



Министерство сельского хозяйства Российской Федерации
Федеральное агентство научных организаций
Федеральное агентство по рыболовству
Российская академия наук
ФГБОУ ВПО «Калининградский государственный технический университет»
ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН
Общество физиологов растений России



Годичное собрание Общества физиологов растений России
Международная научная конференция и школа молодых ученых

**«ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ - ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ОСНОВА
ИННОВАЦИОННЫХ АГРО- И ФИТОБИОТЕХНОЛОГИЙ»**



Annual meeting of Russian Society of Plant Physiologists
International scientific conference and School for young scientists

**«PLANT PHYSIOLOGY AS A THEORETICAL BASIS FOR
INNOVATIVE AGRICULTURE AND PHYTOBIOTECHNOLOGIES»**

Калининград
2014

Министерство сельского хозяйства Российской Федерации
Федеральное агентство научных организаций
Федеральное агентство по рыболовству
Российская академия наук
ФГБОУ ВПО «Калининградский государственный технический университет»
ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН
Общество физиологов растений России

Годичное собрание Общества физиологов растений России

**Физиология растений – теоретическая
основа инновационных агро- и
фитобиотехнологий**

**Международная научная конференция
и школа молодых ученых**

**Материалы
Часть II**



Annual meeting of Russian Society of Plant Physiologists
**Plant Physiology as a Theoretical Basis
for Innovative Agriculture and
Phytobiotechnologies**

**International scientific conference
and School for young scientists**

**Proceedings
Volume II**

**Калининград - Kaliningrad
2014**

Международная научная конференция и школа молодых ученых «Физиология растений – теоретическая основа инновационных агро- и фитобиотехнологий» (Россия, Калининград, 2014): материалы: в 2-х ч. / под ред. Е.С. Роньжиной. – Калининград: Аксиос, 2014. – Ч. II. - 566 с.

International scientific conference and School for young scientists «Plant Physiology as a Theoretical Basis for Innovative Agriculture and Phytobiotechnologies» (Russia, Kaliningrad, 2014): Proceedings: in 2 vol. / ed. E.S. Ron'zhina. – Kaliningrad: Axios, 2014. – Vol. II. - 566 p.

В материалах Международной научной конференции «Физиология растений – теоретическая основа инновационных агро- и фитобиотехнологий» обсуждаются новые данные по молекулярно-физиологическим основам роста, развития и продуктивности на разных уровнях организации растительного организма, экологической физиологии растений; важное место в научной программе отведено вопросам, связанным с развитием агро- и фитобиотехнологий, научно-обоснованными подходами к повышению количества и улучшению качества урожая, современными и технологиями переработки продукции растениеводства. Часть II посвящена экологической физиологии растений. В ней рассмотрены физиолого-биохимические основы устойчивости и адаптации растений и их сообществ к действию неблагоприятных факторов окружающей среды, в том числе к техногенному загрязнению.

Сборник материалов конференции предназначен для научных работников, преподавателей, студентов и аспирантов высших учебных заведений биологического и сельскохозяйственного профилей.

Ил. 124, табл. 94, список литературы – 1038 наименования
Fig. 124, tab. 94, ref. 1038.

Ответственный редактор - РОНЬЖИНА Елена Степановна
Edited by RON'ZHINA Elena S.

Издано при финансовой поддержке РФФИ, проект № 14-04-06045.

УДК 581.1(082)+63(082)
ББК 28.571я43+41я43
ISBN 978-5-9172-6074-7 (для всего выпуска)
ISBN 978-5-9172-6076-1 (II том)

© Коллектив авторов, 2014 г.

© Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Калининградский государственный технический университет», 2014 г.

СОДЕРЖАНИЕ

Раздел 3. ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ	
Chapter 3. ECOLOGICAL PLANT PHYSIOLOGY 14
Абдрасулова Ж.Т. Биологические особенности <i>Alternaria tenuis</i> на семенах культурных злаков 15
Абдрахимова Й.Р., Абдрахимов Ф.А., Андреев И.М., Шугаев А.Г. Детектирование образования АФК в митохондриях проростков пшеницы <i>in organello</i> и <i>in vivo</i> : эффекты холодовой акклимации 18
Авальбаев А.М., Аллагулова Ч.Р., Масленникова Д.Р., Шакирова Ф.М. Сравнительный анализ влияния метилжасмоната и 6-бензиламинопурина на содержание дегидринов и пролина в проростках пшеницы в условиях засоления 21
Авксентьева О.А., Жмурко В.В. Гены контроля темпов развития растений как факторы формирования засухоустойчивости 24
Авраменко Т.В., Бурундукова О.Л., Маханьков В.В., Булгаков Д.В., Шкрыль Ю.Н., Веремейчик Г.Н., Музарок Т.И. Активность антиоксидантных ферментов и биосинтез гинзенозидов в листьях культивируемого приморского и корейского женьшеня (<i>Panax ginseng</i> s.a. Meyer) 27
Азизов И.В., Шамилов Э.Н., Абдуллаев А.С., Нагиев Д.А., Рзаев А.А., Самедов П.А. Перспективы фиторемедиации нефтезагрязненных почв Абшера 30
Алыбаева Р.А., Кенжебаева С.С., Атабаева С.Д. Устойчивость генотипов озимой пшеницы к тяжелым металлам 33
Андреева А.А., Ноговицын П.А., Кучарова Е.В., Слепцов Н.В., Харитонов Т.Д., Алексеева С.И., Охлопкова Ж.М., Зулфугаров И.С. Изменение флуоресцентной активности <i>Dracosephalum palmatum</i> Stephan при различных температурных условиях выращивания 36
Анисимов А.В., Суслов М.А. Роль давления в межклеточном транспорте воды по симпластной системе растения 38
Анточ Л.П. Оценка устойчивости пыльцы томатов к температурному и осмотическому стрессу 41
Анциферова О.А. Реакция агрофитоценоза рапса на кислотность почвы и избыточное увлажнение 43
Астафурова Т.П., Сучкова С.А., Михайлова С.И. Буренина А.А., Салаев М.А. Влияние гликолурилы на структурно-функциональные параметры яровой пшеницы (<i>Triticum aestivum</i> L.) 46
Атоев М.Х., Эргашев А.Э., Джумаев Б.Б., Абдуллаев А.А. Влияние хлоридного засоления почвы на интенсивность фотосинтеза и фотосинтетический метаболизм углерода у флаговых листьев разных сортов пшеницы 49
Баталова Г.А., Лисицын Е.М., Тулякова М.В., Русакова И.И. Фотосинтезирующий аппарат овса в условиях почвенного стресса 52
Бедарева О.М, Мурачева Л.С., Калинина Е.А. К методике определения продуктивности растительных сообществ фотометрическим методом 55
Безрукова М.В., Мурзабаев А.Р., Шакирова Ф.М. Коиммунолокализация АЗП и АБК в связи с устойчивостью пшеницы к токсическим ионам 58
Берников Л.Р. Гипотеза стрессовых колебаний 61
Брейгина М.А., Полева С.В., Ермаков И.П. Механизмы действия Ni ²⁺ и Cu ²⁺ на начальные этапы прорастания мужского гаметофита <i>Nicotiana tabacum</i> L. 64

Бубякина В.В., Татарина Т.Д., Васильева И.В., Пономарев А.Г., Перк А.А. Дегидрины разных по фенологии берез центральной якутии	67
Бурлуцкая Е.Ю. Динамика содержания пролина в проростках гороха в условиях гипертермии	70
Бурмистрова Н.А., Красавина М.С. Возможные ограничения в использовании красителей для оценки жизнеспособности клеток и тканей растений	73
Бурундукова О.Л., Вернигора Е. Г., Козина Л.В. Влияние почвенной засухи на мезоструктуру фотосинтетического аппарата хвои <i>Picea ajanensis</i>	76
Бухарина И.Л., Фронгасьева М.В., Камашева А.А. Видовые особенности аккумуляции химических элементов корнями древесных растений в городских насаждениях	79
Буцанец П.А., Шугаева Н.А., Шугаев А.Г. Различное действие салициловой кислоты на окислительную активность митохондрий хрящящегося корнеплода сахарной свеклы и семядолей проростков люпина желтого	82
Вайнер А.А., Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О., Хрипач В.А. Протекторное действие 24-эпибрассинолида на растения проса при солевом стрессе	85
Валитова Ю.Н., Сулкарнаева А.Г., Мухитова Ф.К., Минибаева Ф.В. Физиолого-биохимические аспекты стеринного истощения в корнях пшеницы	88
Валько О.Н., Туманов В.Н. Некоторые механизмы адаптации лишайников и <i>Pinus sylvestris</i> L. к газопылевому загрязнению	91
Васильев С.В., Данилова Е.Ю., Холодова В.П., Кузнецов Вл.В. Мелатонин снижает токсическое действие избытка ионов меди, не препятствуя их аккумуляции в растениях рапса	94
Венжик Ю.В., Холопцева Е.С., Таланова В.В., Титов А.Ф. Раздельное и совместное действие низкой температуры и кадмия на фотосинтетический аппарат пшеницы	97
Веселов Д.С., Шарипова Г.В., Фархутдинов Р.Г., Веселов С.Ю. Контрастная транспирационная реакция двух сортов ячменя в ответ на водный дефицит	99
Веселова С.В., Сорокань А.В., Дашкова И.О., Горбачева О.В. Влияние эндофитной бактерии <i>Bacillus subtilis</i> 26d и жасмоновой кислоты на индукцию защитных реакций в растениях пшеницы при развитии септориоза	102
Воденеев В.А., Катичева Л.А., Акинчиц Е.К., Бушуева А.В., Сухов В.С. Ионная природа переменного потенциала у высших растений	105
Войцеконская С.А., Астафурова Т.П., Верхотурова Г.С. Сравнительное изучение активности ферментов дыхательного метаболизма в хвое <i>Pinus sylvestris</i> L. лесных и болотных популяций	108
Воробьев Г.В., Хамидуллин А.Ф., Ибрагимова К.К., Архипова Н.С., Елагина Д.С., Воробьев В.Н. Биоиндикация загрязненности атмосферы урбанизированных территорий по концентрации флавоноидов в соцветиях одуванчика лекарственного	111
Воронин П.Ю., Коновалов П.В., Бурундукова О.Л., Кузнецов Вл.В., Седельников В.П. Региональные особенности сезонного тренда изменения атмосферной концентрации CO ₂ на уровне кронового пространства древостоя в лесостепной зоне Северной Евразии	113
Вязов Е.В. Экспрессия генов PR-белков в растении огурца при освещении узкополосными источниками света (светодиодами)	116
Галибина Н.А., Новицкая Л.Л., Софронова И.Н. Действие нитратов на углеводный обмен растений <i>Betula pendula</i> Roth.	119

Генерозова И.П., Шугаев А.Г. Адаптивные перестройки дыхательного метаболизма проростков гороха после совместного действия засухи и умеренного холода	122
Гильванова И.Р., Рахманкулова З.Ф. Сравнительный анализ влияния салициловой кислоты и окиси азота на энергетический и про/антиоксидантный баланс растений пшеницы	125
Голованова Т.И., Валиулина А.Ф., Шуклина Д.А. Изучение эффектов взаимодействия грибов рода <i>Trichoderma</i> и растений с C ₄ -типом метаболизма	128
Голованова Т.И., Гаевский Н.А., Валиулина А.Ф. Сравнительная оценка влияния микромицетов на физиолого-морфологические параметры пшеницы	131
Головко Т.К., Захожий И.Г., Далькэ И.В., Коковкина Е.В., Малышев Р.В. Эффекты ближней УФ-радиации на функции растений и фотосинтезирующие клетки	134
Гончарова Э.А., Чесноков Ю.В. Современная методология изучения адаптивного потенциала зерновых для использования в селекции растений	137
Горохова А.А., Коршикова Н.Г., Паракшина Э.М. Морфометрические показатели облепихи крушиновой (<i>Hipporhae rhamnoides</i> L.) на разных ландшафтных участках Балтийской косы	140
Грузнова К.А., Башмаков Д.И., Лукаткин А.С. Влияние рибав-экстра на скорость генерации супероксидного аниона в листьях пшеницы при действии тяжелых металлов	143
Давыдова Е.А., Чупахина Г.Н. Поражение фузариозом разных сортов озимой пшеницы в условиях Калининградской области	146
Далькэ И.В., Чадин И.Ф., Малышев Р.В., Захожий И.Г., Маслова С.П., Табаленкова Г.Н. Структурные и физиологические факторы конкурентоспособности борщевика сосновского за пределами естественного ареала	149
Дедова М.А., Высоцкая Л.Б., Кудоярова Г.Р. Роль цитокининов в регуляции соотношения корень/побег у растений пшеницы при изменении температуры	152
Дмитриева С.А., Пономарева А.А., Минибаева Ф.В. АФК-индуцируемая аутофагия в клетках растений при блокировании электрон-транспортной цепи митохондрий	155
Дымова О.В., Гармаш Е.В., Коковкина Е.В., Latowski D. Ксантофилловый цикл и антиоксидантная система защиты в листьях <i>Ajuga reptans</i> L. при разных световых условиях	158
Ершова А.Н., Фатуллаева А.С. Влияние гипоксии высокой концентрации диоксида углерода и на активность и свойства связанной с клеточной стенкой β-глюкозидазы растений гороха	160
Жук О.И. Сигнальная функция оксида азота в процессах прорастания зерновки пшеницы	163
Жук И.В., Дмитриев А.П. Роль оксида азота в индуцировании системной устойчивости пшеницы к <i>Septoria tritici</i>	166
Жук В.В., Мусиенко Н.Н. Сигнальная функция перекиси водорода в адаптации растений пшеницы к условиям засухи	169
Зиннатова Э.Р., Жуйкова Т.В., Лешукова Л.А., Жуйкова Е.В., Киселева И.С. Аккумуляция тяжелых металлов растениями в промышленно нарушенных местообитаниях Среднего Урала	172

Зубова М.Ю., Нечаева Т.Л., Живухина Е.А., Загоскина Н.В. Изменения в накоплении фенольных соединений при действии кадмия на каллусные культуры чайного растения с различным уровнем внутриклеточной дифференциации	175
Ибрагимов Р.И., Цветков В.О., Шпирная И.А., Валиахметова К.И. Влияние пищевого субстрата на активность и молекулярный состав гидролитических ферментов личинок колорадского жука	178
Иванов А.А., Кособрухов А.А. Аккумуляция пролина в листьях проростков пшеницы при водном, солевом стрессах и их сочетании	181
Иванова А.Н., Голованова Т.И. Перспективы использования температурного фактора в качестве регулятора микроспорогенеза лиственницы сибирской (<i>Larix sibirica</i>)	184
Иванова Т.В., Кузнецова Э.И., Халилова Л.А., Мясоедов Н.А., Балнокин Ю.В., Цыдендамбаев В.Д. Жирнокислотный состав липидов галофитов, различающихся по стратегии дальнего транспорта ионов Na ⁺ и Cl ⁻	187
Икконен Е.Н., Шибаева Т.Г., Сысоева М.И. Кратковременные периодические понижения температуры как способ стабилизации работы фотосинтетического аппарата растений в условиях круглосуточного освещения	190
Ильясова Е.Ю., Григориади А.С., Насибуллин Р.И. Влияние микробных препаратов на биологическую активность почвы под посевами сахарной свеклы	193
Ионенко И.Ф., Александров Е.А., Сибгатуллин Т.А., Воробьев В.Н. Интенсивность транспирации у злаковых культур в условиях осмотического стресса	196
Ионенко И.Ф., Сибгатуллин Т.А. Симпластный перенос воды в регуляции водопроницаемости корней при изменении температуры среды у растений (<i>Triticum aestivum</i> L.) с различным уровнем холодоустойчивости	199
Ионенко И.Ф., Сибгатуллин Т.А. Модуляция проницаемости межклеточных путей переноса воды в корнях кукурузы в условиях осмотического стресса	202
Казнина Н.М., Титов, А.Ф. Батова Ю.В., Лайдинен Г.Ф. Содержание глутатиона и фитохелатинов в корнях и листьях щетинника зеленого при действии кадмия	205
Калацкая Ж.Н., Ламан Н.А., Молчан О.В., Спиридович Е.В., Брель Н.Г. Адаптация <i>ex vitro</i> растений-регенерантов сирени на органо-минеральном субстрате, инокулированном <i>Bacillus subtilis</i>	208
Калинина Е.А., Бедарева О.М., Мурачева Л.С. Оценка виталитета древесных насаждений Калининграда	211
Канаш Е.В., Русаков Д.В., Осипов Ю.А. Оптические характеристики листьев пшеницы при дефиците азота и почвенной засухе	213
Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Швиденко Н.В., Луговая А.А. Оксид азота задействован в развитии индуцированной теплоустойчивости проростков пшеницы	216
Кирдей Т.А. Характер воздействия гумата на растения пшеницы при высоких концентрациях меди в среде	219
Кириций Д.А. Влияние высокой температуры на фотосинтез флаговых листьев озимой пшеницы	222
Кириллова И.Г., Бычков И.А. Совместное действие регулятора роста мелафена и микроэлементов цинка, и марганца на антиоксидантную систему растения картофеля	225

Киселева И.С., Бондаренко О.В., Ермошин А.А., Носова К.С. Устойчивость к десикации видов пшениц, различающихся уровнем плоидности и геномным составом 228
Коваль Е. В., Огородникова С.Ю. Оценка влияния цианобактерии <i>Nostoc linckia</i> на жизнеспособность растений ячменя и на фитотоксичность метилфосфоновой кислоты 231
Кондратьев М.Н., Ларикова Ю.С., Бударин С.Н., Ключковская Ю.Б., Паштанова Е.С. Аллелопатический эффект <i>Heracleum sosnowskyi manden</i> , сорных и лекарственных растений на культурные виды 234
Кондратьева В.В., Шелепова О.В., Воронкова Т.В., Шатило В.И., Олехнович Л.С., Енина О.Л. Влияние света различного спектрального состава на устойчивость растений львиного зева к холодовому стрессу 237
Косаковская И.В., Бабенко Л.М., Скатерная Т.Д. Влияние температурного режима на пигментный спектр и липоксигеназную активность озимой пшеницы (<i>Triticum aestivum</i> L.) сорта Володарка 240
Кособрюхов А.А., Стародубцева А.А., Марковская Е.Ф. Адаптивные изменения фотосинтеза <i>Zostera marina</i> L. при градиентном снижении интенсивности света 243
Ктиторова И.Н., Скобелева О.В. Увеличение теплоустойчивости корней пшеницы при частичной замене нитрата в среде на аммоний 246
Куделина Т.Н., Казакевич А.В., Обуховская Л.В. Влияние предпосевной обработки семян томата <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. комплексом итозан-фуллерен на морфологические и физиологические параметры рассады 249
Кудоярова Г.Р., Коробова А.В., Высоцкая Л.Б. Роль гормонов в реакции растений на присутствие конкурентов и уровень минерального питания 252
Кузнецов М.Н., Куликов И.М. Физиолого – биохимические реакции яблони на техногенное загрязнение 255
Куликова А.Л., Кузнецова Н.А. Актиновый цитоскелет участвует в ответе растительных клеток на засоление и действие тяжелых металлов. 258
Куприянова Е.В., Пронина Н.А. Компоненты CO ₂ -концентрирующего механизма у реликтовой алкалофильной цианобактерии <i>Microcoleus</i> 261
Курамшина. З.М., Смирнова Ю.В., Хайруллин Р.М. Влияние никеля и бактерий <i>Bacillus subtilis</i> на микоризу пшеницы 264
Ланцев В.Л. Влияние цитохалазина б - структурного модификатора микрофиламентов на рост органов <i>Solanum tuberosum</i> 267
Лисник С.С., Тома С.И., Корецкая Ю.Л. Загрязнение почвы Cu и Pb, содержание Fe, Cu, Mn, Zn, Pb и активность нитратредуктазы в растениях в зависимости от применения сульфатов 269
Ломоватская Л.А., Рыкун О.В., Симакова А.А., Соколова Л.Г., Романенко А.С. Разработка нового метода диагностики устойчивости сельскохозяйственных культур к загрязнению почв фторидами алюминиевого производства 272
Луценко Э.К., Федоренко Г.М. Изменения физиологического состояния и ультрамикроструктуры клеток проростков пшеницы в условиях засоления 275
Любимов В.Ю., Креславский В.Д., Ширшикова Г.Н., Кособрюхов А.А. Фитохром-индуцированная регуляция окислительно-восстановительного гомеостаза листьев высших растений и стрессустойчивость фотосинтетического аппарата 278

Майорова О.В., Орлова Ю.В., Халилова Л.А., Мясоедов Н.А., Балнокин Ю.В. Возможная роль водоносной паренхимы в распределении хлорида в листе галофита <i>Suaeda altissima</i> 281
Максимовских С.Ю., Плотникова О.М. Влияние метилфосфоновой кислоты на содержание пигментов и активность хлорофиллазы в листьях кукурузы 284
Малева М.Г., Чукина Н.В., Гармаш Е.В. Влияние экзогенных антоцианов на функционирование антиоксидантной системы элодеи при действии кадмия 287
Малина Р.Б., Шишкану Г.В., Титова Н.В. Факторы плодоношения персика 290
Мамушина Н.С., Зубкова Е.К., Тютерева Е.В., Буболо Л.С., Чеботарева К.Е. К вопросу о механизме продукционного процесса эфемероидов в связи с проблемой криофилии 293
Маракаев О. А., Холмогоров С. В. О микосимбиотрофии орхидных (<i>Orchidaceae</i>) умеренного климата северного полушария в период покоя 296
Масленников П.В., Букреева В.В., Бабайцева Е.В. Изучение особенностей аккумуляции ТМ растениями городской среды 299
Маслова С.П. Физиологические механизмы роста и устойчивости подземного метамерного комплекса корневищных растений 302
Миронов К.С. Красный свет регулирует индукцию генов холодового ответа у цианобактерии <i>Synechocystis sp.</i> 305
Михайлова С.И., Астафурова Т.П., Буренина А.А., Зотикова А.П., Моргалев Ю.Н. Влияние высокодисперсных шламов черной металлургии на <i>Avena sativa L.</i> 307
Михайлова И.Д., Лукаткин А.С. Скорость генерации супероксидного анион-радикала в каллусной культуре огурца при действии тяжелых металлов 310
Михайлов А.Л., Невмержицкая Ю.Ю., Тимофеева О.А. Динамика активности лектинов в корнях проростков пшеницы при действии тяжелых металлов и стевиозида 312
Мотылева С.М., Кузнецов М.Н., Мертвищева М.Е. Оценка устойчивости вишни к коккомикозу 315
Мощенская Ю.Л., Галибина Н.А., Подгорная М.Н. Активность сахарозинтазы в тканях ствола деревьев карельской березы, произрастающих на разных по плодородию почвах 318
Нарайкина Н.В., Синькевич М.С., Трунова Т.И. Изменение активности различных типов супероксиддисмутазы в клетках листьев картофеля при длительной гипотермии 321
Невмержицкая Ю.Ю., Тимофеева О.А., Стробыкина А.С., Михайлов А.Л. Индукторы морозоустойчивости растений лектиновой природы 323
Ненько Н.И., Ильина И.А., Петров В.С., Киселева Г.К., Схаляхо Т.В., Сундырева М.А. Устойчивость растений рода <i>Vitis (Tournef) L.</i> к условиям летнего периода Анапо-Таманской зоны 326
Нестеров В.Н., Богданова Е.С., Иванова Л.А., Иванов Л.А., Розенцвет О.А. Содержание липидов в пластидном аппарате галофитов в зависимости от типа солеаккумуляции и жизненной формы растений 329
Никерова К.М., Галибина Н.А. Функциональная роль пероксидазы в органах и тканях карельской березы 332

Николаева М.К., Маевская С.Н., Воронин П.Ю. Влияние засухи на фотосинтетический газообмен, активность антиоксидантной и осмопротекторной систем листьев проростков кукурузы	335
Ниловская Н.Т., Осипова Л.В., Курносова Т.Л. Влияние кремния на реализацию адаптивного потенциала яровой пшеницы	338
Нужная Т.В., Веселова С.В., Максимов И.В. Роль салициловой кислоты и этилена в развитии устойчивости растений пшеницы к грибной инфекции с участием компонентов про-/антиоксидантной системы	340
Нурминская Ю.В., Еникеев А.Г. Воздействие стрессовых факторов, являющихся следствием генетической трансформации, на растение, как на единую систему	343
Ожерельева З. Е., Красова Н. Г., Галашева А. М. Оценка устойчивости яблони к холодовому стрессору и тепловому шоку в начале вегетации	346
Опекунова М.Г., Крылова Ю.В., Курашов Е.А., Чихачева А.Ю. Влияние загрязнения тяжелыми металлами на синтез эфирных масел в растениях Южного Урала	349
Осипова Л.В., Верниченко И.В., Быковская И.А., Яковлева П.А. Влияние селена и цинка на устойчивость зерновых культур к различным абиотическим стрессам	352
Пахомова В.М., Даминова А.И. Экспресс-диагностика стрессового состояния клеток растений	354
Поморцева К.А., Борисова Г.Г. Роль экзогенного аскорбата в формировании ответных реакций <i>Ceratophyllum demersum</i> L. на действие ионов кадмия	357
Пономарева А.А., Рахматуллина Д.Ф., Газизова Н.И., Минибаева Ф.В. Динамические преобразования митохондрий при действии митохондриальных ядов	360
Попова Л.Г., Беляев Д.В., Шувалов А.В., Юрченко А.А., Маталин Д.А., Балнокин Ю.В. Анализ транскриптома морской зеленой микроводоросли <i>Dunaliella tertiolecta</i> : обнаружение последовательностей, кодирующих АТФазы Р-типа	363
Пузанский Р. К. Шаварда А. Л. Шишова М. Ф. Динамика метаболома <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> в ходе развития автотрофной культуры	366
Пузина Т.И., Власова Н.С., Макеева И.Ю. Физиолого-биохимические ответы <i>Solanum tuberosum</i> на деструкцию тубулинового цитоскелета	369
Рогожин Е.А., Рязанцев Д.Ю., Димитриева Т.В., Завриев С.К. Новое семейство харпино-подобных защитных пептидов семян ежовника (<i>Echinochloa crusgalli</i> L.): структурная характеристика и особенности биосинтеза	372
Сазонова Т.А., Тихова Г.П., Придача В.Б. Особенности водного режима <i>Betula pendula</i> Roth. с нормальной и аномальной древесиной ствола в суточной и сезонной динамике	375
Салтанович Т.И. Диагностика устойчивости внутривидовых гибридов томата по признакам мужского гаметофита	378
Седловский А.И., Тюпина Л.Н., Кохметова А.М., Булатова К.М., Алшоразова И.П., Тэженова А.И., Маденова А.К. Скрининг солеустойчивых образцов озимой пшеницы на стадии проростков в лабораторных и полевых условиях	381
Селиванов А.А., Антипина О.В., Попов В.Н., Мошков И.Е. Интенсивность окислительного стресса и работа антиоксидантной системы у теплолюбивых и холодоустойчивых растений	384

Сибгатуллин Т.А. Водная проницаемость мембран клеток стебля в условиях изменения давления в сосудах ксилемы	386
Сидоров Р.А., Жуков А.В., Пчёлкин В.П., Верещагин А.Г., Цыдендамбаев В.Д. Содержание и состав нейтральных ацилглицеринов жирных кислот в плодах бересклетов	388
Синицына Ю.В., Корнилова Ю.Ю., Середнева Я.В., Веселов А.П. Влияние высокой температуры и низкоинтенсивного переменного магнитного поля на фотосинтетические процессы в хлоропластах гороха	392
Синькевич М.С. Различия изоферментного состава супероксиддисмутазы в клетках листьев картофеля при гипотермии	395
Синявина Н.Г., Канаш Е.В., Макарова Г.А., Мирская Г.В., Кочетов А.А., Осипов Ю.А., Лоскутов И.Г. Оценка устойчивости сортов ячменя к действию УФ-в радиации в регулируемых условиях	397
Скрыпник Л.Н., Чупахина Г.Н., Масленников П.В., Федураев П.В. Влияние меди на суммарное содержание полифенолов в некоторых растениях семейства Бобовые	400
Смирнова Ю.В., Курамшина З.М., Хайруллин Р.М. Поступление кадмия в растения <i>Triticum aestivum</i> , инокулированные эндофитными бактериями <i>Bacillus subtilis</i>	403
Смоликова Г.Н., Шаварда А.Л., Чанцева В.В., Юрченко В.С., Медведев С.С. Метаболомный анализ биохимических изменений, возникающих при ускоренном старении в семенах <i>Brassicaceae</i> с разным содержанием остаточных хлорофиллов	406
Сорокань А.В., Кулуев Б.Р., Бурханова Г.Ф., Николаев И.В., Максимов И.В. Участие полисахарид-связывающей пероксидазы картофеля в лигнификации клеточных стенок при патогенезе	409
Софронова В.Е., Антал Т.К., Дымова О.В., Головко Т.К. Динамика снижения фотохимической активности фотосистемы II в зимне-зеленых побегах <i>Ephedra monosperma</i> при формировании морозоустойчивого состояния растений	412
Спанкулова З.Б., Оразбаева У.М., Ли Т.Е., Омарова А.Ш. Физиолого-биохимические индексы устойчивости и адаптации к засухе кукурузы	415
Стеценко Л.А. Влияние АБК и флуридона на уровень окислительного стресса и содержание диаминов в <i>Mesembryanthemum crystallinum</i> при засолении	418
Судачкова Н.Е., Милютин И.Л., Романова Л.И., Косов И.В., Собачкин Д.С. Проявления окислительного стресса в прикамбиальной зоне сосны обыкновенной из насаждений, пройденных низовыми пожарами различной силы	421
Сундырева М.А. Адаптивные реакции у винограда различного происхождения на абиотические стрессоры периода вегетации	424
Сурова Л.М., Шерстнева О.Н., Гаспирович В.В., Воденев В.А., Сухов В.С. Анализ роли электрических сигналов в изменении устойчивости фотосинтеза при высокотемпературном прогреве гороха посевного (<i>Pisum sativum</i> L.)	427
Суслов М.А., Анисимов А.В. Проницаемость плазматической мембраны клеток корня кукурузы под внешним давлением	430
Табаленкова Г.Н., Розенцвет О.А., Коковкина Е.В., Головко Т.К. Сезонная изменчивость липидного состава крупнолистоватого лишайника <i>Lobaria pulmonaria</i>	433

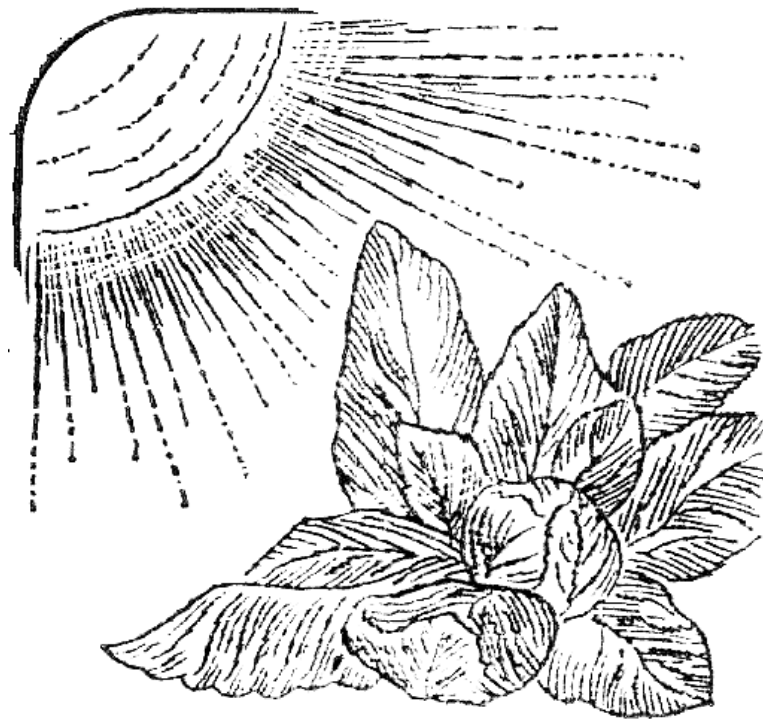
Терлецкая Н.В., Хайленко Н.А., Искакова А.Б. Физиологические параметры засухо- и солеустойчивости межвидовых гибридов пшеницы	436
Тимергалина Л.Н., Кудоярова Г.Р., Веселов С.Ю., Медведев С.С. Накопление цитокининов в побегах и корнях растений пшеницы при обработке их листьев экзогенными зеатином и изопентениладенином	439
Тихомиров А.А., Шихов В.Н., Ушакова С.А., Дегерменджи А.Г. Создание экспериментальной замкнутой искусственной биосистемы для экофизиологических исследований	442
Тютерева Е.В., Иванова А.Н., Войцеховская О.В. Изменение стехиометрии малой антенны и реакционных центров фотосистемы 2 как уникальный механизм повышения урожайности и устойчивости ячменя к световому и водному стрессам	445
Фархутдинов Р.Г. Роль гормональной системы в формировании ростового ответа при различной концентрации элементов минерального питания	448
Фомаиди С.В., Панюта О.А., Белова В.Н., Таран Н.Ю. Фотосинтетические пигменты проростков озимой пшеницы (<i>Triticum aestivum</i> L.) в условиях биотического стресса	451
Хаджиев Т.А., Тюрин А.А., Никифорова Х.Р., Чертова Н.В., Голденкова-Павлова И.В. Векторные системы для изучения функциональной роли десатураз в зависимости от их локализации в растительной клетке	454
Харчук О.А. Определение содержания воды в корнях растений	457
Харчук О.А., Кириллов А.Ф. Плотность стебля растений сои увеличивается при засолении	460
Харчук О.А., Кириллов А.Ф., Будаков А.Б., Козьмик Р.А., Баштовая С.И., Кириллова Э.Н. Листовая поверхность растений сои при слабом засолении и недостатке влаги в связи с продуктивностью	462
Хасанова Д.В., Ямалеев А.М., Ямалеева А.А. Фитоэксдистероиды в индуцировании реакции устойчивости растений к болезням	465
Христенко В.С., Шумакова О.А., Дубровина А.С., Киселев К.В. Влияние сверхэкспессии гена VaCDPK20 на устойчивость клеток <i>Vitis amurensis</i> и <i>Arabidopsis thaliana</i> к абиотическим стрессам	468
Цветков В.О., Шпирная И.А., Кидрясова Р.Н., Богданова Ю.Г., Ибрагимов Р.И. Влияние абиотического стресса на активность гидролаз проростков сельскохозяйственных культур	471
Чернов В.Е., Аксенов А.И., Иванова М.А., Пендинен Г.И., Митилинеос А.Г. Ионный состав электролитов при истечении из тканей после замораживания листьев ячменя и картофеля	474
Шаймуллина Г.Х., Хусаинова Р.Р., Грошева Е.А., Невмержицкая Ю.Ю., Тимофеева О.А. Динамика активности лектинов в проростках пшеницы при инфицировании и действии дитерпенового гликозида	477
Шарипова Г.В., Ахиярова Г.Р., Веселов Д.С., Веселов С.Ю., Кудоярова Г.Р. Архитектура корневой системы растений ячменя при дефиците воды и роль абсцизовой кислоты в ее регуляции	480
Шелякин М.А. Дыхание и соотношение дыхательных путей в листьях двух умеренно светлюбивых видов растений при разной освещенности	483
Шибяева Т.Г., Шерудило Е.Г. Действие и последствие кратковременных снижений температуры при 24-часовом фотопериоде на рост, развитие и урожайность томата	486
Шибяева Т.Г., Шерудило Е.Г. Влияние дроб-воздействий разной интенсивности на растения томата в условиях круглосуточного освещения	489

Ширвани Т.С., Аннагиева М.А., Бабаева Г.Х., Алиева Ф.К. Изменения морфо-физиологического статуса растения тыквы при ее адаптации к тяжелым металлам в условиях засоления 492
Широкова Н.П. Влияние водного дефицита на водный обмен и уровень эндогенных гормонов у сортов пшеницы омской селекции 495
Шпирная И.А., Ахатова А.Р., Цветков В.О., Гильмуллина Г.Р., Ибрагимов Р.И. Активность ингибиторов карбогидраз в клубнях картофеля при обработке биорегуляторами 498
Шпирная И.А., Цветков В.О., Яруллина Л.Г., Янгильдина Ю.Я., Ибрагимов Р.И. Активность гидролитических ферментов и ингибиторов микробных гидролаз в проростках пшеницы при инфицировании <i>Septoria nodorum</i> Berk 501
Шуйская Е.В., Рахманкулова З.Ф., Биктимерова Г.Я., Щербаков А.В., Суяндукоев Я.Т., Усманов И.Ю. Генетическое и физиологическое обоснование использования C_3 и C_4 видов семейства маревых для фитомелиорации засоленных территорий 503
Шульгин И.А., Чуб О.В. Физиолого-метеорологические основы энергетического баланса посевов яровых зерновых культур и его значение для агрометеорологических прогнозов их урожайности 506
Шульгин И.А., Чуб О.В. Использование физиолого-метеорологического энергобалансового подхода для оценки среднемноголетней радиационно- и влагообусловленной урожайности яровых культур в центральных Нечерноземных и Черноземных областях России 509
Щербаков А.В., Шуйская Е.В., Усманов И.Ю., Рахманкулова З.Ф. Особенности накопления флавоноидов некоторыми галофитами на солончаках Южного Зауралья 512
Юсуфов А.Г., Мамедова К.К. Организация и толерантность к засолению изолированных структур побега у сортов винограда 515
Яковлева О.С., Волкова Т.А., Бокова М.И., Тараканов И.Г. Влияние спектрального качества света на формирование ассимиляционного аппарата эфироносных растений и их адаптации к условиям пониженной освещенности 518
Яруллина Л.М., Умаров И.А., Новоселова Е.И. Влияние генотипа растения - хозяина на морфофизиологические параметры возбудителя корневой гнили пшеницы <i>Bipolaris sorokiniana</i> 521
Яхин О.И., Лубянов А.А., Яхин И.А., Калимуллина З.Ф., Гареева Г.Б., Маркелова Е.М., Батраев Р.А., Кабиров Р.Р., Фазлутдинова А.И., Иштимиров Э.И., Халилова Д.И., Шайдуллина Г.Ф., Сулейманова Р.В., Кадыров Ф.Ф. Комплексная оценка биологической активности природных регуляторов роста растений 524
Azarkovich M.I., Gumilevskaya N.A. Dormant Recalcitrant Seeds under Temperature Stress 527
Baizhumanova R., Seisenbai Ch., Kalugin S., Nurzhanova A. Increasing the Efficiency of Soil Phytoremediation Polluted by Pesticides by Using Derivatives of Oksane 530
Balakhnina T.I., Bulak P., Matichenkov V.V., Kosobryukhov A.A., Włodarczyk T.M. Si-Rich Mineral Zeolite Stimulates Growth Processes and Increases Plant Resistance to Cadmium Stress 533
Bednarska J., Janik E., Luchowski R., Mazur R., Garstka M., Gruszecki W.I. Phosphorylation of Photosynthetic Antenna LHCII Influences Its Molecular Organization 536

Grigoriadi A.S., Bashirova R.M., Lopatin N.V. The Impact of Oil and Metabolite on Translocation of “Heavy” Metals into Sugar-Beet <i>Beta vulgaris</i>	540
Calugaru-Spataru T., Ciocarlanb A., Silion M. The Chemical Composition of Callusar Culture and Roots of <i>Rhodiola rosea</i> L. of Carpathian Origin	537
Gruszecki W.I., Janik E., Bednarska J., Zubik M., Puzio M., Sowinski K., Luchowski R., Grudzinski W., Mazur R., Garstka M. How Plants Manage Light Excitations Driving Photosynthesis?	543
Grzyb J.M., Luczkowska R., Gieczewska K. Why Chloroplastic Ferredoxin:NADP+ Oxidoreductase Binds to Lipids Model Membranes Study	544
Lisnic S., Toma S., Coretscaia Iu. The Influence of Trace Elements on the Nitrate Reductase And Peroxidase Activity in Sugar Beet Leaves under Temporal Water Stress	547
Puzio M., Zubik M., Luchowski R., Janik E., Bednarska J., Grudzinski W., Gruszecki W.I. Photoprotection in Plants - Light-Induced Excitation Quenching in Photosynthetic Antenna Complex LHCII	550
Stefirta, I. Bulhac, Melenciuc M., Aluchi N., Coropceanu E. Antioxidant Protection of <i>Zea mais</i> L. Leaves in Response to Drought and Chemical Treatment	551
Terebova E., Androsova V., Markovskaya E., Kaipainen E. The Estimation of <i>Salix shwerinii</i> Capacity for Phytoremediation of Polluted Areas	554
Wójtowicz J., Gieczewska K. Photosynthetic Efficiency of Different <i>Arabidopsis</i> Ecotypes	557
АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ ЧАСТИ II		
AUTHORS OF THE VOLUME II	560

Раздел 3

Экологическая физиология растений



Chapter 3

Ecological Plant Physiology

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ *ALTERNARIA TENUIS* НА СЕМЕНАХ КУЛЬТУРНЫХ ЗЛАКОВ

Абдрасулова Ж.Т.

Казахский государственный женский педагогический университет, Республика Казахстан,
ул. Айтеке би, 99, г. Алматы, 050000, Казахстан, E-mail: imperare_sibi_maximum_imperium@mail.ru

Fungi, Alternaria, grain crops, seed, conidium

Введение

Грибы рода *Alternaria* часто заселяют семена различных видов злаков и растений других семейств [1]. Во многих странах была выявлена высокая частота встречаемости видов *Alternaria* в зерне пшеницы, ячменя, овса, ржи и других злаков [2]. В сельскохозяйственной продукции, зараженной видами *Alternaria*, могут накапливаться значительные количества микотоксинов — грибных метаболитов, опасных для человека и животных [3;4].

Материалы и методы

Из зернохранилищ четырех районов (Талгарский, Илииский, Карасайский, Жамбулский) Алматинской области нами собраны семена зерновых культур (пшеница, ячмень, овес).

Собранные семена зерновых культур оставили во влажной камере. На дно чашек Петри клали в 2 слоя фильтровальную бумагу и стерилизовали в сушильном шкафу при температуре 130°C в течение часа. Также стерилизовали пипетки. Стерильную бумагу в чашках Петри пипеткой смачивали стерильной водой до полного увлажнения. Семена стерилизовали 96%-ным спиртом в течение 1 мин. Затем раскладывали на увлажненную фильтровальную бумагу на дне чашки Петри на расстоянии 1,5-2 см друг от друга. Чашки Петри содержали при температуре 21 °C. За ростом и развитием наблюдение вели ежедневно. По характеру и роста грибницы определяли их видовую принадлежность. На 7-ые сут. на семенах образовалось спороношение грибов. Затем в чашки Петри с питательной средой Чапека пересевали отдельно.

Результаты и обсуждение

В них обнаружены возбудители болезней грибной этиологии видов *Alternaria tenuis*.

Alternaria tenuis был выделен с семян пшеницы, ячменя и овса. На семенах хлебных злаков наиболее распространен вид *A.tenuis*. При исследовании вида *A.tenuis* было установлено, что минимальное число клеток конидия-3, а максимальное- 14. Наиболее стойкие признаки *A.tenuis* форма, размеры конидий, число перегородок в конидий, длина, ширина и форма носика конидии на естественном субстрате. Вторичные признаки, которые тоже следует принимать во внимание - цвет конидий, структура внешней оболочки конидии, размер, форма и число перегородок конидиеносцев (рис.1).



Рисунок 1 - Конидии *Alternaria tenuis* на семенах пшеницы
Figure 1 - *Alternaria tenuis* conidia on seeds of wheat

В виде мицелия *A. tenuis* может сохраняться многие годы в зерне, хранящемся при низкой влажности и температуре. При обычных условиях хранения продовольственного и фуражного зерна *A. tenuis* погибал на восьмой год хранения, а при хранении в лабораторных условиях жизнеспособный мицелий сохранялся больше восьми лет [5].

При выращивании *A. tenuis* на питательной среде Чапека образовалась ватаобразная, интенсивно растущая колония темно-серого цвета. Для того чтобы на конидиеносцах стали образовываться конидии, нужны пониженная температура и темнота. Следовательно, влияние погодных условий может ускорить или замедлить переход *A. tenuis* из одной фазы развития в другую, ускорить или замедлить жизненный цикл патогена, т.е. повлиять на развитие болезни, вызванной *A. tenuis*.

A. tenuis сапрофит, но при сильном ослаблении растений могут проявлять паразитические свойства.

Результаты искусственного заражения проростков зерновых культур с конидиями *A. tenuis* выделенных из семян *Triticum aestivum* температура +20°C в табл. 1.

Таблица 1 - Особенности заражения проростков семян зерновых культур конидиями *Alternaria tenuis*, выделенных с семян *Triticum aestivum*

Table 1 - Features of infection seedling seed crops conidia *Alternaria tenuis*, isolated from seeds of *Triticum aestivum*

Проростки культурных злаков	Характеристика проростков культурных злаков	Степень поражения
<i>Triticum aestivum</i>	Вегетирующие надземные органы проростков	Заражение отсутствовало
	Отделенный от стебля лист	На больших пожелтевших пятнах листьев обильно образовались конидии
<i>Hordeum vulgare</i>	Вегетирующие надземные органы проростков	Заражение отсутствовало
	Отделенный от стебля лист	На пожелтевшем листе вокруг инокулюма образовались конидии
<i>Avena sativa</i>	Вегетирующие надземные органы проростков	Заражение отсутствовало
	Отделенный от стебля лист	На больших пожелтевших пятнах листьев обильно образовались конидии
<i>Sorghum vulgare</i>	Вегетирующие надземные органы проростков	Заражение отсутствовало
	Отделенный от стебля лист	На пожелтевшем листе конидии образовались только вокруг инокулюма

Из данных табл. 1 видно, что *A. tenuis* на вегетирующих листьях развивается слабо, так как располагают ограниченным количеством питательных веществ присутствующих на листовой поверхности, и подавляются специфическими веществами, выделяемыми растением. При ослаблении растения на отделенных от стебля листьях *A. tenuis* получает шанс более интенсивного развития.

В природе возможно от листьев инфекция распространяется на другие органы растения, а в дальнейшем может достичь созревающих семян. С семенами грибок в виде спор или мицелия переносится на новые места выращивания растения и при благоприятных условиях влажности и температуры он может поражать растение уже в фазе прорастания.

Заключение

A. tenuis выделенный с семян пшеницы поражал сорванные листья культурных злаков (пшеница, ячмень, овес), а вегетирующие листья не заразились.

Выводы

Alternaria tenuis поражает только ослабленные вегетативные органы культурных зерновых растений.

Литература

1. De Lucca AJ. Rev Iberoam Micol. 2007 Mar;24(1):3-13. Review.
2. Repedkiene J, Levinskaite L, Paskevicius A, Raudoniene V. 2013. Toxin-producing fungi on feed grains and application of yeasts for their detoxification. Pol J Vet Sci. 2013;16(2):391-3.
3. Ганнибал Ф. Б. Грибы рода *Alternaria* на злаках: видовой состав и внутривидовое разнообразие: Автореф. дис. ... к. б. н. СПб., 2006. 23 с.
4. Scott PM, Zhao W, Feng S, Lau BP. 2012. *Alternaria* toxins alternariol and alternariol monomethyl ether in grain foods in Canada. Mycotoxin Res. 2012 Nov;28(4):261-6. doi: 10.1007/s12550-012-0141-z. Epub 2012 Sep 4.
5. Абдрасулова Ж.Т. 2013г. Особенности сохранения жизнеспособности видов поражающих семена зерновых культур. Международная научная конференция студентов, магистрантов и молодых ученых “Ломоносов – 2013” 12 апреля 2013г.

BIOLOGICAL CHARACTERISTICS *ALTERNARIA TENUIS* ON SEEDS CULTIVATED CEREALS

Abdrassulova Zh.T.

Fungi, Alternaria, grain crops, seed, conidium

Особое внимание уделено грибам, развивающимся в хранящемся зерне. Были собраны семена зерновых культур (*Triticum aestivum* L., *Avena sativa* L., *Hordeum vulgare* L.) из зернохранилищ четырех районов (Талгарский, Илииский, Карасайский, Жамбулский) Алматинской области. В них обнаружены полевые грибы возбудители болезней грибной этиологии из родов *Alternaria*, влияющие на сохранность, качество и безопасность зерна. В целом видовой состав и их биологические особенности грибов родов *Alternaria* поражающих зерновые культуры в Казахстане изучен недостаточно.

ДЕТЕКТИРОВАНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ АФК В МИТОХОНДРИЯХ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ *IN ORGANELLO* И *IN VIVO*: ЭФФЕКТЫ ХОЛОДОВОЙ АККЛИМАЦИИ

Абдрахимова Й.Р.^{1,2}, Абдрахимов Ф.А.³, Андреев И.М.¹, Шугаев А.Г.¹

¹ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая 35, г. Москва, 127276, Россия

²ФГОАУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», ул. Кремлевская, 18, г. Казань, 420008, Россия, E-mail: yoldez@mail.ru

³ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, ул. Лобачевского 2/31, а/я 30, г. Казань, 420111, Россия

Triticum aestivum, проростки, митохондрии, *in organello* и *in vivo*, активные формы кислорода, аламетицин, флуоресцентные красители, холодовая акклимация

Введение

Не снижающийся в течение последних десятилетий научный интерес к проблемам образования активных форм кислорода (АФК) и механизмам регуляции их метаболизма обусловлен множественной ролью, которая отводится им в разных аспектах жизнедеятельности клеток, от деления до смерти. Одними из обсуждаемых в биологии и биомедицине остаются вопросы, связанные с двойственной природой АФК, генерируемых клетками при различных видах стрессов [1,2]. С одной стороны, это может быть следствием нарушений редокс-баланса клеток и развития патологических состояний, с другой,- запуска АФК-опосредованных сигнальных путей, в том числе от митохондрий [1]. Благодаря влиянию на экспрессию генома, последнее обстоятельство приобретает важное значение для координации адаптивных метаболических процессов, учитывая постоянно меняющиеся внешние и внутренние условия [1]. Такого типа исследования требуют относительно быстрого и высокоспецифичного количественного определения скорости генерации АФК, особенно учитывая низкие внутриклеточные концентрации, транзитный характер их изменений и относительно короткий период жизни, а также хорошо эшелонированную систему антиоксидантной защиты как отдельных органоидов, так и клеток в целом, особенно растительных. В связи с этим до сих пор актуальной остается проблема поиска и оптимизации методических подходов оценки генерации АФК, которые в настоящее время в подавляющем большинстве проводятся с использованием флуоресцентных индикаторов, имеющих ряд преимуществ и недостатков [2]. Целью наших исследований было выявление холодиндуцированных изменений в образовании пероксида водорода митохондриями проростков озимой пшеницы в условиях *in vitro* и *in vivo* с помощью оптимизированных нами методических подходов применения флуоресцентных красителей.

Материалы и методы

Этиолированные проростки озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L., с.Мироновская 808) выращивали гидропонным способом при 23-24°C в течение 3 сут. (контроль), часть из которых подвергали холодовому воздействию при 3-4°C в течение 6 сут. (опыт). Семена сортовой элиты были любезно предоставлены акад. И.Б.Сандухадзе (МосНИИСХ). Выделение митохондрий и контроль их функциональной активности, в том числе определение генерации трансмембранного потенциала ($\Delta\psi_m$), проводили как описано в [3]. Реал-тайм регистрацию образования H_2O_2 выделенными митохондриями проводили, используя Amplex Red (AR, Molecular Probes®) [4]. Интенсивность генерации АФК в интактных клетках эпидермиса колеоптилей определяли с помощью 2,7-дихлордигидро-флуоресцеиндиацетата (H2DCF-DA) на лазерном конфокальном микроскопе LSM510 META (Carl Zeiss). Для выявления колокализации изучаемых процессов с митохондриями использовали высокоспецифичный катионный флуоресцентный краситель тетраметилродамин (TMRM), накапливающийся в митохондриях пропорционально их $\Delta\psi_m$.

Результаты и обсуждение

Было показано, что скорость образования H_2O_2 (ВАФК) выделенными митохондриями при окислении ими 5мМ малата (с глутаматом) составляла 110-120 пикомоль/мин/мг белка в контроле и повышалась после 6 сут. гипотермии до 180-190 пикомоль (рис.1). Переход митохондрий из состояния 3 в состояние 4 (после истощения АДФ) сопровождался усилением генерации H_2O_2 , которое было более выражено в контроле - на 70% напротив 30% в опыте, что способствовало снижению исходной разницы в ВАФК (рис.1). Вызванные гипотермией изменения ВАФК скорее всего были обусловлены уменьшением торможения электронного потока по ЭТЦ дыхания при переходе в состояние 4 и, как следствие, «сверхвосстановленности» ее компонентов, что, как правило, связывают с активацией целого ряда энерго-диссипирующих систем. Вместе с тем потенциальная ВАФК у митохондрий из закаленных проростков была почти вдвое выше по сравнению с таковой контроля, что было выявлено нами с помощью антибиотика аламетицина, который пермеабилзирует митохондрии, т.е. делает их мембраны проницаемыми для небольших молекул, в том числе АФК, без нарушения тонкой внутренней организации органелл [5]. Так, добавка 25 мкг/мл аламетицина к митохондриям позволила выявить «прибавку» в ВАФК в среднем на 50% и 120% в контроле и опыте, соответственно (рис.1). Причиной такой разницы может служить усиление гипотермией функционирования тех систем ЭТЦ митохондрий, которые «экскретируют» АФК в их внутренний компартмент, в первую очередь, комплекса I [5]. Холод-индуцированное возрастание градиента концентраций АФК, регистрируемых до и после внесения порообразователя аламетицина к митохондриям может быть обусловлено повышением как антиоксидантного потенциала их матрикса, так и барьерных свойств внутренней мембраны, что вместе взятое вероятно способствует снижению «экспорта» АФК из органелл.

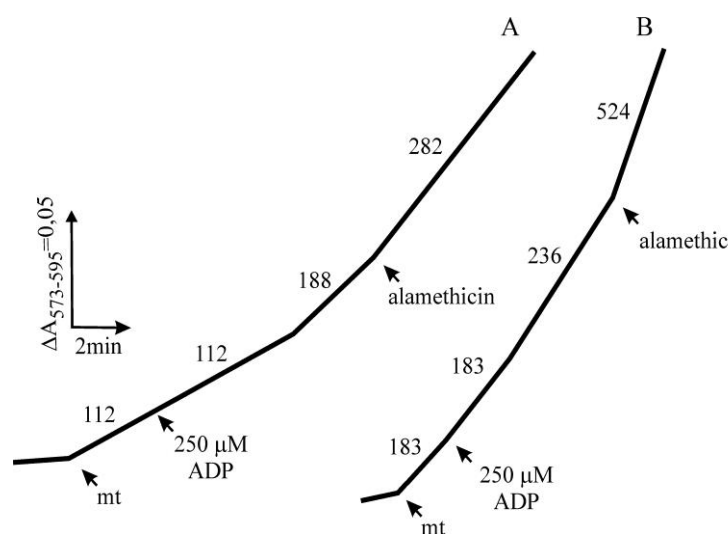


Рисунок 1 - Регистрация ВАФК в режиме реального времени в митохондриях, выделенных из проростков до (А) и после (В) холодной обработки (3-4°C, 6 сут.). Цифры над кривыми - пикомоли H_2O_2 /мин/мг белка

Figure 1 - Real-time detection of H_2O_2 production (pmol/min/mg protein) in mitochondria isolated from seedlings before (A) and after (B) cold acclimation (3-4°C, 6 d)

Визуализацию генерации АФК и мембранного потенциала митохондриями *in vivo* проводили после совместной загрузки соответствующих флуоресцентных красителей – DCFH2-DA и TMRM в интактные клетки колеоптилей в течение 30 мин при комнатной температуре. На рисунке 2А приведено типичное изображение дискретных точек свечения, детектируемых как индивидуальные митохондрии. Судя по величине флуоресценции TMRM, маркирующей локализацию митохондрий, высокая скорость генерации $\Delta\psi_m$ была характерна для отдельных митохондрий контроля (рис.2В, кривая 1), тогда как после холодового воздействия она понижалась (рис.2С, рис.2D). Это может быть связано с потенциал-зависимым уменьшением степени загрузки красителя в митохондрии. Интенсивность флуоресценции DCF в субкортексе клеток контрольных образцов практически не отличалась от фоновой (рис.2В, кривая 2). На 1-е сут холодового стресса наблюдали увеличение флуоресценции DCF в областях интересов, причем пики флуоресценции обоих красителей совпадали, что свидетельствует о колокализации процессов генерации АФК и $\Delta\psi$ (рис.2С). Более длительное воздействие гипотермии вызывало снижение интенсивности свечения DCF в колокализованных с

митохондриями областей (рис.2D). Возможные причины этого могут быть обусловлены таковыми, выявленными для органелл *in vitro*, и, судя по всему, носят адаптивный характер.

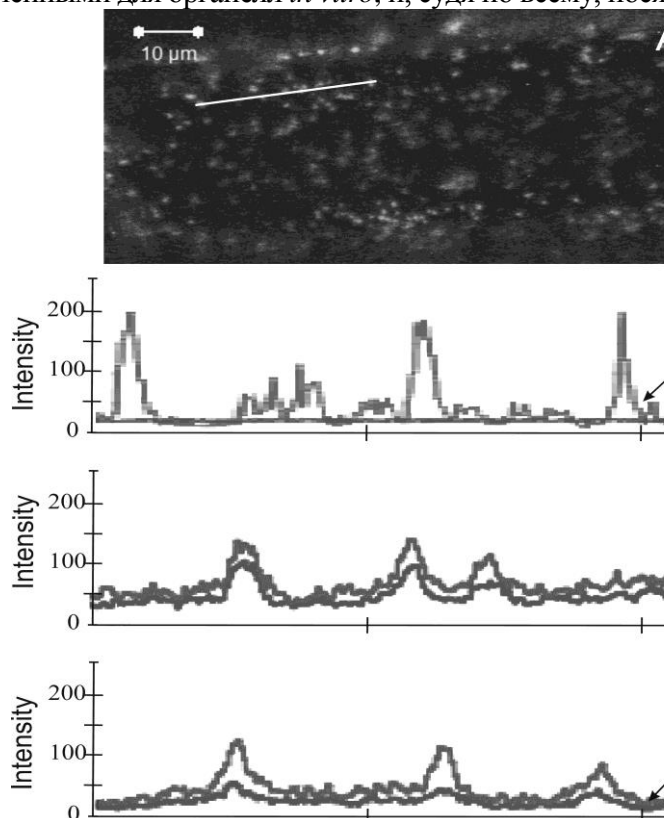


Рисунок 2 - Флуоресценция митохондрий *in vivo* в субкортикальном слое клетки coleoptilia (A) и профили интенсивностей свечения TMRM (1) и DCF (2) в клетках до (B), после 1сут (C) и 6сут (D) холодной обработки проростков. Отрезком линии (A) отмечена область интересов (пример)

Figure 2 - Imaging of mitochondria *in vivo* in subcortex of coleoptile cell (A) and profiles of fluorescence intensities of TMRM (1) and DCF (2) in cells before (B) and after 1d (C) or 6d (D) of cold acclimation. The line (A) shows a typical region of interest

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ (проект №13-04-01828).

Литература

1. Cvetkovska M., Alber N.A., Vanlerberghe G.C. The signaling role of a mitochondrial superoxide burst during stress // *Plant Signaling&Behavior*. 2013. V. 8. P.161-166.
2. Winterbourn C.C. The challenges of using fluorescent probes to detect and quantify specific reactive oxygen species in living cells // *BBA*. 2014. V. 1840. P. 730-738.
3. Абдрахимова Й.Р., Андреев И.М., Шугаев А.Г. Участие диссипативных систем в контроле энергетической эффективности дыхания в митохондриях этиолированных проростков озимой пшеницы // *Физиология растений*. 2011.Т.58, №4. С.509-517.
4. Moreno-Sanches R.,Hernandez-Esquivel L., Rivero-Segura N.A., et al. Reactive oxygen species are generated by the respiratory complex II - evidence for lack of contribution of the reverse electron flow in complex I// *FEBS Journal*. 2013. V. 280. P.927-938.
5. Gostimskaya I.S., Grivennikova V.G.,Zharova T.V.,Bakeeva L.E.,Vinogradov A.D. In situ of the intramitochondrial enzymes: use of alamethicin for permeabilization of mitochondria // *Analytical Biochemistry*. 2003. V. 313. P.46-52.

DETECTION OF ROS PRODUCTION IN WHEAT SEEDLING MITOCHONDRIA IN ORGANELLO AND IN VIVO: THE EFFECTS OF COLD ACCLIMATION

Abdrakhimova Y.R., Abdrakhimov F.A., Andreev I.M., Shugaev A.G.

Triticum aestivum, seedlings, mitochondria, in organello and in vivo, reactive oxygen species (ROS), alamethicin, fluorescent dyes, cold acclimation

Using a novel approaches with the specific fluorescent dyes optimized by us for real-time monitoring of ROS production in plant mitochondria *in vitro* and *in vivo*, it has been detected their cold-induced increase. But this was essential in isolated mitochondria permeabilized by the channel-former alamethicin indicating on their weak ROS “export” function, and a possible reasons are discussed in comparison with the results obtained in organelles in intact tissues.

