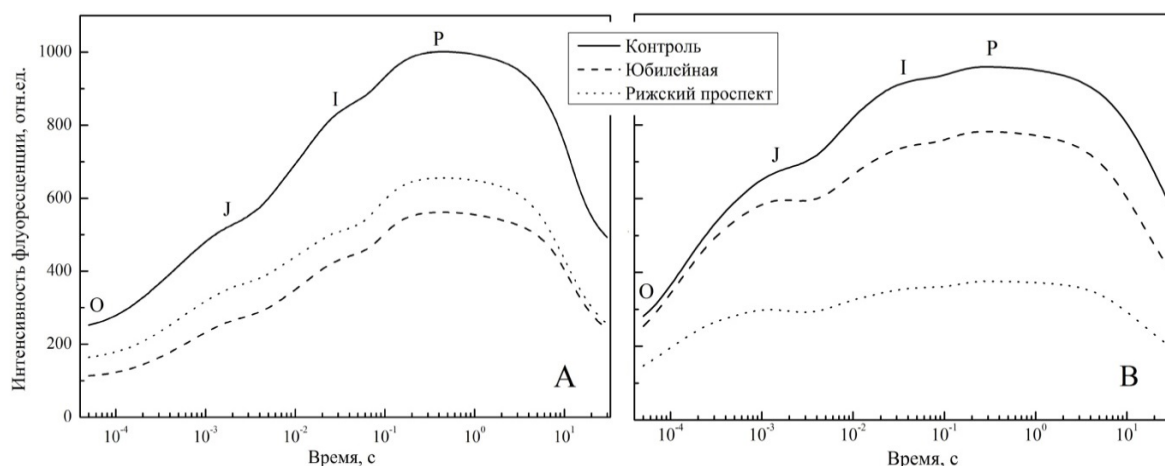
Растения, произрастающие в городских экосистемах, непрерывно подвергаются негативному влиянию различных антропогенных факторов. Устойчивость растений в этих условиях во многом определяется активацией фотозащитных механизмов, позволяющих защитить фотосинтетический аппарат от деструкции. Флуоресцентные методы позволяют зарегистрировать изменения в первичных процессах фотосинтеза значительно раньше появления видимых ухудшений физиологического состояния растений [Рубин, 2000]. Использование РЕА-флуорометра позволяет получить индукционные кривые флуоресценции хлорофилла (ФХ), отражающие подробную информацию о состоянии электронтранспортной цепи фотосинтеза. Нарастание переменной флуоресценции от минимального уровня (О) до максимального (Р) обычно характеризуется тремя фазами (О-Ј, Ј-І и І-Р), которые отражают постепенное восстановление  $Q_A$ (О-Ј), пула пластохинонов (Ј-І) и других переносчиков за пулом, включая ФС1 (І-Р) [Lazar, 2003].

Объектом исследования являлись деревья *Tilia cordata*, растущие вдоль магистралей города Пскова с высокой загруженностью дорог (улицы Рижский проспект, Юбилейная). Контролем служили деревья, растущие на Ольгинской набережной (вдоль реки Великой).

Как видно из рисунка, индукционные кривые, измеренные на листьях и коре контрольных деревьев, значительно отличались по своей форме. В образцах, измеренных на коре, скорость роста фазы ОЈ была значительно выше, а амплитуда фазы ІР ниже по сравнению с листьями. Это свидетельствует о большем количестве  $Q_b$ -невосстанавливаемых центров и более медленном транспорте электронов за пулом хинонов в хлоропластах коры. Анализ основных параметров флуоресценции, рассчитанных из индукционных кривых ФХ, выявил значительные изменения в механизмах адаптации у листьев и коры деревьев, растущих вдоль наиболее загруженных магистралей. У листьев значения параметров флуоресценции (Fv/Fm и PI), позволяющие судить об эффективности фотохимического преобразования энергии в реакционных центрах ФС2 и использующиеся для экологического мониторинга [Волгушева и др., 2011], незначительно изменялись с увеличением антропогенной нагрузки. В то время как значения этих параметров, измеренных на коре этих же деревьев, значительно снижались с увеличением антропогенной нагрузки. Наиболее низкие значения Fv/Fm (0.67) и PI (0.25) наблюдали у деревьев, растущих вдоль Рижского проспекта. Для сравнения, значения данных параметров для коры контрольных деревьев составляли: Fv/Fm = 0.78, PI = 0.61.

На рис. А представлены индукционные кривые, измеренные на листьях деревьев, растущих в условиях разной антропогенной нагрузки. Как видно из рисунка, уровень О снижался на 35% у листьев, собранных на Рижском проспекте, и на 55% – на ул. Юбилейной по сравнению с контролем. Снижение минимального уровня флуоресценции (О) обычно связывают с уменьшением концентрации хлорофилла. Снижение максимальной флуоресценции (Р) свидетельствует о развитии

нефотохимического тушения. У листьев деревьев, растущих вдоль ул. Юбилейной, уровень Р снижался на 40%, а на Рижском проспекте – почти в два раза по сравнению с контролем. Уменьшение переменной флуоресценции (О-Р) на 34% и 40% у листьев деревьев, растущих на ул. Юбилейная и Рижский проспект соответственно, свидетельствует о снижении количества активных реакционных центров ФС2. Кроме того, снижалась амплитуда фазы JР у этих деревьев по сравнению с контролем, что отражает снижение способности переноса электронов от ФС2 в пул хинонов. Индукционные кривые, измеренные на коре этих же деревьев, представлены на рис. В. В целом, ухудшение условий обитания приводило к одинаковым изменениям работы фотосинтетического аппарата коры и листьев: появлению Qb-невосстанавливаемых центров и увеличению редокс-состояния пула хинонов. Но имелись и некоторые важные отличия. Так, если у листьев значения минимальной и максимальной флуоресценции уменьшались примерно в одинаковом соотношении, то у коры деревьев максимальный уровень флуоресценции уменьшался значительно больше по сравнению с минимальным. Более того, при ухудшении условий параметр  $RC/ABS = [(F_{2мс} - O)/4(F_{300мс} - O)] \cdot (Fv/Fm)$ , отражающий размер светособирающей антенны, не изменялся у листьев с увеличением антропогенной нагрузки и уменьшался у коры этих же деревьев.



**Рисунок. Индукционные кривые флуоресценции хлорофилла (ОJIP), измеренные на листьях (А) и коре побегов третьего года (В) *Tilia cordata*. Интенсивность возбуждающего света составляла 2500  $\mu\text{моль фотонов м}^2 \text{с}^{-1}$ . Измерения проводили при комнатной температуре после 40 мин темновой адаптации. Каждая кривая получена путем усреднения как минимум 20 измерений.**

*Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 14-04-00302 и 15-54-78014.*

#### Литература

Рубин А.Б. Биофизические методы в экологическом мониторинге // Соросовский образовательный журнал, 2000. – Т. 6, № 4. – С. 7-13.

Lazar D. Chlorophyll a fluorescence rise induced by high light illumination of dark-adapted plant tissue studied by means of a model of photosystem II and considering photosystem II heterogeneity // J. Theoretical Biology, 2003. – V. 220, N 1. – P. 469-503.

Волгушева А.А., Яковлева О.В., Кукарских Г.П., Ризниченко Г.Ю., Кренделева Т.Е. Использование показателя PI для оценки физиологического состояния деревьев в городских экосистемах // Биофизика, 2011. – Т. 56, № 1. – С. 105-112.



## ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ЛИШАЙНИКОВ В ЗОНЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ БОКСИТОВОГО РУДНИКА

Т.К. Головки, М.А. Шелякин, И.В. Далькэ, И.Г. Захожий, Г.Н. Табаленкова, О.В. Дымова, Р.В. Малышев, Т.Н. Пыстина

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия, [golovko@ib.komisc.ru](mailto:golovko@ib.komisc.ru)

Лишайники являются наиболее распространенными объектами биоиндикации [Бязров, 2002]. Снижение их таксономического разнообразия, обилия и жизнеспособности – признаки сильного загрязнения среды. Применение физиолого-биохимических методов и подходов позволяет уловить первые сигналы нарушения жизнедеятельности лишайников [Häffner et al., 2001] и оценить их состояние [Головки и др., 2015].

Нами проведено сравнительное изучение ряда функциональных показателей трех видов листоватых лишайников (*Hypogymnia physodes*, *Lobaria pulmonaria*, *Peltigera aphthosa*) в зоне воздействия Средне-Тиманского бокситового рудника (северная тайга, Республика Коми). Освоение бокситового месторождения продолжается более четверти века. Комплексный мониторинг состояния среды проводится с 2002 г. Всего на этой территории было зарегистрировано 53 вида лишайников. За годы наблюдений видовое разнообразие практически не изменилось, но показатели жизненного состояния лишайников ухудшились. На большинстве талломов наблюдается налет красной бокситовой пыли, в которой присутствуют окиси алюминия, железа, кремния, тяжелые металлы. По данным [Пыстина, Кузнецова, 2015] содержание Al, Fe, Mn, Pb, Ni в талломах значительно превышает (в отдельных случаях на несколько порядков) нормальные и предположительно максимальные концентрации этих элементов в растительных организмах [Ильин, 1991].

Образцы талломов для физиологических исследований были собраны в августе 2015 г. Функциональное состояние талломов оценивали по накоплению продуктов липопероксидации, содержанию фотосинтетических пигментов, показателям флуоресценции хлорофилла *a*, скорости CO<sub>2</sub>-газообмена и поглощения O<sub>2</sub>.

Талломы лишайников с наиболее загрязненных участков вблизи шихтовального склада содержали в 1.5-2 раза больше продуктов взаимодействия с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-РП) по сравнению с талломами условно чистых, удаленных от промышленных площадок участков. Наиболее высоким накоплением ТБК-РП (свыше 100 нМ/г сухой массы) характеризовались талломы эпигейного лишайника *P. aphthosa*, у двух других (эпифитных) видов содержание ТБК-РП существенно ниже (60-70 нМ/г). Вопреки ожиданиям, не выявили существенного влияния загрязняющих веществ на содержание основного фотосинтетического пигмента – хлорофилла *a* (Хл *a*). Трехкомпонентные лишайники *L. pulmonaria* и *P. aphthosa*, содержащие зеленую водоросль и цианобактерии, накапливали в 2.5-3 раза больше Хл *a*, чем хлоролишайник *H. physodes*. Для оценки состояния фотосинтетического аппарата фотобионта использовали показатель, характеризующий максимальный квантовый выход ФСП. Величина Fv/Fm для талломов лишайников с чистого участка составляла 0.67-0.72 отн. ед. и достоверно не изменялась в условиях загрязнения. Скорость нетто-поглощения CO<sub>2</sub> (Фв) является результирующей gross-фотосинтеза фотобионта и дыхания всего таллома. Учитывая, что подавляющую часть биомассы талломов, свыше 90%, составляет грибной мицелий, можно полагать, что основной вклад в выделение CO<sub>2</sub> таллома вносит микобионт. Загрязнение бокситовой пылью подавляло нетто-поглощение и усиливало выделение CO<sub>2</sub>. Наиболее выражены эти эффекты

проявлялись у талломов *L. pulmonaria*. Фотосинтетическая способность *L. pulmonaria* с сильно загрязненного участка была вдвое ниже по сравнению с чистым участком. Различия в скорости Фв между контрольными и импактными талломами *P. aphthosa* составляли 20-25%, а у *H. physodes* были статистически не достоверными. У всех лишайников соотношение скорости выделения CO<sub>2</sub> в темноте и поглощения CO<sub>2</sub> на свету возрастало при сильном загрязнении.

Сильное загрязнение среды бокситовой пылью подавляло дыхательное поглощение O<sub>2</sub> талломов *L. pulmonaria* и *H. physodes*, а умеренное, наоборот, активировало. При этом увеличение дыхания *L. pulmonaria* было обусловлено вовлечением цианидустойчивого (альтернативного) пути, тогда как у *H. physodes* значительно активировалась компонента, связанная с немитохондриальными оксидазами. Загрязнение подавляло активность основного (цитохромного) пути дыхания. У талломов *P. aphthosa* заметного влияния загрязнения на дыхание не обнаружено. Интенсивность тепловыделения (Q) является интегральным показателем уровня метаболической активности клеток живых организмов и в значительной степени отражает диссипацию энергии при дыхании. Умеренное загрязнение активировало тепловыделение в талломах *L. pulmonaria*, а сильное снижало величину Q у талломов *P. aphthosa*.

Таким образом, наши результаты свидетельствуют о выраженной реакции основных процессов жизнедеятельности лишайников на загрязнение среды бокситовой пылью. В целом изменения функциональных показателей фотобионта проявлялись слабее, чем микобионта, что, вероятно, является следствием защитной функции микобионта по отношению к фотобионту. Аэротехногенное загрязнение оказывает стрессорное действие на талломы, вызывает усиление липопероксидации, общего дыхания, активирует энергодиссипирующие пути и подавляет нетто-поглощение CO<sub>2</sub>. Этим можно объяснить снижение жизнеспособности и обилия лишайников на импактных территориях.

*Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных исследований Президиума РАН по направлению «Живая природа: современное состояние и проблемы развития» (проект 15-12-4-4).*

#### Литература

Бязров Л.Г. Лишайники в экологическом мониторинге. – М.: Научный мир, 2002. – 336 с.

Головки Т.К., Дальке И.В., Дымова О.В. и др. Первые итоги эколого-физиологического изучения лишайнобиоты бореальной зоны европейского северо-востока России // Современное состояние и перспективы развития сети особо охраняемых природных территорий европейского Севера и Урала. – Сыктывкар: ИБ Коми НЦ УрО РАН, 2015. – С. 279-286.

Пыстина Т.Н., Кузнецова Е.Г. Оценка степени загрязнения растительности и почв в зоне воздействия Средне-Тиманского бокситового рудника // Механизмы устойчивости и адаптации биологических систем к природным и техногенным факторам. – Киров, 2015. – С. 314-317.

Ильин В.Б. Тяжелые металлы в системе почва–растение. – Новосибирск, 1991. – 151 с.

Häffner E., Lomský V., Hůnek V., Hällgren J.E., Batič F., Peanz H. Air pollution and lichen physiology // Water, air, and soil pollution, 2001. – V. 131. – P. 185-201.

## ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОФЛОРЫ ЗАСОЛЕННЫХ ПОЧВ О. ОЛЬХОН

Т.П. Денисова<sup>1</sup>, Е.Н. Максимова<sup>1</sup>, Г.Ю. Мельников<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет», Педагогический институт, Иркутск, Россия, *denis\_tp@inbox.ru*

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет», Екатеринбург, Россия, *grisha2207@list.ru*

Важную роль в почвообразовании играют микроорганизмы. Однако микробиоценозы засоленных почв о. Ольхон, встречающихся вокруг минеральных водоемов, не изучались, хотя эта информация необходима для понимания тенденций в почвообразовательном процессе наземных экосистем минеральных водоемов в связи с увеличением антропогенной нагрузки.

Разрезы, из которых отбирали почвенные пробы, были заложены на дне соленых озер Шибетского залива, у мыса Ташкай и оз. Шара-Нур. Характеристика образцов представлена в таблице 1.

Таблица 1

### Описание разрезов

№ точки	Местоположение разреза	Глубина, см	ppt	pH
1	Разрез заложен на дне высохшего соленого озера Шибетского залива	0-13	Не определено	8,6
2	Заложено на дне высохшего соленого озера у мыса Ташкай	0-7	0,99	9,6
3	Заложено на дне озера Шара-Нур	0,5	10	6,2

Изучение микробиоценоза почв включало определение авто- и гетеротрофных микроорганизмов. Диагностика видового состава почвенных микроводорослей осуществлялась по общепринятым в почвенной альгологии методам. Для выращивания водорослей применялась жидкая питательная среда Бристоль в модификации Голлербаха.

В анализируемых образцах почв, отобранных со дна пересохших водоемов, отмечено от 2 до 4 видов. При этом 4 вида отмечено при pH=8,6, по 2 вида при более щелочных или кислых значениях. Подщелачивание среды, равно как и подкисление, действует как лимитирующий фактор видового разнообразия, группировки водорослей становятся олигодоминантными с преобладанием одного-двух видов.

В образце № 1 преобладают представители отдела Euglenozoa – *Euglena viridis* (Müll.) Ehr, *E. geniculata* Dujardin, это обусловлено отбором проб со дна пересохшего озера Ташкиной, где, вероятно, эти виды являлись типичными представителями фитопланктона. В точке 2 обнаружено всего 2 вида, представители отделов Euglenozoa и Cyanobacteria. В образце № 3 отмечено 2 вида из отдела Chlorophyta.

Исследования гетеротрофных микроорганизмов охватывали определение культуральных и тинкториальных характеристик бактерий, нитрифицирующих и денитрифицирующих бактерий, свободноживущих аэробных и анаэробных азотфиксирующих бактерий. С целью обнаружения различных групп микроорганизмов использовали следующие питательные среды: ГРМ-агар, варианты среды Виноградского, среда Эшби, среда для обнаружения денитрифицирующих бактерий.

Разнообразия культуральных свойств выросших колоний не обнаружено. В каждой из проб выявлено по три специфических типа колоний.

Изучение тинкториальных свойств бактерий позволили выявить, что в точках 2 и 3 преобладали Г<sup>-</sup>, а в точке 1 – Г<sup>+</sup>- бактерии. Споро- и капсулообразующие клетки обнаружены во всех пробах, но наибольшее их количество – в образцах 1 и 3.

Таблица 2

## Результаты изучения свойств почвенных бактерий

№ точки	Кол-во Г <sup>-</sup> кл-к, %	Спорообразующие бактерии, $\bar{x}$	Капсулообразующие бактерии, $\bar{x}$	Свободноживущие аэробные азотфиксирующие бактерии (капсулообразующие)	Свободноживущие анаэробные азотфиксирующие бактерии (спорообразующие)
1	36,0	4,4	2,0	2,0	10,3
2	52,5	1,0	1,2	1,2	6,0
3	56,0	3,6	2,8	1,0	8,9

Нитрифицирующие бактерии из анализируемых проб определяли по качественным реакциям. Более выраженными были показатели для бактерий точки 3 и слабо выраженными – для точки 1.

Присутствие денитрифицирующих бактерий фиксировали через семь суток выращивания на селективной среде по степени активности газообразования в пробирках. Во всех исследуемых образцах были обнаружены денитрифицирующие микроорганизмы, различий с контролем не установлено.

Исследование почвенных образцов включало выявление свободноживущих аэробных азотфиксирующих бактерий на среде Эшби. Типичными признаками их наличия служило выявление капсулообразующих бактерий, которые формируют слизистые колонии на твердой среде (табл. 2). Чаще такие микроорганизмы встречались в образце из точки 1.

Качественными реакциями на присутствие свободноживущих анаэробных азотфиксирующих бактерий было газообразование и запах масляной кислоты. Во всех пробах зафиксировано активное протекание этих процессов, что свидетельствует о присутствии анаэробных азотфиксирующих бактерий. Бактерии, выявленные в этом опыте, относились к спорообразующим микроорганизмам. Больше всего их обнаружено в пробе 1.

Результаты изучения почвенной микрофлоры позволят судить об адаптации организмов к экстремальным условиям среды [Лопатовская, 2016]. Последнее предполагает выделение устойчивых природных штаммов с целью дальнейшего их исследования в области биоприложений [Kulesh, 2016].

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №16-34-50192.*

*Авторы выражают благодарность Хадеевой Е.Р., сотруднику Института географии им. В.Б. Сочавы СО РАН и Лопатовской О.Г., канд. биол. наук, доценту кафедры почвоведения и оценки земельных ресурсов ИГУ за предоставленные почвенные образцы.*

## Литература

Лопатовская О.Г., Денисова Т.П., Максимова Е.Н., Хадеева Е.Р. К характеристике засоленных почв о. Ольхон, Предбайкалье // Современные проблемы науки и образования, 2016. – № 3. – Режим доступа: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24472> (дата обращения: 05.06.2016).

Kulesh N.A., Novoselova I.P., Safronov A.P., Beketov I.V., Samatov O.M., Kurlyandskaya G.V., Morozova M., Denisova T.P. Total reflection x-ray fluorescence spectroscopy as a tool for evaluation of iron concentration in ferrofluids and yeast samples // J. Magnetism Magnetic Materials, 2016. – V. 415, p. 39-44. doi:10.1016/j.jmmm.2016.01.095

## МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ХВОИ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ В СОСНЯКАХ РАЗНОГО ВОЗРАСТА

И.А. Днепровский

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН, Красноярск, Россия, *ilucha1991@mail.ru*

При оценке стабильности развития деревьев наиболее часто пользуются морфологической характеристикой листьев как органов ассимиляционного аппарата, испытывающих максимальное воздействие внешних факторов [Захаров, 2000].

Ростовые процессы у растений в разных условиях произрастания имеют свою специфику, обеспечивающую выживание организма в конкретных условиях среды. Несомненно, что любые изменения в морфологических показателях хвои (длина, ширина и т.д.) неизбежно приведут к изменению общей ассимилирующей поверхности растения и, как следствие, к изменению продуктивности организма в последующие годы [Ковалев, 1983, 1984].

Главными показателями изменений гомеостаза, с морфологической точки зрения, являются показатели флуктуирующей асимметрии (ФА). Под ФА понимают ненаправленное различие между правой и левой сторонами различных морфологических структур, в норме обладающих билатеральной симметрией. При нормальных условиях величина асимметрии минимальна, при любых стрессовых воздействиях она возрастает [Захаров и др., 2000].

Цель данной работы: изучение изменений морфолого-анатомических характеристик, а также индексов ФА хвои сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) древостоев разного возраста.

Исследования проводились в конце вегетационного периода 2015 года в Погорельском бору Красноярской лесостепи. Объектами исследования служили: древостой VI класса возраста (ПП 1) и молодое насаждение естественного происхождения I класса возраста (ПП 2).

На каждой пробной площади с 5 модельных деревьев были отобраны ветки из нижней части кроны, с которых собирали по 20 пар хвоинок второго года жизни. Измеряли длину хвои по парам, а также площадь поперечного сечения среза каждой хвоинки, площадь центрального цилиндра, площади проводящих пучков, определяли количество смоляных ходов. Для измерений использовали световой микроскоп, цифровую камеру-окуляр DCM-900, программу PhotoM v1.21. Показатели ФА хвои рассчитывали по формуле из методики [Palmer, Strobeck, 1986].

Установлено, что для сосен спелого древостоя длина хвои составляла  $5,42 \pm 0,14$  см, в то время как для сосен молодого древостоя –  $4,75 \pm 0,13$  см, различия достоверны ( $p < 0,05$ ). ФА длины хвои в паре выше у сосен спелого насаждения ( $0,0090 \pm 0,0023$ ), чем у молодого ( $0,0078 \pm 0,0012$ ), но различия недостоверны. Ширина, толщина, площадь хвои, ширина, толщина, площадь ЦЦ для сосен взрослого насаждения достоверно меньше ( $p < 0,05$ ) по сравнению с параметрами хвои молодого древостоя. В центральном цилиндре один из проводящих пучков, как правило, больше второго по площади поперечного сечения, но различий по этому показателю у сосен разного возраста не найдено (табл. 1). Вариация комплекса анатомических характеристик, оцененная по показателю их ФА, выше у сосен взрослого древостоя (табл. 2).

Большее количество смоляных ходов отмечено в хвое сосен спелого древостоя  $6,13 \pm 0,28$  шт., меньшее в молодняке  $5,22 \pm 0,31$  шт. (различия достоверны при  $p < 0,05$ ). В

то же время асимметрия количества смоляных ходов больше в хвое сосен молодого насаждения ( $0,1813 \pm 0,0384$ ), чем во взрослом насаждении ( $0,1207 \pm 0,0257$ ).

**Таблица 1**

**Морфологические и анатомические характеристики хвои сосны обыкновенной**

Объект исследования, ПП	Длина хвои, см	Ширина хвои, мм	Толщина хвои, мкм	S хвои, мкм <sup>2</sup>	Ширина ЦЦ, мкм	Толщина ЦЦ, мкм	S ЦЦ, мкм <sup>2</sup>	Проводящие пучки, мкм <sup>2</sup>		Кол-во смоляных ходов, шт
								S1	S2	
1	5,42 ±0,14	1,16 ±0,02	584 ±8	554846 ±16439	663 ±15	262 ±5	165309 ±5542	13680 ±535	12326 ±486	6,13 ±0,28
2	4,75 ±0,13	1,34 ±0,02	636 ±10	686421 ±21108	770 ±17	269 ±4	201304 ±6711	14060± 508	12492 ±470	5,22 ±0,31

**Таблица 2**

**Индексы ФА хвои**

Объект исследования, ПП	Длина хвои	Ширина хвои	Толщина хвои	S хвои	Ширина ЦЦ	Толщина ЦЦ	S ЦЦ	Проводящие пучки		Кол-во смоляных ходов
								S1	S2	
1	0,0090 ±	0,0261 ±	0,0446 ±	0,0809 ±	0,0790 ±	0,0713 ±	0,0951 ±	0,1340 ±	0,1333 ±	0,1207 ±
	0,0023	0,0054	0,0069	0,0118	0,0130	0,1425	0,0151	0,0207	0,0223	0,0257
2	0,0078 ±	0,0240 ±	0,0430 ±	0,0764 ±	0,0803 ±	0,0761 ±	0,0857 ±	0,1117 ±	0,1101 ±	0,1813 ±
	0,0012	0,0041	0,0071	0,0109	0,0107	0,0127	0,0138	0,0190	0,0176	0,0384

Различия в размерах морфолого-анатомических структур у хвои сосен разного возраста можно объяснить разными почвенными и световыми условиями произрастания.

Впервые в сосновых насаждениях разного возраста для хвои второго года жизни рассчитаны индексы ФА и проведен их статистический анализ. Различия индексов в зависимости от возраста исследуемых насаждений не выявлено.

**Литература**

- Захаров В.М. Здоровье среды: методика оценки. – М.: Наука, 2000. – 129 с.  
 Захаров В.М., Чубинишвили А.Т., Дмитриев С.Г. Здоровье среды: практика оценки. – М.: Центр экологической политики России, 2000. – 320 с.  
 Ковалев А.Г. Влияние интенсивности света на анатомо-морфологическое строение хвои сосны // Лесоведение, 1983. – № 1. – С. 29-34.  
 Ковалев А.Г. Рост хвои сосны обыкновенной при разной степени освещенности // Лесоведение, 1984. – № 6. – С. 22-28.  
 Palmer A.R., Strobeck C. Fluctuating asymmetry: measurement, analysis, patterns // Ann. Rev. Ecol. Syst., 1986. – V. 17. – P. 291-321.

## НЕКОТОРЫЕ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ УСТОЙЧИВОСТИ *PHLEUM PRATENSE* (L.) К ТЯЖЕЛЫМ МЕТАЛЛАМ

Н.М. Казнина, А.Ф. Титов, Г.Ф. Лайдинен, Ю.В. Батова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии  
КарНЦ РАН, Петрозаводск, Россия, [kaznina@krc.karelia.ru](mailto:kaznina@krc.karelia.ru)

В последние годы в силу усиливающегося загрязнения тяжелыми металлами многих территорий большое внимание исследователей уделяется поиску различных способов рекультивации техногенно загрязненных почв, в том числе за счет использования растений устойчивых к этим химическим агентам. Одним из таких видов является *Phleum pratense* (L.) – тимофеевка луговая – многолетний рыхлокустовой злак, произрастающий практически повсеместно во всех климатических зонах [Цвелев, 1976]. Растения данного вида характеризуются высоким уровнем семенного возобновления и участвуют в формировании травянистых сообществ различных типов, в том числе находящихся вблизи промышленных предприятий. Учитывая наличие у растений большого числа защитно-приспособительных реакций, позволяющих им произрастать на почвах с высоким содержанием тяжелых металлов, задачей настоящего исследования явилось изучение некоторых физиолого-биохимических механизмов устойчивости *P. pratense* к кадмию и свинцу, как наиболее распространенным и опасным загрязнителям окружающей среды из этой группы поллютантов.

С этой целью семена *P. pratense* проращивали в течение 7 дней в чашках Петри в лабораторных условиях при температуре воздуха 22 °С. Затем проростки высаживали в сосуды с песком объемом 1 дм<sup>3</sup>. Полив растений осуществляли питательным раствором с добавлением микроэлементов. Кадмий в концентрации 40 мг/кг субстрата и свинец в концентрации 400 мг/кг субстрата добавляли в сосуды при закладке опыта. Указанные концентрации, как показали предварительные опыты, вызывают практически равное по величине торможение роста растений этого вида на ранних фазах развития. Спустя 40 дней оценивали влияние тяжелых металлов на накопление биомассы подземных и надземных органов, и ряд параметров, характеризующих фотосинтетический аппарат (ФСА) растений. В частности, исследовали содержание фотосинтетических пигментов, которое определяли на спектрофотометре СФ-2000 (Россия), с помощью флуориметра MINI-PAM (Walz, Германия) измеряли параметры флуоресценции хлорофилла (*Fv/Fmi Yield*), а подсчет числа устьиц и измерение размеров устьичной щели осуществляли методом отпечатков с использованием светового микроскопа Микмед 2 (ЛОМО, Россия) и окуляр-микрометра. Интенсивность фотосинтеза определяли с помощью установки для исследования СО<sub>2</sub>-газообмена и водяных паров НСМ-1000 (Walz, Германия). Помимо этого в корнях и листьях растений анализировали содержание восстановленного глутатиона (GSH) и фитохелатинов (ФХ) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием предколоночной дериватизации с монобромбиманом (mBBr, “Sigma”) [Sneller et al., 2000]. Содержание тяжелых металлов в органах растений определяли вольтамперометрическим методом.