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ МЕТИЛЖАСМОНАТА И
6-БЕНЗИЛАМИНОПУРИНА НА СОДЕРЖАНИЕ ДЕГИДРИНОВ И ПРОЛИНА В
ПРОРОСТКАХ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ ЗАСОЛЕНИЯ**

Авальбаев А.М., Аллагулова Ч.Р., Масленникова Д.Р., Шакирова Ф.М.

ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, пр. Октября, 71, г. Уфа, 450054, Россия,
E-mail: avalbaev@yahoo.com

пшеница, фитогормоны, дегидрины, пролин, засоление

Введение

К настоящему времени накопилось немало данных, свидетельствующих в пользу эффективности применения жасмонатов и цитокининов с целью повышения устойчивости к стрессовым факторам, вызывающим нарушение водного режима, и продуктивности разных культур [1, 2]. Вместе с тем, целенаправленное применение гормонов для управления устойчивостью и продуктивностью культур требует знания развиваемых в ответ на их обработку реакций в растениях, как в нормальных, так и в стрессовых условиях.

Ранее нами было выявлено, что обработка метилжасмонатом (МеЖ) в оптимальной в стимуляции роста растений пшеницы концентрации 100 нМ вызывает в проростках пшеницы быстрое обратимое двукратное накопление цитокининов (ЦК) на фоне отсутствия изменений в концентрации ИУК и АБК в норме, тогда как предобработка МеЖ способствует предотвращению вызываемого засолением падения концентрации ЦК в растениях [1]. Цитокинины вовлечены в регуляцию адаптации растений к стрессовым факторам разной природы [2], что позволило нам предположить вовлечение эндогенных ЦК в регуляцию протекторного действия МеЖ на растения пшеницы [1]. Об этом может свидетельствовать проведенный нами сравнительный анализ влияния 100 нМ МеЖ и цитокинина 6-бензиламинопурина (БАП) в концентрации 44 нМ, при которой он также как и МеЖ вызывает двукратное накопление эндогенных цитокининов без видимых сдвигов в содержании ИУК и АБК, который выявил в целом сходное предадаптирующее и защитное действие обоих гормонов на рост проростков пшеницы в условиях засоления [1].

Вместе с тем, важными компонентами растительной клетки, вовлекаемых в защиту клеточных структур от повреждающего действия засоления являются такие осмопротектанты как белки дегидрины и аминокислота пролин [3]. В связи с этим, представляла интерес оценка участия МеЖ и БАП в регуляции уровня дегидринов и пролина в норме и при натрий-хлоридном засолении, что и явилось целью настоящей работы.

Материалы и методы

Работу проводили на 4-сут проростках пшеницы *Triticum aestivum* L. сорта Башкирская 26. Семена после стерилизации 96%-ным этанолом проращивали в кюветах на фильтровальной бумаге в течение 3 сут.. После отделения эндосперма часть проростков помещали в стаканы с раствором 2% сахарозы в качестве питательной среды на 24 ч, затем на свежий раствор 2% сахарозы, содержащий 100 нМ МеЖ или 44 нМ БАП на разные промежутки времени в течение сут.. Другую часть проростков помещали в стаканы с 2% раствором сахарозы, содержащим МеЖ или БАП на 24 ч. Далее 4-сут необработанные и обработанные МеЖ или БАП проростки переносили на смесь 2% сахарозы и 2% NaCl на разные промежутки времени в течение сут.. Контролем во всех опытах служили проростки, инкубированные на растворе 2% сахарозы.

Содержание дегидринов в проростках определяли методом вестерн-блот анализа с использованием антител, полученных к высококонсервативному К-сегменту дегидринов, любезно предоставленные проф. T.Close (США) [4]. Содержание пролина определяли согласно [5].

Результаты и обсуждение

Как известно, белкам дегидринам и пролину отводится ключевая роль в защите растений от стрессовых факторов, вызывающих нарушение водного режима, в частности засоления [3]. Основываясь на полученных ранее результатах о сходном протекторном эффекте МеЖ и БАП на ростовые процессы проростков пшеницы в условиях засоления [1], важно было в сравнительном аспекте оценить участие этих фитогормонов в регуляции уровня этих осмопротектантов в норме и при действии 2% NaCl.

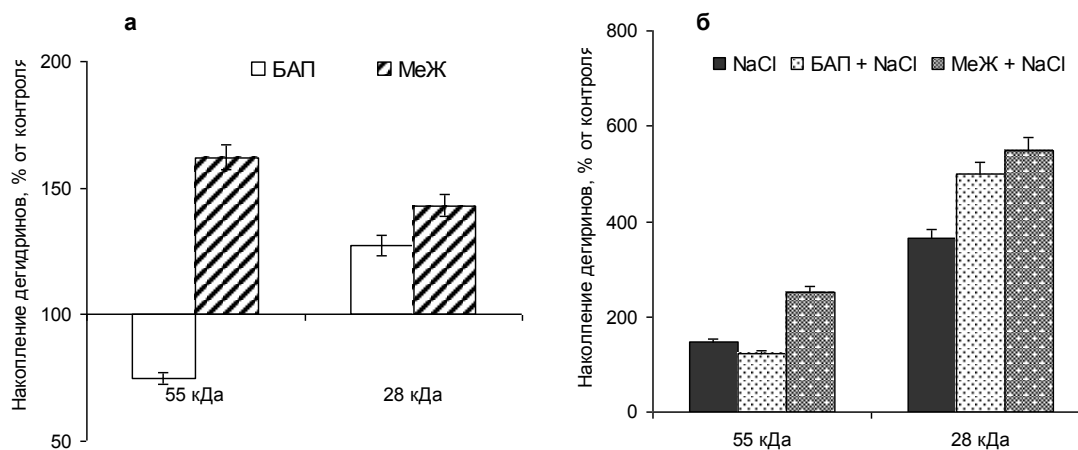


Рисунок 1 - Содержание дегидринов в обработанных и необработанных 100 нМ МЖ или 44 нМ БАП 4-сут проростках пшеницы в норме (а) и в условиях засоления (б)

Figure 1 - Dehydrins content in pretreated and untreated with 100 nM MeJA or 44 nM BAP 4-day-old wheat seedlings under optimal (a) and salinity conditions (б)

Так, инкубирование растений на среде, содержащей 2 % NaCl, привело к увеличению уровня двух иммунореактивных к антителам к К-сегменту дегидринов: 1.5-кратному накоплению дегидрина с М.м. 55 кДа и почти четырехкратному - дегидрина с М.м. 28 кДа (рис. 1б). Эффект обработки проростков пшеницы 100 нМ МеЖ или 44 нМ БАП на содержание этих дегидринов различался. В обработанных БАП проростках значимых изменений в уровне дегидринов выявлено не было, тогда как в обработанных МеЖ растениях наблюдалось 1.5–кратное увеличение содержания обоих дегидринов (рис. 1а). Интересно, что в предобработанных БАП растениях в условиях засоления происходило резкое в сравнении с контролем накопление дегидрина с М.м. 28 кДа без видимых изменений в уровне белка с М.м. 55 кДа, тогда как в предобработанных МеЖ проростках в этих условиях обнаружилось дополнительное накопление обоих дегидринов – уровень белка с М.м. 28 кДа увеличился более чем в 6 раз, а 55 кДа белка - в 2.5 раза (рис. 1б). Выявленные сходства и различия в ответе дегидринов на обработку БАП и МеЖ в норме и при засолении свидетельствуют о реализации под их влиянием как общих, так и альтернативных путей регуляции синтеза этих белков и вовлечении дегидринов в спектр защитного действия обоих гормонов на растения пшеницы.

Обнаружены различия в действии этих гормонов на содержание в проростках пшеницы и другого осмопротектанта - пролина. Так, сама обработка БАП в течение 24 ч вызывала почти 2-кратное увеличение концентрации пролина, тогда как МеЖ не оказал влияния на данный показатель (рис. 2а). В проростках, инкубированных на среде, содержащей 2% NaCl, наблюдалось поступательное увеличение концентрации пролина, так что к 24 ч оно достигло 3-кратного превышения контрольного значения (рис. 2б). Предобработанные БАП или МеЖ проростки в этих условиях характеризовались существенно меньшим уровнем стресс-индуцируемого накопления пролина, вероятно, вследствие меньшего уровня повреждающего действия засоления на эти растения (рис. 2б).

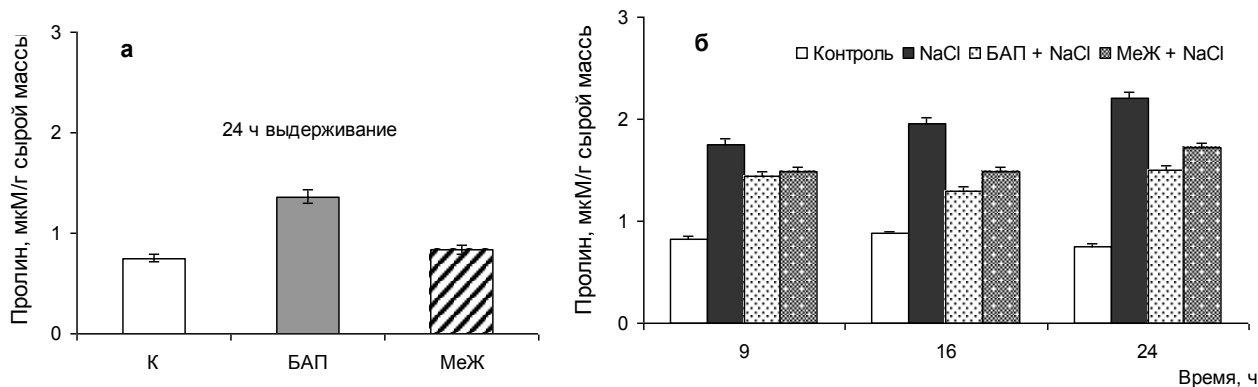


Рисунок 2 - Содержание пролина в обработанных и необработанных 100 нМ МеЖ или 44 нМ БАП 4-сут проростках пшеницы в норме (а) и в условиях засоления (б)

Figure 2 - Proline content in pretreated and untreated with 100 nM MeJA or 44 nM BAP 4-day-old wheat seedlings under optimal (a) and salinity conditions (б)

Следовательно, осмопротектанты вносят свой вклад в проявление преадаптирующего и защитного действия МеЖ и БАП на проростки пшеницы в условиях засоления, и полученные результаты свидетельствуют в пользу возможности вовлечения эндогенных цитокининов в регуляцию их уровня в предобработанных МеЖ растениях пшеницы в условиях засоления, однако, наряду с общими, реализуются альтернативные цитокининам регуляторные механизмы.

Заключение

Данные сравнительного анализа влияния МеЖ и цитокинина БАП на содержание белков дегидринов и пролина в норме и при засолении свидетельствуют о вовлечении этих осмопротектантов в спектр защитного действия обоих фитогормонов на растения пшеницы.

Литература

1. Shakirova F.M., Avalbaev A.M., Bezrukova M.V., Fatkhutdinova R.A., Maslennikova D.R., Yuldashev R.A., Allagulova Ch.R., Lastochkina O.V.. Hormonal intermediates in the protective action of exogenous phytohormones in wheat plants under salinity // In: Khan N., Nazar R., Iqbal N., Anjum N., eds. - *Phytohormones and Abiotic Stress Tolerance in Plants*. – Springer-Verlag Berlin Heidelberg. - P. 185-228.
2. O'Brien J.A., Benkova E. Cytokinin cross-talking during biotic and abiotic stress responses // *Front. Plant Sci.* - 2013. - 4:451. - doi: 10.3389/fpls.2013.00451
3. Kosová K., Prášil I.T., Vítámvás P. Protein contribution to plant salinity response and tolerance acquisition // *Int. J. Mol. Sci.* - 2013. - V. 14. - P. 6757-6789.
4. Close T.J., Fenton R.D., Moonan F. A view of plant dehydrins using antibodies specific to the carboxy terminal peptide // *Plant Mol. Biol.* - 1993. - V. 23. - P. 279–286.
5. Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water stress studies // *Plant and Soil.* - 1973. - V. 39. - P. 205-207.

A COMPARATIVE ANALYSIS OF METHYL JASMONATE AND 6-BENZYLAMINOPURINE ACTION ON DEHYDRINS AND PROLINE CONTENTS IN WHEAT SEEDLINGS UNDER SALINITY

Avalbaev A.M., Allagulova Ch.R., Maslennikova D.R., Shakirova F.M.

wheat, phytohormones, dehydrins, proline, salinity

The data of comparative analysis of MeJA and cytokinin BAP influence on the content of dehydrin proteins and proline in optimal and salinity conditions indicate the involvement of these osmoprotectants in the spectrum of the protective action of both phytohormones on wheat plants.

ГЕНЫ КОНТРОЛЯ ТЕМПОВ РАЗВИТИЯ РАСТЕНИЙ КАК ФАКТОРЫ ФОРМИРОВАНИЯ ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ

Авксентьева О.А., Жмурко В.В.

Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, пл. Свободы 4, г. Харьков,
61022, Украина, E-mail: avksentyeva@rambler.ru

пшеница мягкая Triticum aestivum L., соя культурная Glycine max (L.) Merr, почти изогенные линии (NILs), фотопериодическая реакция, темпы развития растений, засухоустойчивость

Введение

Известно, что продолжительность онтогенеза, темпы и скорость развития растений являются эволюционно сложившимися, наследственно закреплёнными признаками и контролируются несколькими генетическими системами. У пшеницы мягкой *Triticum aestivum L.* - ценнейшей продовольственной зерновой культуры - это система генов VRN (vernalization), детерминирующая темпы и тип развития (яровой или озимый) [1] и система генов PPD (photoperiod), определяющая степень чувствительности и/или нечувствительности к фотопериоду [2]. У сои культурной *Glycine max (L.) Merr.* - самой распространенной в мире высокобелковой масличной культуры, широко используемой в технических, кормовых и пищевых целях - в регуляции скорости развития ведущая роль принадлежит системе генов EE (early), детерминирующих продолжительность периода до цветения [3] и фотопериодическую чувствительность [4]. Продуктивность данных сельскохозяйственных культур зависит от реализации генетически заложенных потенциалов урожайности, а также влияния конкретных погодно-климатических условий, действующих на определенном этапе онтогенеза растений [5], который детерминируется генами контроля темпов развития. Генетические эффекты данных систем на ряд агрономических и физиолого-биохимических признаков - структуру урожая, продуктивность, белковость и масличность зерна достаточно хорошо изучены [6]. Однако, в литературе отсутствуют данные об исследовании влияния данных систем генов контроля темпов и типа развития на засухоустойчивость этих важнейших сельскохозяйственных культур. В современных условиях изменяющегося климата, сопровождаемых регулярными засухами и экстремально высокими температурами [7], представляется актуальным исследование эффектов данных генетических систем, контролирующих темпы развития растений пшеницы мягкой и сои культурной на степень их засухоустойчивости.

Материалы и методы

Целью данной работы было проведение скрининга степени засухоустойчивости изогенных по генам контроля типа и темпов развития линий пшеницы, а также сортов и изогенных линий сои с различной фотопериодической реакцией. Объектами исследования служили модельные генетические системы, представленные моногеннодоминантными почти изогенными (NILs) по системе генов VRN и PPD линии мягкой пшеницы и сорт, в генотипе которого созданы данные линии - Мироновская 808, а также моногеннодоминантными почти изогенными линиями (NILs) по системе генов EE сои, созданными в генофоне сорта Clark и фотопериодически контрастными сортами сои - фотопериодически нейтральным - Bravella и короткодневным - ВИР 1746. Засухоустойчивость определяли тремя группами методов: 1) экспресс-анализ по прорастанию семян в условиях искусственной засухи; 2) по угнетению роста проростков и накопления биомассы так же в условиях искусственной засухи; 3) по накоплению пролина в условиях водного стресса в вегетационных опытах *in vivo*. Засухоустойчивость определяли путем отношения исследуемых показателей опытных растений к контрольным, выраженных в процентах [8].

Результаты и обсуждение

Анализ обобщенных результатов изучения засухоустойчивости изогенных линий пшеницы (табл. 1) показывает, что в условиях засухи наиболее высокие показатели среди исследованных линий были у линии PPD-A1a, наименьшие показатели имела линия PPD-B1a. Уровень засухоустойчивости сорта существенно выше, чем у линий PPD-B1a и PPD-D1a, а по некоторым показателям такой же, как у линии PPD-A1a. Среди линий VRN наиболее низкими показателями засухоустойчивости характеризуется медленно-развивающаяся изолиния VRN B1a, а наиболее высокими – линии VRN D1a и VRN-A1a, что свидетельствует о связи состояния конкретных локусов генов VRN со свойством засухоустойчивости.

Таблица 1 - Засухоустойчивость изогенных линий пшеницы сорта Мироновская 808, %
Table 1 - Drought resistance near isogenic lines of wheat cultivar Mironovskaya 808%

Изогенная линия*	Показатели засухоустойчивости, % к контролю			
	всхожесть семян	прирост биомассы растения	оводненность листьев	содержание пролина
PPD-D1a	33,23	70,69	84,46	42,15
PPD-B1a	28,95	65,78	82,11	32,54
PPD-A1a	39,00	72,43	87,67	48,18
VRN-A1a	45,56	88,15	90,03	67,03
VRN-B1a	30,09	72,50	86,18	59,24
VRN-D1a	42,89	78,20	88,73	61,60
Сорт**	42,18	67,47	88,46	51,58
НСР0,5	4,45	2,86	2,73	1,56

* – указаны доминантные локусы; ** – все локусы в рецессивном состоянии

Таблица 2 - Засухоустойчивость изогенных линий и сортов сои с различной фотопериодической реакцией

Table 2 - Drought tolerance of isogenic lines and soybean varieties with different photoperiodic reaction

Изогенная линия, сорт	Показатели засухоустойчивости, % к контролю			
	всхожесть семян	прирост		содержание пролина
		биомассы проростка	длины проростка	
ВИР1746	46,13	56,66	71,98	87,15
Bravella	59,99	72,43	82,66	89,72
L65-3366	48,58	56,73	74,78	88,66
L71-920	92,84	83,73	91,24	93,10
IR 903	82,66	77,10	83,82	91,09
IR 907	89,76	80,02	87,34	92,01
НСР0,5	11,25	7,83	2,14	1,15

Результаты изучения степени засухоустойчивости образцов сои (табл.2) показали, что изолиния L71-920, характеризующаяся фотопериодически нейтральной реакцией проявляла максимальную устойчивость к действию засухи при использовании всех трех методов. При изучении действия искусственной засухи на рост проростков установлена различная реакция надземной и подземной их части на стресс. Снижение биомассы надземной части было незначительным, а корневой системы – существеннее. Накопление пролина в большей степени выявлено у более чувствительных к засухе изолиний.

Заклучение

Таким образом, изолинии пшеницы, характеризующиеся быстрыми темпами развития и слабой фотопериодической чувствительностью, проявляют более высокую степень засухоустойчивости по сравнению с медленно развивающейся изолинией, показавшей минимальную устойчивость к водному стрессу. Изолинии сои и сорт Bravella, характеризующиеся фотопериодической нейтральностью, также проявляют более высокую степень засухоустойчивости, по сравнению с короткодневными изолиниями и сортом ВИР с минимальными показателями засухоустойчивости. Полученные результаты дают основание предполагать, что формирование степени засухоустойчивости мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. и сои культурной *Glycine max* (L.) Merr. опосредованно связано с генотипом по генам контроля темпов их развития – доминантным и/или рецессивным состоянием их конкретных локусов.

Литература

1. Trevaskis B. The central role of the VERNALIZATION1 gene in the vernalization response of cereals // *Functional Plant Biology*. -2010. - 37. – P. 479–487.
2. Стельмах А.Ф., Файт В.И., Мартынюк В.Р. Генетические системы типа и контроля скорости развития мягкой пшеницы // *Цитология и генетика*. – 2000. – Т.34, №2. – С.39-45.
3. Cober E.R., Voldeng H.D. Low R:FR light quality delays flowering of E7E7 soybean lines. // *Crop Sci.* – 2001b. – № 41 – P. 1823-1826.
4. Cober E.R., Voldeng H.D. A new soybean maturity and photoperiod-sensitivity locus linked to E1 and T. // *Crop Sci.* – 2001a. – № 41. – P. 698-701.
5. Моргун В.В., Швартау В.В., Киризий Д.А. Физиологические основы формирования высокой продуктивности зерновых злаков // *Физиология и биохимия культ. растений*. – 2010. – Т.42, №5. – С.371-393.
6. Эффекты генов фотопериодической чувствительности (PPD и EE) и потребности в яровизации (VRN) на физиолого-биохимические у растений / В.В. Жмурко, О.А. Авксентьева, А.И. Зубрич и др. // *Fiziologia și biochimia plantelor* – 2011. - № 3 (315). – С. 72-79.
7. Моргун В.В., Киризий Д.А., Шадчина Т.К. Экофизиологические и генетические аспекты адаптации культурных растений к глобальным изменениям климата // *Физиология и биохимия культ. растений*. – 2010. – Т.42, №1. – С.3-23.
8. Практикум по росту и устойчивости растений / Под ред. В.В. Полевого. – Изд-во С.-Петербур. ун-та, 2001. – 212 с.

GENES CONTROL PACE OF DEVELOPMENT PLANT AS A FACTOR OF DROUGHT TOLERANCE

Avksentyeva O.A., Zhmurko V.V.

Triticum aestivum L., *Glycine max* (L.) Merr, nearly isogenic lines (NILs), photoperiodic reaction, drought

The results of screening degree of drought resistance isogenic lines and varieties of wheat and soybean differing rate, type of development and photoperiodic reaction carried out by three groups of methods. It is shown that photoperiodic neutral isogenic lines and cultivars of wheat and soybean exhibit a high degree of drought tolerance in comparison with photoperiodic sensitivity samples. Suggested, that the formation degree of drought tolerance in some way related with genetic systems control rates of development of plants.

**АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ И БИОСИНТЕЗ
ГИНЗЕНОЗИДОВ В ЛИСТЬЯХ КУЛЬТИВИРУЕМОГО ПРИМОРСКОГО И
КОРЕЙСКОГО ЖЕНЬШЕНЯ (*PANAX GINSENG* С.А. MEYER)**

Авраменко Т.В.¹, Бурундукова О.Л.¹, Маханьков В.В.², Булгаков Д.В.¹, Шкрыль Ю.Н.¹,
Веремейчик Г.Н.¹, Музарок Т.И.¹

¹ФГБУН Биолого-почвенный институт Дальневосточного отделения РАН, 100-летия Владивостока, 159, Владивосток, 690000, Россия, E-mail: avrtanya@yandex.ru

²ФГБУН Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН,
ул. 100-летия Владивостока, 159, г. Владивосток, 690000, Россия,
E-mail: mvvslav@mail.ru

Panax ginseng, доместикация, гинзенозиды, СОД, КАТ, АП, ГР

Введение

Дикорастущий женьшень *Panax ginseng* С.А. Meyer – исчезающее лекарственное растение, облигатный сциофит хвойно-широколиственных лесов РДВ. Для стресс-толерантной экологической стратегии реликта характерен высокий уровень вторичного метаболизма и биосинтеза биологически активных веществ. Окультуривание "корня жизни" началось в Корее еще в первом веке до н. э., и было призвано восполнить ресурсы ценного лекарственного сырья. В настоящее время женьшень успешно культивируется в Корее и Китае, и является основой для создания многих композиций биологически активных добавок, предназначенных на экспорт. Опыты по промышленному культивированию женьшеня в Приморье были предприняты в 30-60 годы и были весьма успешными, но, в связи с экономической ситуацией в 90-е годы, не получили дальнейшего развития. Плантационное культивирование женьшеня в Приморье остается на этапе первичной доместикации. Сравнительные исследования растений, полученных из семян приморского и корейского происхождения в одинаковых оранжерейных условиях, показали, что корейский женьшень более продуктивен, отличается более быстрыми темпами роста и развития (Грушвицкий, 1961). Известно, что характер взаимосвязи между уровнем стресс-толерантности растения и уровнем его урожайности является реципроктным. Более того, ранее было показано, что активация защитных механизмов сопряжена с активацией биосинтеза вторичных метаболитов (Shkryl et al., 2008). Закономерно ожидать ослабление активности вторичного метаболизма, в том числе и биосинтеза гинзенозидов у корейского женьшеня в сравнении с приморским, но часто это экспериментально не подтверждается. Причины не вполне понятны. На клеточных культурах женьшеня показали, что под действием стрессорного фактора содержание гинзенозидов увеличивается (Ali et al., 2006). Мы предполагаем, что в условиях искусственной плантации женьшень подвержен действию стрессорных факторов. Известно, что в условиях абиотического стресса происходит активация ферментов-антиоксидантов, ответственных за восстановление редокс-статуса.

Таким образом, основная задача данной работы состояла в изучении влияния доместикации на активацию защитных систем у растений корейского и приморского женьшеня в условиях Приморья, оценка окислительно-восстановительного статуса включала исследование и сравнительный анализ активности антиоксидантных ферментов СОД, КАТ, АП и ГР и биосинтеза гинзенозидов.

Материалы и методы

Исследования выполнены в 2012 году на 4-5 летних вегетирующих растениях коллекционного питомника БПИ ДВО РАН. Коллекция сформирована из дикорастущих растений, собранных в местообитаниях хребта Синего (Спасский р-он., Приморский край) (П) и растений корейской красноплодной (КК) и желтоплодной (КЖ) разновидностей, выращенных из семян. Для анализа использовали усредненную пробу листьев из 5-7 растений. Содержание

гинзенозидов измеряли на хроматографе (“LaChrom”, Merk Hitachi, Япония) по ранее описанной методике (Маханьков и др., 2007). Экстракцию белка для измерения активности антиоксидантных ферментов проводили по стандартной методике (Elavarthi and Martin, 2010). Концентрацию белка определяли по методу Лоури, используя в качестве стандарта бычий сывороточный альбумин. Активности ферментов супероксиддисмутазы (СОД) (ЕС 1.15.1.1), каталазы (КАТ) (ЕС 1.11.1.6), аскорбатпероксидазы (АП) (ЕС 1.11.1.7) и глутатионредуктазы (ГР) (ЕС 1.6.4.2) определяли спектрофотометрически (Elavarthi and Martin, 2010).

Измерение активности ферментов и окисленного глутатиона проводили в 4 аналитических повторностях. Стандартную ошибку и статистический анализ полученных результатов проводили в программе Statistica (версия 10).

Результаты и обсуждение

Максимальное содержание суммы гинзенозидов наблюдали у приморского женьшеня. минимальное у корейского желтоплодного. Различия по сумме гинзенозидов у приморского и корейского красноплодного женьшеня слабо выражены, но по содержанию отдельных гинзенозидов проявляются отчетливо: содержание гинзенозида Rb1 у корейского выше в 3 раза, а гинзенозидов Re, Rd, F2 ниже на 25-35%. У корейского желтоплодного в сравнении с приморским женьшенем в два раза ниже содержание гинзенозидов Rg1 и F2, и существенно ниже индекс Rg/ Rb (соотношение суммарного содержания гинзенозидов протопанаксатриола (Rg) к сумме гинзенозидов протопанаксадиола (Rb)). Снижение содержания суммы гинзенозидов в ряду приморский - корейский красноплодный - корейский желтоплодный положительно коррелирует с изменением содержания Re, Rd, F2 и с индексом Rg/ Rb (Таб. 1). Поскольку, исследованные нами разновидности существенно отличаются по качественному составу гинзенозидов, возможно приморский и корейский женьшень будут различаться по своим антиоксидантным свойствам.

Таблица 1 - Содержание гинзенозидов в листьях приморского и корейского культивируемого женьшеня

Table 1 - Ginsenoside contents in leaves of Primorsky and Korean cultivated ginseng

Проба	Rg/Rb	Rg1	Re	Rb1	F1	Rd	F2	Сумма
Приморский	0.91	2.60	7.82	0.74	1.25	2.29	10.31	25.07
Корейский красноплодный	0.82	3.75	5.62	3.34	1.27	1.76	7.01	22.75
Корейский желтоплодный	0.68	1.19	5.00	3.58	2.44	1.68	5.30	19.19

Примечание. Группа гинзенозидов Rg (Rg1, Re и F1), группа гинзенозидов Rb (Rb1, Rd и F2).

Сравнительные исследования активности антиоксидантных ферментов показали, что, активность ферментов АП отличалась несущественно, а СОД, КАТ и ГР была достоверно выше у корейского женьшеня (Таб. 2). Максимальные значения активности СОД наблюдается у корейского желтоплодного, а ГР, КАТ – у корейского красноплодного. Активность ферментов ГР, КАТ коррелировала с уровнем GSH/GSSG, наблюдали обратную корреляцию активности СОД с Rg/ Rb и содержанием гинзенозидов Rd, F2, Re.

Выводы

В условиях Приморья у растений корейского женьшеня наблюдается более высокая активность антиоксидантных ферментов СОД, КАТ и ГР в сравнении с приморским плантационным женьшенем. Наблюдается обратная корреляция активности SOD и суммы гинзенозидов и индекса Rg/Rb. Желтоплодная разновидность отличается низким содержанием суммы гинзенозидов и более высоким содержанием гинзенозидов группы протопанаксадиола.

Таблица 2 - Анализ активности антиоксидантных ферментов в листьях приморского и корейского культивируемого женьшеня

Table 2 - Activity of antioxidant enzymes in leaves of Primorsky and Korean cultivated ginseng

Показатель	Приморский плантационный	Корейский красноплодный	Корейский желтоплодный
СОД, усл.ед./мг-1 белка	19,85±1,46	26,08±2,29	34,51±3,49
КАТ, мМ мин-1 мг-1 белка	45,04±0,44	62,53±0,42	53,90±0,64
ГР, μМ мин-1 мг-1 белка	1,69±0,13	4,64±0,64	2,67±0,31
АП мМ мин-1 мг-1 белка	0,61±0,06	0,68±0,11	0,69±0,15

Литература

1. Грушвицкий И.В. Женьшень: вопросы биологии. Л., 1961. 344 с.
2. Маханьков В.В., Бурундукова О.Л., Музарок Т.И. и др. Содержание гинзенозидов в листьях *P. ginseng* С.А. Меу. в зависимости от возраста растений//Растительные ресурсы. 2007. Т. 43. № 3. С. 107-115.
3. Ali M.B., Hahn E.J., Paek K.Y. Copper-induced changes in the growth, oxidative metabolism, and saponin production in suspension culture roots of *Panax ginseng* in bioreactors//Plant Cell Reports 2006, Volume 25, 10, pp 1122-1132.
4. Elavarthi S. and Martin B. Spectrophotometric Assays for Antioxidant Enzymes in Plants. 2010. Plant Stress Tolerance, Methods in Molecular Biology, p.639.
5. Shkryl YN, Veremeichik GN, Bulgakov VP, Tchernoded GK, Mischenko NP, Fedoreyev SA, Zhuravlev YN. (2008). Individual and combined effects of the rolA, B, and C genes on anthraquinone production in *Rubia cordifolia* transformed calli. Biotechnol Bioeng. 100: 118-25.

ACTIVITY OF ANTIOXIDANT ENZYMES AND GINSENOSE BIOSYNTHESIS IN LEAVES OF PRIMORSKY AND KOREAN CULTIVATED *PANAX GINSENG* C.A. MEYER.

Avramenko T.V., Burundukova O.L., Makchankov V.V., Bulgakov D.V., Shkryl Yu.N., Veremeychik G.N., Muzarok T.I.

Panax ginseng, domestication, adaptation, ginsenoside, SOD, CAT, APX, GR

Higher activities of SOD, GR and CAT antioxidant enzymes were observed in Korean variety of ginseng in comparison with Primorsky variety, cultivated in Blue Mountains region of Primorsky kray. Yellowfruit type of *Panax ginseng* distinguishes with lower content of ginsenoside sum, but higher content of its protopanaxadiol group compounds.

**ПЕРСПЕКТИВЫ ФИТОРЕМЕДИАЦИИ
НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ АБШЕРОНА**

Азизов И.В.¹, Шамилов Э.Н.², Абдуллаев А.С.², Нагиев Д.А.², Рзаев А.А.², Самедов П.А.³

¹Институт Ботаники НАН Азербайджана, Бадамдарское шоссе, 40, г. Баку, AZ1073,
Азербайджан, E-mail: i.azizov@rambler.ru

²Институт Радиационных Проблем НАН Азербайджана, ул. Ф. Агаева, 9, г. Баку, AZ1141,
Азербайджан

³Институт Почвоведения НАН Азербайджана, ул. М. Арифа, 5, г. Баку,
AZ1073, Азербайджан

Agropiron elongatum, Amaranthus retroflexus, Thlaspi ocrroleucum, серо-бурые почвы, экологический мониторинг

Стабильная жизнедеятельность наземных экосистем, в которых происходят сложные процессы трансформации органоминеральных веществ и энергии, на каждом трофическом уровне пищевой цепи значительной степени зависит от эффективного функционирования почвенного покрова. Поступающие в почву техногенные вещества и их активная эмиссия приводит к значительному подавлению биологических процессов, изменению физико-химических свойств, снижению темпов гумусообразования и потери почвенного плодородия. Как правило, следствием такого техногенного воздействия является частичное, а иногда полное нарушения экологических функций самой почвы.

В настоящее время нефть и нефтепродукты являются основными загрязнителями почв. Достаточно сильно загрязнены почвы, прилегающие к нефтяным скважинам, нефтезаливным станциям, в местах разлива нефти и др. Для оценки влияния этих поллютантов на почвы вначале определяли фитотоксичность (по прорастанию семян льна, ржи), кислотно-основные свойства, их буферность и лишь после этого предлагались различные рекультивационные мероприятия (3). В результате технологических процессов в почву поступают разнообразные соединения тяжёлых металлов и радиоактивных веществ, которые способны существенно нарушать жизнедеятельность природных экосистем. Поэтому, для оценки экологического состояния загрязнённых и деградированных почв все чаще применяют методы биотестирования (реакцию организмов на загрязняющие отходы) предусматривающие использования биологических тест-объектов (растения, беспозвоночных, микроорганизмов) из различных систематических групп и индивидуальным уровнем их организации (4).

С этой точки зрения проблема техногенного загрязнения почв естественных ландшафтов прилегающих к промышленным предприятиям в настоящее время приобретает большую актуальность в связи с резким ухудшением экологического состояния окружающей среды. Основными источниками загрязняющих веществ при этом являются формирующиеся центры накопления канцерогенных компонентов с мощными миграционными потоками. Учитывая, что почва является одним из главных аккумуляторов загрязняющих веществ, то становится весьма очевидным, как эти вещества через трофические связи поступают в живые организмы, нарушая функционирование пищевых цепей экологической пирамиды.

Исследования проводились нами на примере серо-бурых почв Абшеронского полуострова, для которого характерен умеренно-тёплый, субтропический, полупустынный климат. Годовая количество выпавших осадков доходит до 150-300 мм, с низким коэффициентом увлажнения – КУ-0,3-0,5. Суммарная температура выше 10°C составляет - 4560°C. Величина испаряемости влаги значительная и изменяется между 1000-2000 мм, что создаёт условия дефицита увлажнения (2).

Среднегодовая температура воздуха варьирует между 13,5-15,0 °C (самая низкая температура 2,6-3,8°C наблюдается в январе, а самая высокая 25,6-26,8°C иногда 40-43°C отмечается в

июле-августе (5). Уровень грунтовых вод при их минерализации 2,5-3,0г/л колеблется между 2-7 м, формируется эти почвы под естественной растительностью (полынь, верблюжья колючка, караган, солянки, эфемеры) с низкой надземной фитомассой –3-10 ц/га (1).

Серо-бурые почвы развиваются на различных почвообразующих породах соленосных (в основном гипсоносных) третичных глинах (и продуктах их выветривания), поэтому механический состав у таких почв глинисто-тяжело-суглинистый; на плотных известняках, иногда песчано-ракушечном материале с суглинистым, суглинисто супесчаным механическим составом.

Антропогенная деятельность существенным образом изменила многие особенности серо-бурых почв, значительная часть из них (вдоль Самур-Абшеронского канала) широко используются в сельскохозяйственном производстве, однако большие площади этих земель, подвергнутые техногенному (нефтяному) загрязнению требуют всестороннего их изучения и последующей рекультивации (6).

Проведённый экологический мониторинг серо-бурых почв с различной степенью засоления, антропогенной нагрузкой, а также экспериментальные исследования показали, что некоторые техногенные отходы, в частности нефть и нефтепродукты загрязняя почвенную, среду резко изменяли биохимическую активность, рост и развития растений, гумусообразования, деятельность различных групп микрофлоры и беспозвоночных животных (7,12).

Особую значимость в таких случаях приобретает экологическая оценка нефтепромысловых территорий. В настоящее время на Абшероне участки загрязнённые нефтяными отходами составляют более 30 тыс/га, из них более 13 тыс. замазучены и битумизированы. Кроме того нефтяные отходы (особенно тяжёлые фракции) и нефтепромысловые воды могут выступать в роли источников загрязнения различных типов почв нефтяными поллютантами, тяжёлыми металлами и радиоактивными веществами (8,10,11).

Территории подверженные нефтезагрязнению отличаются изреженностью и скудностью группового состава беспозвоночных животных (9).

В целом, биогеохимическое изучение характера загрязнения окружающей среды (почв, естественных ландшафтов) – это комплекс взаимосвязанных, синхронизированных и территориально-совмещённых исследований, включающих выявление и количественную оценку источников загрязнения, выявления путей миграции загрязняющих веществ, и их концентрации на отдельных биогеохимических уровнях, и определение возникших экологических последствий.

Исследование нефтезагрязнённых серо-бурых почв с использованием системного анализа предусматривают комплексные биоэкологические экспериментальные подходы (мелькоделяночные полевые опыты) благодаря которым можно получить более обширные данные о биологических процессах почв загрязнённых биотопов и разработать на их основе приемлемые оздоровительно-биоремедиационные мероприятия.

Важная роль при экологической характеристике загрязнённых территорий принадлежит аборигенной флоре, так как растения являются наиболее важными природными компонентами, участвующими в решении проблемы нейтрализации вредных воздействий индустриального производства (13). Поэтому в первую очередь необходимо изучить и характеризовать видовой состав растений, встречаемых на загрязнённых территориях. В ходе экспедиций на территории Абшерона нами описаны растения принадлежащие к разным видам: *Aeluropus littorasis*, *Lolium rigidum*, *Elytrigia elongatiformis*, *Avena eriantha*, *Glycyrrhiza glabra*, *Salsola dendroides*, *Artemisia scoparia*, *Kochia prostrata*, *Phragmites australis*, *Cynodon dactylon*, *Tupha angustifolia*, *Alhagi pseudalhagi*, *Amaranthus retroflexus*, *Agropiron elongatum*, *Bromopsis riparia*, *Phleum phleoides*, *Juncus acutus*, *Beckmania eruciformis*.

Аккумулярующая способность некоторых видов уже описана в работах ряда авторов. Так, показано (14), что *Amaranthus hypochondriacus* и *Agropiron elongatum* способны аккумулялировать из почвы кадмия, а *Festuca rubra* – цинка. Проведенные нами исследования показа-

ли, что *Agropiron elongatum*, *Amaranthus retroflexus*, *Thlaspi ocrroleucum* способны поглощать из почвы и аккумулировать тяжелые металлы и радионуклиды.

Используя естественные трофические связи, существующие в биоценозах между почвенными микроорганизмами, беспозвоночными и растениями, можно осуществить очищению техногенно - загрязненных почв.

Литература

1. Алиев С.А. – Экология и энергетика биохимических превращения органического вещества почв. Баку, «Эльм». 1978, 252 с.
2. Волобуев В.Р. – Экология почв. Баку, Изд. АН Азерб. ССР, 1963, 270с.
3. Овцинов В.И, Шпис Т.Э. – Влияние техногенного загрязнения на устойчивость агроценозов и качество сельскохозяйственной продукции. IV съезд почвоведов России кн. 1, Новосибирск, 2004, с. 304.
4. Бакина А.Г., Бардина Т.В и др. – Методологические особенности оценки экологического состояния загрязнённых почв методами биотестирования. IV съезд почвоведов России кн. 1, Новосибирск, 2004, с. 197.
5. Шыхлинский Э.Ш., Мадатзаде А.А – Климат Азербайджана. Баку, Изд. АН Азерб. ССР, 1968.
6. Салаев М.Э, Бабаев М.П., Гасанов В.Г., У.М. Джафарова – морфогенетические профили почв Азербайджана. Баку, «Эльм». 2004, 202 с.
7. Бабаекова Л.А., Самедов П.А, Мамедзаде В.Т. – Биологическая характеристика нефтезагрязнённых почв. Труды Института Почвоведения и Агрохимии НАНА, т. XVIII, 2009. с. 86-92.
8. Чесноков С.М., Феоктистова И.Д. – Экологическая оценка почв городских ландшафтов. IV съезд почвоведов России кн. 1, Новосибирск, 2004, с. 317.
9. Самедов П. А. – Беспозвоночные животные, как биоиндикаторы нефтезагрязненных почв. Ж. Аграрная наука Азербайджана. н. 6, 2008. с. 24-25.
10. Акимова Н.Ф. – Экологическая модель плодородия нефтепромысловых земель Абшеронского полуострова. Автореф. на соиск. уч. ст. к.б.н., Баку, 2005, 19 с.
11. Мамедов Г.Ш., Акимова Н.Ф. – Экологическая модель плодородия нефтезагрязнённых почв. Баку, «Эльм». 2003, 50 с.
12. Кахраманова Т. Б. – Освоение нефтезагрязнённых почв озимой пшеницей. Труды общества почвоведов Азербайджана. Баку, 2001, т. VIII. с. 75-76.
13. Башмаков Д.И., Лукатин А.С. – Аккумуляция тяжелых металлов некоторыми высшими растениями в разных условиях местообитания, Агрономия 2002, № 9, ст. 66-71.
14. Галиулин Р.В., Галиулина Р.А. Фитоэкстракция тяжелых металлов из загрязненных почв. Агрохимия.2003.№ 3.С.77-85.

VEGETATION OF THE PETROPOLLUTED GRAY-BROWN SOILS OF ABSHERON AND PROSPECTS OF CLARIFICATION OF THESE TERRITORIES

Azizov I.V., Shamilov E.N., Abdullaev A.S, Nagiyev D.A., Rzayev A.A., Samedov P.A.

gray-brown soils, environmental monitoring, Agropiron elongatum, Amaranthus retroflexus, Thlaspi ocrroleucum

As a result of the conducted soil and ecological researches the specific structure of the plants widespread in polluted territories of Absheron was defined and characterized. Species of the plants, capable to absorb and accumulate heavy metals and radionuclides were defined.

Казахский национальный университет им. аль-Фараби МОН РК, пр. аль-Фараби, 71,
г. Алматы, 050040, Республика Казахстан, E-mail: raya_aa@mail.ru

озимая пшеница, генотипы, металлоустойчивость, накопление тяжелых металлов

Введение

Восточный Казахстанский промышленный центр характеризуется наличием большого числа техногенных загрязнителей, среди которых лидирующая роль принадлежит тяжелым металлам. Наиболее острая проблема, решение которой имеет практическое значение, является загрязнение тяжелыми металлами агроценозов вблизи крупных промышленных центров. Отдельные сорта различных видов продовольственных культур проявляют существенные различия по устойчивости к действию почвенных загрязнителей. Эти их свойства можно использовать в экологически чистом производстве, подбирая наиболее металлоустойчивые культуры получать экологически безопасную продукцию. Металлоустойчивые формы также могут служить донорами при создании толерантных к загрязнителям сортов растений (1).

В связи с этим, были исследованы различные генотипы озимой пшеницы, важной сельскохозяйственной культуры, для выявления металлоустойчивых видов с целью их дальнейшего использования в экологически чистом производстве и селекционном процессе.

Материалы и методы

В эксперименте изучались генотипы озимой пшеницы мировой коллекции: Мироновская 808 – сорт озимой мягкой пшеницы, Красноводопадская 25 – казахстанский сорт озимой мягкой пшеницы, Купава – российский сорт озимой мягкой пшеницы, МК-3745 – перспективная линия озимой мягкой пшеницы SIMMIT, тритикале – сорт Таза, *Triticum compactum* Host., *Triticum timopheevii* Zhuk., *Triticum monococcum* L., *Triticum triunciale* L., *Triticum dicoccum* Schuebl. – дикие сородичи пшеницы.

Растения выращивались на научно-испытательном участке, в условиях естественного загрязнения среды, в пригородной зоне г.Усть-Каменогорска, Восточно-Казахстанской области. Содержание тяжелых металлов в растениях определяли методом атомной абсорбции на приборе AAnalyst 300 фирмы “Perkin Elmer”. Проведение опытов и определение физиологических показателей проводилось по методике полевого опыта (2).

Результаты и обсуждение

Исследования содержания тяжелых металлов в почве прикорневой зоны различных генотипов озимой пшеницы показали, что по отношению к ПДК не наблюдается превышение концентрации свинца, но наблюдается превышение концентрации цинка, меди и кадмия.

Исследование содержания цинка, меди, кадмия и свинца в семенах различных генотипов озимой пшеницы представится наиболее важным, так как зерно пшеницы используется в пищевой промышленности. Наши исследования накопления цинка в семенах генотипов мировой коллекции показали, что этот металл накапливается в значительном количестве и его содержание превышает ПДК для зерна во всех генотипах и только в семенах сорта тритикале Таза акого превышения не наблюдается (рис. 1).

Содержание меди в семенах различных генотипов мировой коллекции не превышает ПДК ни в одном варианте опыта.

В отношении кадмия наблюдаются не только значительное его накопление в семенах, но также заметные различия между исследуемыми генотипами. Содержание кадмия превышает ПДК для зерна почти во всех вариантах опыта, только такие генотипы, как Красноводопадская-25 и Мироновская - 808 содержат кадмий на уровне не превышающем ПДК. По мнению некоторых исследователей, уровень тяжелого металла кадмия в продуктах питания

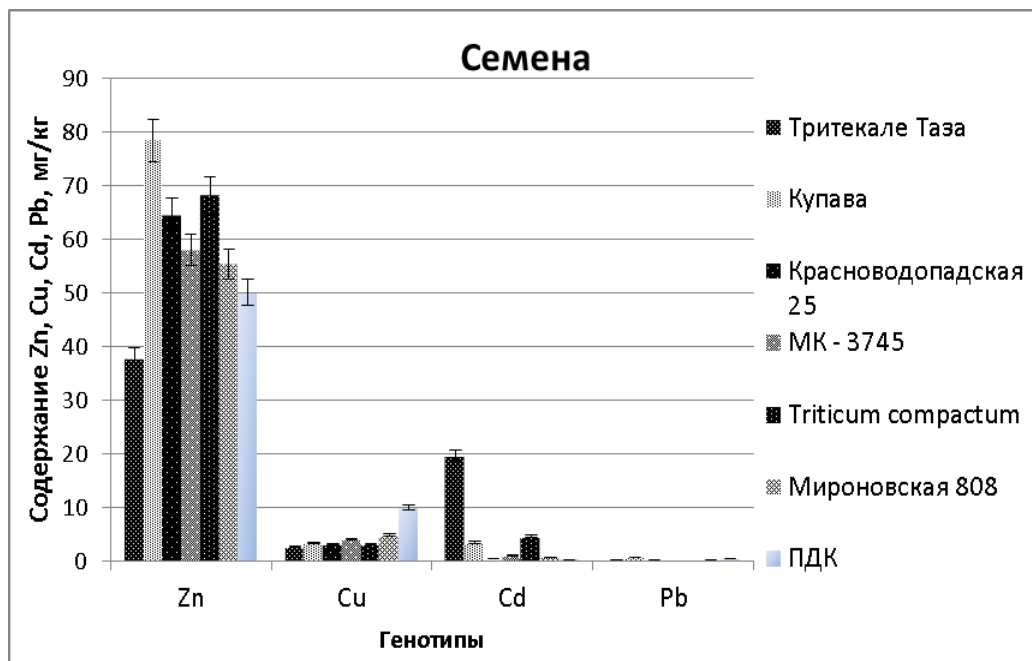


Рисунок 1 - Содержание цинка, меди, кадмия и свинца в семенах различных генотипов озимой пшеницы при их выращивании в естественных условиях загрязнения среды

Figure 1 - The content of zinc, copper, cadmium and lead in the seeds of different winter wheat genotypes when grown in natural conditions of pollution

являются проблемой продовольственной безопасности. Сокращение кадмия в зерне является одним из приоритетов программ селекции (3).

Наибольшее количество свинца накапливают семена растений сорта Купава, содержание свинца превышает ПДК для этого металла в зерне пшеницы. Другие генотипы накапливают свинец в незначительных количествах не превышающих ПДК, наименьшее количество свинца содержится в семенах вида *T.compactum*.

Также были исследованы физиологические параметры изучаемых генотипов пшеницы. Сорт озимой пшеницы Мироновская 808 лучше остальных генотипов перезимовал и у него наибольший процент сохранившихся перед уборкой растений. Это свидетельствует о том, что этот сорт оказался наиболее устойчивым к неблагоприятным условиям среды во время летней вегетации. Некоторые виды пшеницы не выдержали условий перезимовки: *T.monococcum*, *T.timofeevi*, *T.triunciale* (рис. 3).

Урожай с делянки наибольший у сорта озимой пшеницы Мироновская 808, это связано, видимо с большим количеством переживших зимовку растений и большим количеством зерен в колосе и достаточно высокой массой зерна в колосе.

Заключение

По накоплению изучаемых тяжелых металлов наиболее устойчивыми являются сорта озимой пшеницы Мироновская-808 и Красноводопадская-25. Так как цинк не является токсичным элементом, а такие токсичные металлы как кадмий и свинец незначительно накапливаются в семенах этих сортов, то можно рекомендовать их для дальнейшего исследования в селекции на металлоустойчивость и выращивания на загрязненных почвах. Сорт озимой пшеницы Мироновская-808 можно рекомендовать для выращивания в условиях Восточно-Казахстанского региона при загрязнении почвы тяжелыми металлами, так как он мало накапливает тяжелые металлы, имеет хорошие показатели развития, перезимовки, урожайности.

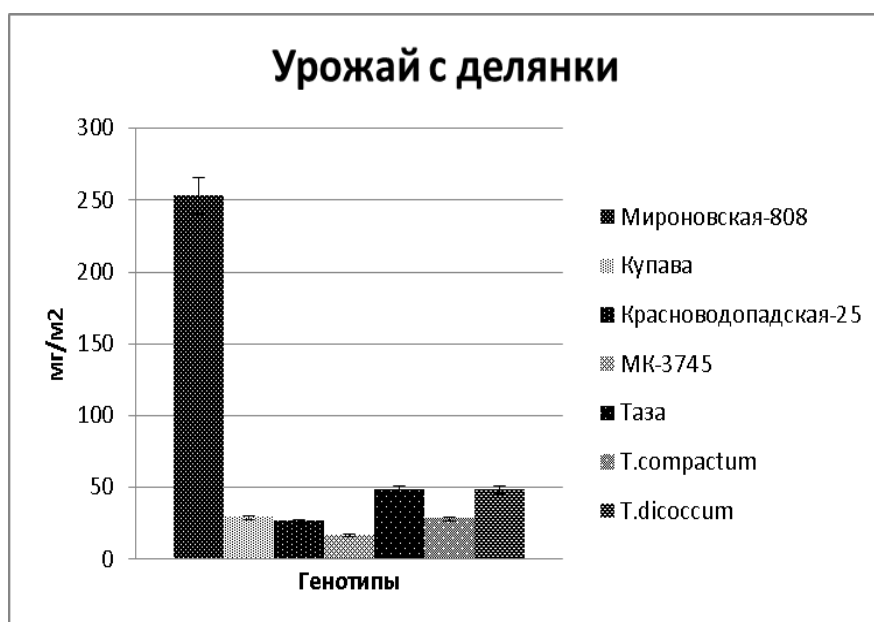


Рисунок 2 - Урожай с делянки (г/м²) различных генотипов озимой пшеницы при их выращивании в естественных условиях загрязнения среды

Figure 2 - Harvest from the plots (g/m²) of winter wheat different genotypes at their cultivation in natural conditions of pollution.

Литература

1. Молчан И.М. Селекционно-генетические аспекты снижения содержания экотоксикантов в растениеводческой продукции // Сельскохозяйственная биология. 1996. № 1. С.55-66.
2. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. Москва: Агропромиздат, 1985. 351 с.
3. RE Knox, CJ Pozniak, FR Clarke, JM Clarke, S. Houshmand, and AK Singh RE. Chromosomal location of the cadmium uptake gene (Cdu 1) in durum wheat // Genome. 2009. V.52 (9). P.741 –747.

RESISTANCE OF WINTER WHEAT GENOTYPES TO HEAVY METALS

Alybaeva R.A., Kenzhebaeva S.S., Atabaeva S.D.

winter wheat, genotypes, accumulation of heavy metals

The peculiarities of heavy metals accumulation by winter wheat genotypes in technogenic agrocenosis were investigated. Genotypic differences in accumulation of copper, lead, cadmium and zinc are established. Winter wheat varieties promising for breeding and growing in contaminated soils were identified based on indicators of resistance to the accumulation of heavy metals and productivity.

**ИЗМЕНЕНИЕ ФЛЮОРЕСЦЕНТНОЙ АКТИВНОСТИ
DRACOSERPHALUM PALMATUM STEPAN ПРИ РАЗЛИЧНЫХ
ТЕМПЕРАТУРНЫХ УСЛОВИЯХ ВЫРАЩИВАНИЯ**

Андреева А.А., Ноговицын П.А., Кучарова Е.В., Слепцов Н.В., Харитонов Т.Д.,
Алексеева С.И., Охлопкова Ж.М., Зулфугаров И.С.

ФГАОУ ВПО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова»,
ул. Кулаковского, 48, г. Якутск, 677000, Россия, E-mail: Alexaa27@mail.ru

Dracoserphalum palmatum, температура, выращивание, флуоресцентная активность

Анализ флуоресцентной активности позволяет изучить воздействие разнообразных экологических факторов на растительный организм. Температурные условия оказывают выраженное влияние на особенности флуоресценции.

Настоящая работа посвящена изучению влияния различных температурных условий выращивания на некоторые параметры роста и флуоресценции объекта исследования *Dracoserphalum palmatum* Stepan. Семена собраны во время стационарно-маршрутных работ в конце июля 2011-2013 гг. с растений северо-восточных популяций (63°13'32.0" с.ш., 142°53'56.2" в.д.), стандартизированы согласно ГОСТ 30025-93, 30556-98 [1, 2], упакованы для хранения в холодильных условиях.

Для получения экспериментальных образцов растения выращивались семенами при температуре 26-27°C в контролируемых условиях освещения (12-ти часовое непрерывное освещение) в течение 2-х недель. Затем ювенильные растения были перенесены в условия трех различных температурных режимов и выращивались в течение 3-х недель: при 1°C (при низкой температуре - НТ), при 26°C (при комнатной температуре - КТ) и при 35°C (при высокой температуре - ВТ) в условиях постоянного освещения (24-х часовое непрерывное освещение) в 100 мкмоль/(м² с). При данных условиях выращивания длина стебля и сухой вес надземных частей были меньше у змееголовника, выращенного в условиях низкой температуры, чем у растений, выращенных при высокой температуре (табл. 1). Следует отметить, что НТ-растения имели плотное расположение темно-зеленых листьев на коротком стебле, ВТ-растения имели малое количество бледных листьев на удлинённом стебле.

Таблица 1 - Показатели параметров роста *Dracoserphalum palmatum* при различных температурных условиях

Table 1 - Indicators of parameters of growth of *Dracoserphalum palmatum* under various temperature conditions

Показатель	Температурные условия выращивания		
	ВТ	КТ	НТ
Сухой вес (г)	0.076±0.015	0.0287±0.0093	0.0323±0.0096
Длина стебля (мм)	210±10	153±4.9	29.2±4.6

а среднее от 5-6 измерений

a average of 5-6 analyses

Измерения величины фоновой флуоресценции (Fo) и максимальной флуоресценции (Fm) на отдельных сегментах листьев экспериментальных образцов производили с помощью РАМ-2000 (Walz Effeitrich, Германия) в условиях «темной комнаты» при инкубации в течение 30 мин. Фотохимическую эффективность ФС II или Fv/Fm рассчитывали по уравнению $Fv/Fm = (Fm - Fo) / Fm$. Температурную зависимость флуоресценции хлорофилла измеряли по методу Govin с соавт. [5]. По результатам измерений Fv/Fm была несколько снижена в рас-

тениях, выращенных в условиях низкой температуры по сравнению с растениями, выращенными в условиях КТ и ВТ (табл. 2).

Таблица 2 - Исследование кинетики флуоресценции листьев *Dracocephalum palmatum*
Table 2 - Research of fluorescence kinetics of *Dracocephalum palmatum* leaves

Показатель	Температурные условия выращивания		
	ВТ	КТ	НТ
Fv/Fm	0.803±0.07	0.832±0.09	0.697±0.09
Fo	0.054±0.007	0.044±0.004	0.098±0.009
Fm	0.274±0.035	0.264±0.047	0.327±0.052
1-qP (excitation pressure)	0.95±0.01	0.93±0.01	0.94±0.01

среднее от 5-6 измерений
average of 5-6 analyses

Понижение Fv/Fm обуславливается ингибированием ФС II [3,4,6], и свидетельствует в данном случае о наличии у растений холодного стресса. Данный показатель может служить индикатором при мониторинге стрессового воздействия климатических факторов, в частности - Полюса холода - на растительный организм.

Литература

- ГОСТ 30025-93. Семена эфиромасличных культур. Методы определения чистоты и отхода семян // Сб. ГОСТов. М.: ИПК Издательство стандартов, 2010. С. 159-177.
- ГОСТ 30556-98. Семена эфиромасличных культур. Методы определения всхожести // Сб. ГОСТов. М.: ИПК Издательство стандартов, 2010. - С. 185-194.
- De Prado R., Dominguez C., Rodriguez I., Tena M. Photosynthetic activity and chloroplast structural characteristics in triazine-resistant biotypes of three weed species // *Physiol. Plant.* 1992. V. 84. P. 477-185.
- Schreiber U., Bilger W., Neubauer C. Chlorophyll fluorescence as a non-intrusive indicator for rapid assessment of *in vivo* photosynthesis // *Ecophysiology of photosynthesis* / Ed. Schulze E.D., Caldwell, M.M. Springer: Berlin, Heidelberg, New York, 1994. P. 49-70.
- Tovuu A., Zulfugarov I.S., Lee C-H. Correlations between the temperature dependence of chlorophyll fluorescence and the fluidity of thylakoid membranes // *Physiol. Plant.* 2013. V. 147. P. 409-416.
- Van Rensburg L., Kruger G.H.J. Differential inhibition of photosynthesis (*in vivo* and *in vitro*) and changes in chlorophyll a fluorescence induction kinetics of four tobacco cultivars under drought stress // *J. Plant. Physiol.* 1993. V. 141. P. 357-365.

CHANGE OF FLUORESCENT ACTIVITY *DRACOCEPHALUM PALMATUM* STEPHAN FOR CULTIVATION UNDER VARIOUS TEMPERATURE CONDITIONS

Andreeva A.A., Nogovitsyn P.A., Kucharova E.V., Sleptsov N.V., Kharitonov T.D., Alekseeva S.I., Okhlopkova Zh.M., Zulfugarov I.S.

Dracocephalum palmatum, temperature, cultivation, fluorescent activity

We studied the background fluorescence (Fo) and maximum fluorescence (Fm), the growth parameters have *Dracocephalum palmatum* Steph Northeast Yakutia under different temperature conditions. Lowering the Fv / Fm indicates the presence of plant cold stress.

РОЛЬ ДАВЛЕНИЯ В МЕЖКЛЕТОЧНОМ ТРАНСПОРТЕ ВОДЫ ПО СИМПЛАСТНОЙ СИСТЕМЕ РАСТЕНИЯ

Анисимов А.В., Суслов М.А.

ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН,
Россия, 420111, г. Казань, ул. Лобачевского, д. 2/31, а/я 30, E-mail: anisimov@mail.knc.ru

симпласт, водный перенос, давление, плазмодесма, градиент ЯМР

Какие конструктивные элементы гидросистемы растения участвуют в генерации потоков воды, их регуляции, сезонных переключениях? Эти вопросы, несмотря на многолетнюю историю изучения, остаются предметом внимания исследователей. Продуктивным приемом решения задач о функционировании системы транспорта воды в растении представляется анализ реакции гидродинамической системы растения на действие внешнего давления.

Целью настоящей работы является исследование градиентным методом ЯМР влияния внешнего гидростатического давления на межклеточный водный перенос в растительных объектах, на примере всасывающей зоны корня проростков кукурузы сорта Анюта.

Контроль межклеточного транспорта воды проводился на тканях непосредственно под давлением с помощью техники спинового эха с импульсным градиентом магнитного поля – градиентным ЯМР. В диффузионных экспериментах использовалась трехимпульсная последовательность стимулированного эха [1]. Средний эффективный коэффициент диффузии определялся по декременту диффузионного затухания (ДЗ) намагниченности, при $g \rightarrow 0$, т.е. по наклону начального участка ДЗ экстраполируемого экспонентой:

$$R = \exp(-\gamma^2 \delta^2 g^2 t_d D_{eff})$$

где γ – гиромагнитное отношение для протонов, D_{eff} – средний эффективный коэффициент диффузии. Качественно увеличение угла наклона ДЗ свидетельствует о росте уровня межклеточного переноса воды. Давление создавалось с помощью пневмосистемы непосредственно в измерительной ампуле ЯМР-диффузометра [2]. В условиях изохорического подъема давления с помощью газа (воздуха) учитывался факт повышения температуры газа в пневмосистеме и, соответственно, в ампуле с образцом. Измерения проводились при достижении термического равновесия образца с внешней средой

На рис. 1 приведены диффузионные затухания намагниченности) при пошаговом изменении давления.

Как следует из рис.1, с ростом давления увеличивается крутизна диффузионного затухания (ДЗ) намагниченности, при этом сброс давления приводит к возвращению ДЗ к начальному положению. Увеличение крутизны ДЗ свидетельствует об интенсификации межклеточного переноса воды при подъеме давления. Рост межклеточного переноса под давлением приведен в явной форме на рис.2 в виде зависимости эффективного коэффициента диффузии от давления.

Величина Дэфф является выражением суммарного переноса воды по различным путям, но использование методики парамагнитного допинга позволяет выделить перенос по симпластному пути, за счет релаксационного подавления вклада в сигнал намагниченности от воды переносимой по трансмембранному пути [3].

Парамагнитный допинг в форме комплекса Gd DPA (соль диэтилентриамин пентауксусной кислоты) (0.025 М), не проникающего в клетки, вводился во внеклеточное пространство корня, что приводило к резкому релаксационному затуханию сигнала от внеклеточной воды и исключению ее вклада в суммарной намагниченности. В итоге, остающаяся, регистрируемая в диффузионном эксперименте намагниченность, представляется симпластной компонентой.

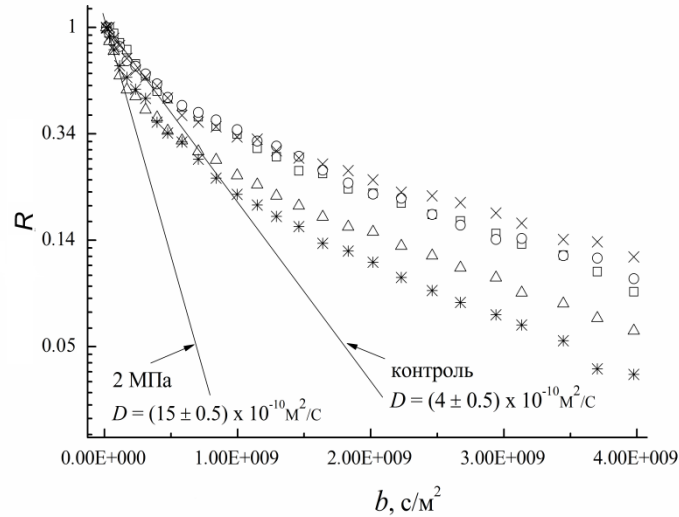


Рисунок 1 - Диффузионные затухания – относительной величины сигналов спин-эха (R) при пошаговом изменении давления, $b = -\gamma^2 \delta^2 g^2 t d$, $\delta = 0.5$ мс, $t d = 700$ мс, \square – контроль, \circ – 1 МПа, Δ – 2 МПа, $*$ – 3 МПа, \times – сброс давления

Figure 1 - Diffusional decays of the relative amplitude of spin-echo signals (R) with step-by-step pressure changes, $b = -\gamma^2 \delta^2 g^2 t d$, $\delta = 0.5$ мс, $t d = 700$ мс, \square – control, \circ – 1 МПа, Δ – 2 МПа, $*$ – 3 МПа, \times – pressure dump to control

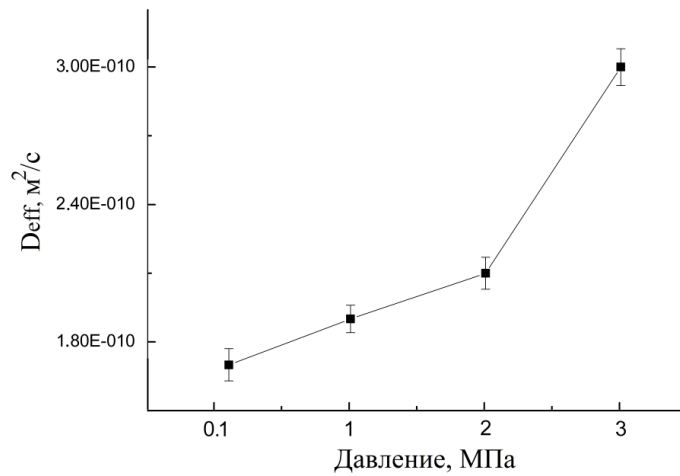


Рисунок 2 - Зависимость эффективного коэффициента диффузии воды корня кукурузы от внешнего давления

Figure 2 - Dependence of efficient diffusion coefficient of maize root water on the magnitude of applied pressure

Оказалось, что и в опытах с парамагнитным допингом крутизна спада ДЗ под давлением увеличивается качественно аналогично варианту без парамагнитного допинга. Это наблюдение позволяет считать, что диффузионный перенос воды по симпласту корня чувствителен к давлению.

Как известно, регулируемыми транспортными элементами в симпластной системе переноса являются плазмодесмы (ПД) и тогда возникает вопрос: каким образом может регулироваться проводимость ПД. В [4] механизм модуляции проводимости ПД связывается с изменениями апертуры шейных сужений (ШС) плазмодесм. В [5] показано триггерное, необратимое закрытие ПД при искусственно созданном между клетками перепаде давления выше 200 КПа. Как следует из наших экспериментальных данных, при объемном, без перепадов, приложении давления к корню наблюда-

ется рост переноса, причем обратимый. Логично предположить, что ПД могут работать как плавный регулятор проводимости с обеспечением пропорционального давлению, обратимого изменения проводимости и аварийного необратимого при значительных перепадах давления. Модуляция проводимости, скорее всего, происходит через изменение апертуры ШС, путем срабатывания контрактивных белков, которыми наделяются области ШС [6]. В итоге цепь изменений переноса воды может быть увязана с обсуждаемым в литературе феноменом функционирования сократительных структур, зависящих, в свою очередь, от уровня кальция в клетках [7] и с данными о чувствительности концентрации кальция к величине давления [8]. И наконец, в тканях наземных растений, обладающих заметной газовой фазой в виде воздуха межклетников, при подъеме давления не исключается возникновение кислородного стресса. Суть в том, что при подъеме давления согласно закону Генри в водной среде гидросистемы растительной ткани дополнительно растворяются газové компоненты воздуха, в том числе и кислород. Кислородный стресс может быть начальным стимулом к реакции элементов цепи межклеточного транспорта воды в растениях на давление.

Литература

1. Tanner, J.E. Use of the stimulated echo in NMR diffusion studies // J. Chem. Phys. - 1970. - V. 52. - P. 2523–2526.
2. Анисимов, А.В., Суслов, М.А., Зуйков, В.А. Оснастка к исследованиям массопереноса под влиянием статического и динамического давления непосредственно в датчике градиентного ЯМР // Датчики и системы. - 2012. - № 7. – С. 64–67.
3. Анисимов, А.В., Евarestов, А.С., Ионенко, И.Ф., Гусев, Н.А. Импульсный ЯМР метод для оценки межклеточного транспорта воды по симпласту // Докл. АН СССР. - 1983. - Т. 271. - С. 1246–1249.
4. Анисимов, А.В., Егоров, А.Г. Плазмодесмы как модулятор осмотических потоков воды в растениях // Физиология растений. - 2002. - Т. 49. - С. 758–766.
5. Oparka, K.J., Prior, D.A.M. Direct evidence for pressure-generated closure of plasmodesmata // Plant journal. - 1992. - V. 2. - P. 741–750.
6. Roberts, A.G., Oparka, K.J. Plasmodesmata and the control of symplastic transport // Plant cell environ. - 2003. - V. 26. - P. 103–124.
7. Holdaway-Clarke, T.L., Walker, N.A., Hepler, P.K., Overall, R.L. Physiological elevations in cytoplasmic free calcium by cold or ion injection result in transient closure of higher plant plasmodesmata // Planta. -2000. - V. 210. - P. 329–335.
8. Wu, Y., Liu, X.F., Wang, W.F., Zhang, S.Q., Xu, B.C. Calcium regulates the cell-to-cell water flow pathway in maize roots during variable water conditions // Plant physiol. chem. - 2012. - V. 58. - P. 212–219.

PRESSURE ROLE IN INTERCELLULAR WATER TRANSPORT ALONG PLANT SYMPLAST SYSTEM

Anisimov A.V., Suslov M.A.

symplast water transport, pressure, plasmodesmata, gradient NMR

On the example of the maize root suction zone it was shown using NMR gradient method that application of external pressure resulted in an increase in transcellular water transfer along symplast. The increase in the diffusional transfer is related to changes in plasmodesm permeability.

УДК: 635.64:631.527.8(476)

ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ ПЫЛЬЦЫ ТОМАТОВ К ТЕМПЕРАТУРНОМУ И ОСМОТИЧЕСКОМУ СТРЕССУ

Анточ Л.П.

Институт генетики, физиологии и защиты растений НАН Республики Молдовы,
ул. Пэдурий, 20, г. Кишинев, МД 2002, Молдова, E-mail: antlud58@mail.ru

томат, устойчивость, пыльца, осмотический стресс, повышенные температуры, оценка, мужской гаметофит

Введение

Известно, что признаки засухо- и термоустойчивости растений имеют особую значимость для сельскохозяйственной науки и практики, а их проявление наблюдается в условиях действия факторов внешней среды. В связи с этим использование различных селекционных, физиологических, агротехнических и других способов повышения устойчивости растений к стрессам (засухе, жаре, холоду, засолению) постоянно представляет собой важнейшую задачу. Для успешного решения этой проблемы необходимо применение наиболее эффективных методов диагностики устойчивости. Разные способы тестирования толерантности растений разрабатывались в целом ряде научных учреждений в результате для практического использования были рекомендованы разнообразные методы оценки [1]. Успешное решение селекционных программ во многом зависит от качества исходных форм, а также от методов оценки и отбора устойчивых и продуктивных генотипов. Одним из подходов, позволяющих противостоять пагубному воздействию окружающей среды, может быть создание генотипов с высокой продуктивностью и устойчивостью к комплексу факторов [2,3]. Необходимо отметить, что исследования селекционеров должны быть направлены на комплексное использование традиционных методов селекции и методов отбора на гаметофитном уровне. Отбор устойчивых генотипов на гаплоидном уровне является наиболее эффективным для получения спорофитной популяции с повышенной устойчивостью к стрессовым температурам, засухе [4, 5].

Исходя из этого цель наших исследований состояла в оценке устойчивости мужского гаметофита генотипов томата к повышенным температурам и осмотическому стрессу по признакам пыльцы.

Материалы и методы

В опытах использовали сорта и внутривидовые гибриды F₃ томатов. Термическая обработка пыльцы проводилась в лабораторных условиях с использованием термостатов с температурным фоном 45°C, 50°C и экспозицией 3 и 6 часов. Определение размеров пыльцевых зерен проводилось под микроскопом. Питательная среда для проращивания пыльцы включала сахарозу – 15% и борную кислоту -0,006%. В качестве осмотика для изучения засухоустойчивости использовали среду с сорбитом в концентрации 85% и уровнем осмотического давления 104,6 атм., которая имитировала водный стресс. Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием программ STATGRAF в.5.1, Excel 2010.

Результаты и обсуждение

Проводилась комплексная оценка пыльцы внутривидовых гибридов F₃ по четырем признакам – жизнеспособность, устойчивость, длина и устойчивость пыльцевых трубок. Проведенный трехфакторный дисперсионный анализ всех признаков пыльцы показал долю влияния каждого фактора в изменчивости мужского гаметофита. Установлено, что наибольший вклад в изменчивость жизнеспособности и устойчивости пыльцы вносит экспозиция – 78% и 82%, при этом действие температурного фактора слабее в шесть раз. Влияние генотипа незначительно и не превышает 2% - 4% соответственно. При анализе вариабельности признаков длина и устойчивость пыльцевых трубок установлено, что влияние повышенной тем-

пературы превалирует и составляет 78% и 29%. Действие генотипа и экспозиции незначительно - 2% и 5%. По результатам дисперсионного анализа устойчивости пыльцы был изучен спектр изменчивости признака шести гибридов, который показал различную реакцию генотипов на влияние температурного стресса. Так, у гибридов Венец x Нистру, Рио-Гранде x Викторина и Рио-Гранде x Нистру на вариабильность признака устойчивость пыльцы наибольшее влияние оказывает экспозиция -78-95%, действие температуры минимальное - 2%. Остальные гибриды характеризуются равной степенью влияния температурного фона и продолжительности его воздействия. Параллельно изучалась устойчивость пыльцы этих гибридов к засухе с использованием среды с осмотиком. Анализ полученных результатов показал, что среди изученных гибридов максимальной устойчивостью пыльцы к засухе обладает генотип С-70 x Нистру- 82%, тогда как пыльцевые зерна С-70 x Викторина обнаружили низкую устойчивость. Остальные гибриды обладали почти одинаковой толерантностью к данному фактору, которая варьировала в пределах 77%- 79%. Аналогично изучали действие повышенной температуры и засухи на пыльцу шести сортов томата. По составленному спектру вариабильности признаков пыльцы видно, что основное влияние на жизнеспособность и устойчивость оказывает экспозиция – 74% и 88%, воздействие температурного фактора ниже в пять раз. На основе оценки пыльцы изученных сортов по устойчивости к засухе были выделены две группы. В первую группу с высокой толерантностью (выше 70%) были включены сорта Дельта, Рио-Гранде, Викторина, остальные генотипы С-70, Нистру и Венец вошли во вторую и характеризовались как среднеустойчивые.

Следовательно, проведенная оценка устойчивости пыльцы сортов и внутривидовых гибридов F3 к температурному и осмотическому стрессу позволила выявить различия и дифференцировать их по этим показателям, а также рекомендовать лучшие из них для дальнейшего использования в селекционных программах.

Литература

1. Гончарова Ю.К. Наследование признака устойчивости к высоким температурам у риса. //Вестник ВОГИС, 2010, том 14, № 4 с.714-718
2. Гончарова Э.А. Стратегия диагностики и прогноза устойчивости сельскохозяйственных растений к погодно-климатическим аномалиям // Сельскохозяйственная биология 2011, №1, стр.24-31.
3. Кильчевский А.В., Антропенко Н.Ю., Пугачева И.Г. Современное состояние и перспективы развития селекции и семеноводства овощных культур. М.: //ВНИИССОК. – 2005. – Т. 2. –с.150-152.
4. Кильчевский, А.В. Гаметная селекция томата на холодоустойчивость А.В. Кильчевский, И.Г. Пугачева //Вес. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. аграр. навук. - 2002. - № 4,с 35-39.
5. Юрлова Е.В. Оценка томатов на устойчивость к нерегулируемым абиотическим факторам //Сиб. Вестник с-х. наук. 2006. №2. с.27-36.

THE SUSTAINABILITY ASSESSMENT OF THE TOMATO POLLEN TO TEMPERATURE AND OSMOTIC STRESS

Antoci L.P.

tomato, resistance, pollen, osmotic stress, high temperatures, estimation, genotype selection, male gametophyte

The influence of high temperature on the variability of some tomato traits was studied. Various effects of stress influence to different genotypes were established varieties of tomato in the resistance of male gametophyte to high temperature where revealed. Some forms with stable resistance to temperature factor and were chosen.

**РЕАКЦИЯ АГРОФИТОЦЕНОЗА РАПСА НА КИСЛОТНОСТЬ ПОЧВЫ
И ИЗБЫТОЧНОЕ УВЛАЖНЕНИЕ**

Анциферова О.А.

ФГБОУ ВПО «Калининградский государственный технический университет»,
Советский пр., 1, г. Калининград, 236022, Россия, E-mail: anciferova@inbox.ru*кислотность почв, поверхностное увлажнение, избыточное увлажнение, биологический урожай ярового рапса*

Калининградская область расположена в зоне избыточного увлажнения. В 80-е годы XX в. осушалось более 800 тыс. га земель, в том числе открытой осушительной сетью – 245 тыс. га, из них с механическим водоподъемом – 100 тыс. га, и закрытой сетью более 560 тыс. га. Целью работы - изучение влияния почвенно-гидрологических факторов на урожайность ярового рапса в холмисто-моренных равнинах северо-запада Калининградской области в условиях сырого года. Исследования проводили в течение вегетационного периода 2012 г. на семи ключевых участках – пахотных полях; землепользование Аграрной инвестиционной компании. Предшественник рапса - озимая пшеница. Предпосевная обработка гербицидом Ураган форте (расход 3 – 5 л/га). Обработка почвы включала в основном дискование, в отдельных случаях культивацию. Припосевное удобрение аммиачной селитрой по N60 д.в. Возделывался сорт аргентинской селекции Nicseira. В фазе 2 листьев опрыскивание против крестоцветных блошек инсектицидом Каратэ Зеон. В фазу бутонизации подкормка сульфатом аммония N30 д.в. В период цветения обработка гербицидом Нопасаран + Даш, позднее фунгицидом Карамба. Уборка в первой - второй декаде сентября.

2012 г. оказался сырым. За год выпало около 1078 мм осадков при среднемесячной температуре +7,7⁰С. Экстремально сырым выдался июль - 197 мм осадков.

На полях преобладают полугидроморфные почвы (оглеенные буроземы и дерново-подзолистые легко- и среднесуглинистые, реже супесчаные). В замкнутых западинах с дерново-глеевыми почвами поверхностное затопление продолжалось до конца июня - середины июля, что сопровождалось полной гибелью всходов. Содержание закисного железа в середине июля 50 – 190 мг на 100 г почвы, отношение Fe³⁺/Fe²⁺ 0,3 – 0,9. Значения окислительно-восстановительного потенциала не выше 250 мВ. Морфологически выражено оглеение в форме темно-сизой окраски в слое 0 - 20 см. Вода наблюдалась с поверхности или на глубине 10 см. Причем бурение показало, что грунтовые воды на глубине 50 – 70 см. Надо отметить, что в глубоких (20 – 35 см) колеях от техники вода оставалась стоять до конца августа.

В западинах, где поверхностный застой воды длился до конца мая всходы редкие, растения отличались низкорослостью и тонким стеблем. В открытых ложбинах с дерново-глеевыми почвами, в нижних частях склонов с глеевыми дерново-подзолистыми и буроземными почвами оглеение в форме сизого оттенка присутствовало до середины/конца июля.

Анализ степени кислотности пахотного горизонта почв показал довольно высокую вариабельность внутри полей (табл. 1). Однако корреляция с урожайностью оказалась по разным ключевым участкам от отрицательной до средней силы положительной (0,58 – 0,67). В общем, по всем полям корреляция слабая 0,16. Такое противоречие объясняется особенностями почвенного покрова полей, влиянием физиологически кислых удобрений, общим уровнем плодородия. Большинство полей отличается контрастностью почвенного покрова: выщелоченные почвы на повышениях и склонах в сочетании с дерново-глеевыми на карбонатной морене в понижениях. Хорошо осушаемые дерново-глеевые почвы в открытых понижениях (вытянутых ложбинах) как правило, высокогумусные, отличаются близкой к нейтральной и нейтральной реакцией среды. Поэтому урожай на них такой же или выше, чем на подкисляющихся почвах повышений и склонов (таб. 2).

Таблица 1 - Значения рНКСI гумусового горизонта почв исследованных полей
Table 1 - Indexes рНКСI of humus horizon of soils of investigated fields

Участок	Почвы и рельеф					
	ПДгл, ЛБгл	ПДгл, ЛБгл	ПДг↓↓л, ЛБ↓↓гл	ПДгл, ЛБгл	ДГс	ДГс
	повышения	склоны до 50	склоны 5 – 100	подошвы склонов	открытые понижения	замкнутые понижения
Коврово	6,0 – 6,3	5,5 – 6,9	-	5,1 – 5,7	5,5 – 6,0	6,0 – 6,1
Холмы	4,6 – 4,9	4,7 – 5,4	4,7 – 5,4	4,2 – 4,8	4,5 – 5,4	4,3 – 5,3
Искрово	4,3 – 5,5	5,0 – 5,2	4,7 – 5,2	4,9 – 5,3	5,0 – 5,2	4,9 – 5,1
Куликово	4,0 – 5,3	3,9 – 5,6	-	4,8 – 5,4	4,7 – 5,3	4,4 – 5,3
Рощино	4,9 – 5,6	5,2 – 5,7	-	4,9 – 5,5	5,7 – 6,0	4,9 – 5,6
Откосово	4,9 – 5,4	5,0 – 5,2	4,4 – 5,1	4,5 – 5,0	4,7 – 5,4	4,3 – 4,9
20-ый км	4,2 – 5,9	3,9 – 5,5	4,8 – 5,8	5,0 – 6,0	4,7 – 5,9	4,3 – 5,9

Почвы: ПДгл – дерново-подзолистые глееватые или слабоглееватые; ЛБгл – буроземы глееватые или слабоглееватые; ПДг↓↓л – дерново-подзолистые глееватые или слабоглееватые с преобладанием среднесмытых на покато-крутых склонах; ЛБ↓↓гл – буроземы глееватые или слабоглееватые с преобладанием среднесмытых на покато-крутых склонах; ПДгл – дерново-подзолистые глеевые; ЛБгл – буроземы глеевые; ДГс – дерново-глеевые среднесуглинистые (в открытых осушаемых понижениях грунтово-глеевые; в замкнутых понижениях – смешанного поверхностного и грунтового заболачивания). Преобладающий гранулометрический состав почв – легкосуглинистый (л). Прочерк означает отсутствие почв на ключевом участке.

Таблица 2 - Биологический урожай маслосемян ярового рапса (т/га) на почвах исследованных полей

Table 2 - Biologic yield of oil seeds of spring rape on soils of investigated fields

Участок	Почвы и рельеф					
	ПДгл, ЛБгл	ПДгл, ЛБгл	ПДг↓↓л, ЛБ↓↓гл	ПДгл, ЛБгл	ДГс	ДГс
	повышения	склоны до 50	склоны 5 – 100	подошвы склонов	открытые понижения	замкнутые понижения
Коврово	2,0 – 2,3	1,2 – 1,4	-	0,6 – 1,6	1,3 – 1,5	0 – 0,8
Холмы	1,5 – 2,5 (0,5)*	1,3 – 2,0	1,7 – 2,6 (0,8)	1,4 – 2,4	1,5 – 2,3	0 – 0,2
Искрово	2,0 – 2,3	2,2 – 2,3	2,3 – 2,6 (0,8)	1,8 – 1,9	1,1 – 1,8	0
Куликово	1,0 – 2,1 (0,4 – 0,6)	0,8 – 1,0 (0 – 0,2)	-	0,7 – 0,9	0,7	0 – 0,1
Рощино	1,6 – 2,0	1,8 – 2,0	-	1,8 – 1,9	1,9 – 2,6	0
Откосово	0,9 – 1,2 (0,3)	0,6 – 1,5	0,9 – 1,7 (0,4)	0,8 – 1,0	0,9 – 1,1	0 – 0,3
20-ый км	1,1 – 1,3 (0 – 0,3)	1,3 – 2,3 (0,1 – 0,2)	1,0 – 1,7 (0 – 0,3)	0,5 – 1,3	1,3 – 2,0	0 – 0,2

* - в скобках приведены значения урожайности на участках сильноосмытых или сильно-кислых почв.

На многих полях встречаются замкнутые понижения (западины), которые, несмотря на близкое залегание карбонатного горизонта (в основном с 50 см) подвержены поверхностному заболачиванию в нормальный по осадкам год до середины-конца мая, а в сырой – до июня. Поэтому на таких участках посевы вымокают и почти полностью гибнут.

Анализ урожайности ярового рапса на семи ключевых участках показал:

1) Основным лимитирующим фактором является длительное поверхностное переувлажнение; требуется прочистка дренажа, разрушение плужной подошвы, мероприятия по отводу поверхностных вод;

2) Повышенная кислотность почв повышений и склонов приводит к значительным недоборам урожая; требуется известкование по отдельным почвенным ареалам с учетом уровня содержания подвижного алюминия;

3) Система выращивания ярового рапса, основанная на минимальной обработке почвы с применением комплекса пестицидных обработок в сырой год требует серьезной корректировки в условиях высокой контрастности агрохимических и гидрологических условий, наличия плужной подошвы, на оглеенных почвах с плохой работой дренажных систем и без соблюдения севооборота.

REACTION OF AGROPHYTOCENOSIS RAPE ON SOIL ACIDITY AND EXCESSIVE MOISTENING

Antsiferova O.A.

soil acidity, surface moistening, wet weather conditions, biological yield of spring rape

Variation of biological yield of spring rape on soils of the Kaliningrad region the investigated. By results of researches in seven fields the main limiting the yield of rapeseed factors are increased soil acidity and prolonged surface moistening.

ВЛИЯНИЕ ГЛИКОЛУРИЛА НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПАРАМЕТРЫ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM AESTIVUM* L.)

Астафурова Т.П., Сучкова С.А., Михайлова С.И. Буренина А.А., Салаев М.А.

ФГБОУ ВПО «Национальный исследовательский Томский государственный университет», пр. Ленина, 36, г. Томск, 634050, Россия, E-mail: agronomia@mail.tsu.ru

Triticum aestivum L., гликолурил, способы внесения, морфометрические и физиологические параметры

Введение

Растения для роста и развития нуждаются в значительных количествах азота, формы которого в окружающей среде чрезвычайно разнообразны. Несмотря на то, что изучению действия азота на различные процессы жизнедеятельности растений в зависимости от условий внешней среды, способов и доз внесения посвящено много работ [1, 2, 3], по-прежнему актуальным остается вопрос о новых источниках азотного питания растений и путях их дальнейшего метаболизма. Среди аммонийных форм азота наибольшее распространение получила мочевина и ряд ее производных, которые являются быстродействующими удобрениями. В то же время они характеризуются быстрой вымываемостью и могут оказывать отрицательное влияние на общую кислотность почв. В настоящее время разрабатываются новые вещества и композиции, содержащие большое количество подконтрольно высвобождаемого азота и обладающие при этом пролонгированным действием. К числу их относится гликолурил (ГЛ), эффективное воздействие которого на рост и развитие растений было показано в ряде работ [4, 5].

Цель исследований: выявить влияние гликолурила на морфометрические и функциональные показатели пшеницы яровой в зависимости от доз и способов его внесения.

Материалы и методы

Объектом исследований являлась пшеница яровая *Triticum aestivum* L. var. *lutescens* сорт Новосибирская 29. Гликолурил (C₄H₆N₄O₂) – ТУ 2478-001-80061487-2011, сертификат соответствия № РОСС RU.БЦ01.В00033.

Полевые опыты проводили в учебно-экспериментальном хозяйстве Сибирского ботанического сада Томского государственного университета в 2010–2011 годах. Почва участка темно-серая лесная, средне оподзоленная, по механическому составу среднесуглинистая: рНКСИ – 6,0, подвижные соединения (по Кирсанову) К₂O – 80, Р₂O₅ – 280 мг/кг, содержание гумуса – 3,2 %. Предшественник – чистый пар. Обработку почвы, сроки посева, уход за культурой в период вегетации проводили в соответствии с агротехническими требованиями, рекомендуемыми для Западной Сибири.

Схема опыта включала 4 варианта: 1) контроль (без ГЛ); 2) обработка семян смачивающимся порошком ГЛ (3 кг/т); 3) внесение ГЛ в почву (60 кг/га); 4) внесение ГЛ в почву (90 кг/га). Гликолурил вносили в почву локально при посеве в рядки на глубину 5 см. Норма высева пшеницы 300 кг/га. Учетная площадь делянки – 10,0 м². Размещение вариантов рендомизированное. Повторность опытов трехкратная.

Для измерения интенсивности фотосинтеза и транспирации, а также устьичного сопротивления использовали портативный инфракрасный газоанализатор Li-6400, LI-COR (USA) с открытой системой. Чистую продуктивность фотосинтеза рассчитывали по формуле Кидда, Веста и Брикса [6]. Статистическая обработка результатов исследований проводилась методом дисперсионного анализа [7] и с помощью пакета Statistica 6.1.

Результаты и их обсуждение

В полевом эксперименте в фазу колошения во всех вариантах опыта наблюдались достоверные различия по линейным и весовым параметрам по сравнению с контролем (табл.1).

В вариантах опыта с гликолурилом увеличивалось количество листьев на 46,3–80,5 %, площадь листовой поверхности на 15,9–38,7 %, надземная сырая масса растений на 44,1 – 61,8 % и воздушно – сухая масса на 37,5–62,5 % по сравнению с контролем.

Таблица 1 – Морфометрические параметры пшеницы
Table 1 – Morphometric parameters of wheat

Параметры	Вариант опыта			
	контроль (без удобрений)	обработка семян ГЛ	ГЛ 60 кг/га	ГЛ 90 кг/га
Высота побега, см	62,2±2,1	73,8±1,9*	64,5±0,9	74,8±1,1*
Количество листьев, шт	8,2±0,2	14,8±0,5*	12,0±0,5*	12,0±0,9*
Площадь листовой поверхности, см ²	77,0±6,1	106,8±4,8*	89,3±7,1*	91,0±10,7*
Надземная масса сырая, г	3,4±0,1	4,9±0,1*	5,1±0,3*	5,5±0,3*
Надземная масса воздушно-сухая, г	0,8±0,02	1,2±0,08*	1,1±0,10*	1,3±0,05*
Примечание: знаком * отмечены достоверные различия при p<0,05				

Наряду с увеличением морфометрических параметров было обнаружено повышение интенсивности фотосинтеза, транспирации и устьичной проводимости, что привело в конечном итоге к возрастанию чистой продуктивности фотосинтеза (табл. 2) и увеличению зеленой надземной массы растений (табл. 1). По результатам исследований во всех вариантах опыта с гликолурилом интенсивность фотосинтеза возрастала от 48,2 % до 70,0 %, устьичная проводимость более, чем в 2 раза, чистая продуктивность фотосинтеза на 29,0–77,4 % по сравнению с контролем, интенсивность транспирации увеличивалась на 53,8–82,1 %.

Таблица 2 – Влияние гликолурила на физиологические параметры пшеницы
Table 2 – Effect of glycoluril on the physiological parameters of wheat

Параметры	Вариант опыта			
	контроль (без удобрений)	обработка семян ГЛ	ГЛ 60 кг/га	ГЛ 90 кг/га
Интенсивность фотосинтеза, мкмоль/м ²	17,00±0,02	25,79±0,16*	25,25±0,04*	28,92±0,04*
Устьичная проводимость, моль/м ²	0,26±0,002	0,58±0,002*	0,58±0,004*	0,70±0,001*
Транспирация, ммоль/м ²	3,96±0,02	6,01±0,01*	6,34±0,02*	7,11±0,003*
ЧПФ, г сухого вещества / м ² сут.	3,066±0,2	5,529*±0,2	3,881*±0,1	3,992*±0,2
Примечание: знаком * отмечены достоверные различия при p<0,05				

Закключение

Полученные данные позволяют предположить, что с увеличением количества азота в почве в фазах выхода в трубку и начала налива зерна повышается процесс его поглощения корнями и активизируется транспорт в листовой аппарат. Вероятно, происходит и увеличение

образования хлорофилл-белковых комплексов, синтез рибулозо-бифосфаткарбоксилазы и как следствие увеличение интенсивности фотосинтеза [3, 8].

Таким образом, применение гликолурила для предпосевной обработке семян пшеницы (3 кг/т) и при внесении его в почву (60 и 90 кг/га) стимулирует основные физиологические процессы растений и повышает их продуктивность.

Литература

1. Gorjanik B., Kraljevik-Balalic M., Jankovic S. Environmental effects on associations among nitrogen use efficiency traits in wheat // *Cereal Res. Communic.* 2010. 38. № 1. P. 146–153.
2. Madani A., Macarem A.H., Vazin F. et. al. The impact of post-anthesis nitrogen and water availability on yield formation of winter wheat // *Plant Soil Environ.* 2012. 58. № 1. P.9–14.
3. Кошкин Е.И. Физиология устойчивости сельскохозяйственных культур. – М.: Дрофа, 2010. – 638 с.
4. Addiscott A.M. Glycoluril as a slow-release nitrogen source for plants. *Chem. Ind.*, 6, 29-30, 1979.
5. Патент US2008/0006071 A1, 2008.
6. Стасик О.О., Киризий Д.А., Прядкина Г.А. Фотосинтез и проблемы повышения продуктивности растений // *Физиология растений и генетика.* 2013. – Т. 45. – № 6. – С. 501–516.
7. Методика государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур. Выпуск второй. – Москва, 1989.
8. Кузнецов В.В., Дмитриев Г.А. Физиология растений. – М.: Высшая школа, 2005. – 736 с.

INFLUENCE OF GLYCOLURIL ON THE STRUCTURAL AND FUNCTIONAL PARAMETERS OF SPRING WHEAT (*TRITICUM AESTIVUM* L.)

Astafurova T.P., Suchkova S.A., Mikhaylova S.I., Burenina A.A., Salaev M.A.

Triticum aestivum L., Glycoluril, methods of application, morphometric and physiological parameters

An influence of glycoluril on morphological and functional characteristics of spring wheat depending on the doses and methods of its application is studied. Application of glycoluril for pre-plant processing of wheat seeds and inserting it into the soil stimulate basic physiological processes of plants and improve their productivity.

**ВЛИЯНИЕ ХЛОРИДНОГО ЗАСОЛЕНИЯ ПОЧВЫ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ
ФОТОСИНТЕЗА И ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ МЕТАБОЛИЗМ УГЛЕРОДА
У ФЛАГОВЫХ ЛИСТЬЕВ РАЗНЫХ СОРТОВ ПШЕНИЦЫ**

Атоев М.Х., Эргашев А.Э., Джумаев Б.Б., Абдуллаев А.А.

Институт ботаники, физиологии и генетики растений НАН Республики Таджикистан,
ул. Каримова, 27, г. Душанбе, 734017, Республика Таджикистан, E-mail: irshod1987@mail.ru

пшеница, хлоридное засоление, потенциальный фотосинтез, продукты фотосинтеза

Введение

Факторы внешней среды, как известно, могут влиять на скорость реакций фотосинтетической ассимиляции углекислого газа у растений и, вследствие этого, на продуктивность фотосинтеза. Одним из основных направлений в области физиологии и биохимии фотосинтеза является изучение путей адаптации процесса фотосинтеза к различным условиям среды на уровне потенциальной интенсивности фотосинтеза и фотосинтетического метаболизма углерода [1].

Фотосинтез является главным элементом продукционного процесса растений и испытывает влияние различных факторов внешней среды, характерных для их местообитания. Установление ведущего фактора и зависимости от него фотосинтеза открывает возможность выявить адаптационные способности растений, опираясь на данные о величине и характере изменения фотосинтеза.

Засоление почв является одним из существенных факторов окружающей среды, лимитирующих рост, развитие и продуктивность растений. В настоящее время около 20% всех поливных площадей в мире и около половины орошаемых земель засолены [2]. Засоленность почв постоянно возрастает вследствие повышения аридности климата и применения полива в земледелии [3]. Таджикистан в этом отношении не является исключением. По качественному составу солей засоленные почвы Таджикистана весьма разнообразны [4].

Засоление почвы приводит к водному дефициту. Оказывая влияние на устьичную проводимость растений, дефицит воды во внешней среде не может не повлиять на уровень фиксации углекислого газа и, следовательно, на уровень фотосинтеза [5]. Это проявляется и в снижении содержания фотосинтетических пигментов: хлорофилла а и b, каротиноидов, уменьшении активности тилакоидов и скорости ассимиляции углекислого газа [6].

Соли оказывают двойное действие на растение. Во-первых, они создают высокое осмотическое давление в почвенном растворе, что приводит к прочному связыванию воды. При этом затрудняется поглощение воды корнями растений, что называется осмотическим стрессом. Во-вторых, поглощенные вместе с водой ионы солей оказывают угнетающее действие на метаболические процессы растений, что называется ионным стрессом [7]. Нарушение роста и развития растений при солевом и ионном стрессе является следствием некоторых ответных физиологических реакций, включая изменения в ионном балансе, минеральном питании, передвижении воды, устьичной проводимости, скорости фотосинтеза и, в конечном счете, в фиксации и утилизации углекислого газа.

Исходя из этого, в задачу наших исследований входило изучение влияния солевого стресса (0.5%-ного почвенного хлоридного засоления) на ПИФ (потенциальная интенсивность фотосинтеза) и фотосинтетический метаболизм углерода у флаговых листьев различных видов и сортов пшеницы.

Материалы и методы

Объектами исследования служили сорта твердой пшеницы (*Triticum durum* Desf.) - Президент и Шамь и мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) - Алекс и Ормон.

Опыты проводились на экспериментальном участке Института ботаники, физиологии и генетики растений Академии наук Республики Таджикистан (г. Душанбе), расположенном в восточной части Гиссарской долины на высоте 834 м над ур. м. Растения выращивались в вегетационных сосудах при разной влажности почвы. Часть растений находилась при влажности почвы 80-85% от ППВ (предельная полевая влагоёмкость) - вариант контроль, вторая часть в тех же условиях на фоне почвенного хлоридного засоления (0.5% NaCl) - вариант опыт.

Потенциальную интенсивность фотосинтеза (ПИФ) и метаболизм ^{14}C определяли радиометрическим методом при коротких экспозициях [8].

Результаты и обсуждение

Полученные данные показали, что хлоридное засоление неодинаково влияет на УППЛ (удельная поверхностная плотность листа) и ПИФ листьев разных сортов пшеницы. У всех изученных сортов пшеницы величина УППЛ у растений контрольного варианта превышает УППЛ растений опытного варианта. У контрольных и опытных растений величина УППЛ варьирует от 0.486 до 0.503 г/дм² и от 0.439 до 0.445 г/дм² соответственно. Максимальная величина УППЛ обнаружена у флаговых листьев пшеницы сорта Шамь контрольного варианта, а минимальное значение - у пшеницы сорта Ормон опытного варианта. Необходимо отметить, что, во-первых, УППЛ растений контрольного и опытного вариантов, как у сорта Шамь, так и у сорта Алекс варьирует в значительных пределах. Судя по величине УППЛ в условиях засоления, у данных сортов широкий размах адаптационной изменчивости.

Хлоридное засоление существенно повлияло на ПИФ и это можно видеть при разных способах расчета (на сух. массу и на дм²). Максимальное значение ПИФ при обоих способах расчета выявлено у сорта Шамь контрольного варианта, которое составляет 47 мг $^{14}\text{CO}_2$ /г сух. масс. ч и 93 мг $^{14}\text{CO}_2$ / дм² ч соответственно, а минимальное значение обнаружено у сорта Алекс в условиях засоления, которое составляет 26 мг $^{14}\text{CO}_2$ /г сух. масс. ч и 59 мг $^{14}\text{CO}_2$ / дм² ч соответственно.

Итак, среди изученных сортов минимальное значение УППЛ и ПИФ выявлены у сортов Ормон и Алекс в условиях засоления.

ПИФ у всех изученных сортов в контрольном варианте превосходит ПИФ растений опытного варианта (засоление).

Итак, исследование ПИФ у разных сортов пшеницы позволяет сделать вывод, что хлоридное засоление, снижая содержание воды в листьях растений, действует на механизм устьичных движений, участвующих в процессе ассимиляции углекислого газа [6].

Из полученных нами данных видно, что засоление, как абиотический фактор, по-разному влияет на скорость включения ^{14}C в продукты фотосинтетического метаболизма углерода. У всех изученных сортов пшеницы скорость включения ^{14}C в сахарозу у растений опытного варианта преобладает над растениями контрольного варианта, т.е. почти 50% ассимилированного меченого углерода обнаруживался в данном продукте у растений, выращенных в условиях засоления. Таким образом, хлоридное засоление оказывало существенное влияние на включение меченого углерода в сахарозу.

Выявлено, что в контрольном варианте меченый углерод у всех изученных сортов больше сосредотачивается в ФГК – как ранний продукт цикла Кальвина и ФЭС (фосфорных эфиров сахаров) по сравнению с растениями опытного варианта. Включение меченого углерода в глицин, серин и аланин у растений опытного варианта больше по сравнению с растениями контрольного варианта.

Сравнительный анализ включения ^{14}C в интермедиаты восстановительного пентозофосфатного цикла, сахаров, интермедиатов гликолатного пути и продуктов ФЕП-карбоксилирования показал, что хлоридное засоление существенно повлияло на соотношение данных продуктов. У всех изученных сортов в условиях почвенного засоления ^{14}C больше сосредотачивается в сахарах, ИГП (интермедиаты гликолатного пути) и ФЕП-продуктов по сравнению с растениями контрольного варианта. Следует отметить, что в контрольном варианте меченый углерод больше включался в интермедиаты восстановительного пентозо-

фосфатного цикла. Количественные изменения во включении меченого углерода в продукты фотосинтеза под влиянием хлоридного засоления по-видимому, происходит за счет изменения микросреды в фотосинтетическом аппарате, связанной с изменением рН среды, концентрации ионов, активности и содержания соответствующих ферментов, недостатком НАДФН₂ и с другими факторами, которые участвуют в процессе фотосинтеза. С другой стороны, количественные изменения включения меченого углерода в разные продукты фотосинтеза под влиянием хлоридного засоления имеет адаптивный характер. К таковым можно отнести продукты ФЕП-карбоксилирования, сахарозу и ИГП.

Заключение

Под влиянием хлоридного засоления у изученных сортов пшеницы проявляются некоторые признаки растения с C₄-типом метаболизма. В частности, как адаптивная реакция у растений опытного варианта активируется процесс ФЕП-карбоксилирования, в результате которого значительное количество меченого углерода сосредотачивается в C₄-продуктах. Кроме того, хлоридное засоление, активируя реакцию оксигенирования РБФК/О, в то же время подавляет активность реакции карбоксилирования, в результате чего значительная доля метки (¹⁴С) включается в продукты ИГП, т.е. усиливается процесс фотодыхания.

Литература

1. Кершанская О.И. Фотосинтетические основы продукционного процесса у пшеницы. Алматы, 2007, 244 с.
2. Munns R., Richard A. James. Screening methods for salinity tolerance: a case study with tetraploid wheat // *Plant and Soil*, 2003, v. 253, pp. 201 - 218.
3. Flowers T.J. Improving crop salt tolerance // *J. Exp. Bot.*, 2004, v. 55, pp. 307-319.
4. Керзум П.А. Таджикистан. Природа и природные ресурсы. Душанбе, Дониш, 1982, с. 328 - 329.
5. Строгонов Б.П. Физиология устойчивости растений (морозоустойчивость, засухоустойчивость и солеустойчивость). Москва, Изд-во АН СССР, 1960, с. 609-625.
6. Marler T.E., Zozor Y. Salinity influences photosynthetic characteristics, water relations, and foliar mineral composition of *Annona squamosa* L. // *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 1996, v. 121, pp. 243 - 248.
7. Munns, R., Termaat A. Whole-plant responses to salinity // *Aust. J. of plant physiol.*, 1986, v. 13, pp. 143-160.
8. Эргашев А., Абдурахманова З.Н. и др. Сб. Фотосинтез и использование солнечной радиации. – Ленинград, Наука, 1971, 226 – 231 с.

THE INFLUENCE OF CHLORIDE SALINIZATION ON PHOTOSYNTHETIC RATE AND PHOTOSYNTHETIC CARBON METABOLISM IN FLAG LEAVES OF DIFFERENT KINDS OF WHEAT

Atoev M.H., Ergashev A.E., Djumaev B.B., Abdulloev A.A.

wheat, chloride salinization, potential photosynthesis, products of photosynthesis

Under the influence of chloride salinization in investigated kinds of wheat along with significant inhibition of potential rate of photosynthesis occurred qualitative and quantitative changes in insertion of assimilated of carbon tracer - ¹⁴C at the products of photosynthesis. The fact of more insertion of ¹⁴C in C₄-products and GPI-intermediates glycolate path under the influence of chloride salinization testifies it.

ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИЙ АППАРАТ ОВСА В УСЛОВИЯХ ПОЧВЕННОГО СТРЕССА

Баталова Г.А.¹, Лисицын Е.М.¹, Тулякова М.В.², Русакова И.И.¹

¹ГНУ Зональный научно-исследовательский институт сельского хозяйства Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого РАСХН, ул. Ленина, 166а, г. Киров, 610007, Россия,

E-mail: g.batalova@mail.ru

²Фаленская селекционная станция НИИСХ Северо-Востока, п. Фаленки Кировской обл., ул. Тимирязева, 3, 612500, Россия, E-mail: fss.nauka@mail.ru

овес, эдафический стресс, пигменты, хлорофилл а, хлорофилл b, каротиноиды, светособирающий комплекс, депрессия

Введение

К числу наиболее важных факторов, лимитирующих продуктивность растений, относят эдафический стресс, обусловленный ионной токсичностью алюминия и марганца, связанный с низкой величиной почвенной кислотности. Токсичность подвижных ионов Al^{3+} является ведущим фактором, снижающим продуктивность растений на 67% всех кислых почв [1]. Концентрация подвижных (обменных) ионов трехвалентного алюминия является основным фактором, определяющим токсичность кислых дерново-подзолистых почв европейской части России.

Овес считается относительно устойчивой к эдафическим стрессам культурой. Это обусловлено высокой поглощающей способностью корневой системы, обеспечивающей поступление питательных веществ из труднодоступных почвенных соединений [2]. С другой стороны имеются данные, что при возделывании овса на алюмокислых дерново-подзолистых почвах его урожайность снижается на 40-50% [3], поскольку в результате ингибирующего действия алюминия в условиях повышенной почвенной кислотности и недостатка растворимых фосфатов в почве отмечается питательный стресс [2]. Проникший в значительных количествах в надземную часть растений, алюминий концентрируется главным образом в ядрах, митохондриях и хлоропластах клеток фотосинтезирующих органов, нарушает восстановительную, фосфорилирующую и фосфатазную активность хлоропластов. Наблюдается депрессия (до 40,8-57,3%) в формировании размеров стебля, площади листьев и метелки, сокращается количество колосков и зерен в метелке [3]. Лист служит у растений основным органом фотосинтетической деятельности. Причем листья разных ярусов вносят различный вклад в общую семенную продуктивность растений, так фотоассимилянты флагового листа идут на формирование зерна [4].

Таким образом, изучение влияния почвенной кислотности на процессы фотосинтеза и выделение наиболее стресс-устойчивых генотипов, позволяет повысить устойчивость и продуктивность агроценозов овса на дерново-подзолистых почвах европейского Северо-Востока России.

Материалы и методы

В 2012-2013 гг. в мелкоделяночном опыте (2 м² в трех повторениях) НИИСХ Северо-Востока изучены 28 сортов и линий конкурсного испытания пленчатого овса в сравнении со стандартом Аргамак в условиях варьирующих агроклиматических ресурсов на дерново-подзолистых почвах: фон 1 - окультуренные почвы (рН 5,3, Al^{3+} 0-0,57 мг/100 г почвы), фон 2 - естественно кислые почвы (рН 3,93-4,05, Al^{3+} 12,60-13,49 мг/100 г почвы), в соответствии с Методическими указаниями [5]. Корреляционный анализ проведен с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel из стандартного набора Microsoft Office.

Результаты и обсуждение

Содержание хлорофилла является одним из косвенных индексов фотосинтетической активности, важнейшим внутренним фактором, определяющим интенсивность фотосинтеза и общую биологическую продуктивность растений (Лисицын и др., 2012). В условиях повышенной почвенной кислотности сумма хлорофиллов а и b (Chl a и Chl b), у большинства сортов и линий овса превышала значения стандарта – сорта Аргамак, уровень развития признака у которого составил для флагового листа - 12,25 мг/г сухой массы и 8,03 мг/г сухой массы для подфлагового. На окультуренном почвенном фоне наибольшую сумму Chl a и b накапливали сорта Сапсан - 23,04 и 25,95 мг/г сухой массы и Кречет - 23,54 и 20,78 мг/г сухой массы во флаговом и подфлаговом листьях соответственно. Данные сорта имели также максимальные показатели и в условиях повышенной кислотности дерново-подзолистых почв (15,82; 10,82 и 18,87; 13,63 мг/г сухой массы). В наибольшей степени эдафический стресс повлиял на содержание Chl b, которое снизилось в среднем для 28 генотипов на 34,78% во флаговом листе и на 45,40% в подфлаговом.

Индикатором функционального состояния пигментного аппарата и легкости его адаптации к условиям роста может служить массовое соотношение пигментов - Chl a и Chl b. В исследованиях при переходе от близкой к нейтральной к кислой почве у большинства сортов и линий наблюдали увеличение показателя соотношения Chl a/b для флагового и подфлагового листьев (от 8,26 до 135,61% и от 3,31 до 291,03% соответственно). Это можно объяснить более значительным снижением содержания Chl b под действием почвенной кислотности, чем Chl a. Уменьшение соотношения Chl a / Chl b в условиях стресса отмечали у линии 378h08. Депрессия составила у флагового листа – 43,10%, а у подфлагового 49,16%. Это может указывать на снижением скорости фотосинтеза [6].

Определенный вклад в сбор световой энергии вносят каротиноиды. В условиях ценоза овса на почвах с повышенной кислотностью у 7 генотипов: 44h06, Кречет, Сапсан, Буцефал, И-3778, 378h08, 418h07 отмечали более высокое содержание каротиноидов во флаговом и подфлаговом листьях, чем у стандарта – сорта Аргамак (3,32 и 2,32 мг/г сухой массы, соответственно). Превышение над стандартом варьировало для флагового листа от 7,23 до 39,76% и от 0,43 до 65,52% подфлагового. Сорт Кречет имел высокое содержание каротиноидов в стрессовых и благоприятных почвенных условиях - 4,80 и 4,84 мг/г сухой массы, соответственно. В среднем по изученным генотипам депрессия в условиях эдафического стресса для флагового листа составила 15,14%, для подфлагового – 18,46%.

Индикатором «зрелости» растений выступает весовое соотношение хлорофиллов и каротиноидов (Chl/Car). Низкие значения соотношения являются индикатором старения, стресса и повреждения фотосинтетического аппарата растения [7]. У большинства сортов и линий в исследованиях показатель соотношения Chl/Car (4,2 – 5,0) на фоне без стресса был в пределах нормы [6]. Следовательно, растения находились в благоприятных условиях развития и не испытывали стресса. На фоне кислых почв с алюминием все генотипы испытывали стресс. При этом низкие значения соотношения Chl/Car могут быть связаны с более резким снижением суммарного содержания хлорофиллов в условиях повышенной почвенной кислотности, по сравнению с каротиноидами.

Большая часть всего хлорофилла хлоропластов входит в состав светособирающих комплексов (ССК), выполняющих роль антенны, передающей энергию к реакционному центру фотосистем I или II. Процентное содержание пигментов в светособирающем комплексе растений в среднем по изученным генотипам овса на дерново-подзолистых кислых почвах составило 40,64% во флаговом и 33,09% в подфлаговом листьях, что ниже уровня благоприятного фона на 17,70% и 28,8% соответственно, если показатель благоприятного фона оценивать как 100%. Максимальное значение в условиях стресса относительно стандарта Аргамак (флаговый лист - 45,67%, подфлаговый лист – 36,32%) как для флагового, так и подфлагового листьев имели генотипы 378h08 и Буцефал, превышающие значения стандарта на 2,6% и 9,3% во флаговом листе и на 19,7% и 9,7% в подфлаговом.

Эдафический стресс в разной степени повлиял на структурные части растений. Так флаговый лист, фотоассимилянты из которого в основном идут на формирование зерна, в меньшей степени прореагировал на повышенную кислотность почвы (депрессия 49,4%), чем подфлаговый (52,8%). Депрессия суммарной площади листьев с растения составила 51,3-56,6%. Вследствие депрессии фотосинтезирующего аппарата наблюдали снижение показателей продуктивности и элементов структуры продуктивности овса: масса (продуктивность) зерна с метелки и растения (52,7 и 52,9%), число колосков в метелке (41,0%), масса 1000 зерен (10,3%). Выделены пластичные генотипы для использования в селекции: Кречет, Конкур, И-3557, Сапсан, 345h08, характеризующиеся высокой продуктивностью метелки относительно стандарта на фоне почв с рН 5,3 (1,75-2,23 г) и в условиях эдафического стресса (1,13-1,34 г). Уровень депрессии признака у данных генотипов составил 17,8-39,9%

На продуктивность в условиях стресса наибольшее влияние оказало содержание С1 а и С1 б во флаговом ($r = 0,69$ и $r = 0,78$) и подфлаговом ($r = 0,53$ и $r = 0,78$) листьях. Аналогичное влияние отмечено на количество зерен в метелке ($r = 0,82-0,53$). Отмечено положительное влияние суммарной площади, площади флагового и подфлагового листьев на продуктивность растений овса, изученных на двух почвенных фонах ($r = 0,42...0,57$).

Таким образом, повышение устойчивости видов и сортов сельскохозяйственных растений на основе изучения влияния почвенной кислотности на процессы фотосинтеза, подбора устойчивых к почвенной кислотности генотипов позволяет не только повысить экономическую эффективность сельхозпроизводства, но и сохранить сложившееся на конкретной территории растительное сообщество.

Литература

1. Eswaran H., Reich P., Beinroth F. Global distribution of soils with acidity // Brazilian Soil Science Society. 1997. P. 159-164.
2. Физиологические основы селекции растений / под ред. Г.В. Удовенко. СПб.: из-во ВИР, 1995. Т. 2. Ч. 1.
3. Баталова Г.А. Овес в Волго-Вятском регионе. Киров: ООО «Орма», 2013. 288 с.
4. Беденко В.П., Коломейченко В.В. Основы продуктивного процесса растений. Орел: Изд. дом «Орлик», 2003. 260 с.
5. Методические указания по изучению мировой коллекции ячменя и овса. СПб., 2012. 64 с.
6. Лисицын Е.М., Баталова Г.А., Щенникова И.Н. Создания сортов овса и ячменя для кислых почв. Теория и практика. Saarbrucken: Palmarium Academic Publishing, 2012. С. 173-228.
7. Lichtenthaler H. K., Buschmann C., Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy // Current protocols in food analytical chemistry. 2001. F4.3.1. – F4.3.8.

PHOTOSYNTHETIC APPARATUS OF OATS UNDER CONDITIONS OF EDAPHIC STRESS

Batalova G.A., Lisitsyn E.M., Tuljakova M.V., Rusakova I.I.

oats, edaphic stress, pigments, chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoids, light-harvesting complex, depression

Edaphic stress caused by low pH and Al^{3+} ions had negative influence on photosynthetic apparatus of covered oats. It was observed depression of productivity and its elements: mass of grain per panicle and per plant (by 52.7 and 52.9% respectively), number of ears in panicle (by 41.0%), 1000 grain mass (by 10.3%). Stress-resistant genotypes Kречет, Конкур, I-3557, Сапсан, and 345h08 were selected.

**К МЕТОДИКЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОДУКТИВНОСТИ РАСТИТЕЛЬНЫХ
СООБЩЕСТВ ФОТОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ**

Бедарева О.М, Мурачева Л.С., Калинина Е.А.

ФГБОУ ВПО «Калининградский государственный технический университет»,
Советский пр., 1, г. Калининград, 236022, Россия, E-mail: agronomia@mail.ru*спектральный коэффициент яркости (С;КЯ), отражательная способность, растительность, фотометрирование***Введение**

Спектральные отражательные характеристики природных образований, в том числе и природных кормовых угодий, несут в себе специфический вид информации о поверхности Земли и являются основой дистанционных методов ее исследования. Изучение оптических свойств природного покрова Земли осуществлялось двумя путями: с одной стороны разрабатывались общие теоретические положения оптики ландшафта, с другой – экспериментальным путем решались прикладные задачи в различных областях науки и сельского хозяйства.

Оптические характеристики разных растений не идентичны и определяются составом и состоянием пигментов и тканей, особенно покровных, морфологией растений в целом, возрастом, экологическими условиями. Отражательные свойства отдельных частей растений и их совокупностей также неодинаковы, причем эти различия более четко выражены в узких зонах спектра. В ряде работ представлены усредненные кривые отражения лесных насаждений и травянистой растительности, произведена типизация в соответствии с доминирующими лесообразующими породами [1]. Необходимо отметить, что описанные типы кривых спектральной отражательной способности являются усредненными. Вместе с тем каждый ландшафт характеризуется индивидуальными особенностями и уникальными взаимосвязями компонентов между собой. Следовательно, для правильного распознавания и описания образов необходимо предварительное изучение отражательной способности объектов, характерных для данного типа ландшафта в различных условиях и состояниях [2].

Спектральные оптические свойства растений обычно выражают через спектральный коэффициент отражения (СКО) и спектральный коэффициент яркости (СКЯ). Спектральная отражательная способность растений является характерным признаком и изменяется в зависимости от длины волны. В видимом диапазоне на спектральные характеристики растений влияет содержание пигментов (особенно хлорофилла). В ближней инфракрасной области отражательная способность заметно повышается, так как зеленый лист поглощает мало энергии. В среднем инфракрасном диапазоне большое количество энергии поглощает вода, а так как содержание влаги в листьях велико, меняется спектральный отклик зеленого растения.

Материалы и методы

Для изучения состояния растительного покрова используют методы, основанные на линейной зависимости спектральных каналов или вегетационные индексы, позволяющие получать количественные оценки проективного покрытия, динамики урожайности надземной фитомассы.

Результаты и обсуждения

Фитомасса природных кормовых угодий определена с использованием коэффициента простого зонального отношения q или вегетационного индекса, основанного на отношении каналов ИК и красного, который определяется делением коэффициента яркости в ближней части ИК-спектра p_1 на коэффициент яркости в красной p_2 :

$$q = p_1 / p_2. \quad (1)$$

Отношение каналов позволяет устранить многие факторы, затрудняющие дистанционное определение фитомассы. Выбор каналов красного и ближнего ИК при этом подходе объясняется спектральными свойствами зеленой растительности.

Фотометрический метод определения продуктивности растительного покрова основывается на зависимости коэффициентов яркости системы почва-растительность от параметров растительного покрова (густоты размещения растений, площади их листовой поверхности, количества надземной растительной массы). Эти характеристики растительных сообществ, а также отражательные свойства почв и формируют оптические свойства экосистемы на каждом фотометрируемом участке.

Фотометрирование растительных ассоциаций и их эдификаторов проводилось наземно и с самолета. Наземная фотометрическая съемка отработана в соответствии с разработанной методикой.

Величина отношения коэффициентов яркости $K_{пр}$ определяется по формуле:

$$K_{пр} = \frac{\frac{M_{дик}}{M_{Эк}}}{\frac{M_{дК}}{M_{Эк}}} \times \beta \quad , \quad (2)$$

где β - отношение коэффициентов яркости полевого эталона в двух участках спектра ($R_{ИК} / R_{ЭК}$) – ик – инфракрасный, к - красный;

$M_{дик}$, $M_{дК}$ - среднее значение из отсчетов над каждой делянкой;

$M_{Эк}$, $M_{ЭК}$ - среднее значение из отсчетов над эталоном.

После проведения наблюдений с учетных площадок или модельных кустов берется надземная зеленая масса укосным методом, с последующим взвешиванием в сыром и в воздушно-сухом состоянии.

На основании полученных значений спектральных коэффициентов яркости для каждой ассоциации и надземной массы растений, определенной укосным методом были построены градуировочные кривые, связывающие эти два показателя. Для этого информация наносится на график, по оси ординат величина параметров урожайности растительного покрова, по оси абсцисс - $K_{пр}$ (рис. 1). Переводные кривые пустынно-пастбищной растительности построены методом графического выравнивания экспериментальных данных.

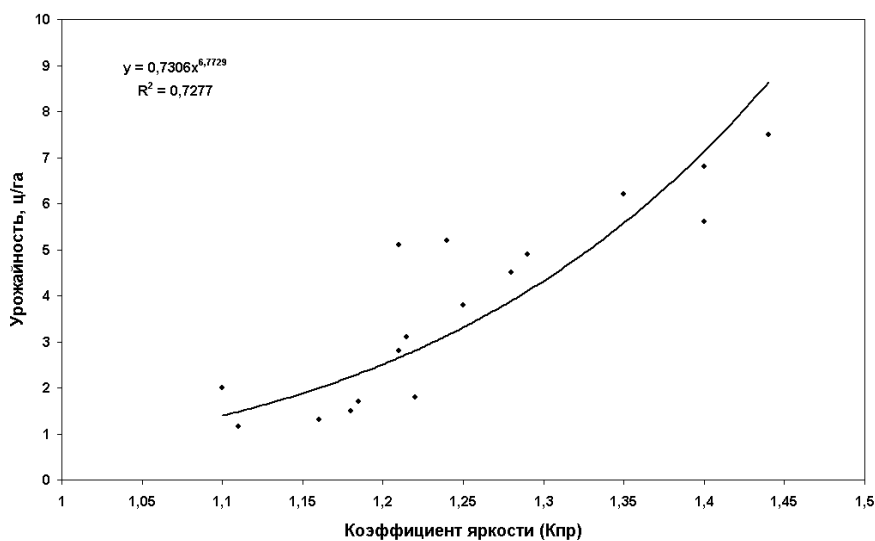


Рисунок 1 - Взаимосвязь урожайности эфедрово-терескеново-белоземельнополынной ассоциации со спектральным коэффициентом яркости

При аэрофотометрировании вся необходимая аппаратура также предназначена для измерения коэффициентов яркости пастбищной растительности в двух участках спектра. Регистрация сигналов от фотометра осуществлялась с помощью потенциометров [3].