Биологическая повторность во всех вариантах опыта составляла не менее 10 растений, аналитическая повторность 3-5 кратная. Весь опыт повторяли дважды. Достоверность различий между опытом и контролем оценивали с помощью критерия Стьюдента ( $P \leq 0.05$ ).

Исследования показали, что растения *P. pratense* способны накапливать в своих органах довольно значительное количество кадмия и свинца. В частности,

концентрация кадмия в корнях оказалась равной  $128.3 \pm 14.8$  мкг/г сухого веса, в побегах –  $3.6 \pm 0.2$  мкг/г сухого веса, содержание свинца составляло, соответственно,  $95.4 \pm 15.5$  и  $6.5 \pm 0.7$  мкг/г сухого веса. Концентрации металлов в растениях контрольных вариантов не превышали 0.4–0.6 мкг/г сухого веса.

Несмотря на довольно высокое содержание тяжелых металлов, растения опытных вариантов успешно росли и не отставали в развитии от растений контрольного варианта. Однако в присутствии кадмия и свинца у них заметно снижалась (по отношению к контролю) биомасса корня (на 45% и 35%, соответственно) и в несколько меньшей степени – биомасса побега (на 30% и 25%, соответственно). Отрицательное воздействие тяжелых металлов на ФСА растений выразилось только в уменьшении содержания хлорофиллов (на 30% по сравнению с контролем в варианте с кадмием и на 23% в варианте со свинцом). Остальные показатели, в частности, концентрация каротиноидов, а также параметры  $Fv/Fm$  и  $Yield$ , характеризующие активность фотосистемы II, при действии обоих металлов практически не изменялись. Не было также обнаружено негативного влияния кадмия и свинца и на размеры устьичной щели, а количество устьиц даже увеличивалось (в 2 и 1.4 раза, соответственно), что, очевидно, способствовало сохранению высокой интенсивности фотосинтеза у опытных растений.

Как известно, устойчивость растений к тяжелым металлам связана с эффективной работой клеточных механизмов их детоксикации, среди которых важную роль играет связывание ионов металлов в цитоплазме непротеиновыми тиолами такими, как GSH и ФХ. В наших опытах кадмий и свинец существенно активизировали синтез ФХ из GSH в растениях. Так, в присутствии кадмия количество ФХ в корнях увеличивалось по сравнению с контролем в 6, а в листьях – в 12 раз, в присутствии свинца – в 3 и 9 раз, соответственно. При этом несколько повышалась и концентрация GSH, свидетельствуя о запуске его синтеза, что также способствует повышению металлоустойчивости растений.

В целом проведенное исследование показало, что способность растений *Phleum pratense* успешно произрастать на субстратах с повышенным содержанием кадмия и свинца, накапливая при этом значительное их количество в корнях и листьях, связана с функционированием целого ряда физиолого-биохимических механизмов, направленных, в частности, на сохранение структурно-функциональной целостности ФСА и поддержание необходимого уровня фотосинтеза. Среди них: увеличение в присутствии этих металлов числа устьиц, поддержание эффективности функционирования ФС II и концентрации каротиноидов на уровне контрольных растений. Важную роль в адаптации растений к кадмию и свинцу играют также механизмы их детоксикации в клетках, в том числе синтез непротеиновых тиолов (ФХ и GSH), обеспечивающих связывание, а, следовательно, и инактивацию, токсичных ионов в цитоплазме.

#### Литература

- Цвелев Н.Н. Злаки СССР. – Л.: Наука, 1976. – 788 с.  
Sneller F.E.C., van Heerwaarden L.M., Koevoets P.L.M., Vooijs R., Schat H., Verkleij A.C. Derivatization of phytochelatins from *Silene vulgaris*, induced upon exposure to arsenate and cadmium: comparison of derivatization with Ellman's reagent and monobromobimane // J. Agric. FoodChem., 2000. – V. 48. – P. 4014-4019.



## **ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИ АКТИВНАЯ РАДИАЦИЯ КАК ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКТОР ДЛЯ ЛЕСНЫХ БИОГЕОЦЕНОЗОВ ПРИ АНТРОПОГЕННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ В ИЗМЕНЯЮЩИХСЯ КЛИМАТИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ**

Е.В. Матюшевская

Белгосуниверситет, Минск, *katerina.vm@gmail.com*

Результаты исследования устойчивости растений в экстремальных природных условиях и в техногенной среде могут быть более полными с привлечением самой изменчивой величины климатической системы – фотосинтетически активной составляющей солнечной радиации. Объектом исследования являлись: лесопарковые насаждения современных поколений ели и сосны в условиях техногенного загрязнения воздушной среды Минска и Могилева, «островные» ельники и сосняки в Белорусском Полесье. Основные цели и задачи исследования заключались в выявлении реакции этих древесных растений на изменчивость погодно-климатических условий при техногенном загрязнении воздушной среды в этих городах и после осушительной мелиорации на юге Беларуси. Выполненное исследование привело к выводу о том, что многолетняя динамика радиального прироста ели и сосны в условиях техногенного загрязнения определяется не только этим фактором и погодно-климатическими условиями (температурой воздуха и осадками), но и непостоянством притока прямой солнечной радиации, на что не обращалось внимания в многочисленных дендрэкологических исследованиях. Связь между ним и данным гелиорадиационным фактором определяется водно-минеральным потенциалом почвы.

Современные динамичные климатические условия не привели к существенным изменениям в реализации хвойными лесами Беларуси (сосновыми и еловыми) своего биопродукционного потенциала в нарастании стволовой массы (радиального прироста) независимо от антропогенных факторов (техногенного загрязнения я воздушной среды и осушительной мелиорации). Водно-земельные мелиорации в Белорусском Полесье в XIX и XX столетиях выполнялись при непостоянстве климатических условий. Изменчивость климата оказывала влияние на ход мелиоративного освоения болот и заболоченных земель региона и на дискуссию об экологических последствиях этого освоения, которая была более активной при наступлении периодов относительно засушливых климатических периодов.

Во временной динамике нарастания стволовой массы древостоя как результата воздействия множества факторов экологического и биологического порядка важнейшее значение принадлежит изменчивости в поступлении прямой солнечной радиации. Поступление солнечной радиации в экосистемы лесов на территории Беларуси изменяется в значительных пределах (до 40% от среднего многолетнего значения) в зависимости от аэрозольного содержания атмосферы и ее циркуляции.

Как известно, прямая солнечная радиация оказывает непосредственное физическое воздействие на температуру воздуха и фотосинтезирующий аппарат растений. Рост температуры воздуха и хвои вызывает увеличение эвапотранспирационного расхода влаги, которая поставляется транспирационным током, определяющего интенсивность фотосинтеза. Водные ресурсы иллювиально-гумусово-железистого подзола и других заболоченных почв Полесья с нахождением грунтовых вод в первом метре от поверхности песчаной почвы («сырые пески») не лимитируют транспирационный ток при любых погодно-климатических условиях, в то время как влажность омброгоризонта автоморфных почв, зависящая от атмосферных осадков, выступает в значении лимитирующего фактора. Эвапотранспирация определяет минеральное питание, рост и урожай растений (для древесных растений – радиальный прирост).

В результате последовательно зависимых процессов для лесных насаждений с прямой статистической зависимостью радиального прироста от прямой солнечной радиации образуется следующая цепь: возрастание поступления этой радиации → рост температуры воздушной среды и хвои → увеличение транспирации → усиление транспирационного тока → не лимитируемое потребление водно-минеральных ресурсов трихогоризонта и приповерхностных грунтовых вод → прямая статистическая зависимость радиального прироста от прямой солнечной радиации как начального звена этой цепи. Водно-минеральные ресурсы трихогоризонта и питающих приповерхностных грунтовых вод в песчаных почвах обеспечивают непрерывное наполнение транспирационного тока. В этом случае потепление климата является благоприятным (стимулирующим) фактором для реализации продукционного потенциала древостоем

Для насаждений с обратной статистической зависимостью радиального прироста от прямой солнечной радиации цепь последовательно зависимых процессов выстраивается иначе: возрастание поступления этой радиации → рост температуры воздушной среды и хвои → не полная обеспеченность эвапотранспирации влагой из-за ограниченности влагосодержания омбуригоризонта автоморфных почв → сокращение транспирации → обратная статистическая зависимость радиального прироста с прямой солнечной радиацией как начального звена этой цепи. Потепление климата выступает уже в значении лимитирующего фактора, снижающего стволовую продуктивность древостоя особенно при сокращении осадков (исключая насаждения с богатым листовым подлесочно-кустарниковым ярусом).

Таким образом, знак статистической зависимости радиального прироста на песчаных почвах от прямой солнечной радиации определяется использованием древостоем водно-минеральных ресурсов трихогоризонта и питающих грунтовых вод (плюс) или только омбуригоризонта (минус).

Для сосны на осушенном верховом болоте выстраивается следующая цепь последовательно зависимых физических и физиологических процессов: возрастание поступления прямой солнечной радиации → рост температуры воздушной среды и хвои → не полная обеспеченность эвапотранспирации влагой и минеральным питанием из-за физиологической сухости и анаэробно-болотной почвы → сокращение транспирации → обратная статистическая зависимость радиального прироста с этой радиацией как начального звена всей цепи. При потеплении климата после 1998 г. потребность во влаге, обеспечивающей фотосинтез у сосны на верховом болоте после осушительной мелиорации, не обострилась, как и условия для ее всасывания корневой системой. Как следствие – прямая зависимость радиального прироста с осадками в месяцы с самым длинным фотопериодом (июнем и июлем).

Понижение грунтовых вод в «островных» локалитетах на территориях с осушительной сетью привело к улучшению лесорастительных условий, на что указывает увеличение ее радиального прироста. Саморегуляция отношений ели и сосны с погодно-климатическими факторами в условиях техногенного загрязнения воздушной среды и после осушительной мелиорации в Полесье через радиальный прирост стала более активной при потеплении климата после 1976 г. Дальнейшее потепление климата после 1998 г. (с позиций 1977–1998 гг.) явилось благоприятным фактором для этих древесных пород. Полученные материалы могут служить информационной основой для принятия решений в области использования, воспроизводства и охраны лесных ресурсов Беларуси при непостоянстве климатических условий с учетом техногенного загрязнения воздушной среды и водно-земельных мелиораций.

## ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМ ПРЕДБАЙКАЛЬЯ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ АНТРОПОГЕННЫХ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ

Т.А. Михайлова<sup>1</sup>, О.В. Калугина<sup>1</sup>, О.В. Шергина<sup>1</sup>, Л.В. Афанасьева<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, [phytotox@sifibr.irk.ru](mailto:phytotox@sifibr.irk.ru)

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, Улан-Удэ, Россия

Исследования проводились в сосновых (*Pinus sylvestris* L.) лесах Южного Предбайкалья. Цель работы – выявить динамику развития патологических процессов и проявление защитных реакций в лесных экосистемах при стрессовом воздействии негативных факторов (высокой рекреационной нагрузки и техногенного загрязнения).

Показано, что при техногенном загрязнении начальным звеном деградации лесной экосистемы является нарушение биогеохимических циклов элементов, что обусловлено вмешательством поступающих с аэровыбросами элементов-поллютантов в процессы миграции биогенных элементов в фито- и педоценозе, их усвоения растительными организмами, перераспределения в горизонтах почвенного профиля. В конечном итоге это приводит к экосистемному дисбалансу элементов-биогенов. Таким образом, нарушается формирование химического состава компонентов экосистемы, прежде всего древесных растений, в данном случае сосны как основного продуцента и вида-эдификатора. Этот процесс усиливается изменениями кислотно-щелочного баланса компонентов экосистем, и в большинстве случаев сдвиг реакции среды почвенного раствора, гомогенатов хвои, надземной части травянистых растений и их корневой биомассы происходит в сторону щелочных значений. Подщелачивание верхних почвенных горизонтов оказывает значительное негативное влияние на минеральное питание растений, поскольку происходит снижение миграционной активности водорастворимых форм большинства элементов, в особенности азота, фосфора, магния, калия. Поэтому в щелочной среде почвенного раствора обнаруживается снижение доли подвижных и обменных форм биогенных элементов и увеличивается доля комплексных органо-минеральных соединений с низкой растворимостью, в ряде случаев наблюдается развитие процесса техногенного соленакопления, а в целом – замедляется процесс естественной минерализации. В ассимиляционных органах сосны дисбаланс минерального питания особенно явно проявляется в нарушениях соотношения элементов-биогенов, при этом общая тенденция характеризуется увеличением долей азота, натрия, серы, железа, свинца, кадмия, алюминия на фоне снижения долей фосфора, калия, магния, марганца.

При высокой рекреационной нагрузке дисбаланс элементов-биогенов в ассимиляционных органах сосны в значительной степени обусловлен выраженными физико-механическими нарушениями верхних горизонтов почв. Нередко наблюдается полное уничтожение лесной подстилки, разрушение структуры дернины и гумусово-аккумулятивных горизонтов, снижение их влажности (на 40–60%), пористости (на 40–50%), аэрации (на 50–75%). При такой ситуации существенно снижается активность минерализации органического вещества и миграции элементов питания по профилю почв. Соответственно, выявляется выраженное снижение поступления биогенных элементов в корневую систему растений, что обуславливает ухудшение их ростовых характеристик. Это подтверждается выявленными высокими корреляциями между

физико-механическими показателями почв и ростовыми параметрами древесных растений ( $r = 0.6-0.9$ ).

Влияние обоих стрессовых факторов проявляется при рассмотрении типа минерального питания сосны на антропогенно нарушенных территориях. Выявлено, что преобладает кальциево-азотный тип, вместе с тем, обнаруживаются существенные изменения в рядах накопления элементов, вплоть до изменения типа питания.

Для фоновых сосняков разнотравных ряд накопления следующий:

$N > Ca > K > P > Mg > Si > Mn > S > Al \geq Na > Fe > Zn > F > Cu > Pb > Cd$ .

Для сосняков, подвергающихся воздействию техногенного загрязнения (Усольский промцентр):  $N > Ca > K > Si > P > Mg > S > Al > Fe > Mn > Na > Zn > F > Cu > Pb > Cd$ .

Для сосняков, испытывающих высокую рекреационную нагрузку на серой лесной супесчаной почве:

$N > Si > Ca > K > P > Mg > S > Mn > Al > Na > Fe > Zn > F > Cu > Pb > Cd$ .

Результаты исследований свидетельствуют, что в наибольшей степени биогеохимические нарушения проявляются в ассимиляционных органах сосны, лесной подстилке и верхних почвенных горизонтах. Вместе с тем, выявлены защитные реакции в компонентах лесных экосистем. При влиянии техногенного загрязнения они возникают в первую очередь у сосны как наиболее чувствительного вида. На биохимическом уровне к ним можно отнести неспецифические изменения в ассимиляционных органах: адаптивные перестройки пигментного комплекса, увеличение уровня водорастворимых белков, возрастание содержания аскорбиновой кислоты, высокую активность пероксидазы и изменение ее изоферментной системы. А в целом вектор адаптации древесных растений (сосны обыкновенной) направлен на выживание в условиях длительного влияния стрессовых факторов, следовательно, ресурсы организма затрачиваются в большей степени на активизацию защитных реакций, в то время как затраты на ростовые процессы снижаются.

Наиболее тесные функциональные связи с растительностью имеют лесная подстилка (A0) и верхние гумусовые горизонты (A1, A2), именно они содержат основные запасы буферных компонентов почв и обладают максимальной аккумулятивной способностью по отношению к элементам-загрязнителям. Следовательно, являются важнейшим компонентом защиты и устойчивости экосистемы при техногенном загрязнении и влиянии других неблагоприятных факторов. Защитные свойства почвы обусловлены ее буферной способностью, которая в свою очередь определяется ее химическим составом, кислотнo-щелочными условиями, емкостью ППК, содержанием органических веществ и другими параметрами. По результатам исследования комплекса кислотнo-основных, гумификационных, катионообменных, морфоструктурных показателей верхних органо-минеральных горизонтов почв выявлено, что даже при воздействии таких сильных негативных факторов, как техногенное загрязнение и высокая рекреационная нагрузка, тренд к снижению буферной способности не резкий и описывается не экспоненциальным, а линейным уравнением. Поэтому, несмотря на снижение буферной способности почвы в большинстве случаев, защитные механизмы в обследованных лесных экосистемах поддерживаются и направлены в первую очередь на восстановление состава ППК.

*Работа выполнена в рамках государственного задания по проекту № 0343-2014-0001.*

## ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИЙ ИЗ МНОГОЛЕТНЕМЁРЗЛЫХ ПОРОД НА МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ОВСА ПОСЕВНОГО В УСЛОВИЯХ НЕФТЯНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ

М.В. Нарушко<sup>1</sup>, В.А. Мальчевский<sup>2</sup>, С.А. Петров<sup>1</sup>, А.С. Бажин<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Тюменский научный центр СО РАН, Тюмень, Россия, [narushkomv@mail.ru](mailto:narushkomv@mail.ru)

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Тюменский государственный университет», Тюмень, Россия

Активно ведется поиск приемов и методов повышения адаптивных свойств растений в условиях загрязнения почв углеводородами. Это связано с возрастанием антропогенной нагрузки на фитобиоценозы в процессе разработки и эксплуатации нефтегазового комплекса. Нефтяное загрязнение окружающей среды в разной степени приводит к угнетению, деградации, а иногда и полной гибели растительности [Петухова, 2008]. Одним из способов решения данной задачи является применение биологических удобрений и фитостимуляторов на основе микроорганизмов.

Наиболее перспективным путем создания природных активаторов биологического потенциала растений является их получение на основе штаммов бактерий, выделенных из многолетнемерзлых пород (ММП). Микроорганизмы, сохранившие жизнеспособность в течение длительного времени в условиях низких температур и замедленного метаболизма, адаптировались к неблагоприятным факторам среды, и могут обладать высокой приспособляемостью к почвенно-климатическим условиям Западной Сибири.

**Цель работы** – оценить влияние некоторых штаммов бактерий рода *Bacillus*, выделенных из ММП на морфофизиологические показатели *Avena sativa* L. в условиях нефтяного загрязнения почвы.

**Материал и методы.** Экспериментальное исследование проведено в 2013 г. на семенах *Avena sativa* L. В работе использовали штаммы микроорганизмов рода *Bacillus*, выделенные нами из ММП Западной и Восточной Сибири и идентифицированные методом сиквенса 16S RNA: В1М – *Bacillus* sp., В1Т – *Bacillus megaterium*, В2СН – *Bacillus pumilus*. Для постановки эксперимента плотность суспензии бактериальных культур доводили до рабочей концентрации в  $1 \times 10^7$  м.к./мл. Полученными суспензиями проводили предпосевную обработку зерновок *Avena sativa* L. Растения выращивали в течение 20 дней. Для моделирования нефтезагрязнённой почвы использовали пробу нефти ГОСТ р 5185-2002. Нефть в количестве 2, 5, 10 грамм вносили, соответственно в 98, 95, 90 граммов чистого, прокалённого песка и тщательно перемешивали. Обработанные семена овса посевного высевали на предварительно загрязненную нефтепродуктами почву. В каждом варианте эксперимента высаживали по 100 семян. В контрольных вариантах семена сеяли на чистую не загрязненную почву – контроль-1; в контроле-2 – семена сеяли на нефтезагрязненную почву без обработки семян суспензией бактерий. Семена проращивали при температуре +22 °С и естественной длительности светового дня. На 3 сутки определяли энергию прорастания, на 7 сутки – лабораторную всхожесть семян. На 20 сутки эксперимента производили измерения: количество корней, максимальную длину корней, длину coleoptily и стеблевого побега, количество листьев, длину и ширину первого листа, площадь листовой пластинки, массу побега и массу корня. Оценивали содержание пигментов фотосинтеза: хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов. Количество хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов определяли спектрофотометрическим методом. Статистическую

обработку полученных данных проводили с помощью программы «SPSS ver. 11.5.for Windows».

**Результаты и обсуждение.** Оценка всхожести семян *Avena sativa* L. показала, что при нефтяном загрязнении почвы (контроль-2) наблюдается подавление всхожести семян. Обработка семян суспензией бактерий в двух вариантах эксперимента не привела к увеличению их всхожести. При обработке семян суспензией бактерий штамма В1М их всхожесть на нефтезагрязнённой почве оказалась в 2-4 раза выше, чем в контроле-2.

При 2% загрязнении субстрата нефтепродуктами установлено снижение практически всех исследуемых показателей по сравнению с контролем-1. По сравнению с контролем-2 отмечено увеличение длины побега (штамм В1Т); длины первого листа (все исследуемые штаммы), ширины и площади первого листа (штамм В1Т); количества (все исследуемые штаммы) и массы корней (штаммы В1Т и В2СН). При 5% загрязнении субстрата нефтепродуктами отмечается увеличение массы корней у проростков *Avena sativa* L., обработанных штаммами В1М и В2СН, по сравнению с контролем-1. Относительно контроля-2 отмечается увеличение количества корней (штаммы В1М и В1Т) и массы корней (штаммы В1М и В2СН). Анализ морфометрических показателей проростков овса при 10% загрязнении почвы выявил увеличение количества и массы проростков при обработке штаммом В1М, по сравнению с контролем-1. Относительно контроля-2 наблюдается увеличение длины побегов (штаммы В1М и В2СН), длины coleoptily, длины и площади первого листа (штамм В1М). Наблюдается увеличение длины и количества корней (штаммы В1М и В2СН), возрастание массы корней (штаммы В1М и В2СН) и массы побегов (штамм В1М).

Анализ содержания пигментов фотосинтеза в *Avena sativa* L. при 2% загрязнении модельной почвы показал увеличение основного хлорофилла *a* (штаммы В1М и В2СН) и вспомогательного хлорофилла *b* (штамм В1Т) относительно контроля-2. Это свидетельствует о меньшем угнетении фотосинтетической системы проростков. При 5% нефтяном загрязнении наблюдается увеличение содержания хлорофилла *a* во всех вариантах эксперимента относительно контроля-2. Отмечено увеличение содержания каротиноидов в опытном варианте, обработанном штаммом В1М, что указывает на способность штамма В1М нейтрализовать повреждающее действие углеводородов. При 10% загрязнении субстрата нефтью, наблюдается увеличение содержания хлорофиллов *a* и *b* у проростков *Avena sativa* L., обработанных штаммом В1М относительно контроля-2. Увеличилось содержание каротиноидов в варианте, обработанном штаммом В1Т, по сравнению с обоими контролями.

**Заключение.** Таким образом, штаммы бактерий В1Т, В1М и В2СН, выделенные из ММП, положительно влияют на рост и развитие проростков овса посевного в условиях нефтяного загрязнения и являются перспективными для создания биопрепаратов на их основе.

#### Литература

Петухова Г.А. Механизмы устойчивости организмов к нефтяному загрязнению среды. – Тюмень: изд-во ТюмГУ, 2008. – 172 с.

Нарушко М.В., Субботин А.М., Петров С.А., Боме Н.А., Мальчевский В.А. Изменение морфофизиологических показателей яровой пшеницы под влиянием бактерий, выделенных из многолетнемерзлых пород // Арктика, Субарктика: мозаичность, контрастность и вариативность криосферы: Труды Международной конференции. – Тюмень, 2015. – С. 258-260.

## ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ГИДРОФИТОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ ИОНОВ КАДМИЯ

К.А. Поморцева, Г.Г. Борисова

ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина», Екатеринбург, Россия, *potor-a.ksieniia@list.ru*

С возрастанием антропогенной нагрузки на гидроекосистемы в поверхностных водах все чаще обнаруживаются повышенные концентрации загрязняющих веществ органического и неорганического происхождения. Это приводит к тому, что экологическое состояние многих водных объектов не соответствует нормативным требованиям.

Среди поллютантов, поступающих в водотоки и водоемы, распространенными считаются ионы тяжелых металлов. Следует отметить, что погруженные водные растения накапливают больше металлов, чем плавающие. Поэтому выявление изменений, лежащих в основе формирования адаптации и устойчивости к действию этих токсикантов именно у погруженных гидрофитов, представляется наиболее интересным.

Цель работы – оценка про- и антиоксидантных реакций высших водных растений (на примере роголистника погруженного) на действие ионов кадмия в градиенте концентраций.

Роголистник погруженный (*Ceratophyllum demersum* L.) имеет широкий ареал распространения. Он обладает высокой аккумулятивной способностью и является удобным объектом при проведении экспериментальных исследований. Растения инкубировали в модельных системах в течение 1 и 3 суток в дистиллированной воде с добавлением сульфата кадмия в концентрации 0,1; 1,0; 10,0 мг/л (в расчете на  $Cd^{2+}$ ) при естественном освещении и комнатной температуре.

Для достижения поставленной цели в листьях роголистника определяли интенсивность перекисного окисления липидов [Uchiyama, 1978], активность гваякол-пероксидазы [Chance, 1955], содержание растворимого белка [Bradford, 1976] и флавоноидов [Рогожин, 2006]. Количество кадмия в растительном материале измеряли на атомно-абсорбционном спектрометре после мокрого озоления.

Интенсивность перекисного окисления липидов в варианте с кадмием 0,1 мг/л была на уровне контроля после инкубирования растений в течение 1 суток. Большие концентрации  $Cd^{2+}$  приводили к увеличению содержания продуктов перекисного окисления липидов.

У растений, инкубированных в дистиллированной воде (без внесения кадмия), а также при его низкой концентрации в среде (0,1 мг/л), содержание малонового альдегида после 3 суток инкубирования не изменялось. В остальных вариантах наблюдалось снижение интенсивности перекисидации.

Содержание  $Cd^{2+}$  в листьях роголистника закономерно увеличивалось с возрастанием его концентрации в среде. Выявлена линейная зависимость между количеством внесенного металла и его аккумуляцией. Через 3 суток в листьях растений содержание кадмия существенно не изменилось (по сравнению с вариантами, инкубированными в течение 1 суток). Следовательно, происходило насыщение растительных клеток ионами кадмия до определенного предела, после которого поглощение замедлялось.

Активность гваякол-пероксидазы была максимальной при концентрации  $Cd^{2+}$  0,1 мг/л при инкубировании растений в течение 1 суток. По-видимому, низкие

концентрации  $\text{Cd}^{2+}$  активизировали работу этого фермента, в то время как высокие инактивировали его конститутивный пул в результате образования избыточного количества активных форм кислорода. После инкубирования в течение 3 суток активность фермента изменялась незначительно.

Содержание растворимого белка в листьях роголистника в контроле было достоверно выше, чем у растений, инкубированных с ионами кадмия. Минимальное содержание растворимого белка (на 43% ниже по сравнению с контролем) зафиксировано в варианте с  $\text{Cd}^{2+}$  при концентрации 1,0 мг/л.

При техногенном загрязнении окружающей среды в растительных организмах часто увеличивается количество низкомолекулярных антиоксидантов: аскорбата, пролина, флавоноидов. Это объясняется тем, что при сильном окислительном стрессе ферменты не всегда успевают справляться с обезвреживанием активных форм кислорода, поэтому низкомолекулярные компоненты антиоксидантной системы могут принимать непосредственное участие в нейтрализации свободных радикалов.

Наибольшее содержание флавоноидов в листьях роголистника отмечено при концентрации  $\text{Cd}^{2+}$  1,0 мг/л. Возрастание количества флавоноидов можно расценивать как неспецифическую защитную реакцию, которая обеспечивает высокий уровень толерантности к неблагоприятным условиям. У растений, инкубированных при 10,0 мг/л  $\text{Cd}^{2+}$ , количество этих соединений снижалось, что, вероятно, связано с истощением их пула вследствие дисбаланса между процессами синтеза и расходования.

Таким образом, при повышенных концентрациях кадмия у растений развивается окислительный стресс, происходит активация антиоксидантной системы. В нейтрализации активных форм кислорода принимают участие не только ферменты, но и низкомолекулярные антиоксиданты.

#### Литература

Рогожин В.В. Практикум по биологической химии: уч.-метод. пос. – СПб.: Изд-во «Лань», 2006. – 256 с.

Bradford M.M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding // *Anal. Biochem.*, 1976. – V. 72. – P. 248-254.

Chance B., Maehly A.C. Assay catalase and peroxidase. *Methods in Enzymology*. – N. Y.: Academic Press, 1955. – P. 764-775.

Uchiyama M., Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test // *Anal. Biochem.*, 1978. – V. 86. – P. 287-297.



## ВЛИЯНИЕ КАДМИЯ НА АККУМУЛЯЦИЮ ПРОЛИНА У РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ И ОГУРЦА

Н.С. Репкина, В.В. Таланова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Россия, *nrt9@ya.ru*

Одним из важных низкомолекулярных протекторных соединений растений, аккумулирующихся в ответ на действие неблагоприятных факторов внешней среды, является пролин [Szabados, Savouré, 2009]. Он участвует в устойчивости растений в качестве осмопротектора, низкомолекулярного антиоксиданта и обладает способностью стабилизировать мембраны, белковые комплексы и ДНК [Колупаев и др., 2014; Kishor, Sreenivasulu, 2014]. К настоящему времени накоплено большое количество данных об участии пролина в устойчивости растений к действию таких стресс-факторов как засуха, засоление, низкие и высокие температуры и др., однако его роль в металлоустойчивости все еще мало изучена. Учитывая это, целью данной работы явилось изучение содержания пролина у растений пшеницы и огурца при действии кадмия.