Заключение

Экспериментальные данные позволили установить взаимосвязь между урожайностью и СКЯ в разрезе исследуемых ассоциаций для поздневесеннего и ранневесеннего периодов наблюдений, что в целом подтверждается соответствующими уравнениями регрессии и коэффициентами детерминации. Выявлены оптимальные сроки для проведения аэрофотометрических наблюдений.

Полученные данные служили основой для дешифрирования космических снимков и подготовки картографических материалов.

Литература

1. Богданов, 1984 Богданов В.М. Спектральные характеристики лесных объектов / В.М. Богданов // Международный учебный семинар ООН по практическому применению данных дистанционного зондирования Земли в области лесного хозяйства (21 мая- 9 июня). - М., 1984. – 18 с.
2. Трифонова Т.А. Геоинформационные системы и дистанционное зондирование в экологических исследованиях / Т.А. Трифонова, Н.В. Мищенко, А.Н. Краснощеков. - М., 2005. - 349 с.
3. Бедарева О.М. Технология инвентаризации пустынно-пастбищной растительности методами дистанционного зондирования / О.М. Бедарева // Фундаментальные достижения в почвоведении, экологии, сельском хозяйстве на пути к инновациям: всероссийская научно-практическая конференция: материалы / МГУ - М., 2008. - С. 167 - 168.

TO DETERMINE THE PRODUCTIVITY OF PLANT COMMUNITIES PHOTOMETRIC METHOD

Bedareva O., Muracheva L., Kalinina E.

spectral luminance factor (SKĀ), reflectivity, vegetation, photometry

The article deals with the use of remote sensing techniques to assess the productivity of pasture vegetation. Biomass of natural grassland is defined using vegetation index.

КОИММУНОЛОКАЛИЗАЦИЯ АЗП И АБК В СВЯЗИ С УСТОЙЧИВОСТЬЮ ПШЕНИЦЫ К ТОКСИЧЕСКИМ ИОНАМ

Безрукова М.В., Мурзабаев А.Р., Шакирова Ф.М.

ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, пр. Октября, 71, г. Уфа, 450054, Россия, E-mail: lectin@anrb.ru

*пшеница, АЗП, АБК, иммунолокализация, токсические ионы***Введение**

Известно, что агглютинин зародыша пшеницы (АЗП), относящийся к разряду АБК-контролируемых белков, интенсивно синтезируется и аккумулируется в ходе созревания семян [1], хотя он является характерным для растений пшеницы на протяжении всего онтогенеза лектином. В спектре предполагаемых функций АЗП особое внимание уделяется проявлению его защитного действия на растения в отношении разных стрессовых факторов, в связи с чем, его рассматривают в качестве компонента неспецифической устойчивости пшеницы [1]. Местом преимущественного синтеза и аккумуляции АЗП являются меристематические ткани корней, из которых он экскретируется в область корневого чехлика и наружную среду. Сосредотачиваясь в области корешков, АЗП становится для растений как бы экзогенным белком, способным оказывать защитное действие на растения, подвергнутые стрессу, в частности, на митотическую активность кончиков корней [2]. На основании полученных ранее данных о связи преимущественной локализации лектинов в активно растущих меристематических тканях и возможности вовлечения их в регуляцию ростовых процессов клеток, цель работы состояла в сравнительном анализе локализации АЗП и АБК в корнях пшеницы при действии токсических ионов.

Материалы и методы

Опыты по влиянию 1мМ ацетата кадмия ($\text{Cd}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$) или 2% NaCl проводили на 4-суточных проростках пшеницы *Triticum aestivum* L. сорта Башкирская 26. Для этого 3-суточные проростки предварительно изолировали от эндосперма и выдерживали корнями в стаканах на смеси 2% сахарозы и 28 нМ АЗП в течение 24 ч. Контролем служили растения, инкубированные на растворе 2% сахарозы. Подготовку материала, заливку в метакрилатную смолу JB 4, проведение иммуногистохимического анализа распределения АБК и АЗП с использованием полученных нами поликлональных специфических антител к АБК и АЗП выполняли согласно [3]. DyLight® 633 вторичные антикроличьи антитела применяли согласно протоколу (Agrisera, Швеция), срезы анализировали с помощью конфокального микроскопа LSM5 (Carl Zeiss, Германия), используя камеру AxioCam HR, при возбуждающей длине света 633 нм с использованием барьерного фильтра LP 650 после отражения через дихроичное зеркало NFT 545.

Результаты и обсуждение

Основываясь на полученных ранее приоритетных данные о кадмий-индуцированном АБК-опосредуемом обратимом накоплении АЗП в корнях, которое сопровождалось его экскрецией в среду инкубирования проростков [2], проведена оценка иммунолокализации АБК и АЗП в зоне растяжения корней. Данные рисунка а-в демонстрируют вызываемую кадмием интенсификацию накопления АБК преимущественно в клетках ризодермы, перицикла, сосудах мета- и протоксилемы и менее выраженное дискретное свечение - в клетках первичной коры и стеллярной паренхимы. Предобработка АЗП способствовала поддержанию концентрации АБК в корнях растений, подвергнутых кадмию, на уровне близком контролю, а иммуногистохимическое распределение характеризовалось пониженной дискретной иммунофлуоресценцией гормона в ризодерме и первичной коре и повышенной - в клетках централь-

ного цилиндра, что свидетельствует о высоком содержании АБК в этих зонах, особенно в области сосудов мета- и протоксилемы.

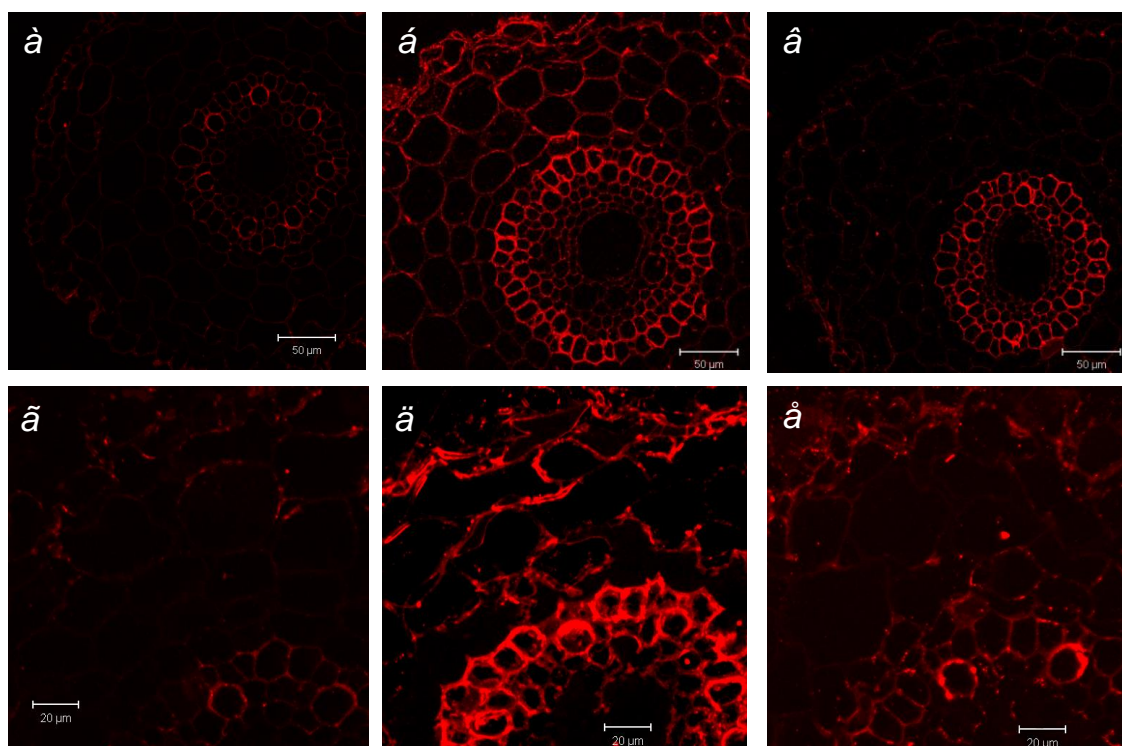


Рисунок 1 - Влияние ацетата кадмия на иммуногистохимическое распределение АБК (а-в) и АЗП (г-е) в зоне растяжения корней, выявленное с помощью кроличьих анти-АБК и анти-АЗП и DyLight® 633 антикроличьих антител: а, г – контроль; б, д – 7 ч 1 мМ Cd; в, е – 24 ч АЗП + 7 ч Cd. В вариантах без предварительного воздействия специфических антител АБК и АЗП не выявлялись

Figure 1 - Effect of cadmium acetate on immunohistochemical distribution of ABA (a-v) and WGA (г-е) in the elongation zone of roots detected using anti-ABA and anti-WGA rabbit antibodies, and DyLight ® 633 anti-rabbit antibodies: a, г - control, б, д - 7 h 1 mM Cd; в, е- 24 h WGA + 7 h Cd. ABA and WGA were not detected in variants without preliminary exposure to specific antibodies

Иммуногистохимический анализ АЗП, выявил, что кадмий вызывал сходное по локализации с АБК усиление иммунофлуоресценции АЗП (рис. г-е) в ризодерме, клетках первичной коры, перицикле, мета- и протоксилеме. В предобработанных АЗП и подвергнутых стрессу корнях интенсивность иммунофлуоресценции АЗП преимущественно выявлялась в области ризодермы и клетках сосудистой системы, но на меньшем уровне в сравнении с вариантом опыта с одним кадмием. Эти данные согласуются с результатами об уменьшении уровня кадмий-индуцированного накопления лектина в корнях предобработанных АЗП проростков в сравнении с таковыми необработанными АЗП, полученными методом иммуноферментного анализа [2]. Сходные результаты иммулокализации АБК и АЗП в кончике корня наблюдались в предобработанных и необработанных лектином проростках пшеницы также и в условиях натрий-хлоридного засоления. Колокализация АБК и АЗП в тканях корней растений пшеницы, подвергнутых воздействию токсических ионов, демонстрирует вовлечение лектина в спектр АБК-контролируемых защитных реакций растений пшеницы на стресс. В пользу этого свидетельствует способность АЗП экскретироваться в наружную среду, а также данные об уменьшении уровня стресс-индуцированного накопления АБК в корнях предобработанных АЗП проростков пшеницы и снижении степени повреждающего действия токсических ионов кадмия и натрия на показатели роста этих растений.

Заключение

С помощью конфокальной лазерной микроскопии впервые проведен сравнительный анализ иммулокализации АЗП и АБК на поперечных срезах в зоне элонгации корней проростков пшеницы, подвергнутых воздействию токсических ионов, с использованием кроличьих антител против АЗП и АБК и DyLight® 633 анти-кроличьих антител. Выявлена ключевая роль АБК в регуляции распределения АЗП в разных тканях корня при стрессе и ее колокализация с АЗП в тканях корня.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 14-04-00731.

Литература

1. Шакирова Ф.М., Безрукова М.В. Современные представления о предполагаемых функциях лектинов растений // Журнал общей биологии. - 2007. - Т. - 68. С.98-114.
2. Безрукова М. В., Фатхутдинова Р. А., Лубянова А. Р., Мурзабаев А. Р., Федяев В. В., Шакирова Ф. М. Участие лектина в формировании устойчивости пшеницы к токсическому действию кадмия // Физиология растений. - 2011. - Т. 58. - С. 907-914.
3. Ахиярова Г.Р., Фрике В., Веселов Д.С., Кудоярова Г.Р., Веселов С.Ю. Накопление и распределение АБК в тканях листа и устьичная проводимость при водном стрессе, индуцированном засолением // Цитология. - 2006. - Т. 48. - С. 918–923.

CO-IMMUNOLOCALIZATION OF WGA WITH ABA IN RELATION TO WHEAT RESISTANCE TO TOXIC IONS

Bezrukova M.V., Murzabaev A.R., Shakirova F.M.

wheat, WGA, ABA, immunolocalization, toxic ions

Using confocal laser microscopy for the first time there were performed comparative analysis of immunolocalization of WGA and ABA in transverse sections in the elongation zone of wheat seedling roots exposed to toxic ions with the help of DyLight ® 633 anti-rabbit antibodies. There was revealed the key role of ABA in the regulation of WGA distribution in different root tissues under stress and its co-localization with WGA in the root tissues.

ГИПОТЕЗА СТРЕССОВЫХ КОЛЕБАНИЙ

Берников Л.Р.

ФГБОУ ВПО «Калининградский государственный технический университет»,
Советский пр., 1, г. Калининград, 236022, Россия, E-mail: bernikovy@gmail.com

биологический стресс, стресс-реакция, специализированная адаптация, иммунизация

Тема биологического стресса является едва ли не самой цитируемой в физиологии не только в связи с нарастающей экологической опасностью. Единство живой материи, приводя к единству основных закономерностей стрессовых явлений, делает разработки даже в области стресса растений [1] весьма существенными с точки зрения национальной безопасности. Действительно, изучение механизма переключения стрессовых фаз дает познания, например, в области преодоления человеческим организмом экстремальных условий и повышения здоровья нации, поскольку такие процессы, как формирование и течение заболевания, а также выживаемость организма являются различными сторонами общего явления биологического стресса.

В НИЦ Биологии и биотехнологии растений на протяжении нескольких лет изучались процессы, вызываемые умеренными концентрациями тяжелого металла – свинца [2-5]. Нами, в частности, было показано переключение в данных условиях стрессовых фаз, получены общие характеристики стрессовых изменений, сделаны иные наблюдения. Работа в данной сфере, а также необходимость выработки четкого понимания направления дальнейших исследований привели к формированию излагаемой ниже гипотезы переключения фаз стресса.

В центре гипотезы стрессовых колебаний находится известный из физики тезис, справедливый для любой формы существования материи. Согласно ему, колебания в системе возникают, когда к ней прикладываются близкие по величине противодействующие силы. Если рассмотреть организм, подвергающийся стрессу, на макроуровне, такими противодействующими силами могут быть биотические процессы и стрессовые повреждения. При возрастании стрессового воздействия их взаимовлияние на организм становится сравнимым по величине, в силу чего должны возникать определенные колебания. Назовем их, в зависимости от преобладания биотических процессов, фазами «+» и «-».

Итак, первая фаза стресса – стресс-реакция [6] – протекает в условиях формирования данных колебаний, в связи с нарастанием с нуля стрессового воздействия и адекватного ответа на него, исходя из уже имеющихся в неповрежденном состоянии механизмов поддержания гомеостаза. Гипотеза стрессовых колебаний рассматривает дальнейшее переключение двух известных фаз стресса в несколько последующих этапов. Рассмотрим их по отдельности.

I. Ввиду усиления амплитуды колебаний стрессовое воздействие изолируется, приводя к компартиментализации стрессовых изменений (например, накоплению тяжелого металла в вакуолях растения при активизации ионных переносчиков).

II. В одной из фаз «-» достигает максимума стресс-реакционная сопротивляемость организма, амплитуда биотических процессов также претерпевает максимум.

III. Следующая фаза «+» проходит с уже преимущественным накоплением стрессора.

IV. Парадоксальная фаза «-». Во время нее усиление действия стрессора приводит к частичному преодолению компартиментализации стресса, но уже в направлении «стрессор-организм», и это приводит к дифференциальной экспрессии генома под воздействием (что существенно!) избытка стрессора. Возрастающая пластическая функция организма снабжается энергией за счет энергии, накопленной в предыдущей фазе «+».

Парадоксальная фаза является гранью, за которой следует фаза специализированной адаптации [6], в ходе которой в борьбе со стрессом участвуют физиологические механизмы, отсутствующие в нативном организме. Стрессовые колебания при этом сохраняются, но имеют иной характер по сравнению с фазой стресс-реакции.

Гипотеза стрессовых колебаний объясняет, в частности, то, каким образом организм, нарастающим темпом противодействующий стрессу в стадии стресс-реакции, находит силы для экспрессии генов, характерной для специфической адаптации.

Важнейшим следствием предложенной гипотезы является положение, согласно которому специализированная адаптация является скорее не преодолением более глубокого стресса, а лишь механизмом локализации стрессовых изменений, во время которого функционирует качественно ослабленный организм, жизнедеятельность которого определена аномально поврежденным состоянием, характерным для парадоксальной фазы. Таким образом, например, ставится под сомнение парадигма целесообразности профилактической вакцинации, поскольку формирующаяся при формировании новых антител вторая фаза стресса *а priori* приводит к качественному ослаблению организма. Это позволяет по-новому взглянуть на процессы профилактики и иммунизации в целом.

В нашей работе твердых подтверждений приведенной гипотезы мы пока не нашли. С другой стороны, именно в стрессовом состоянии исследованных растений, в отличие от нативного, мы наблюдали расщепление выборки на две контрастные группы. Часть растений оказывалась интенсивно окрашенной, с толстыми короткими первыми настоящими листьями и крупными вторыми. Другая часть характеризовалась выраженным хлорозом и некоторой дистрофией, при этом первые листья были оказывались значительно длиннее, а вторые – значительно короче, чем у растений первой группы (данные не приведены). Это, с одной стороны, могло быть одним из свидетельств роста данных растений в различных стрессовых фазах «+» и «-» при одной и той же концентрации свинца в зависимости от наличия незначительной в пределах одного и того же использованного сорта функциональной изменчивости. Однако, данное наблюдение могло быть обусловлено и существованием в пределах выборки различных генетических линий, по тем или иным причинам не повлиявших на отнесение их к одному сорту. Проверить истинность любой из антирез предстает затруднительным.

Существенным подтверждением гипотезы может стать обнаружение уже упомянутых первой и парадоксальной фаз стрессового перехода. В первом случае это – установление факта максимальной компартиментализации стресса до наступления специализированной адаптации, – во втором – это обнаружение факта активизации пластических процессов в условиях преобладающего загрязнения стрессором и отсутствие спада этого загрязнения при углублении процессов.

К настоящему времени имелась возможность сравнить кривые стрессового повреждения фотосинтетического аппарата по наблюдавшейся флуоресценции и мембран – по изменению выхода электролитов – с одной стороны [5] – и результатами экспрессии пролина [4] в фазе специализированной адаптации – с другой (рис. 1). Тем не менее, данные эксперименты проводились последовательно и в них не совсем очевидный максимум стрессовых повреждений приходился на минимум накопления свободного пролина (рис. 1), что гипотезу стрессовых колебаний пока не подтверждает. Для дальнейших исследований в данном направлении необходимо параллельные опыты с различными стрессовыми маркерами, а также измерения показателей пластических функций организма и кинетические эксперименты.

Литература

1. Кошкин Е.И. Физиология устойчивости сельскохозяйственных культур: учебник / Е.И. Кошкин. – М.: Дрофа, 2010. – 638 с.
2. Роньжина Е.С. Действие свинца на ранние этапы онтогенеза пшеницы (*Triticum aestivum* L.) / Е.С. Роньжина, Л.Р. Берников // Инновации в науке и образовании-2009: междунар. науч. конф. (20-22 окт.): в 2-х ч. / КГТУ. – Калининград. Изд-во ФГОУ ВПО «КГТУ», 2009. – Ч. 1. – С. 143-144.
3. Роньжина Е.С. Действие свинца на водный обмен растений пшеницы (*Triticum aestivum* L.) на ранних этапах онтогенеза / Е.С. Роньжина, Л.Р. Берников, Н.Н. Сорокина // Известия КГТУ. – 2011. – № 22. – С. 232-238.
4. Берников Л.Р. Оценка индуцированной свинцом стрессовой реакции в растениях яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) / Л.Р. Берников, Е.С. Роньжина // Труды X междунар. науч. конф. «Инновации в науке, образовании и бизнесе-2012» Калининград, ФГБОУ ВПО «КГТУ», 2012 в 2-х ч. / КГТУ. – Калининград. Изд-во ФГБОУ ВПО «КГТУ», 2012. – Ч 1. – С. 153-156.

5. Берников Л.Р. Анализ индуцированного свинцом умеренного биологического стресса проростков яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) / Л.Р. Берников, Е.С. Роньжина // Вестник РУДН. Серия «Экология и безопасность жизнедеятельности». — 2014. — № 1. — С. 15-24.

6. Кузнецов Вл.В. Пролин при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция / Вл.В. Кузнецов, Н.И. Шевякова // Физиология растений. – 1999. – Т. 46, № 2. – С. 321-336.

а)



б)



в)

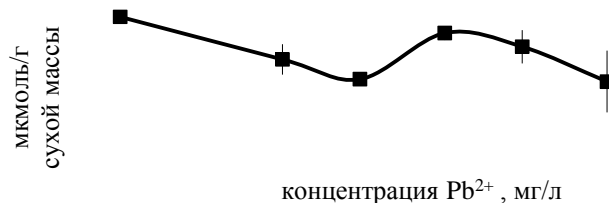


Рисунок 1 - Концентрационная зависимость влияния свинца на флуоресценцию хлорофилла (а), выход электролитов через клеточные мембраны (б) и содержание свободного пролина (в) в листовых пластинках первых настоящих листьев проростков яровой пшеницы [4, 5]

Figure 1 -Concentrational dependence of influence of chlorophyll fluorescence (a), lead on electrolytes exit through cell membranes (б) and level of free proline (в) in 1st true leaves of wheat [4, 5]

THE HYPOTHESIS OF STRESS OSCILLATIONS

Bernikov L.R.

biological stress, stress reaction, specialised adaptation, immunisation

The hypothesis based on the supposition of the existence of oscillations caused by the contraction of the biotic and stress processes is proposed. It explain the mechanism of the exchange of stress phases. A consequence from the hypothesis and the ways of its experimental evidence are discussing.

МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ Ni^{2+} И Cu^{2+} НА НАЧАЛЬНЫЕ ЭТАПЫ ПРОРАСТАНИЯ МУЖСКОГО ГАМЕТОФИТА *NICOTIANA TABACUM L.*

Брейгина М.А., Полева С.В., Ермаков И.П.

ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»,
Ленинские горы, д. 1, стр. 12, г. Москва, Россия, 119991, E-mail: pollen-ions@yandex.ru*пыльцевое зерно, тяжелые металлы***Введение**

Пыльцевое зерно покрытосеменных растений – прекрасный объект для изучения индукции морфогенеза и поддержания полярного роста на клеточном уровне. В то же время, эффективность прорастания пыльцы и скорость роста пыльцевой трубки в значительной мере определяет успех репродуктивного процесса у растений. Для инициации полярного роста необходима комплексная подготовка, которая обеспечивается согласованной работой стеночных ферментов и АФК в стенке [1], ион-транспортных систем в плазмалемме [2, 3] и внутриклеточных механизмов, которые участвуют в активации метаболизма и перераспределении органелл [4, 5].

В связи с загрязнением экосистем соединениями тяжелых металлов изучение их действия на растения на клеточном и молекулярном уровне приобретает особую актуальность. Никель и медь являются распространенными промышленными токсикантами, однако их влияние на морфогенетические процессы у растений практически не изучено.

Установлено, что присутствие Cu^{2+} и Ni^{2+} ингибирует прорастание пыльцы [6–9], однако механизмы их действия на этот процесс не были изучены. Данная работа посвящена исследованию механизмов действия Ni^{2+} и Cu^{2+} на мужской гаметофит табака.

Материалы и методы

В качестве объекта использовали пыльцевые зерна табака. Условия выращивания растений и инкубации пыльцы были описаны ранее [10]. Процент жизнеспособных и активированных пыльцевых зёрен определяли окрашиванием ФДА. Величину мембранного потенциала оценивали по интенсивности флуоресценции потенциал-зависимого анионного красителя DiBAC4(3) [11]. Митохондрии выявляли в соответствии с ранее описанной методикой, окрашивая пыльцевые зерна потенциал-независимым красителем NAO [11]. Везикулярный транспорт исследовали с помощью FM4-64 – липофильного красителя, который связывается с плазматической мембраной и проникает в клетку путем эндоцитоза [11]. Для оценки содержания АФК в пыльцевых зернах использовали DCFH-DA, интенсивность флуоресценции зависит от баланса продукции и ликвидации активных форм кислорода [1]. Каллозу выявляли с помощью анилинового синего [12]. Локализацию никеля в цитоплазме клеток изучали с помощью красителя диметилглиоксима, который образует окрашенный комплекс с никелем в щелочной среде [12].

Для оценки внутриклеточного рН и выхода хлорид-иона из клеток использовали спектрофлуориметрию. Для измерения внутриклеточного рН пыльцевые зерна окрашивали BCECF-AM, краситель калибровали *in vitro* с использованием псевдо-цитозольной среды. Для выявления выхода Cl^- из пыльцевых зерен использовали флуоресцентный индикатор MEQ [11].

Скорость поглощения кислорода определяли полярографическим методом с использованием электрода Кларка. Для определения выхода калия из клеток использовали плазменную фотометрию [10]. Прочность клеточной оболочки пыльцы оценивали ранее описанным методом [1] по устойчивости пыльцевых зерен к действию гипотоничной среды. Ультроструктуру пыльцевых зерен исследовали с помощью общепринятого метода ТЭМ на микроскопе JEM-1011. Элементный анализ пыльцевых зерен проводили с помощью сканирующего ана-

литического электронного микроскопа JSM-6380LA, укомплектованного рентгеноспектральным анализатором JED-2300 [12]. При этом для анализа использовались поровые области, не покрытые экзиной

Результаты и обсуждение

Cu^{2+} в концентрации 100 мкМ полностью блокировала прорастание, но пыльцевые зерна сохраняли жизнеспособность. При этом перераспределение органелл в цитоплазме пыльцевого зерна, характеризующее готовность к полярному росту, было полностью заблокировано. В качестве возможных мишеней мы рассматривали ион-транспортные системы плазмалеммы и полимеры клеточной стенки. Под действием 100 мкМ меди происходила гиперполяризация плазматической мембраны и защелачивание цитоплазмы. Эти эффекты говорят об активации H^+ -АТФазы плазмалеммы. Транспорт ионов K^+ и Cl^- не изменялся в присутствии меди. Обнаруженные эффекты значительно отличаются от тех, которые наблюдали в соматических клетках. Это указывает на своеобразие пыльцевого зерна как объекта, в котором ион-транспортные системы активно работают при подготовке к запуску полярного роста. С другой стороны, под действием меди изменялись механические свойства клеточной стенки: снижалась ее прочность. Обращение эффекта при добавлении тушителя DMSO говорит об участии в этом процессе Cu^{2+} -индуцированного $\bullet\text{OH}$. Можно заключить, что нарушение баланса между различными видами АФК и, следовательно, локальное изменение механических свойств клеточной стенки вносит существенный вклад в остановку прорастания под действием Cu^{2+} .

Никель ингибировал прорастание пыльцы в зависимости от концентрации, однако даже полное ингибирование при 1 мМ было обратимо, и пыльцевые зерна сохраняли жизнеспособность. Никель также ингибировал рост коротких пыльцевых трубок. Более длинные трубки не проявляли чувствительности к никелю или даже росли быстрее в его присутствии. Токсический эффект никеля мог быть связан как с проникновением в цитоплазму, так и с нарушениями в клеточной стенке. Оказалось, что реализуются оба механизма: никель вызывает как цитоплазматические, так и стеночные эффекты. В цитоплазме обнаружены две основные мишени: функционирование митохондрий (поглощение кислорода снижалось в присутствии металла) и везикулярный транспорт (распределение везикул было нарушено в большинстве коротких трубок). Нарушение отложения одного из компонентов клеточной стенки – каллозы - было обнаружено как в пыльцевых зернах, так и в коротких трубках. Обнаруженные эффекты были не связаны с окислительным стрессом, поскольку содержание АФК в пыльцевых зернах оставалось на уровне контроля. В то же время, по результатам РМА, никель значительно снижал содержание кальция в пыльцевых зернах. Мы можем заключить, что основным механизмом действия никеля на пыльцу является конкуренция с кальцием, которая, в свою очередь, может нарушать функционирование митохондрий и везикулярного транспорта, а также вызывать аномальное отложение каллозы.

Разнообразие обнаруженных физиологических эффектов Ni^{2+} и Cu^{2+} , предположительно, должно было найти отражение в изменениях ультраструктуры пыльцевых зерен. Это предположение подтвердили исследования, проведенные методом ТЭМ. Хотя ни Ni^{2+} , ни Cu^{2+} не изменяли ультраструктуру цитоплазмы, однако оба металла изменяли организацию периплазмы в области апертуры в процессе активации пыльцевого зерна. Многочисленные мультиламеллярные мембранные тела, являющиеся выростами плазмалеммы, были видны в контрольных пыльцевых зернах, которые завершили гидратацию, однако лишь приступали к активации. Когда активация заканчивалась, плазмалемма распрямлялась и ММТ исчезали. В присутствии 1 мМ Ni^{2+} или 100 мкМ Cu^{2+} ММТ оставались неизменными. Мы предположили, что ММТ представляют собой запасные мембраны, которые используются на начальных этапах полярного роста. Ni^{2+} и Cu^{2+} нарушают утилизацию этих мембран, и, таким образом, блокируют прорастание.

Заключение

Тяжелые металлы Ni^{2+} и Cu^{2+} ингибируют прорастание пыльцевых зерен, однако механизмы их действия различны. Никель нарушает кальциевый гомеостаз, везикулярный транспорт и строительство клеточной стенки. При этом он не вызывает избыточного образования АФК. Медь вызывает изменения мембранного потенциала и цитоплазматического рН, по-видимому, за счет активации протонной помпы. Одновременно она приводит к изменению механических свойств клеточной стенки за счет избыточной продукции АФК. Оба металла приводят к нарушению ультраструктуры мембранно-стеночного комплекса в области апертур.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проекты 13-04-00624-а и 14-04-31431).

Литература

1. Smirnova A., Matveyeva N., Yermakov I. Reactive oxygen species are involved in regulation of pollen wall cytomechanics. // *Plant Biol. (Stuttg)*. 2013. Vol. 16. P. 252–257.
2. Michard E., Alves F., Feijó J. a. The role of ion fluxes in polarized cell growth and morphogenesis: the pollen tube as an experimental paradigm. // *Int. J. Dev. Biol.* 2009. Vol. 53, № 8-10. P. 1609–1622.
3. Zonia L. Spatial and temporal integration of signalling networks regulating pollen tube growth. // *J. Exp. Bot.* 2010. Vol. 61, № 7. P. 1939–1957.
4. Heslop-Harrison J. Pollen germination and pollen-tube growth // *Int. Rev. Cytol.* 1987. Vol. 107. P. 1–78.
5. Mazina S., Matveeva N., Yermakov I. Determination of a position of a functional pore in the tobacco pollen // *Tsitologiya (Russia)*. 2002. Vol. 44. P. 33–39.
6. Sawidis T., Reiss H. Effects of heavy metals on pollen tube growth and ultrastructure // *Protoplasma*. 1995. Vol. 185. P. 113–122.
7. Tuna A.L., Bürün B. The Effects of Heavy Metals on Pollen Germination and Pollen Tube Length in the Tobacco Plant // *Turk J Biol.* 2002. Vol. 26. P. 109–113.
8. Gür N., Topdemir A. Effects of Some Heavy Metals on *in vitro* Pollen Germination and Tube Growth of Apricot (*Armenica vulgaris* Lam.) And Cherry (*Cerasus avium* L.) // *World Appl. Sci. J.* 2008. Vol. 4, № 2. P. 195–198.
9. Sabrine H. et al. Effects of cadmium and copper on pollen germination and fruit set in pea (*Pisum sativum* L.) // *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. Elsevier B.V., 2010. Vol. 125, № 4. P. 551–555.
10. Breygina M.A. et al. Transmembrane transport of K^+ and Cl^- during pollen grain activation *in vivo* and *in vitro* // *Russ. J. Dev. Biol.* 2012. Vol. 43, № 2. P. 85–93.
11. Breygina M.A., Matveeva N.P., Ermakov I.P. The role of Cl^- in pollen germination and tube growth // *Russ. J. Dev. Biol.* 2009. Vol. 40, № 3. P. 157–164.
12. Breygina M. et al. Ni^{2+} effects on *Nicotiana tabacum* L. pollen germination and pollen tube growth. // *Biometals*. 2012. Vol. 25, № 6. P. 1221–1233.

MECHANISMS OF Ni^{2+} AND Cu^{2+} EFFECT ON INITIAL STAGES OF *NICOTIANA TABACUM* L. POLLEN GERMINATION

Breygina M.A., Polevova S.V., Yermakov I.P.

pollen germination, heavy metals

Ni^{2+} and Cu^{2+} both inhibit pollen germination, but mechanisms of these effects are different. Ni^{2+} affects calcium homeostasis, vesicle transport and pollen wall deposition. It does not cause excess ROS production. Cu^{2+} treatment alters membrane potential and pH_{cyt} values in pollen grains. It also affects cell wall cytomechanics, presumably, through excess ROS production. Both metals cause ultrastructural alterations of membrane-cell wall complex in aperture regions.

ДЕГИДРИНЫ РАЗНЫХ ПО ФЕНОЛОГИИ БЕРЕЗ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЯКУТИИ

Бубякина В.В., Татарина Т.Д., Васильева И.В., Пономарев А.Г., Перк А.А.

ФГБУН Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, г. Якутск, пр. Ленина, 41, 677000, Россия, E-mail: anaponomarev@yandex.ru

*береза, фенология, криолитозона Якутии, дегидрины***Введение**

Климатические особенности регионов определяют фенологический ритм растений. Резко континентальный с выраженными морозами и засухами климат Центральной Якутии выдвигает особые требования к адаптационному потенциалу видов. Адаптация криолитозоны растений связана с формированием оптимальных параметров морозоустойчивости, которые определяются, в том числе, экспрессией генов, кодирующих регулируемые холодом полипептиды. К последним относятся водорастворимые белки-дегидрины, задействованные в стабилизации макромолекул и мембран [1]. В этой связи, в работе изучали особенности полиморфизма и сезонную динамику дегидринов у экземпляров берез с разной фенологией (березы с ранним, средним и поздним выходом из покоя и разными сроками листопада).

Материалы и методы

Объектом исследования служила восточно-сибирская разновидность березы повислой – береза плосколистная (*Betula platyphylla* Sukacz.), которая является основным лесообразующим видом Центральной Якутии. При наблюдении за популяцией берез в лесопарковой зоне г. Якутска (62° с.ш., 130° в.д.) нами были выявлены растения, которые характеризовались заметными различиями в проявлениях фенологических свойств: разными сроками начала распускания, пожелтения и опадания листьев, которые в дальнейшем использовались в качестве опытных экземпляров.

Для выделения суммарных белков из почек и листьев березы (1-2 г) применяли методику [2]. Электрофорез проводили в 12.5% SDS-PAGE [3]. На треки наносили равные количества белка (20 мкг). Иммуноблоттинг проводили в соответствии с методикой [4]. Белки из ПААГ переносили на ПВДФ (поливинилиденфторид) мембрану («Bio-Rad», США). Идентификацию дегидринов выполняли с помощью поликлональных антител против их консервативного К-сегмента («Agrisera», Швеция). Дегидрины визуализировали при помощи кроличьих антител, конъюгированных с щелочной фосфатазой («Sigma», США).

Результаты и обсуждение

При сравнении берез Центральной Якутии выявили полиморфизм дегидринов в период покоя растений (рис. 1). Обнаруженные с помощью специфических антител дегидрины почек изученных берез в основном группировались в двух областях: средне- (56-73 кДа) и низкомолекулярной (15-21 кДа). Анализ сезонных изменений показал, что у всех экземпляров круглогодично наблюдались среднемолекулярные дегидрины 66 и 69 кДа. Пока не ясно, как сказываются особенности выявленного нами полиморфизма дегидринов на уровень адапционной пластичности центральоякутских берез. Наибольший интерес представляют именно низкомолекулярные дегидрины с выраженной сезонной динамикой (рис. 2), особенно с мол. м. 17 кДа. У берез Центральной Якутии низкомолекулярные дегидрины полностью исчезали в конце мая и появлялись в августе. Несмотря на то, что отдельные растения из популяции берез Центральной Якутии обладали разными сроками начала и окончания вегетации (табл.), качественный состав низкомолекулярных дегидринов почек оказался во многом сходным. Их накопление отмечалось при подготовке растений к покою и, вероятно, связано с формированием устойчивости к экстремальным условиям перезимовки.

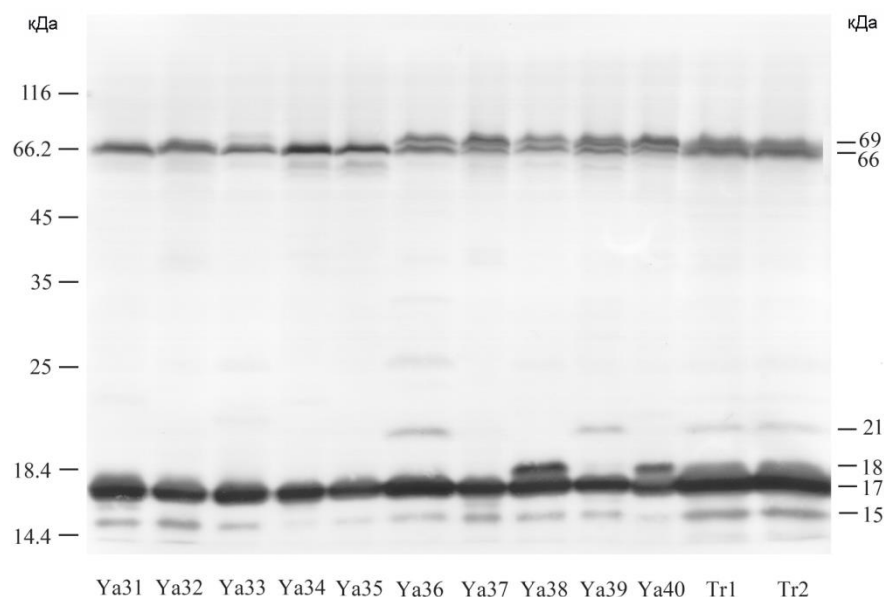


Рисунок 1 - Полиморфизм дегидринов почек индивидуальных (Ya31-Ya40) и усредненных из 80 растений (Tr1, Tr2) берез *B. platyphylla* в период покоя (декабрь, 2012 г.). Слева указаны молекулярные массы стандартов, справа – молекулярные массы дегидринов

Figure 1 - Polymorphism of dehydrins in individual buds (Ya31-Ya40) and average buds of 80 plants (Tr1, Tr2) birch *B. platyphylla* during dormancy (December, 2012). The left is molecular masses of standards, the right – one is molecular masses of dehydrins

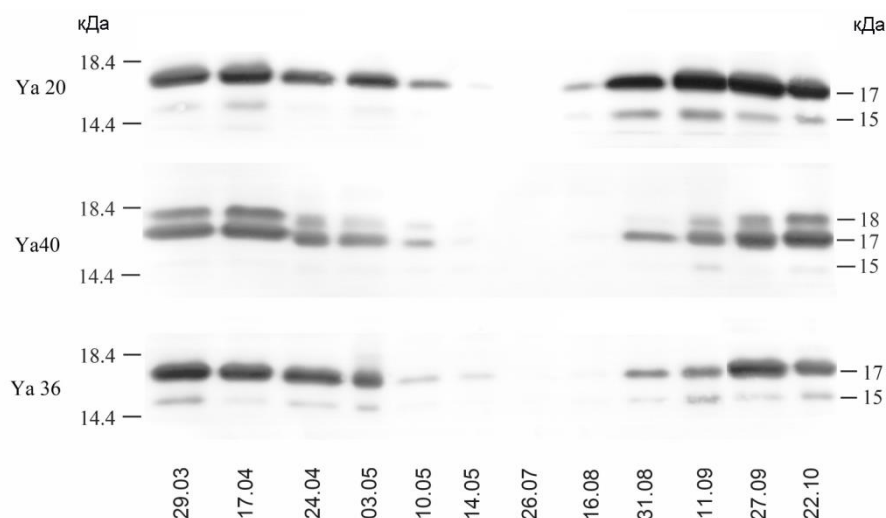


Рисунок 2 - Вариабельность спектров низкомолекулярных дегидринов в почках ранне- (Ya20), средне- (Ya36) и поздневегетирующих (Ya40) фенотипов берез Центральной Якутии (2012 г.). Слева указаны молекулярные массы стандартов, справа – молекулярные массы дегидринов

Figure 2 - Spectral variability of with low molecular weight dehydrin in birch buds phenotypes of early- (Ya20), medium- (Ya36) and late vegetation (Ya40) phenotypes in Central Yakutia (2012). The left is molecular masses of standards, the right – one is molecular masses of dehydrins

Показано, что у берез с ранним началом разворачивания листьев наблюдается постепенное снижение уровня низкомолекулярных дегидринов весной по сравнению с поздневегетирующими экземплярами берез. Исчезновение этих полипептидов коррелировало с повышением среднесуточной температуры воздуха. У берез Центральной Якутии низкомолекулярные дегидрины полностью исчезали в конце мая. При этом, у разных по фенологии растений

исчезновение дегидринов совпадало с появлением первых зеленых листьев. У более рано начавших вегетацию берез (Ya20 и Ya40) окончательное исчезновение дегидрина с мол. м. 17 кДа произошло в более ранние сроки, чем у поздневегетирующей березы (Ya36).

Таблица - Основные фенологические фазы *Betula platyphylla* Центральной Якутии в 2012 г.

Table - Phenological fundamental phases of *Betula platyphylla* Central Yakutia in 2012

№№ берез	Фенотип	Начало рас- пускания листьев	Начало по- желтения листьев	Начало ли- стопада	Конец ли- стопада
Ya20	Ранневегетирующий	11.V	29.VIII	05.IX	13.IX
Ya40	Средневегетирующий	14.V	04.IX	09.IX	16.IX
Ya36	Поздневегетирующий	17.V	07.IX	11.IX	18.IX

Появление дегидринов в почках в конце вегетации определялось, вероятно, индивидуальным временем вхождения растений в глубокий покой. У ранневегетирующей березы Ya20 отмечалось более раннее появление дегидринов уже в середине августа. У берез Ya36 и Ya40 с более продолжительным сохранением зеленых листьев и поздними сроками листопада появление и быстрое нарастание низкомолекулярных дегидринов наблюдали в конце августа. Первые признаки появления низкомолекулярных дегидринов совпадали с укорочением длины светового дня и снижением температуры воздуха. В дальнейшем низкомолекулярные дегидрины поддерживались на стабильно высоком уровне в течение всей зимы.

Заключение

Впервые выявлен полиморфизм дегидринов и обнаружена связь между разворачиванием листьев весной и пожелтением листьев, а также листопадом осенью и динамикой исчезновения и, соответственно, появления низкомолекулярных дегидринов (в основном 17 кДа дегидрина) в почках у индивидуальных растений разных фенотипов берез *Betula platyphylla* Центральной Якутии.

Литература

1. Kosova K., Prašil I.T., Vitamvas P. Role of dehydrins in plant stress response // Handbook of plant and crop stress. Tucson: CRC Press., 2010. P. 239-285.
2. Korotaeva N.E., Oskorbina M.V., Kopytova L.D., Suvorova G.G., Borovskii G.B., Voinikov V.K. Variations in the content of stress proteins in the needles of common pine (*Pinus sylvestris* L.) within an annual cycle // Journal of Forest Research. 2011. DOI 10.1007/s10310-011-0260-y.
3. Laemmli U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of Bacteriophage T4 / U. K. Laemmli // Nature. 1970. Vol. 227. P. 680-685.
4. Timmons T.M., Dunbar B.S. Protein blotting and immunodetection // Methods Enzymol. 1990. Vol. 182. P. 679-701.

DEHYDRINS OF DIFFERENT PHENOLOGY BIRCH CENTRAL YAKUTIA

Bubyakina V.V., Tatarinova T.D., Vasilieva I.V., Ponomarev A.G., Perk A.A.

birch, phenology, cryolithic zone of Yakutia, dehydrins

The relationship between the phenology of individual plants of birch *Betula platyphylla* Sukacz. Central Yakutia and seasonal changes of dehydrins (mainly 17-kDa dehydrin) in the buds it is shown in this paper. Their accumulation was noted in the preparation of plants to dormancy and probably associated with the formation of their resistance to extreme conditions of cryolithozone.

**ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ ПРОЛИНА В ПРОРОСТКАХ ГОРОХА
В УСЛОВИЯХ ГИПЕРТЕРМИИ**

Бурлуцкая Е.Ю.

ФГБОУ ВПО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,
ул. Букирева 15, г. Пермь, 614990, Россия, E-mail: burlutskajalena@yandex.ru

гипертермия, стресс, пролин

Температура окружающей среды является, пожалуй, одним из основных абиотических факторов в жизни растений. Естественно, что изменение температуры ведет к самым разнообразным последствиям на всех уровнях их организации [1,8].

Высокотемпературный стресс представляет собой один из самых значимых абиотических факторов, определяющих урожайность сельскохозяйственных культур.

Считается, что превышение оптимальной температуры для конкретного вида растений на 10 – 15 оС является стрессирующим и вызывает цепь ответных реакций в организме, направленных на передачу стресс-сигнала и повышение устойчивости, выражающейся в сдвиге многих метаболических реакций и физиологических процессов [2, 4, 6, 9, 10]. К неспецифическим ответам на различные виды стресс-воздействия относятся изменения в функциональной и структурной реорганизации клеток всего организма растения, в основе этого лежит изменения молекулярного состава веществ [7]. Низкомолекулярные защитные соединения, которые отличаются полифункциональностью, в настоящее время считаются одними из ключевых механизмов адаптации к абиотическим стрессорам разной природы, в том числе и тепловому [3]. К разряду этих веществ относится аминокислота пролин, обладающая полифункциональным биологическим эффектом, который проявляется в осморегуляторной, протекторной, антиоксидантной, энергетической и других функциях, обеспечивающих поддержание клеточного гомеостаза и его переход в новое адаптивное состояние [5].

Целью работы было определить количественное содержание аминокислоты пролина при воздействии на растения гороха превышенной и пониженной температуры в течение нескольких сут.

В опыте использовались проростки растений гороха (*Pisum sativum* L.) сорта Альфа. Проростки выращивали в условиях гидропоники с вермикулитом, при температуре 22° С в течение 15 дней. Опытные варианты подвергали температурному воздействию:

1-й вариант 35° С (7 сут.);

2-й вариант 40° С (7 сут.);

3-й вариант последовательному воздействию сначала 30° С (24 ч), затем 40° С (6 сут.).

Для анализа брали растения на 1-, 3-, 5-, 7 – е сут. во время воздействий. Определяли содержание пролина [12].

Проведенное исследование показало (рис. 1) что самое высокое содержание пролина было отмечено в варианте 3 с предварительной обработкой повышенной температурой 30° С в течении 24 ч. В вариантах 2 и 3 можно отметить тенденцию к максимальному повышению уровня аминокислоты через сут. воздействия максимальной температуры (40° С), а затем постепенному его снижению. В 1-м варианте не наблюдали заметных различий в содержании пролина на протяжении всего периода обработок.

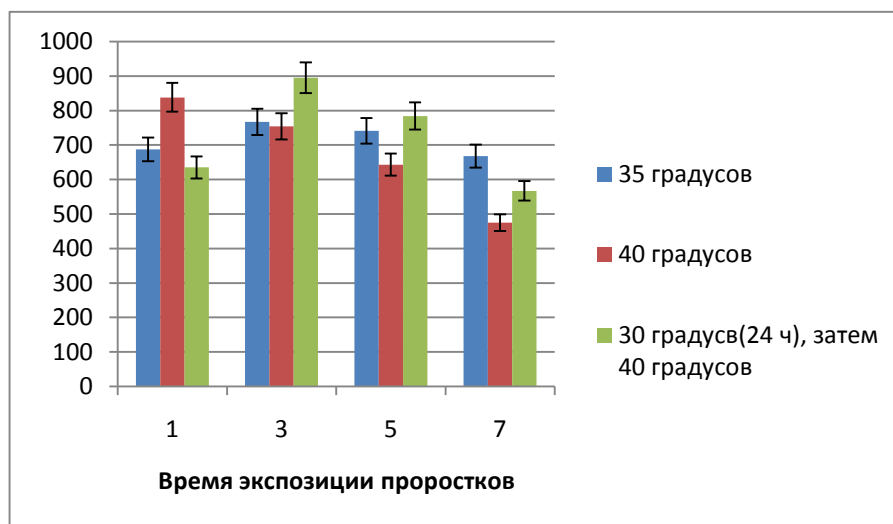


Рисунок 1 - Содержание пролина в растениях гороха (мг/100г. сух. в-ва)
 Figure 1 - The content of proline in the pea plant (mg/100g. dry substance)

В целом, полученные нами результаты и данные в литературе дают основание считать, что накопление разнообразных низкомолекулярных соединений, в частности пролина, может обслуживать неспецифические реакции растений на стрессоры различной природы. Свободный пролин при стрессе – осмопротектор, обладает полифункциональным биологическим эффектом, является стабилизатором макромолекул и мембран, дополнительным источником энергии и азота, антиоксидантом и др. [5, 10, 11].

Исходя из полученных данных, можно предположить, что воздействие повышенной температуры оказывает большее влияние на физиологические процессы растений гороха и мобилизует жизненные силы организма направленные на преодоление длительного воздействия неблагоприятных условий. Предварительная обработка повышенной температурой помогает организму лучше переносить последующее воздействие высоких температур.

Литература

1. Александров В.А. Клетки, макромолекулы и температура. Л.: Наука, 1975. 330 с.
2. Веселова Т.В., Веселовский В.А., Чернавский Д.С. Стресс у растений. М.: МГУ. 1993. 144 с.
3. Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е. Ответ растений на гипертермию: молекулярно-клеточные аспекты // Вестник харьковского национального аграрного университета. Серия биология. Харьков. 2009, вып. 1 (16). С. 19-38.
4. Кузнецов, Вл.В. Общие системы устойчивости и трансдукция стрессорного сигнала при адаптации растений к абиотическим факторам / Вл.В. Кузнецов// Вестник ННГУ. – 2001. - № 16. – С.65-69.
5. Кузнецов Вл.В., Шевякова Н. И. Пролин при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция // Физиология растений. 1999. Т. 46. №2. С. 321 – 336.
6. Кулаева О.Н. Белки теплового шока и устойчивость растений к стрессу // Сорос. Образ. Журнал. 1997. №2. С.5-13.
7. Лебедев. Физиология растений / С.И. Лебедев. – М.: Агропромиздат, 1988. 554 с.
8. Синкевич М.С., Сабельникова Е.П., Дерябин А.Н., Астахова Н.В., Дубинина И.М., Бураханова Е.А., Трунова Т.И. Динамика активности инвертаз и содержания сахаров при адаптации растений картофеля к гипотермии// Физиология растений. 2008. Т. 55, № 4. с. 501-506.
9. Тарчевский И.А. Сигнальные системы клеток растений / И.А. Тарчевский; [Отв. ред. А.Н. Гречкин]. - М.: Наука, 2002. 294 с.
10. Чудинова Л. А., Суворов В. И. Влияние гипертермии на устойчивость проростков гороха к последующему засолению // Материалы региональной научно-практической конфе-

ренции «проблемы экологии и экологического образования Уральского Федерального округа». Челябинск, 2008. С. 120-125.

11. Чудинова Л. А., Суворов В. И. Роль некоторых низкомолекулярных соединений в механизме перекрестной адаптации растений // Вестн. Перм. Ун-та. 2011. Вып. 1. Биология. С. 17-19.

12. Bates L. S. Waldren R. P., Teatre I. D. Rapid Determination of Free Proline for Water Stress Studies // Plant Soil. 1973. V. 39. P. 205-207.

DYNAMICS OF PROLINE CONTENT IN PEA SEEDLINGS IN HIPERTERMIA

Burlutskaya E.Y.

hypertherm, stress, prolin

The study on the effects of hyperthermia pea plants showed that the highest concentration of proline was observed in the variant with a high fever. Maximum level of amino acid observed in a day exposure to high temperature. In an embodiment, the impact of elevated temperature not observed significant differences in the contents of proline during the entire period of effects.

**ВОЗМОЖНЫЕ ОГРАНИЧЕНИЯ В ИСПОЛЬЗОВАНИИ КРАСИТЕЛЕЙ
ДЛЯ ОЦЕНКИ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ КЛЕТОК И ТКАНЕЙ РАСТЕНИЙ**

Бурмистрова Н.А., Красавина М.С.

ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая 35,
г. Москва, 127276, Россия, E-mail: krasavina@ippras.ru*Trianea bogotensis*, *Zea mays*, Эванс голубой, нейтральный красный, клетки растений, жизнеспособность**Введение**

При изучении влияния неблагоприятных факторов на растение особое значение имеет метод быстрой регистрации изменения его функционального состояния. Важна оценка нативности тканей до и после воздействия. Определение нарушения жизнедеятельности необходимо, прежде всего, для регистрации первых признаков страдания растения. Локальное повреждение клеток, непосредственно подвергнутых стрессовому воздействию, в дальнейшем может распространяться на весь организм и вызвать его гибель. Клеточная смерть наблюдается не только в стрессовых условиях – при действии неблагоприятных факторов среды или заражении патогенными организмами, – но и при нормальном развитии растения. Клеточная смерть – важная часть жизненного цикла и развивается в ответ на эндогенные факторы развития. Поэтому регистрация локализации нарушений жизнедеятельности важна для понимания регуляции различных стадий развития и помогает понять механизм ответных реакций на эндогенные и экзогенные воздействия. Например, развитию адвентивных корней погруженного риса предшествует гибель клеток эпидермиса на определенном участке, на котором произойдет выход кончика растущего корня [1, 2] Motoda et al. [3] отмечали, что образование в корне гороха при обработке алюминием нескольких поврежденных зон указывает на места, в которых произойдет восстановление роста корня после прекращения действия стресса.

Для определения степени жизнеспособности клеток и тканей часто используют их окрашивание различными красителями. В качестве агента, избирательно прокрашивающего живые клетки, часто используют нейтральный красный. Этот липофильный феназиновый краситель легко проходит через мембраны в непротонированной форме, присоединяет протон в кислой среде и накапливается в вакуоли, окрашивая ее в интенсивно красномалиновый цвет [4, 5]. Для выявления мертвых или поврежденных клеток чаще всего используется диазокраситель Эванс голубой (например, [6, 7]). Плазматическая мембрана живых клеток не пропускает крупные анионы красителя и клетки остаются неокрашенными.

Несмотря на частое и длительное применение этих веществ, многие характеристики прокрашивания тканей растений остаются без должного внимания. Целью работы было изучение особенностей вхождения нейтрального красного и Эванс голубого в живые и поврежденные клетки корня кукурузы и водного растения *Trianea bogotensis*.

Материалы и методы

4-дневные проростки кукурузы выращивали в термостате на фильтровальной бумаге в темноте. Трианея росла в аквариуме. Объект помещали в раствор 0.3 мМ нейтрального красного или 0.1% раствор Эванс голубого на 1 мин. (для нейтрального красного) или 15 мин. (для Эванс голубого), отмывали избыток краски в воде и просматривали в проходящем свете под бинокулярном.

Результаты и обсуждение

При помещении отделенного корня кукурузы в раствор нейтрального красного окрашивались все клетки поверхности корня – клетки зоны дифференциации, растяжения, апекса и корневого чехлика, а также отделившиеся клетки кончика корня. Особенно интенсивно

были окрашены корневые волоски. На поперечном срезе предварительно находившегося в красителе корня была заметна окраска всех тканей. Интенсивно окрашивались клетки центрального цилиндра, особенно клетки перидикла и паренхимные клетки ксилемы и флоэмы. Клетки коры и сердцевинки окрашивались слабее. То-есть, окраска нейтральным красным корня кукурузы соответствовала утвердившимся представлениям – краситель свободно проникал в корень и окрашивал все живые клетки.

Если отделенный корень кукурузы помещали в краситель Эванс голубой и просматривали его поверхность, бросались в глаза интенсивно окрашенные корневые волоски. Окраска зависела от длины волоска: более ярко окрашивались молодые волоски, более длинные окрашивались слабее, а иногда и вовсе оставались неокрашенными. Эпидермис тоже был окрашен, но, как правило, слабее, чем корневые волоски. На поперечных срезах предварительно окрашенного корня в дифференцированной зоне выявлялась окраска только в эпидермисе и в корневых волосках, а в зоне растяжения – только в эпидермисе и слизи.

Сходный характер окрашивания поверхности корня кукурузы прижизненным красителем нейтральным красным и Эвансом, который, как принято, должен окрашивать только поврежденные клетки, позволяла полагать наличие повреждений поверхности корня. Для сравнения использовали корень *Trianea bogotensis*. Это растение обладает длинными корневыми волосками, на которых хорошо заметно движение цитоплазмы. В корнях трианеи Эванс также окрашивал эпидермальные клетки и корневые волоски. В этих опытах в окрашенных корневых волосках выявлялся интенсивный циклозис. Неожиданно, поврежденные корневые волоски с чуть заметным движением цитоплазмы или полностью нарушенной структурой также окрашивались. Их окраска по интенсивности слабо отличалась от окраски жизнедеятельных корневых волосков, но была однородной, бесструктурной.

Возможно, что способность окрашиваться как нейтральным красным, так и Эванс голубым клеток корня, различающихся по степени нативности, связана с особой, ярко выраженной поглотительной функцией клеток корневой поверхности, в частности, корневых волосков. Кроме активного мембранного транспорта и пассивного транспорта через систему мембранных каналов, в корневых волосках обнаружена эндоцитозная поглотительная система. Используя маркер эндоцитоза (люцифер желтый), обнаружили большое количество эндоцитозных пузырьков в корневых волосках. Можно полагать, что таким же путем поглощаются и красители. Это создает ограничения для использования красящих индикаторов как показателей нативности клеток и тканей. Не только отмечавшиеся ранее трудности проникновения красителей по апопласту в плотные ткани, но и их функциональные особенности следует учитывать при выборе средств оценки степени жизнедеятельности клеток и тканей.

Литература

1. Mergemann H., Sauter M. Ethylene Induces Epidermal Cell Death at the Site of Adventitious Root Emergence in Rice // *Plant Physiology*. 2000. V.124. P. 609-614.
2. Steffens B., Sauter M. Epidermal Cell Death in Rice Is Confined to Cells with a Distinct Molecular Identity and Is Mediated by Ethylene and H₂O₂ through an Autoamplified Signal Pathway // *The Plant Cell*. 2009. V. 21. P. 184–196.
3. Hirotooshi M., Kano Y., Hiragami F., Kawamura K., i Matsumoto H. Changes in Rupture Formation and Zonary Region Stained with Evans Blue During the Recovery Process from Aluminum Toxicity in the Pea Root Apex // *Plant Signaling Behavior*. 2011. V. 6. P. 98-100.
4. Штругер З. Практикум по физиологии растительных клеток и тканей. Изд. ИЛ. Москва. 1953. 277с.
5. Dubrovsky J.G., Guttenberger M., Saralegui A., Napsucialy-Mendivil S., Voigt B., Baluška F., Menzel D. Neutral Red as a Probe for Confocal Laser Scanning Microscopy Studies of Plant Roots // *Annals of Botany*. 2006. V. 97. P. 1127–1138.
6. Taylor J.A., West D.W The Use of Evan's Blue Stain to Test the Survival of Plant Cells after Exposure to High Salt and High Osmotic Pressure // *J. Exp. Bot.* 1980. V. 31. P. 571-576.

7. Iannone M., Rosales E.P., Paola E., Groppa M.D., Benavides M.P. Reactive Oxygen Species Formation and Cell Death in Catalase-Deficient Tobacco Leaf Disks Exposed to Cadmium // *Protoplasma*. 2010. DOI 10.1007/s00709-009-0097-9.

POSSIBLE RESTRICTIONS TO ASSESS THE VIABILITY PLANT CELLS AND TISSUES

Burmistrova N.A., Krasavina M.S.

Trianea bogotensis, Zea mays, Evans blue, neutral red, plant cell, viability

Were compared staining roots *Trianea bogotensis* and *Zea mays* by vital dyes. Neutral red is easily penetrates and colors the intact tissue and cell vacuoles. Evans blue, in contrast to the accepted view, permeates not only into damaged tissue, but also in viable root hairs having intense cyclosis. It is possible that this ability to stain live cells is explained by multiple mechanisms of absorption of substances by root cells, involving endocytosis

**ВЛИЯНИЕ ПОЧВЕННОЙ ЗАСУХИ НА МЕЗОСТРУКТУРУ
ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ХВОИ *PICEA AJANENSIS***

Бурундукова О.Л.¹, Вернигора Е. Г.², Козина Л.В.²

²ФГБУН Биолого-почвенный институт ДВО РАН, ул. 100-летия Владивостока, 159,
г. Владивосток, 690000, Россия, E-mail: burundukova.olga@gmail.com

²ФГБУН Горнотаежная станция им. В.Л. Комарова Дальневосточного отделения РАН,
ул. Солнечная, 26, п. Горнотаежное Уссурийского р-на Приморского края, 692533, Россия,
E-mail: gtsuss@mail.ru

ель аянская, адаптация, почвенная засуха, мезоструктура, анатомия хвои

Введение

Ель аянская (*Picea ajanensis* (Lindl. et Gord.) Fisch. ex Carr.) - основная лесообразующая порода в Приморском крае. Темнохвойные леса, образованные елью аянской имеют большую протяженность ареала: от северо-восточных границ евро-азиатского материка до островов Японии и Кореи (Манько, 1987).

Особенностью экологии ели аянской является высокое влаголюбие и теневыносливость в долинных местообитаниях на переувлажненных слабо дренированных почвах, равно как устойчивость к засухе высоко в горах на отрогах Сихоте-Алиня в Приморском крае. Широкий спектр географических местообитаний ели не мог не сказаться на ее адаптивной пластичности, однако пределы толерантности и механизмы адаптации ели аянской к действию стрессорных факторов остаются слабо изученными. В работах Е.П. Калиниченко (1977) показано, что ель аянская способна длительно переносить почвенную засуху при высокой влажности воздуха. В условиях вегетационного опыта при 50% снижении полива действие почвенной засухи вызывает снижение роста верхушечных побегов, фотосинтетической продуктивности хвои, содержания хлорофилла (Козина и др, 2011). В трудах В.Д. Чернышева описан эффект «отрицательной транспирации» для данного вида, растущего в горах сихоте-алинского заповедника (Чернышев, Коляда, 1982), позволяющий растениям переживать режимы почвенной засухи. Убедительно показано, что метод мезоструктурного анализа весьма эффективен в изучении адаптации растений. Влияние экологических факторов на мезоструктуру фотосинтетического аппарата травянистых и листовых древесных растений подробно исследовано (Мокроносов, 1981; Горышина, 1989; Цельникер, 1978). Однако литературные данные по мезоструктуре хвойных остаются единичными (Осипов, Бурундукова, 2005). В задачу настоящей работы входило изучение структурной адаптации фотосинтетического аппарата саженцев ели аянской при действии почвенной засухи в условиях вегетационного опыта.

Материалы и методы

Вегетационный опыт был заложен в начале мая (08.05.09) в условиях летней теплицы на Горнотаежной станции ДВО РАН под пленочным покрытием. Объекты исследований 3-4-х летние саженцы ели аянской. Растения выращивали в одинаковых по объему кюветах, в почвенной культуре. Почва лесная бурая, оглеенная, была взята на территории лесного массива биостанции. Исходная влажность почвы 65-70% от полной влагоемкости. Вегетационный опыт проводили с мая по сентябрь. Почвенная засуха создавалась снижением полива 50% от контроля, период засухи составлял 70 дней, включая 20 дней без полива в августе месяце. По завершении роста побегов и хвои определяли показатели мезоструктуры фотосинтетического аппарата, используя модифицированную методику (Горышина, 1989; Мокроносов, 1981).

Результаты и обсуждение

В условиях почвенной засухи мы наблюдали существенное уменьшение размеров клеток мезофилла (в 3 раза) и увеличение их количества в расчете на единицу площади проекции хвои. Это привело к уменьшению площади внутренней ассимиляционной поверхности

мезофилла практически в 2 раза. Растения опытного варианта, также, достоверно отличались от контроля меньшим числом пластид в клетке (табл. 1). Почвенная засуха подавляет хлоропластогенез в масштабе клетки, но, в следствии, структурно-функциональных перестроек мезофилльной ткани (уменьшение объема клеток и увеличение их количества в единице площади листа) происходит компенсационное выравнивание числа хлоропластов и величины суммарной поверхности мембран хлоропластов в расчете на единицу площади проекции хвоинки в контроле и в условиях почвенной засухи. В условиях почвенной засухи формируются элементы мезоструктуры фотосинтетического аппарата ксероморфного типа.

Полученные данные свидетельствуют о способности ели формировать в условиях почвенной засухи фотосинтетический аппарата с высокими фотосинтетическими способностями. Ранее аналогичный парадоксальный факт был отмечен в опытах, проведенных на картофеле. Было показано, что у угнетенных дефицитом воды растений число хлоропластов на единицу площади листа и потенциальная фотосинтетическая активность листа была даже существенно выше, чем при оптимальном поливе (Мокроносков, 1981).

Таблица - Мезоструктура фотосинтетического аппарата хвои *Picea ajanensis* в контроле и в условиях почвенной засухи

Table - Mesostructure of the photosynthetic apparatus of needles *Picea ajanensis* in control and in condition of soil drought

Характеристики	Контроль	Почвенная засуха	Контроль/Опыт
Длина хвои, см	1,34±0,15	1,20±0,11	1,1
Кол-во клеток, N/см ² 10 ³	309±21	389±27	0,8
Объем клетки, мкм ³ 10 ³	60,7±6,0	20,5±3,3	2,96
Площадь поверхности клетки, мкм ² 10 ³	7,1±0,6	3,1±0,3	2,3
Кол-во хлоропластов в клетке, шт.	79,2±5,2	60,6±5,3	1,3
Индекс мембран клеток, см ² /см ²	21,9±3,3	12,1±1,8	1,8
Кол-во хлоропластов на ед. площади, шт. 10 ⁶ /см ²	24,5±0,5	23,6±1,5	1,1
Кол-во хлоропластов в хвоинке, шт. 10 ⁶	2,5±0,5	2,6±0,6	0,9
Объем хлоропласта, мкм ³	28,5±0,9	24,9±1,0	1,1
Площадь хлоропласта, мкм ²	45±1	41±1	1,1
Индекс мембран хлоропластов, см ² /см ²	11,0±2,2	9,6±1,7	1,1

Действие стрессорных факторов вызывало снижение накопления сухого вещества хвои в июле – в 1,4 – 1,5 раза. Важное значение для адаптации растений в экстремальных условиях имеет их репарационная способность, или способность восстанавливаться после прекращения действия моделируемого стрессового фактора. Через месяц после возобновления полива в опытном варианте мы наблюдали активное увеличение сухого вещества хвои. Не смотря на то, что полностью продуктивность хвои опытных вариантов за этот период (20 дней) не восстанавливается, репарационные способности ели после засухи могут быть оценены, как высокие.

Выводы

Таким образом, почвенная засуха вызывают существенные адаптивные перестройки фотосинтетического аппарата ели аянской, обеспечивающие экономичное использование влаги. В условиях водного дефицита существенно снижается объем клеток мезофилла и увеличивается их количество в единице площади листа. Формируется фотосинтетический аппарат ксероморфного типа с высокими потенциальными ассимиляционными способностями, обеспечившими успешную реабилитацию при снятии действия стрессорного фактора.

Литература

1. Горышина Т.К. Фотосинтетический аппарат растений и условия среды. Л: Издательство Ленинградский университет, 1989. 204 с.
2. Калининченко Е.П. Изменение показателей водообмена и адаптационные признаки хвойных пород в условиях различного влагообеспечения почвы // Физиология и экология древесных растений Приморья. Магадан, 1973. С. 38-53.
3. Козина Л.В., Титова М.С., Иващенко Е.А. Влияние стрессовых факторов на рост и продуктивность саженцев хвойных пород // Вестник КрасГАУ, 2011. №2. С. 96-100.
4. Манько Ю.И. Ель аянская. Л: Наука, 1987. 280 с.
5. Мокроносов А.Т. Онтогенетический аспект фотосинтеза. М.: Наука, 1981. 196 с.
6. Осипов С.В., Бурундукова О.Л. К характеристике лиственницы Каяндера (*Larix cajanderi* Mayr) на дражных отвалах Приамурья (российский Дальний Восток). Экология. 2005. № 4. С. 259-263.
7. Цельникер Ю.Л. Физиологические основы теневыносливости древесных растений. М: Наука, 1978. - 215 с.
8. Чернышев В.Д., Коляда А.С. Интенсивность транспирации и содержание воды в листьях растений в горах Сихотэ-Алиня // Ботанический журнал, 1982. Т. 67. № 9. С. 1276-1280.

INFLUENCE OF SOIL DROUGHT ON MESOSTRUCTURE OF THE PHOTOSYNTHETIC APPARATUS OF NEEDLES *PICEA AJANENSIS*

Burundukova O.L., Vernigora E.G., Kozina L.V.

Picea ajanensis, spruce, adaptation, soil drought, shading, mesostructure, needle anatomy

The influence of the stress factors results in the essential adaptive changes in *Picea ajanensis* photosynthetic apparatus that promotes economical use of moisture resources. In the process of the adaptive changes under the conditions of the soil draught a photosynthetic apparatus of xeromorphical type with high potential assimilative abilities is formed; that provides a successful rehabilitation after the removing a stress factor action.

ВИДОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ АККУМУЛЯЦИИ ХИМИЧЕСКИХ ЭЛЕМЕНТОВ КОРНЯМИ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ В ГОРОДСКИХ НАСАЖДЕНИЯХ

Бухарина И.Л., Фронтасьева М.В., Камашева А.А.

ФГБОУ ВПО «Удмуртский государственный университет», ул. Университетская, 1,
г. Ижевск, 426034, Россия, E-mail: buharin@udmlink.ru

макроэлементы, микроэлементы, урбанопочвы, интродуцированные и аборигенные виды растений

Несмотря на большой интерес ученых к изучению процессов накопления химических элементов растениями в условиях техногенной среды, в основном объектами изучения являются надземные органы растений. Особенности аккумуляции элементов в корневой системе древесных растений мало изучены, что, скорее всего, связано с методическими трудностями отбора и подготовки образцов корневой системы. Целью наших исследований являлось изучение содержания химических элементов в корнях древесных растений, произрастающих в городских насаждениях разных экологических категорий.

Исследования проведены в Ижевске – крупном промышленном центре Урала. Наибольший вклад в загрязнение города от стационарных источников вносили предприятия теплоэнергетики – 58,4%, черной металлургии – 10,7% и машиностроения – 13,7. Удельный выброс загрязняющих веществ на одного жителя города составил 135,9 кг, в том числе от стационарных источников – 19,8 кг (Бухарина, Журавлева, Большова, 2012).

В качестве объектов исследований были выбраны клен ясенелистный (*Acer negundo* L.), клён остролистный (*A. platanoides* L.), ель европейская (*Picea abies* (L.) Karst.), ель колючая (*P. pungens* Engelm), береза повислая (*Betula pendula* L.). Из них аборигенными видами являются клён остролистный, ель колючая и берёза повислая, а интродуцированными – клён ясенелистный и ель колючая. Растения произрастали в насаждениях ограниченного пользования (дворовая территория в жилом микрорайоне «Север») и специального назначения (магистральная посадка вдоль крупнейшей магистральной улицы Удмуртская; насаждения санитарно-защитной зоны предприятия «Ижсталь»). В качестве зоны условного контроля были выбраны насаждения городского парка ландшафтного типа ЦПКиО им. С.М. Кирова площадью 113 га, расположенного в стороне от преобладающих в Ижевске ветров (Ю-З). В районах исследования были заложены пробные площади, в пределах которых проведена оценка жизненного состояния растений и для анализа аккумулялирующих свойств корневой системы отобраны по три модельные особи каждого вида растения, имеющие среднегенеративное онтогенетическое состояние и хорошее жизненное состояние.

Экологическая характеристика почвенных условий районов исследований показала следующее. В парковых насаждениях преобладали супесчаные дерново-подзолистые почвы, имеющие кислотность, равную 6,1, высокое содержание органических веществ (гумуса) (5% и более), подвижного фосфора (148) и обменного калия (166 мг/кг почвы), аммонийного азота и очень низкое содержание нитратного азота. Почвы характеризовались средней уплотненностью. Следует указать, что почвы этого района были наименее трансформированными в городе, их уровень загрязнения оценивался как допустимый ($Z_c = 8-16$).

Почвы насаждений санитарно-защитной зоны предприятия «Ижсталь» отличались высоким содержанием тяжелых металлов ($Z_c = 32-64$). Кислотность почвы составила 6,95, содержание органического вещества – 2,17%, NH_4^+ – 107,27; NO_3^- – 18,18; P_2O_5 – 270,56; K_2O – 170,27 мг/кг почвы. Почвы имели слабую уплотненность и низкую влажность.

Уровень загрязнения почв магистральной посадки характеризовался как умеренно опасный, а в отдельных точках – опасный ($Z_c = 32-128$). Содержание тяжелых металлов в почвах данного района среднее, за исключением Cd (повышенное весной и высокое к концу

вегетации растений) и Сг (повышенное в сентябре). Высокий уровень загрязнения почв обоснован высокой интенсивностью движения транспорта на магистрали – 2800 шт. авт./час.

Почвы имели значение рН, равное 7,11. Содержание органического вещества (гумуса) в почве составило 2,3%. Основные элементы минерального питания характеризовались высоким содержанием, за исключением очень низких концентраций нитратного азота – 5,37 мг/кг почвы. Почвы имели нормальную плотность сложения, но низкую влажность.

Отбор корней производился методом монолитов на глубине от 10 до 20 см. Начальная подготовка включала очистку, промывание и дезинфекцию (этанолом 70% и NaCl 2,5%), с последующим промыванием бидистиллированной водой и сушкой в течение 2-х сут. (при температуре + 65 °С). Затем образцы измельчали в агатовой ступке до гомогенного состояния. Далее образцы были предоставлены в Сектор нейтронного активационного анализа и прикладных исследований Отделения ядерной физики Лаборатории нейтронной физики им. И.М. Франка Объединенного института ядерных исследований (СНААПИ ОЯФ ЛНФ ОИЯИ) для проведения многоэлементного инструментального нейтронного активационного анализа (ИНАА). Этот метод позволяет определять концентрации более 40 химических элементов в пробах растительного происхождения (Фронтасьева, 2011).

ИНАА проводили за счёт активации полным потоком нейтронов в низкотемпературном канале реактора ИБР-2 ЛНФ ОИЯИ с использованием пневмотранспортной установки РЕ-ГАТА (Фронтасьева, 1999) В рамках относительного метода облучались анализируемые образцы и стандарт, причем значения концентраций элементов в стандарте были известны и сертифицированы. Образцы облучали 3 мин. в канале реактора с плотностью потока нейтронов $1,3 \cdot 10^{12}$ нейтрон/(см²·с). Удельные активности каждой анализируемой пробы измеряли на гамма-спектрометрах из сверхчистого германия (HPGe) с разрешением 1,7-1,9 кэВ по линии ⁶⁰Co 1332 кэВ. Далее измерялись спектры наведённой активности и вычислялись значения активностей изотопов в образце и в стандарте с использованием программы автоматизации измерений «NAA measurements» и программы анализа спектров «Genie-2000». Конечный результат НАА – концентрация элементов в образце – рассчитывался программой «Концентрация» путем пропорционального сравнения активностей одинаковых изотопов в образце и в стандарте и известных концентраций элементов в стандарте (Dmitrov, Pavlov, 2013).

Контроль качества анализа осуществляли с помощью сертифицированных эталонных материалов SRM Apple Leaves-1515 (листья яблони, NIST), SRM 1632 b Trace Elements in Coal (Bituminous) (микроэлементы в золе, NIST). Погрешность определения концентраций была в пределах 5-20%.

Анализ содержания макроэлементов в корнях растений показал, что у всех исследуемых видов растений в зависимости от повышения антропогенной нагрузки наблюдается увеличение содержания магния (Mg) относительно зоны условного контроля. На наш взгляд, это связано с тем, что в условиях антропогенной нагрузки ассимилирующая способность листовых пластинок растений значительно понижается, что приводит к более интенсивному поглощению магния, необходимого для восстановления ассимиляционного аппарата листа, так как этот элемент входит в состав хлорофилла растений.

Содержание кальция (Ca) значительно возрастает лишь в корнях ели европейской и берёзы повислой. Этот элемент обеспечивает нормальное развитие корневой системы растений. Следует отметить, что у данных видов растений также наблюдалось увеличение содержания алюминия (Al) в корнях, который выступает синергистом по отношению к кальцию.

Содержание калия (K) увеличивается в корневой системе берёзы повислой и клена ясенелистного, за исключением магистральной посадки, и, наоборот, содержание калия понижается у клёна остролистного и значительно понижается у ели колючей. Также можно отметить, что увеличение или уменьшение содержания калия в корнях растений сопровождается аналогичными изменениями концентраций микроэлементов-синергистов (Al, Cu, Mn). Таким образом, для всех изучаемых видов растений характерно увеличение содержания магния в

корнях в насаждениях города, а изменения в содержании калия и кальция в корнях видоспецифичны.

В условиях урбаноcреды в корневой системе древесных растений наблюдается увеличение Cu, Cl, Na, Al, Ti и V относительно зоны условного контроля. Содержание ванадия (V) увеличивается в корнях всех изучаемых видов. Накопление остальных химических элементов имеет видовые особенности: наблюдается увеличение содержания меди, за исключением ели европейской; увеличение хлора, за исключением рода Клён; увеличение натрия, алюминия и титана, за исключением ели колючей. В то же время у большинства видов отмечено уменьшение содержания индия в корнях, за исключением берёзы повислой. Для таких элементов, как марганец, бром и йод каких-либо закономерностей выявить не удалось.

Был проведен корреляционный анализ содержания химических элементов. Он выявил прямые зависимости между концентрациями следующих пар элементов: Cu-Ca (R (коэффициент корреляции)=0,89), Br-Ca (R =0,75), Ti-Al (R =0,95), Ti-Na (R =0,93), Na-Al (R =0,92). Прямая зависимость (синергизм) кальция с медью, кальция с бромом свидетельствует, вероятнее всего, о защитном механизме у растений от избытка тяжелых металлов. С увеличением содержания в корневой системе тяжелых металлов (меди и брома) увеличивается также содержание кальция, так как именно кальций отвечает за обеспечение нормальных условий развития корневой системы растений.

Таким образом, можно заключить, что в корневой системе растений существуют сложные взаимосвязи между микро- и макроэлементами, ряд из которых Cu-Ca, Br-Ca, Ti-Al-Na – носят синергетический характер. Берёза повислая и клён ясенелистный являются основными накопителями химических элементов в корневой системе в условиях урбаноcреды. Максимум содержания элементов отмечается в экстремальных экологических условиях: магистральные посадки улицы Удмуртской для клёна ясенелистного и насаждения санитарно-защитной зоны предприятия «Ижсталь» для клёна ясенелистного и берёзы повислой.

Литература

1. Бухарина И.Л., Журавлева А.Н., Большова О.Г. Городские насаждения: экологический аспект: монография. – Ижевск: Изд-во «Удмуртский университет», 2012. – 206 с.
2. Фронтасьева М.В.. Нейтронный активационный анализ в науках о жизни / Физика элементарных частиц и атомного ядра. – 2011. – Том. 42. – № 2. – С. 636-716.
3. Dmitrov A.Yu., Pavlov S.S. Automated quantitative determination of elements in samples by neutron activation analysis at the IBR-2 at the LNRJINR. Physics of Particles and Nuclei Letters. – Vol.10. – No.1 (178). – 2013. – P.58-64.

SPECIFIC FEATURES THE ACCUMULATION OF CHEMICAL ELEMENTS IN THE ROOT OF WOODY PLANTS IN URBAN ENVIRONMENT

Bukharina I.L., Frontasyeva M.V., Kamasheva A.A.

macronutrients, micronutrients, urban soils, alien and native species of plants

Peculiarities of chemical elements in the roots of woody plants growing under different environmental condition.

РАЗЛИЧНОЕ ДЕЙСТВИЕ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА ОКИСЛИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ МИТОХОНДРИЙ ХРЯНЯЩЕГОСЯ КОРНЕПЛОДА САХАРНОЙ СВЕКЛЫ И СЕМЯДОЛЕЙ ПРОРОСТКОВ ЛЮПИНА ЖЕЛТОГО

Буцанец П.А., Шугаева Н.А., Шугаев А.Г.

ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая 35, г. Москва, 127276, Россия, E-mail-ag_shugaev@ippras.ru

*салициловая кислота, митохондрии, окисление малата, корнеплод сахарной свёклы, семядоли проростков люпина жёлтого***Введение**

Салициловая кислота (СК) - фитогормон фенольной природы, оказывает регуляторное действие на многие физиологические процессы в растениях: термогенез при цветении ароидных, синтез этилена при созревании фруктов, формирование защитных свойств растений в ответ на атаку патогенов и действие неблагоприятных факторов окружающей среды (ультрафиолет, озон, экстремальная температура, засоление и др.) [1]. Накапливаются данные о том, что повышение уровня СК в клетках растений индуцирует синтез ряда защитных белков и приводит к системной устойчивости к инфекционным болезням и индукции запрограммированной гибели клеток в ходе реакции сверхчувствительности [2]. При этом, исследования с использованием мутантных растений свидетельствуют о посреднической роли митохондрий в передаче сигнала СК при формировании устойчивости или гибели клеток [3, 4]. Кроме того, было показано, что СК оказывает прямое (разобщающее и ингибирующее) действие на функциональную активность изолированных митохондрий и, на основании прямых и косвенных данных, высказано предположение, что основной мишенью ингибиторного действия гормона на дыхание является комплекс 1 ЭТЦ [5-7]. Тем не менее, экспериментальные данные цитируемых работ во многом противоречивы, даже при использовании одного и того же объекта. Хорошо известно, что характер действия гормона в значительной степени зависит как от типа ткани, так и от её функционального состояния. Поэтому для исследования были выбраны объекты, отличающиеся функциональным состоянием запасочной ткани.

Материалы и методы

Объектом служили хранящийся при 4°C корнеплод сахарной свёклы с функцией сохранения запасённых веществ и семядоли 3х-дневных этилированных проростков люпина жёлтого с функцией использования запасённых веществ. Митохондрии изолировали с помощью дифференциального центрифугирования. Скорость окисления субстратов определяли полярографически, используя кислородный электрод типа Кларка. Реакционная среда (1 мл) при 25°C содержала: 0.4 М сахарозу, 10 мМ Tris-буфер (pH 7.2), 5 мМ MgCl₂, 0,1% БСА и около 1 мг белка митохондрий.

Результаты и обсуждение

Обнаружено, что при окислении малата в присутствии глутамата в митохондриях корнеплода СК в низких концентрациях (<1мМ) оказывала преимущественно разобщающее действие (рис. 1А), активируя скорость поглощения кислорода в состоянии 4 (V₄) и не влияя на окисление в активном состоянии (V₃). Напротив, в митохондриях семядолей аналогичные концентрации гормона ингибировали поглощение кислорода в присутствии АДФ (V₃), слабо активируя окисление в состоянии 4 (рис. 1Б). При этом 0,5мМ СК снижала величину коэффициента дыхательного контроля по Чансу (ДК) на 25%(корнеплод) и на 35%(семядоли). При увеличении концентрации гормона (>1мМ), независимо от объекта, окисление малата в присутствии АДФ (V₃) ингибировалось, а в отсутствии АДФ (V₄) – активировалось. Величины ДК и АДФ/О при этом снижались на 50-60%. Таким образом, физиологические концентрации СК оказывают принципиально различное действие на дыхание митохондрий, выделенных из объектов, отличающихся разным функциональным состоянием. Так, в митохондриях покоящейся запасочной ткани корнеплода СК действует как разобщитель окислительного фосфорилирования, тогда как в митохондриях активно функционирующей запасочной ткани семядолей действие гормона в основном ограничено ингибированием фосфорилирующего дыхания. Как было уже отмечено [5-7] основной мишенью ингибирующего действия СК,

по-видимому, является комплекс I ЭТЦ. В связи с этим, а также учитывая высокий уровень (60-70%) роте-
нон-устойчивости дыхания митохондрий сахарной свеклы [8], можно предположить, что меньшая чувстви-
тельность данных органелл к ингибирующему действию СК связана с незначительным вкладом комплекса I
в работу ЭТЦ. Таким образом, предполагается, что обнаруженное разное действие низких концентраций СК
на окислительную активность митохондрий исследованных объектов связано со структурно-
функциональными особенностями данных органелл.

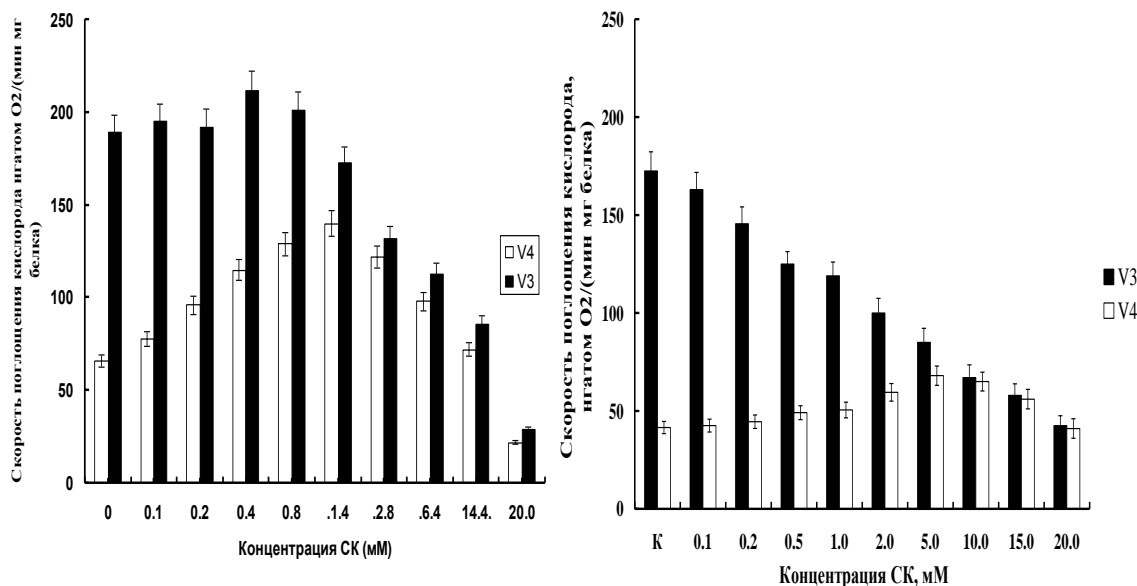


Рисунок 1 - Влияние увеличивающейся (конечной) концентрации СК на окисление малата (10 мМ) в присутствии глутамата (10 мМ) в разных метаболических состояниях: V3 (0.5 мМ АДФ) или V4 (без АДФ) в митохондриях корнеплода свёклы (А) и семядолей люпина (Б)

Figure 1 - Effect of increasing SA concentration on malate + glutamate oxidation by mitochondria isolated from sugar beet taproots (a) and lupine cotyledons (b) in different metabolic states. Mitochondria were incubated for 2 min in the standard reaction medium (see Materials and Methods section) in the presence of 10 mM malate + 10 mM glutamate, and indicated final SA concentrations (V4) and 0.5 mM ADP (V3)

В ходе дальнейших исследований, впервые на изолированных митохондриях растений было обнаружено, что действие высоких концентраций СК (>2мМ) на окисление малата (V4) зависит от времени инкубации и носит двухфазный характер: первоначальная активация со временем сменяется ингибированием (рис. 2). Это указывает на кратковременный характер разобщающего действия высоких концентраций СК на дыхание митохондрий. Учитывая способность СК активно поглощаться и накапливаться в клетках [5], можно предположить, что первоначальный активирующий эффект высоких концентраций СК со временем маскируется нарастающим ингибирующим действием фитогормона, вследствие его накопления в мембране или матриксе.

Закключение

Таким образом, характер действия СК на работу исследуемых митохондрий зависит не только от концентрации фитогормона, но и от длительности его воздействия, а также от структурно-функциональных особенностей данных органелл. Основываясь на обнаруженных фактах можно объяснить некоторые противоречия известных литературных данных, полученных без учёта времени инкубации митохондрий в присутствии СК и их функциональных особенностей.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ (проект № 13-04-01828).

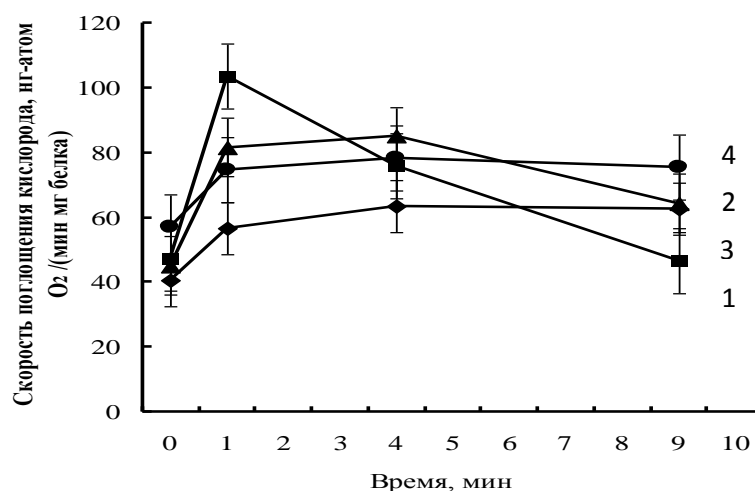


Рисунок 2 - Зависимость окисления малата + глутамата митохондриями корнеплода сахарной свеклы от концентрации СК и времени инкубации органелл. Условия измерений и концентрации субстратов, как на рис. 1. Концентрации СК(мМ): 0.5 (1), 1.0 (2), 2.0 (3), 5.0 (4)

Figure 2 - Time-dependent action of various SA concentration on the rate of malate + glutamate oxidation by mitochondria isolated from sugar beet taproots. Conditions of measurements and substrate concentrations as in Fig. 1. See the text for explanations. 1) 0.5 mM; 2) 1.0 mM; 3) 2.0 mM; 4) 5.0 mM SA

Литература

1. Yuan S., Lin H.H. Role of Salicylic Acid in Plant Abiotic Stress // *Z. Naturforsch.* 2008. V. 63. N. 5-6. P. 313–320.
2. Bari R., Jones J.D.G. Role of plant hormones in plant defence responses // *Plant Mol. Biol.* 2008. V. 69. P. 473–488.
3. Robson C.A., Vanlerberghe G.C. Transgenic plant cells lacking mitochondrial alternative oxidase have increased susceptibility to mitochondria-dependent and -independent pathways of programmed cell death // *Plant Physiol.* 2002. V. 129. P. 1908–1920.
4. Lee W-S., Fu S-F., Verchot-Lubicz J., Carr P. Genetic modification of alternative respiration in *Nicotiana benthamiana* affects basal and salicylic acid-induced resistance to potato virus X // *BMC Plant Biol.* 2011. V. 11: 41.
5. Norman C., Howell K.A., Millar A.H., et al. Salicylic acid is an uncoupler and inhibitor of mitochondrial electron transport // *Plant Physiol.* 2004. V. 134. P. 492–501.
6. de Souza W.R., Vesecchi R., Dorta D.J., Uyemura S.A., Curti C., Vargas-Rechia C.G. Characterization of *Rubus fruticosus* mitochondria and salicylic acid inhibition of reactive oxygen species generation at complex III/Q cycle: potential implications for hypersensitive response in plants // *J. Bioenerg. Biomembr.* 2011. V. 43. P. 237 – 246.
7. Macri F., Vianello A., Penaazio S. Salicylate-collapsed membrane potential in pea stem mitochondria // *Physiol. Plant.* 1986. V. 67. P. 136-140.
8. Шугаев А.Г., Шугаева Н.А., Выскребенцева Э.И. Цианид- и ротенон-резистентное дыхание митохондрий корнеплода сахарной свеклы в ходе онтогенеза // *Физиология растений.* 2006. Т. 53. С. 503-510.

EFFECTS OF SALICYLIC ACID ON PLANT MITOCHONDRIA RESPIRATION

Butsanets P.A., Shugaeva N.A., Shugaev A.G.

Beta vulgaris, *Lupinus luteus*, salicylic acid, mitochondria, malate oxidation

The effects of salicylic acid (SA) on respiration of mitochondria isolated from stored taproots of sugar beet and etiolated seedling cotyledons of yellow lupine were studied. The results obtained on the one hand confirmed known data that SA can uncouple and inhibit respiration of isolated plant mitochondria. On the other hand, they demonstrated that the pattern of SA action on respiration depended not only on its concentration but also on the treatment duration and evidently on the functional state of mitochondria.

ПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ 24-ЭПИБРАССИНОЛИДА НА РАСТЕНИЯ ПРОСА ПРИ СОЛЕВОМ СТРЕССЕВайнер А.А.¹, Колупаев Ю.Е.¹, Ястреб Т.О.¹, Хрипач В.А.²¹Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева п/о «Коммунист-1», г. Харьков, 62483, Украина, E-mail: plant_biology@mail.ru²Институт биоорганической химии НАН Беларуси, ул. Академика В.Ф. Купревича, 5, корп. 2, г. Минск, 220141, Республика Беларусь, E-mail: khripach@iboch.bas-net.by*Panicum miliaceum*, брассиностероид, солеустойчивость, антиоксидантные ферменты, пролин

В настоящее время брассиностероиды (БС) рассматриваются как фитогормоны, задействованные в адаптации растений к различным стресс-факторам, в т.ч. к засолению. Установлено, что растения арабидопсиса *det2*, отличающиеся пониженным эндогенным содержанием БС, характеризуются более высокой чувствительностью к действию засоления по сравнению с растениями дикого типа [1]. На растениях разных таксономических групп показано положительное влияние экзогенных БС на солеустойчивость. Зарегистрировано положительное влияние БС на прорастание семян, рост и содержание хлорофилла при действии солевого стресса у крестоцветных, бобовых, злаковых [2–4]. Под влиянием БС на ранних стадиях развития растений происходило увеличение митотической активности меристематических клеток корней и усиление роста надземной части проростков пшеницы при засолении [5]. В то же время выявлены видовые и даже сортовые особенности влияния БС на солеустойчивость растений. Так, например, опрыскивание БС положительно влияло на массу растений и водный потенциал солеустойчивого сорта пшеницы, в то время как реакция неустойчивого сорта на обработку фитогормоном была невыразительной [6].

Не полностью выяснено, какие именно стресс-протекторные системы, причастные к развитию солеустойчивости, индуцируются БС. Известно, что одним из важных стрессовых метаболитов, обладающих мембранопротекторным, антиоксидантным и шаперонным действием, является пролин [7]. У растений сорго под влиянием БС отмечалось повышение содержания пролина в условиях осмотического стресса [8]. С другой стороны, у растений некоторых видов зарегистрировано стабильное снижение содержания пролина под действием БС. Так, у арабидопсиса экзогенный БС ингибировал экспрессию гена основного изофермента $\Delta 1$ -пирролин-5-карбоксилатсинтазы [9]. Также БС подавлял активацию экспрессии гена этого фермента, вызываемую светом, засолением и действием абсцизовой кислоты. На растениях многих видов показано положительное влияние БС на активность антиоксидантных ферментов, однако и эти эффекты не всегда однозначны [10].

Panicum miliaceum (L.) относится к числу немногих культурных растений, на которых стресс-протекторные эффекты БС до сих пор практически не исследовались. В связи с изложенным, целью работы явилось изучение влияния БС на солеустойчивость растений проса на ранних фазах развития и функционирование компонентов их антиоксидантной системы.

Материалы и методы

В работе использовали растения проса сорта Константиновское. Семена обеззараживали путем 30-минутной обработки 3% пероксидом водорода и проращивали в чашках Петри с добавлением дистиллированной воды в течение 4 сут. Затем проростки переносили в пластиковые кюветы, размещая их на завернутых в марлю стеклянных пластинах. Растения выращивали на очищенной водопроводной воде при 12-часовом световом периоде и освещенности 5 клк, температура воздуха $25 \pm 1^\circ\text{C}$ (днем) и $20 \pm 1^\circ\text{C}$ (ночью). На 9-е сут. в кюветы опытных вариантов добавляли 24-эпибрассинолид (24-ЭБЛ), конечная концентрация 10 нМ, время инкубации растений на растворе с 24-ЭБЛ – 24 ч. Эффективная концентрация фитогормона была выбрана на основании предварительных опытов. Затем часть 10-дневных растений подвергали потенциально летальному солевому стрессу путем добавления NaCl в среду инкубации (конечная концентрация 500 мкМ, время воздей-

ствия – 7 ч). После этого проростки снова переносили на очищенную водопроводную воду. Выживание растений оценивали через 4 сут после стрессового воздействия.

В листьях проростков определяли активность антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы (СОД), каталазы и гваяколпероксидазы по методикам, описанным ранее [11]. Содержание белка в листьях определяли по Бредфорд, пролина – по Бейтсу и соавт. [12]. В таблице приведены средние значения трех независимых опытов и их стандартные отклонения.

Результаты и обсуждение

Обработка растений 24-ЭБЛ заметно повышала их солеустойчивость. Так, выживание после солевого стресса в контрольном варианте составило $39,3 \pm 2,1\%$, в опытном – $56,9 \pm 2,4\%$. Под влиянием обработки 24-ЭБЛ содержание пролина в листьях снижалось, также обработка фитогормоном частично нивелировала повышение содержания этой аминокислоты, вызываемое засолением (табл.). Обработка 24-ЭБЛ повышала активность СОД, солевой стресс сам по себе вызывал ее снижение. При этом 24-ЭБЛ устранял ингибирование активности фермента, вызываемое солевым стрессом.

Активность каталазы в варианте с обработкой 24-ЭБЛ повышалась, но не столь значительно. Засоление слабо влияло на активность фермента. Однако в варианте с предобработкой 24-ЭБЛ и последующим солевым стрессом активность каталазы была заметно выше, чем в других вариантах (табл.). Активность другого фермента, участвующего в обезвреживании пероксида водорода – гваяколпероксидазы, увеличивалась в листьях проса как под влиянием предобработки фитогормоном, так и при действии NaCl. Наиболее существенное увеличение активности гваяколпероксидазы наблюдалось в варианте с комбинированным действием засоления и 24-ЭБЛ (табл.).

Таблица - Содержание пролина и активность антиоксидантных ферментов в листьях проса
Table - Proline content and activities of antioxidant enzymes in millet leaves

Вариант опыта	Содержание пролина, мг/г сухого вещества	Активность, усл. ед./ (мг белка · мин)		
		СОД	каталаза	пероксидаза
Контроль	$1,07 \pm 0,04$	$3,51 \pm 0,11$	273 ± 6	$5,30 \pm 0,08$
24-ЭБЛ (10 нМ)	$0,88 \pm 0,02$	$4,24 \pm 0,14$	308 ± 9	$5,69 \pm 0,12$
NaCl (500 мМ)	$1,44 \pm 0,05$	$2,85 \pm 0,12$	295 ± 10	$6,03 \pm 0,11$
24-ЭБЛ (10 нМ) + NaCl (500 мМ)	$1,12 \pm 0,04$	$3,58 \pm 0,14$	344 ± 7	$6,32 \pm 0,09$

Таким образом, одной из стресс-протекторных систем, индуцируемых БС, является ферментативная антиоксидантная система. Примечательно, что под влиянием БС в то же время происходило снижение содержания пролина. В связи с этим следует упомянуть, что в литературе приводятся данные о реципрокной зависимости между содержанием пролина и активностью СОД, полученные для некоторых видов растений. Так, экзогенный пролин вызывал снижение паракват-индуцируемой стимуляции активности СОД у растений хрустальной травки [13]. Возможно, что подобные эффекты появлялись и при действии 24-ЭБЛ на проростки проса: в этом случае на фоне снижения содержания эндогенного пролина происходило повышение активности СОД и других антиоксидантных ферментов. Несмотря на снижение содержания пролина в листьях, солеустойчивость растений проса, обработанных БС, была значительно выше, чем контрольных. Можно полагать, что БС индуцируют другие стресс-протекторные системы, функционирование которых вполне компенсирует отсутствие накопления пролина. Одной из них может быть антиоксидантная система. Вполне естественно, что это не исключает и участия других защитных систем в развитии солеустойчивости проростков проса при действии 24-ЭБЛ. Для выяснения их вклада в реализацию защитного действия БС необходимы специальные исследования.

Литература

1. Zeng H., Tang Qi, Hua X. Arabidopsis brassinosteroid mutants det2-1 and bin2-1 display altered salt tolerance // *J. Plant Growth Regul.* 2010. V. 29. P. 44–52.
2. Ali B., Hayat S., Fariduddin Q., Ahmad A. 24-Epibrassinolide protects against the stress generated by salinity and nickel in *Brassica juncea* // *Chemosphere.* 2008. V. 72. P. 1387–1392.
3. Talaat N.B., Shawky B.T. 24-Epibrassinolide alleviates salt-induced inhibition of productivity by increasing nutrients and compatible solutes accumulation and enhancing antioxidant system in wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Acta Physiol. Plant.* 2013. V. 35. P. 729–740.
4. Shahid M.A., Pervez M.A., Balal R.M., Mattson N.S., Rashid A., Ahmad R., Ayyub C.M., Abbas T. Brassinosteroid (24-epibrassinolide) enhances growth and alleviates the deleterious effects induced by salt stress in pea (*Pisum sativum* L.) // *Austr. J. Crop Sci.* 2011. V. 5. P. 500-510.
5. Авальбаев А.М., Юлдашев Р.А., Фатхутдинова Р.А., Урусов Ф.А., Сафутдинова Ю.В., Шакирова Ф.М. Влияние 24-эпибрассинолида на гормональный статус растений пшеницы при действии хлорида натрия // *Прикл. биохимия и микробиол.* 2010. Т. 46, № 1. С. 109–112.
6. Shahbaz M., Ashraf M., Athar H.R. Does exogenous application of 24-epibrassinolide ameliorate salt induced growth inhibition in wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Plant Growth Regul.* 2008. V. 55. P. 51–64.
7. Szabados L., Savoure A. Proline: a multifunctional amino acid // *Trends Plant Sci.* 2009. V. 15. P. 89-97.
8. Vardhini B.V., Rao S.S.R. Amelioration of osmotic stress by brassinosteroids on seed germination and seedling growth of three varieties of sorghum // *Plant Growth Regul.* 2003. V. 41. P. 25–31.
9. Abraham E., Rigo G., Szekely G., Nagy Re., Koncz C., Szabados L. Light-dependent induction of proline biosynthesis by abscisic acid and salt stress is inhibited by brassinosteroid in *Arabidopsis* // *Plant Mol. Biol.* 2003. V. 51. P. 363–372.
10. Bajguz A., Hayat S. Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses // *Plant Physiol. Biochem.* 2009. V. 47. P. 1–8.
11. Колупаев Ю.Е., Ястреб Т.О., Швиденко Н.В., Карпец Ю.В. Индукция теплоустойчивости колеоптилей пшеницы салициловой и янтарной кислотами: связь эффектов с образованием и обезвреживанием активных форм кислорода // *Прикл. биохимия и микробиол.* 2012. Т. 48, № 5. С. 550–556.
12. Bates L.S., Walden R.P., Tear G.D. Rapid determination of free proline for water stress studies // *Plant Soil.* 1973. V. 39. P. 205–210.
13. Шевякова Н.И., Бакулина Е.А., Кузнецов Вл.В. Антиоксидантная роль пролина у галофита хрустальной травки при действии засоления и параквата, инициирующих окислительный стресс // *Физиология растений.* 2009. Т. 56, № 5. С. 736-742.

PROTECTIVE EFFECT OF 24-EPIBRASSINOLIDE ON MILLET PLANTS UNDER SALT STRESS CONDITIONS

Vayner A.A., Kolupaev Yu.E., Yastreb T.O., Khripach V.A.

Panicum miliaceum, brassinosteroids, salt tolerance, antioxidant enzymes, proline

The effects of 24-epibrassinolide (24-EBL) on the salt tolerance of millet plants in the early stages of development were investigated. The treatment of plants with 24-EBL increased their survival after exposure to potentially lethal concentrations of NaCl. In EBL-treated unstressed leaves, activities of antioxidant enzymes (superoxide dismutase, catalase and guaiacol peroxidase) increased opposite to proline content, but the latter one significantly increased in salt stress conditions and went to the control level under combined application of NaCl-EBL.

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СТЕРИНОВОГО ИСТОЩЕНИЯ В КОРНЯХ ПШЕНИЦЫ

Валитова Ю.Н., Сулкарнаева А.Г., Мухитова Ф.К., Минибаева Ф.В.

ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН,
ул. Лобачевского, 2/31, а/я 30, г. Казань, 420111, Россия, E-mail: yulavalitova@mail.ru*растительные стерины, гликоцерамиды, нистатин, метил-β-циклодекстрин, корни пшеницы***Введение**

Стерины являются важным структурным элементом биологических мембран. В отличие от животных, высшие растения обладают сложным стериновым составом [1], основными компонентами которого являются β-ситостерин, стигмастерин и кампестерин. Ранее нами было показано наличие основных типов фитостеринов в корнях пшеницы [2]. В настоящее время исследование функций растительных стеринов вышло на новый уровень. Стеринам отводится не только структурная, но и регуляторная роль. Известно, что стерины являются предшественниками растительных гормонов brassinosteroidов, регулирующих рост и развитие растений [3]. Кроме того, стерины принимают непосредственное участие в формировании в мембранах микродоменов, обогащенных стеринами и сфинголипидами. Модуляция стеринового компонента, в частности, истощение или насыщение стеринов в клетках, является одним из эффективных подходов изучения функций растительных стеринов. Инструментом исследования является использование агентов, вызывающих уменьшение содержания стеринов, в частности, полиенового антибиотика нистатина и макроциклического олигосахарида метил-β-циклодекстрина (МБЦД). Механизмы их действия совершенно различны. Нистатин уменьшает количество эндогенных стеринов путем их связывания и образования каналов в мембранах клеток [4], действие МБЦД заключается во взаимодействии олигосахарида со стеринами по принципу «гость-хозяин» и приводит к истечению стеринов из клеток [5]. Целью настоящего исследования было изучение влияния стеринового истощения на мембранную целостность и физиологическое состояние корней пшеницы.

Материалы и методы

Корни 4-дневных проростков яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Казанская Юбилейная подвергали действию нистатина и МБЦД. Общие липиды экстрагировали из корней смесью изопропанола и хлороформа [6]. Стерины анализировали с помощью одномерной ТСХ с последовательным использованием системы растворителей для нейтральных липидов [2]. После ТСХ фракции стеринов и гликоцерамидов были проанализированы с помощью газового хроматографа HP6890 (Agilent, Palo Alto, CA), снабженного масс-селективным детектором HP 5973 (Agilent). [2]. Дыхательную активность корней измеряли с помощью манометрического метода Варбурга [7]. Концентрацию H₂O₂ определяли с использованием ксиленола оранжевого, как описано ранее [8]. Жизнеспособность клеток определяли с помощью красителя Эванса синего [8]. Результаты статистически обработаны.

Результаты и обсуждение

Ранее в нашей лаборатории было показано, что в клетках корней пшеницы в присутствии нистатина уменьшается общее содержание стеринов и увеличивается содержания гликоцерамидов (ГлЦер) [2]. Проведенные в настоящей работе эксперименты показали, что МБЦД оказывал сходное с нистатином действие на стериновый и сфинголипидный компоненты в корнях пшеницы. Через 2 ч воздействия МБЦД, также как и при действии нистатина, заметно возросло содержание ГлЦер (98,34 мкг/г сух. массы в варианте с МБЦД и 51,02 мкг/г сух. массы в контроле) и снижалось содержание стеринов (6,31 мкг/г сух. массы в варианте с МБЦД и 11,04 мкг/г сух. массы в контроле). Уменьшение содержания стеринов в клетках корней пшеницы в присутствии этих двух агентов приводило, однако, к совершенно

разным физиологическим последствиям для клеток корней. Нистатин с первых мин. действия вызывал резкое увеличение проницаемости мембран для ионов калия и протонов, что обусловлено образованием в мембранах клеток так называемых «нистатиновых пор» [9]. Этот эффект нистатина был сходен с действием на клеточные мембраны другого каналоформера антибиотика грамицидина S, который не обладает стерин-связывающей активностью. Действие другого стерин-истощающего агента МБЦД не сопровождалось изменением проницаемости мембран для ионов (табл. 1). Таким образом, можно полагать, что эффекты стерин-связывающих агентов нистатина и МБЦД на проницаемость мембран для ионов обусловлены не столько уменьшением содержания стерина в составе мембран, сколько способностью агента формировать каналы.

Как известно, увеличение ионной проницаемости плазмалеммы с помощью различных агентов, в том числе антибиотиков, сопровождается развитием окислительного стресса [10]. Увеличение содержания активных форм кислорода является признаком активизации в клетке окислительных процессов. Действие нистатина и грамицидина приводило к значительному усилению образования перекиси водорода в клетках корней и стимуляции потребления кислорода, что может свидетельствовать о развитии окислительного стресса в клетках (табл. 1). Истощение стерина МБЦД никак не сказывалось на содержании перекиси водорода и практически не влияло на дыхательную активность клеток корней (табл. 1). Для оценки токсического действия нистатина был проведен анализ жизнеспособности клеток корней при действии каналоформера. Было показано, что в присутствии нистатина в концентрации 1 мкМ процент гибели клеток был невысоким по сравнению с контролем. С ростом концентрации нистатина происходило увеличение количества погибших клеток, связанное с нарушением целостности мембран и развитием окислительного стресса (табл. 1).

Заключение

Таким образом, значительные различия физиологических и биохимических эффектов двух стерин-связывающих агентов нистатина и МБЦД на корни пшеницы продемонстрировали, что уменьшение содержания стерина не является причиной негативных последствий для клетки. Токсический эффект нистатина обусловлен, скорее, нарушением мембранной целостности и развитием окислительного стресса, нежели снижением содержания стерина в клетках. Вопрос, почему МБЦД-индуцированное стеринное истощение не вызывает нарушения мембранной целостности и последующего изменения физиологического состояния, остается открытым и требует дальнейших исследований на молекулярно-генетическом уровне.

Работа поддержана грантами РФФИ № 13-04-00865_a, № 14-04-31421_мол_a, № 14-04-00205-a

Литература

1. Bretscher M.S., Munro S. // Science. 1993. V. 261. P. 1280–1281.
2. Valitova J.N., Minibayeva F.V., Kotlova E.R., Novikov A.V., Shavarda A.L., Murtazina L.I., Ryzhkina I.S. // Phytochemistry. 2011. V. 72. P. 1751–1759.
3. Wang Z.-Y., Wang Q., Chong K. Wang F., Wang L., Bai M., Jia C. // Cell Res. 2006. V. 16(5). P. 427–434.
4. Coutinho A., Prieto M. // Biophys J. 2003. V.84, P. 3061-3078.
5. Pitha J., Irie T., Sklar P.B., Nye J.S. // Life Sci. 1988. V.43, P. 493-502.
6. Nichols B.W. // Biochem. Biophys. Acta. 1963. V. 70. P. 417–422.
7. Семихатова О.А., Чулановская М.В. Манометрические методы изучения дыхания и фотосинтеза растений М.- Л.: Наука, 1965. С.168.
8. Дмитриева С.А., Пономарева А.А., Рябовол В.В., Минибаева Ф.В. // Биологические мембраны. 2012. Т.29(4), С. 267-275
9. Валитова Ю.Н., Котлова Е.Р., Новиков А.В., Шаварда А.Л., Артеменко К.А., Зубарев Р.А., Минибаева Ф.В. // Биохимия. 2010. Т. 75, № 5. С. 644–653.

10. Minibayeva F., Kolesnikov O., Chasov A., Beckett R.P., Lüthje S., Vylegzhaniina N., Buck F., Böttger M.// Plant, Cell & Environment. 2009. V.32, P.497-508.

Таблица 1 - Изменение экстраклеточного содержания протонов и ионов K^+ , концентрации H_2O_2 , жизнеспособности и потребления кислорода в корнях пшеницы после их выращивания в присутствии нистатина, грамицидина S и МБЦД в течение 12 ч

Table 1 - The alterations in extracellular pH and potassium efflux, H_2O_2 accumulation, cell viability and oxygen consumption in roots after growing wheat seedlings in the presence of nystatin, gramicidin S and M β CD for 12 h

Вариант	рН среды инкубации	K^+ , мкэкв/ч/г сыр. в.	H_2O_2 , мкМ/г сыр. в.	Жизнеспособность, %	Потребление O_2 , мкл/ч/г сыр. в.	
					1 ч	5 ч
Контроль	5.9±0.1	0.5±0.0	6.3±0.0	100	417.0±23.5	402.0±20.3
Нистатин (1 мкМ)	5.8±0.2	1.4±0.1	19.8±0.0	92	-	-
Нистатин (10 мкМ)	5.9±0.1	2.3±0.1	-	64	-	-
Нистатин (20 мкМ)	6.6±0.1	4.9±0.1	-	33	440.0±33.3	657.3±25.2
Грамицидин S (1 мкМ)	5.9±0.1	1.4±0.1	11.2±0.0	87	-	-
МБЦД (5 мМ)	5.9±0.0	0.5±0.0	6.0±0.1	98	384.2±17.9	483.3±59.9

PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL ASPECTS OF STEROL DEPLETION IN WHEAT ROOTS

Valitova J.N., Sulkarnayeva A.G., Mukhitova F.K., Minibayeva F.V.

plant sterols, glycoceramides, nystatin, methyl- β -cyclodextrin, wheat roots

The significant differences in the physiological and biochemical effects induced in wheat roots by the application of the sterol-binding agents nystatin and M β CD clearly demonstrate that decreases in sterol content do not necessarily have deleterious consequences. The toxic effects of nystatin are likely to be caused by disturbance of membrane integrity and induction of oxidative stress rather than the decrease in sterol content.

НЕКОТОРЫЕ МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИИ ЛИШАЙНИКОВ И *PINUS SYLVESTRIS* L. К ГАЗОПЫЛЕВОМУ ЗАГРЯЗНЕНИЮ

Валько О.Н., Туманов В.Н.

УО «Гродненский государственный университет имени Янки Купалы», ул. Ожешко, 22,
г. Гродно, 230000, Беларусь, E-mail: volia-17@tut.by, vtumanov@grsu.by

адаптация растений, лишеноиндикация, газопылевое загрязнение, индекс чистоты воздуха, восстановительные эквиваленты, динамика содержания хлорофилла

Введение

В условиях значительного увеличения антропогенной нагрузки на природные и урбанизированные экосистемы важным свойством живых организмов является способность сочетать устойчивость (гомеостаз) и приспособление их строения и функций к изменяющимся условиям среды (адаптация), что дает возможность выжить при нарастающем антропогенном экологическом стрессе. [1].

Цель нашей работы – рассмотреть возможные приспособительные реакции *Pinus sylvestris* L. и лишенофлоры лесного массива, прилежащего к комбинату стройматериалов г. Гродно, к загрязнению газопылевого типа.

Материалы и методы

Объектом исследования являются эпифитные лишайники и хвоя *Pinus sylvestris* L. первого и второго года жизни лесного массива в районе комбината строительных материалов (КСМ) г. Гродно. Исследовались ценотические и физиологические показатели лишайникового покрова; проводилась оценка содержания восстановительных эквивалентов в хвое первого и второго года жизни *Pinus sylvestris* L., породы, преобладающей на пробных площадях различного удаления от комбината, заложенных в направлении, перпендикулярном розе ветров.

Количество суммарного хлорофилла в слоевищах лишайников определено спектрофотометрическим методом [2], индекс чистоты воздуха (ИЧВ) рассчитан с помощью соответствующей методики [3], содержание аскорбиновой кислоты, глутатиона и общая редуцирующая активность хвои рассчитаны методом Петта в модификации Прокошева [4].

Результаты и обсуждение

Наибольшее видовое разнообразие лишайников наблюдается на контрольной ПП - 7 видов. На ПП 1-4 количество видов колеблется от 1 до 3. На ПП-1,2,4 доминирует *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr. – встречаемость 45%, 64%, 10% соответственно. На ПП-5 *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. – один из доминирующих видов (46%). Анализ встречаемости и принадлежности лишайников к классам палеотолерантности [5] характеризует ПП-5, как естественную, слабо или умеренно измененную, а ПП-1–4 как сильно или очень сильно антропогенно измененные (табл. 1).

Выявлено увеличение содержания суммарного хлорофилла в слоевищах *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr. по мере удаления от КСМ. Однако, на расстоянии 100 м количество пигмента близко к контрольным значениям, что является, вероятно, адаптацией к недостатку света из-за сильной запылённости слоевищ (табл. 2).

ИЧВ составил на: 100 м – 10,7 баллов; на 500 м – 16,4; на 1000 м – 13,3; на 1500 м – 19,7; на контрольной ПП – 40,2. Принимая шаг ИЧВ равным 15 баллам, выделили следующие экологические зоны: 100 и 1000 м – сильное загрязнение; 500 и 1500 м – среднее загрязнение; контроль – слабое загрязнение (табл. 2).

Содержание аскорбиновой кислоты в хвое *Pinus sylvestris* L. 1 года жизни возрастает от 0,019 на 100 м до 0,021 мг% массы сырых листьев на 800 м от КСМ. В двухлетней хвое содержание аскорбиновой кислоты на градиенте расстояния (100 м → 800 м) увеличивается в 1,4 раза (рис. 1). Содержание глутатиона в хвое 1 и 2 года жизни изменяется соответственно

от 0,201 и 0,242 мг% массы сырых листьев на 100 м до 0,217 и 0,343 мг% массы сырых листьев на 800 м к западу от КСМ (рис.1).

Таблица 1 – Видовой состав и встречаемость (М, %) лишайников на различном расстоянии от комбината строительных материалов г. Гродно

Table 1 - Species composition and occurrence (M, %) of lichens at different distances from the plant building materials Grodno

Виды лишайников	Удаленность от комбината, м / М, %				
	100	500	1000	1500	контроль (лесопарк «Пышки»)
<i>Cladonia delicata</i> (L.) Nyl.	-	-	-	-	8
<i>Hypogymnia physodes</i> (L.) Nyl.	-	-	-	-	46
<i>Lepraria</i> sp.	-	-	25	10	46
<i>Parmelia sulcata</i> Th. Tayl.	-	-	-	-	39
<i>Phaeophyscia orbicularis</i> (Neck.) Moberg	18	14	-	-	-
<i>Physcia ascendens</i> (Fr.) Oliv.	-	21	-	-	8
<i>Physcia stellaris</i> (Ach.) Nyl.	-	-	-	-	8
<i>Xanthoria parietina</i> (L.) Th.Fr.	45	64	-	10	15

Таблица 2 – Содержание суммарного хлорофилла в слоевищах *Xanthoria parietina* (L.) Th.Fr. и индекс чистоты воздуха (ИЧВ) на различном расстоянии от КСМ

Total chlorophyll content in the thalli of *Xanthoria parietina* (L.) Th.Fr. and the index of clean air (ICA) at different distances from the PBM

№ ПП	Содержание сумм. хл., мг/г слоевища	Значение ИЧВ, баллы	Расстояние от КСМ, м	Экологическая зона
1	0,92 ± 0,25	10,7	100	сильное загрязнение
2	0,82 ± 0,14	16,4	500	среднее загрязнение
3	-	12,2	1000	сильное загрязнение
4	0,86 ± 0,17	19,6	1500	среднее загрязнение
Контроль	1,01 ± 0,16	40,2	контроль	слабое загрязнение

Примечание: по параметру содержания суммарного хлорофилла достоверно ($p \leq 0,05$) отличаются ПП-1 от ПП-2, ПП-2 от контрольной ПП.

Общая редуцирующая активность растительной ткани *Pinus sylvestris* L. на пробных площадях западного направления возрастает в 1,1 и в 1,4 раза для одно- и двухлетней хвои соответственно при изменении расстояния от 100 м до 800 м до источника загрязнения (рис. 2).

В целом, полученные результаты динамики содержания аскорбиновой кислоты, глутатиона и общей редуцирующей активности хвои *Pinus sylvestris* L., можно интерпретировать как адаптацию растения – мобилизацию энергетических ресурсов с целью пре-одоления стресса.

На основании проведенных нами исследований можно сделать следующие выводы:

1. Изменение физиологических и ценологических параметров лишайникового покрова и уменьшение индекса чистоты воздуха по сравнению с контролем свидетельствует о наличии значительной антропогенной нагрузки на растительные объекты исследуемой нами территории. Значения ИЧВ позволяют выделить в ней следующие экологические зоны, отличающиеся уровнем загрязнения воздуха по градиенту расстояния от КСМ: 100 м и 1000 м – сильное загрязнение; 500 м и 1500 м – среднее загрязнение; контроль – слабое загрязнение.

2. Лишайники способны адаптировать фотосинтетический аппарат к условиям недостатка солнечной радиации путем увеличения содержания пигментов в слоевищах.

3. В хвое *Pinus sylvestris* L. в неблагоприятных условиях происходит увеличение содержания восстанавливающих агентов, свидетельствующее о мобилизации энергетических ресурсов организма, что, возможно, позволяет растению не допускать или ликвидировать последствия стресса.

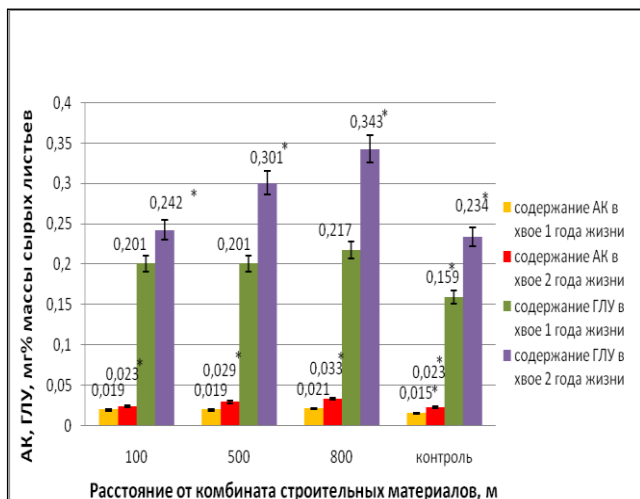


Рисунок 1 – Содержание аскорбиновой кислоты (АК) и глутатиона (ГЛУ) в хвое *Pinus sylvestris* L.

Figure 1 - Content of ascorbic acid (AA) and glutathione (GLU) in needles *Pinus sylvestris* L.