В качестве объекта исследований использовали растения озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Московская 39 и огурца (*Cucumis sativus* L.) гибрида F1 Зозуля, которые по достижении недельного возраста подвергали действию сульфата кадмия (100 мкМ) в течение 7 суток. Оводненность тканей побега рассчитывали по стандартной формуле. Об уровне перекисного окисления липидов судили по накоплению малонового диальдегида (МДА) [Stewart, Bewley, 1980], содержание свободного пролина определяли методом Бейтса с соавторами [Bates et al., 1973].

В ходе исследований установлено, что в листьях растений пшеницы через 2 суток от начала воздействия кадмия происходит повышение содержания пролина, которое по мере увеличения продолжительности воздействия возрастает, достигая максимума на 7 сутки эксперимента (рисунок). У растений огурца при действии кадмия отмечено более раннее накопление пролина (уже через 1 час), которое продолжалось в течение 2 суток, в дальнейшем его уровень несколько снижался, однако и на 7 сутки эксперимента превышал исходные значения (рисунок).

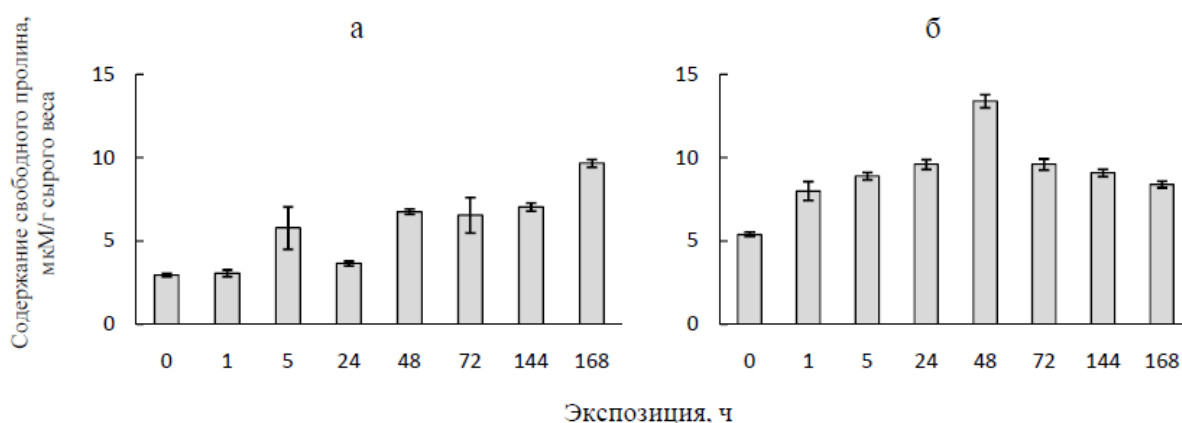


Рисунок. Влияние сульфата кадмия (100 мкМ) на содержание свободного пролина в листьях пшеницы (а) и огурца (б)

Нами также было проанализировано накопление малонового диальдегида (МДА) – конечного продукта перекисного окисления липидов. Показано, что как у растений пшеницы, так и у растений огурца содержание МДА в листьях увеличивается только при длительном воздействии кадмия (6–7 суток). При этом в корнях растений пшеницы наблюдалось незначительное повышение содержания МДА на 3–7 сутки. В то же время в корнях растений огурца обнаружено повышение уровня МДА через 1 час от начала воздействия кадмия, которое заметно увеличивалось на 6–7 сутки эксперимента. Предположительно это связано со значительно большей аккумуляцией кадмия в корнях растений огурца, чем пшеницы. Вместе с тем, что накопление МДА в листьях только при длительных экспозициях может быть связано с функционированием пролина в качестве низкомолекулярного антиоксиданта, который наряду с другими антиоксидантами препятствует развитию окислительного стресса.

Хорошо известна роль пролина в растении как осмопротекторного соединения. Однако тяжелые металлы не вызывают прямых осмотических эффектов у растений. В пользу этого говорят и полученные нами данные по оводненности побегов растений пшеницы и огурца: на протяжении действия кадмия (в течение 7 суток) достоверных изменений оводненности тканей побегов пшеницы и огурца не установлено. Учитывая это, можно предполагать, что в данных условиях аккумуляция осмопротекторов не требуется и участие пролина в металлоустойчивости связано не с его осмопротекторной функцией, а с антиоксидантной ролью.

Таким образом, показано, что, несмотря на значительные количественные отличия в накоплении кадмия растениями пшеницы и огурца, их ответные реакции на действие кадмия имели сходный характер, что в частности выражалось в накоплении низкомолекулярного антиоксиданта пролина в листьях.

#### Литература

Колупаев Ю.В., Вайнер А.А., Ястреб Т.О. Пролин: физиологические функции и регуляция содержания в растениях в стрессовых условиях // Вестник Харьковского Нац. Аграр. Универ. Сер. Биол., 2014. – № 32. – С. 6-22.

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.

Kishor P.B.K., Sreenivasulu N. Is proline accumulation per se correlated with stress tolerance or is proline homeostasis a more critical issue? // Plant Cell Environ., 2014. – V. 37. – P. 300-311.

Stewart R.R.C., Bewley J.D. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes // Plant Physiol., 1980. – V. 65. – P. 245-248.

Szabados L., Savouré A. Proline: a multifunctional amino acid // Trends in Plant Sci., 2009. – V. 15. – P. 89-97.

## РОЛЬ МИКРООРГАНИЗМОВ В УТИЛИЗАЦИИ ТЕХНОГЕННЫХ ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ ПРИРОДНОЙ СРЕДЫ

Е.В. Симонова<sup>1</sup>, Е.Н. Максимова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО «Иркутский медицинский университет», Иркутск, Россия, *evsimonova@yandex.ru*

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет», Иркутск, Россия, *evgen\_max@list.ru*

Восточная Сибирь относится к экологически неблагоприятным регионам нашей страны. На ее территории размещены различные предприятия, в том числе ЦБП, промышленные отходы которых поступают в природную среду. Несмотря на наличие очистных сооружений, достичь полной очистки при современном технологическом уровне производства невозможно. Об этом убедительно свидетельствуют результаты экспериментальных исследований, выполненных по изучению токсикогенетической активности промышленных сточных вод предприятий ЦБП, расположенных на территории Иркутской области [Симонова, Денисова, 2010; Denisova et al., 2013]. Поступая в природную среду, техногенные загрязнители продолжают разрушаться с участием микроорганизмов по экстенсивному пути.

Сульфатный лигнин, складывающийся в накопителях шлама с начала эксплуатации целлюлозных предприятий, формирует в природной среде искусственную экологическую систему. Главный вклад в утилизацию лигнина вносят микроорганизмы. Располагая неоспоримым преимуществом перед другими живыми организмами, они отличаются разнообразным и лабильным типом метаболизма, позволяющим разлагать широкий спектр загрязнителей техногенного происхождения. Кроме того, они обладают низкой чувствительностью к ингибиторам, что обеспечивает их функционирование в условиях интенсивного загрязнения.

В связи с этим целью данной работы явилось изучение состояния микробиоценоза, формирующегося в разных условиях складирования сульфатного лигнина, поступающего в виде твердых отходов с предприятий целлюлозной промышленности в карты-накопители.

В одном случае – это карты-накопители лигнина, в которых он хранится открытым способом, покрыты примерно на уровне 1,7 м слоем неотфильтрованных очищенных сточных вод, но отличающиеся между собой тем, что в одну из них дополнительно сбрасывался строительный мусор и твердые бытовые отходы ЦБК. В другом случае это карты-накопители, где на поверхность складываемого лигнина намывался слой зольной пульпы. Исследования проводились в соответствии с «Методическими указаниями по санитарно-микробиологическому исследованию почвы» № 4500 от 5.05.03 [Санитарно-эпидемиологические требования..., 2005], для выделения почвенных микроорганизмов применяли культуральный метод с количественным посевом микроорганизмов на питательные среды для разных систематических групп [Практикум..., 2005].

Состояние любого микробиоценоза оценивается по интегральному показателю – ОМЧ (КОЕ/г) грунта. В связи с этим была проведена прямая индикация микроорганизмов в анализируемых образцах, отобранных в картах-накопителях сульфатного лигнина на основе культурального метода исследования. Как и следовало ожидать, концентрации микроорганизмов в одной и той же карте-накопителе отличаются по значениям в разных срезах горизонта искусственного грунта, отобранного в поверхностном слое, на глубине 2,0 и 3,5 м, формирующегося при

складировании сульфатного лигнина, соответственно преобладая в его верхних слоях, тогда как в нижних слоях горизонта доминируют анаэробные микроорганизмы.

В разных условиях хранения лигнина количественные показатели микробной плотности в картах-накопителях также варьируют. В тех случаях, когда в складированный лигнин дополнительно вносилась зольная пульпа, микробный уровень возрастает на порядок.

Шлам-лигнин при его совместном складировании с золой является хорошей экологической средой для развития микроорганизмов, в связи с этим в нем в большом количестве присутствуют основные экологические группы микроорганизмов, что свидетельствует о процессе формирования экологической системы, способной к дальнейшей сукцессии и самостоятельному развитию. Интенсивность процессов биодеструкции органического субстрата, имеющего сложную структурную организацию, а именно таким является сульфатный лигнин, определяется качественным составом микробного пейзажа. Деструкция органического субстрата протекает как в аэробных условиях в поверхностном слое, так и при анаэробии – в отложениях придонного слоя. В связи с этим были выделены специфические группы микроорганизмов, участвующие в биодegradации органического вещества. Отмечено, что плотность специфических почвообразующих групп микроорганизмов, активно участвующих в процессах самоочищения также отличается условиями рекультивации лигнина в шламонакопителях, что свидетельствует о селекции отдельных видов микроорганизмов в структуре микробиоценоза на фоне химической активности складированного сульфатного лигнина.

Биодegradация лигнина является окислительным процессом и сопряжена с выделением вторичных загрязнителей, которые дополнительно вносят вклад в селекцию микроорганизмов, участвующих в этом процессе. В бескислородных, кислых средах имеет место отложение органических субстратов, но их дegradация очень низка. При участии микробных ферментов, хотя и с низкой скоростью, в анаэробных условиях лигнин разлагается в метан и двуокись углерода. Способность разлагать лигнин выражена у прокариотических организмов, относящихся к родам *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Flavobacterium* и др., а также у лигнинразрушающих грибов.

Исходя из выше изложенного следует, что в искусственно созданных грунтах формируются сложные микробиоценозы, зависящие от их химического состава. Симбиотические взаимоотношения, складывающиеся внутри, определяют эффективность процесса биотрансформации. В структуре микробиоценоза выражена селекция микроорганизмов, направленность которой зависит от влияния на нее вторичных загрязнителей, образующихся при биодеструкции лигнина и обладающих токсической активностью в отношении микроорганизмов.

#### Литература

Санитарно-эпидемиологические требования к качеству почвы: Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы. Изд. 2-е, стереотип. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2005. – 19 с.

Симонова Е.В., Денисова Т.П. Оценка токсикогенетической активности воды природного водоема, испытывающего техногенное воздействие // Вода: химия и экология, 2010. – № 10 – С. 31-35.

Практикум по микробиологии / А.И. Нетрусов, М.А. Егоров, Л.М. Захарчук и др. – М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 608 с.

Denisova T.P., Simonova E.V., Dadueva A.S. Influence of industrial sewage from paper-and-pulp mills on natural reservoirs // Health protection and physical development of a person in conditions of the biospheric crisis. London: published by IASHE. – 2013. – P. 42-44.

## ФИТОТОКСИЧНОСТЬ ЗАГРЯЗНЕННЫХ ФТОРИДАМИ ПОЧВ ПО ОТНОШЕНИЮ К РАЗНЫМ ВИДАМ ПОЛЕВЫХ КУЛЬТУР

Л.Г. Соколова, А.А. Симакова, С.Ю. Зорина, Л.А. Ломоватская, О.В. Кузакова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, [sokolova.lada@sifibr.irk.ru](mailto:sokolova.lada@sifibr.irk.ru)

Современным и экономически выгодным приемом восстановления загрязненных почв, в том числе фторидами алюминиевого производства, считается их фиторемедиация. Потенциальными кандидатами для пахотных почв могут быть районированные в земледелии полевые культуры, поскольку они наиболее адаптированы к почвенно-климатическим условиям. Необходимым этапом при отборе устойчивых видов растений должна быть оценка фитотоксичности загрязненных почв по отношению к возможным фиторемедиантам. Поскольку чувствительность отбираемых культур к поллютантам может существенно различаться, применение только принятого в биотестировании агропочв подхода (метод проростков) недостаточно.

Для решения проблемы предлагается использовать ряд модельных систем: «водный раствор NaF - проростки полевой культуры» и «проростки - почвенная вытяжка», «почва - взрослое растение». Лабораторные и полевые опыты проводили на серых лесных почвах, как наиболее распространенных в зонах алюминиевого производства на территории Байкальского региона. Схема опыта включала варианты: незагрязненная (контроль), модельно загрязненная (контроль+NaF) и промышленно загрязненная (ИркАЗ) почвы. Уровень их загрязнения  $F_{вод}$  (преобладающий поллютант) составлял соответственно <ПДК, 9 и 10 ПДК. Вариант с внесением в почву NaF введен в эксперимент для выявления отклика растений на действие именно фторидов. Поиск потенциальных фиторемедиантов проводили среди традиционных для земледелия Байкальской Сибири полевых культур: пшеница, ячмень, донник, редька масличная. Первые два вида растений выступали в качестве своеобразных контролей, поскольку известно, что пшеница обладает высокой толерантностью по отношению к фторидам, а ячмень, напротив, очень низкой. Для оценки фитотоксичности сред выращивания в лабораторных экспериментах использовали индекс прорастания [Saini et al., 2013], который интегрально отражает процессы роста на начальных этапах онтогенеза.

Активность процесса прорастания полевых культур в системе «раствор NaF – проростки» существенно различалась (рис. 1). Наибольшими значениями показателя

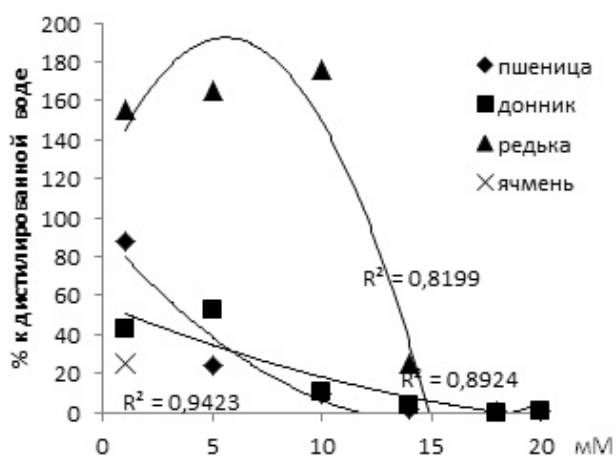


Рис. 1. Индекс прорастания полевых культур в модельной системе «водный раствор NaF – проростки полевой культуры».

(150-165% к контролю), причем в широком диапазоне концентраций (0-10 мМ) характеризовалась редька масличная. У донника показатели снижались с повышением содержания фтора, но были сопоставимы с откликом яровой пшеницы. Ячмень отличался минимальными значениями индекса (20%), причем рост фиксировался в наиболее узком диапазоне концентраций (0-5 мМ), что подтверждает низкую устойчивость. Соответственно, среди тестируемых видов высокий потенциал толерантности к модельному токсиканту демонстрировала только редька масличная.

Индекс прорастания растений на почвенных вытяжках не зависел от типа загрязнения (модельное и промышленное), но существенно отличался у тестируемых видов (рис. 2). Максимальными показателями были у донника (189% по отношению к контролю). У редьки масличной, напротив, отмечалось некоторое их снижение (на 11-19%). В то же время «контрольные» культуры демонстрировали ожидаемый отклик. Рост пшеницы на вытяжках из загрязненных почв не изменялся,

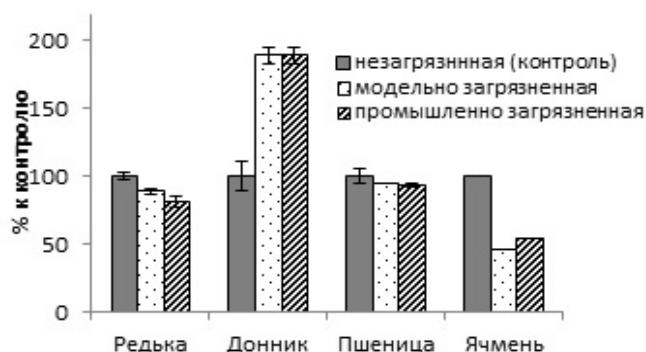


Рис. 2. Индекс прорастания полевых культур в модельной системе «проростки - почвенная вытяжка».

ячмень же характеризовался резким его торможением (на 46-54%). Следовательно, загрязненные фторидами (9-10 ПДК) серые лесные почвы не являются токсичными для яровой пшеницы, в отличие от ячменя, что показано ранее. Из тестируемых для целей фиторемедиации культур незначительный ингибирующий эффект показан для редьки масличной. По отношению к доннику, напротив, выявлен стимулирующий эффект.

Неодинаковая реакция у тестируемых культур на растворах чистого фторида натрия и почвенных вытяжках могла быть обусловлена эффектами синергизма и антогонизма целого комплекса элементов, выходящих в почвенный раствор, наряду с водорастворимыми фторидами. Однако именно разнонаправленный характер видовой толерантности редьки масличной и донника и токсичности по отношению к ним загрязненных почв мог определять успешность адаптации растений к негативному фактору в полевых условиях. Учет урожая показал, что обе эти культуры формировали биомассу, значительно (в 1.5-3 раза) превышающую показатели в контроле (табл.). В то время как, величина урожая яровой пшеницы по сравнению с незагрязненной почвой не изменялась. Снижение биомассы ячменя оказалось статистически незначимым, но выявленная тенденция подтверждала его меньшую устойчивость к загрязнению почв фторидами.

Таблица

**Продуктивность сельскохозяйственных культур в полевом опыте на серых лесных почвах, г/0.25 м<sup>2</sup> (n=3)**

Почва	Редька масличная	Донник	Пшеница	Ячмень
Незагрязненная (контроль)	622	473	273	115
Модельно загрязненная	1331	682	280	99
Промышленно загрязненная	1534	608	275	105
НСР <sub>0.95</sub>	204	177	45	25

Таким образом, полноценная оценка фитотоксичности загрязненных фторидами почв по отношению к видам-кандидатам в фиторемедианты возможна только при ее сопоставлении с потенциальной видовой толерантностью растений. Именно совокупность этих параметров определяет успешность адаптации полевых культур к негативному фактору и их перспективность для целей фиторемедиации.

*Работа выполняется при поддержке гранта РФФИ № 14-05-00735а.*

#### Литература

Saini P., Khan S., Baunthiyal M. and Sharma V. Effects of fluoride on germination, early growth and antioxidant enzyme activities of legume plant species *Prosopis juliflora* // J. of Environmental Biology, 2013. – V. 34. – P. 205-209.

## РИЗОСФЕРНЫЕ БАКТЕРИИ В ПРОЦЕССАХ РОСТА РАСТЕНИЙ И БИОСОРБЦИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ ПРИ ПОЛИЭЛЕМЕНТНОМ ЗАГРЯЗНЕНИИ ПОЧВ

М.Г. Соколова<sup>1</sup>, Г.А. Белоголова<sup>2</sup>, Г.П. Акимова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, *SokolovaMG@sifibr.irk.ru*

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт геохимии им. А.П. Виноградова СО РАН, Иркутск, Россия, *gabel@igc.irk.ru*

Техногенные производства часто способствуют загрязнению окружающей среды и накоплению тяжелых металлов (ТМ) в экосистемах. Нередко встречается полиэлементное загрязнение почв, воздействие которого на растения слабо изучено. ТМ нарушают комплекс процессов в растениях и индуцируют множество специфических и неспецифических реакций. Микроорганизмы, обладающие полезными для растений свойствами, могут оказывать в стрессовой ситуации позитивный аддитивный или синергический эффект. Известно, что ризосферные бактерии могут стимулировать рост и регулировать поступление ТМ в растения [Соколова и др., 2014], снижая их фитотоксичность [Белимов, Тихонович, 2011; Zaets, Kozuyrovska, 2012]. Фитопротекторную роль ризобактерий связывают с трансформацией ТМ, образованием нетоксичных комплексов и снижением доступности ионов металлов в растениях [Переломов и др., 2013, 2015].

Цель работы – изучение влияния ризосферных бактерий *Azotobacter* и *Bacillus* на рост и устойчивость растений гороха (*Pisum sativum* L.) и овса (*Avena sativa* L.) при выращивании на почвах с различной степенью техногенного загрязнения и аккумуляцию в них тяжелых металлов.

Изучены изменения морфологических параметров роста и закономерности распределения As и тяжелых металлов Cd, Pb, Co, Ni в зависимости от влияния на них чистых культур ризосферных бактерий *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus megaterium* и *Bacillus mucilaginosus*. Штаммы бактерий выделены и разработаны биопрепараты в Томском госуниверситете [Вайшла и др., 2007]. Растения выращивали на почвах, отобранных из техногенной зоны г. Свирска бывшего Ангарского металлургического завода по производству мышьяка. Вегетационные эксперименты проводили в условиях фитотрона СИФИБР СО РАН. Анализ почв и растений производили в аккредитованной лаборатории Института геохимии им. А.П. Виноградова СО РАН. Для определения массовой доли As, Pb, Cd, Ni, Cd в пробах сухой почвы использовали метод атомной абсорбции Perkin-Elmer (США). Определение химического состава растений выполнялось методом масс-спектрометрии (Finnigan MAT, Germany).

Показано положительное влияние ризосферных бактерий на морфогенез растений и транслокацию тяжелых металлов при разной техногенной нагрузке. Установлено, что аккумуляция элементов в корнях выше у растений гороха, чем овса. Возможно, горох более устойчив к токсическому действию ТМ, что обусловлено генетически заложенными функциональными механизмами, связанными с бобово-ризобиальным симбиозом. По расчетам коэффициентов биологического накопления бактериализация почвы ризосферными бактериями *Azotobacter* и *Bacillus*, входящими в состав биопрепаратов, снижала биодоступность элементов на загрязненном участке у обоих растений, но в большей степени у растений гороха, особенно в корнях. Это может свидетельствовать о том, что ризобактерии способствовали связыванию избытка

токсических элементов на техногенном участке и, особенно, у растений гороха. Бобовые культуры находятся в естественном природном симбиозе с клубеньковыми бактериями, присутствующими в почве. И бактериализация почвы ризобактериями, возможно, вызывала синергический эффект при взаимодействии между разными видами бактерий и растением, что отмечается и в литературе [Белимов, Тихонович, 2011]. Микроорганизмы способствуют увеличению стабильности растительного организма, а направленный подбор бактериальных компонентов для инокуляции позволяет наиболее полно реализовать потенциал симбиотической системы, повышая его устойчивость к стрессам [Dimkra et al., 2009; Иванчина, Гарипова, 2012].

Таким образом, бактериализация почвы снижала аккумуляцию ТМ в растениях, за счет связывания избытка токсикантов в ризосфере и усиления барьерной функции почвы, что, вероятно, обусловлено действием защитного механизма в системе «почва-растение» в стрессовых условиях техногенного загрязнения. Снижение бионакопления ТМ в растениях при использовании бактериальных биотехнологий может иметь существенное практическое значение в агропроизводстве на техногенно-загрязненных почвах, а также представлять немаловажный фундаментальный интерес для выяснения механизмов функционирования и адаптации растительно-микробных систем в стрессовых условиях техногенеза.

*Исследования выполнены при финансировании базовых проектов НИР VI.56.1.2 и VIII.69.1.6, финансовой поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований № 15-05-03919.*

#### Литература

Белимов А.А., Тихонович И.А. Микробиологические аспекты устойчивости и аккумуляции тяжелых металлов у растений (обзор) // Сельскохозяйственная биология, 2011. – № 3. – С. 10-15.

Вайшла О.Б., Ведерникова А.А., Бондаренко А.П. Микробиологические аспекты гипергенеза. Томск: ТМЛ-Пресс, 2007. – 288 с.

Иванчина Н.В., Гарипова С.Р. Влияние ростстимулирующих бактерий (PGPB) на продуктивность и устойчивость растений // Агрехимия, 2012. – № 7. – С. 87-95.

Переломов Л.В., Переломова И.В., Пинский Д.Л. Молекулярные механизмы взаимодействия между микроэлементами и микроорганизмами в биокосных системах (биосорбция и биоаккумуляция) // Агрехимия, 2013. – № 3. – С. 80-94.

Соколова М.Г., Белоголова Г.А., Акимова Г.П. Влияние ризосферных бактерий на рост растений и накопление ими тяжелых металлов на техногенно загрязненных почвах // Агрехимия, 2014. – № 2. – С. 73-80.

Шабаев В.П. Устойчивость растений ячменя к высокой концентрации свинца при инокуляции ростстимулирующей ризосферной бактерией на серой лесной почве // Агрехимия, 2015. – № 9. – С. 75-79.

Dimkra C., Weinand T., Asch F. Plant-rhizobacteria Interactions Alleviate Abiotic Stress Conditions // Plant Cell Environ, 2009. – V. 32(12). – P.1682-1694.

Zaets I., Kozyrovska N. Heavy Metal Resistance in Plants: A Putative Role of Endophytic Bacteria // Toxicity of Heavy Metals to Legumes and Bioremediation. – Wien: Springer-Verlag, 2012. – P. 203-217.



## ОСОБЕННОСТИ РОСТА ИЗОЛЯТОВ СТРЕПТОМИЦЕТОВ В ПРИСУТСТВИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

Е.С. Соловьёва<sup>1</sup>, И.Г. Широких<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Вятский государственный университет», Киров, Россия,  
*blueberry17@mail.ru*

<sup>2</sup>НИИСХ Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого, Киров, Россия

Одними из самых распространенных загрязнителей почвы в условиях антропогенного воздействия являются тяжелые металлы (ТМ). Известно, что доминирующей группой бактерий в загрязненных ТМ почвах являются стрептомицеты – спорообразующие грамположительные бактерии со сложным жизненным циклом, способные к формированию ветвящегося мицелия и синтезу разнообразных биоактивных соединений. Для стрептомицетов описаны внеклеточные и внутриклеточные механизмы, позволяющие им переводить ТМ в наименее токсичную или нетоксичную форму [Schütze, Kothe, 2012; Alvarez et al., 2013]. В связи с этим изучение особенностей роста стрептомицетов в присутствии ТМ представляет интерес для выявления среди них перспективных агентов биоремедиации загрязненных ТМ сред.

Целью данного модельного эксперимента была сравнительная оценка накопления биомассы в присутствии ТМ, а также сорбции ТМ в жидкой среде культурами стрептомицетов, выделенными из почв с различной степенью загрязнения ТМ.

В качестве объектов исследования служили изоляты стрептомицетов из почв г. Кирова с высоким и умеренным уровнем загрязнения ТМ, а также изоляты из незагрязненных почв ГПЗ «Нургуш» (таблица). Культуры стрептомицетов выращивали в жидкой среде на качалке при 25 °С в течение 7–14 сут. с добавлением солей:  $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , из расчета в среднем 9 мг/л  $\text{Pb}^{2+}$ , 3 мг/л  $\text{Cu}^{2+}$ , 10 и 80 мг/л  $\text{Zn}^{2+}$ . Биомассу измеряли гравиметрически после фильтрации жидкой культуры и её высушивания при 105 °С до постоянного веса. Содержание ионов свинца, меди и цинка в фильтрате и биомассе определяли атомно-абсорбционным методом.

**Таблица**

**Биомасса стрептомицетов в присутствии ТМ в зависимости от уровня загрязнения источника выделения культуры**

Место отбора почвы	Уровень загрязнения почвы ТМ	Культуры	Биомасса, % к контролю		
			свинец	медь	цинк
Транспортная и промышленная зоны города	высокий	<i>S. bacillaris</i> y-53	100	71,3	111,7
		<i>S. lavendulae</i> y-51	65,7	69,1	133,3
		<i>S. clavuligerus</i> y-21	85,2	77,6	109,3
Селитебная и садовая зоны города	умеренный	<i>S. exfoliates</i> y-56	82,5	141,5	104,5
		<i>S. felleus</i> y-57	97,5	192,7	97,0
		<i>S. aureofaciens</i> y-61	97,6	68,0	160,4
ГПЗ «Нургуш» в 50 км от города	низкий	<i>S. bacillaris</i> Н-2	130	91,7	123,9
		<i>S. aureofaciens</i> Н-4	111,6	116,9	144,8
		<i>S. globisporus</i> Н-6	118,6	не опр.	89,6
		<i>S. globisporus</i> Н-7	97,4	87,2	не опр.
		<i>S. candidus</i> Н-10	115	99,4	не опр.
		<i>S. sindenensis</i> Н-3	154,8	не опр.	95,8

В присутствии свинца рост культур стрептомицетов, изолированных из городских почв, особенно из почв с высоким уровнем загрязнения, отставал от контроля на 15-34%, тогда как изоляты из почвы заповедника – напротив, накапливали в тех же условиях на 12-30% большую биомассу, по сравнению с контролем (таблица). Добавление в среду меди существенно (на 42 и 93%) стимулировало рост двух изолятов из умеренно загрязненных городских почв, но угнетало на 27-31% накопление биомассы культурами, изолированными из почв с высоким уровнем загрязнения. Накопление биомассы стрептомицетами из «Нургуша» в присутствии меди находилось на уровне контроля. Биомасса культур стрептомицетов, выращенных в среде с добавлением цинка, практически во всех вариантах превышала или находилась на уровне показателей, полученных в контроле.