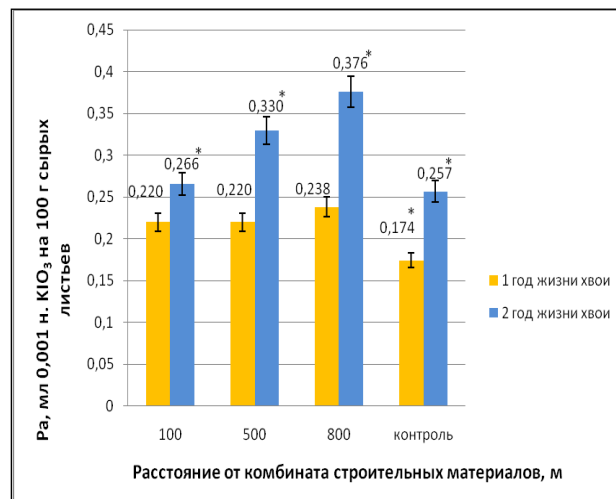


Рисунок 2 – Общая редуцирующая активность (Pa) хвои *Pinus sylvestris* L.

Figure 2 - Total reducing activity (Ra) needles *Pinus sylvestris* L.

Литература

1. Сарбаева Е.В. Некоторые аспекты устойчивости туи западной в городских экосистемах // Кафедра экологии Марийского государственного университета [Электронный ресурс]. – 2008. – Режим доступа: <http://new.marsu.ru>. – Дата доступа: 05.11.2010.
2. Гавриленко В.Ф. Большой практикум по физиологии растений. Фотосинтез. Дыхание. – М.: Высшая школа, 1975. – 392 с.
3. Николаевский В.С. Экологическая оценка загрязнения среды и состояния наземных экосистем методом фитоиндикации. – Пушкино: ВНИИЛМ, 2002. – 220 с.
4. Третьяков Н.Н. Практикум по физиологии растений. – М.: Агропромиздат, 1990. – 271 с.
5. Трасс Х.Х. Классы палеотолерантности лишайников и экологический мониторинг // Проблемы экологического мониторинга и моделирования экосистем. Л.: Гидрометеиздат, 2004. Т. 7. С.144-159.

SOME MECHANISMS OF ADAPTATION OF LICHENS AND *PINUS SYLVESTRIS* L. TO GAS-DUST POLLUTION

Valko O.N., Tumanov V.N.

adaptation of plants, lichenoidication, gas-dust pollution, index of clean air, reducing equivalents, the dynamics of chlorophyll content

On the gradient of the distance to the plant building materials determines the change in biochemical and cenotical parameters of lichens and the content of reducing equivalents in the leaves of *Pinus sylvestris* L. Lichens are able to adapt their photosynthetic system to a lack of solar radiation by increasing the pigment content in the thalli. Dynamics of the content of reducing equivalents in the needles of *Pinus sylvestris* L. can be interpreted as the mobilization of energy plants to overcome stress.

МЕЛАТОНИН СНИЖАЕТ ТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ИЗБЫТКА ИОНОВ МЕДИ, НЕ ПРЕПЯТСТВУЯ ИХ АККУМУЛЯЦИИ В РАСТЕНИЯХ РАПСА

Васильев С.В.¹, Данилова Е.Ю.², Холодова В.П.¹, Кузнецов Вл.В.¹

¹ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая 35, г. Москва, 127276, Россия, E-mail: v-p-kholodova@mail.ru

²ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова», Трубецкая ул., 8, г. Москва, 119991, Россия

рапс, мелатонин, тяжелые металлы, устойчивость

Введение

Мелатонин (Мел) – N-ацетил-5-метокси-триптамин – гормон, синтезируемый эпифизом мозга животных, одной из главных функций которого является регуляция циркадного цикла у животных, в том числе человека (1). Близость химической структуры Мел к ИУК привлекла к нему внимание физиологов растений, подтвердивших его функцию на многих видах растений как рост-регулирующего агента (2). Однако в последние годы появились работы, свидетельствующие о защитном действии Мел на растения в условиях стресса, вызываемого токсическим действием засоления, пониженных температур и тяжелых металлов (ТМ) (3). Что касается ТМ, к настоящему времени на растениях разных видов в условиях предобработки или прямого действия Мел в широком диапазоне концентраций установлено снижение их негативного действия на рост растений (3, 4). Одним из основных защитных эффектов Мел считают его антиоксидантное действие (2), механизм которого практически не изучен. Остался также не исследованным весьма актуальный вопрос, не определяется ли позитивный эффект Мел снижением под его воздействием содержания ТМ в растении.

Для выяснения возможного влияния Мел на содержание ТМ и изучения некоторых физиологических показателей его защитного действия нами было выполнено исследование на растениях рапса.

Материалы и методы

Семена рапса *Brassica napus* L. с. Вестар проращивали в чашках Петри, оценку всхожести и измерение длины корня проводили на 3 день. Оценивали действие 50 мкМ CuSO₄ и CuSO₄ совместно с Мел (фирма Sigma-Aldrich, США), который добавляли в концентрации от 0,1 нМ до 100 мкМ. Семена контрольного варианта росли на дистиллированной воде. Повторность каждого из вариантов не менее, чем 3-кратная.

Во второй серии опытов ювенильные растения, выращенные на среде Хогланда-Снайдера (при 0,25 мкМ CuSO₄) в течение 6 недель, подвергали действию 50 мкМ или 100 мкМ CuSO₄, 1 нМ-100 мкМ Мел, а также их совместному воздействию, контроль – вода. Накопление биомассы корней и побега оценивали весовым методом. Содержание Cu после кислотного озоления корней и листьев среднего яруса измеряли с помощью атомно-адсорбционного спектрофотометра ААС-400, фирмы ЛАБИСТ (Россия). Хлорофилл а и в экстрагировали 96%-ным этанолом, оптическую плотность измеряли на спектрофотометре Genesis 20 (США) и рассчитывали по Lichtenthaller (5).

Результаты и обсуждение

В опытах на проростках было подтверждено установленное нами ранее токсическое действие 50 мкМ CuSO₄ на всхожесть семян рапса (5) (ингибирование на 45-55% от контроля), однако не было выявлено достоверного влияния Мел в диапазоне концентраций 0,1 нМ-100 мкМ на этот процесс (данные не приведены).

В использованной концентрации 50 мкМ CuSO₄ рост корня проростков рапса ингибировался в среднем (по данным 5 независимых опытов) до 38,7± 2,1%. Не было установлено существенной зависимости степени ингибирования от скорости роста проростков. В этих

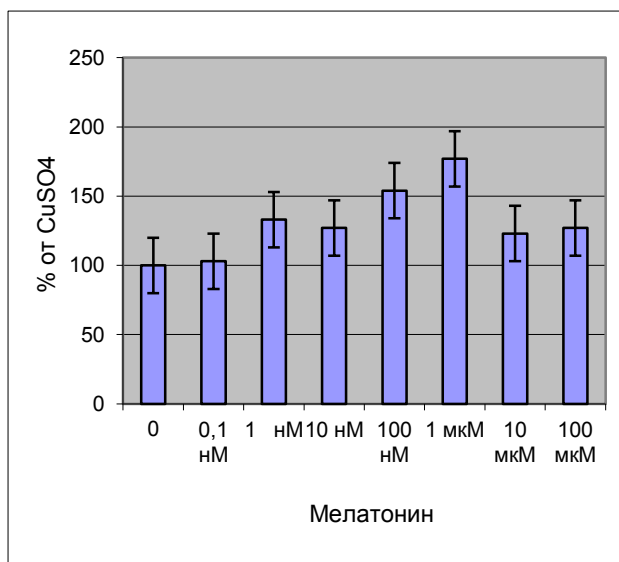
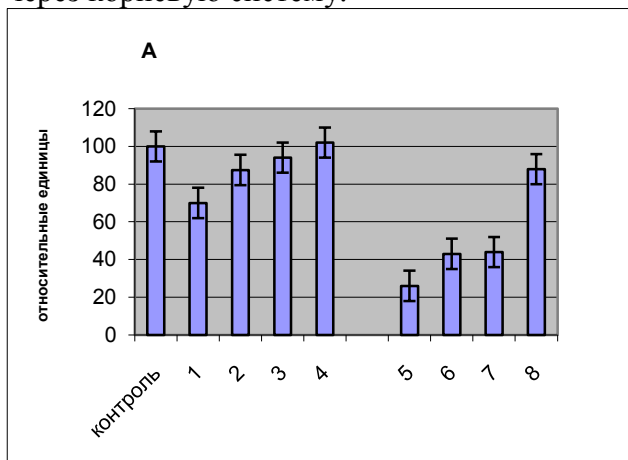


Рисунок 1 - Влияние мелатонина на ингибированный 50 µM CuSO₄ рост корня проростков рапса

Figure 1 - Melatonin improves root growth of rapeseedlings retarded by 50 µM CuSO₄

Для проверки этой возможности опыты были поставлены на растениях, росших в гидроронике, т.е. получавших ионы меди и Мел вместе с минеральными элементами из среды через корневую систему.



опытах Мел почти во всем диапазоне использованных концентраций - от 1 нМ до 100 мкМ - достоверно увеличивал длину корня проростка рапса. Исключением был только его недостоверный эффект в минимальной из примененных концентраций 0,1 нМ (рис.1). Хотя ни в одной из концентраций Мел полностью не снимал ингибирующего действия 50 мкМ CuSO₄ на рост корня проростка рапса, но в концентрации 100 нМ Мел снижал токсический эффект меди почти наполовину, а 1 мкМ - более, чем на 2/3. Однако при еще более высоких концентрациях (10 и 100 мкМ) позитивное действие Мел падало, хотя небольшое уменьшение токсического действия 50 мкМ CuSO₄ - на 23-27% все же сохранялось.

Как уже отмечалось, самой простой причиной положительного действия Мел на рост корня проростков рапса при стрессе, вызванном избыточной концентрацией CuSO₄, могло быть пониженное поступление меди в ткани растений.

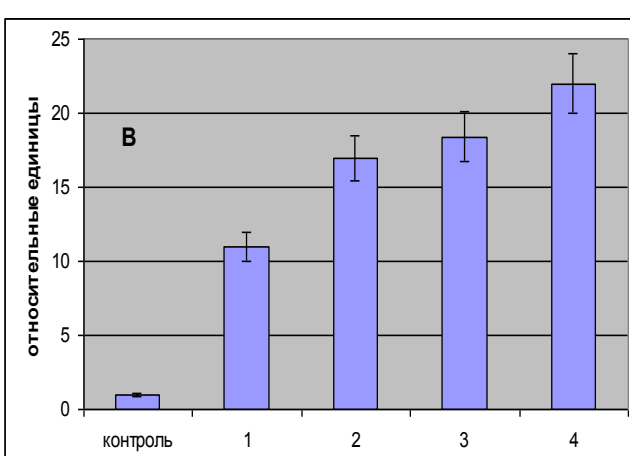


Рисунок 2 - Влияние мелатонина на ингибированную 50 мкМ и 100 мкМ CuSO₄ аккумуляцию биомассы побегом рапса (А) и накопление меди в листьях рапса (Б). 1-CuSO₄ 50 мкМ; 2- CuSO₄ 50 мкМ+ Мел 100нМ; 3- CuSO₄ 50 мкМ+Мел 1мкМ; 4-CuSO₄ 50 мкМ+Мел 10мкМ; 5-контроль; 6- CuSO₄ 100 мкМ+Мел 100нМ; 7- CuSO₄ 100 мкМ+ Мел 1 мкМ; 8-CuSO₄ 100 мкМ+Мел 10мкМ

Figure 2 - Melatonin improved stem biomass accumulation (A) and increased copper content in leaves (B) of oilseed rape plants treated with 50 or 100 µM CuSO₄

При высоком содержании CuSO₄ за 7 дней воздействия происходило сильное торможение накопления биомассы побега, в среднем до 70,2±3,9% от контроля при 50 мкМ и до 19,9±4,2% при 100 мкМ CuSO₄. Внесение 100 нМ-1 мкМ Мел совместно с CuSO₄ снижало тормозящее действие избытка меди на рост побега на 18,0-23,7% при 50 мкМ и даже почти наполовину (на 43,9%) при 100 мкМ CuSO₄ соответственно (рис. 2А). В этих условиях при 50 мкМ CuSO₄ в среде содержание меди в листьях увеличилось в 10-12 раз в сравнении с контролем; дополнение этой среды Мел (100 нМ-10 мкМ) достоверно повышало содержание меди в листьях рапса еще в 1,6-2,5 раза (рис. 2В). Однако

при внесении 100 мкМ CuSO₄ в среду, когда уровень меди в листьях превысил в 20 раз ее уровень в контрольном варианте, Мел не стимулировал дополнительного поступления меди (65,0±7,2% и 65,3±9,1% к контролю).

Накопление биомассы корней было снижено до 39,9±2,7% от контроля при 50 мкМ CuSO₄ и до 29,9±4,1% при 100 мкМ. Из-за большого разброса индивидуальных значений не удалось получить надежных данных по эффекту Мел на биомассу корней при избытке меди, тем не менее, увеличение на 15-26% можно принять как вполне вероятное. Содержание меди в корнях увеличилось в 400-500 раз при 50 мкМ CuSO₄ в сравнении с контролем, в 840 раз - при 100 мкМ CuSO₄ в среде. Как и на биомассу корней, действие Мел на содержание в них меди нуждается в дополнительном уточнении, однако очевидна тенденция увеличения ее содержания до 1,34 раза.

Одной из наиболее вероятных причин улучшения Мел состояния растений рапса в условиях стресса, вызванного высокими концентрациями CuSO₄, может быть защитное действие Мел на содержание хлорофилла. Оказалось, при 50 мкМ CuSO₄ содержание хлорофилла а и b снизилось почти на 1/3 от контроля. Внесение в среду с 50 мкМ CuSO₄ 100 нМ Мел на 20% повысило содержание хлорофилла а, тогда как 1 мкМ Мел на 80% поднял уровень хлорофилла а и на 33% повысил содержание также и хлорофилла b.

Заключение

На проростках и ювенильных растениях рапса впервые установлено, что снижение токсического эффекта 50 мкМ и 100 мкМ CuSO₄ на накопление биомассы при совместном внесении в среду CuSO₄ и Мел (100 нМ-10 мкМ) не обусловлено подавлением поступления ионов меди в корни и их транслокации по растению. Защитное действие Мел проявлялось в поддержании достоверно повышенного уровня фотосинтетических пигментов.

Представленное исследование частично поддержано грантом РФФИ N13-04-01001.

Литература

1. Stehle, J. H., Saade, A., Rawashdeh, O., Ackermann, K., Jilg, A., Sebestény, T., Maronde, E. A survey of molecular details in the human pineal gland in the light of phylogeny, structure, function and chronobiological diseases. *J. Pineal Res.*, 2011, 1, 51:17–43.
2. Tan, D.X., Hardeland R., Manchester L.C. et al.. Functional roles of melatonin in plants, and perspectives in nutritional and agricultural science. *J. Exp. Bot.* 2012, 63, 2:577-597.
3. Zhang, N., Zhao, B., Zhang, H.-J., Weeda, S., Yang, C., Yang, Z.-C., Ren, S., Guo, Y.-D. Melatonin promotes water-stress tolerance, lateral root formation, and seed germination in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *J. Pineal Res.*, 2013, 54, 1:15–23.
4. Posmyk M.M., Kuran H., Marciniak K., Janas, K. M. Presowing seed treatment with melatonin protects red cabbage seedlings against toxic copper ion concentrations. *J. Pineal Res.*, 2008, 45, 1:24–31.
5. Иванова Е. М., Холодова В. П., Кузнецов Вл. В. Биологические эффекты высоких концентраций солей меди и цинка и характер их взаимодействие в растениях рапса *Физиол. растен.*, 2010, 57, 6: 864-873.

MELATONIN DECREASES TOXIC EFFECTS OF EXCESSIVE CONCENTRATIONS OF COPPER IONS WITHOUT INTERFERE THEIR ACCUMULATION IN OILSEED RAPE PLANTS

Vasilyev S.V., Danilova E.Yu., Kholodova V.P., Kuznetsov V.I.V.

rape, melatonin, heavy metals, tolerance, oilseed

Melatonin (100 нМ-10 μМ) firstly was shown to decrease toxic effects of 50 or 100 μМ CuSO₄ to oilseed rape seedling growth and juvenile plant biomass accumulation without diminish of copper ion contents in the plants. Melatonin defense activity realized maintenance of significantly increased level of photosynthetic pigments.

РАЗДЕЛЬНОЕ И СОВМЕСТНОЕ ДЕЙСТВИЕ НИЗКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ И КАДМИЯ НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ ПШЕНИЦЫ

Венжик Ю.В., Холопцева Е.С., Таланова В.В., Титов А.Ф.

ФГБУН Институт биологии КарНЦ РАН, ул. Пушкинская, 11, г. Петрозаводск, 185910, Россия, E-mail: Jul.Venzhik@gmail.com

Triticum aestivum L., холодное закаливание, кадмий, холодоустойчивость, фотосинтез, флуоресценция хлорофилла, пигменты

Введение

В природных условиях растения могут подвергаться действию как одного, так и нескольких стресс-факторов одновременно, например, низкой температуры и тяжелых металлов. Но если характер изменений, возникающих в растительных клетках и тканях под влиянием низкой температуры [1, 2] или тяжелых металлов [3, 4] сравнительно неплохо изучен, то особенности реакции растений на совместное действие этих факторов исследованы пока явно недостаточно. Учитывая это, а также высокую чувствительность фотосинтетического аппарата (ФСА) к действию различных стрессоров, нами проведено сравнительное изучение динамики ряда показателей активности ФСА пшеницы при раздельном и совместном действии низкой закаливающей температуры (4°C) и сульфата кадмия (100 мкМ).

Материалы и методы

В качестве объекта исследований использовали недельные проростки озимой пшеницы (*Triticum aestivum L.*) с. Московская 39. Интенсивность CO₂-газообмена листьев изучали с помощью портативной фотосинтетической системы HSM-1000. Измерение параметров флуоресценции хлорофилла проводили в последствии охлаждения с помощью флуориметра MINI-RAM на предварительно адаптированных к темноте листьях. Содержание хлорофиллов определяли в спиртовой вытяжке с помощью спектрофотометра СФ-2000. Холодоустойчивость листа оценивали по температуре, вызывающей гибель 50% (ЛТ50) палисадных клеток после тестирующего промораживания в специально сконструированных микрохолодильниках.

Результаты и обсуждение

Проведенные исследования показали, что не только под влиянием температуры 4°C, но также в присутствии кадмия и при совместном действии этих стресс-факторов происходит увеличение холодоустойчивости пшеницы. Однако, если при 4°C устойчивость возрастала в течение всего эксперимента, достигая максимума к 7-м сут, то под влиянием кадмия, а также при их совместном действии максимальный прирост устойчивости достигался на 3-и сут опыта, а затем устойчивость несколько снижалась (но при этом превышая исходный уровень). Отметим, что из трех указанных вариантов наибольший прирост холодоустойчивости зафиксирован при 4°C, а наименьший – в присутствии кадмия.

Помимо этого, в листьях пшеницы уже в первые часы действия низкой температуры и при ее совместном действии с кадмием происходит значительное снижение скорости фотосинтеза (примерно на 50% по сравнению с исходным уровнем), в то время как кадмий подобных изменений не вызывал. Кроме того, во всех вариантах опыта в листьях пшеницы установлено небольшое снижение скорости электронного транспорта, и к концу опыта этот показатель продолжал оставаться на уровне 80–90% от исходных значений. Отметим, что при всех вариантах воздействия на растения наблюдалось увеличение коэффициента нефотохимического тушения флуоресценции, но при действии холода (4°C) оно начиналось уже в первые часы и носило более выраженный характер. Определенные изменения были выявлены также и в содержании фотосинтетических пигментов. В частности, под влиянием температуры 4°C и при совместном действии стресс-факторов содержание хлорофиллов в листьях постепенно увеличивалось и к 6–7-м сут заметно превышало исходный уровень. В присут-

ствии кадмия содержание пигментов, наоборот, снижалось, а на 5-е сут опыта у растений даже наблюдались признаки хлороза.

Таким образом, формирование повышенной холодоустойчивости пшеницы при раздельном и совместном действии низкой температуры и кадмия сопровождается целым рядом изменений в функциональной активности ФСА, в том числе интенсивности фотосинтеза и скорости электронного транспорта, коэффициента нефотохимического тушения флуоресценции и содержания хлорофиллов. Очевидно, что по крайней мере часть из них носит адаптивный характер и, скорее всего, может быть отнесена к неспецифическим защитно-приспособительным реакциям.

Литература

1. Устойчивость растений в начальный период действия неблагоприятных температур / Титов А.Ф., Акимова Т.В., Таланова В.В., Топчиева Л.В. – М.: Наука, 2006. – 143 с.

2. Структурно-функциональная реорганизация фотосинтетического аппарата растений пшеницы при холодной адаптации / Венжик Ю.В., Титов А.Ф., Таланова В.В., Мирославов Е.А., Котеева Н.К. – Цитология. – 2012. – Т. 54. – № 12. – С. 916-924.

3. Устойчивость растений к тяжелым металлам / Титов А.Ф., Таланова В.В., Казнина Н.М., Лайдинен Г.Ф. – Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2007. – 172 с.

4. Влияние возраста листа на устойчивость фотосинтетического аппарата растений к кадмию / Казнина Н.М., Титов А.Ф., Лайдинен Г.Ф., Батова Ю.В. – Труды КарНЦ РАН. – Сер. Экспериментальная биология. – 2013. – № 3. – С. 112-118.

SEPARATE AND COMBINED EFFECTS OF LOW TEMPERATURE AND CADMIUM ON PHOTOSYNTHETIC APPARATUS OF WHEAT

Venzhik Yu.V., Kholoptseva E.S., Talanova V.V., Titov A.F.

Triticum aestivum L., cold hardening, cadmium, cold tolerance, photosynthesis, chlorophyll fluorescence, pigments

The effects of cold hardening (4°C), cadmium and combined action of these factors on functional activity of photosynthetic apparatus and cold tolerance of wheat (*Triticum aestivum L.*) were studied. It is assumed that at least some of observed changes in photosynthetic apparatus are adaptive and they can be attributed to non-specific protection and adaptation responses.

КОНТРАСТНАЯ ТРАНСПИРАЦИОННАЯ РЕАКЦИЯ ДВУХ СОРТОВ ЯЧМЕНЯ В ОТВЕТ НА ВОДНЫЙ ДЕФИЦИТВеселов Д.С.¹, Шарипова Г.В.¹, Фархутдинов Р.Г.², Веселов С.Ю.²¹ФГБУН Институт биологии УНЦ РАН, пр. Октября, 69, г. Уфа, 450054, Россия,
E-mail: veselov@anrb.ru²ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный университет», ул. 3. Валиди, 32, г. Уфа,
450076, Россия*ячмень, дефицит воды, транспирация, засухоустойчивость***Введение**

Дефицит воды, вызванный засухой, - один из наиболее важных факторов окружающей среды, действие которых приводит к снижению скорости роста и урожайности растений. За период вегетации растения поглощают и испаряют количество воды в тысячи раз превосходящее их вес [1]. Эта особенность растений усиливает их зависимость от доступности воды, и поэтому выживание растений определяется их способностью поддерживать водный обмен. В условиях дефицита воды регуляция устьичной проводимости является одним из наиболее важных механизмов поддержания водного баланса у растений [2-3]. Данные литературы о роли транспирации при водном стрессе противоречивы. Так, наряду с данными о том, что устьичная проводимость выше у устойчивых растений [4], можно встретить сведения о том, что она больше у чувствительных [5]. Все это свидетельствует о недостаточном внимании к проблеме регуляции водного обмена растений на фоне водного дефицита. Перспективным подходом для исследования механизмов, обеспечивающих приспособление растений к дефициту воды, является сравнение сортов, различающихся по засухоустойчивости. С этой целью мы остановились на растениях двух сортов ячменя, которые, судя по паспортным данным, различались по засухоустойчивости. Цель работы состояла в выявлении особенностей реакции на дефицит воды, вызванный добавлением в питательную среду хлорида натрия и повышением температуры воздуха у растений ячменя и их возможной связи с засухоустойчивостью растений.

Материалы и методы

Исследования проводились в лабораторных условиях в водной культуре с растениями сортов ячменя (*Hordeum vulgare* L, сортов Прерия и Михайловский) различного эколого-географического происхождения. Водный дефицит в среде корнеобитания создавали, добавляя 100 мМ NaCl. Для создания воздушного водного дефицита температуру воздуха повышали на 4 ± 1 °С от исходной за несколько мин. потоком горячего воздуха от тепловентилятора «Ветерок-2» и поддерживали на постоянном уровне. Транспирацию оценивали гравиметрически по потере веса стаканчиком с десятью растениями. Для измерения устьичного сопротивления был использован порометр (МК Delta-T). Статистическую обработку проводили по стандартным программам MS Excel. Все эксперименты повторяли не менее трех и более биологических повторений (n). На рисунках и в таблицах приведены средние значения показателей и ошибки средних.

Результаты и обсуждение

На первом этапе исследований моделировалась засуха в среде корнеобитания. Транспирация растений обоих сортов изменилась уже через 15 мин после добавления соли в питательный раствор (рис. 1). Наблюдения за растениями в течение 90 мин показали, что скорость транспирации в результате действия засоления снижалась в большей степени у растений сорта Прерия, по сравнению с растениями сорта Михайловский. Подтверждением того, что транспирация снижалась в результате закрытия устьиц, служат данные по устьичной проводимости (рис. 2). Через 15 мин после добавления хлорида натрия в питательный рас-

твор устьичная проводимость снижалась у обоих сортов. В большей степени это снижение было выражено у растений сорта Прерия (50% от контрольных значений).

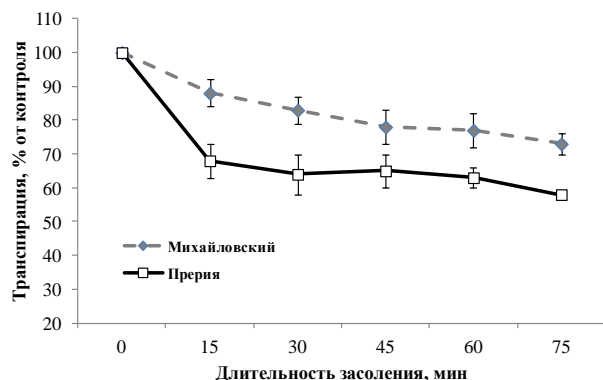


Рисунок 1 - Влияние засоления на транспирацию растений ячменя сортов Михайловский и Прерия (n=12)

Figure 1 - Salt influence to transpiration rate in barley plants

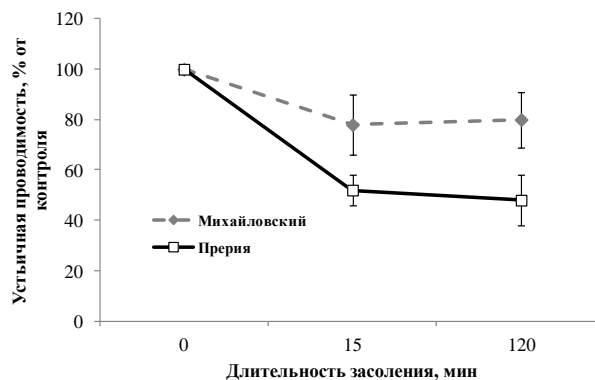


Рисунок 2 - Устьичная проводимость при натрий-хлоридном засолении у растений сортов Прерия и Михайловский (n=20)

Figure 2 - Stomatal conductance at NaCl influence in barley plants

Угнетение транспирации за счет закрытия устьиц было ожидаемой реакцией на снижение доступности воды при засолении в результате уменьшения осмотического потенциала питательной среды. Закрытие устьиц при засолении обеспечивает сохранение баланса между пониженным уровнем поглощения воды и ее испарением. Тем самым поддерживается оводненность тканей листа и способность клеток к росту растяжением [6].

На следующем этапе работ имитировалась воздушная засуха. В лабораторных условиях различия в реакции растений были обнаружены лишь при относительно высокой исходной температуре (около 30°C). При ее дальнейшем повышении на 3-4 градуса у более засухоустойчивого сорта Прерия транспирация возрастала, в то время как у влаголюбивого (Михайловский) – падала (рис. 3).

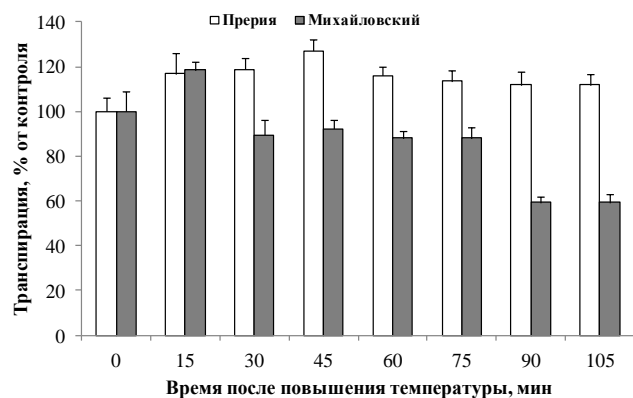


Рисунок 3 - Скорость транспирации у 7-дневных растений ячменя сортов Прерия и Михайловский при повышении температуры воздуха на 3-4 градуса (исходная температура 29 C). (n=12)

Figure 3 - Transpiration rate of 7d-old barley plants at increase of air temperature by 3-4 degree. Initial temperature was 29 degree

При данной высокой исходной температуре проявлялись сортовые различия между растениями ячменя: у растений сорта Михайловский в отличие от растений сорта Прерия скорость транспирации не возрастала, а снижалась. Удивительно то, что у растений ячменя проявлялась противоположная закономерность по сравнению с растениями пшеницы.

Таким образом, были обнаружены различия в способности растений сортов Прерия и Михайловский реагировать на то, что происходит в воздушной среде и в области корней. Представляло интерес сравнить их реакцию на сочетание воздушной и почвенной засухи. В течение первых 15 мин после повышения температуры транспирация снизилась у растений обоих сортов, но затем она резко возросла у растений сорта Михайловский и снизилась у растений сорта Прерия (рис. 4).

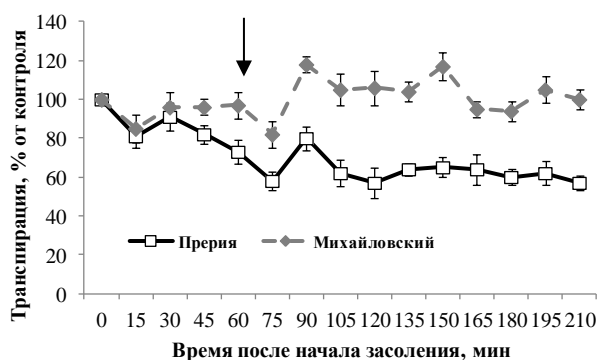


Рисунок 4 - Скорость транспирации у 7-дневных растений ячменя сортов Прерия и Михайловский. Время повышения температуры воздуха на 4 градуса обозначено стрелкой. Исходная температура – 29 градусов. (n=12)

Figure 4 - Transpiration rate 7d-old barley plants. Time of increase of air temperature is indicated by arrow. Initial temperature was 29 degree

Заклучение

Создается впечатление, что растения более засухоустойчивого сорта чутко реагировали на высокую температуру воздуха и ее дальнейшее повышение и поддерживали высокий уровень транспирации, необходимый в этих условиях для охлаждения. Но они также чутко реагировали на доступность воды в области корней, и ее снижение резко снижало уровень транспирации у растений сорта Прерия. Таким образом, эти растения «решали» для себя вопрос о том, что для них важнее: охлаждение или экономия воды, в зависимости от ее доступности корням.

Работа выполнялась при поддержке гранта РФФИ №14-04-97077 и в рамках госзадания № 01201456413 Минобрнауки России.

Литература

1. Зялалов А.А. Водный ток в высших растениях: физиология, эволюционное становление, системный анализ // Физиология растений. 2004. Т.51. С. 607-616.
2. Jones, H.G. Physiological aspects of the control of water status in horticultural crops // HortSci. 1990. V. 25. P. 19–26.
3. Zhang, J., Davies, W.J. Changes in the concentration of ABA in the xylem sap as a function of changing soil water status can account for changes in leaf conductance and growth // Plant Cell Environ. 1990. V. 13. P. 277–285.
4. Volkov V., Wang B., Dominy P.J., Fricke W., Amtmann A. *Thellungiella halophila*, a salt-tolerant relative of *Arabidopsis thaliana*, possesses effective mechanisms to discriminate between potassium and sodium // Plant Cell Environ. 2004. V. 27. P. 1-14.
5. Rivelli A.R., James R.A., Munns R., Condon A.G. Effect of salinity on water relations and growth of wheat genotypes with contrasting sodium uptake // Funct. Plant Biol. 2002. V. 29. P. 1065-1074.
6. Fricke W., Akhilarova G., Veselov D., Kudoyarova G. Rapid and tissue-specific changes in ABA and in growth rate in response to salinity in barley leaves // J. Exp. Bot. 2004. V.55. P. 1115-1123.

DIFFERENT TRANSPIRATIONS LEVEL OF TWO BARLEY VARIETY AT WATER DEFICIT

Veselov D.S., Sharipova G.V., Farkhuydinov R.G., Veselov S.Yu.

barley, water deficit, transpiration rate, drought resistant

Experiments were conducted on two varieties of barley plants - Prairie drought tolerance and moistureloving Mikhailovsky. On the basis of studying the effect of osmotic stress on plants, simulating soil drought and elevated temperature, simulating air drought, as well as combinations of these two influences concluded transpiration contrasting reactions of barley plants.

**ВЛИЯНИЕ ЭНДОФИТНОЙ БАКТЕРИИ *BACILLUS SUBTILIS* 26Д И
ЖАСМОНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ИНДУКЦИЮ ЗАЩИТНЫХ РЕАКЦИЙ
В РАСТЕНИЯХ ПШЕНИЦЫ ПРИ РАЗВИТИИ СЕПТОРИОЗА**

Веселова С.В., Сорокань А.В., Дашкова И.О., Горбачева О.В.

ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, пр. Октября, 71, г. Уфа, 450054, Россия,
E-mail: veselova75@rambler.ru

Triticum aestivum L., *Septoria nodorum* Berk., жасмоновая кислота, *Bacillus subtilis*, перекись водорода, пероксидаза.

Введение

Защитные реакции, возникающие в растениях в ответ на инфицирование различными патогенами и лежащие в основе развития локальной и системной устойчивости, связаны с синтезом сигнальных молекул и направлены на предотвращение развития и распространения патогена через генерацию активных форм кислорода (АФК), регулирующуюся ферментами про-/антиоксидантной системы, и упрочнение клеточной стенки через синтез лигнина. Системная приобретенная устойчивость (СПУ) зависит от содержания салициловой кислоты (СК) в инфицированном растении, а опосредованная стимулирующими рост растений микроорганизмами (СРРМ) устойчивость, которую принято называть индуцируемой системной устойчивостью (ИСУ), требует наличие в тканях жасмоновой кислоты (ЖК) и этилена [1]. Сигналинг ИСУ пока не ясен и механизм действия СРРМ на растения еще до конца не изучен. Часто при слабой эффективности применяемого биопрепарата наблюдают интерференцию при совместном развитии СПУ и ИСУ [2], поэтому чтобы расшифровать защитную роль регуляторов, продуцируемых СРРМ, нужно учитывать сложные взаимодействия между сигнальными молекулами и применяемыми бактериями.

Целью данной работы было изучение влияния последовательной обработки ЖК и эндофитной бактерией *Bacillus subtilis* штамм 26Д на образование перекиси водорода (H₂O₂), изменение активности пероксидазы (ПО) и лигнификацию клеточных стенок в растениях пшеницы при инфицировании гембиотрофным грибом *Septoria nodorum* Berk.

Материалы и методы

Объектом исследований служили 10-суточные проростки мягкой яровой пшеницы сорта Жница, выращенные в лабораторных условиях на водной культуре, часть из которых предварительно подвергалась предпосевной обработке ЖК в двух концентрациях (10-7М и 10-12М), а затем опрыскивалась суспензией спор эндофитного штамма бактерии *Bacillus subtilis* 26Д в концентрации 10⁵ кл/мл за 3 дня до инфицирования. Срезанные первые листья проростков всех вариантов обработок, помещенных в чашки Петри, инокулировали суспензией пикноспор агрессивного штамма гриба *S. nodorum* (10⁵ спор/мл) из коллекции лаборатории. Содержание перекиси водорода (H₂O₂) оценивали при 560 нм с использованием кислородного оранжевого. Активность ПО определяли по окислению (o-) фенилендиамина (ОФД) в присутствии H₂O₂ при 490 нм. Автофлуоресценцию лигнина наблюдали с помощью лазерного сканирующего конфокального микроскопа (ЛСКМ) LSM-510 («Carl Zeiss», Германия). Все опыты проводились в 3 биологических и 3 аналитических повторностях.

Результаты и обсуждение

Растительные пероксидазы рассматриваются как основной фактор устойчивости растений к патогенам, так как используют перекись водорода в реакциях окисления фенольных соединений с образованием лигнина [3]. СРРМ, также как и ЖК способны активировать в растениях различные ферменты, участвующие в защите растений от стрессоров (фенилаланинаммиак-лиазу (ФАЛ), пероксидазу, бета-1,3-глюканазу, хитиназу), а также индуцировать накопление АФК, в том числе перекись водорода [1,4]. В инфицированных растениях, пре-

добработанных ЖК (10^{-7} М) или *B. subtilis* 26Д наблюдалось многократное торможение развития болезни по сравнению с необработанными растениями, что предполагает их иммунизирующий эффект. Возможно, и в том, и в другом случае устойчивость растений к болезни повышалась за счет усиления генерации H_2O_2 , повышения активности ПО (табл. 1) и усиления лигнификации клеточных стенок в местах поражения (данные не представлены). Однако, совместное их применение приводило к снижению защитного эффекта, что приводило к более сильному развитию инфекции. Можно предположить, что при совместном применении ЖК (10^{-7} М) и *B. subtilis* 26Д происходила интерференция запускаемых ими сигнальных путей, формирующих устойчивость к патогену, что приводило к подавлению генерации H_2O_2 , активности ПО (табл. 1) и лигнификации клеточных стенок.

Таблица 1 - Влияние жасмоновой кислоты и *B. subtilis* 26Д на генерацию перекиси водорода и активность пероксидазы в листьях пшеницы при инфицировании *S. nodorum*

Table 1 - Effect of jasmonic acid and *Bacillus subtilis* 26D on generation of hydrogen peroxide and activity of peroxidase in wheat leaves under *S. nodorum* infection

Варианты	H ₂ O ₂ , мкМ / г сырой массы		ПО, оп.ед. / мг белка	
	время после инфицирования, ч			
	6	24	24	48
Контроль	33,2±1,8	20,0±0,6	25,5±2,3	22,7±2,2
Инфицирование	40,0±2,0	24,7±1,2	47,6±4,1	33,1±3,5
<i>B. subtilis</i>	26,6±1,0	30,8±1,1	23,2±2,5	19,5±2,1
<i>B. subtilis</i> + инф	35,2±1,5	36,1±1,8	24,4±2,6	50,1±5,3
ЖК (10^{-7} М)	35,0±0,6	48,6±2,2	30,2±3,3	22,7±2,4
ЖК (10^{-7} М) + инф	52,4±2,3	46,6±2,0	61,2±6,7	75,1±4,7
ЖК (10^{-7} М) <i>B. subtilis</i>	30,1±2,0	29,5±0,3	26,2±2,8	19,7±2,1
ЖК (10^{-7} М) <i>B. subtilis</i> + инф	27,3±1,6	13,6±0,2	25,3±2,8	13,4±0,1
ЖК (10^{-12} М)	40,5±0,7	27,0±3,0	45,3±4,8	27,1±2,4
ЖК (10^{-12} М) + инф	39,1±2,0	35,0±1,9	30,8±3,3	27,0±0,3
ЖК (10^{-12} М) <i>B. subtilis</i>	38,0±1,2	22,0±1,2	43,3±5,0	31,1±3,0
ЖК (10^{-12} М) <i>B. Subtilis</i> +инф	48,2±0,6	33,0±0,8	45,3±3,5	39,6±3,2

Из литературных данных известно, что концентрации ЖК 10^{-7} М и 10^{-12} М имеют максимальный ростстимулирующий эффект на растения пшеницы [5]. Обработка растений ЖК (10^{-12} М), также как ЖК (10^{-7} М), приводила к торможению симптомов развития болезни у инфицированных растений. Причем, при совместном применении ЖК (10^{-12} М) с *B. subtilis* 26Д мы не наблюдали снижения защитного эффекта, скорее всего из-за того что, генерация H_2O_2 , активность ПО (табл. 1) и лигнификация клеточных стенок не ингибировались.

Интересно, что процесс образования лигнина шел менее интенсивно в растениях пре-добработанных суспензией *B. subtilis* 26Д, чем в растениях пре-добработанных ЖК, хотя лучше чем в контрольных (инфицированных) растениях. Этот процесс коррелировал с повышением активности ПО, уровень которой был выше всего у растений, обработанных ЖК (10^{-7} М), в меньшей степени – у растений, обработанных *B. subtilis* 26Д и самым низким у контрольных (инфицированных) растений (табл. 1). Интересно, что в вариантах с совместной обработкой *B. subtilis* 26Д + ЖК в обеих концентрациях также наблюдалось образование лигнина в клеточных стенках эпидермиса. Эти результаты еще раз подтверждают роль ЖК в регуляции активности ПО, которая катализирует образование лигнина, образующего барьер для патогена [3,4].

Заключение

Наиболее перспективным и экологически безопасным способом защиты растений является использование биопрепаратов, стимулирующих защитные механизмы самих растений. Однако, возникает ряд сложностей, связанных с видовым разнообразием растений и хране-

нием биопрепаратов. Эти сложности, вероятно, можно исключить при использовании СРРМ в композиции с сигнальными молекулами. Однако, наши результаты говорят о том, что необходимо подбирать эффективные сочетания сигнальных молекул и бактериальных препаратов. Решающую роль в повышении защитного эффекта биопрепаратов может сыграть подбор концентраций обоих компонентов композита. В связи с этим, раскрытие роли СРРМ и сигнальных молекул в механизмах формирования защитных реакций растений является актуальной задачей.

Работа поддержана грантом РФФИ № 14-04-97079-р_поволжье_а.

Литература

1. Van Loon L.C. Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria // Eur. J. Plant Pathol. 2007. V. 119. P. 243 – 254.
2. Vleesschauwer D., Djavaheiri M., Bakker A.H.M. Peter., Höfte M. *Pseudomonas fluorescens* WCS374r-induced systemic resistance in rice against *Magnaporthe oryzae* is based on pseudobactin-mediated priming for a salicylic acid-repressible multifaceted defense response // Plant physiol. 2008. V. 148. P. 1996 – 2012.3.
3. Almagro L., Gomez Ros L.V., Belchi-Navarro S., Bru R., Ros Barcello A., Pedreno M.A. Class III peroxidases in plant defence reactions // J. Exp. Botany. 2009. V. 60. P. 377 – 390.
4. Kumari G.J., Reddi A.M., Naik S.T., Kumar S.G., Prasanthni J. Jasmonic acid induced changes in protein pattern, antioxidative enzyme activities and peroxidase isozymes in peanut seedlings // Biologia plantarum. 2006. N. 50. P. 219 – 226.
5. Сахабутдинова А.Р., Ласточкина О.В., Шакирова Ф.М. Влияние метилжасмоната на рост и гормональный статус проростков пшеницы // Агрехимия. 2009. №7. С.48-53.

EFFECT OF ENDOPHYTIC BACTERIA *BACILLUS SUBTILIS* 26D AND JASMONIC ACID ON INDUCTION OF DEFENSE RESPONSES OF WHEAT PLANTS UNDER DEVELOPMENT OF *SEPTORIA*

Veselova S.V., Sorokan A.V., Dashkova I.O., Gorbacheva O.V.

Triticum aestivum L., *Septoria nodorum* Berk., *jasmonic acid*, *Bacillus subtilis*, *hydrogen peroxidase*, *peroxidase*

Effect of successive treatment with jasmonic acid (JA) and endophytic bacteria *Bacillus subtilis* 26D on defense response of plants to hemibiotrophic infection were studied. Interference of defense response of wheat plants against septoria under combined treatment with *Bacillus subtilis* 26D and JA was found to depend on concentration of this signaling molecule.

ИОННАЯ ПРИРОДА ВАРИАБЕЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА У ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Воденеев В.А., Катичева Л.А., Акинчиц Е.К., Бушуева А.В., Сухов В.С.

ФГБОУ ВПО «Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского – национальный исследовательский университет», Гагарина пр-т, 23, г. Нижний Новгород, 603950, Россия, E-mail: v.vodeneev@mail.ru

высшие растения, электрические реакции, переменный потенциал, ионный механизм

Введение

Важную роль в развитии системного ответа растения на локальные внешние воздействия играют быстрые дистанционные сигналы. К таким сигналам относятся распространяющиеся электрические реакции, представленные у высших растений переменным потенциалом (ВП), потенциалом действия (ПД) [1-3] и системным потенциалом [4]. Известно, что ВП возникает при действии повреждающих стимулов и его распространение происходит со снижением амплитуды и скорости реакции [3, 4]. Согласно существующим представлениям, ВП, по сути, является местной электрической реакцией на распространение гидравлического сигнала [3] или сигнала химической природы [4]. Генерацию ВП связывают, главным образом, с переходным изменением активности H^+ -АТФазы плазматических мембран [3, 5]. Распространяясь, ПД и ВП способны вызывать в тканях и органах высших растений, которые не подвергались непосредственному действию фактора комплекс физиологических изменений, включая изменение активности фотосинтеза, дыхания, экспрессию генов и др. [6-7]. На сегодняшний день не существует однозначных представлений о том, каким образом происходит преобразование электрических сигналов в функциональный ответ у растений. Высказываются предположения о том, что непосредственная индукция функционального ответа происходит при участии кальциевой и протонной внутриклеточных сигнальных систем [8-10]. Стоит, однако, отметить, что в настоящее время прямые сведения о динамике внутриклеточных концентраций H^+ и Ca^{2+} при генерации ВП отсутствуют. Таким образом, раскрытие природы ВП позволит не только расширить знания о механизме генерации электрической реакции данного типа, но и будет способствовать пониманию процессов развития индуцируемого им функционального ответа клеток.

Материалы и методы

В качестве объекта исследований использовали 2-3-недельные проростки тыквы (*Cucurbita pepo* L.) и пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Растения выращивали гидропонным способом (50% среда Хоглэнда-Арнона) в климатической камере (KBW-240, «Binder»), 16-ти часовой световой период, температура – 24°C.

Регистрацию электрической активности производили с помощью микроэлектродной и макроэлектродной техники. При внутриклеточной регистрации мембранного потенциала растение располагали на предметном столике микроскопа, при этом участок листа проростка закрепляли в кювете со стандартным раствором. Измерительный электрод с диаметром кончика около 1 μm , заполненный 0,1 М КСl, вводили в паренхимную клетку листа пшеницы 2-3 слоя. Внеклеточная регистрация электрической активности осуществлялась с помощью Ag/AgCl макроэлектродов. Усилителем служил иономер универсальный ИПЛ-112, соединенный с ПК. Индуцирующее ВП повреждающее раздражение в виде ожога открытым пламенем в течение 2 с наносили на кончик листа.

Для регистрации изменений концентрации ионов H^+ и Ca^{2+} при ВП применяли флуоресцентные зонды FITC-dextran, BCECF, AM, Fluo-4, AM и Fura-2, AM. Регистрацию флуоресценции проводили на комплексе лазерной сканирующей микроскопии Carl Zeiss LSM 510 META. Проросток располагали на предметном столике микроскопа, участок стебля, загруженный зондом, размещался в ячейке, дном которой служило покровное стекло. Для воз-

буждения флуоресценции использовался аргоновый лазер (488 нм). Флуоресценция регистрировалась в двух спектральных диапазонах: 500-550 нм и 650-710 нм.

Для количественного анализа сдвигов рН и рСа регистрацию флуоресценции осуществляли с помощью спектрофлуориметра SHIMADZU RF-5301 PC. Анализ осуществляли путём последовательного снятия спектров возбуждения во времени при регистрации флуоресценции от загруженных зондом проростков на длине волны 520 нм.

Результаты и обсуждение

ВП представляет собой переходную деполяризацию. Амплитуда реакции и скорость распространения падают с увеличением расстояния от зоны локального повреждения. Параметры ВП, зарегистрированных в листьях проростков пшеницы и стебле проростков тыквы, сходны с таковыми у других растительных объектов [3, 5]. Снижение амплитуды и скорости распространения реакции с расстоянием может быть связано с ослаблением индуцирующей электрической реакции сигнала, передаваемого по растению [4].

Для определения природы ионных токов, участвующих в формировании ВП использовали ингибиторы тех транспортных систем, функционирование которых имеет определяющую роль в электрогенезе высших растений в покое и при возбуждении. На первом этапе определяли влияние блокирования входящего потока Ca^{2+} на генерацию ВП, для чего проводили эксперименты в бескальциевой среде. Внесение 1 мМ ЭГТА существенно подавляло амплитуду и скорость развития деполяризации, что указывает на необходимость входящего потока Ca^{2+} для формирования ВП у проростков тыквы и пшеницы. Для оценки роли анионов в генерации ВП применяли блокатор анионных каналов этакриновую кислоту (ЭК). ЭК вызывает снижение амплитуды ВП и существенное замедление скорости деполяризации. Для оценки участия ионов калия в процессе генерации ВП был использован блокатор калиевых каналов ТЕА. При этом амплитуда электрической реакции изменялась незначительно, однако заметно подавлялась скорость реполяризации. В соответствии с данными литературы генерация ВП связана с переходной инактивацией H^+ -АТФазы [3, 5]. В наших экспериментах для подавления активности были использованы ортованадат натрия и азид натрия. Внесение ингибиторов вызывает значительную деполяризацию мембраны. Электрическая реакция на ожог при этом практически отсутствует.

Согласно выдвигаемым предположениям, одним из вероятных путей развития индуцированного переменным потенциалом функционального ответа является изменение величины рН [9, 10], вероятно, сопровождающее генерацию электрической реакции. Генерация ВП сопровождается переходным защелачиванием апопласта на величину около 0,3 единиц рН. Одновременно с этим происходит закисление цитозоля. Величина изменения рН внутри клеток также составляла около 0,3.

Ключевым этапом в запуске ответных реакций клеток при генерации ВП могут выступать сдвиги внутриклеточной концентрации ионов кальция [8, 9]. При генерации ВП было зарегистрировано увеличение интенсивности флуоресценции зонда, которое свидетельствует об увеличении концентрации свободного кальция в цитоплазме. Динамика увеличения концентрации хорошо соответствует изменениям электрического потенциала. Генерация ВП в стебле проростка тыквы сопровождается увеличением концентрации внутриклеточного кальция в среднем на 300 нМ.

Заключение

На основании полученных данных и сведений литературы была предположена следующая последовательность событий при генерации ВП. Увеличение концентрации ионов кальция в клетке вызывает снижение активности H^+ -АТФазы, а также активацию анионных каналов, что ведет к возникновению выходящего потока хлора, вносящего существенный вклад в деполяризацию. Можно полагать, что последующее снижение концентрации кальция сначала ведет к инактивации хлорных каналов, при подавленной активности H^+ -АТФазы, а дальнейшее снижение приводит к реактивации H^+ -АТФазы, которая вносит основной вклад в формирование фазы реполяризации ВП. Согласно полученным в ходе выполнения работы

результатам, генерация ВП сопровождается сдвигами внутриклеточных концентраций ионов H^+ и Ca^{2+} . По всей видимости, связанные с генерацией потенциалов возбуждения эти сдвиги лежат в основе преобразования распространяющегося сигнала в функциональный ответ [8-10]. Выявленные сходства в ионной природе ПД и ВП, могут лежать в основе однонаправленных функциональных изменений, индуцированных потенциалами возбуждения.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (13-04-97152, р_поволжье_a).

Литература

1. Опритов В. А., Пятыгин С. С., Ретивин В. Г. Биоэлектрогенез у высших растений. М.:Наука, 1991. 213 с.
2. Sibaoka T. Rapid plant movements triggered by action potentials // The botanical magazine, 1991. V. 104. P.73-95.
3. Stahlberg R., Cleland R. E., Volkenburgh E. Slow wave potentials - a propagating electrical signal unique to higher plants. In: Communication in Plants. F. Baluška, S. Mancuso and D. Volkmann (ed.) Springer Berlin Heidelberg, 2006, pp 291-308.
4. Vodeneev V., Orlova A., Morozova E., Orlova L., Akinchits E., Orlova O., Sukhov V. The mechanism of propagation of variation potentials in wheat leaves // J. Plant Physiol. 2012. V.169. P. 949-954.
5. Julien J.L., Desbiez M.O., de Jaeger G., Frachisse J.M. Characteristics of the wave of depolarization induced by wounding in *Bidens pilosa* L. // J. Exp. Bot. 1991. V. 42. P. 131-137.
6. Bulychev A.A., Kamzolkina N.A., Luengviriya J., Rubin A.B., Muller S.C. Effect of a single excitation stimulus on photosynthetic activity and light-dependent pH banding in *Chara* cells // J. Membrane Biol. 2004. V. 202. P. 11–19.
7. Fromm J., Lautner S. Electrical signals and their physiological significance in plants // Plant Cell Environ. 2007. V. 30. P. 249-257.
8. Krupenina N.A., Bulychev A.A. Action potential in a plant cell lowers the light requirement for non-photochemical energy-dependent quenching of chlorophyll fluorescence // Biochim. Biophys. Acta. 2007. V. 1767. P. 781-788.
9. Пятыгин С.С., Опритов В.А., Воденеев В.А. Сигнальная роль потенциала действия у высших растений // Физиология растений. 2008. Т.55. С.312-319.
10. Grams T.E.E., Lautner S., Felle H.H., Matyssek R., Fromm J. Heat-induced electrical signals affect cytoplasmic and apoplastic pH as well as photosynthesis during propagation through the maize leaf // Plant. Cell. Environ. 2009. V. 32. P. 319–326.

IONIC NATURE OF VARIATION POTENTIAL IN HIGHER PLANTS

Vodeneev V., Katicheva L., Akinchits E., Bushueva A., Sukhov V.

Higher plants, electrical responses, variation potential, ionic nature

Generation of variation potential in the higher plants cells is associated with the appearance of the passive flow of Ca^{2+} , Cl^- , K^+ ions, and with the transient change in the activity of H^+ -ATPase. Generation of the variation potential accompanied by a temporary increase Ca^{2+} and H^+ concentration in the cytosol of cells. These changes can be the basis of the converting an electric signal into a functional response.

**СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ
ДЫХАТЕЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА В ХВОЕ *PINUS SYLVESTRIS* L.
ЛЕСНЫХ И БОЛОТНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ**

Войцековская С.А.^{1,2}, Астафурова Т.П.², Верхотурова Г.С.²

¹ФГБОУ ВПО «Томский государственный педагогический университет», ул. Киевская, 60 А,
г. Томск, 634061, Россия, E-mail: euvit@bk.ru

²ФГБОУ ВПО «Национальный исследовательский Томский государственный университет»,
пр. Ленина, 36, г. Томск, 634050, Россия, E-mail: euvit@bk.ru

Pinus sylvestris, болотные экосистемы, активность ферментов, дыхательный метаболизм, цикл трикарбоновых кислот, окислительный пентозофосфатный цикл

Введение

Исследования по проблеме адаптации растительных организмов к изменению окружающей среды приобретают большое значение в связи с ухудшением общего экологического состояния биосферы. Болота и заболоченные земли занимают более 20 % территории России. Болотные экосистемы играют ключевую роль в глобальных процессах связывания углерода и регенерации кислорода, поддержания водного баланса, сохранения биологического разнообразия на обширных территориях [1]. Среди разнообразных экологических факторов, оказывающих воздействия на растения болотных экосистем, ведущим в условиях обильного застойного увлажнения является недостаток кислорода. В условиях дефицита кислорода метаболические способы адаптации растений касаются, прежде всего, процесса дыхания, что объясняется спецификой воздействия, и изучены в большей степени для корневой системы. Адаптация растений к условиям гипоксии реализуется двумя способами: путем избегания анаэробноза благодаря дальнему транспорту кислорода и в ходе биохимической адаптации [2], в том числе в ассимилирующих органах.

Сосна обыкновенная является одним из важнейших продуцентов как лесных, так и болотных экосистем. Ранее было показано, что в хвое болотной сосны изменялся уровень фотосинтетических пигментов и активировались процессы анаэробного дыхательного обмена [3]. Возрастание активности ферментов гликолиза и спиртового брожения наблюдали в надземных органах семян лиственницы сибирской при затоплении корней [4].

Целью данной работы являлось сравнительное исследование активности ключевых ферментов разных дыхательных путей в хвое сосны обыкновенной болотных и лесных популяций.

Материалы и методы

Исследования проводились на двухлетней развитой хвое сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L., семейство *Pinaceae*) из болотных и лесных естественных экосистем в различных районах Томской области. Исследованные объекты произрастали в разных биоценозах соснового бора (1, 2) и на территории болотных экосистем низинного и верхового типа. Для определения содержания белка и активности ферментов производили гомогенизацию растительных тканей при пониженной температуре в среде следующего состава: трис-НСI буфер (50 мМ, рН 7,8), аскорбат натрия (5 мМ), цистеин (3 мМ), MgCl₂·6H₂O (1 мМ) и ДТТ (5 мМ). Гомогенат центрифугировали при 20 000 g в течение 20 мин при 4° С. Активность ферментов измеряли в супернатанте спектрофотометрически при 340 нм (Shimadzu UV-1650 pc UV-spectrophotometer, Shimadzu Corp., Япония) в окислительно-восстановительных превращениях НАД или НАДФ. О включении отдельных метаболических путей судили по изменениям в активности их ключевых ферментов. О функционировании заключительного этапа цикла трикарбоновых кислот судили по изменениям в активности НАД-малатдегидрогеназы (КФ 1. 1. 1. 37) в среде: трис-НСI буфер (50 мМ, рН 9,1), малат Na (1,93 М) и НАД (11 мМ). Работу окислительного пенто-

зофосфатного цикла изучали по активности ключевого фермента глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (КФ 1. 1. 1. 49). Реакционная смесь содержала трис-НСl буфер (30 мМ, рН 7,4), глюкозо-6-фосфат Na соль (0,12 мМ), MgCl₂·6H₂O (0,25 М) и НАДФ (11 мМ) [5]. Полученные данные выражали в единицах ферментативной активности на 1 мг белка.

Обработку результатов проводили статистически с помощью компьютерных программ Excel и Statistica 6.0. В таблицах приведены средние арифметические и их среднеквадратичные отклонения.

Результаты и обсуждение

Проведённые исследования показали, что в двухлетней хвое сосны из болотных экосистем возрастала активность фермента заключительного этапа цикла трикарбоновых кислот – НАД-малатдегидрогеназы (табл. 1). Для растений болот низинного типа активность этого фермента в хвое была в 2 раза выше, по сравнению с сосной из лесных экосистем. Для верховых болот активность малатдегидрогеназы увеличивалась в 3 раза.

Таблица 1 - Активность НАД-малатдегидрогеназы в двухлетней хвое *Pinus sylvestris* L. разных экосистем

Table 1 - Activity of NAD-malate dehydrogenase is in the two-year pine-needle of *Pinus sylvestris* L. different ecosystems

Экосистема	Активность, мЕ/мг белка
Сосновый бор 1	5,56 ± 0,53
Болото низинное	9,22 ± 0,24
Болото верховое	15,12 ± 1,31
Примечание. Различия между экосистемами статистически значимы при $p \leq 0,05$	

В двухлетней хвое сосны низинных болот по сравнению с объектами из соснового бора в 3 раза возрастала активность ключевого энзима пентозофосфатного цикла глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, а для сосны из болотных экосистем верхового типа активность этого фермента увеличивалась в 7 раз (табл. 2).

Таблица 2 - Сравнительная характеристика активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в двухлетней хвое *Pinus sylvestris* L. экосистем соснового леса и болотных экосистем

Table 2 - Comparative description of activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase is in the two-year pine-needle of *Pinus sylvestris* L. ecosystems of pine-wood and bog ecosystems

Экосистема	Активность, мЕ/мг белка
Сосновый бор 2	1,44 ± 0,07
Болото низинное	4,09 ± 0,72
Болото верховое	9,88 ± 0,01
Примечание. Различия между экосистемами статистически значимы при $p \leq 0,05$	

Таким образом, в условиях избыточного увлажнения и недостатка кислорода для корневой системы в хвое сосны болотных экосистем усиливались дыхательные процессы. Судя по увеличению активности НАД-малатдегидрогеназы, активировался цикл трикарбоновых кислот, обеспечивая клетки энергией и метаболитами. Увеличение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы указывало на возрастание доли окислительного пентозофосфатного пути дыхания. Ускорение работы пентозофосфатного цикла является неспецифической реакцией на различные неблагоприятные воздействия. При некотором дефиците кислорода роль этого пути дыхания состоит в образовании восстановителей и интермедиатов, необходимых для биосинтезов, что экспериментально показано для ежевника, у которого НАДФН из пентозофосфатного цикла использовался для синтеза липидов [6].

Усиление работы ферментов разных дыхательных путей в большей мере было выражено для растений болотной экосистемы верхового типа, что, по-видимому, обусловлено свое-

образным сочетанием эдафических и климатических факторов, характерных для сфагновых болот. В целом, способность растений приспосабливаться к анаэробным условиям связана с перераспределением функций между фотосинтезирующими и гетеротрофными органами.

Заключение

Проведенные исследования показали, что в двухлетней хвое сосны обыкновенной в условиях дефицита кислорода для корневой системы обнаруживаются особенности дыхательного метаболизма. В хвое сосны болотных экосистем по сравнению с экосистемами соснового бора усиливалась активность ферментов разных дыхательных путей – НАД-малатдегидрогеназы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. Эта тенденция была в большей степени выражена на верховом болоте, по сравнению с низинным. Таким образом, в хвое болотной сосны активируются процессы дыхательного обмена, которые обеспечивают стратегию выживания растений в условиях корневой гипоксии.

Литература

1. Вомперский С.Э., Сирин А.А., Сальников А.А., Цыганова О.П., Валяева Н.А. Оценка площади болотных и заболоченных лесов России // Лесоведение. 2011. № 5. С. 1 – 9.
2. Vartapetian В.В., Sachs М.М., Fagerstedt К.У. Plant Anaerobic Stress. II. Strategy of Avoidance of Anaerobiosis and Other Aspects of Plant Life under Hypoxia and Anoxia // Plant Stress. 2008. V. 2. № 1. P. 1–19.
3. Войцековская С.А., Юмагулова Э.Р., Сурнина Е.Н., Астафурова Т.П. Исследование физиолого-биохимических показателей хвои сосны обыкновенной болотных и лесных популяций // Вестник Томского государственного университета. 2013. № 3. С. 111–119.
4. Романова Л.И. Метаболическая реакция сеянцев лиственницы сибирской на затопление корней // Лесоведение. 2004. № 1. С. 31–37.
5. Войцековская С.А., Сотникова Н.В., Верхотурова Г.С., Зайцева Т.А., Боровикова Г.В., Астафурова Т.П. Особенности метаболической адаптации у растений амаранта в условиях гипобарической гипоксии // Сельскохозяйственная биология. 2010. № 5. С. 106–111.
6. Чиркова Т.В. Физиологические основы устойчивости растений. СПб.: Изд-во С.-Петербург. ун-та, 2002. 244 с.

COMPARATIVE STUDY OF ACTIVITY OF ENZYMES OF RESPIRATORY METABOLISM IN PINE-NEEDLE OF *PINUS SYLVESTRIS* L. FOREST AND BOG POPULATIONS

Voitzekovskaya S.A., Astafurova T.P., Verchoturova G.S.

Pinus sylvestris, bog ecosystems, activity of enzymes, respiratory metabolism, tricarboxylic acid cycle, oxidative pentose phosphate cycle

Explored the features of respiratory metabolism in the 2-year-old needles of Scotch pine (*Pinus sylvestris* L.) natural ecosystems of pine forest, eutrophic and oligotrophic bogs. Shown increased activity of enzymes of the different respiratory ways are NAD-malate dehydrogenase and glucose-6-phosphate dehydrogenase in the needles of pine bog ecosystems, more so on oligotrophic mire, compared with eutrophic mire.

**БИОИНДИКАЦИЯ ЗАГРЯЗНЕННОСТИ АТМОСФЕРЫ УРБАНИЗИРОВАННЫХ
ТЕРРИТОРИЙ ПО КОНЦЕНТРАЦИИ ФЛАВОНОИДОВ В СОЦВЕТИЯХ
ОДУВАНЧИКА ЛЕКАРСТВЕННОГО**

Воробьев Г.В.¹, Хамидуллин А.Ф.¹, Ибрагимова К.К.¹, Архипова Н.С.¹, Елагина Д.С.¹,
Воробьев В.Н.^{1,2}

¹ФГОАУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», ул. Кремлевская, 18,
г. Казань, 420008, Россия, E-mail: VNVorobev@kpfu.ru

²ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, ул. Лобачевского 2/31,
г. Казань, 420111, Россия, E-mail: vorobyev@mail.knc.ru

флавоноиды, *Taraxacum officinale* s.l.

На сегодняшний день актуальной является разработка методов и критериев, которые могли бы адекватно отражать уровень антропогенных воздействий с учетом комплексного характера загрязнения и диагностировать ранние нарушения в наиболее чувствительных компонентах биотических сообществ. Одуванчик лекарственный широко используется в качестве тест объекта экологических исследований. Адаптивные возможности популяций одуванчика оцениваются по жизнеспособности семенного потомства, уровню сопряженности морфометрических признаков, степени перекисидации мембранных липидов [1-4].

В настоящем исследовании сделана попытка выявить различия в биохимических показателях и интенсивности фотосинтеза растений одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* s.l.) двух морфологических форм (*T. off. f. dahlstedtii* и *T. off. f. pectinatiforme*) городских ценопопуляций.

Материалы и методы

Для исследований использовали растения молодого генеративного (q1) онтогенетического состояния, которые отбирали с пробных площадок размером 10 × 40 м поделенных на три участка. Ценопопуляция № 1 рассматривалась в качестве условно-контрольной: она расположена на опушке смешанного леса, находящегося в 7 км от города и в 0,1 км от проселочной дороги (район пос. Усады). Ценопопуляции № 2 и № 3 - газоны, расположенные вблизи регулируемых перекрестков на ул. Татарстан и ул. Горьковское шоссе соответственно. Расчет выбросов автотранспорта проводился согласно «методике определения выбросов автотранспорта для проведения сводных расчетов загрязнения атмосферы городов». Согласно этим расчетам исследуемые ценопопуляции можно отнести № 2 к слабозагрязненной, а № 3 к загрязненной. Количественное определение флавоноидов в соцветиях одуванчика проводили согласно методике Беликова [5].

Результаты и обсуждение

Ранее показано, что на уровне физиологических процессов исследуемые морфологические формы в первом онтогенетическом состоянии проявляют различия в интенсивности дыхания, тепловыделения и проницаемости мембран клеток корней в зависимости от загрязненности. Эти показатели были существенно ниже у форм, произрастающих в условиях сильного загрязнения, а при сравнении двух форм более низкие показатели были у *T. off. f. Pectinatiforme* [4].

Известно, что в биомассе растений, произрастающих в зоне действия атмосферных выбросов, содержание суммы флавоноидов превышает их количество в биомассе растений контрольных участков [6]. На рис. 1 показано изменение содержания флавоноидов в соцветиях одуванчика лекарственного с увеличением загрязненности атмосферы автомобильным транспортом. Самое низкое содержание флавоноидов в соцветиях растений условно-контрольной ценопопуляции. В условиях техногенного загрязнения окружающей среды (ул. Татарстан и ул. Горьковское шоссе) содержание флавоноидов растет независимо от степени загрязненности у *T. off. f. Dahlstedtii*. Для *T. off. f. Pectinatiforme* прослеживается прямая зависимость между уровнем загрязнения и содержанием флавоноидов в соцветиях.

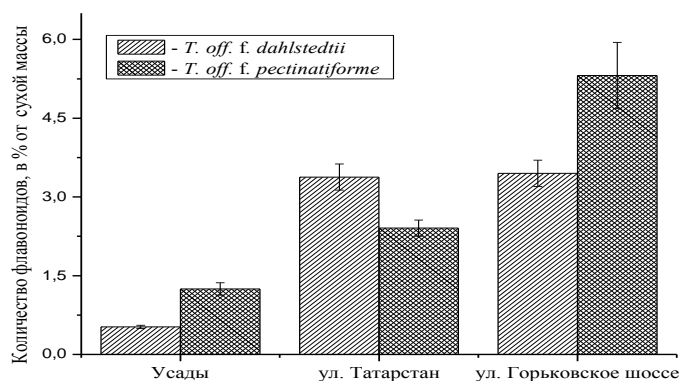


Рисунок 1 - Содержание флавоноидов в соцветиях одуванчика лекарственного двух морфологических форм *T. off. f. Dahlstedtii* и *T. off. f. Pectinatiforme* в зависимости от степени загрязнения атмосферы автомобильным транспортом

Figure 1 - The content of flavonoids in inflorescences of dandelion in two morphological forms *T. off. f. Dahlstedtii* and *T. off. f. Pectinatiforme* depending on the degree of air pollution by motor transport

Заключение

Проведенные исследования показали:

Содержание флавоноидов в соцветиях *T. off. f. Dahlstedtii* возрастает в условиях техногенного загрязнения окружающей среды независимо от степени загрязненности

Наблюдается прямая зависимость между уровнем загрязнения и содержанием флавоноидов в соцветиях *T. off. f. Pectinatiforme* в первом генеративном возрастном состоянии.

Литература

1. Безель В.С., Позолотина В.Н., Бельский Е.А., Жуйкова Т.В. Изменчивость популяционных параметров: адаптация к токсическим факторам среды // Экология. 2001. № 6. - С. 447–453.
2. Жуйкова Т.В., Безель В.С. Адаптация растительных систем к химическому стрессу: популяционный аспект // Вестник удмуртского университета. - 2009. - Вып. 1. - С. 31-42.
3. Савинов А.Б., Курганова Л.Н., Шекунов Ю.И. Интенсивность перекисного окисления липидов у *Taraxacum officinale* Wigg. и *Vicia cracca* L. в биотопах с разными уровнями загрязнения почв тяжелыми металлами // Экология. 2007. № 3. С. 191–197.
4. Воробьев Г. В., Алябьев А. Ю., Огородникова Т. И., Хамидуллин А. Ф., Воробьев В. Н. Адаптивные возможности одуванчика лекарственного в условиях загрязнения атмосферы автомобильным транспортом. // Экология. 2014. № 2. С. 91–96.
5. Беликов В.В. Оценка содержания флавонол-производных в плодах *Silybum marianum* (L) Gaertn. // Растительные ресурсы. 1985. Т.21. Вып. 3. С. 350-358.
6. Гусев Н.Ф., Немерешина О.Н. Влияние техногенного загрязнения на содержание флавоноидов в растениях семейства норичниковых Степного Предуралья // Вестник ОГУ. 2004. №10. С. 123-126.

BIOINDICATION OF IMPURITY OF THE ATMOSPHERE OF THE URBANIZED TERRITORIES ON CONCENTRATION OF FLAVONOIDS IN INFLORESCENCES OF THE DANDELION MEDICINAL

Vorob'ev G.V., Khamidullin A.F., Ibragimova K. K., Archipova N.S., Elagina D.S., Vorob'ev V.N.

Taraxacum officinale s.l., flavonoids

The dependence of the flavonoids content in inflorescences of dandelion (*Taraxacum officinale* Wigg, s.l) in two morphological forms *T. off. f. Dahlstedtii* and *T. off. f. Pectinatiforme* on the degree of atmospheric pollution by motor transport has been studied. The content of flavonoids in inflorescences *T. off. f. Pectinatiforme* increases with the increase of pollution degree.

**РЕГИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ СЕЗОННОГО ТРЕНДА ИЗМЕНЕНИЯ
АТМОСФЕРНОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ CO₂ НА УРОВНЕ КРОНОВОГО
ПРОСТРАНСТВА ДРЕВОСТОЯ В ЛЕСОСТЕПНОЙ ЗОНЕ СЕВЕРНОЙ ЕВРАЗИИ**
Воронин П.Ю.¹, Коновалов П.В.¹, Бурундукова О.Л.², Кузнецов Вл.В.¹, Седельников В.П.³

¹ ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая 35, г. Москва, 127276, Россия, E-mail: pavel@ippras.ru

² ФГБУН Биолого-почвенный институт ДВО РАН, 100-летия Владивостока, 159, г. Владивосток, 690000, Россия, E-mail: burundukova@ibss.dvo.ru

³ ФГБУН Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, Золотодолинская ул., 101, г. Новосибирск, 630090, Россия, E-mail: csbg@ngs.ru

атмосферная концентрация CO₂, сезонный тренд, лесной покров, Северная Евразия

Введение

Как известно главным динамическим резервуаром первичного связывания атмосферной CO₂ в составе органической массы на территории Северной Евразии являются бореальные леса. Однако имеющиеся к настоящему времени балансовые оценки стока и эмиссии углерода на территории бореально-гумидной лесорастительной зоны Северной Евразии носят статистически усреднённые за многие десятилетия характер [1, с. 24]. Поэтому требуется разработать количественные критерии для оценки динамики изменений этих показателей углеродного цикла при возможных сценариях изменении климата или иных катастрофических воздействиях окружающей среды. Конечно самым прямым показателем изменений стока и эмиссии углерода является показатель ежегодной продуктивности лесного покрова. Однако сам метод получения этого показателя носит характер значительного статистического усреднения за продолжительные промежутки времени в случае обработки многолетних баз данных или существенно локальных инструментальных измерений мгновенного баланса CO₂ в системе растительный покров – атмосфера. В первом случае шкала разрешения метода представляет десятилетия, а во втором случае хотя наблюдения имеют высокое разрешение балансовых показателей, но носят существенно локальный характер. Достичь приемлемой разрешающей способности в отношении изменений продукционного процесса можно было бы с помощью косвенных показателей продукционного процесса таких как многолетние сезонные тренды изменения концентрации CO₂ в приземном слое атмосферы на уровне кронового пространства древостоя. В данной работе впервые представлены многолетние региональные (Европейская часть, Западная Сибирь и Дальний Восток) тренды сезонных изменений концентрации CO₂ на уровне кронового пространства древостоя. Для лесостепной зоны Европейской части концентрация CO₂ отражает поддержание в среднем нулевого за год регионального баланса CO₂. Для лесостепи Западной Сибири сезонный баланс CO₂ смещён в сторону стока CO₂ из атмосферы. Судя по предварительным (за один год) Дальневосточный регион также выходит на нулевой региональный баланс CO₂. Таким образом, наряду с общим трендом летнего понижения атмосферной концентрации CO₂ на уровне кроны древостоя отмечена существенная региональная специфика ежегодного баланса углерода между атмосферой и биотой лесного ценоза.

Материалы и методы

Для мониторинга (непрерывных, с периодичностью 1 минута измерений) изменений концентрации CO₂ в приземном, на уровне кронового пространства древостоя слое атмосферы использовали специализированные портативные мониторы CO₂ «Carbologic» (ИЧП «Коновалов Павел Вениаминович», Россия). Чувствительный элемент монитора «Carbologic» представляет собой инфракрасный датчик CO₂ C₂O (GSS Ltd, Великобритания), размещенный на электронной плате оригинальной разработки совместно с накопительной флэш-картой.

Методической особенностью применённой измерительной процедуры ИК-газоанализа были синхронный инструментальный непрерывный мониторинг атмосферной концентрации CO₂ в трёх дистантно-удалённых географических точках: Главный ботанический сад РАН (г. Москва), Центральный сибирский ботанический сад СО РАН (г. Новосибирск) и Биолого-почвенный институт ДВО РАН (г. Владивосток). Значительная удаленность мест мониторинга друг от друга обеспечивала автоматическую фильтрацию случайных колебаний концентрации CO₂ [2] и тем самым выявляла сезонно-устойчивый трансконтинентальный тренд региональных изменений содержания атмосферной углекислоты в связи с фотосинтезом лесного покрова.

Результаты и обсуждение

Отражая региональные особенности углекислотного баланса 2010-2013 г.г. снижение концентрации CO₂ от зимнего к летнему периоду в Европейской части и на Дальнем Востоке проходило от уровня около 400 ppm, а в Азиатской части континента от примерно 300 ppm (рис. 1).

При этом во всех регионах к началу летнего сезона концентрационный уровень CO₂ в атмосфере достигал почти 200 ppm. Таким образом, сезонный ход изменений атмосферной концентрации CO₂ в за период с 2010 по 2013 гг. в Европейской и в Азиатской частях континента представлял хорошо выраженный минимум летнего периода, отражающий значительный трансконтинентальный вклад фотосинтеза растительного покрова в баланс CO₂ на уровне кронового пространства.

Устойчивыми закономерностями сезонной изменчивости атмосферной CO₂ были заметное относительное понижение концентрации CO₂ с конца весны до середины лета (май – июль) и повышение концентрации CO₂ в конце лета начале осени (август – сентябрь). К концу осени – началу зимы концентрация CO₂ в приземном слое проявляла тенденцию к понижению до уровня 270-350 ppm. Таким образом, можно сделать главный вывод, что концентрация CO₂ на уровне кронового пространства древостоя является переменной в течение года величиной, отражающей подвижный баланс энерго- и массо- обмена между почвой и атмосферой.

Среди возможных действующих причин сезонных изменений концентрации CO₂ в приземном на уровне кронового пространства можно выделить: 1) Фотосинтез (летнее понижение концентрации CO₂); 2) Почвенное дыхание (весенне-летнее повышение концентрации CO₂) и 3) Осадки осеннего периода (осеннее понижение концентрации CO₂ за счёт растворения атмосферной CO₂ в дождевой воде и перенос её в почву). Для уточнения вклада в итоговый баланс CO₂ в почвенно-атмосферной системе каждого из этих крупномасштабных процессов континентального углеродного и водного обмена необходимо продолжать наблюдения в длительных временных рядах как за концентрацией CO₂, так и за основными гидрометеорологическими параметрами – сезонными трендами осадков и температуры почвы.

Выводы

Для лесостепной зоны Европейской части концентрация CO₂ в среднем за сезон была на уровне 350±50 ppm (n=4), отражая поддержание в среднем нулевого за год регионального баланса CO₂. Для лесостепи Западной Сибири среднее за сезон значение CO₂ было около 314±30 ppm (n=4) ppm и видимо свидетельствовало в пользу того, что региональный сезонный баланс CO₂ смещён в сторону стока CO₂ из атмосферы. Судя по предварительным (за один год) среднесезонным данным (350 ppm) Дальневосточный регион также выходил на нулевой региональный баланс CO₂. Таким, образом, представленные данные наряду с общим для всех регионов трендом летнего понижения атмосферной концентрации CO₂ на уровне кронового слоя древостоя отражают существенную региональную специфику ежегодного баланса углерода между атмосферой и лесной биотой.

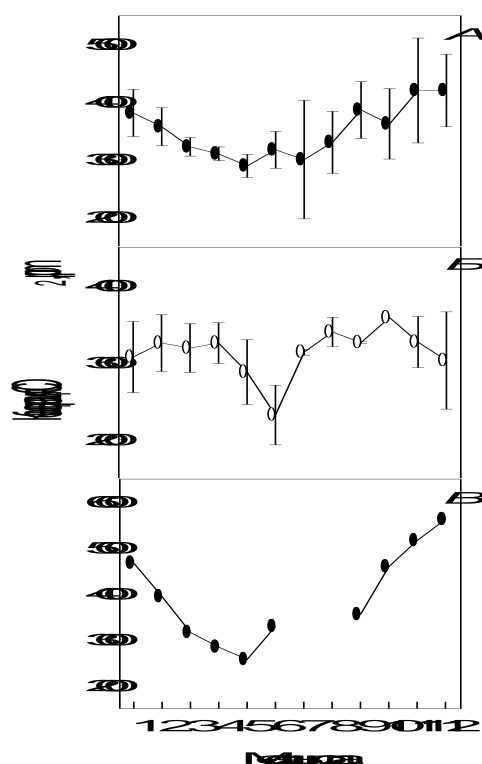


Рисунок 1 - Сезонные тренды изменения концентрации CO₂ в атмосфере на уровне кронового пространства древостоя на территории, прилегающей к Главному ботаническому саду РАН (г. Москва) (А), к Центральному сибирскому ботаническому саду СО РАН (г. Новосибирск) (Б) и на прибрежной территории (Биолого почвенный институт ДВО РАН, г. Владивосток) (В)

Figure 1 - Seasonal trend of atmospheric CO₂ at crown level for forest-stand on the territory of The Head Botany Garden of Russian Academy of Sciences (Moscow) (A), The Central Siberian Botany Garden of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences (Novosibirsk) (Б) and The Biology and Soil Institute of Far-East Branch of Russian Academy of Sciences (Vladivostok) (B)

Литература

1. Кудеяров В.Н., Заварзин Г.А., Благодатский С.А. и др. Пулы и потоки углерода в наземных экосистемах России / Отв. ред. Г.А. Заварзин. М.: Ин-т физ.-хим. и биол. проблем почвоведения РАН, 2007. 315 с.

2. Валлен К.-Х. Мониторинг концентрации атмосферного CO₂. / Углекислый газ в атмосфере. Ред. В. Бах и др. М.: Мир. 1987. С. 15-42.

REGIONAL SPECIFICITY OF THE ATMOSPHERIC CO₂ SEASONAL TREND ON CROWN LEVEL OF THE FORESTSTAND FOR FOREST-STEPPE ZONE IN NORTH EURASIA

Voronin P.Yu., Konovalov P.V., Burundukova O.L., Kuznetsov V.I., Sedelnikov V.P.

atmosphere CO₂, seasonal trend, forest-stand, North Eurasia

Specificity of the North Eurasian transcontinental regional seasonal trend of the atmospheric CO₂ reveals the positive annual sequestration of the atmospheric carbon by East Siberian forests.

**ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ PR-БЕЛКОВ В РАСТЕНИИ ОГУРЦА ПРИ ОСВЕЩЕНИИ
УЗКОПОЛОСНЫМИ ИСТОЧНИКАМИ СВЕТА (СВЕТОДИОДАМИ)**

Вязов Е.В.

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, ул. Академическая, 27,
г. Минск, 220072, Республика Беларусь, E-mail: viazau@yahoo.com

защитная система, PR-белки, светодиоды

Введение

Группа растительных белков, названных PR-белками (pathogenesis-related proteins), играет важную роль в защите растения от действия патогенов и в общей адаптации к стрессовым факторам окружающей среды. PR-белки являются участниками сигнальных систем, катализируют образование молекул вторичных мессенджеров (салициловая, жасмоновая и абсцизовая кислота, этилен). Они являются антимикробными компонентами, укрепляют клеточные стенки растения и способны вызывать повреждения клеточных стенок и цитоплазматических мембран патогенов. На данный момент известно более пятнадцати групп PR-белков, обнаруживаемых в растительных организмах, из которых белок PR-1 характеризуется наибольшим содержанием (до 1-2% от всего имеющегося белка). Однако функции белков PR-1 до сих пор не вполне ясны [1]. Особый интерес вызывает белок PR-8, который обладает лизоцимной активностью (разрушает клеточную стенку бактерий). Гены, кодирующие белки PR-1 и PR-8, экспрессируются как индуцибельно, в ответ на действие патогенов, так и конститутивно, причём уровень конститутивной экспрессии меняется в ходе онтогенеза растения и зависит от длины волны используемого света [1, 2]. С использованием растений огурца показано, что при их освещении узкополосными источниками света – красными светодиодами (629 нм), экспрессия генов, ответственных за синтез PR-1 белков, была выше, а под синими светодиодами (453 нм) – ниже контроля [3]. Для PR-8 такие исследования на огурцах ранее не проводились. Целью настоящей работы стало изучение уровня экспрессии генов, кодирующих белки PR-1 и PR-8, при освещении растений огурцов светодиодами с разными спектральными полосами излучения.

Материалы и методы

Растения огурца выращивали под белым светом в режиме 14 ч света и 10 ч темноты до появления первого листа. Затем, до полного развития первого листа (в течение 8 сут), растения с таким же фотопериодом освещали светильниками с синими (≈ 459 нм, вариант «Синий») или красными (≈ 635 нм, вариант «Красный») светодиодами, либо светильниками, содержащими одновременно красные и синие светодиоды в соотношении 2:1 соответственно (вариант «Кр.+Синий»), а также одновременно синие, красные и жёлтые (≈ 590 нм) светодиоды (вариант «Кр.+Син.+Ж»). Контролем служили растения огурцов, выращенные в указанном выше световом режиме и далее с таким же фотопериодом освещаемые в течение 8 сут белым светом люминесцентной лампы Philips TL-D 36W/765 (вариант «Белый»). Все указанные светильники были выравнены по интенсивности освещения. Пробы составляли, используя первый лист. Экспрессию генов PR-1 и CH12, кодирующих белки PR-1 и PR-8 соответственно, определяли с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) [4] с использованием Taq-полимеразы («Thermo Scientific», Литва) и олигонуклеотидных праймеров (табл. 1), рассчитанных в программе «Vector NTI». В качестве гена-нормализатора использовался ген 18S rRNA. Продукты ПЦР разделяли в ходе электрофореза в агарозном геле, далее окрашивали красителем «SYBR Green» и количественно анализировали в программе «TotalLab v.2.01».

Результаты и обсуждение

Во всех изученных вариантах, в том числе и в контрольном, было зарегистрировано наличие ампликонов для генов PR-1 и CH12 (рис. 1 А, Б). При этом уровень экспрессии гена PR-1 был наиболее высоким в контроле, т.е. при использовании белого света. В вариантах с использованием светодиодов с красным светом и при сочетанном действии красных и синих светодиодов уровень экспрессии гена PR-1 приближался к контролю (рис. 2, А, варианты «Красный», «Кр.+Синий»).

Таблица 1 - Нуклеотидные последовательности использованных праймеров

Table 1 - The nucleotide sequences of the primers used

Белок	Ген	Прямой праймер	Обратный праймер
PR-1	PR-1	GACGCCTCAACGACTGTAGG	CAGCCGCACATGTATTGGTC
PR-8	CHI2	CCGACGATGCGAAACAAGTC	AGCTGAGCGTCTGGTATTGG
-	18S rRNA	ATGATAACTCGACGGATCGC	CTTGGATGTGGTAGCCGTTT



Рисунок 1 - Электрофореграммы продуктов ПЦР с праймерами для генов PR-1 (А) и CHI2 (Б), кодирующих белки PR-1 и PR-8 соответственно, и для гена-нормализатора 18S rRNA (18S). Варианты см. в тексте

Figure 1 - Electrophoregrams of products of PCR with use of primers for PR-1 (А) and CHI2 (Б) genes coding PR-1 and PR-8 proteins, respectively, and for 18S rRNA normalizer gene (18S). Options see in text

Анализ ПЦР-продуктов показал, что в отличие от гена PR-1, для гена CHI2 регистрируется низкий уровень экспрессии практически во всех опытных вариантах (рис. 2, Б). При этом в вариантах с большой долей красного света уровень экспрессии гена CHI2 оказался несколько ниже, чем при использовании синего света. По-видимому, для нормальной экспрессии гена CHI2, кодирующего белок PR-8, необходимо освещение с несколькими спектральными полосами, включая синий свет. Вероятно, отдельные спектральные полосы запускают разные регуляторные механизмы (в т.ч. задействующие фототропины, криптохром, фитохром), вызывающие изменения в экспрессии генов PR-белков, аналогичные происходящим на различных стадиях онтогенеза растения и патогенеза.

Светильники, состоящие из красных и синих светодиодов, нашли практическое применение в сельскохозяйственном производстве в качестве основного освещения и досветки при выращивании растений в закрытом грунте [5]. По нашему мнению, длительное использование таких осветителей может снижать устойчивость растений к патогенам. Для подтверждения данного вывода безусловно необходимо провести дополнительные эксперименты по влиянию светодиодного освещения разного спектрального состава на уровень экспрессии других PR-белков, а также активность других компонентов иммунной системы растительного организма.

Закключение

Полученные результаты показывают, что освещение растений огурца узкополосными источниками света с разными спектральными полосами излучения модифицирует экспрессию генов PR-1 и CHI2, ответственных за синтез белков, связанных с ответом на действие патогенов – PR-1 и PR-8 соответственно. Высокая доля красного света при освещении приводит к повышению уровня экспрессии гена PR-1 почти до контрольного уровня, однако

негативно сказывается на экспрессии гена CH12, что указывает на важную роль красного света для экспрессии гена PR-1. Для нормальной экспрессии гена CH12 необходимо освещение с несколькими спектральными полосами, включая синий свет. Полученные результаты следует учитывать при практическом использовании светодиодных осветителей, состоящих из красных и синих светодиодов.

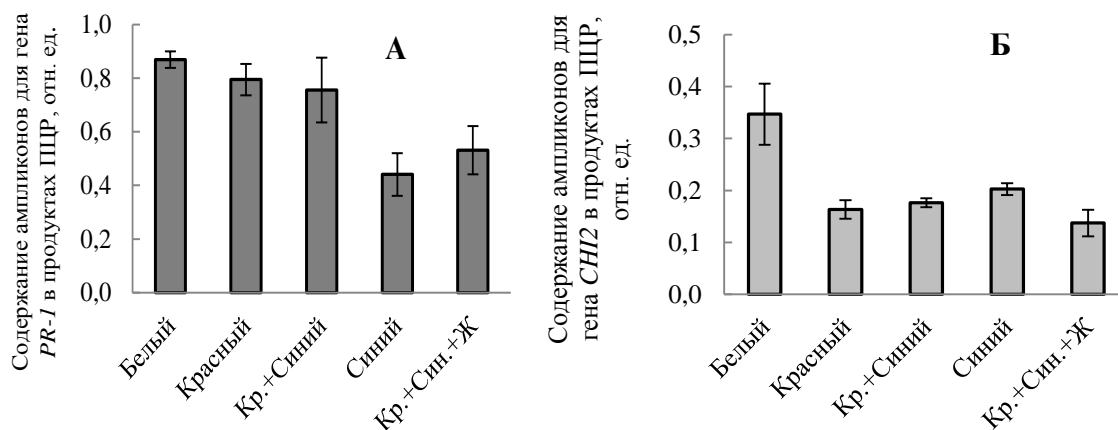


Рисунок 2 - Экспрессия генов белков PR-1 (А) и PR-8 (Б) в листьях огурца при светодиодном освещении (варианты «Красный», «Кр.+Синий», «Синий», «Кр.+Син.+Ж») и освещении люминесцентной лампой (вариант «Белый»)

Figure 2 - Gene expression of PR-1 (A) and PR-8 (B) proteins in the leaves of cucumber under LEDs (options "Красный" - Red, "Кр.+Синий" - Red+Blue, "Синий" - Blue, "Кр.+Син.+Ж" - Red+Blue+Yellow) and under a fluorescent lamp (option "Белый")

Литература

1. Edreva, A. Pathogenesis-related proteins: research progress in the last 15 years / A. Edreva // Gen. Appl. Plant Physiology, 2005. – Vol. 31. – P. 105-124.
2. Lawton, K.A. Regulation of Cucumber Class III Chitinase Gene Expression / K.A. Lawton [et al.] // Molecular Plant-Microbe Interactions, 1994. – Vol. 7, №1. – P. 48-57.
3. Wang H. Light quality affects incidence of powdery mildew, expression of defence-related genes and associated metabolism in cucumber plants / H. Wang [et al.] // Eur J Plant Pathol., 2010. – Vol. 127. – P. 125-135.
4. Падутов, В.Е. Методы молекулярно-генетического анализа / В.Е. Падутов, О.Ю. Баранов, Е.В. Воропаев. – Минск: Юнипол, 2007. – 176 с.
5. Бахарев И. Применение светодиодных светильников для освещения теплиц: реальность и перспективы / И. Бахарев [и др.] // Современные технологии автоматизации. – 2010. - № 2. – С. 76-82.

GENE EXPRESSION OF PR-PROTEINS IN CUCUMBER PLANTS UNDER NARROWBAND LIGHT SOURCES (LEDs)

Viazau Y.V.

protective system, PR-proteins, LEDs

The results show that light-emitting diodes (LEDs) lighting modifies gene expression of pathogenesis-related proteins PR-1 and PR-8 in cucumber. Red light increases the expression level of PR-1 gene to almost the control level. For normal gene expression of PR-8 protein, lighting with multiple spectral bands including blue light is needed. The results should be taken into account in the practical use of LED fixtures consisting of red and blue LEDs.

**ДЕЙСТВИЕ НИТРАТОВ НА УГЛЕВОДНЫЙ ОБМЕН
РАСТЕНИЙ *BETULA PENDULA* ROTH**

Галибина Н.А., Новицкая Л.Л., Софронова И.Н.

ФГБУН Институт леса КарНЦ РАН, Пушкинская, 11, г. Петрозаводск, 185910, Россия,
E-mail: galibina@krc.karelia.ru*карельская береза, аномальный морфогенез, действие нитратов, сахарозосинтаза, инвертазы, сахара*

Проведенные ранее исследования позволили впервые на растениях карельской березы выявить метаболические причины, приводящие к отклонению от нормального морфогенеза тканей ствола. Было показано, что нарушение процессов дифференциации материнских клеток ксилемы и флоэмы у карельской березы связаны с изменением соотношения активностей инвертазы (Инв) и сахарозосинтазы (СС) [2]. В аномальных местах низкая активность СС в ксилеме в период активного роста приводит к избыточному накоплению сахарозы во флоэме и выходу ее в апопласт. В результате интенсивной метаболизации сахарозы по инвертазному пути накапливаются гексозы, которые через экспрессию ряда генов [8] могут приводить к отклонению в деятельности камбия и, усиливая синтез запасных метаболитов, способствуют превращению камбиальных производных в клетки запасной паренхимы. У растений с нормальным строением древесины высокая активность СС в ксилеме в период активного роста способствует интенсивному оттоку сахарозы из флоэмы в камбиальную зону, где в результате ее метаболизации по сахарозосинтазному пути, что минимизирует гексозо-зависимый сигналинг сахаров, появляется большое количество УДФ-глюкозы, идущей на синтез компонентов клеточных стенок ксилемы. Изменение степени узорчатости древесины ствола в ряду растений карельской березы (сильный узор – средний узор – слабый узор) коррелирует у них со снижением метаболизации сахарозы по инвертазному пути и увеличением ее метаболизации в тканях ксилемы по сахарозосинтазному пути.

Помимо сахаров для нормального роста растения и увеличения его продуктивности необходимы нитраты, которые не только индуцируют путь ассимиляции азота, но и могут перепрограммировать углеродный метаболизм в направлении создания более благоприятных условий для этой ассимиляции [6,7,9]. Результаты многолетних исследований условий произрастания карельской березы позволили установить, что ее ареал не распространяется на плодородные почвы [4]. Данная работа посвящена изучению влияния избытка нитрата калия на метаболизацию сахарозы в тканях ствола у растений березы повислой, различающихся по текстуре древесины.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования были 7-летние деревья обычной березы повислой (*Betula pendula* Roth var. *pendula*) и карельской березы (*B. pendula* var. *carelica*) с проявившимися признаками структурных аномалий. Опытные растения были обработаны 50 мМ раствором нитрата калия. Отбор и фиксация растительного материала проводили в период активного флоэмного транспорта ассимилятов к камбиальной зоне и ксилеме (2-3 июля 2012 года). Весь растительный материал сразу замораживали в жидком азоте и впоследствии хранили в низкотемпературной морозильной камере при – 80°C. Содержания растворимых углеводов в тканях определяли методом ВЭЖХ (высокоэффективная жидкостная хроматография) Активности АпИнв и СС определены, как описано в статье [2].

Результаты и обсуждение

Во флоэме контрольных деревьев активности АпИнв и СС у карельской березы были выше, по сравнению с обычной березой повислой (рис. 1), что согласуется с нашими ранними исследованиями [2]. В этот период основная функция флоэмы – проведение метаболитов

к акцепторам (тканям камбиальной зоны и дифференцирующей ксилеме). У карельской березы на фоне высокой активности АпИнв количество сахарозы было примерно в 2 раза меньше, по сравнению с обычной формой березы повислой, что может свидетельствовать об активной метаболизации сахарозы во флоэме карельской березы.

Добавление нитратов у обычной березы не приводит к значимым изменениям содержания сахаров и активностям инвертазы, достоверно возрастает только активность СС. В работах Р.К. Брусковой с соавторами [1,3] показано, что добавление в питательную среду нитрата калия приводит к увеличению активности СС в корнях растений гороха, органах, потребляющих сахарозу. Авторы предполагают, что стимулирование нитратом активности СС могло быть реализовано через синтез белка СС *de novo*.

У карельской березы, на фоне увеличения активности СС, происходит увеличение активностей всех форм инвертаз, что может свидетельствовать об увеличении метаболизации сахарозы в тканях флоэмы в условиях повышения нитратов. Предположение об увеличении активности АпИнв при повышенной подкормке растений нитратами неоднократно высказывалось в работах В.И. Чикова с соавторами [6,7].

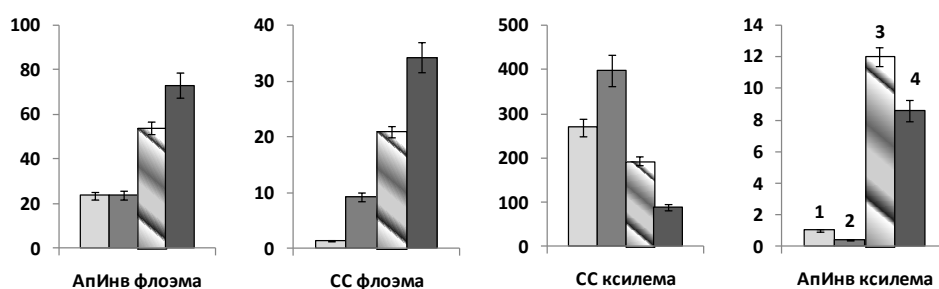


Рисунок 1 - Активности ферментов метаболизации сахарозы ($\mu\text{моль}$ распавшейся сахарозы на г сырой ткани) в тканях ствола контрольных (1, 3) и обработанных азотными удобрениями (2, 4) деревьев *B. pendula var. pendula* (1, 2) и *var. carelica* (3, 4).

Figure 1 - Activity of enzymes of sucrose metabolisation ($\mu\text{mol} / \text{g FW}$) in trunk tissues of *B. pendula var. pendula* (1, 2) and *var. carelica* (3, 4). Control trees (1, 3) and effect of nitrate (2, 4).

Изучение соотношения сахароза / гексозы в тканях флоэмы у двух форм растений березы повислой не выявило отличий в этом показателе у контрольных и опытных растений. При этом отношение дисахарида к моносахарам во флоэме обычной березы повислой было в 2 раза выше, чем у карельской березы, как в опыте, так и в контроле. Эти данные опять указывают на то, что у обычной березы повислой флоэма в основном участвует в проведении сахарозы к акцепторам, тогда, как у карельской березы уже во флоэме происходит активное включение сахарозы в запасные продукты.

В тканях ксилемы у контрольных деревьев *var. pendula* преобладала метаболизация сахарозы по сахарозосинтазному пути, в то время как у *var. carelica* – по инвертазному пути (рис. 1). В ксилеме соотношение сахаров существенно отличалось от такового в других тканях. Количество моносахаров было выше, чем сахарозы, особенно у *var. pendula*, при этом преобладало содержание фруктозы (в 3 раза), что свидетельствует о существенной роли сахарозосинтазного пути метаболизации сахарозы в ксилеме.

Внесение избыточного количества нитрата калия в почву повлияло на активности ферментов метаболизации сахарозы. У обычной березы повислой активность АпИнв снизилась и возросла активность СС (рис. 1). При этом содержание сахарозы уменьшилось, а количество фруктозы несколько увеличилось. У карельской березы в ксилеме после внесения нитратов также снижается активность АпИнв, но при этом существенно уменьшалась активность и СС. Снижение активности ферментов сопровождается увеличением количества сахарозы.

В тканях ксилемы, в отличие от флоэмы, действие нитратов привело к изменению отношения гексозы/сахароза. Так, у обычной березы этот показатель увеличивается в 2 раза,

что согласуется с возрастанием синтетических процессов и увеличением активности СС, у карельской березы, напротив, отношение гексозы/сахароза уменьшается, в связи со снижением метаболизации сахарозы в тканях в условиях повышения нитратного аниона.

Заключение

Полученные данные показывают, что действие нитратов у *B. pendula* var. *pendula* стимулировало включение сахарозы в сахарозосинтазный путь метаболизации, направленный, по всей видимости, на формирование структурных элементов. У *B. pendula* var. *carelica* высокие дозы азотного удобрения приводили к подавлению обоих ферментов (АпИнв и СС) со стороны древесины и их активизации со стороны коры. Изменения в метаболическом статусе древесины карельской березы, с одной стороны, приводят к сильному сокращению ее приростов, с другой, к уменьшению в ней количества паренхимы, т.е. снижают ее декоративные качества и, вероятно, препятствуют естественному распространению карельской березы на плодородных почвах.

Литература

1. Брускова Р.К., Никитин А.В., Сацкая М.В., Измайлов С.Ф. Действие нитрата на активность сахарозосинтазы растений гороха // Физиология растений. 2009. Т.56. № 1. С.85-91.
2. Галибина Н.А., Красавина М.С., Новицкая Л.Л., Софронова И.Н. Ферменты метаболизации сахарозы при формировании аномалий карельской березы // Структурные и функциональные отклонения от нормального роста и развития растений под воздействием факторов среды: Материалы международной конференции. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН. 2011. С. 79 – 84.
3. Никитин А.В., Брускова Р.К., Измайлов С.Ф. Действие аммония на сахарозосинтазу гороха *Pisum sativum* L. // Физиология растений. 2010. Т. 57. С. 76-80.
4. Новицкая Л.Л. Карельская береза: механизмы роста и развития структурных аномалий. - Рос. акад. наук, Карел. науч. центр, Ин-т леса, Петрозаводск, 2008. - 144 с.
5. Batasheva S.N., Abdrakhimov F.A., Bakirova G.G., Chikov V.I. Effect of nitrates supplied with the transpiration flow on assimilate translocation // Russian Journal of Plant Physiology. 2007. Vol. 54. No. 3. P. 373–380.
6. Chikov V.I., Avvakumova N.Yu., Bakirova G.G. Postphotosynthetic utilization of labeled assimilates in fiber flax // Biology Bulletin. 2003. Vol. 30. No. 4. P. 377–382.
7. Chikov V.I., Bakirova G.G. Role of the apoplast in the control of assimilate transport, photosynthesis, and plant productivity // Russian Journal of Plant Physiology. 2004. Vol. 51. No. 3. P. 420–431.
8. Koch K.E. Sucrose metabolism: regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development // Curr. Opin. Plant Biol. 2004. Vol. 7. P. 235 – 246.
9. Wang R., Guegler K., Labrie S.T., Crawford N.M. Genomic analysis of a nutrient response in *Arabidopsis* reveals diverse expression patterns and novel metabolic and potential regulatory genes induced by nitrate // Plant Cell. 2000. Vol. 12. P. 1491–1509.

EFFECT OF NITRATES ON CARBOHYDRATE METABOLISM OF PLANT *BETULA PENDULA* ROTH

Galibina N.A., Novitskaya L.L., Sofronova I.N.

curly birch, abnormal morphogenesis, effect of nitrates, sucrose synthase, invertases, sugars

Influence of nitrate on sucrose synthase and invertase in Karelian birch had investigational. The high doses of nitric fertilizer resulted in suppression of both enzymes (ApInv and SS) from the side of wood and their activation from the side of bark. Change in metabolic status of wood of the Karelian birch result to reduce her decorative internals.

АДАПТИВНЫЕ ПЕРЕСТРОЙКИ ДЫХАТЕЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА ПРОРОСТКОВ ГОРОХА ПОСЛЕ СОВМЕСТНОГО ДЕЙСТВИЯ ЗАСУХИ И УМЕРЕННОГО ХОЛОДА

Генерозова И.П., Шугаев А.Г.

ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая 35, г. Москва, 127276, Россия, E-mail: igenerozova@mail.ru

проростки гороха, совместное действие неблагоприятных факторов, рост эпикотилей, митохондрии, окисление дыхательных субстратов, окислительный стресс

Введение

В условиях естественной среды обитания на растения одновременно действуют разные экологические факторы. Среди них доступность воды является одним из основных жизненно важных условий выживания растений. Похолодание в условиях засухи может усилить неблагоприятное влияние дефицита воды, но может и создать обстановку для адаптации к более сильному действующему фактору и тем самым вызвать закалку растений к неблагоприятным воздействиям. Энергетический метаболизм, в частности, функционирование митохондрий, находится в центре адаптационных перестроек обмена веществ под влиянием неблагоприятных воздействий [1]. Следствием нарушения работы электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) митохондрий может стать увеличение генерации активных форм кислорода (АФК). Одним из основных источников АФК при стрессе являются митохондрии [2]. Окисление митохондриями разных субстратов дыхания дает разный энергетический эффект. Это обусловлено включением в работу разных дыхательных комплексов ЭТЦ митохондрий. Показано, что выключение или подавление активности I или II комплекса митохондрий отражается на обмене веществ всего растения, и даже на его росте [3, 4]. В связи с этим, мы поставили цель: выявить взаимодействие окисления субстратов митохондриями с ростом проростков после совместного действия абиогенных факторов - умеренного холода и засухи. Адаптационные способности проростков оценивали также по накоплению в тканях эпикотилей МДА - маркера окислительного стресса.

Материалы и методы

В работе использовали семена гороха (*Pisum sativum* L., сорт Флора-2). Проростки выращивали в темноте при температуре 25°C на влажной фильтровальной бумаге. Затем 2-дневные проростки помещали на 1 день на сухую фильтровальную бумагу, либо переносили в камеру на температуру 15°C, либо применяли оба воздействия одновременно. Затем после 2 дней восстановления в контрольных условиях водного и температурного режима исследовали дыхательный метаболизм митохондрий, выделенных из эпикотилей, а также измеряли рост проростков и содержание МДА в тканях эпикотилей. Контролем служили 5-дневные проростки.

Митохондрии выделяли методом, описанным ранее [5]. Скорость окисления дыхательных субстратов определяли полярографическим методом [5]. Образование МДА в ткани эпикотилей определяли по Hodge et al. [6]. Результаты представляют среднее арифметическое из 3 экспериментов и стандартное отклонение (\pm SD).

Результаты и обсуждение

Из данных (рис. 1), видно, что скорость окисления малата в состоянии 3 сильнее снижалась при неблагоприятных воздействиях, чем сукцината. После действия засухи и умеренного холода + засухи ингибирование скорости окисления малата митохондриями составляло 74-75%, а после действия холода – 50%. Скорость окисления сукцината снижалась после засухи на 50%, а в вариантах с умеренным холодом и холодом +засухой - только на 25-28%. Результаты могут свидетельствовать о различиях в чувствительности дыхательных комплексов I и II к неблагоприятным воздействиям. Ранее большая чувствительность к окислительному стрессу комплекса I по сравнению с комплексом II была показана на митохондриях культуры клеток арабидопсиса [7].

После совместного действия абиотических факторов окисление малата подавлялось так же, как и при засухе, т.е. оно не реагировало на дополнительное действие умеренного холода. Окисление сукцината, напротив, не реагировало на дополнительное влияние засухи и возрастало в условиях совместного действия двух факторов по сравнению с действием одной только засухи. Это может свидетельствовать, во-первых, о том, что совместное действие нескольких факторов принципиально отличается от действия каждого из них в отдельности. Во-вторых, проявляемая в условиях совместного действия разная чувствительность метаболических путей окисления субстратов к абиотическим воздействиям может свидетельствовать о разных функциональных нагрузках, выполняемых I и II митохондриальными комплексами при стрессах. Стимуляцию окисления сукцината в условиях холода ранее показали Yin et al (2009) [8] у прорастающих проростков сои. О специфической роли окисления митохондриями различных субстратов для метаболизма проростков при стрессах свидетельствует также то, что, как видно при сравнении рис. 1 и 2, малат окислялся более интенсивно в условиях, более благоприятных для роста проростков, тогда как окисление сукцината, по-видимому, поддерживало метаболизм дыхательной системы в условиях подавления роста и пониженной потребности клеток в энергии. Отметим, что дыхательный контроль после совместного действия факторов при окислении малата был больше 3, тогда как при окислении сукцината составлял 1,6.

Содержание МДА в тканях проростков также свидетельствует об адаптивном характере роста сукцинатного дыхания после сильных неблагоприятных воздействий (рис. 2). В нашем случае отношение скорости окисления сукцината/малата возрастало в варианте умеренный холод + засуха, и именно в этом случае повышение содержания МДА было незначительным. Источником АФК в ЭТЦ считают комплексы I, II и III, причем комплексу II может принадлежать ключевая роль в образовании АФК, влияющих на защиту от стрессов путем регуляции стрессорных генов [9].

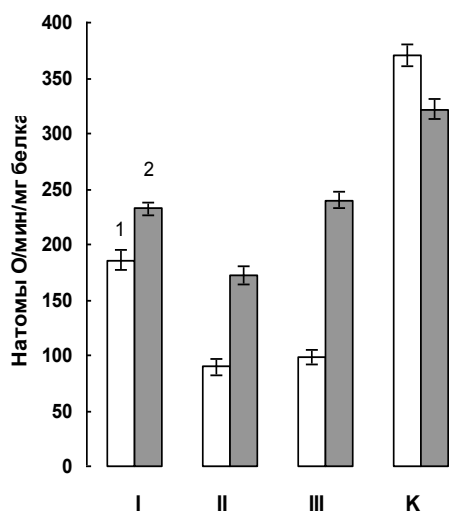


Рисунок 1 - Скорость окисления малата +глутамата (1) и сукцината+глутамата (2) митохондриями гороха после умеренного холода (I), засухи (II), умеренного холода + засухи (III) и в контроле (K).

Figure 1 - Rates of malate + glutamate (1) and succinate + glutamate (2) oxidation after moderate cooling (I), water deficit (II), moderate cooling + water deficit (III) and in control (K)

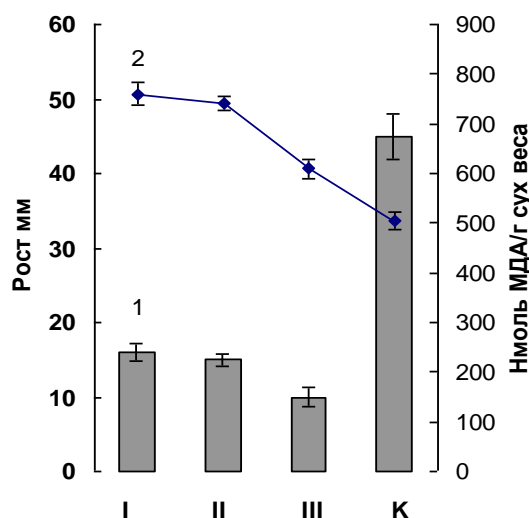


Рисунок 2 - Рост проростков (1) и содержание малонового диальдегида (МДА) (2) после умеренного холода (I), засухи (II), умеренного холода+засухи (III) и в контроле (K)

Figure 2 - Seedling growth (1) and malon- dialdehyde (MDA) content (2) after moderate cooling (I), water deficit (II), moderate cooling + water deficit (III) and in control (K)

Заключение и выводы

Сравнивая совместное и раздельное воздействие умеренного охлаждения (150) и водного дефицита на проростки гороха видно, что отношение скоростей окисления сукцината к малату выделенными митохондриями заметно возрастает после совместного действия стрессовых факторов, тогда как рост и содержание МДА заметно падает после этого воздействия. Полученные результаты позволяют предполагать, что высокое соотношение скоростей окисления сукцината/малата в этих условиях, имеет, скорее всего, адаптивный характер.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ (проект № 13-04-01828).

Литература

1. Atkin O.K., Macherel D. The Crucial Role of Plant Mitochondria in Orchestrating Drought Tolerance // *Ann Bot.* 2009. V. 103. P. 581-597.
2. Rhoads D.M., Umbach A.L., Subbaiach C.S., Siedov J.N. Mitochondrial Reactive Oxygen Species Contribution to Oxidative Stress and Interorganellar Signaling // *Plant Physiol.* 2006. V. 141. P. 357-366.
3. Elorka A., Roschttardt H., Gomes I., Mouras A., Houligue L., Araua A., Jordand X. A Nuclear Gene for the Iron-Sulfur Subunits of Mitochondrial Complex II Is Specifically Expressed during Arabidopsis Seed Development and germination // *Plant Cell Physiol.* 2006. V. 47. P. 14-21.
4. Garmier M., Carroll A.J., Delannoy E., Vallet C., Day D.A. Complex I Dysfunction Redirected Cellular and Mitochondrial Metabolism in Arabidopsis // *Plant Physiol.* 2008. V. 148. P. 1324-1341.
5. Генерозова И.П., Шугаев А.Г. Дыхательный метаболизм митохондрий проростков гороха разного возраста в условиях недостатка влаги и реводнения // *Физиология растений.* 2012. Т. 59. № 2. С. 262-273.
6. Hodges D.M., DeLong J.M., Forney C.F., Prange R.K. Improving the Thiobarbituric Acid-Reactive-Substances Assay for Estimating Lipid Peroxidation in Plant Tissues Containing Anthocyanin and Other Interfering Compounds // *Planta.* 1999. V. 207. P. 604-611.
7. Sweetlove L.J., Heasleywood J.I., Herald V., Hertzapffel R., Day D.A., Leaver C.J., Millar A.N. The Impact of Oxidative Stress on Arabidopsis Mitochondria // *Plant J.* 2002. V.32. P. 891-904.
8. Yin G., Sun H., Xin X., Qin G., Liang Z., Jing X. Mitochondrial Damage in the Soybean Axes during Imbibition at Chilling Temperature // *Plant Cell Physiol.* 2009. V. 50. P. 1305-1318.
9. 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 // *PNAS.* 2011. V.108. P. 10768-10773.

ADAPTIVE REORGANIZATIONS OF MITOCHONDRIAL METABOLISM OF PEA SEEDLINGS AFTER COMBINED ACTION OF WATER DEFICIT AND MODERATE COOLING

Generozova I.P., Shugaev A.G.

pea seedlings, combined and separate stress action, epicotile growth, substrate oxidation by mitochondria, oxydative stress

When comparing combined and individual action of moderate cooling (150 C) and water deficit on pea seedlings it is visible that the ratio of succinate/malate oxidation rates by separated mitochondria significantly increased after combined action while the growth of the seedlings as well as the MDA content in epicotyle tissue exhibited market decrease after these stress actions. Results suggest that the high ratio of succinate/malate oxidation rates observed under the chosen conditions has most likely adaptive character.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ И ОКИСИ АЗОТА НА ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ И ПРО/АНТИОКСИДАНТНЫЙ БАЛАНС РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ

Гильванова И.Р.¹, Рахманкулова З.Ф.²

¹ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный университет», ул. З. Валиди, 32, г. Уфа, 450076, Россия, E-mail: i.r.gilvanova@mail.ru

²ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая 35, г. Москва, 127276, Россия, E-mail: zulfirar@mail.ru

Triticum aestivum, салициловая кислота, окись азота, нитропруссид натрия, рост, дыхание, про/антиоксидантная система

Введение

Салициловая кислота (СК) и окись азота (NO) - сигнальные молекулы, широко распространены в растениях и принимают участие в процессах дыхания, движения устьиц, прорастании семян, росте корня и листьев, созревании плодов, являются посредниками в сигнальной трансдукции при ответе на биотический и абиотический стресс [1,2]. Показано, что СК и ее производные способны оказывать, в зависимости от концентрации, как разобщающее, так и ингибирующее действие на дыхание [3]. Окись азота также может снижать интенсивность клеточного дыхания, ингибировать окислительное фосфорилирование [4]. При этом в ряде работ приводятся свидетельства протекторной роли салицилата [5-7] и окиси азота [8,9] в растениях в условиях стресса.

Таким образом, изучение влияния СК и NO на основные энерготрансформирующие процессы растений, которые, с одной стороны, детерминируют ростовые характеристики, а с другой, являются основными продуцентами активных форм кислорода (АФК) в растительной клетке представляет большой интерес.

Материалы и методы

Объектом исследования были растения пшеницы *Triticum aestivum* L. (сорт Казахстанская 10). Для изучения влияния 0.05 мМ СК применяли предпосевную обработку семян в течение 3 ч. Источником NO служил нитропруссид натрия (НП-Na) (0.5 мМ).

Определяли сухую массу побега и корня, содержание свободной и связанной форм салициловой кислоты, содержание окиси азота, задействованность альтернативной оксидазы (АО), активность супероксиддисмутазы (СОД), содержание малонового диальдегида (МДА). Эффективность энергетического обмена оценивали по отношению суммарного дыхания к gross-фотосинтезу (R/Pg).

Результаты и обсуждение

Проведенные нами исследования показывают, что предпосевная обработка 0.05 мМ СК и внесение в питательную среду 0.5 мМ раствора НП-Na, индуцирует у растений пшеницы несколько линий антиоксидантной защиты (рис.1).

Из схемы на рисунке 1 видно, что предобработка пшеницы СК по-разному влияла на морфофизиологические параметры недельных и двухнедельных растений. Так, у 3-8 сут. растений влияние салицилата заключалось в индуцировании альтернативной оксидазы и альтернативного пути дыхания (АОХ) (первая линия защиты), что, вероятно, приводило к активации второй линии защиты, вследствие повышения активности СОД в корнях и, как результата, уменьшению содержания МДА. Однако показатель R/Pg при этом возрастал, что связано со стрессом, вероятно, вызванным снижением свободной метаболически активной формы СК как в побегах, так и в корнях (рис.1). Сухая масса 3-8 сут. растений достоверно не изменялась, что, свидетельствует о слабом проявлении протекторных свойств СК у растений данного возраста.

На 14-17 сут. (рис.1) на фоне снижения содержания как свободной, так и конъюгированной форм СК, отметили и снижение показателя R/Pg. При этом в автотрофных и гетеротрофных тканях растений влияние СК проявлялось по-разному. В побегах наблюдали усиление альтернативного дыхания и перекисного окисления липидов (ПОЛ) (о чем можем судить по возрастанию уровня МДА), и, как следствие, достоверного увеличения сухой массы не наблюдалось. В корнях же происходило значительное уменьшение доли альтернативного пути. Здесь, по-видимому, включается другой антиоксидантный механизм, который привел к снижению содержания МДА в гетеротрофных тканях исследуемых растений и, как результат, увеличению сухой массы корней пшеницы.

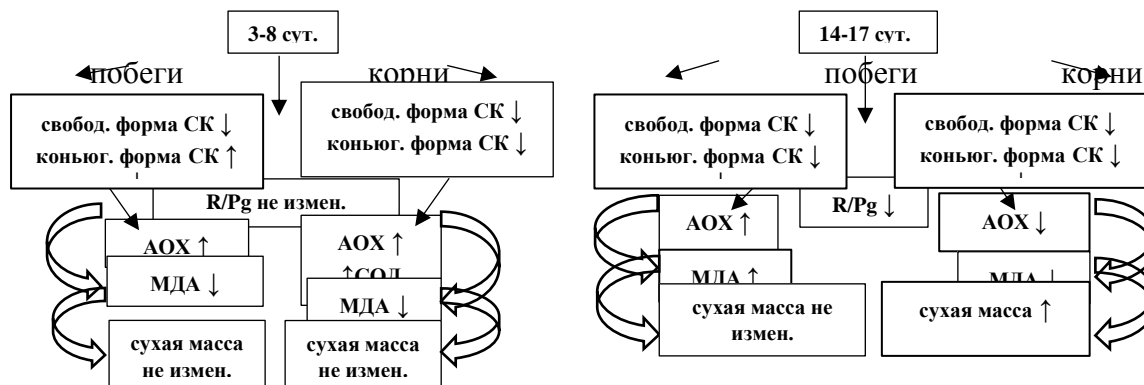


Рисунок 1 - Физиологические эффекты предпосевной обработки растений пшеницы 0.05 мМ салициловой кислотой (СК)

Figure 1 - Effect of wheat seed presowing treatment with 0.05 mM salicylic acid (SA)

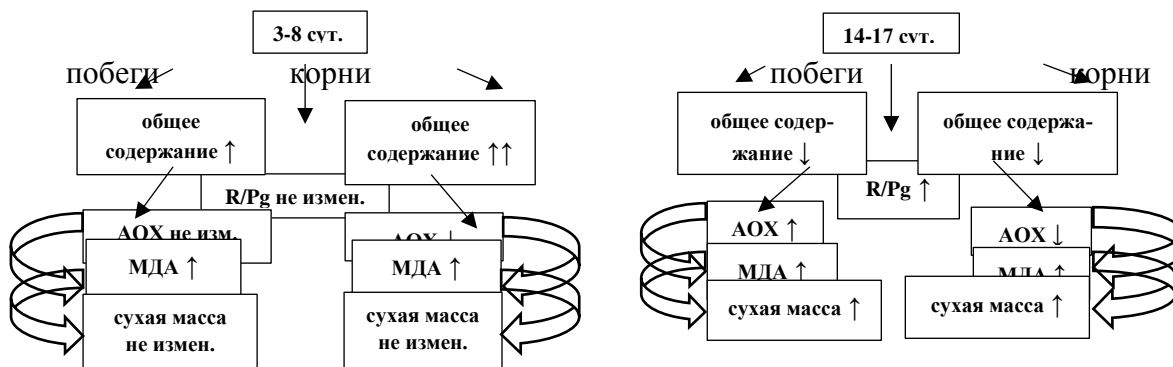


Рисунок 2 - Физиологические эффекты экзогенной обработки растений донором окиси азота, нитропруссидом натрия (НП-Na, 0.5 мМ). ↑ - повышение, ↓ - снижение, ↑↑ - значительное повышение параметра.

Figure 2 - Effect of wheat treatment with Sodium Nitroprusside (SNP, 0.5 mM) the Nitric Oxide donor

На рис. 2 отображены физиологические эффекты экзогенной обработки растений донором окиси азота, нитропруссидом натрия. Как и в случае с СК, у 3-8 сут. растений сухая масса побегов и корней не изменялась, однако физиологическая реакция при этом была иная. Экзогенная обработка приводила к возрастанию уровня NO в побегах и, особенно, в корнях. В отличие от варианта с СК, доля альтернативного дыхания при этом снижалась (особенно в корнях), но и одновременно повышался уровень МДА. Таким образом, на 3-8 суточных растениях окись азота не проявляла своих протекторных свойств.