Штаммы стрептомицетов одного вида, но из разных почв различались между собой по интенсивности накопления биомассы в присутствии свинца и меди. Так, биомасса культур *Streptomyces aureofaciens* и *S. bacillaris*, выделенных из почвы ГПЗ «Нургуш», превосходила биомассу штаммов этих же видов, изолированных из городских почв.

К концу опыта в культуральной среде, одновременно с увеличением биомассы, наблюдали снижение концентрации ТМ. Очевидно, мицелий стрептомицетов сорбировал ионы металлов. Степень сорбции зависела как от вида ТМ, так и от природы изолята, источника его выделения. Наиболее интенсивно происходила сорбция свинца (92-99% от начальной концентрации в среде). Изоляты стрептомицетов из заповедника сорбировали до 99,4% свинца. Его концентрация в мицелиальной биомассе *S. bacillaris* Н-2 достигала при этом 11342,7 мг/кг. У городских изолятов содержание свинца в мицелии в среднем было в два раза ниже.

В отличие от свинца, сорбция меди находилась на более низком уровне. Максимальное снижение концентрации меди в культуральной жидкости достигало 80%, при выращивании стрептомицетов из «Нургуша». Изоляты из городских почв снижали концентрацию меди в процессе роста не более, чем на 71%. Максимальное содержание меди (2615 мг/кг) было отмечено в мицелии городского изолята *S. aureofaciens* у-61.

При начальной концентрации 10 мг/л, степень извлечения цинка из среды достигала 95% для изолятов из «Нургуша». У стрептомицетов из городских почв этот показатель не превышал 50%. Культуры *S. bacillaris* у-53 и *S. lavendulae* у-51 за время опыта не снизили концентрацию цинка, хотя их биомасса на 11 и 30% соответственно превысила контрольные значения. При начальной концентрации цинка 80 мг/л максимальное снижение (на 70%) концентрации металла в среде было отмечено для изолятов из городских почв *S. clavuligerus* у-21 (25968 мг/кг) и *S. exfoliatus* у-56 (21437,5 мг/кг).

Таким образом, интенсивнее наращивали биомассу и в большей степени снижали начальную концентрацию металлов в жидкой среде стрептомицеты из почв заповедника «Нургуш», чем культуры из более загрязненных ТМ городских почв. Это говорит о большом адаптационном потенциале стрептомицетов и возможности их использования в современных биоремедиационных технологиях.

#### Литература

Alvarez A., Catalano S.A., Amoroso M.J. Heavy metal resistant strains are widespread along *Streptomyces* // Mol. Phylogenet. Evol., 2013.

Schütze E., Kothe E. Heavy Metal-Resistant *Streptomyces* in Soil // Bio-Geo Interactions in Metal-Contaminated Soils, Soil Biology, 2012. – 31. – P. 163-182.

## ВЛИЯНИЕ АНТРОПОГЕННЫХ ФАКТОРОВ НА АНАТОМИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ ЛИСТА БЕРЕЗЫ ПОВИСЛОЙ В Г. КРАСНОЯРСКЕ

В.В. Стасова, Л.Н. Скрипальщикова

Федеральное государственное учреждение науки Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН, Красноярск, Россия, *lara@ksc.krasn.ru*

Городские условия крупных промышленных центров характеризуются нарушениями естественной среды обитания зеленых насаждений. Под влиянием неблагоприятных условий отмечается нарушение нормального развития и ухудшение жизненного состояния древесных растений. Листья, как известно, являются наиболее чувствительной к изменениям среды частью растения и часто используются для диагностики его состояния.

Цель исследований заключалась в определении особенностей анатомического строения листа берёзы повислой, произрастающей в условиях разной техногенной и рекреационной нагрузок г. Красноярска.

В качестве объекта исследования в данной работе использовались листья берёзы повислой (*Betula pendula* Roth.), растущей в парке Гвардейском (мощное техногенное влияние и высокие рекреационные нагрузки), микрорайоне Ветлужанка и Академгородке (рекреационные нагрузки).

В каждом исследованном насаждении с пяти модельных деревьев были собраны листья по методике [Захаров и др., 2000]. В середине листовой пластинки делали поперечные и парадермальные срезы листа. Препараты фотографировали под увеличениями от 100 до 200 раз светового микроскопа МБИ-16 с помощью цифрового окуляра DSM-900. Измерения проводили на микрофотографиях с использованием программы PhotoMaster.

На препаратах листьев березы повислой измерялись следующие показатели: толщина листовой пластинки, толщина верхнего эпидермиса, толщина палисадного и губчатого мезофилла, средняя площадь клетки верхнего эпидермиса и размеры устьиц. Результаты измерений приведены в таблице.

Таблица

Морфолого-анатомические показатели листьев берёзы повислой

Показатель	Зеленые насаждения в районах города			
	Парк Гвардейский	Ветлужанка	Академгородок	
Толщина листа, мкм	181,70±9,29	171,06±2,79	171,81±5,66	
Толщина верхнего эпидермиса, мкм	17,79±1,21	20,2±0,42	20,54±0,67	
Столбчатый мезофилл, мкм	49,51±2,94	38,50±0,31	38,94±2,08	
Губчатый мезофилл, мкм	103,24±5,56	97,06±2,82	95,80±3,43	
Коэффициент палисадности	0,48	0,40	0,41	
Средняя площадь клетки, мкм <sup>2</sup>	837,79±70,32	732,70±31,17	759,57±30,28	
Размер устьиц, мкм	длина	30,67±2,11	30,82±0,56	31,36±0,31
	ширина	18,62±1,44	19,33±0,21	20,44±0,22

Анализ результатов показал, что анатомо-морфологические показатели листьев берез в парке Гвардейском, произрастающем под влиянием выбросов алюминиевого завода, отличаются от показателей в относительно чистых районах города (Ветлужанка и Академгородок). Выявлено незначительное увеличение толщины листовой пластинки, связанное в основном с изменениями толщины мезофилла – основной ткани листа, ответственной за фотосинтез. Отмечено увеличение в основном столбчатого (палисадного) мезофилла в листьях берез из более загрязненного места произрастания. В то же время губчатый мезофилл увеличивается незначительно. Как известно, основная продукционная функция лежит именно на палисадном мезофилле [Эзау, 1980], губчатый мезофилл выполняет в основном функции газообмена и транспирации. Соотношение палисадного и губчатого мезофилла изменяется у растений разных экологических групп в зависимости от условий произрастания [Лотова, 2002].

Коэффициент палисадности, представляющий собой отношение толщины столбчатого мезофилла к толщине губчатого, составил для берез парка Гвардейского 0,48, для Ветлужанки 0,40 и для Академгородка 0,41. Увеличение этого коэффициента указывает на формирование более ксероморфной структуры листа. Согласно исследованиям О.А. Неверовой с соавторами [2002] в промзоне г. Кемерово в листьях березы повислой коэффициент палисадности мезофилла проявлял тенденцию к увеличению по мере нарастания уровня техногенного загрязнения.

Увеличение толщины листовой пластинки березы под влиянием техногенных выбросов сопровождается уменьшением толщины верхнего эпидермиса по сравнению с более чистыми местами произрастания. При этом обнаружено увеличение средней площади клетки верхнего эпидермиса.

Размеры устьиц, расположенных у березы только на нижнем эпидермисе, также изменяются при ухудшении качества среды. Выявлено уменьшение ширины устьиц листьев берез в парке Гвардейском, длина устьиц почти не изменяется. Это может свидетельствовать о меньшей степени открытия устьиц и, как следствие, сниженном газообмене.

Таким образом, выявленные морфолого-анатомические особенности строения листьев березы указывают на ксерофитизацию ассимиляционных органов березы повислой, произрастающей под влиянием высоких антропогенных нагрузок.

#### Литература

Захаров В.М., Баранов А.С., Борисов В.И. и др. Здоровье среды: методика оценки. – М.: Центр экологической политики России, 2000. – 66 с.

Лотова Л.И. Ботаника. Морфология и анатомия высших растений. – Издательство: Либроком, 2013. – 512 с.

Неверова О.А., Колмогорова Е.Ю. Ксерофитизация листьев древесных растений как показатель загрязнения атмосферного воздуха (на примере г. Кемерово). // ИВУЗ. Лесной журнал. 2002. – № 3. – С. 29-33.

Эзау К. Анатомия семенных растений. – М.: Мир, 1980.

## ИЗУЧЕНИЕ БИОДЕГРАДАЦИИ НЕФТИ БАКТЕРИЯМИ, ВЫДЕЛЕННЫМИ ИЗ ЭНДО- И РИЗОСФЕРЫ РАСТЕНИЙ

М.С. Третьякова<sup>1</sup>, Л.А. Беловежец<sup>2</sup>, Ю.А. Маркова<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, *marina-tretjakova@yandex.ru*

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН, Иркутск, Россия, *lyu-sya@yandex.ru*

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Иркутский национальный исследовательский технический университет», Иркутск, Россия, *juliam06@mail.ru*

Нефтяные продукты относятся к числу наиболее распространённых загрязнителей окружающей среды. Для очистки от загрязнённых нефтью и её продуктами территорий в последнее время все больше внимания уделяется разработке биопрепаратов на основе углеводородокисляющих микроорганизмов, состоящих из различных штаммов, способных окислять углеводороды нефти. Преимуществами этого метода является экономичность, экологическая безопасность, отсутствие вторичных загрязнений [Bartha, 1986; Leuhy, Colwell, 1990; Morgan, Watkinson, 1989]. Ассоциации микроорганизмов способны гораздо эффективнее разлагать нефть, чем индивидуальные штаммы. Это связано, прежде всего, с разнообразием ферментов, вырабатываемых каждым микроорганизмом, что приводит к более полному разрушению сложных химических структур, составляющих нефть. Ведь нефть – сложный многокомпонентный субстрат, содержащий несколько сотен различных химических соединений [Барышникова и др., 2001] и один штамм не способен обладать всем спектром ферментов, необходимых для биodeградации. Использование же нескольких штаммов, отличающихся по спектру потребляемых субстратов, может приводить к полной деструкции нефти [Кобзев и др., 2001].

Целью настоящей работы явилось изучение активности аборигенных углеводородокисляющих микроорганизмов, а также изучение деструктирующей активности подобранных ассоциаций (консорциумов) микроорганизмов.

Объектами исследования стали штаммы микроорганизмов, выделенные из ризосферы и эндосферы растений, произрастающих на нефтезагрязненной территории Иркутского региона.

Полученные микроорганизмы были проверены на способность разлагать сырую нефть. Для этого штаммы выращивали в жидкой минеральной среде с нефтью в качестве единственного источника углерода. Деструкция нефти за 2 месяца культивирования составила от 11 до 28% (таблица).

Для изучения биodeградационных свойств консорциума микроорганизмов, были подобраны различные по видовому составу композиции. Установлено, что убыль нефти при применении ассоциаций микроорганизмов через 2 месяца культивирования была на уровне 25-30%, исходная концентрация нефти в питательной среде также составляла 10%. Наилучшей нефтеструктурирующей активностью обладали совместно культивируемые штаммы р. *Acinetobacter* (таблица).

Таким образом, в результате лабораторных экспериментов проверены аборигенные углеводородокисляющие микроорганизмы, а также созданные ассоциации бактерий на способность разлагать нефть в жидкой минеральной среде. Дегradация нефти при использовании индивидуальных штаммов составила 11-28%, а при внесении в питательную среду ассоциаций микроорганизмов до 32%. Таким образом, при

совместном использовании микроорганизмов степень деградации нефти немного усилилась.

**Таблица**

**Разложение нефти микроорганизмами, 10%**

Культуры бактерий	Убыль нефти, %	Ассоциация культур	Убыль нефти, %
90 (р. <i>Pseudomonas</i> )	15	108+114	26
102 (р. <i>Pseudomonas</i> )	13	112+114	32
108 (р. <i>Rhodococcus</i> )	11	108+112	30
109 (р. <i>Pseudomonas</i> )	12	108+112+114	25
112 (р. <i>Acinetobacter</i> )	26	90+102+108+109+112+114	28
114 (р. <i>Acinetobacter</i> )	23		

**Литература**

Барышникова Л.М., Грищенков В.Г., Аринбасаров М.У., Шкидченко А.Н., Воронин А.М. Биодegradация нефтепродуктов штаммами-деструкторами и их ассоциациями в жидкой среде // Прикл. биохим. и микробиология, 2001. – Т. 37, № 5. – С. 542-548.

Кобзев Е.Н., Петрикевич С.Б., Шкидченко А.Н. Исследование устойчивости ассоциации микроорганизмов - нефтедеструкторов в открытой системе // Прикл. биохим. и микробиология, 2001. – Т. 37, № 4. – С. 413-418.

Bartha R. Biotechnology of petroleum pollutant biodegradation // Microbial ecology, 1986. – V. 12. – P. 155-172.

Leuhy J.G., Colwell R.R. Microbial degradation of hydrocarbons in the environment // Microbiol. Rev., 1990. – V. 54. – P. 305-315.

Morgan P., Watkinson R.J. Microbiological methods for the clean up of soil and ground water contaminated with halogenated organic compounds // Crit. Rev. Biotechnol., 1989. – V. 8. – P. 305-333.

## УСТОЙЧИВОСТЬ *ALYSSUM OBOVATUM* (С.А.МЕУ.) TURCZ. К АЭРОТЕХНОГЕННОМУ ЗАГРЯЗНЕНИЮ

Н.В. Чукина, А.Ю. Тептина, А.Д. Логинова, П.С. Лежнин, Д.Р. Шаихова, И.А. Ситников, Т.Ф. Шарнина, И.С. Киселева

ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», Екатеринбург, Россия, [nady\\_dicusar@mail.ru](mailto:nady_dicusar@mail.ru)

Деградация природных и расширение территории техногенных ландшафтов в зоне воздействия выбросов Карабашского медеплавильного комбината (КМК), свидетельствуют о неблагоприятной экологической обстановке, сложившейся в окрестностях г. Карабаш Челябинской области. Основным источником техногенного воздействия являются аэральные выбросы, содержащие  $SO_2$ ,  $NO$  и тяжелые металлы (ТМ), такие как  $Cu$ ,  $Zn$ ,  $Cd$ ,  $Pb$ . Выбросы газов подкисляют почвенные растворы, что ведет к резкому усилению подвижности ТМ и повышению токсической нагрузки на фитобиоты [Воробейчик, 1998].

Целью исследования было изучение физиолого-биохимических показателей *Alyssum obovatum* (С.А. Меу.) Turcz. (Brassicaceae) в условиях аэротехногенного загрязнения. Проведено сравнительное изучение состояния модельного вида из импактной и фоновой территории. Сбор материала проводился в петрофитно-степных сообществах на горе Золотая в пределах Карабашского ультраосновного массива в импактной зоне, находящейся под влиянием КМК ( $55^{\circ}29.16'N$ ,  $60^{\circ}15.22'E$ ). Фоновый участок располагался на горе Егоза, относящейся к Сугомакскому ультраосновному массиву в окрестностях г. Кыштым, ( $55^{\circ}45.06'N$ ,  $60^{\circ}26.95'E$ ) [Тептина, Пауков, 2016].

*A. obovatum* – полукустарничек, обитающий на петрофитных субстратах севера Евразии и Северной Америки; на территории Челябинской области произрастает на остепнённых, каменистых склонах и в петрофитных степях [Куликов, 2005]. *A. obovatum* является факультативным металлофитом, часто обитающим на естественно обогащенных ТМ почвах. В этих условиях вид демонстрирует экстремальный уровень устойчивости к ТМ, накапливая высокие концентрации  $Ni$  в побегах [Тептина, Пауков, 2015].

Сбор материала (подземная и надземная биомасса растений, пробы корнеобитаемого слоя почвы) производился в июле 2015 года. Усредненную биологическую пробу собирали не менее чем с 10 генеративных особей, произрастающих не менее 5 м друг от друга. Содержание подвижных форм ТМ ( $Cu$ ,  $Cd$ ,  $Ni$ ,  $Zn$ ,  $Pb$ ) в почвах, валовое содержание ТМ в подземной и надземной биомассе определялись на атомно-адсорбционном спектрометре SOLAAR M6 (Thermo Scientific, США) [Tandy et al., 2004], оценка содержания  $N$  и  $P$  проводилась по ГОСТ – ПНД Ф 16.1:2.2.2:3.67-10; определение свободного пролина – по модифицированной методике Л.Г. Калинкиной с соавт. [Калинкина и др., 1990]. В надземной биомассе титриметрически определяли содержание аскорбата и глутатиона [Борисова и др., 2012]. Анализ мезоструктуры листа проводился по методике А.Т. Мокроносова и Р.А. Борзенковой, содержание фотосинтетических пигментов в листьях – спектрофотометрически в спиртовом экстракте (96% этанол), расчет вели по формулам Vernon, Wettstein [Гавриленко, Жигалова, 2003]. Оценку достоверности различий признаков оценивали по непараметрическому критерию Манна-Уитни в пакете программ Statistica 8.0.

Анализ почвы показал повышенное валовое содержание биогенных элементов в почвах импактной зоны, тогда как в фоновой отмечено повышенное содержание

нитратов и пониженное – аммонийных форм. В побегах растений в импакте концентрация N ниже, чем в контроле. Отличия в содержании P в побегах не обнаружено. Суммарный индекс загрязнения в импактной зоне составил 99,65 отн. ед., Концентрации Cu, Cd и Zn в почвах импактной зоны были в 130, 109, 106 раз выше соответственно, чем в почвах фоновой зоны. Показано, что накопление этих ТМ в корнях растений *A. obovatum* в импактной зоне значительно выше, чем в фоновой. Коэффициент накопления растений в импакте для металлов (за исключением Ni) оказался меньше 1, что свидетельствует о включении защитных барьерных механизмов в корнях, при высоком содержании поллютантов в среднем. Коэффициент транслокации для поллютантов также был меньше единицы, что объясняется работой барьера корень/побег и малым поступлением ТМ в наземные органы. Подтверждены гипераккумулятивные способности *A. obovatum* в отношении никеля, показанные ранее [Тертина, Пауков, 2015]. Концентрации Ni в побегах бурачка из местообитаний варьировали от 700 мкг до 1519,6 мкг в расчете на сухой вес.

Параметры мезоструктуры листа достоверно различались у растений в импакте и фоне: произошло достоверное уменьшение удельной поверхностной плотности листа, толщины листа и мезофилла, объемов клеток палисадной и губчатой ткани, размеров хлоропластов. Это свидетельствует о подавлении ростовых процессов. Однако пигментный комплекс листа растений оказался устойчив к условиям аэротехногенного загрязнения. Показано участие всех изученных низкомолекулярных антиоксидантов (аскорбат, глутатион, пролин) в защите *A. obovatum* от загрязнений: концентрации этих соединений в побегах растений из импакта были выше, чем в растениях фона.

Таким образом, у растений *A. obovatum* из техногенно нарушенных местообитаний в сравнении с растениями из условно-чистой зоны г. Егоза отмечены анатомо-морфологические и физиолого-биохимические адаптивные изменения.

#### Литература

Борисова Г.Г., Малева М.Г., Некрасова Г.Ф., Чукина Н.В. Методы оценки антиоксидантного статуса растений // Учеб.-метод. пособие. – Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2012. – 72 с.

Воробейчик Е.Л. Население дождевых червей (Lumbricidae) лесов среднего Урала в условиях загрязнения выбросами медеплавильных комбинатов // Экология, 1998. – Т. 2. – С. 102-108.

Гавриленко В.Ф., Жигалова Т.В. Большой практикум по фотосинтезу: учебное пособие для студентов ВУЗов. – М.: Академия, 2003. – 256 с.

ГОСТ – ПНД Ф 16.1:2.2.2:3.67-10. Методика измерений массовой доли азота нитратов в пробах почв фотометрическим методом с салициловой кислотой // ФГУ. – 2010.

Калинкина Л.Г., Назаренко Л.В., Гордеева Е.Е. Модифицированный метод выделения свободных аминокислот для определения на аминокислотном анализаторе // Физиология растений, 1990. – Т. 37. – С. 617-621.

Куликов П.В. Конспект флоры Челябинской области (сосудистые растения). – Миасс, Екатеринбург: Геотур, 2005. – 543 с.

Tandy S., Bossart K., Mueller R., Ritschel J., Hauser L., Schulin R., Nowack B. Extraction of heavy metals from soils using biodegradable chelating agents // Environmental Science & Technology, 2004. – V. 38, N 3. – P. 937-944.

Тертина А. Y., Пауков А. G. Nickel accumulation by species of *Alyssum* and *Noccaea* (Brassicaceae) from ultramafic soils in the Urals, Russia // Australian Journal of Botany, 2015. – V. 63, N 2. – P. 78-84.





**СЕКЦИЯ 3.  
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ  
УСТОЙЧИВОСТИ ОРГАНИЗМОВ**

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ И ТИПА ЦИТОКИНИНА ДЛЯ МИКРОКЛОНАЛЬНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ ТОПОЛЯ БЕРЛИНСКОГО ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ ЭКСПЛАНТОВ

Э.М. Байрамова<sup>1</sup>, Е.Д. Золотовская<sup>1</sup>, М.В. Протопопова<sup>2</sup>, В.К. Войников<sup>2</sup>,  
В.В. Павличенко<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет», Иркутск, Россия,  
*bairamovaelvira@gmail.com, zolotovskayaelenad@gmail.com*

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский  
институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия,  
*vpavlichenko@gmail.com; marina.v.protopopova@gmail.com; vvk@sifibr.irk.ru*

Метод микроклонального размножения – современный и наиболее перспективный метод увеличения количества однородного посадочного материала как травянистых, так и древесных растений. В основе микроклонального размножения лежит тотипотентность растительной клетки – способность соматической клетки дать начало всем другим клеткам растительного организма. В процессе микроклонального размножения растений используются различные типы растительных эксплантов, в том числе листья и их черешки, стебли и корни. Однако одной из проблем, с которой сталкиваются исследователи при постановке данной методики, является невозможность получения регенерантов из всех типов эксплантов при использовании универсальной питательной среды, поскольку различные типы эксплантов показывают неодинаковую эффективность в получении регенерантов, либо вообще не переходят к органогенезу. Таким образом, на этапе подготовки эксперимента важен подбор оптимальных концентраций фитогормонов, в частности цитокининов, для повышения продуктивности микроклонального размножения и получения максимального количества растений-регенерантов из всех типов эксплантов.

Цитокинины – фитогормоны, способствующие активному метаболизму и росту растений. Цитокинины регулируют многие физиологические процессы в растениях, в том числе стимулируют деление клеток и их дифференцировку. В настоящее время широко применяются синтетические цитокинины в виду их низкой активной концентрации и более высокой скорости действия, в сравнении с природными регуляторами роста, что позволяет повысить эффективность метода микроклонального размножения [Романов, 2009].

Целью настоящего исследования являлся подбор типа цитокина и его концентрации в питательной среде для получения максимального количества растений-регенерантов *Populus × berolinensis*.

В качестве объекта исследования был выбран тополь берлинский (*Populus × berolinensis* Dippel), который относится к семейству Ивовые (*Salicaceae*) и является гибридом тополя лавролистного и тополя чёрного (*P. laurifolia* Ledeb. × *P. nigra* L. var. *Italica*) [Гамбург, 2011]. Представители рода *Populus* обладают высокой способностью к регенерации, благодаря чему являются удобным объектом для постановки методики микроклонального размножения древесных растений.

Для образования регенерантов питательную среду готовили на основе ½ MS 5524 (Sigma) с добавлением хелата железа и микроэлементов до полной нормы от среды MS и витаминов: тиамин (1 мг/л), пиридоксин (0,5 мг/л), никотиновая кислота (0,5 мг/л), инозит (50 мг/л). В качестве источника углеводов использовали сахарозу (2%). Для получения твёрдой среды применялся агар (Биотехновация, Россия) в концентрации 7 г/л. Кислотность среды доводили до pH 5,7.

В качестве цитокининов использовали кинетин или бензиладенин (БА) с финальными концентрациями в питательной среде 0,1 мг/л, 0,25 мг/л, 0,5 мг/л и 1 мг/л. Контрольную группу растений выращивали на аналогичной питательной среде без добавления цитокининов. В сосуды для культивирования объемом 100 мл добавляли по 25 мл автоклавированной среды и закрывали прозрачными крышками Magenta В-Сар (Sigma, Germany). На поверхность затвердевшей и остывшей до комнатной температуры питательной среды помещали экспланты растений: черешки листьев, отрезки стеблей без пазушных почек, кусочки листьев с раневой паренхимой и отрезки корней. Сосуды с эксплантами экспонировали в световой комнате, в условиях фотопериода: 16/8 часов (день/ночь) при 23 °С.

Начало образования первых регенерантов отмечали уже на 9-ые сутки экспозиции на отрезках корней на среде с кинетином. На 14-ый день экспозиции образовались регенеранты на отрезках корней, на питательных средах с финальными концентрациями БА 0,1 и 0,25 мг/л. В этот же период отмечали появление регенерантов на среде с кинетином на отрезках стеблей. На 22-ой день образовались регенеранты на черешках листьев на среде с концентрацией БА 0,25 мг/л. Также образование регенерантов детектировали на отрезках стеблей, листьев и черешках листьев на средах с концентрацией БА 0,1 мг/л на 28-ые сутки эксперимента. Однако образование регенерантов не было зафиксировано при всех использованных концентрациях кинетина на черешках и отрезках листьев.

На питательной среде с кинетином было получено 59 регенерантов на отрезках стеблей (5 шт. при концентрации кинетина в среде 0,1 мг/л, 2 шт. – 0,25 мг/л, 40 шт. – 0,5 мг/л и 12 шт. – 1 мг/л) и 89 растений на отрезках корней (9 шт. – 0,1 мг/л, 18 шт. – 0,25 мг/л, 29 шт. – 0,5 мг/л, 30 шт. – 1 мг/л).

На питательной среде с добавлением БА получено 37 регенерантов на корнях (25 шт. при концентрации БА 0,1 мг/л и 12 шт. при 0,25 мг/л) и 23 регенеранта на черешках листьев (17 шт. при концентрации 0,1 мг/л и 6 шт. при 0,25 мг/л), а также 5 регенерантов на отрезках листьев (при финальной концентрации цитокинина 0,1 мг/л) и 7 регенерантов на стеблях при той же концентрации. На контрольной среде роста растений-регенерантов не наблюдали.

В соответствии с полученными данными можно сделать вывод о том, что при использовании БА в питательной среде в различных концентрациях, можно получить регенеранты из всех типов эксплантов *Populus × berolinensis*. Однако наибольшее количество регенерантов было получено при использовании питательной среды с добавлением кинетина.

*Работа выполнена при частичной финансовой поддержке стипендии Президента РФ (СП-3823.2015.1) и Комплексной программы фундаментальных исследований СО РАН (проект № 0343-2015-0005).*

#### Литература

Гамбург К.З. Использование изолированной культуры тополя берлинского (*Populus × berolinensis* Dipp.) для его модификации // Вестник ИрГСХА, 2011. – Т. 44. – С. 22-30.

Романов Г.А. Как цитокинины действуют на клетку // Физиология растений, 2009. – Т. 56, № 2. – С. 295-320.

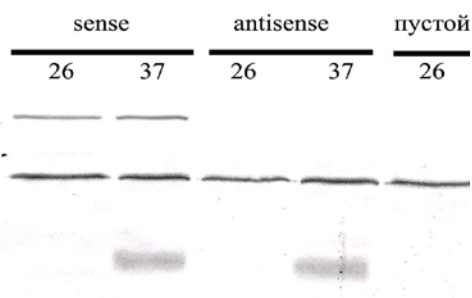
## ВЛИЯНИЕ ЗАМОРОЗКОВ НА ТРАНСГЕННЫЕ ЛИНИИ АРАБИДОПСИСА

К.З. Гамбург

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, [gamburg@sifibr.irk.ru](mailto:gamburg@sifibr.irk.ru)

Как известно, появление белков теплового шока (heat shock proteins, HSP) индуцируется высокими суб-оптимальными температурами, что приводит к увеличению устойчивости растений к последующим летальным температурам [Rikhvanov et al., 2007]. Особенно эффективен в этом отношении HSP101 [Queitsch et al., 2000]. Возникает вопрос, участвует ли HSP101 в регуляции устойчивости к другим стрессам и в частности к заморозкам.

Использовали трансгенные линии арабидопсиса: S-линия с геном *HSP101* под контролем CMVS35-промотора, A-линия с геном *HSP101* в антисмысловой ориентации под контролем того же промотора, 0-линия – пустой вектор. На рисунке 1 показано, у S-линии HSP101 присутствовал клетках, независимо от воздействия индуцирующей температуры 37 °С, у 0-линии он появлялся в результате индукции, а у A-линии он отсутствовал даже при воздействии температуры 37 °С. Под влиянием этой температуры у всех линий появлялся HSP17.6.



**Рис. 1.** Иммуноблоттинг белков, выделенных из тканей арабидопсиса линий S, A и линии 0, с антителами к белкам теплового шока AtHSP101, AtHSP60, AtHSP17.6 (class I).

Семена высевали в стаканчики 200 мл с грунтом. Выращивание проводили в камере «Биндер» при 23 °С на свету 12 часов и при 17 °С 12 часов в темноте. Растения были готовы к опытам через 30 дней. Потом растения выдерживали 2 часа при 23 °С или 37 °С. Непосредственно перед замораживанием срезали выросшие листья и помещали по 6 в 2 чашки Петри (диаметр 6 см) на смоченную фильтровальную бумагу. Второй лист смоченной бумаги помещался на крышку. Чашки закрывались парафильмом и выдерживались 2 часа при –4, –5, –6 °С. После этого они находились в течение ночи при 4 °С в темноте, а потом находились на свету при 23 °С. Через 12 дней проводили оценку состояния срезанных листьев по балльной системе: зеленые, тургесцентные – 2 балла, желтые, тургесцентные – 1, мертвые – 0. Максимально возможная оценка жизнеспособности в расчете на 1 лист должна составлять 2 балла. Как показано в таблице, воспроизводимых различий между разными линиями и между разными температурами заморозков не наблюдалось. Однако во всех случаях листья с растений, получивших предварительно 2-х часовую обработку при 37 °С, лучше противостояли повреждающему действию заморозка. Так как A-линия, у которой при 37 °С HSP101 не появляется, увеличивала устойчивость так же, как и другие линии при воздействии этой температуры, можно предположить, что HSP101 не имеет отношения к этому увеличению.

**Балльная оценка жизнеспособности листьев трансгенных линий арабидопсиса (среднее на 1 лист) после воздействия отрицательных температур**

Заморозок	S-линия		O-линия		A-линия	
	23 °С	37 °С	23 °С	37 °С	23 °С	37 °С
–4 °С	1.55	2.00	1.54	1.84	1.38	1.87
–5 °С	1.25	1.80	1.78	1.83	1.78	1.80
–6 °С	2.00	2.00	0.72	1.68	1.83	2.00
Среднее	<b>1.60</b>	<b>1.93</b>	<b>1.35</b>	<b>1.78</b>	<b>1.66</b>	<b>1.89</b>

Данные таблицы подтверждаются фотографиями, приведенными на рис. 2, где показано, что листья S-линии и A-линии лучше сохраняли зеленую окраску после воздействия заморозков, если они были взяты от растений, получивших обработку при 37 °С. Возможно, что в повышении устойчивости к заморозку HSP101 не участвует.



**Рис. 2. Фотографии листьев арабидопсиса, срезанных с растений, получивших двухчасовой прогрев при 37 °С (нижний ряд), и не получивших его (верхний ряд), и повергнутых заморозку –4 °С. Слева – S-линия, справа – A-линия.**

В ряде работ показано, что предварительное воздействие высокой температуры, индуцирующей появление низкомолекулярных белков теплового шока, увеличивало их устойчивость к низким температурам [Sabehat et al., 1998; Anderson et al., 1994; Jennings and Saltveit, 1994]. Так как у трансгенных линий арабидопсиса температура 37 °С вызывала появление не только HSP101, но и других HSP, в том числе HSP17.6, то можно предположить, что увеличение устойчивости к заморозкам под влиянием предварительного мягкого теплового шока связано с появлением этих HSP у всех линий.

#### Литература

Rikhvanov E.G., Gamburg K.Z., Varakina N.N. et al. Nuclear-mitochondrial cross-talk during heat shock in Arabidopsis cell culture // *Plant J.*, 2007. – V. 52. – P. 763-778.

Queitsch C., Hong S-W., Vierling E., Lindquists S. Heat shock protein 101 plays a crucial role in thermotolerance in Arabidopsis // *Plant Cell*, 2000. – V. 12. – P. 479-492.

Sabehat A., Lurie S., Weiss D. Expression of small heat-shock proteins at low temperatures. A possible role in protecting against chilling injuries // *Plant Physiol.*, 1998. – V. 117. – P. 651-658.

Anderson J.V., Li Q.B., Haskell D.W., Guy C.L. Structural organization of the spinach endoplasmic reticulum-luminal 70-kilodalton heat-shock cognate gene and expression of 70-heatshockgenes during cold acclimation // *Plant Physiol.*, 1994. – V. 104. – P. 1359-1370.

Jennings P., Saltveit M.E. Temperature and chemical shocks induce chilling tolerance in germinating *Cucumis sativus* (cv. Poinsett 76) seeds // *Physiol. Plant.*, 1994. – V. 91. – P. 703-707.

## ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОБОСОБЛЕННОСТЬ ПОПУЛЯЦИЙ *WALDSTEINIA TERNATA* (ROSACEAE) КАК ПОСЛЕДСТВИЕ ГЛОБАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ КЛИМАТА ЧЕТВЕРТИЧНОГО ПЕРИОДА

А.Д. Коновалов<sup>1</sup>, В.В. Павличенко<sup>2</sup>, В.В.Чепинога<sup>1,3</sup>, М.В. Протопопова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет», Иркутск, Россия, *konovalov.alexey.d@gmail.com*

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, *marina.v.protopopova@gmail.com; vpravlichenko@gmail.com*

<sup>3</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт географии им. В.Б. Сочавы СО РАН, Иркутск, Россия, *Victor.Chepinoga@gmail.com*

Настоящая работа направлена на оценку степени генетической обособленности популяций неморального реликтового вида растений *Waldsteinia ternata* (Steph.) Fritsch из разных участков ареала, дизъюнкция которых наиболее вероятно возникла в периоды оледенений эпохи плейстоцена.

В настоящее время вид трактуется как южно-сибирский эндемик с сильно дизъюнктивным ареалом, классическим местонахождением которого является северный макросклон хр. Хамар-Дабан. В Южной Сибири *W. ternata* также известен из изолированных участков ареала в предгорьях Восточного и Западного Саяна. После протяженного разрыва *W. ternata* встречается на Дальнем Востоке, что даёт основание для выделения дальневосточных популяций в самостоятельный вид *Waldsteinia maximowicziana* (Juz. ex Teppner) Probat. [Пробатова и Баркалов, 2006]. Однако в настоящее время нет единого мнения ни о систематическом статусе отдельных популяций, ни о направлениях их распространения после завершения оледенения в голоцене.

Поскольку использование морфолого-экологических критериев для решения обозначенных вопросов является недостаточным, необходимо привлечение современных молекулярно-генетических подходов. Кроме того, без использования молекулярно-генетических методов анализа сложно судить как о длительности возникшей изоляции между популяциями, так и об интенсивности потока генов между ними в настоящее время.

В работе проводили сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей молекулярно-генетических маркеров *ITS1-ITS2*, *trnV*, *rpl20-rps12*. Сбор материала осуществляли из популяций с хр. Хамар-Дабан (р. Дулиха, р. Безымянная), в предгорьях Восточного Саяна (р. Белая Зима) и Надеждинском р-не Приморского края (вблизи поселков Сиреневка и Раздольное). ДНК выделяли из высушенных листьев с помощью СТАВ метода [Doyle & Doyle, 1987] с модификациями [Протопопова и др., 2015]. ПЦР проводили с использованием универсальных праймеров [Wang et al., 2009; Utelli, 2000]. Ампликоны электрофоретически отделяли от компонентов реакции в агарозном геле, очищали и лигировали в плазмидный вектор pTZ57R/T (Thermo Fisher) с последующей трансформацией в клетки *E. coli*. Плазмиды секвенировали по методу Сэнгера на генетическом анализаторе ABI 3500. Выравнивание нуклеотидных последовательностей проводили с помощью алгоритма Muscle, филогенетический анализ – с помощью метода максимального правдоподобия с учетом оптимальных моделей нуклеотидных замен в Mega 6.06.

Результаты показали наличие как минимум четырех гаплотипов по хлоропластному региону *rpl20-rps12*. Для приморских популяций выявлено два

гаплотипа, которые объединялись в общий кластер. Для популяций с хр. Хамар-Дабан был характерен третий вариант гаплотипа. Для восточно-саянских популяций было выявлено два гаплотипа: один – уникальный; второй – «хамар-дабанского» типа.

Сравнительный анализ региона *ITS1-ITS2* выявил несколько нуклеотидных вариантов, которые объединялись в отдельные кластеры на филогенетическом дереве. Первый – объединял последовательности приморских популяций («приморский» кластер); второй – популяций с хр. Хамар-Дабан и Восточного Саяна («байкальский» кластер), третий – приморской (пос. Сиреневка) и одной из хамар-дабанских популяций (р. Безымянная). Кроме того, у приморских популяций обнаружено несколько переходных вариантов с «байкальским» типом последовательностей. Было также выявлено, что генетическая дистанция по этому региону между сибирскими и приморскими популяциями существенно ниже, чем таковая между любой из популяций и европейским близкородственным видом *W. geoides*. Внутри «байкальского» кластера помимо общего для популяций с хр. Хамар-Дабан и Восточного Саяна гаплотипа региона *ITS1-ITS2*, было выявлено несколько гаплотипов, характерных только для саянских популяций. Эти уникальные гаплотипы являются, по-видимому, производными от хамар-дабанского типа.

Анализ региона *trnV* выявил 3 гаплотипа. Первый – был характерен только для приморских популяций, второй, по-видимому, производный от первого варианта, – для популяций с р. Безымянная (хр. Хамар-Дабан) и р. Белая Зима (Восточный Саян). Третий гаплотип – был характерен для популяций с р. Дулиха, который является, по-видимому, производным от предыдущего гаплотипа.

Таким образом, несмотря на наличие четкой генетической дифференциации популяций *W. ternata*, величина генетического расстояния и наличие общих вариантов *ITS1-ITS2* региона не позволяют однозначно подтвердить видовой статус приморских популяций. Полученные результаты также свидетельствуют в пользу гипотезы наличия дальне-восточных корней у сибирских популяций. Степень выявленных отличий между популяциями с хр. Хамар-Дабан и из Восточного Саяна свидетельствует в пользу их непродолжительной изоляции друг от друга, а также, вероятно, о «хамар-дабанском» источнике происхождения восточно-саянского генотипа *W. ternata*.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты 16-34-60135 мол\_а\_дк, 16-05-00783).*

#### Литература

Пробатова Н.С., Баркалов В.Ю. Семейство Розовые – Rosaceae // Флора российского Дальнего Востока. – Владивосток: Дальнаука, 2006. – С. 160–168.

Протопопова М.В., Павличенко В.В., Гнутиков А.А., Адельшин Р.В., Чепинога В.В. Использование генетических маркеров для оценки состояния реликтовых видов растений Байкальской Сибири // Вестник РУДН. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности, 2015. – № 4. – С. 28-36.

Doyle J.J., Doyle J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf issue // Phytochem. Bull., 1987. – V. 19. – P. 11-15.

Wang L., Abbott R. J., Zheng W., Chen P., Wang Y., Liu J. History and evolution of alpine plants endemic to the Qinghai-Tibetan Plateau: *Aconitum gymnantrum* (Ranunculaceae) // Molecular Ecology, 2009. – V. 18, I. 4. – P. 709-21.

Utelli A., Roy B., Baltisberger M. Molecular and morphological analyses of European *Aconitum* species (Ranunculaceae) // Plant Systematics and Evolution, 2000. – V. 224. – P. 195-212.



## ИССЛЕДОВАНИЕ НОВЫХ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ ПШЕНИЦЫ И ИХ РОЛИ В ИММУНИТЕТЕ РАСТЕНИЙ

Т.И. Одинцова, Т.В. Коростылева, Е.А. Истомина, М.П. Слезина, А.А. Славохотова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия, [odintsova2005@rambler.ru](mailto:odintsova2005@rambler.ru)

В ходе эволюции у растений выработалась сложная многоуровневая система защиты от патогенов [Jones and Dangl, 2006]. Она включает в себя предсуществующие механические барьеры, такие как кутикула, эпидермис и клеточная стенка. К конститутивным механизмам защиты относятся химические соединения, обладающие антимикробными свойствами: фитоантисипины и антимикробные полипептиды. При атаке патогена включаются индуцибельные механизмы защиты, и происходит закрывание устьиц, укрепление клеточных стенок, отложение каллозы и синтез антимикробных веществ белковой и небелковой природы.

Антимикробные пептиды (АМП) являются важнейшими компонентами защитной системы растений. На долю генов АМП приходится около 5% генома. По сходству структуры выделяют несколько семейств АМП растений – дефензины, тионины, липид-переносящие белки, гевеино- и ноттиноподобные пептиды, циклотиды и хеапнины [Broekaert et al., 1997]. АМП подавляют развитие широкого круга патогенов, действуя в микромолярных концентрациях. Несмотря на значительные успехи в исследовании АМП в последние годы, их роль в иммунитете растений изучена недостаточно, особенно это касается видов растений, которые обладают повышенной устойчивостью к патогенам.

Цель настоящей работы заключалась в детальном исследовании АМП высокоустойчивого вида пшеницы *Triticum kiharae* Dorof. et Migusch., который представляет собой синтетический аллополиплоид, полученный от скрещивания *Triticum timopheevii* с *Aegilops tauschii*. Для анализа АМП использовали как традиционный биохимический подход – выделение пептидов из растительной ткани, так и анализ транскриптов, кодирующих предшественники пептидов, с использованием глубокого секвенирования транскриптомов.

Для выделения пептидов из зерновок пшеницы использовали многоступенчатую высокоэффективную жидкостную хроматографию: аффинную, эксклюзионную и обращенно-фазовую. В результате из зерновок пшеницы было выделено 50 пептидов, из которых 24 АМП-подобных. Обнаруженные пептиды относятся к известным классам АМП растений. Кроме того, обнаружены новые структурные типы АМП. К ним относятся гевеиноподобные пептиды, содержащие 10 остатков цистеина и обладающие уникальным цистеиновым мотивом, и хеапнины, имеющие 4 остатка цистеина, первые два и последние два из них разделены 3 аминокислотными остатками. Показано, что гевеиноподобные пептиды встречаются не только у пшеницы, но и у ряда других видов злаков. Они синтезируются в виде предшественников, состоящих из сигнального пептида, зрелого пептида и С-концевого продомена. Область зрелого пептида является наиболее консервативной областью молекулы, выявлено одно переменное положение в аминокислотной последовательности пептида: это положение 34. Впервые для гевеиноподобных пептидов растений установлено, что пептиды пшеницы являются ингибиторами секретлируемых протеиназ фитопатогенных грибов рода *Fusarium*, мишенью действия которых являются защитные хитиназы растений, причем степень ингибирования зависит от аминокислотного остатка в

положении 34. Показано усиление экспрессии исследуемых генов в ответ на биотический и абиотический стресс. Патогены усиливали экспрессию исследуемых генов, а абиотический стресс, вызванный ионами кадмия, подавлял экспрессию этих генов в корнях проростков пшеницы. Исследование хеапининов показало, что они синтезируются в виде предшественников, имеющих модульную структуру и состоящих из нескольких пептидов. Гены близкородственных видов злаков различаются от генов пшеницы по числу пептидных доменов в предшественниках. Как и в случае гевеиноподобных пептидов, экспрессия генов хеапининов активируется в ответ на заражение патогенами. Исследование транскриптомов пшеницы *T. kiharae* в норме и при заражении патогенным грибом *Fusarium oxysporum* с использованием метода глубокого секвенирования транскриптомов выявило десятки АМП-подобных генов. Среди них выявлены транскрипты, индуцированные патогеном. Полученные результаты вносят существенный вклад в исследование АМП и их роли в иммунитете растений.

*Работа поддержана грантами РФФИ (№№ 15-04-04680 и 15-29-02480) и Программой Президиума РАН «Генофонды живой природы и их сохранение».*

#### Литература

Broekaert W.F., Cammue B.P., De Bolle M.F. et al. Antimicrobial peptides from plants // *Crit. Rev. Plant Sci.*, 1997. – V. 16. – P. 297-323.

Jones J.D., Dangl J.L. The plant immune system // *Nature*, 2006. – V. 444, N 7117. – P. 323-329.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ КОЛЛЕКЦИЙ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ *TRITICUM AESTIVUM* L.

С.В. Осипова<sup>1,5</sup>, А.В. Пермяков<sup>1</sup>, М.Д. Пермякова<sup>1</sup>, Т.А. Пшеничникова<sup>2</sup>, Е.Г. Рудиковская<sup>1</sup>, А.В. Рудиковский<sup>1</sup>, В.В. Верхотуров<sup>3</sup>, А. Бернер<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, *marperm@rambler.ru*

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия, *wheatpsh@bionet.nsc.ru*

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Иркутский национальный исследовательский технический университет», Иркутск, Россия, *vervv@mail.ru*

<sup>4</sup>Институт генетики растений и изучения культурных растений имени Лейбница, Гатерслебен, Германия, *boerner@ipk-gatersleben.de*

<sup>5</sup>ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет», Иркутск, Россия, *svetlanaosipova@mail.ru*

Молекулярно-генетическое картирование генома пшеницы в сочетании с фенотипированием картирующих популяций используется для обнаружения новых генов и локусов количественных признаков (QTL), определения их хромосомной локализации и положения на карте. В отдельных случаях на основе картирования удается идентифицировать ключевые компоненты генных сетей (которые, как правило, являются факторами транскрипции), определяющие формирование хозяйственно ценных признаков, таких как содержание белка в зерне [Uauy et al., 2006] или количество колосков в колосе [Dobrovolskaya et al., 2015].

Мы использовали цитогенетические коллекции и картирующие популяции мягкой пшеницы для поиска QTL, контролирующих устойчивость к вододефициту. На первом этапе мы изучили устойчивость к почвенной засухе компонентов урожая у линий с чужеродным (Чайниз Спринг/Синтетик 6х) и межсортовым (Саратовская 29/Янецкис Пробат) замещением одной хромосомы сорта-реципиента на гомологичную от донора [Osipova et al., 2011, 2013]. В первой генетической модели наибольший вклад в вариабельность устойчивости компонентов урожая вносили хромосомы генома D. Во второй модели ярко проявилось отрицательное влияние на засухоустойчивость Саратовской 29 замещения хромосом второй гомеологической группы от неустойчивого сорта Янецкис Пробат, причем наиболее выраженным был эффект замещения хромосомы 2A [Osipova et al., 2013].

На следующем этапе работы мы провели фенотипирование восьмидесяти шести рекомбинантных интрогрессированных линий, ранее генотипированных с помощью микросателлитных маркеров. Каждая из линий несла фрагмент различного размера от гомологичной хромосомы донора – дикого злака *Aegilops tauschii* на генетическом фоне мягкой селекционной пшеницы Чайниз Спринг. Линии выращивали при достаточном поливе и в условиях искусственного водного дефицита. На стадии стеблевания был изучен комплекс фенотипических признаков, связанных с функционированием фотосинтеза как основного процесса, обеспечивающего продуктивность растений.

Интервальное картирование выявило 27 главных QTL с LOD- баллом от 3 до 8.7 ( $P < 0,001$ ) и 25 минорных QTL с LOD- баллом от 2 до 3 ( $P < 0,01$ ). QTL, связанные с признаками, имеющими отношение к засухоустойчивости, были кластеризованы в одиннадцати регионах генома D пшеницы и распределены по четырем хромосомам –

1D, 2D, 5D и 7D [Osipova et al., 2016]. На коротком плече хромосомы 1D были идентифицированы две области, одна из которых была связана с микросателлитным локусом *Xgdm33* и содержала главный QTL для отношения хлорофиллы/каротиноиды и индекса устойчивости этого признака, а другая была связана с маркером *Xgwm 337*, и содержала QTL, ассоциированные с параметрами флуоресценции хлорофилла. На коротком плече хромосомы 2D, маркер *Xgdm5* был ассоциирован с QTL для скорости транспирации и устьичной проводимости. На длинном плече хромосомы 2D, на участке, обрамленном маркерами *Xgwm539* и *Xgwm1419*, были локализованы QTL, ответственные за устьичный контроль фотосинтеза и образование биомассы побега в условиях недостатка воды. Дистальный конец длинного плеча хромосомы 5D включал небольшую область, фланкированную маркерами *Xgwm272* и *Xgwm1454*, в которой были картированы QTLs для индекса устойчивости содержания листовых пигментов.

На хромосоме 7D, внутри большого отрезка, лежащего между маркерами *Xgwm1242* и *Xgwm1672*, были картированы QTLs, ассоциированные со скоростью фотосинтеза в условиях дефицита воды и эффективностью использования воды.

Впервые у пшеницы были выявлены QTL, связанные с активностью антиоксидантных ферментов, которые играют важную роль в процессе адаптации к засухе фотосинтетического аппарата. С маркером *Xgwm1672* на хромосоме 7D был связан QTL с высоким LOD - баллом (5.6), ассоциированный с активностью аскорбат пероксидазы. Главный QTL для активности глутатион редуктазы был картирован рядом с *Xgwm484*.

Предполагается, что ключевые факторы, регулирующие сети функциональных генов, активирующихся в условиях водного стресса, локализованы, по меньшей мере, в двух областях генома D мягкой пшеницы, на хромосомах 2D и 7D. Молекулярные маркеры *Xgwm539* на хромосоме 2D и *Xgwm111* на хромосоме 7D, могут быть рекомендованы для селекции, направленной на повышение засухоустойчивости пшеницы. Для картирования локусов, связанных с устойчивостью к воддефициту, на хромосоме 2A в настоящее время изучаются 100 рекомбинантных дигиплоидных линий Саратовская 29/Янецкис Пробат по данной хромосоме. Линии генотипированы с использованием 15к чипа.

#### Литература

Dobrovolskaya O., Pont C., Sibout R. et al. *FRIZZY PANICLE* drives supernumerary spikelets in bread wheat // *Plant Physiology*, 2015. – V. 167. – P. 189-199.

Osipova S.V., Permyakov A.V., Permyakova M.D., Davydov V.A., Pshenichnikova T.A., Börner A. Tolerance of prolonged drought among a set of bread wheat chromosome substitution lines // *Cereal Research Communication*, 2011.–V. 39 (3). – P. 343-351.

Osipova S.V., Permyakov A.V., Permyakova M.D., Pshenichnikova T.A., Genaev M.A. Börner A. The antioxidant enzymes activity in leaves of inter – varietal substitution lines of wheat (*Triticum aestivum* L.) with different tolerance to soil water deficit // *Acta Physiologiae Plantarum*, 2013. – V. 35 (8). – P. 2455-2465.

Osipova S., Permyakov A., Permyakova M. et al. Regions of the bread wheat D genome associated with variation in key photosynthesis traits and shoot biomass under both well watered and water deficient conditions // *Journal of Applied Genetics*, 2016. – V. 57 (2). – P. 151-163.

Uauy C., Distelfeld A., Fahima T. et al. A NAC gene regulating senescence improves grain protein, zinc and iron content in wheat // *Science*, 2006. – V. 314. – P. 1298-1301.

## РАЗЛИЧНАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ К КАНАМИЦИНУ ТРАНСГЕННЫХ КЛОНОВ ТОПОЛЯ БЕРЛИНСКОГО, НЕСУЩИХ ГЕН *nptII*

В.В. Павличенко, М.В. Протопопова, В.К. Войников

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, *vpavlichenko@gmail.com*; *marina.v.protopopova@gmail.com*; *vvk@sifibr.irk.ru*

В результате агробактериальной генетической трансформации растений часто появляются трансформированные растения с различной степенью проявления нового целевого признака. Это может быть обусловлено как местом встройки генетической конструкции в геном растения и ее активностью, так и копийностью целевого гена в геноме растения реципиента. Для отбора генетически модифицированных растений используют селективные гены, например, гены устойчивости к различным антибиотикам. При постановке методики генетической трансформации одним из определяющих факторов является концентрация антибиотика, которая будет использована для отбора трансформированных растений.

Целью данной работы была оценка степени устойчивости к канамицину трансгенных клонов тополя берлинского, несущих ген *nptII*.

В качестве объекта исследования для проведения генетической трансформации был выбран тополь берлинский (*Populus berolinensis* Dippel). Представителей семейства Ивовые часто используют в качестве модельного объекта для изучения влияния генетической трансформации генами биосинтеза гибберелинов на рост и развитие древесных растений. В работе проводили оценку устойчивости нескольких трансгенных линий тополя берлинского (*Populus berolinensis* Dippel), трансформированных генетической конструкцией на основе плазмиды pBI121 и несущей ген *nptII*, определяющий устойчивость к канамицину, под контролем NOS промотора.

Перенос векторной конструкции в клетки *A. tumefaciens* осуществляли с помощью прямой трансформации методом замораживания-оттаивания. Непосредственно генетическую трансформацию растений осуществляли при помощи инкубации растительных эксплантов (отрезки стеблей без пазушных почек) в суспензии *A. tumefaciens*. Трансформированные и отмытые от агробактерий экспланты переносили на питательные среды для получения регенератов. Для освобождения растительного материала от агробактерий и получения регенерантов использовали цефотаксим (200 мг/л). Для образования регенерантов питательную среду готовили на основе ½ MS 5524 (Sigma) с добавлением хелата железа и микроэлементов до полной нормы от среды MS и витаминов – тиамин (1 мг/л), пиридоксин (0,5 мг/л), никотиновая кислота (0,5 мг/л), инозит (50 мг/л), а также гормонов – бензиладенин (0,2 мг/л), нафтилуксусная кислота (0,01 мг/л), тидиазурон (0,02 мг/л). В качестве источника углеводов использовали сахарозу (2%). Для получения твёрдой среды применялся агар (Биотехновация, Россия) в концентрации 7 г/л. Кислотность среды доводили до pH 5,7. Контрольную группу растений выращивали на аналогичной питательной среде. После автоклавирования в питательную среду добавляли канамицин (12,5 мг/л). В сосуды для культивирования объёмом 100 мл добавляли по 25 мл готовой питательной среды и закрывали прозрачными крышками Magenta В-Сар (Sigma, Germany). На поверхность затвердевшей и остывшей до комнатной температуры питательной среды помещали экспланты растений. Сосуды с эксплантами экспонировали в световой комнате, в условиях фотопериода: 16/8 часов (день/ночь) при 23 °С.

Наличие гена *nptII* в геномах трансгенных линий подтверждали с помощью ПЦР анализа. Всего в исследовании использовали 6 трансгенных (I, II, III, IV, V, VI) и 1 контрольную линию тополя. Каждая из групп была получена из одного растения, что свидетельствует об одинаковом генотипе внутри каждой группы. Определение устойчивости линий проводили по эффективности корнеобразования на среде с различными концентрациями канамицина: 12,5, 25, 50 мг/л. Для каждой концентрации канамицина укореняли по 10 растений. Каждое растение содержалось в отдельной пробирке с прозрачной крышкой в 10 мл питательной среды содержащей помимо базовых элементов описанных выше еще и индолилмасляную кислоту (0,15 мг/л) для стимуляции корнеобразования.

Растения всех 6 трансгенных групп 100% укоренялись при финальной концентрации канамицина в питательной среде 12,5 мг/л. При повышении концентрации канамицина в питательной среде до 25 мг/л наблюдали 100% укоренение только у трансгенов группы III. Остальные группы трансгенов показали более низкий процент укоренения на той же концентрации канамицина в питательной среде (25 мг/л): I – 40%, II – 90%, IV – 70%, V – 30% и VI – 80%. Последующее повышение концентрации канамицина в питательной среде до 50 мг/л привело еще к большему разделению трансгенов по степени устойчивости к антибиотику. Так, в группе IV отмечали 100% гибель растений, а в остальных группах еще меньший процент укоренившихся растений по сравнению с предыдущей концентрацией: I – 30%, II – 70%, III – 50%, V – 20% и VI – 60%. Контрольные растения не образовывали корни и погибали уже при концентрации канамицина в питательной среде 12,5 мг/л.

Результаты исследования показали, что все полученные трансгенные линии тополя берлинского по гену *nptII* отличались устойчивостью к канамицину. Так, из 6 полученных групп трансгенных растений наиболее устойчивыми к канамицину в питательной среде оказались растения из групп II, III и VI. Растения из 3-х оставшихся групп были менее устойчивы к высоким концентрациям канамицина в питательной среде. Наблюдаемая устойчивость трансгенных линий тополя берлинского по гену *nptII* к канамицину может быть связана с генетическими особенностями полученных линий (например, количеством генов в геноме). Активность и количество копий встроенного гена у разных линий будут определены в последующих работах.

Исходя из полученных данных, можно сделать вывод о том, что при использовании более высоких концентраций селективного агента, можно отбирать трансгенные растения с наиболее выраженным эффектом генетической трансформации. Использование же более низких концентраций селективного агента будет приводить к отбору растений с менее выраженным эффектом генетической трансформации. Последняя стратегия в свою очередь может быть применена в случае, если необходимо создать генетически модифицированное древесное растение с менее выраженным фенотипическим эффектом генетической трансформации.

*Работа выполнена при частичной финансовой поддержке стипендии Президента РФ (СП-3823.2015.1) и Комплексной программы фундаментальных исследований СО РАН (проект № 0343-2015-0005).*

## ГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ РАЗНЫХ ФОРМ ЛИПОКСИГЕНАЗЫ ПШЕНИЦЫ ПРИ ВОДНОМ ДЕФИЦИТЕ

М.Д. Пермякова<sup>1</sup>, А.В. Пермяков<sup>1</sup>, С.В. Осипова<sup>1,5</sup>, Т.А. Пшеничникова<sup>2</sup>,  
А.А. Шишпарёнок<sup>1</sup>, Е.Г. Рудиковская<sup>1</sup>, А.В. Рудиковский<sup>1</sup>, В.В. Верхотуров<sup>3</sup>, А. Бернер<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, *marperm@rambler.ru*

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия, *wheatpsh@bionet.nsc.ru*

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Иркутский национальный исследовательский технический университет», Иркутск, Россия, *vervv@mail.ru*

<sup>4</sup>Институт генетики растений и изучения культурных растений имени Лейбница, Гатерслебен, Германия, *boerner@ipk-gatersleben.de*

<sup>5</sup>ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет», Иркутск, Россия, *svetlanaosipova@mail.ru*

С использованием картирующей популяции интогрессивных линий пшеницы Чайниз Спринг (Синтетик 6х) по хромосомам генома D [Pestsova et al., 2006] было картировано десять локусов количественных признаков (ЛКП), ассоциированных с активностью разных форм липоксигеназы (ЛОГ) при водном дефиците (рисунок).

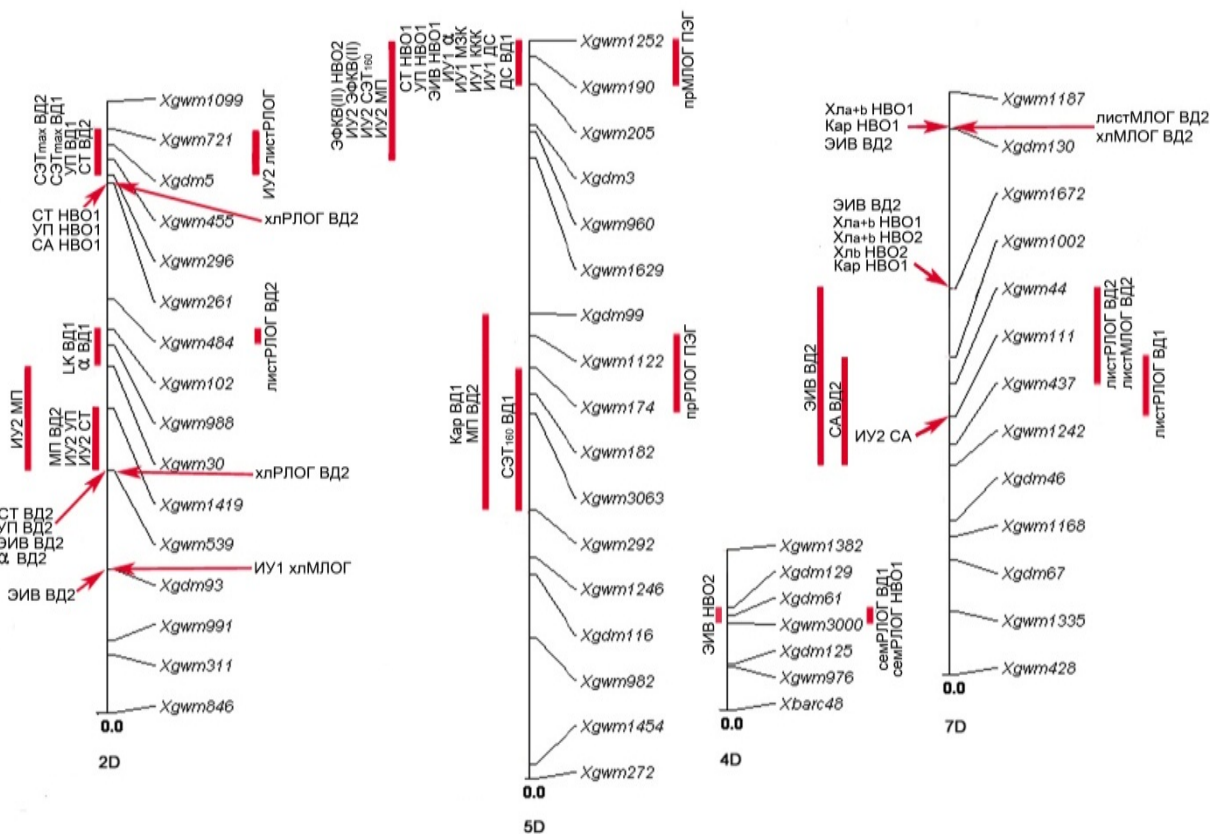
ЛКП, ассоциированный с активностью растворимой ЛОГ семян на коротком плече хромосомы 4D был обнаружен независимо от условий водообеспечения и, вероятно, связан с присутствием в данном регионе трех известных структурных генов биосинтеза изоферментов 9-ЛОГ [Feng et al., 2010].

ЛКП для активности растворимой ЛОГ проростков в условиях, имитирующих засуху, был обнаружен на длинном плече хромосомы 5D в области, ограниченной маркерами *Xgwm1122* и *Xgwm182*. Локус, ассоциированный с активностью мембранной формы фермента, был найден на 5DS в области маркеров *Xgwm190* - *Xgwm1252*.

В листьях пшеницы в условиях засухи активность, как растворимой, так и мембраносвязанной ЛОГ, была связана с центромерной областью хромосомы 7D, ограниченной маркерами *Xgwm1002* и *Xgwm111*. На хромосоме 2D были найдены ЛКП, связанные с активностью растворимой формы фермента и ее индексами устойчивости (ИУ), а также три локуса активности хлоропластных форм ЛОГ, сцепленные с отдельными маркерами.

При водном дефиците в листьях пшеницы активность растворимой формы ЛОГ имела как общий, так и отдельный с активностью мембранной формы генетический контроль. В проростках пшеницы активности мембранной и растворимой форм фермента контролировались независимо, так же как и активности растворимой и связанной с мембранами ЛОГ хлоропластов и растворимой ЛОГ семян. Это, несомненно, объясняется их специфическими функциями в условиях водного стресса.

Все выявленные в нашей работе ЛКП, ассоциированные с вариабельностью параметров фотосинтеза, газообмена, биомассы или зерновой продуктивности пшеницы в условиях водного дефицита, в то же время были связаны с вариабельностью активности ЛОГ. Вероятно, эти хромосомные области несут гены метаболических путей липидов или транскрипционных факторов, инициированных изоферментами ЛОГ, которые крайне важны для устойчивости и адаптации растений пшеницы к стрессу.



**Рисунок. Области генома D пшеницы, ассоциированные с вариабельностью активности разных форм ЛОГ и физиологическими параметрами**  
 Обозначения: семРЛОГ – растворимая ЛОГсемян; прРЛОГ – растворимая ЛОГ проростков; прМЛОГ – мембраносвязанная ЛОГ проростков; листРЛОГ – растворимая ЛОГ листьев; листМЛОГ – мембраносвязанная ЛОГ листьев; хлРЛОГ – растворимой ЛОГ хлоропластов; хлМЛОГ – связанная с мембранами хлоропластов ЛОГ; МП – масса побега; Хл – содержание хлорофиллов; Кар – содержание каротиноидов; СТ – скорость транспирации; УП – устьичная проводимость; СА – скорость ассимиляции CO<sub>2</sub>; ЭИВ – эффективность использования воды; ЭФКВ(II) – эффективный фотохимический квантовый выход ФС II; СЭТ – скорость электронного транспорта в фотосистеме II; α – начальный наклон световой кривой, связанный с максимальным выходом электронного транспорта; Lk – интенсивность света, выражающая начало насыщения ФАР; ДС – длина стебля; ККК – количество колосков в колосе; МЗК – масса зерна в колосе. НВО – нормальное водообеспечение; ВД – водный дефицит; ИУ – индекс устойчивости (отношение значения параметра в условиях ВД к значению параметра при НВО в %). Растения выращены: 1 – в теплице; 2 – в климатической камере CLFPlantMaster; ПЭГ – на 12% р-ре ПЭГ.

#### Литература

Feng B., Dong Z., Xu Z., An X. Qin H., Wu N., Wang D., Wang T. Molecular analysis of lipoxygenase (LOX) genes in common wheat and phylogenetic investigation of LOX proteins from model and crop plants // J. of Cereal Science, 2010. –V. 52. – P. 387-394.  
 Pestsova E.G., Börner A., Röder M.S. Development and QTL assessment of *Triticum aestivum* - *Aegilops tauschii* introgression lines // Theor. Appl Genet., 2006. –V. 112. – P. 634-647.



## ИССЛЕДОВАНИЕ ИСТОРИЧЕСКОЙ ДИНАМИКИ НЕКОТОРЫХ РЕЛИКТОВЫХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ БАЙКАЛЬСКОЙ СИБИРИ В ТЕЧЕНИЕ ГЛОБАЛЬНЫХ КЛИМАТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ

М.В. Протопопова<sup>1</sup>, В.В. Павличенко<sup>1</sup>, А.Д. Коновалов<sup>2</sup>, В.В. Чепинога<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, *marina.v.protopopova@gmail.com*; *vpavlichenko@gmail.com*

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет», Иркутск, Россия, *konovalov.alexey.d@gmail.com*

<sup>3</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт географии им. В.Б. Сочавы СО РАН, Иркутск, Россия, *Victor.Chepinoga@gmail.com*

На протяжении четвертичного периода растительность Северной Азии претерпевала значительные изменения, но при этом в отличие от Северной Европы, не теряла преобладания в ходе чередования оледенений и межледниковий [Wilson et al., 2000]. Поддержание преобладания оказалось возможным, в частности, за счет существования рефугиумов, комплекс условий в которых, позволил растениям пережить неблагоприятные для них периоды. Настоящая работа направлена на решение проблемы ограниченности знаний в области исторической динамики некоторых реликтовых видов Сибири в результате глобальных климатических изменений на протяжении позднелейстоценовой и голоценовой истории с использованием современных методов молекулярно-генетического анализа.

В работе проводили изучение нескольких неморальных реликтовых видов растений: *Eranthis sibirica* DC., *Waldsteinia ternata* (Steph.) Fritsch. и *Anemone baicalensis* Turcz. Все они являются эндемиками Южной Сибири и имеют сильно дизъюнктивный ареал, что, наиболее вероятно, является следствием серии последних оледенений. Сбор материала для всех трех видов проводили на хр. Хамар-Дабан (Южное Прибайкалье). Помимо этого, сбор *E. sibirica* и *W. ternata* осуществляли из их изолированных местонахождений в предгорьях Восточного Саяна (р. Белая Зима). В работе также использовали образцы *W. ternata* из популяций, произрастающих в Надеждинском р-не Приморского края (вблизи пос. Сиреневка и Раздольное), и которые выделяются рядом исследователей в самостоятельный вид *Waldsteinia maximowicziana* (Juz. ex Teppner) Probat. [Пробатова и Баркалов, 2006].

Был проведен сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей молекулярно-генетических маркеров *ITS1-ITS2*, *trnV*, *rpl20-rps12*, и *psbA-trnH*. ДНК выделяли из высушенных листьев с помощью СТАВ метода [Doyle & Doyle, 1987] с модификациями [Протопопова и др., 2015]. ПЦР проводили с использованием универсальных праймеров [Wang et al., 2009; Utelli, 2000]. Ампликоны электрофоретически отделяли от компонентов реакции в агарозном геле, очищали и лигировали в плазмидный вектор pTZ57R/T (Thermo Fisher) с последующей трансформацией в клетки *E. coli*. Плазмиды секвенировали по методу Сэнгера на генетическом анализаторе ABI3500. Выравнивание нуклеотидных последовательностей проводили с помощью алгоритма Muscle, филогенетический анализ – с помощью метода максимального правдоподобия с учетом оптимальных моделей нуклеотидных замен в Mega 6.06. Для филогенетического анализа в качестве референтных были использованы последовательности из GenBank для близкородственных к исследуемым видам *E. stellata* Maxim., *W. geoides* Willd. и *A. flaccid* Schmidt.

Результаты показали, что, несмотря на образование исследованными реликтовыми видами гиперпопуляций [Чепинога и др., 2015], объединяющих популяции соседних рек, на более протяженных участках ареала вдоль северного макросклона хр. Хамар-Дабан для большинства видов перенос генов является лимитированным. Степень выявленных отличий между популяциями с хр. Хамар-Дабан и Восточного Саяна свидетельствует в пользу их непродолжительной изоляции друг от друга, а также, вероятно, о «хамар-дабанском» источнике происхождения восточно-саянского генотипа *W. ternata*. Для *E. sibirica* в настоящий момент ситуация менее однозначна, и нами не исключается наличие двойного источника происхождения хамар-дабанских популяций. Предполагается, что один из этих источников имеет общую связь с восточно-саянскими популяциями.

Полученные результаты указывают на то, что генетическая дистанция между хамар-дабанскими популяциями и близкородственными восточноазиатскими видами (или по другим источникам – популяциями) гораздо меньше, чем это предполагалась ранее на основании данных морфологического анализа и их географического распределения. Для *W. ternata* полученные результаты также свидетельствуют в пользу гипотезы наличия дальневосточных корней у сибирских популяций этого вида.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты 16-34-60135 мол\_а\_дк, 16-05-00783).*

#### Литература

Пробатова Н.С., Баркалов В.Ю. Семейство Розовые – Rosaceae // Флора российского Дальнего Востока. – Владивосток: Дальнаука, 2006. – С. 160-168.

Протопопова М.В., Павличенко В.В., Гнутиков А.А., Адельшин Р.В., Чепинога В.В. Использование генетических маркеров для оценки состояния реликтовых видов растений Байкальской Сибири // Вестник РУДН. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности, 2015. – № 4. – С. 28-36.

Чепинога В.В., Мишина А.В., Протопопова М.В., Павличенко В.В., Быстров С.О., Вилор М.А. Новые данные о распространении некоторых неморальных реликтовых растений в предгорьях хребта Хамар-Дабан (Южное Прибайкалье) // Ботанический журнал, 2015. – Т. 100, № 5. – С. 478-489.

Doyle J. J., Doyle J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue // Phytochem. Bull., 1987. – V. 19. – P. 11-15.

Wang L., Abbott R. J., Zheng W., Chen P., Wang Y., Liu J. History and evolution of alpine plants endemic to the Qinghai-Tibetan Plateau: *Aconitum gymnantrum* (Ranunculaceae) // Molecular Ecology, 2009. – V. 18, I. 4. – P. 709-21.

Wilson R.C.L., Drury S.A., Chapman J.L. The Great Ice Age: climate change and life. – London: Routledge and the Open University, 2000.

Utelli A., Roy B., Baltisberger M. Molecular and morphological analyses of European *Aconitum* species (Ranunculaceae) // Plant Systematics and Evolution, 2000. – V. 224. – P. 195-212.

## ЕСТЬ ЛИ ИЗМЕНЕНИЯ В ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЕ *SCORZONERA GLABRA* (ASTERACEAE) В ОКРЕСТНОСТЯХ КАРАБАШСКОГО МЕДЕПЛАВИЛЬНОГО КОМБИНАТА

Д.Р. Юнусова, Н.А. Кутлунина

ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», Екатеринбург, Россия, [natakutlunina@mail.ru](mailto:natakutlunina@mail.ru)

В связи с активной хозяйственной деятельностью на Урале находится большое количество техногенно нарушенных территорий. К ним относятся окрестности Карабашского медеплавильного комбината (КМК), где отмечены высокие концентрации тяжелых металлов и низкое рН. Изучение растений, произрастающих в таких условиях, позволяет выявить механизмы устойчивости, а также виды, перспективные для фиторекультивации и фиторемедиации.

Одним из видов цветковых растений, произрастающих в импактной зоне КМК, является уральский эндемик и плейстоценовый реликт *Scorzonera glabra* Rupr. (сем. Asteraceae). Было показано, что в отличие от естественных фитоценозов, в условиях техногенно нарушенной территории в окрестностях КМК, *S. glabra* оказывается главным ценообразователем и формирует многочисленные полночленные ценопопуляции с преобладанием генеративной стадии в возрастном спектре [Лесина, Коротеева, 2014]. Также была обнаружена смена габитуса вида: в условиях импакта козелец гладкий образует мощную «подушкообразную» форму с большим числом листьев и цветоносов. Оценка фертильности пыльцы *S. glabra* в окрестностях КМК и на фоновом участке показала отсутствие различий по этому показателю ( $99,5 \pm 0,4$  – КМК;  $98,6 \pm 0,8$  – фон) [Чукина и др., 2015]. Важным аспектом устойчивости и адаптации растений к токсическому стрессу является генетический. По литературным данным в условиях токсического стресса может наблюдаться снижение генетического разнообразия [Bush, Barret, 1993], повышение [Slomka et al., 2011] или отсутствие существенных изменений [Mengony et al., 2000]. Несмотря на широкую амплитуду варьирования показателей генетического разнообразия, очевидной во всех случаях оказывается значительная генетическая дистанция между устойчивыми и неустойчивыми популяциями. В связи с тем, что КМК работает более 100 лет, токсическая нагрузка очень высока, мы выдвинули гипотезу, согласно которой генетическая структура популяции *S. glabra*, произрастающей в таких условиях, подверглась изменениям.

Материал был собран в июне 2015 года в окрестностях КМК – на горе Золотая и горе Егоза Кыштымского района. В обоих случаях вид встречается на серпентинитовых обнажениях вершин гор. Отбирались листья среднего яруса с растений, произрастающих на расстоянии 4-5 м. Объем выборки составил 20 образцов для каждой популяции. Позднее к исследованию была подключена популяция *S. glabra* из Ильменского государственного заповедника (ИГЗ) – 11 образцов. ДНК выделяли из свежего и гербарного материала по Поревски [Porebski et al., 1997]. Использованы 9 праймеров UBC: 807, 808, 810, 811, 814, 815, 822, 834, 842. Анализ результатов проводился в программах Popgen 3.2, GenAlex 6.5, PAST3.

Из 112 фрагментов, выявленных в результате электрофореза для двух популяций: из Карабаша и Егозы, 108 оказались полиморфными (96,43%). Для популяции *S. glabra* из Карабаша характерен достаточно высокий уровень полиморфизма ( $P = 68\%$ ) и показатель генетического разнообразия ( $He = 0,241$ ). Они несколько снижены по сравнению с контрольной популяцией из Егозы ( $P = 86\%$ ,  $He =$

0,256). Основной вклад в генетическую изменчивость вида согласно AMOVA вносит внутрипопуляционная изменчивость (74%), дисперсия  $\sigma = 0,256$  ( $p = 0,001$ ), что согласуется с особенностями биологии вида. Исследованная популяция дифференцирована от популяций, произрастающих в фоновых условиях  $G_{st} = 0,241$ . Полной изолированности популяций не обнаружено: между ними существует поток генов  $N_m = 1,574$ . Для визуализации генетической дистанции между популяциями был использован метод главных координат. На первые три оси координат приходится 21,69%, 10,04% и 8,88% общей дисперсии признаков.

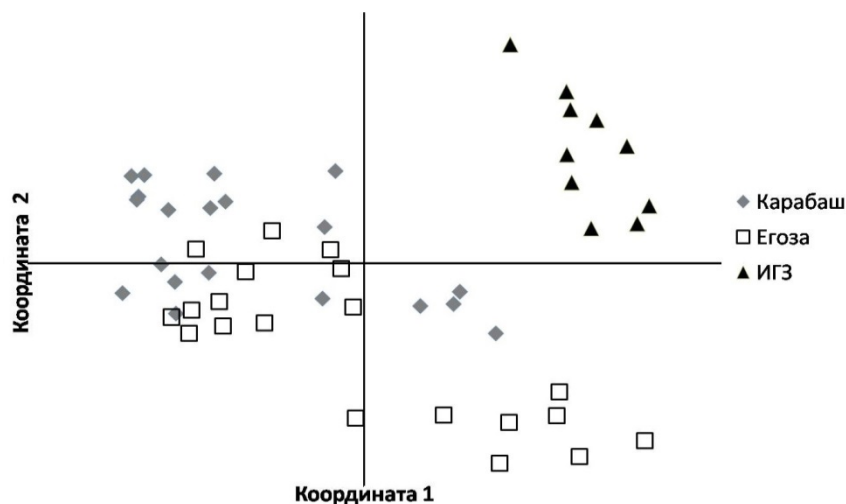


Рисунок. Ординация образцов *S. glabra* методом главных координат

Таким образом, нами не выявлено изменения параметров генетической структуры или наличия значительных дистанций между импактной и фоновыми популяциями. По-видимому, *S. glabra* является пластичным видом, имеющим преадаптации, о чем свидетельствует произрастание в различных условиях освещения и состава горных пород. Являясь исключителем или эксклюдером, вид реагирует на стресс морфофизиологически, в то время как генетические и репродуктивные параметры остаются относительно неизменными.

Авторы благодарят С.А. Лесину за помощь в сборе материала. Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований № 15-04-08320 А.

#### Литература

- Лесина С.А., Коротеева Е.В. Биологические особенности *Scorzonera glabra* (Asteraceae) в Челябинской области // Бот. журн., 2014. – Т. 99, № 12. – С. 1363-1376.
- Чукина Н.В., Кутлунина Н.А., Шаихова Д.Р., Шарнина Т.Ф., Ситников И.А., Киселева И.С. Экспресс-оценка состояния вегетативных и генеративных органов травянистых растений в окрестностях Карабашского медеплавильного комбината // Учен. зап. Петрозав. гос. ун-та, 2015. – Т. 53, № 8. – С. 80-86.
- Bush E., Barrett S.C.H. Genetics of mine invasions by *Deschampsia cespitosa* (Poaceae) // Can. J. Bot., 1993. – V. 71. – P. 1336-1348.
- Mengoni A., Gonnelli C., Galardi F., Gabbrielli R., Bazzicalupo M. Genetic diversity and heavy metal tolerance in populations of *Silene paradoxa* L. (Caryophyllaceae): a random amplified polymorphic DNA analysis // Molec. Ecol., 2000. – V. 9, N 9. – P. 1319-1324.
- Siomka A., Sutkowska A., Szczepaniak M., Malec P., Mitka J., Kuta E. Increased genetic diversity of *Viola tricolor* L. (Violaceae) in metal-polluted environments // Chemosphere, 2011. – V. 83, N 4 – P. 435-442.

**STUDY OF GENETIC MUTATIONS AND FLUCTUATING ASYMMETRY IN SCOTS PINE (*PINUS SYLVESTRIS* L.) AND SILVER BIRCH (*BETULA PENDULA* ROTH) POPULATIONS GROWING UNDER THE CHRONIC RADIOACTIVE CONTAMINATION**

K.V. Krutovsky<sup>1,2,3,4</sup>, I.V. Romashkina<sup>5</sup>, A.N. Razdaivodin<sup>5</sup>, A.I. Radin<sup>5</sup>, D.Y. Romashkin<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Georg-August-University of Göttingen, Göttingen, Germany, *konstantin.krutovsky@forst.uni-goettingen.de*

<sup>2</sup>N. I. Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

<sup>3</sup>Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russia

<sup>4</sup>Texas A&M University, College Station, USA

<sup>5</sup>All-Russian Research Institute for Silviculture and Mechanization of Forestry, Pushkino, Russia, *info@roslesrad.ru*

The total forest area in the Russian Federation affected by radioactive contamination as a result of the Chernobyl disaster in 1986 was about 1.5 million ha. The most contaminated are forests in Bryansk Region, where soil contamination with radioactive cesium affects the stability (homeostasis) of the individual development of organisms (ontogenesis) under chronic exposure to ionizing radiation. Fluctuating asymmetry index (FAI) is considered as an informative trait of homeostasis [Kozlov & Niemela, 1999; Захаров, 2000] and was used in our study as a bioindicator of deviation from the stable individual development.

Therefore, to estimate biological sustainability of forests under radioactive pollution FAI was measured in trees of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) and Silver birch (*Betula pendula* Roth) in the contaminated area after Chernobyl accident (Bryansk Region, Russia) and compared it across populations with different level of contamination. In addition, we genotyped microsatellite (SSR) loci in megagametophytes, embryos and needles of Scots pine trees to study mutation rate.

Uptake of Cs-137 was measured in cones and needles. Cones and needles of Scots pine with branches and leaves of Silver birch were collected from mixed plantations growing after the Chernobyl accident. Three sites for each of species with different chronic radioactive exposure were used in our experiment. They are located in the Mandatory Resettlement Zone of the Southwest of the Bryansk Region, Russia with no human population and minimal human activity.

Mean estimates of FAI and radiation levels in different sites of birch are presented in Table 1, and pine – in Table 2.

**Table 1**

**Fluctuating asymmetry index (FAI) of Silver birch leafs and radiation parameters in the forest study sites**

Site	DER, $\mu\text{Sv/h}$	Cu / $\text{km}^2$	Bq / kg		The coefficients of the transition in the soil-leaf system	FAI
			branches	leaves		
1	0.26	158±11	21.4±3.4	46.4±8.2	0.29±0.04	0.057±0.004
2	0.62	673±63*	18.5±3.8	48.1±5.1	0.08±0.02	0.056±0.003
3	3.34	2801±183*	3519±729*	11920±2319*	4.37±0.87	0.079±0.004

Note: \*  $P \leq 0.01$

The close FAI estimates for sites 1 and 2 could be due to the same effect of the radiation on the plants in the site 2 created on agricultural land, where after the Chernobyl accident active protective agro-technical measures were undertaken to prevent contamination of agricultural products by the radionuclides, evidenced by the low coefficient of radionuclides transfer in the soil-leaf system.

**Table 2**

**Fluctuating asymmetry index (FAI) of Scots pine needles and radiation parameters in the forest study sites**

Site	DER, $\mu\text{Sv/h}$	Cu / km <sup>2</sup>	Bq / kg (corns)	Bq / kg (needles)	Needles length, mm	FAI
4	0.11	16.65±1.48	1.8±1.1	42.2 ± 14.7	65.1±0.6	0.023±0.003
5	0.35	765.9±51.8*	55.7±20.6*	73.1 ± 30.5*	71.9±0.6*	0.027±0.003
6	0.74	1154.4±107.3*	437.2±114.3*	547.9 ± 152.1*	74.7±0.6*	0.054±0.007*

Note: \*  $P \leq 0.01$

Increased FAI of birch leaves and pine needles was significantly linked with increased of dose-related radionuclide content (Cs-137). FAI is very likely a signature of genome instability even in such radio-resistance species as Silver birch.

Mutation rates induced by low radiation dose were studied by genotyping of SSR loci in Scots pine haploid megagametophytes, embryos and needles. Genomic DNA was extracted from germinated ten seeds (separately from the embryo and megagametophyte) from five pine trees growing on three sites with different chronic radioactive exposure, and from the needles of these five trees. We tested 26 SSR-primers and selected 11 reliably performing SSR-primers for searching the mutations.

We have done 3900 locus-tests (1300 locus-tests per site). To confirm mutations we estimated the segregation of maternal genotype in megagametophytes. The distinguishing feature of this analysis is that during genotyping samples mutational events can be detected by comparing megagametophyte haplotypes with the original parent genotype and with the embryo genotype, and also by analyzing segregating maternal genotype. In addition, the data obtained thus can be used to calculate the percentage of self-pollination and to assess the degree of cross-pollination. All cases of ambiguous mutations require further confirmation by sequencing.

In general, based on the obtained SSR data multiple segregation distortions were observed in the seeds of Scots pine. Three cases of distortions were found in the control site (0.11 mSv/h), 15 - in the second site (~0.35 mSv/h) including confirmed cases of lack of amplification of the maternal allele of certain loci in a megagametophyte and an embryo in the same seed, which was not observed in the control site), and 25 – in the third, the most contaminated site (0.74 mSv/h).

#### Литература

Kozlov M.V., Niemela P. Difference in needle length – a new and objective indicator of pollution impact on Scots pine (*Pinus sylvestris*) // Water, Air and Soil Pollution, 1999. – V. 116. – P. 365-370.

Захаров В.М. Здоровье среды: методика оценки // Оценка состояния природных популяций по стабильности развития: методическое пособие для заповедников / В.М. Захаров [и др.]. – М.: Центр экологической политики России, 2000. – 318 с.



**СЕКЦИЯ 4.  
СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ  
ДЛЯ ТЕСТИРОВАНИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ  
ОРГАНИЗМОВ И ФИТОЦЕНОЗОВ**



## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ МЕТОДОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ХВОИ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ В ПОСЛЕПОЖАРНЫХ СОСНЯКАХ

И.Г. Гетте<sup>1</sup>, Н.В. Пахарькова<sup>1</sup>, И.В. Косов<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет», Красноярск, Россия, *ecolog\_imes@sfu-kras.ru*

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН, Красноярск, Россия, *institute\_forest@ksc.krasn.ru*

Лесные пожары являются одним из самых серьезных абиотических стрессовых факторов, сопровождающие бореальные леса на протяжении длительного периода их развития. В настоящее время в Сибири ежегодно возникает от 4,5 до 27 тысяч лесных пожаров, которые охватывают площадь 10-12 млн га. [Иванова и др., 2014]. Возникновение лесных пожаров тесно связано с климатическими условиями. Изменение климата последних десятилетий значительно увеличивает угрозу возникновения и распространения лесных пожаров. Тенденция повышения температуры в России в течение трех последних десятилетий была значительно выше, чем глобальные: 0,51 и 0,17 °С / 10 лет, соответственно, с 1976-2008 [Швиденко, Щепашенко, 2013]. В процессе филогенеза при частом воздействии пожаров у деревьев могли сформироваться некоторые механизмы адаптации. В настоящее время основной задачей является не только определить параметр, который может быть использован для оценки устойчивости доминирующих древесных видов к воздействию высоких температур при низовых пожарах, но и продолжительность сохранения метаболических изменений. Цель данной работы заключалась в определении фотосинтетической активности и способности к восстановлению ассимиляционного аппарата хвои сосны обыкновенной, подвергавшейся тепловому стрессу при низовом пожаре.

Объектом исследования служили естественные чистые насаждения сосны обыкновенной II класса возраста, расположенные в лесостепной зоне Емельяновского района Красноярского края (56°22'07.48"с.ш. 92°57'17.95"в.д.). На данной территории было выбрано два участка. Первый – участок территории, на которой был отмечен низовой пожар в 2014 г. Второй – участок территории, на которой был отмечен низовой пожар в 2015 г. Контролем служили участки, не затронутые пожаром. Для исследования использовали образцы хвои сосны, отобранные в июне, июле, сентябре 2015 года, в дневное время.

Исследования параметров флуоресценции хлорофилла часто применяется в целях экологического мониторинга. Для оценки устойчивости древостоев к повторному тепловому стрессу и продолжительности сохранения метаболических изменений фотосинтетического аппарата после высокотемпературного стресса при низовом пожаре, мы определяли параметры быстрой и замедленной флуоресценции. Параметры замедленной флуоресценции определяли на флуориметре «Фотон –10» [Григорьев и др., 1996]. Изменения в эффективности ФС II (параметр  $F_v / F_m$ ) были измерены с использованием Junior-PAM (Walz, Германия). Для определения устойчивости древесных растений к высоким температурам и их восстановления в послепожарный период применяли метод искусственного стрессового воздействия, прогревая хвою при температурах, превышающих ее физиологический оптимум. Нагрев срезанных побегов осуществляли в термостате при сублетальной температуре 45 °С. Длительность нагрева составляла 10 минут, после чего сразу проводились измерения показателей быстрой и замедленной флуоресценции. Затем в течение 3 дней наблюдалось их состояние. Таким образом, определялась способность клеток активировать защитные механизмы и

противостоять тепловому повреждению, что определяет выносливость дерева во время пожара и после него.

Относительный показатель замедленной флуоресценции (ОПЗФ) и параметр  $F_v / F_m$  хвои сосны обыкновенной при комнатной температуре (24 °С) не показывает существенных различий как между пробными площадями внутри участков, так и между ними на протяжении всего периода исследования. Однако при нагревании отмечается изменение активности фотосинтеза в различной степени. Так, для образцов, отобранных в июне 2015 года, 10 минутная экспозиция приводит к снижению ОПЗФ и  $F_v / F_m$ , относительно исходного уровня, как у хвои с деревьев подвергавшихся нагреванию при низовом пожаре, так и с ненарушенных контрольных пробных площадей. Восстановление активности фотосинтеза практически до исходного уровня происходит на 3 суток, при более высоких значениях ОПЗФ, характерных для хвои с деревьев, подвергавшихся действию стрессовых температур при пожаре 2014 и 2015 года. Для образцов, отобранных в июле 2015 года, показатели флуоресценции при комнатной температуре имеют наименьшие значения по сравнению с предыдущим и последующим периодом исследования. Десятиминутный прогрев при 45 °С практически не приводит к снижению флуоресценции. Такая теплоустойчивость может быть результатом заблаговременного включения клетками защитных реакций для предотвращения повреждений при высоких среднесуточных температурах. Однако после действия повреждающего фактора восстановление фотосинтетической активности происходит в различной степени в зависимости от периода прохождения низового пожара. Для побегов, отобранных в сентябре, последствия теплового стресса на фотосинтетическую активность обеих участков также различны. Так, после повторного теплового стресса наблюдался положительный эффект от пожара, который произошел в 2014 году. Это было выражено в более высоком уровне замедленной флуоресценции по сравнению с его первоначальным уровнем при экспозиции в лабораторных условиях. Тогда как для деревьев с пробной площади, подвергавшейся огневому воздействию в начале вегетационного периода (май 2015), показатели флуоресценции снижены относительно контрольных.

Результаты наших экспериментальных данных свидетельствуют о существовании определенных различий в динамике теплоустойчивости хвои как при действии, так и в период после действия высоких повреждающих температур. Таким образом, можно предположить, что некоторые физиологические процессы в растениях модифицируются бывшими стрессовыми событиями. Эти изменения могут иметь положительный эффект при повторном действии стрессовых факторов. Кроме того, флуоресцентные методы могут быть использованы для диагностики термической устойчивости хвои.

*Публикация выполнена при финансовой поддержке краевого государственного автономного учреждения «Красноярский краевой фонд поддержки научной и научно-технической деятельности» и Российского фонда фундаментальных исследований №15-44-04132p\_сибирь\_a.*

#### Литература

Иванова Г.А., Конард С.Г., Макрае Д.Д. Воздействие пожаров на компоненты экосистемы среднетаежных сосняков Сибири. – Новосибирск: Наука, 2014. – 232 с.

Швиденко А.З., Щепашенко Д.Г. Климатические изменения и лесные пожары в России // Лесоведение, 2013. – № 5. – С. 50-61.

Григорьев Ю.С. Фуряев Е.А., Андреев А.А. Способ определения содержания фитотоксических веществ. Патент № 2069851. Бюлл. изобр., № 33 от 27.11.96.

## ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ТЕХНОГЕННЫХ ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАСТИТЕЛЬНЫХ МИТОХОНДРИЙ И КУЛЬТУРЫ *IN VITRO*

Ю.М. Константинов, В.Н. Шмаков, В.А. Подсосонный, Г.Н. Луценко

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, [yukon@sifibr.irk.ru](mailto:yukon@sifibr.irk.ru)

В условиях постиндустриального мира резко возрастает роль исследований, направленных на выяснение биологических эффектов различного рода техногенных загрязнителей. Особенностью таких исследований в современный период является возможность использования для этих целей таких информативных модельных систем как изолированные органеллы и культура клеток. Такой подход позволяет не только оценить токсические эффекты загрязнителей, но и выявить основные клеточные и молекулярные мишени их действия. Получение таких сведений позволяет использовать весь широкий арсенал имеющихся в распоряжении исследователей подходов и методов для создания новых растительных форм с повышенной устойчивостью к техногенным загрязнителям с целью использования последних в озеленении современных городов. В настоящей работе исследованы биологические эффекты таких, достаточно характерных для современных индустриальных центров загрязнителей, как кадмий и фтор, с использованием системы изолированных митохондрий и культуры тканей растений.

Митохондрии изолировали из 3-дневных этиолированных проростков *Zea mays* (гибрид Краснодарский 362 ATV) стандартным методом дифференциального центрифугирования. Митохондриальный белок определяли методом Лоури. Синтез ДНК в изолированных митохондриях *in organello* проводили в соответствии с ранее описанным методом [Константинов и др., 1988] с использованием  $^{32}\text{P}$ -dATP (удельная радиоактивность  $> 111 \text{ PBq} \cdot \text{mol}^{-1}$ ). Кинетику синтеза РНК *in organello* регистрировали с использованием  $^{32}\text{P}$ -UTP (удельная радиоактивность  $> 74 \text{ PBq} \cdot \text{mol}^{-1}$ ) [Konstantinov et al., 1993]. Синтез белка в митохондриях проводили с использованием  $^3\text{H}$ -меченных аминокислот как описано нами ранее [Konstantinov et al., 1993]. Кадмий добавляли в виде  $\text{CdCl}_2$  в концентрациях от 10  $\mu\text{M}$  до 250  $\mu\text{M}$ . Вторая часть работы выполнена с целью исследования действия различных концентраций фторида натрия на рост каллусной культуры двух видов лиственницы (*Larix sibirica* Ledeb. и *Larix gmelinii* Rupr.). При этом ставились следующие задачи: (1) изучить возможность использования характеристик каллусогенеза для оценки устойчивости каллусной культуры к фтору в условиях *in vitro* и (2) изучить возможность дифференциации видов и экотипов лиственницы сибирской и лиственницы Гмелина по устойчивости к фтору с использованием каллусной культуры *in vitro*.

При изучении эффекта кадмия на активность синтеза ДНК в митохондриях в системе *in organello* обнаружено, что кадмий в концентрациях от 10  $\mu\text{M}$  до 150  $\mu\text{M}$  оказывал незначительный стимулирующий эффект на ДНК-синтезирующую активность митохондрий, в то время как добавление 250  $\mu\text{M}$  приводило к существенному подавлению синтеза ДНК. Относительно влияния кадмия на активность РНК-синтезирующей и белок-синтезирующей систем изолированных митохондрий кукурузы установлено, что все используемые концентрации кадмия от 10  $\mu\text{M}$  до 150  $\mu\text{M}$  вызывали дозо-зависимое ингибирование синтеза РНК и белка в органеллах. Таким образом, уже в низких концентрациях, начиная от 10  $\mu\text{M}$  и выше, кадмий способен оказывать выраженное ингибирующее влияние на генетические процессы в митохондриях. Отметим, что наиболее мощный ингибирующий эффект на активность

синтеза всех трех типов информационных биополимеров (ДНК, РНК и белка) наблюдался при концентрации кадмия 250  $\mu$ M. Обнаруженный в экспериментах сходный характер ингибирующего действия кадмия на синтез РНК и белка в митохондриях позволяет предположить, что кадмий влияет, прежде всего, на скорость синтеза РНК и, следовательно, на эффективную концентрацию генетических матриц, доступных для синтеза белка. В целом полученные данные иллюстрируют высокую чувствительность мтДНК к повреждающему действию данного представителя тяжелых металлов. Можно предполагать, что митохондриальный геном, является одной из внутриклеточных мишеней токсического действия кадмия на растительную клетку.

Во второй части работы нами исследована реакция каллусных штаммов разных видов и популяций лиственниц на действие фтора в культуре *in vitro*. Анализ данных, полученных в результате изучения эффекта фторида натрия на рост каллусных культур лиственницы сибирской и лиственницы Гмелина, не обнаружил статистически достоверных межвидовых различий в пределах используемых концентраций токсиканта. В то же время, основываясь на результатах определения относительного прироста отдельных каллусных культур в присутствии различных концентраций фторида натрия и их статистического анализа, установлена высокая вариабельность по изучаемому признаку как среди штаммов лиственницы сибирской, так и среди культур лиственницы Гмелина. Относительный прирост каллусных штаммов лиственницы сибирской в присутствии в среде культивирования 0,25 mM NaF находился в пределах 53-112%, а при концентрации 0,75 mM NaF составлял 22-67%. Аналогичные значения для каллусных культур лиственницы Гмелина составили 51-101% и 19-74%, соответственно. Установлено, что варьирование ростовой реакции штаммов на присутствие в культуральной среде фторида натрия, особенно в более высоких его концентрациях, значительно выше у каллусов лиственницы Гмелина. Для исследования межпопуляционного полиморфизма признака устойчивости к действию фтора в условиях *in vitro* были использованы штаммы, полученные от представителей двух популяций лиственницы Гмелина с различной реакцией в отношении фтора на уровне целого организма. Одна из этих популяций («флюоритовая») произрастает в биогеохимической провинции с высоким естественным содержанием фторидов в почве. Результаты данной серии экспериментов не выявили достоверных межпопуляционных различий по относительному приросту каллусных культур на используемых концентрациях фторида натрия. Однако анализ данных, полученных по отдельным каллусным культурам *Larix gmelinii*, показал значительные различия по признаку устойчивости к действию фтора *in vitro* как для производных флюоритовой популяции, так и для штаммов контрольной популяции. Таким образом, с помощью культуры клеток *in vitro* можно оценивать реакцию растительных клеток лиственницы на действие фтора в условиях *in vitro*. В целом долгоживущая каллусная культура позволяет эффективно дифференцировать генотипы сибирских видов лиственниц по признаку фторустойчивости *in vitro*.

#### Литература

Константинов Ю.М., Подсосонный В.А., Луценко Г.Н. Синтез ДНК бактериальной векторной плазмиды pBR322 в изолированных митохондриях кукурузы // Докл. АН СССР, 1988. – Т. 298, №. 2. – С. 502-504.

Konstantinov Yu.M., Lucenko G.N., Podsosonny V.A., Mashnenkov A.S. Effect of cadmium on in organello DNA, RNA and protein synthesis // Maize Genetics Cooperation Newsletter, 1993. – V. 67. – P. 48-49.

## РАЗРАБОТКА МЕТОДА БИОТЕСТИРОВАНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ ПОЛЕВЫХ КУЛЬТУР К ВЫСОКИМ ДОЗАМ ФТОРИДА В ПОЧВЕ

О.В. Кузакова, Л.А. Ломоватская, Л.Г. Соколова, А.А. Симакова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия, *titanic87@list.ru*

Целью данной работы явилась разработка тест-системы для диагностики степени устойчивости полевых культур к загрязнению водорастворимыми фторидами в почве.

Одним из механизмов, определяющих устойчивость растений, является модуляция активности сигнальных систем, так как именно они дифференцируют поступающие сигналы и обеспечивают соответствующие защитные ответы клетки [Ломоватская, 2014; Тарчевский, 2001]. Для разработки метода биотестирования в качестве критериев оценки были выбраны активность аденилатциклазной сигнальной системы (АСС), определяемой по уровню цАМФ, а также вес, длина надземных и подземных частей растений.

Объектами исследований являлись яровая пшеница (сорт «Тулунская-12»), редька масличная (линия ИргСХА), донник белый (сорт «Обский гигант»), ячмень яровой (сорт «Биом»).

Для выяснения роли фторида натрия в изменении ростовых параметров и уровня активности АСС органов проростков был проведен эксперимент с проростками данных культур на водных растворах NaF в концентрациях 0,1 мМ; 1 мМ; 5 мМ.

Исследования показали, что у пшеницы и у редьки масличной как ростовые показатели, так и уровень цАМФ при всех концентрациях NaF были близки к контролю. У донника при концентрации фторида натрия 5 мМ полностью ингибировалось прорастание семян. Но в наибольшей степени ингибирование длин корня и coleoptilya, а также их веса наблюдалось у ячменя, при этом активность АСС возрастала в 6 раз. Поскольку в загрязненной почве, наряду с фторидами присутствует большое количество других действующих веществ, способных изменять оцениваемые параметры, проводили эксперимент с проростками тех же культур на почвенных вытяжках. Использовали водные вытяжки из почвы с искусственно внесенным NaF, а также из почвы, загрязненной аэровыбросами ИРКАЗа.

У пшеницы и у редьки масличной уровень цАМФ, морфометрические показатели органов проростков оставались либо на уровне контроля (пшеница), либо превышали таковой (редька). Реакция АСС донника оказалась более интенсивной, наблюдалось трехкратное увеличение уровня цАМФ в корнях от контроля, что сопровождалось некоторым снижением ростовых показателей. Ячмень имел весьма низкие значения длины и веса органов проростков на фоне очень высоких показателей уровня цАМФ.

Таким образом, в данной серии экспериментов подтвердились закономерности, ранее полученные на водных растворах NaF: наиболее устойчивыми культурами оказались пшеница, редька, наименее устойчивой – ячмень.

Для сравнения полученных результатов с реакцией проростков и взрослых растений, выращенных в почве, был проведен эксперимент в условиях мелкоделяночных опытов, где присутствовали те же варианты почв, из которых получали почвенные вытяжки.

У пшеницы в системе «проростки – почва» в различных вариантах вес корней и листьев оставался на уровне контроля, однако уровень цАМФ значительно снижался. На стадии урожая вес органов во всех вариантах эксперимента был выше контроля, что сопровождалось незначительным повышением уровня цАМФ.

У растений редьки масличной на стадии проростков наблюдали весьма высокий уровень цАМФ во всех органах. При этом сохранение веса примерно на уровне контроля указывало на переход растений от стресса к успешной адаптации, что, в итоге, подтвердилось в экспериментах на взрослых растениях, где вес их корней и листьев был выше контроля, однако уровень цАМФ существенно снижался, что может быть связано с окончанием вегетационного периода у этой культуры.

У донника на стадии проростков активность АСС была близка к контролю, хотя это сопровождалось снижением веса органов. У взрослых растений уровень цАМФ возрастал в надземной части и снижался в подземной. При этом вес органов растений донника превышал незначительно контроль.

У ячменя в этих условиях во всех органах наблюдался очень высокий уровень цАМФ, что сопровождалось снижением их массы. Это указывает на весьма сильную стрессовую реакцию у проростков, где резкий подъем цАМФ выступает как сигнал тревоги. У взрослых растений происходило также значительное снижение массы растений на фоне весьма сильного ингибирования активности АСС. Это свидетельствует о развитии продолжительной стрессовой реакции, которая истощила их адаптационный потенциал и не позволила компенсировать влияние негативного фактора.

Таким образом, из проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

1. В качестве критериев устойчивости растений к растворимым фторидам в почве необходимо соотносить вес и уровень цАМФ в органах растений.

2. Для устойчивости растений к повышенным дозам  $F^-$  важна системная активация АСС и в надземной, и в подземной частях растений уже на самых ранних этапах развития, когда формируется их адаптивный потенциал.

3. Нарушение системного ответа АСС у растений свидетельствует об их низкой устойчивости к водорастворимым  $F^-$  в почве.

4. Наибольшую устойчивость к высоким концентрациям  $F^-$  проявили пшеница и редька масличная, а наименьшую – ячмень. Донник оказался толерантен к испытанным концентрациям.

#### Литература

Ломоватская Л.А., Рыкун О.В., Симакова А.А., Соколова Л.Г., Романенко А.С., Помазкина Л.В. Влияние повышенных доз фторидов в почве на активность аденилатциклазной сигнальной системы растений // Известия ИГУ. Серия «Биология. Экология», 2014. – Т. 7. – С. 11-19.

Полонский В.И., Полонская Д.Е. Фторидное загрязнение почвы и фиторемедиация // Сельскохозяйственная биология, 2013. – № 1. – С. 3-14.

Помазкина Л.В., Котова Л.Г., Лубнина Е.В., Зорина С.Ю., Лаврентьева А.С. Устойчивость агроэкосистем к загрязнению фторидами. – Иркутск, 2004. – 225 с.

Тарчевский И.А. Метаболизм растений при стрессе. – Казань, 2001. – 448 с.

## ИССЛЕДОВАНИЕ MORFOFUNKЦИОНАЛЬНЫХ РЕАКЦИЙ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР НА НАНОЧАСТИЦЫ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА

Г.В. Курляндская<sup>1,2</sup>, И.В. Бекетов<sup>3</sup>, Г.Ю. Мельников<sup>1</sup>, Т.П. Денисова<sup>4</sup>,  
Е.Н. Максимова<sup>4</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», Екатеринбург, Россия, [galinakurlyandskaya@urfu.ru](mailto:galinakurlyandskaya@urfu.ru)

<sup>2</sup>Университет Страны Басков, Лейоа, Испания, [galinakurlyandskaya@urfu.ru](mailto:galinakurlyandskaya@urfu.ru)

<sup>3</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт электрофизики УрО РАН, Екатеринбург, Россия, [beketov@iep.uran.ru](mailto:beketov@iep.uran.ru)

<sup>4</sup>Педагогический институт ФГБОУ ВО «ИГУ», Иркутск, Россия, [denis\\_tp@inbox.ru](mailto:denis_tp@inbox.ru)

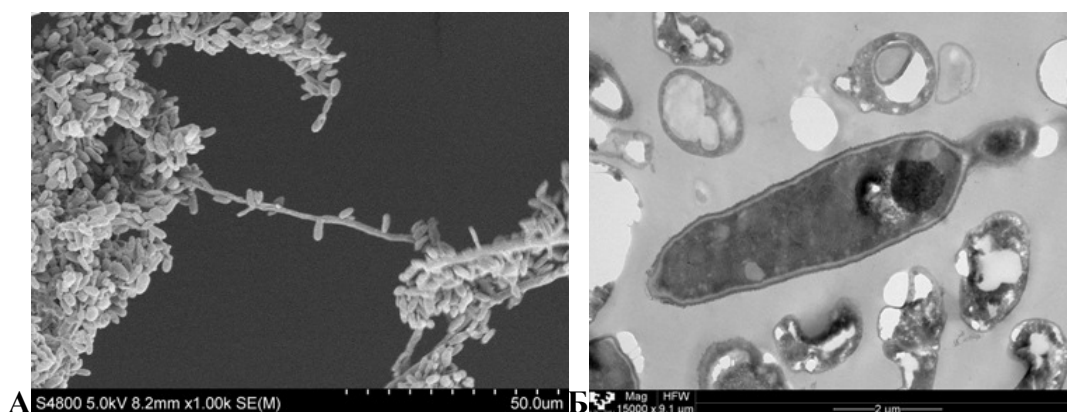
Известно, что при загрязнении водоёмов в биоценозах увеличивается количество представителей микрофлоры с тёмной пигментацией. Возможно, это следствие адаптации меланинсинтезирующих микроорганизмов к действию химических загрязнителей или за счёт большей эффективности репарирующих систем клетки или за счёт наличия ферментов, способствующих активной деструкции, трансформации и утилизации чужеродных химических соединений антропогенного происхождения. Примером таких организмов является штамм черных дрожжей *Exophiala nigrum R-11* [Павленко и др., 1982]. Дальнейшее изучение меланинсодержащих дрожжей интересно в связи с поиском штаммов – активных деструкторов ксенобиотиков. С другой стороны, интерес ученых к использованию магнитных наночастиц в биологии, медицине, фармакологии предполагает подбор удобных биообъектов. Последнее направление подразумевает изучение влияния наночастиц на живые системы различной чувствительности. Перечисленное выше определило объект исследований – штамм *E. nigrum S-1*.

Систематические исследования магнитных наночастиц (МНЧ) привели к созданию технологий получения магнитных наноматериалов такого уровня, которые могут реально использоваться в биоприложениях. Наибольший интерес представляют оксиды железа – магнетит ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) и маггемит ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ), обладающие хорошей биосовместимостью, высокой намагниченностью насыщения при комнатной температуре [Jun et al., 2008]. Биомедицинские приложения требуют более полной аттестации МНЧ различными методами, а значит увеличения исходной партии МНЧ, что обеспечивает метод лазерного испарения мишени [Safronov et al., 2013].

Установка для синтеза наночастиц методом лазерного испарения состояла из волоконного иттербиевого лазера с длиной волны 1,07 мкм, испарительной камеры и системы фильтров. Размер фокуса пучка лазера составлял 0,45 мм, рабочая частота – 2 кГц. Синтезированные МНЧ были исследованы как в виде воздушно-сухих порошков, так и в виде устойчивых водных суспензий (FF), электростатически стабилизированных цитратом натрия концентрацией 5 мМ. МНЧ были охарактеризованы структурными методами, включая рентгенофазовый анализ (РФА) и просвечивающую электронную микроскопию (ПЭМ). Стехиометрическое соотношение  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$  во всех образцах МНЧ оксида железа определяли на основании анализа межплоскостных расстояний в РФА дифрактограммах, а также с помощью окислительно-восстановительного потенциометрического титрования. МНЧ представляли собой маггемит ( $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ;  $14 \pm 2$  нм). Образцы для магнитных и резонансных исследований были приготовлены путем перемешивания лака GE 708 и МНЧ или высушенных биообразцов.

Ферромагнитный (ФМР) и электронный парамагнитный (ЭПР) резонансы [Bhagat, 1986] были измерены с использованием стандартной методики гомодинного детектирования (ELEXSYS 500 Bruker) в резонаторе с рабочей частотой 9.5 ГГц.

Особенностью дрожжей *E. nigrum* является наличие свободного радикала, детектируемого с помощью ЭПР в виде дополнительного очень узкого резонанса в полях, соответствующих  $g = 2$ , где  $g$  – гиромагнитное отношение. ЭПР сигнал свободного радикала присутствовал как в контрольной группе дрожжей, выращенной без МНЧ, так и в экспериментальной группе, выращенной с добавлением МНЧ в питательную среду в виде агар-геля. ЭПР спектры дрожжей, выращенных без добавления и с добавлением МНЧ в питательную среду, практически не отличались друг от друга, что говорит в пользу отсутствия морфофункциональных реакций на присутствие МНЧ в питательной среде. Подтверждением этого служат представленные фотографии, иллюстрирующие образование мицелия у клеток, выращенных на среде с МНЧ (рис. 1А) и процесс почкования (рис. 1Б). При этом, увеличение количества железа было зафиксировано (с 50 ppm в контрольных образцах до 120 ppm выращенных с добавлением МНЧ в питательную среду) с помощью рентгеновского флуоресцентного спектрометра на полном отражении Nanohunter (Rigaku Corporation). Дополнительный отжиг (300 °С, 15 минут) образца высушенных дрожжей мало повлиял на особенности ЭПР спектра, подтверждая хорошую функциональную термостабильность биообразца.



**Рис. 1. ТЕМ, *E. nigrum*, выращенные с добавлением МНЧ в питательную среду. А – клетки дрожжей и сформированный мицелий, Б – почкующаяся клетка.**

*Некоторые исследования выполнены с использованием оборудования SGIKER, Университета Страны Басков и КЦП Уральского федерального университета “Физика, технологии и применение наноструктурированных магнитных материалов”. Часть исследований выполнена при поддержке гранта РФФИ №16-34-50192/16.*

#### Литература

А. с. № 1071637 СССР, А, С12N15 // С02F3/34;С12R1/00. Штамм черных дрожжей *Exophialanigrum*-11, используемый для очистки сточных вод от фенолов и лигнина / В.В. Павленко, В.М. Харламов, В.И. Чемерилова, С.С. Тимофеева. - № 3507167/28-13; заявл. 02.11.82; опубл. 07.02.84, Бюл. № 5.

Jun Y.-W., Seo J.-W., Cheon J. // Acc. Chem. Res., 2008. – V. 41, N 2. – P. 179.

Safronov A.P., Beketov I.V., Komogortsev S.V., Kurlyandskaya G.V., Medvedev A.I., Murzakayev A.M., Bhagat S.M. // AIP Adv., 2013. – V. 3. – P. 052135.

Bhagat S.M. ninth ed., Metals Handbook, vol. 10, American Society of Metals, Metals Park, OH, 1986. – 267 p.



## ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОГО ВОЗРАСТА МИЦЕЛИЯ ГРИБОВ С ПОМОЩЬЮ БЕЛКОВЫХ МАРКЕРОВ

И.С. Мажейка<sup>1,2</sup>, О.В. Штаер<sup>1</sup>, О.А. Кудрявцева<sup>1</sup>, Е.В. Буданова<sup>1</sup>,  
О.В. Камзолкина<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва, Россия

<sup>2</sup>Федеральное государственное учреждение науки Институт общей генетики им. И.Н. Вавилова РАН, Москва, Россия, [mycol@yandex.ru](mailto:mycol@yandex.ru)

Важное методическое направление современной геронтологии – экспериментальная оценка биологического возраста клеток. Такую оценку проводят с помощью маркеров старения и оксидативного стресса. Маркеры старения различны – от морфо-физиологических изменений клетки и ее органелл до различных биохимических и молекулярных модификаций и нарушений [Sohal, Brunk, 1989; Koll et al., 2001; Rujano et al., 2006]. Анализ биологического возраста клеток проводят, используя совокупность маркеров, и чаще всего такой анализ носит сравнительный характер, например исследователь оценивает клеточное состояние до и после определенного воздействия.

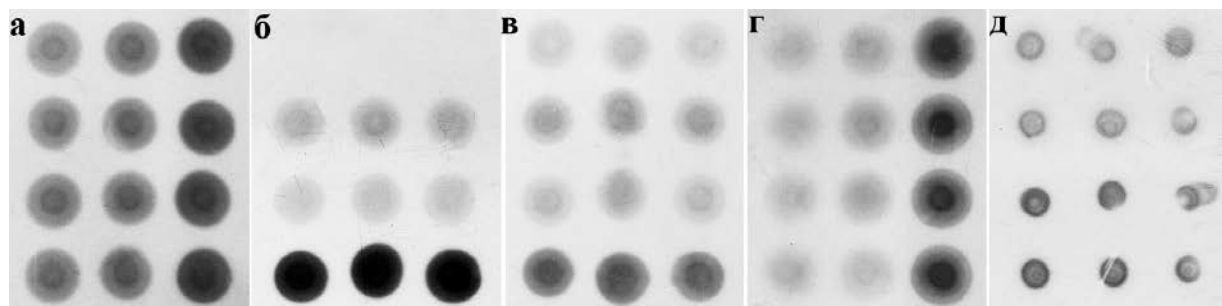
Предположительно колонии мицелиальных грибов способны достаточно быстро стареть и омолаживаться в зависимости от условий и потребностей. Такая стратегия делает грибы перспективным объектом для исследований механизмов старения и омоложения, а значит, необходима разработка эффективных методов геронтологического изучения грибов [Мажейка и др., 2011].

Нами на основе метода, предложенного для количественной и полуколичественной оценок степени карбонилирования белков в тканях животных [Wehr, Levine, 2013], отработана система полуколичественного анализа белковых маркеров старения у мицелиальных грибов. В настоящее время система оптимизирована для выявления таких оксидативных белковых модификаций как карбонилирование и AGE (специфическое гликозилирование), но, в принципе, метод может работать с любыми другими модификациями аминокислотных остатков, к которым можно получить антитела (нитротирозин, карбоксиметиллизин и т.д.).

Метод представляет собой иммуодотинг с использованием PVDF-мембран, лизат клеток мицелия получают гомогенизацией в растворе на основе диметилсульфоксида. Для анализа белкового карбонилирования проводят реакцию образцов с динитрофенолгидразином (для связывания карбонильных групп в аминокислотных остатках с динитрофенольной группой (ДНФ)), а для AGE-протокола сразу наносят разведения образцов на сухую PVDF-мембрану и переходят к непрямому иммунному мечению. После реакции с вторичными антителами, конъюгированными с пероксидазой хрена, сигнал выявляют хемилюминисцентно с помощью ECL-реактивов. Метод обладает высокой чувствительностью (в случае, например, с ДНФ-сигналом при значительном карбонилировании белков хорошо различим сигнал в дотах, содержащих меньше 0,1-0,5 нг белков) и экономичностью. Метод (ДНФ-протокол) нами валидирован – использованы все возможные варианты отрицательных контролей, результат указывает на специфичность сигнала.

С помощью нашего метода мы установили ряд важных особенностей в изменении биологического возраста грибных колоний. Так, оказалось, что грибы (показано нами для *Cordiceps militaris* и *Stereum hirsutum*) очень быстро реагируют на достижение

колонией стационарной фазы роста. Так, на рис. «а» видно, что как только в чашке Петри с агаризированной средой не остается «свободного» места (мицелий достигает края чашки) и начинается вторичный рост, у *S. hirsutum* ДНФ-сигнал резко возрастает.



**Рисунок.** Иммунодотинговые рентгенограммы, выявляющие степень карбонилирования белков в грибном мицелии. а-г – *S. hirsutum*; д – *P. anserina*. В каждом доте 4 нг белков, сравнение сигналов из разных рентгенограмм не точно из-за разной экспозиции. Пояснения в тексте тезисов. а – столбцы слева направо – 5-ти, 6-ти и 8-ми сут. колонии (стационарная фаза – с 7-ми сут.); б – нижний ряд – 34 сут. мицелий, следующий – 6-ти сут.; в – верхний ряд – 6-ти сут. мицелий, пересеянный из 7-ми сут. колонии, второй ряд – тот же образец, обработанный  $H_2O_2$ , третий ряд – 6-ти сут. мицелий, пересеянный из 56-ти сут. колонии, нижний ряд – 13 сут. мицелий; г – столбцы слева направо – 5-ти месячная культура, хранимая при 4 °С, 7-ми сут. культура; 5-ти месячная культура, хранимая при 25 °С; д – верхний ряд – 4-х сут. культура, третий сверху – 27-ми сут., остальные – те же образцы, обработанные  $H_2O_2$ .

Дальнейшее культивирование в тепле (набор биомассы воздушного мицелия за счет вторичного роста) сопровождается усилением ДНФ-сигнала (рис. б). Важно, при пересеве старого мицелия в чашку со свежей средой, нарастающий молодой мицелий освобождается от карбонилированных белков (рис. в). Также мы показали, что условия хранения культуры сильно влияют на биологический возраст мицелия. Так, почти полугодовое хранение культур при комнатной температуре и, параллельно, при 4 °С приводит к мощной дифференцировке сигнала. «Холодная» культура демонстрирует ДНФ-сигнал близкий к тому, который давал мицелий до закладки на хранение. «Теплая» культура сильно стареет (по карбонильному маркеру) (рис. г). Еще один важный результат – грибы достаточно эффективно противодействуют внешним оксидативным агентам. Так, обработка перекисью водорода или паракватом молодого мицелия *S. militaris* и *S. hirsutum* вызывает денситометрическое усиление ДНФ-сигнала только примерно в 1,5-2 раза (а долгое хранение – на порядок) (рис. в). А такой гриб, как *Podospora anserina* совсем не реагирует на действие оксидативных агентов (рис., д).

Полученные результаты указывают на то, что мицелиальные грибы, действительно, легко изменяют биологический возраст своих колоний – допуская его повышение при определенных условиях, но и быстрое понижение по возможности или необходимости. Мощное противодействие грибов внешним оксидативным агентам указывает на широкие возможности их защитных клеточных систем, что и позволяет грибам регулировать (до определенной степени) свой биологический возраст. Наш метод может быть использован для контроля над правильным депонированием коллекционных культур грибов.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ № 16-04-00814 и 14-04-00864.

#### Литература

Мажейка И.С., Кудрявцева О.А., Камзолкина О.В. Контроль продолжительности жизни у грибов и других организмов. Концепция весов // Журнал общей биологии, 2011. – Т. 72. – С. 243-268.

Koll F., Sidoti C., Rincheval V., Lecellier G. Mitochondrial membrane potential and ageing in *Podospora anserina* // Mech Ageing Dev, 2001. – V. 122. – P. 205-17.

Rujano M.A., Bosveld F., Salomons F.A., et al. Polarised asymmetric inheritance of accumulated protein damage in higher eukaryotes // PLoS Biol, 2006. – V. 4. – P. 2325-35.

Sohal R.S., Brunk U.T. Lipofuscin as an indicator of oxidative stress and aging // Adv. Exp. Med. Biol., 1989. – V. 266. – P. 17-29.

Wehr N.B., Levine R.L. Quantification of protein carbonylation // Cell Senescence: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, 2013. – V. 965. – P. 265-281.

## ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ ХОЛОДОСТОЙКИХ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ К ГИПОТЕРМИИ

Н.А. Нарайкина, А.Н. Дерябин, Т.И. Трунова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия, [trunova@ippras.ru](mailto:trunova@ippras.ru)

Одним из важнейших процессов в жизни растений является их адаптация к меняющимся условиям окружающей среды, в том числе и к низкой температуре [Трунова, 2007]. В неадаптированном (вегетирующем) состоянии устойчивость растений к действию низких температур невелика. Даже морозостойкие виды растений летом погибают при небольших заморозках. В процессе закаливания устойчивость морозостойких растений существенно повышается, вплоть до температуры сжиженных газов. В отличие от морозостойких растений, исследования процессов закаливания холодостойких растений не было столь систематичным, поэтому возможность их закаливания до сих пор недостаточно изучена. Одной из причин меньшего числа исследований группы холодостойких растений является сложность в диагностике их устойчивости к низкой температуре. Представители этой группы растений при действии низких положительных температур не только не погибают, но даже не повреждаются. Однако при снижении температуры до отрицательных значений в клетках холодостойких растений происходит внутриклеточное льдообразование, что всегда сопровождается летальным исходом (у этих растений отсутствует механизм образования льда в межклетниках). Поэтому, приступая к изучению процессов адаптации холодостойких растений к гипотермии необходимо было, прежде всего, разработать способ объективной оценки их устойчивости и проследить за ее изменениями в процессе длительного действия закаливающей температуры.

Растения картофеля (*Solanum tuberosum* L.) среднераннего сорта Десница (селекция Брянской опытной станции), выращенные на свету в перлите при температуре 22 °С, закаливали в течение 6 сут при температуре 5 °С. Согласно нашим предыдущим работам [Нарайкина и др., 2014], температура 5 °С является действительно закаливающей и не вызывает повреждений. Однако оставался не выясненным вопрос, происходили ли при этом изменения в устойчивости растений к гипотермии. Чтобы выявить эффект закаливания на устойчивость растений картофеля, нами был применен метод последующего выдерживания интактных растений при более жестких температурных режимах (минус 5 °С и –7 °С), но при краткосрочном их воздействии (20, 30, 40 и 60 мин). На основании проведенных нами опытов был подобран такой режим, который не вызывал замерзания и гибели растений, но приводил к повреждениям, уровень которых затем оценивали по степени выхода электролитов из клеток. Мы исходили из того, что одной из основных причин повреждения растений при действии неблагоприятных факторов среды, в том числе и гипотермии, является нарушение структуры клеточных мембран, вследствие чего происходит повышение их проницаемости, легко регистрируемое по резкому увеличению скорости выхода электролитов из тканей растений. Чем выше холодоустойчивость, тем меньше нарушаются структура и функции мембран при действии гипотермии, вследствие чего уменьшается выход электролитов из клеток во внешнюю среду. Электропроводность выражали в  $\text{Ом}^{-1}\text{см}^{-1}\cdot 10^{-4}$ , используя значения для вычисления индекса тканевого повреждения по формуле:  $I = \frac{100(L_t - L_0)}{L_k - L_0}$ , где

$I$  – индекс повреждения ткани, %,  $L$  – электропроводность образца до воздействия

холода ( $L_0$ ) и после ( $L_t$ ),  $L_k$  – электропроводность после кипячения. За значение холодостойкости ( $H$ ) принимали величину, комплиментарную индексу повреждения ( $H = 100 - D$ ), которую также выражали в %.

Регистрируемые по выходу электролитов достоверные различия в устойчивости закаленных и незакаленных растений были получены при воздействии температуры минус 7 °С в течение 20 мин. Поэтому такой тестирующий режим промораживания и был использован в наших дальнейших экспериментах. До (при 22 °С) и после 1, 2, 4 и 6 суток закаливания картофеля при 5 °С последовательно отбирали часть растений и переносили в камеру с температурой минус 7 °С на 20 минут, после чего определяли степень повреждения тканей по выходу электролитов из клеток.

Показано, что при промораживании незакаленных растений при температуре минус 7 °С оставалось в живых не более 10%. В вариантах с суточными и двухсуточным закаливанием холодостойкость растений повышалась незначительно (не более 15% выживших растений). После четырех дневного закаливания устойчивость растений возросла и составила 30%, а после 6-ти суток – 50-60% выживших растений. Полученные методом краткосрочного тестирующего промораживания данные показали достоверные различия в устойчивости незакаленных и закаленных растений картофеля, при этом выявили динамику процесса адаптации, завершающегося к концу недельного воздействия низкой закаливающей (5 °С) температурой. Таким образом, этот способ можно рекомендовать для оценки относительной устойчивости холодостойких растений к гипотермии.

#### Литература

Трунова Т.И. Растение и низкотемпературный стресс (64-е Тимирязевские чтения). – М.: Наука, 2007. – 54 с.

Нарайкина Н.В., Синькевич М.С., Дёмин И.Н., Селиванов А.А., Мошков И.Е., Трунова Т.И. Изменения активности изоформ супероксиддисмутазы у растений картофеля дикого типа и трансформированных геном  $\Delta 12$ -ацил-липидной десатуразы при низкотемпературной адаптации // Физиология растений, 2014. – Т. 61, № 3. – С. 359-366.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТЕСТ-СИСТЕМ *IN VITRO* ДЛЯ ОЦЕНКИ АЛЮМОУСТОЙЧИВОСТИ ЯЧМЕНЯ

О.Н. Шуплецова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Зональный научно-исследовательский институт сельского хозяйства Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого», Киров, Россия, [olga.shuplecova@mail.ru](mailto:olga.shuplecova@mail.ru)

Сохраняется актуальность создания сельскохозяйственных растений, способных противостоять стрессовым эдафическим факторам, в частности, ионной токсичности алюминия. Использование адекватной системы тестирования стрессоустойчивости корректирует селекционный процесс и является необходимым этапом в технологии создания устойчивых генотипов. В настоящее время существует возможность получения информации об устойчивости растений путем биотестирования *in vitro* при использовании изолированных органов и тканей на селективных средах [Baier et al., 1995; Hall, 2002]. Высокая чувствительность к токсикантам культур *in vitro* делает их перспективными тест-системами для проведения ранней диагностики стрессоустойчивости генотипов в селекционной работе. Однако устойчивость растительного организма *in vitro* и в полевых условиях может обеспечиваться разными механизмами. Поэтому для корректировки селекционного процесса по результатам лабораторного тестирования целесообразно предварительно выявить надежность связи между устойчивостью форм *in vivo* и *in vitro*.

Целью нашей работы являлось изучение возможности использования дифференцирующих тест-систем *in vitro* в оценке устойчивости генотипов ячменя к ионной токсичности алюминия.

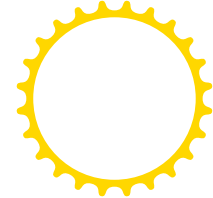
Оценивали алюмоустойчивость пяти сортов ячменя, различающиеся по степени снижения продуктивности на кислой почве. В качестве дифференцирующих систем использовали культуры *in vitro* на плотных селективных средах. Диагностическими показателями (критериями оценки) при идентификации устойчивости генотипов к ионной токсичности были выбраны (согласно проведенным ранее исследованиям) наиболее значимые показатели развития изучаемых культур, генотипически чувствительные к стрессовому фактору. Таким образом, тестирование генотипов ячменя проводили в следующих дифференцирующих системах:

- каллусная культура; стрессовый фактор 40 мг/л  $Al^{3+}$  при pH 4,0; оценивали выживаемость и частоту регенерации;

- культура проростков; стрессовый фактор 15 мг/л  $Al^{3+}$  при pH 4,2; оценивали наличие характерных деформаций корневой системы (количество и длину зародышевых корней, образование корней второго порядка, пространственную ориентацию в толще агарового слоя), интенсивность которых изменялась в соответствии с уровнем устойчивости генотипа [Шуплецова, Широких, 2014];

- эмбриокультура; стрессовый фактор 12 мг/л 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д); оценивали соотношение побегообразования/каллусогенез и частоту регенерации. Использование данной тест-системы основано на модифицированном методе, где показателем толерантности генотипов считают способность клеточных систем функционировать на аномальной среде с высоким количеством 2,4-Д без существенных необратимых нарушений: сохранение способности зрелого (дифференцированного) зародыша к прорастанию или образовавшейся каллусной ткани к регенерации на каллусогенной среде, подавляющей эту способность [Россеев, 2009].

Для изучения достоверности результатов тестирования была изучена сопоставимость оценки в изучаемых тест-системах *in vitro* и в вегетационном опыте в



условиях почвы (стрессовый фактор – 12,78 мг Al /100 г почвы при pH 3,8-4,1), как наиболее естественных условиях роста растений. Показатель продуктивности растения (массы зерна с 1 растения) в почве приняли за критерий сравнения, относительно которого оценивали корреляцию с результатами оценки в условиях *in vitro*.

Наши исследования выявили положительную связь с высокой степенью достоверности ( $r = 0,890 - 0,952$ ) между результатами тестирования алюмоустойчивости растений ячменя в условиях *in vivo* и отдельными показателями стрессоустойчивости в изучаемых тест-системах *in vitro* – частотой регенерации в эмбриокультуре, выживаемостью в каллусной культуре, интенсивностью деформаций корневой системы в культуре проростков (таблица).

**Таблица**

**Корреляция между показателем массы зерна с растения (г) в вегетационном опыте и данными оценки в различных дифференцирующих системах *in vitro***

Критерии оценки устойчивости	Коэффициент корреляции, r
Эмбриокультура на среде	
Побегообразование / каллусогенез	0,364
Частота регенерации	0,890
Каллусная культура	
Выживаемость	0,916
Частота регенерации	0,032
Культура проростков	
Наличие характерных деформаций корневой системы	0,952

Следует отметить, что тестирование в условиях *in vitro* при выбранных критериях оценки обеспечило большую достоверность по сравнению с широко применяемым тестированием сортов в водной культуре, где корреляция с тестированием в почве не превышала  $r = 0,850$ . Выявлена практически полная сходимость ранжирования набора сортов ячменя по массе зерна с одного растения в почве и в культуре проростков ( $r = 0,952$ ). Различия в уровне корреляции, а, следовательно, и достоверности оценки, обусловлены, по-видимому, включением разных механизмов при формировании стрессоустойчивости целого растения или изолированной ткани.

Таким образом, наши исследования позволяют рекомендовать каждую из исследованных культур к использованию в качестве дифференцирующих тест-систем алюмоустойчивости генотипов ячменя. Высокая чувствительность органов и тканей культур *in vitro* обеспечивают условия для оценки устойчивости растений к широкому спектру стрессовых факторов, даже с невысокой степенью токсичности.

#### Литература

Росеев В.М. Тестирование *in vitro* разных форм ячменя на устойчивость к неблагоприятным абиотическим факторам среды // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции ГНЦ РФ ВИР, Т. 165. – СПб, 2009. – С. 158-161.

Шуплецова О.Н., Широких И.Г. Тестирование ячменя на устойчивость к токсичности алюминия с использованием биоморфологических показателей // Материалы Всеросс. науч. конф. с междунар. участием (к 50-летию Кировского отделения Русского ботанического общества) 28-31 мая 2014: «Фундаментальная и прикладная биоморфология в ботанических и экологических исследованиях. – Киров: ООО «Пресс», 2014. – С. 315-319.

Baier A.C., Somers D.J., Gustafson J.P. Aluminium tolerance in wheat: correlating hydroponic evaluations with field and soil performances // Plant Breeding, 1995. – V. 114. – P. 291-296.

Hall J.L. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance // Journal of Experimental Botany, 2002. – V. 53, N 366. – P. 1-11.

## АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

### А

Абдрахимов Ф.А. – 168  
Абдуллаев А. – 50, 153  
Абдуллаев Х.А. – 58, 79  
Абильфазова Ю.С. – 40  
Акимова Г.П. – 224  
Алиева З.М. – 42  
Аль-Хаффаф И.И. – 168  
Анганова Е.В. – 131  
Андропова М.М. – 44  
Анисимов А.В. – 168  
Антал Т.К. – 46  
Аралов А.В. – 38  
Арсентьев К.Ю. – 75  
Артекина Н.А. – 48  
Артемова М.М. – 89  
Атоев М.Х. – 50, 155  
Афанасьева Л.В. – 212

### Б

Бабак О.Г. – 25  
Бажин А.С. – 214  
Байрамова Э.М. – 236  
Батова Ю.В. – 54, 208  
Баркина М.Ю. – 52  
Бекетов И.В. – 264  
Беловежец Л.А. – 230  
Белоголова Г.А. – 131, 194, 224  
Белоус О.Г. – 129  
Бельков В.И. – 115  
Бердичевец И.Н. – 25  
Бернер А. – 244, 248  
Берсимбаев Р.И. – 14  
Богданова Е.С. – 135  
Борисов А.В. – 89  
Борисова Г.Г. – 216  
Боровик О.А. – 56, 73, 117  
Боровский Г.Б. – 16, 71, 111, 115, 172, 175, 187  
Бохирова М.К. – 58, 79  
Бояркина С.В. – 60  
Бубякина В.В. – 170  
Буданова Е.В. – 266  
Бырса М.Н. – 62

### В

Вавилин В.А. – 20  
Валиулина А.Ф. – 64  
Варакина Н.Н. – 175  
Васильева Г.Г. – 127  
Васильева И.В. – 170  
Васильчук А.В. – 62  
Веланский П.В. – 52

Верхозина В.А. – 198  
Верхозина Е.В. – 196, 198  
Верхотуров В.В. – 244, 248  
Войников В.К. – 19, 56, 73, 111, 117, 172, 175, 236, 246

Волгушева А.А. – 200

Волкова О.Д. – 60  
Воробьева Н.С. – 52  
Воронин П.Ю. – 123

### Г

Гаевский Н.А. – 105  
Газизова А.В. – 75  
Гайратов М.Х. – 81  
Гамбург К.З. – 87, 238  
Гетте И.Г. – 258  
Гиясидинов Б.Б. – 79  
Глянько А.К. – 66, 97  
Голованова Т.И. – 64  
Головко Т.К. – 159, 202  
Гончарова А.М. – 69  
Гончарук Е.А. – 99  
Гордеева О.Н. – 194  
Горностай Т.Г. – 71, 117  
Грабельных О.И. – 56, 73, 117, 187  
Граскова И.А. – 75, 131  
Гулов М.К. – 83  
Гурина В.В. – 77

### Д

Давлятназарова З.Б. – 83  
Давыдова Л.А. – 52  
Дадобоева М.Л. – 79  
Далькэ И.В. – 202  
Денисова Т.П. – 204, 264  
Дерябин А.Н. – 269  
Джумаев Б.Б. – 81, 83  
Дикарева Н.В. – 125  
Днепровский И.А. – 206  
Долудин Ю.В. – 38  
Дорофеев Н.В. – 117  
Древко Я.Б. – 181  
Дрозденко Т.В. – 200  
Дударева Л.В. – 85, 117, 137, 166, 189  
Духанина А.В. – 131  
Дымова О.В. – 159, 202

### Е

Еникеев А.Г. – 60, 87, 139

### Ж

Живетьев М.А. – 75, 131



### **З**

Загоскина Н.В. – 99  
Залепкина С.А. – 89  
Захаров Ю.Б. – 71  
Захожий И.Г. – 202  
Золотовская Е.Д. – 236  
Зорина С.Ю. – 222

### **И**

Иванова М.В. – 91  
Изосимова А.В. – 94  
Икконен Е.Н. – 95  
Истомина Е.А. – 242  
Ищенко А.А. – 66, 97

### **К**

Казанцева В.В. – 99  
Казнина Н.М. – 54, 208  
Калугина О.В. – 212  
Камзолкина О.В. – 101, 266  
Камолов Н. – 157  
Караваева А.В. – 133  
Карпец Ю.В. – 103  
Карпова А.Б. – 149  
Киселева Г.К. – 133  
Киселева И.С. – 232  
Киселица М.А. – 101  
Китаева Т.Ю. – 105  
Клименков И.В. – 75  
Клыков В.Н. – 25  
Клюев Д.А. – 107  
Кобилев Ю.Т. – 153  
Кокорина Л.А. – 109  
Колупаев Ю.Е. – 103  
Кондакова М.А. – 111, 172  
Коновалов А.Д. – 240, 250  
Кононова Н.А. – 113  
Константинов Ю.М. – 30, 189, 260  
Копытина Т.В. – 139  
Королева Н.А. – 56, 73  
Коростылева Т.В. – 242  
Кортаева Н.Е. – 16, 115  
Корсукова А.В. – 117  
Корчагов С.А. – 44  
Косов И.В. – 258  
Костецкий Э.Я. – 52  
Косумбекова Ф.А. – 157  
Котеева Н.К. – 91  
Кочерыгина Е.В. – 131  
Кравченко А.П. – 14  
Крутовский К.В. – 32  
Кудрявцева О.А. – 101, 266  
Кузакова О.В. – 69, 222, 262  
Курляндская Г.В. – 264  
Кутлунина Н.А. – 252  
Кушунина М.А. – 119

### **Л**

Лайдинен Г.Ф. – 54, 208  
Лежнин П.С. – 232  
Ли И – 177  
Ловягина Е.Р. – 121  
Логинова А.Д. – 232  
Ломоватская Л.А. – 33, 69, 222, 262  
Луценко Г.Н. – 260  
Любушкина И.В. – 73, 177  
Ляхович В.В. – 20

### **М**

Мадаминов А. – 81  
Маевская С.Н. – 123  
Мажейка И.С. – 101, 266  
Макаренко С.П. – 189  
Макаров И.О. – 125  
Макарова Л.Е. – 69, 127  
Макиева М.С. – 131  
Максимова Е.Н. – 204, 220, 264  
Максимова Л.А. – 139  
Мальшев Р.В. – 202  
Мальчевский В.А. – 214  
Маляровская В.И. – 129  
Маркин А.В. – 181  
Маркова Ю.А. – 131, 230  
Матюшевская Е.В. – 210  
Мацулевич Ж.В. – 89  
Мейчик Н.Р. – 119  
Мельников Г.Ю. – 204, 264  
Михайлова Т.А. – 212  
Мориц А.С. – 127  
Мукумов Ё.Б. – 179

### **Н**

Назар А. – 81  
Нарайкина Н.А. – 269  
Нарушко М.В. – 214  
Нестеров В.Н. – 135  
Нестёркина И.С. – 77, 141  
Ненько Н.И. – 133  
Нигмонов М. – 83  
Николаева М.К. – 123  
Николаева Ю.И. – 119  
Николаенко Е.А. – 164  
Нимаева О.Д. – 149  
Ниязмухамедова М.Б. – 58, 157  
Нохсоров В.В. – 137  
Нурминская Ю.В. – 139  
Нурминский В.Н. – 77, 141

### **О**

Одинцова Т.И. – 242  
Озолина Н.В. – 77, 141  
Оленников Д.Н. – 71  
Омеличкина Ю.В. – 60  
Осипова С.В. – 244, 248

## П

Павличенко В.В. – 236, 240, 246, 250  
Панкратов А.Н. – 181  
Панов А.В. – 20, 34  
Пастухов М.В. – 194  
Пахарькова Н.В. – 258  
Пензина Т.А. – 71  
Перк А.А. – 145, 170  
Пермяков А.В. – 244, 248  
Пермякова М.Д. – 244, 248  
Перфильева А.И. – 75, 143, 181  
Петров К.А. – 145  
Петров С.А. – 214  
Пириев И.Т. – 147  
Побежимова Т.П. – 56, 73, 117  
Подойникова П.А. – 64  
Подсосонный В.А. – 260  
Поморцева К.А. – 216  
Пономарев А.Г. – 170  
Прадедова Е.В. – 139, 149  
Протопопова М.В. – 236, 240, 246, 250  
Прудникова О.Н. – 151  
Пшеничникова Т.А. – 244, 248  
Пыстина Т.Н. – 202  
Пятрикас Д.В. – 175

## Р

Ракитин В.Ю. – 151  
Ракитина Т.Я. – 151  
Рахимов М.М. – 157  
Репкина Н.С. – 218  
Рихванов Е.Г. – 143, 164, 175, 177  
Розенцвет О.А. – 135  
Робонен Е.В. – 183  
Романенко А.С. – 69  
Рудиковская Е.Г. – 85, 166, 244, 248  
Рудиковский А.В. – 166, 244, 248  
Русалева Т.М. – 175  
Рустамов А.Р. – 153  
Рыфф И.И. – 163

## С

Савельев В.Ю. – 174  
Савилов Е.Д. – 131  
Сайдаминов Х.Х. – 155  
Салаева Х.Л. – 147  
Салаяев Р.К. – 149  
Самарцев И.В. – 125  
Самедова А.Дж. – 147  
Санина Н.М. – 52  
Сатторов Б.Н. – 157  
Сафаров Ё.Х. – 81  
Сёмин Б.К. – 121  
Сидоров А.В. – 172  
Симакова А.А. – 222, 262

Симонова Е.В. – 109, 220  
Ситников И.А. – 232  
Скрипальщикова Л.Н. – 228  
Славохотова А.А. – 242  
Слезина М.П. – 242  
Словохотов И.Ю. – 25, 37  
Смирнов В.Ф. – 89, 107, 125  
Смирнова Н.А. – 52  
Смирнова О.Н. – 89  
Соколова Л.Г. – 222, 262  
Соколова М.Г. – 131, 194, 224  
Соколова Н.А. – 117, 189  
Солиева Б.А. – 79  
Соловьёва Е.С. – 226  
Софронова В.Е. – 46, 159  
Спивак С.Г. – 25, 37  
Стаматиди В.Ю. – 161, 163  
Стасова В.В. – 228  
Степанов А.В. – 35, 131, 164, 175  
Столбикова А.В. – 166, 189  
Стручкова И.В. – 94, 174  
Суворова Г.Г. – 91  
Суслов М.А. – 168  
Сухов Б.Г. – 75  
Сыромятина Е.В. – 125

## Т

Табаленкова Г.Н. – 202  
Таланова В.В. – 218  
Тарасенко В.И. – 115  
Татарина Т.Д. – 170  
Ташпулатов Й.Ш. – 179  
Тептина А.Ю. – 232  
Титов А.Ф. – 54, 95, 185, 208  
Третьякова И.Н. – 189  
Третьякова М.С. – 230  
Трофимов Б.А. – 75  
Трунова Т.И. – 269  
Турская А.Л. – 131

## У

Уколова И.В. – 16, 111, 172  
Уланова Т.С. – 174  
Ульяновская Е.В. – 133

## Ф

Федосеева И.В. – 73, 164, 175  
Федяева А.В. – 175, 177

## Х

Хайдаров Х.К. – 179  
Хакимова Р.Ш. – 79  
Халилуев М.Р. – 25  
Хамроева Х.М. – 83

## Ц

Цивилева О.М. – 181

Цымбал О.А. – 181

## Ч

Чепалов В.А. – 137, 145

Чепинога В.В. – 240, 250

Чернобровкина Н.П. – 183

Чукина Н.В. – 232

## Ш

Шаихова Д.Р. – 232

Шарнина Т.Ф. – 232

Шафикова Т.Н. – 60

Шелякин М.А. – 202

Шематорова Е.К. – 25, 37, 38

Шергина О.В. – 212

Шерудило Е.Г. – 95, 185

Шибаета Е.А. – 107

Шибаета Т.Г. – 95, 185

Шигарова А.М. – 187

Ширвани Т.С. – 147

Широких И.Г. – 226

Шишпаренок А.А. – 166, 248

Шмаков В.Н. – 189, 260

Шпаковский Г.В. – 25, 37, 38

Шпаковский Д.Г. – 25, 38

Штаер О.В. – 101, 266

Шуплецова О.Н. – 271

## Э

Эргашев А. – 50, 153

## Ю

Юнусова Д.Р. – 252

Юнусова Ш.Ш. – 79

## Я

Ястреб Т.О. – 103

## LIST OF AUTHORS

### A – V

Adelshin R.V. – 191

Axenov-Gribanov D.V. – 191

Dmitriev A.P. – 27

Dyachenko A.I. – 27

Gornostay T.G. – 191

Grodzinsky D.M. – 27

Gushcha N.I. – 27

Krutovsky K.V. – 254

Penzina T.A. – 191

Protasov E.S. – 191

Radin A.I. – 254

Razdaivodin A.N. – 254

Romashkin D.Y. – 254

Romashkina I.V. – 254

Timofeyev M.A. – 191

Voytsekhovskaya I.V. – 191

---

*Научное издание*

## **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.)**

Техническая редакция и оригинал макет *О.И. Грабельных, Л.Е. Макарова*  
Дизайн обложки *А.А. Ищенко, И.А. Антонов, Е.Ю. Константинова*

Подписано в печать 10.08.2016 г.

Формат 60x90/8. Гарнитура Times New Roman. Бумага Ballet.

Уч.-изд. л. 28,2. Усл. печ. л. 31,9. Тираж 300 экз. Заказ 735.

Издательство Института географии им. В.Б. Сочавы СО РАН  
664033, Иркутск, ул. Улан-Баторская, 1