На 14-17 сут. (рис.2) общее содержание NO как в побегах, так и в корнях снизилось, При этом влияние окиси азота в автотрофных и гетеротрофных тканях растений проявлялось по-разному. Так, в побегах экзогенная обработка растений НП-Na приводила к активации

альтернативного пути дыхания и увеличению способности к накоплению сухой массы. В гетеротрофных тканях растений пшеницы, вероятно, имел место другой механизм защиты, который, как и в варианте с СК, приводил к снижению менее энергетически выгодного альтернативного дыхания и росту сухой массы корней.

Выводы

При экзогенной обработке растений пшеницы салициловой кислотой и окисью азота в реакции растений на уровне морфофизиологических процессов обнаружили как общие черты (на 14-17 сут.), так и различия (3-8 сут.), отражающие вариабельность, сложный и неоднозначный характер взаимосвязи альтернативных путей дыхания и антиоксидантных процессов.

Литература

1. Janda T., Horvath E., Szalai G. Role of Salicylic Acid in the Induction of Abiotic Stress Tolerance // *Salicylic Acid - a Plant Hormone* // Eds Hayat S., Ahmad A. Berlin: Springer-Verlag, 2007. P. 91-150.
2. Wilson I.D., Neill S.J., Hancock J.T. Nitric Oxide Synthesis and Signaling in Plant // *Plant, Cell Environ.* 2008. V. 31. P.622-631.
3. Norman C.P. Salicylic Acid an Uncoupler and Inhibitor of Mitochondrial Electron Transport // *Plant Physiol.* 2004. V. 103. P. 139-145.
4. Yamasaki H., Shimoji H., Ohshiro Y., Sakihama Y. Inhibitory effects of nitric oxide on oxidative phosphorylation in plant mitochondria // *Nitric Oxide. Biol. Chem.* V. 5. 2001. P.261-270.
5. Shakirova F.M., Sakhabutdinova A.R., Bezrukova M.V., Fatkhutdinova R.A., Fatkhutdinova D.R. Changes in the Hormonal Status of Wheat Seedlings Induced by Salicylic Acid and Salinity // *Plant Sci.* 2003. V. 164. P. 317-322.
6. Liu H. T., Huang W. D., Pan Q. H., Weng F. H., Zhan J.C., Liu V., Wan S.B., Liu Y.-Y. Contributions of PIP2-specific-phospholipase C and free salicylic acid to heat acclimation-induced thermotolerance in pea leaves // *J. Plant Physiol.* 2006. V. 163. P. 405-416.
7. Hayat S., Ali B., Ahmad A. Salicylic Acid: Biosynthesis, Metabolism and Physiological Role in Plants // *Salicylic Acid - a Plant Hormone* / Eds Hayat S., Ahmad A. Berlin: Springer-Verlag, 2007. P. 1-14.
8. Hong J.K., Yun B.-W., Kang J.-G., Raja M.U., Kwon E., Sorhagen K., Chu C., Wang Y., Loake G.J. Nitric Oxide Function and Signalling in Plant Disease // *J. Exp. Bot.* 2008. V. 59. P. 147-154.
9. Neill S., Barros R., Bright J., Desikan R., Hancock J., Harrison J., Morris P., Ribeiro D., Wilson J. Nitric Oxide, Stomatal Closure, and Abiotic Stress // *J. Exp. Bot.* 2008. V. 59. P. 165-176.

A RELATIVE ANALYSIS THE EFFECTS OF SALICYLIC ACID AND NITRIC OXIDE ON ENERGY BALANCE AND PRO/ANTIOXIDANT STATUS OF WHEAT PLANTS

Gilvanova I.R., Rakhmankulova Z.F.

Triticum aestivum, salicylic acid, nitric oxide, sodium nitroprusside, growth, respiration, pro / antioxidant system

The ambiguous effects were demonstrated for SA and NO actions on growth, basic energy-transformation processes, and plant pro/antioxidant balance.

ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТОВ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ГРИБОВ РОДА *TRICHODERMA* И РАСТЕНИЙ С С₄-ТИПОМ МЕТАБОЛИЗМА

Голованова Т.И., Валиулина А.Ф., Шуклина Д.А.

ФГАОУ ВПО «Сибирский федеральный университет», г. Красноярск, пр. Свободный 79, 660041, Россия, E-mail: valiulina1988@mail.ru

кукуруза, С₄-растения, NADP-МДГ – тип метаболизма, Trichoderma, грибы, пигменты, скорость электронного транспорта, квантовый выход, рост, развитие.

Химическое загрязнение окружающей среды является одной из проблем современности, вызывающей нарушение экологического равновесия в экосистемах, и в системе микроорганизм – растение. Для борьбы с заболеваниями растений обычно используют химические препараты, обладающие токсичностью для вредных организмов. Однако повсеместное и частое их использование приводит к загрязнению окружающей среды и пагубно влияет и на организм человека и животного, и на само растение. Поэтому не случайно, что в последние годы в нашей стране и за рубежом растет интерес к экологически чистым и сравнительно безопасным в применении микробиологическим препаратам, которые в ряде случаев и более экономичны, чем химические. Широкое применение биологических препаратов связано с тем, что они безвредны для растений, хорошо действуют на биохимические свойства почвы, меняют ее реакцию, улучшают ее структуру, регулируют численность фитопатогенов. Взаимодействие растений и микроорганизмов складывается из комплекса сложных процессов, происходящих в двух системах разного уровня организации. С одной стороны, это микробный ценоз корневой зоны растений. Между разными группами микроорганизмов устанавливаются определенные взаимоотношения, характер которых зависит от физиологических особенностей и потребностей совместно развивающихся микробов. Кроме того, микроорганизмы вступают в различного рода взаимоотношения не только между собой, но и с высшими растениями. В тоже время корневые выделения растений стимулируют или ингибируют развитие микроорганизмов. Метаболизм корней оказывает большое влияние на почвенную среду, прилегающую к корням. Корневые выделения увеличивают кислотность почвы в прикорневой зоне растений за счет выделения углекислоты и ионов водорода. Такие изменения возможны в пределах нескольких миллиметров вокруг корня. Важным источником стимуляции почвенного микронаселения является выделение корнями питательных веществ: сахаров, аминокислот, витаминов, органических кислот и других соединений. Высшие растения, являясь основным источником питательных веществ для преобладающего числа микробного населения почв, оказывают существенное влияние на микробные ценозы. Зоны, непосредственно примыкающие к корням растений, являются областями активного развития микроорганизмов. Это связано прежде всего с выделениями из корней органических веществ, синтезированных растениями. С другой стороны, это высшие растения, которые также взаимодействуют между собой. В результате такого взаимодействия формируются устойчивые микробно - растительные системы. Выяснение механизмов формирования и функционирования уникальных биологических систем – ассоциаций растений и микроорганизмов – является одним из актуальных вопросов биологии. Взаимодействие почвенных микроорганизмов с растениями в корневой зоне имеет и положительные, и отрицательные аспекты. Негативное влияние на рост и развитие растений оказывают фитопатогенные микроорганизмы, которые используют разнообразные пути заражения растения с целью потребления его метаболитов, что может привести к нарушению физиологических функций, анатомо-морфологическим изменениям растений, к отмиранию отдельных его частей, ослаблению, снижению продуктивности или полной гибели растения. В настоящее время уделяется большое внимание микроорганизмам, которые оказывают положительное влияние на рост и развитие растений и на

их продуктивность. Положительная роль микроорганизмов в корневой зоне растений проявляется в трансформации органических остатков, улучшении минерального питания растений азотом, фосфором и другими элементами, антагонисты продуцируют биологически активные вещества, стимулирующие рост и развитие растений. Использование микроорганизмов-антагонистов фитопатогенов позволяет целенаправленно изменить обмен веществ, активировать или тормозить определенные биологические процессы, которые влияют на продуктивность растений, повысить устойчивость растений к болезням.

Антагонистическими свойствами обладают микроорганизмы грибного происхождения, в частности представители рода *Trichoderma* [1, 2, 3, 4]. Они хорошо известны как продуценты экзоферментов и уже давно широко используются человеком в самых различных областях. Изучение антагонистических свойств и в особенности избирательного воздействия специфических веществ, выделяемых грибами рода *Trichoderma*, представляет интерес в связи с выяснением характера взаимоотношений их с микроорганизмами, влиянием этого гриба на отдельных представителей микрофлоры, а также для использования его в борьбе с различными фитопатогенными организмами. Они образуют активные вещества, угнетающие развитие патогенов в прикорневой зоне растений. Грибы рода *Trichoderma* играют важную роль в микробном сообществе. Они синтезируют стимуляторы роста, антибиотические вещества и литические ферменты (целлюлазы, хитиназы, протеазы), повышают устойчивость растений к неблагоприятным факторам среды, снижают заболеваемость растений. При участии микроорганизмов – антагонистов патогенов у растительного организма развивается мощная корневая система, увеличивается площадь листьев [5, 6].

В работе в качестве объекта исследований использовали растения кукурузы – С4- растения с NADP-МДГ – типом метаболизма. Растения выращивали в условиях естественного освещения на почвенном субстрате следующего состава: верховой торф, низинный торф, песок, доломитовая мука, дренаж, комплексное минеральное удобрение. Содержание доступных для растений питательных элементов: азот – 300 – 550 мг/кг, P₂O₅ – 300 – 550 мг/кг, K₂O – 450 -850 мг/кг, pH – 5,5 – 6,5. Температура колебалась в пределах 25-30 °С. Перед посевом в почвенный субстрат проводили поверхностную стерилизацию семян 0,1 % раствором KMnO₄. Семена обрабатывали спорами гриба *Trichoderma asperellum*. Контролем служил вариант, где семена не были обработаны спорами исследуемого гриба. Оценивали действие микроорганизмов – антагонистов на растения по ряду физиолого-морфологических, биохимических и биофизических параметров. На протяжении всего опыта грибы рода *Trichoderma* стимулировали рост растения: увеличивалась длина надземной части, корневой системы. Под действием актиномицетов значительно увеличивалась количество листьев на одно растение и площадь листовой пластинки, содержание сухого вещества увеличилось на 49 % по сравнению с контрольными растениями. *Trichoderma* способствовала повышению фотосинтетической активности растений, растения имели более интенсивную окраску. Отношение хлорофилла а к хлорофиллу b была ниже у опытных растений за счет повышения у них хлорофилла b. Следует отметить, что обработка семян спорами гриба *Trichoderma* не нарушала скорость электронного транспорта и кинетику квантового выхода.

Таким образом, грибы рода *Trichoderma* оказывали положительное влияние на физиолого-морфологические параметры растений с С₄-типом метаболизма. Наибольший стимулирующий эффект действия микромицетов был отмечен на развитие корневой системы. Показано положительное влияние исследуемых грибов на содержание пигментов, *Trichoderma* изменяла соотношении форм хлорофиллов в листьях С₄-растений с NADP-МДГ – типом метаболизма в сторону увеличения содержания хлорофилла b, не влияла на скорость фотосинтетического электронного транспорта. На взаимоотношение растений кукурузы и грибов рода *Trichoderma* большое влияние оказывали факторы окружающей среды.

Литература

1. Li D-W. LaMondia J. Airborne fungi associated with ornamental plant propagation in greenhouses // Aerobiologia. 2010. V.1. 26. P. 15–28.

2. Mausam V., Brar S.K., Tyagi R.D., Surampalli R.Y., Val'ero J.R. Antagonistic fungi, *Trichoderma spp.*: Panoply of biological control // Biochemical Engineering Journal. 2007. V. 37. P. 1–20.

3. Mukherjee M., Mukherjee P. K., Horwitz B. A, Zachow C., Berg G., Zeilinger S. *Trichoderma*–Plant–Pathogen Interactions: Advances in Genetics of Biological Control // Indian J Microbiol. 2012. V. 52. P. 522–529.

4. Rawat R., Tewari L. Effect of Abiotic Stress on Phosphate Solubilization by Biocontrol Fungus *Trichoderma sp.* // Curr Microbiol. 2011. V. 62. P. 1521–1526.

5. Голованова Т.И., Литовка Ю.А., Долинская Е.В., Сичкарук Е.А., Валиулина А.Ф., Схиладзе О.Л. Взаимоотношения пшеницы с микроорганизмами прикорневой зоны растений // Вестник КрасГАУ. Красноярск. 2010. Т. 9. С. 90–97.

6. Голованова Т.И., Валиулина А.Ф., Симонова Т.А.. Изучение взаимоотношений растений с C₄- типом метаболизма и грибов рода *Trichoderma* // Вестник КрасГАУ. Красноярск. 2013. Т. 11. С. 154–160.

STUDY OF EFFECTS BETWEEN TRICHODERMA - C₄ - PLANTS INTERACTIONS

Golovanova T.I., Valiulina A.F., Shuklina D.A.

corn, C₄ - plant, Trichoderma, fungi, pigments, the photosynthesis light curves, electron transport rate, quantum yield, growth, development.

The last years *Trichoderma* are widely used in agriculture as biocontrol of plant diseases. In this paper we studied the interactions between *Trichoderma* and C₄ – plants. Investigation showed that *Trichoderma* is very promising in terms of increasing corn plant productivity. Corn plant colonization by *Trichoderma* did not influence considerably the photosynthesis light curves and the relative rate of the photosynthetic electron transport in the plants.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ МИКРОМИЦЕТОВ НА ФИЗИОЛОГО - МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ПШЕНИЦЫ

Голованова Т.И., Гаевский Н.А., Валиулина А.Ф.

ФГПАОУ ВПО «Сибирский федеральный университет», г. Красноярск, пр. Свободный 79, 660041, Россия, E-mail: tigolovanova@mail.ru

*пшеница, микромицеты, Trichoderma, Fusarium, грибы, патогены, микроорганизмы-антагонисты, хлорофиллы, электронный транспорт, квантовый выход, рост, развитие.***Введение**

Негативное влияние на рост и развитие растений оказывают фитопатогенные микромицеты, которые заражают растения с целью потребления его метаболитов. Под действием патогенов у растений нарушаются физиологические функции, изменяются анатомо-морфологические показатели, снижается продуктивность, отмирают отдельные его части вплоть до полной гибели растения [1]. Патогенная активность микромицетов обусловлена их способностью к синтезу и секреции в окружающую среду активных соединений и гидролитических ферментов, действующих на клетки растений, проникновением гифов гриба в тело хозяина, подавление иммунных барьеров растений [2]. В свою очередь растительные организмы выработали широкий спектр защитных приспособительных реакций, которые эффективно останавливают или подавляют развитие патогенов, одновременно способствуя развитию устойчивости растений к биотическим факторам среды [3]. Устойчивость растений к патогенам можно рассматривать как мульти компонентный ответ, включающий такие процессы, как накопление полисахаров, фенолов, лигнина и других активных соединений, индукция синтеза и увеличение уровня так называемых «pathogenesis-related» PR-белков [4]. Среди фитопатогенов грибы рода *Fusarium*, поражающие наземную и корневую части растений, представляют наибольшую опасность.

Совместное существование микромицетов и высших растений также характеризуется ассоциативными взаимоотношениями. Симбиотическими свойствами обладают многие представители почвенных грибов рода *Trichoderma* [5]. В процессе своей жизнедеятельности грибы рода *Trichoderma* способны продуцировать широкий спектр токсических веществ, обладающих антибиотическими свойствами, например триховиридин, виридин, глиотоксин и другие. В основе их действия лежит механизм вмешательства в биосинтез белка или хитина, происходящие в клетках фитопатогенов [6]. Кроме вышеуказанных биологически активных соединений грибы рода *Trichoderma* способны продуцировать в окружающую среду летучие органические вещества, обладающие антибиотическими и стимулирующими свойствами, которые проявляются избирательно. Грибы рода *Trichoderma*, которые выступают антагонистами фитопатогенных микроорганизмов, включая грибы рода *Fusarium*, одновременно продуцируют рост стимулирующие вещества для растений [3, 6].

В связи со сложным характером взаимоотношений между растением и микромицетами, а также между патогенными микромицетами и их антагонистами была проведена оценка влияния антагонистически активного штамма *Trichoderma asperellum* (штамм MG-97) и гриба *Fusarium sporotrichioides* (штамм Z3-06) на физиолого-морфологические параметры растений пшеницы и световую фазу фотосинтеза у листьев растений пшеницы.

Материалы и методы

Объектами исследований служили растения мягкой яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Омская-32. Растения выращивали в условиях естественного освещения на искусственном почвенном субстрате. Эксперимент производили с растениями, семена которых были обработаны по следующей схеме:

контроль – не подвергали обработке микромицетами;
 вариант 1 – обработаны спорами *T. asperellum*;
 вариант 2 – обработаны метаболитами *F. sporotrichioides*;
 вариант 3 – обработаны метаболитами *F. sporotrichioides* и выращены в почве, куда были внесены споры *T. asperellum*.

Растения выращивали в течение 30 сут., количество растений в каждом варианте 20-30 шт. Сырую массу, размерные показатели, содержание пигментов определяли на 10, 20 и 30 сут. после появления всходов. Хлорофиллы а и b экстрагировали 96% (v/v) этиловым спиртом при 65 °С в течение 30 минут. Спектрофотометрический анализ проводили согласно [7]. Фотосинтез определяли с помощью флуориметра JUNIOR-PAM (Walz, Effeltrich, Germany), используя стандартные функции регистрации световой кривой (диапазон 0 - 820 $\mu\text{моль фотонов}\times\text{м}^{-2}\times\text{с}^{-1}$) [8]. Достоверность различий средних значений оценивали на основе критерия Стьюдента для уровня значимости 95%.

Авторы выражают благодарность д.б.н. Н.В. Зобовой, д.б.н. Т.И. Громовых и к.б.н. Ю.А. Литовке за помощь в постановке экспериментов.

Результаты и их обсуждение

Установлено неоднозначное действие микромицетов на морфологические и физиологические параметры растений пшеницы. Метаболиты *F. sporotrichioides* ингибировали рост надземной и корневой систем, накопление сырой и сухой биомассы, снижали площадь листовой поверхности и содержание зеленых пигментов на единицу сырой биомассы. Обработка семян спорами *T. asperellum* стимулировала рост надземной и корневой систем, накопление сырой и сухой биомассы, оказывала положительное влияние на развитие ассимиляционного аппарата. При совместном действии микромицетов ингибирующий эффект *F. sporotrichioides* на перечисленные параметры нивелировался.

Средние значения максимального уровня флуоресценции (F_m) в момент первой насыщающей вспышки света в исследованных вариантах достоверно не различались и варьировали слабо ($C_v=4,4\%$). Это может свидетельствовать о равном содержании хлорофиллов на единицу поверхности листа. Характер световой кривой фотосинтетического транспорта электронов (ETR) во всех изученных вариантах указывает на эффект фотоингибирования при интенсивности возбуждающего света выше 450-500 $\mu\text{кмоль фотонов}\times\text{м}^{-2}\times\text{с}^{-1}$. В этом случае к общим для световой кривой параметрам (угол наклона α , регистрируемая максимальная скорость транспорта электронов ETR_m , минимальная насыщающая интенсивность света E_k) добавлены начальный угол β на участке спада скорости транспорта электронов при интенсивностях выше, чем E_k , и расчетная величина потенциальной скорости транспорта электронов (ETR_{Pot}), которую можно ожидать в отсутствии фотоингибирования. Перечисленные параметры приведены в таблице.

Таблица 1 – Параметры световой кривой фотосинтетического транспорта электронов у пшеницы в различных условиях выращивания

Table 1 - Light curve parameters photosynthetic electron transport in wheat in different growing conditions

Параметры световой кривой	Контроль (n=21)	Вариант 1 (n=27)	Вариант 2 (n=12)	Вариант 3 (n=19)
α	0,265 \pm 0,006	0,260 \pm 0,007	0,219 \pm 0,006	0,261 \pm 0,013
ETR_m	31,2 \pm 1,67	29,4 \pm 1,6	26,8 \pm 1,3	34,7 \pm 1,8
E_k	119,1 \pm 7,8	113,2 \pm 7,5	123,3 \pm 6,8	131 \pm 5
β	0,023 \pm 0,004	0,019 \pm 0,002	0,014 \pm 0,002	0,017 \pm 0,003
ETR_{Pot}	42,2 \pm 3,2	37,3 \pm 2,1	33,7 \pm 1,6	45,1 \pm 2,9

Оценка достоверности различий средних значений по *tst* показала, что параметр E_k достоверно не различался у исследованных вариантов и соответствовал 122 ± 4 мкмоль фотонов \times м \times с \times л $^{-1}$. Для остальных параметров установлена следующая закономерность – достоверные различия отсутствуют между контролем, вариантом 1 (триходерма) и вариантом 3 (триходерма и метаболиты фузариума), но проявляются между ними и вариантом 2 (метаболиты фузариума). При этом средние показатели контроля, вариантов 2 и 4 выше, чем у варианта 3. В отношении угла α – в среднем на 16%, ETR_m – на 17%, угла β – 30%, ETR_{Pot} – 19%.

Заключение

Интродукция микроорганизмов в прикорневую зону растений может оказывать как положительное, так и отрицательное влияние на рост и развитие растений, восприимчивость растений к различного рода болезням. Положительный эффект обработки семян пшеницы спорами *Trichoderma asperellum* проявившийся в стимуляции ростовых процессов не сопровождался соответствующим ростом фотосинтетической активности (скорости транспорта электронов). В то же время, *Trichoderma asperellum* выступала антагонистом по отношению к *Fusarium sporotrichioides* и в ряде случаев при их совместном действии морфофизиологические параметры пшеницы превосходили контроль. Эффекты взаимодействия *T. asperellum* с *F. sporotrichioides* требуют дальнейшего изучения.

Литература

1. Chinnasamy G. A proteomics perspective on biocontrol and plant defense mechanism // Siddiqui Z. A. (ed.). PGPR: Biocontrol and Biofertilization. 2005. P. 233–255.
2. Daly J.M., Knoche H.W. The chemistry and biology of pathotoxins exhibiting host-selectivity // Adv Plant Pathology. 1982. Vol. 1. P. 83-138.
3. Голованова Т.И., Литовка Ю.А., Долинская Е.В., Сичкарук Е.А., Валиулина А.Ф., Схиладзе О.Л. Взаимоотношения пшеницы с микроорганизмами прикорневой зоны растений // Вестник КрасГАУ. Красноярск. 2010. Т. 9. С. 90–97.
4. Sels J., Mathys J., De Coninck B.M.A., Cammue B.P.A., De Bolle M.F.C. Plant pathogenesis-related (PR) proteins: A focus on PR peptides // Plant Physiology and Biochemistry. 2008. Vol. 46. P. 941–950.
5. Кацы Е.И. Молекулярная генетика ассоциативного взаимодействия бактерий и растений: состояние и перспективы исследований. М.: Наука, 2007. 86 с.
6. Vinale F., Sivasithamparam K., Ghisalberti E.L., Marra R., Woo Sh.L., Lorito M. Trichoderma–plant–pathogen interactions // Soil Biology and Biochemistry. 2008. Vol. 40. P. 1–10.
7. Wintermans, J.F.G.M., DeMots, A. Spectrophotometric characteristics of chlorophylls a and b and their pheophytins in ethanol // Biochim. Biophys. Acta. 1965. V.109. P.448–453.
8. Kitajima M., Butler W.L. Quenching of chlorophyll fluorescence and primary photochemistry in chloroplasts by dibromothymoquinone // Biochim Biophys Acta, 1975. V.376. P.105-115.

COMPARATIVE ESTIMATION OF THE INFLUENCE MICROMYCETES ON PHYSIOLOGICAL-MORPHOLOGICAL PARAMETERS OF WHEAT

Golovanova T.I., Gaevsy N.A., Valiulina A.F.

micromycetes, Trichoderma, Fusarium, fungi, pathogens, antagonism, chlorophylls, electron transport, quantum yield, growth, development.

Mechanisms of the interaction of higher plants with the fungi of genus *Trichoderma* and *Fusarium* remains relatively poorly studied. There is insufficient evidence on the influence of these microorganisms on the biophysical processes that take place in plants. Due to that fact there is a need for a more detailed investigation on the influence of these microorganisms on the plant functioning, e.g. on such an important process as photosynthesis.

**ЭФФЕКТЫ БЛИЖНЕЙ УФ-РАДИАЦИИ НА ФУНКЦИИ РАСТЕНИЙ
И ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИЕ КЛЕТКИ**

Головки Т.К., Захожий И.Г., Далькэ И.В., Коковкина Е.В., Малышев Р.В.

ФГБУН Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, ул. Коммунистическая, 28, г. Сыктывкар,
167982, Россия, E-mail: golovko@ib.komisc.ru*ультрафиолетовая радиация, растения, фотосинтез, устойчивость*

Солнечный свет является ведущим фактором среды, определяющим многие функции растительного организма. Растения воспринимают и реагируют на интенсивность, спектральный состав, продолжительность и ритмичность световых сигналов. Фоторецепторная система растений включает рецепторы (хромопротеины), поглощающие свет разной длины волны. Биосфера получает солнечную радиацию с λ от 290 нм до 105 нм. Длинноволновая область включает инфракрасную (750-4000 нм) и тепловую (4000–10⁵ нм) радиацию. Примерно 45% приходится на область 400-700 нм (ФАР), которую растения могут использовать в фотосинтезе благодаря фотосинтетическим пигментам (хлорофиллам и каротиноидам). Коротковолновая область (280-390 нм) относится к ультрафиолетовому излучению (UV-радиация) и известна как ближний ультрафиолет, доля которого составляет примерно 2%. Рецепторами UV-B (280-320 нм) служат недавно обнаруженные UVR8 белки [1]. Криптохромы и фототропин чувствительны к UV-A и синему свету (320-500 нм). Повышение поступления UV-радиации, основной причиной которого является наблюдаемое в последнее время уменьшение озонового слоя, потенциально опасно для растительного организма, так как может повлиять на морфологию и функциональную активность, вызвать изменения в росте и развитии [2]. Наиболее пагубно сказывается воздействие UV-B [3]. При UV-B стрессе наблюдали ингибирование фотосинтеза и синтеза белков, повреждение ДНК, мембран, усиление образования АФК. Показаны отрицательные эффекты UV-B на деление клеток, рост и накопление биомассы, семенную продуктивность [4]. Физиологические реакции растений на UV-радиацию видоспецифичны, зависят от возраста растений, характера воздействия (доза, продолжительность) и условий окружающей среды.

Анализ литературы и результаты собственных исследований [5-7] показывают, что экспонирование растений к повышенным дозам UV приводит к появлению хлоротических и некротических пятен, раннему старению листьев. Например, в наших опытах с яровой пшеницей, выращиваемой в полевых условиях, повреждения листьев были отмечены уже на следующий день после 1-3 ч действия UV-C мощностью 15 Вт/м². Даже однократная 2-3 ч экспозиция растений в начале колошения к UV-C приводила к снижению зерновой продуктивности. Масса зерен в колосе уменьшалась в 1.5 раза, тогда как число зерен в колосе снижалось незначительно, на 10-12%. Отрицательное влияние UV на репродукцию сельскохозяйственных растений показано во многих работах [8,9]. В то же время, имеются данные о положительном воздействии UV на посевные качества семян [10]. В наших опытах UV-C облучение растений яровой пшеницы приводило к повышению всхожести семян на 25%.

Растения выработали ряд механизмов, позволяющих им выживать и адаптироваться к действию UV-радиации. Прежде всего, приспособления предупреждающие проникновение коротковолновых лучей в клетки. Этому способствует наличие эпидермы, покрытой толстой кутикулой, образование волосков, накопление UV отражающих веществ и т.п. Известно, что UV-лучи хорошо поглощаются соединениями фенольной природы – флавоноидами и антоцианами. Внепластидные окрашенные пигменты – антоцианы, накапливаемые в вакуолях клеток верхнего эпидермиса, способны экранировать от UV клетки мезофилла. Нами установлено, что содержание антоцианов у дикорастущих растений бореальной флоры варьировало в широких пределах и достигало у некоторых видов 2 мг/г сухой массы, что сопоставимо с концентрацией фотосинтетических пигментов [11]. Наибольшим их накоплением характеризовались листья светового типа. У листостебельных брио-

фитов (мхи), обитающих в затененных местах с низким поступлением UV-радиации и повышенным увлажнением, концентрация антоцианов была на один-два порядка ниже.

Фотосинтетический аппарат растений, адаптированный к высокому уровню поступления ФАР, более устойчив к действию повышенных доз UV-B-радиации. В опытах с растениями *Plantago media* нами было установлено, что к концу 1.5 ч экспозиция к UV (A+B) в дозе 7 и 22 кДж/(м²ч) скорость видимого фотосинтеза листьев теневого типа снижалась в 2-3 раза, тогда как ингибирующее действие UV на ассимиляцию CO₂ листьев светового типа проявлялось значительно слабее. Показатель максимальной фотохимической активности ФС 2 (Fv/Fm) достоверно не изменялся у обоих фенотипов. Однако после 3 ч экспозиции теневых листьев при высокой дозе UV величина Fv/Fm, отражающая состояние ФС₂, снижалась на 20% и составляла не более 0.65 отн.ед. Соответственно снижался и реальный квантовый выход ФС₂.

Реакции фотосинтетического аппарата на UV были исследованы нами у молодой хвои *Picea obovata* (ель обыкновенная). 3-часовая экспозиция к UV в дозе 7 и 22 кДж/(м² ч) не оказала существенного влияния на потенциальную фотохимическую активность, реальный квантовый выход и скорость транспорта электронов в ФС₂ хвои. Однако прямые определения скорости CO₂-газообмена выявили депрессию видимого фотосинтеза. Поскольку на слабом свете у получившей дозу UV хвои наблюдали выделение CO₂, а на сильном свете скорость видимого поглощения CO₂ увеличивалась незначительно, то можно говорить об усилении катаболизма (окисление дыхательного субстрата) и нарушении баланса между анаболическими и катаболическими процессами.

Нами установлено, что, несмотря на защитную функцию верхнего корового слоя, состоящего из плотно упакованных гиф гриба, фотобионт лишайника *Lobaria pulmonaria* (лобария легочная) проявлял высокую чувствительность к UV. Величина Fv/Fm ФС₂ зеленой водоросли снижалась на 23-34% после серии экспозиций (продолжительность 1-3 ч в сут.) опытных талломов к UV(A+B) в дозе 22 кДж/(м² ч). Спустя сут. после каждой экспозиции разница в величине Fv/Fm между опытными и контрольными образцами несколько сглаживалась, что свидетельствует об активации репаративных процессов, способствующих восстановлению потенциальной фотохимической активности ФС₂ фотобионта - зеленой водоросли рода *Dictyochloropsis*. По сравнению с *L. pulmonaria*, фотобионт лишайника *Peltigera leucophlebia* проявлял большую устойчивость к действию UV. Показатель Fv/Fm снижался к концу экспозиции в среднем на 15%. Через сут. после завершения серии экспозиций к UV величина Fv/Fm опытных образцов достоверно не отличалась от контрольных, тогда как у *L. pulmonaria* была почти на 25-30% ниже контрольных.

Неспецифической реакцией растений на повышенные дозы UV является развитие окислительного стресса, о чем может свидетельствовать накопление в клетках продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Ранее нами было выявлено, что листья световых растений *Plantago media* (подорожник средний) характеризовались более высоким уровнем ПОЛ, чем листья теневого фенотипа [12]. Мы связали это с воздействием избыточного количества ФАР на фотосинтетический аппарат световых листьев. Вместе с тем, инструментальные наблюдения показали, что интенсивность UV-облучения световых листьев в естественных условиях может достигать 16 Вт/м², причем доля UV-B составляла 5-7%. Суточная доза поступления UV в светлом местообитании на порядок выше, по сравнению с теневыми условиями. Очевидно, что UV-радиация вносит определенный вклад в развитие окислительного стресса у листьев световых растений. Листья растений *P. media*, произрастающих на открытом участке при высокой ФАР, фотосинтезировали активнее по сравнению с теневыми растениями и, следовательно, получали больше биохимической энергии и восстановленного углерода. По-видимому, это способствует ускорению репаративных процессов и повышению устойчивости к UV стрессу.

Таким образом, результаты наших экспериментов и данные других авторов свидетельствуют о чувствительности фототрофных организмов к повышенным, по сравнению с естественными, дозам ближней UV-радиации. Даже кратковременное воздействие нарушает функционирование фотосинтетического аппарата, вызывает развитие окислительного стресса, что приводит к торможению ростовых процессов и снижению продуктивности. Можно ожидать, что усиление потока ближней UV-радиации в результате глобальных климатических изменений и хроническое действие повы-

шенного уровня UV(A+B) нарушит функционирование чувствительных видов, повлияет на баланс в растительных сообществах и, как результат, вызовет изменения биоразнообразия.

Работа поддержана грантом УрО РАН (12-С-4-1015) и частично РФФИ (12-04-00554-а)

Литература

1. Christie J.M., Arvai A.S., Bachter K.J., Heilmann M., Pratt A.J., O'Hara A., Kelly S.M., Hothorn M., Smith B.O., Hitomi K., Jenkins G.I., Getzoff E.D. Plant UVR8 photoreceptor senses UV-B by tryptophan-mediated disruption of cross-dimer salt bridges// *Science* . 2012. V. 355. P.1492-1496.
2. Биоиндикация стратосферного озона / Под ред. В.В.Зуева. Новосибирск: СО РАН, 2006. 228 с.
3. Frohnmeyer H., Staiger D. Ultraviolet-B radiation-mediated responses in plants. Balancing damage and protection// *Plant Physiol.* 2003.V. 133. P. 1420-1428.
4. Fedina I.F., Velitchkova M.Y. Physiological responses of higher plants to UV-radiation// *Climate changes and crops. Environmental science and engineering/ Ed. Singh S.N. Berlin: Springer-Verlag, 2009. P. 283-305.*
5. Головкин Т.К., Захожий И.Г., Далькэ И.В., Малышев Р.В., Шелякин М.Д., Коковкина Е.В. Ультрафиолетовая радиация и ее воздействие на растения и экосистемы // Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных систем. Матер. X Всерос. науч.-практ. конф. с межд. участием. Книга 1. Киров, 2012. С.166-169.
6. Захожий И.Г., Шелякин М.А., Коковкина Е.В., Малышев Р.В. Физиологическая реакция листоватого лишайника *Lobaria pulmonaria* на низкотемпературный стресс и УФ радиацию// *Биомика*, 2012. Т.3. С.43-45.
7. Гармаш Е.В., Епова А.А. Сверхэкспрессия гена альтернативной оксидазы способствует поддержанию роста и развития растений арабидопсиса при действии УФ радиации // *Известия Самарского научного центра РАН*. 2013. Т. 15. С.1254-1257.
8. Kakani V.G., Reddy R.K., Zhao D., Sailaja K. Field crop responses to ultraviolet-B radiation: a review// *Agricultural and forest meteorology*. 2003. № 120. P. 191-218.
9. Канаш Е.В., Осипов Ю.А. Диагностика физиологического состояния и устойчивости растений (на примере УФ-В радиации). Методические рекомендации. СПб, 2008. 36 с.
10. Украинцев В.Д., Корепанов Д.А., Кондратьева Н.П., Бывальцев А.В. Влияние ультрафиолетового облучения на повышение посевных качеств семян хвойных// *Вестник Удмуртского ун-та*. 2011. Вып.1. С.132-137.
11. Дымова О.В., Головкин Т.К. Антоцианы – внепластидные пигменты флавоноидной природы в листьях растений бореальной зоны // *Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты*. Матер. докл. VIII Межд. симп. М.: ИФР РАН; РУДН, 2012. С. 265-270.
12. Головкин Т.К., Далькэ И.В., Захожий И.Г., Дымова О.В., Табаленкова Г.Н. Функциональная пластичность и устойчивость фотосинтетического аппарата *Plantago media* к фотоингибированию // *Физиол. раст.* 2011. Т.58. С.490-501.

EFFECTS OF UV-RADIATION ON PLANT FUNCTIONS AND PHOTOSYNTHESIZING CELLS

Golovko T.K., Zakhoziy I.G., Dalke I.V., Kokovkina E.V., Malishev R.V.

UV-radiation, plants, lichens, functions, photosynthetic apparatus, resistance

Overview of evidences and own results of studies of the plant functions and photosynthesizing cells reactions to UV treatments are presented. The effects of UV-B on plants are strongly depended on species, plant age and developmental stage, and microclimatic conditions. In most cases the inhibition of photosynthetic activity, growth and productivity are observed.

СОВРЕМЕННАЯ МЕТОДОЛОГИЯ ИЗУЧЕНИЯ АДАПТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА ЗЕРНОВЫХ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В СЕЛЕКЦИИ РАСТЕНИЙ

Гончарова Э.А., Чесноков Ю.В.

ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства
им. Н.И. Вавилова РАСХН, ул. Б. Морская, 42-44, г. С.-Петербург,
190000, Россия, E-mail: e.goncharova@vir.nw.ru; yu.chesnokov@vir.nw.ru

зерновые, методология, адаптация

В связи с тем, что население земного шара увеличивается быстрыми темпами, важной становится задача интенсификации сельскохозяйственного производства. Рост посевных площадей затруднен из-за нехватки воды и высокой стоимости энергоносителей, более того часть пахотных земель ежегодно выводится из севооборота под действием различных антропогенных и абиотических факторов. Поэтому основным способом увеличения продукции растениеводства является создание сортов, обладающих высоким потенциалом адаптации к экстремальным условиям среды.

Поиск путей ослабления или устранения отрицательного влияния экстремальных условий на продуктивность всех сельскохозяйственных растений – актуальная задача. Для её успешного решения необходимо выяснение особенностей и биологических причин снижения урожая в неблагоприятных условиях.

Характеризуя различные сельскохозяйственные культуры и их разные сорта как высоко- или низкоурожайные, необходимо учитывать, что уровень продуктивности сорта – наследуемый, генетически закрепленный признак. Однако этот признак говорит лишь о потенциальной возможности сорта к образованию той или иной величины урожая, но реализация этой возможности зависит от условий среды.

Многочисленными экспериментами установлено, что экстремальные условия в разной степени подавляют ростовые процессы и снижают урожай, воздействуя на растения в разные фазы онтогенеза (Удовенко, Гончарова, 1982). Зерновые культуры наиболее чувствительны к экологическим стрессам в период появления и начала развития всходов. В стрессовых условиях у растений, как правило, снижается оводненность тканей и происходит перераспределение подфонов воды – возрастает количество трудноизвлекаемой и резко снижается содержание слабосвязанной воды. В результате снижается подвижность воды в растении и активность метаболизма, но возрастает водоудерживающая способность тканей и устойчивость организма к экстремальным воздействиям (Гончарова, 2005, 2011). Даже кратковременный водный стресс не проходит для растения бесследно, а глубина нарушения водного режима определяется не только силой и продолжительностью засухи, но зависит от возраста, фазы развития и физиологического состояния, как отдельных органов, так и целого растения.

Отношение растений к переменным условиям температуры и влажности обуславливается процессами регуляции водного режима – величиной поглатительной и выделительной способности корня, транспирацией, регуляцией барьерной системы для свободного передвижения воды и ионов и др. В факторостатных опытах достоверно показано, что зерновые растения реагируют вначале на температурные условия вегетации, позднее – на условия водоснабжения и еще позднее – на действие удобрений. Оптимизация минерального питания увеличивает приток пластических веществ к формирующимся зерновкам, а интенсивность этих процессов зависит от терморежима в период роста и налива зерна (Удовенко, 1996; Гончарова, 2005).

Существует несколько подходов к оценке реакции генотипа к лимитирующим факторам среды. Наиболее традиционным является гибридологический анализ в многолетних полевых испытаниях, но он является наиболее длительным и трудоемким. Более ускоренный спо-

соб - это моделирование комплекса средовых факторов с помощью различной фитотронной и биофизической аппаратуры, позволяющих контролировать условия роста и развития растений, при этом оценивая морфологические и физиологические параметры в моделируемых условиях.

Традиционные методы селекции являются трудоемкими, энергозатратными и продолжительными по времени, но быстрое развитие молекулярной генетики позволяет разрабатывать новые методики в селекции растений на основе последних достижений. Молекулярно-генетический подход к оценке взаимодействия генотип-среда основан на использовании различных молекулярных маркеров и хромосомных карт. Этот метод позволяет существенно сократить полевые испытания для оценки и отбора перспективных генотипов по определенным признакам. Сейчас имеется целый ряд молекулярных маркеров, локализованных на хромосомах с достаточным разрешением, с помощью которых можно решать различные задачи, направленные, в конечном итоге, на увеличение продуктивности и, при этом, сократить время селекционного процесса (Чесноков и др., 2008; Чесноков, 2012, 2013). Хромосомные карты пшеницы и , базы данных генов и молекулярных маркеров имеются в свободном доступе в сети Интернет (<http://wheat.pw.usda.gov/ggpages/germplasm.shtml>).

Но самостоятельное использование ограничивает недостаточное количество молекулярных маркеров тесно сцепленных с фенотипическими признаками, поэтому был разработан метод картирования локусов количественных признаков (QTL). Этот метод позволяет выявить на хромосомной карте составленной с помощью молекулярных маркеров (AFLP, SSR и др.) участки (локусы) определяющие наибольшую изменчивость изучаемого признака. К сожалению большинство хозяйственно-ценных признаков растений контролируется полигенно-полимерными системами, что сильно затрудняет разработку однозначного молекулярного маркера к такому признаку (Чесноков, 2013).

Наиболее перспективным, на наш взгляд, представляется объединение методов классической селекции и молекулярной генетики. При таком подходе появляется возможность определять наличие ценных аллелей у родительских форм и у гибридного потомства не проводя многолетних полевых испытаний, а с помощью лабораторных исследований и по результатам одного года выявить те гибриды, несущие хромосомные вставки того из родителей, который обладает наибольшим выражением изучаемых признаков.

Литература

1. Гончарова Э.А. Водный статус культурных растений и его диагностика. СПб: ВИР. 2005. 125 с.
2. 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.
3. Удовенко Г.В. Реакция растений на различие уровней минерального питания при разных термогидрорежимах // Агрохимия. 1996. №7. с. 22-34
4. Удовенко Г.В., Гончарова Э.А. Влияние экстремальных условий среды на структуру урожая сельскохозяйственных растений. Л.: Гидрометеоиздат. 1982. 144 с.
5. Чесноков Ю.В., Почепня Н.В., Бёрнер А., Ловассер У., Гончарова Э.А., Драгавцев В.А. Эколого-генетическая организация количественных признаков растений и картирование локусов, определяющих агрономически важные признаки у мягкой пшеницы.// Доклады Академии наук. 2008. Т.418, №5. С.693-696
6. Чесноков Ю.В., Почепня Н.В., Козленко Л.В., Ситников М.Н., Митрофанова О.П., Сюков В.В., Кочетков Д.В., Ловассер У., Бёрнер А. Картирование QTL, определяющих проявление агрономически и хозяйственно ценных признаков у яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) в различных экологических регионах России // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2012. Т.16, №4/2. с.970-986
7. Чесноков Ю.В. Молекулярно-генетические маркеры и их использование в селекционных исследованиях. СПб.: АФИ. 2013. 116 с.

**MODERN METHODOLOGY OF INVESTIGATION OF ADAPTIVE POTENTIAL OF
CEREALS FOR USING IN PLANT BREEDING**

Goncharova E.A., Chesnokov Yu.V.

cereals, methodology, adaptation

It is shown that conventional approaches of investigation of adaptive potential with connection of plant productivity are hard and time consumable, in comparison with modern molecular-genetic approaches, which are used for genotype-environment interaction.

**МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ОБЛЕПИХИ КРУШИНОВОЙ
(*HIPPOPHAE RHAMNOIDES L.*) НА РАЗНЫХ ЛАНДШАФТНЫХ УЧАСТКАХ
БАЛТИЙСКОЙ КОСЫ**

Горохова А.А., Коршикова Н.Г., Паракшина Э.М.

ФГБОУ ВПО «Калининградский государственный технический университет»,
Советский пр., 1, г. Калининград, 236022, Россия, E-mail: agronomia@mail.ru

Hippophae rhamnoides L., побеги, листья, плоды, почвы

Введение

Результаты исследований природных популяций облепихи, проведенные в целях создания информационной базы использования биологических ресурсов Калининградской области, свидетельствуют о широком распространении облепихи крушиновой [1, 2]. Определена общая площадь произрастания – около 1150 га, и ее приуроченность к определенным участкам побережий Балтийского моря и Калининградского залива, в том числе и территории Балтийской косы. Ее заросли отмечены нами на дюнных ландшафтах, сложенных отсортированными эоловыми песками с равномерно развитым и несплошным почвенным покровом, с преимущественным участием примитивных малоразвитых песчаных почв, характерной особенностью которых служит нейтральная или слабощелочная реакция почвенного раствора (рНН₂O), обязанная импัลверизации солей.

Елисеев И.П. [3] характеризует местную популяцию облепихи как прибалтийский климатип, являющийся реликтом плейстоценовой геологической эпохи. Длительное воздействие сурового климата на популяцию облепихи способствовало естественному отбору, в результате которого сохранились зимостойкие низкорослые формы. Особенный интерес представляют популяции облепихи на Балтийской косе, где условия произрастания приближены к заповедным условиям в силу удаленности и малодоступности для большинства населения. Обширность ареала и все вышеупомянутые достоинства обуславливают актуальность изучения эколого-биологических и биохимических особенностей облепихи в современных ландшафтно-экологических условиях Балтийской косы. Большой интерес также представляет выявление основных направлений использования биологического потенциала облепихи.

Материалы и методы

Исследования проводили на Балтийской косе на основных элементах ее ландшафта: побережьях Балтийского моря и Калининградского залива, а также центральной части косы осенью 2013 года. В качестве объекта исследования взяты природные популяции облепихи крушиновой. Маршрутным методом исследования было выделено шесть ключевых участков. На каждом участке отобрали по три визуально различающихся морфологическими признаками формы. С каждого растения взяли наиболее типичные побеги с плодами из средней части кроны в трех повторностях. Морфометрические измерения проводили стандартными методами, оценивая: размеры листьев по двум параметрам, количество колючек на 10 см побега, количество плодов на 10 см побега и сырую массу плодов с 10 см побега. Оценивали также окраску плодов, характер отрыва плода (легкий – затрудненный, сухой – мокрый). В работе применены традиционные методы геоботанических и почвенных исследований. Результаты морфометрических показателей обработаны статистически. В таблице представлены средние арифметические значения.

Результаты и обсуждение

Анализ исследованных форм облепихи показал высокий уровень полиморфизма по всем признакам. Все формы значительно различались по размеру листьев, околюченности побегов, окраске и размеру плодов, их количеству на побеге и массе. Размер листьев варьировал от 2,5 см до 5,3 см в длину и от 0,3 см до 0,9 см в ширину. У формы 3.3 листья отличались темно-зеленой окраской, тогда как типичная окраска листьев – серовато-зеленая.

На первом и втором участках выделенные формы имели большее число колючек на побегах – 5-8 штук на 10 см побега. Остальные формы имели по 2-3 колючки на соответствующую часть побега.

Значительно варьировали количество плодов на побеге и их сырая масса. Выделяются следующие группы: - большое число плодов (больше 50 шт.) и небольшая их масса (16 -20г.) на третьем и шестом участках; - небольшое число плодов (20 – 40 шт.) и значительная их масса на четвертом участке; - средние показатели по данным признакам.

Большое значение имеет технологичность культуры, которая играет роль при уборке плодов и их транспортировке. На это влияет такой признак как легкость отрыва плода без разрушения экзодермы. У большинства выделенных форм наблюдали хороший и сухой отрыв плодов. Плохо отделяемые плоды имели формы 2.1, 3.1, 4.1, 4.2, 4.3. Окраска плодов изменялась от светло-желтой до желтой, желто-оранжевой и оранжевой. Ранее исследователями была выявлена зависимость окраски плода от содержания в них витамина С и каротиноидов. В желтых плодах больше витамина С, а в оранжевых – каротиноидов.

Выявленный полиморфизм по изучаемым признакам представляет большой интерес для дальнейшего изучения форм облепихи и отбора наиболее перспективных для селекции и размножения. Необходимы мониторинговые наблюдения за экологическим состоянием, охраной и расширением ареалов распространения облепихи крушиновой, поскольку возрастание интенсивности как природного (штормы), так и антропогенного разрушения дюнных ландшафтов повсеместно отмечают нами в последние пятнадцать лет [4, 5]. Установлено, что на участках, защищенных облепихой крушиновой и розой морщинистой, интенсивность переноса песчаного материала по сравнению с участками, покрытыми разреженными зарослями розы морщинистой понижается в 10 – 12 раз, а по сравнению с незащищенной поверхностью в 30 – 40 раз.

Литература

1. Дедков, В.П. Облепиха крушиновая (*Hippophae rhamnoides* L.) в Калининградской области / В.П. Дедков и др. //Теоретические и прикладные аспекты экологии и биологии: межвуз. сб.ст. – Калининград: Изд-во КГУ, 2001. – С.13-17.
2. Дедков, В.П. Новые данные о продуктивности плодов облепихи (*Hippophae rhamnoides* L.) произрастающей в Калининградской области / В.П. Дедков, Ю.В. Фещенко //Ботанические исследования в азиатской России: материалы XI съезда Русского ботанического общества.- Барнаул: АзБука, 2003.- Т.3.-С.81-82.
3. Елисеев И.П. Формирование популяции и экотипов *Hippophae rhamnoides* L. / И.П. Елисеев // Плодово-ягодные культуры. – 1974.-Т.77.-С.4-10.
4. Паракшина Э.М. Мониторинг интегративной эрозии почв / Э.М.Паракшина, О.А.Ковальчук, Н.Г. Коршикова и др.// Методическое обеспечение мониторинга земель сельскохозяйственного назначения: материалы всероссийской научной конференции. – М.: Почв. ин-т им. В.В.Докучаева РАСХН, 2010. – с. 412-416.
5. Терентьева М.Ю. Эрозия почв западной части Калининградского эксклава / М.Ю. Терентьева. – Калининград: Изд-во «КГТУ», 2005. – 204 с.

MORPHOBIOLOGICAL PARAMETERS OF HIPPOPHAE RHAMNOIDES L. ON DIFFERENT LANDSCAPE SITES BALTIC SPIT

Gorohova A.B., Korshikova N.G., Parakshina E.M.

Hippophae rhamnoides L., shoots, leaves, fruits, soil

Results of studying morphobiological parameters of sea-buckthorn berries (*Hippophae rhamnoides* L.) on different landscape sites Baltic spit are submitted to the Kaliningrad area. The estimation soils the chosen key sites is carried out (spent.) The high degree of polymorphism to investigated attributes is revealed.

Таблица 1 - Морфометрические признаки выделенных форм облепихи на шести ключевых участках

Table 1 - Morphobiological characteristic of the allocated forms *Hippophae rhamnoides* L. on sixth key sites

Признаки	Ключевые участки/формы																	
	1			2			3			4			5		6			
	1.1	1.2	1.3	2.1	2.2	2.3	3.1	3.2	3.3	4.1	4.2	4.3	5.1	5.2	6.1	6.2	6.3	
Лист, длина ширина, см	$\frac{3,3}{0,5}$	$\frac{2,5}{0,3}$	$\frac{4,2}{0,5}$	$\frac{4,3}{0,5}$	$\frac{3,3}{0,3}$	$\frac{4,4}{0,5}$	$\frac{4,6}{0,8}$	$\frac{5,1}{0,5}$	$\frac{5,3}{0,9}$	$\frac{3,6}{0,6}$	$\frac{4,7}{0,5}$	$\frac{4,4}{0,5}$	$\frac{5,0}{0,9}$	$\frac{5,4}{0,6}$	$\frac{4,7}{0,6}$	$\frac{4,3}{0,6}$	$\frac{4,7}{0,5}$	
Количество колючек на 10 см побега, шт	5,6	5,0	4,0	6,0	7,0	8,0	2,3	3,0	1,6	2,3	1,6	3,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	
Количество плодов на 10 см побега, шт	31,0	26,3	32,3	12,0	26,3	32,3	57,0	57,3	57,3	20,3	41,0	31,0	23,3	16,3	62,6	55,0	50,0	
Масса плодов на 10 см побега, г	9,3	7,6	6,0	12,0	16,3	17,3	16,6	10,0	19,3	31,1	30,3	26,0	13,6	12,3	24,6	22,3	21,3	

ВЛИЯНИЕ РИБАВ-ЭКСТРА НА СКОРОСТЬ ГЕНЕРАЦИИ СУПЕРОКСИДНОГО АНИОНА В ЛИСТЯХ ПШЕНИЦЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

Грузнова К.А., Башмаков Д.И., Лукаткин А.С.

ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва»,
ул. Большевикская, 68, г. Саранск, 430000, Россия, E-mail: krissaz@rambler.ru*Triticum aestivum L., тяжелые металлы, окислительный стресс, генерация супероксидного анион-радикала, регуляторы роста, Рибав-Экстра*

В последние годы развивается теория возникновения окислительного стресса в клетках растений при действии тяжелых металлов (ТМ) [1–5]. В растениях активированные формы кислорода (АФК) образуются главным образом в хлоропластах, митохондриях и плазмалемме, как результат возбуждения атомов кислорода или окислительно-восстановительных реакций [6, 7]. Показано, что ТМ могут индуцировать образование отдельных АФК в клетках растений [8]. Индуцированная ТМ продукция АФК может происходить вследствие непосредственного переноса электронов в реакциях, опосредованных ионами переходных металлов; нарушений метаболических процессов, приводящих к возрастанию генерации АФК; инактивации антиоксидантных ферментов; а также подавления неферментативных антиоксидантов [4, 9]. В настоящее время разрабатываются различные способы нейтрализации вредного для растений воздействия ТМ, и все больший интерес представляют биологически активные вещества – регуляторы роста, которые применяются в качестве защиты и повышения устойчивости растений к биотическим и абиотическим факторам [10, 11]. Природный регулятор Рибав-Экстра – продукт метаболизма микоризных грибов, выделенных из корней женьшеня, который содержит большое количество биологически активных веществ [12]. Ранее была показана высокая эффективность препарата в плане повышения устойчивости проростков кукурузы в условиях температурного стресса [13]. Целью работы было изучение возможности Рибав-Экстра снижать генерацию АФК при стрессорном действии ТМ в растениях пшеницы.

Объектом исследования служили 7-дневные проростки пшеницы (*Triticum aestivum L.*) сорта Мироновская 808. Обеззараженные раствором перманганата калия семена замачивали 8чв растворе Рибав-Экстра (10-4 %), контроль – в дистиллированной воде. Затем семена переносили на растворы, содержащие 1мМ или 10 мкМ ионов Cu^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} или Zn^{2+} , контролем служили растения, выращенные на дистиллированной воде. Рост проростков проходил в факторостатных условиях (освещенность 200 мкМ фотонов/м²·с, фотопериод 14 ч, температура 21 °С). На 7-е сут. спектрофотометрическим методом определяли скорость генерации супероксидного анион-радикала (в основе метода – способность этого радикала превращать адреналин в адренохром) [14]. Статистическую достоверность различий средних оценивали с применением дисперсионного анализа по методу Дункана.

Для сравнительной оценки степени токсичности ТМ в листьях пшеницы определяли уровень генерации одной из наиболее быстро образующихся АФК – супероксидного анион-радикала [8]. Известно, что стресс-индуцированное усиление генерации $\text{O}_2^{\cdot-}$ имеет временный, преходящий характер; это показано при действии пониженных температур на теплолюбивые растения [14]. В наших опытах обнаружено, что в проростках пшеницы ионы ТМ в некоторых вариантах индуцировали повышенную генерацию супероксидного анион-радикала по отношению к контролю (рис.). На фоне ионов меди зарегистрировано повышение стационарного уровня супероксида на 25% и на 66 % на фоне 10 мкМ и 1 мМ, соответственно. При действии 10 мкМ ионов никеля отмечено увеличение скорости генерации супероксидного анион-радикала на 33 % относительно водного контроля. Максимальный уровень супероксида (236 % к контролю) отмечен при выращивании растений в среде, содержащей 1

мМ Ni²⁺. В то же время на фоне ионов Pb²⁺ и Zn²⁺ превышения контроля по генерации супероксида не выявлено. При рассмотрении концентрационных эффектов ТМ на генерацию O₂^{·-} обнаружено, что в опыте с Cu²⁺ и Ni²⁺ увеличение концентрации ТМ в среде приводило к повышению скорости генерации супероксида в листьях пшеницы, тогда как в случае с ионами Pb²⁺ увеличение концентрации ТМ достоверно не изменяло стационарный уровень O₂^{·-}, а при обработке Zn²⁺ происходило снижение уровня супероксида.

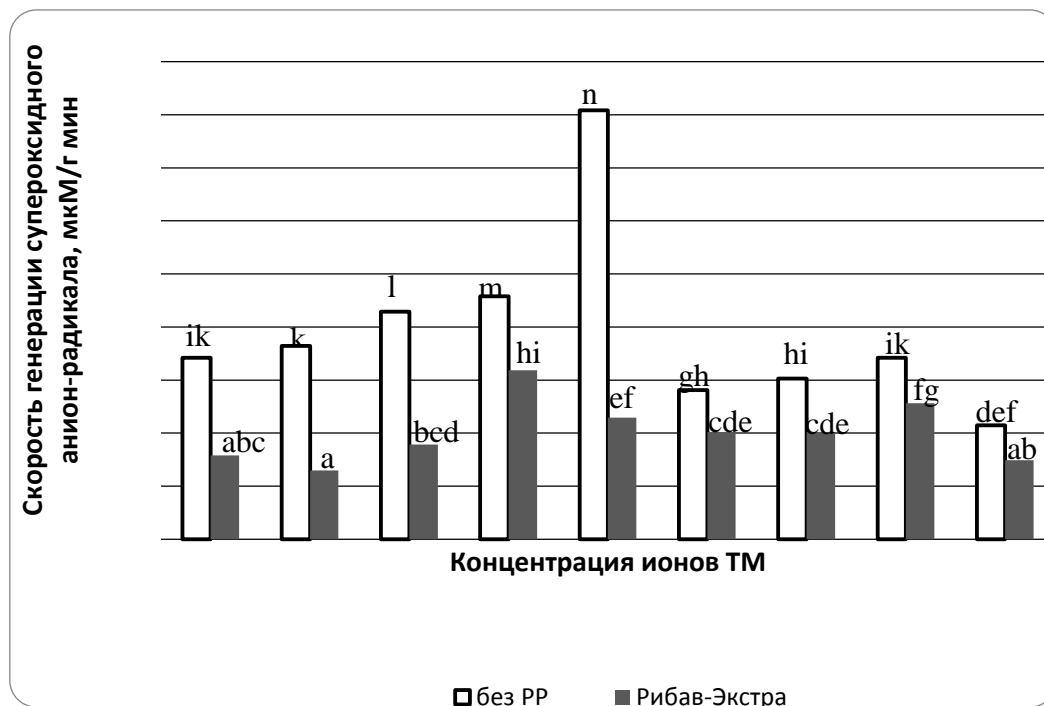


Рисунок 1 - Влияние ионов ТМ и Рибав-Экстра на скорость генерации супероксидного анион-радикала в листьях растений пшеницы. Различные буквы на диаграмме означают достоверно различающиеся значения.

Figure 1 - Ribav-Extra influences on superoxide anion level in leaves of *Triticum aestivum* seedlings treated by heavy metals, µM/g min.

У растений, обработанных регулятором роста Рибав-Экстра (без воздействия ионов ТМ), стационарный уровень радикала был ниже, чем у контрольных растений, на 54 %. В опытах с совместным воздействием регулятора и ТМ выявлено, что Рибав-Экстра наиболее эффективно снижал скорость генерации O₂^{·-} на фоне ионов Cu²⁺ (на 62 и 48 % при 10 мкМ и 1 мМ, соответственно). Менее эффективен оказался препарат при воздействии 1 мМ ионов Ni²⁺ (стационарный уровень O₂^{·-} снизился на 33 % по отношению к водному контролю). На фоне действия ионов Zn²⁺ скорость генерации составила при субоптимальной концентрации 75 %, при сублетальной – 44 % относительно водного контроля. При действии ионов свинца стационарный уровень радикала был на 41 % ниже контроля. При расчете относительного снижения скорости генерации O₂^{·-} посредством обработки Рибав-Экстра (по сравнению с необработанными растениями) показано уменьшение генерации O₂^{·-} (при 10 мкМ и 1 мМ, соответственно): на фоне ионов Cu²⁺ – на 64 % и 58 %, ионов Ni²⁺ – на 31 % и 72%, ионов Zn²⁺ – на 25% и 31%, ионов Pb²⁺ – на 28 и 33 %.

Таким образом, максимальную скорость генерации супероксидного анион-радикала индуцировали ионы никеля, минимальную – ионы цинка. Рибав-Экстра способствовал частичному снижению стационарного уровня радикала в листьях растений пшеницы. Наиболее эффективен препарат был на фоне ионов Cu²⁺ и Ni²⁺.

Литература

1. Briat J. F., Lebrun M. Plant responses to metal toxicity // *Plant Biology and Pathology*. 1999. V. 322. No. 1. P. 43 – 54.
2. Деви С. Р., Прасад М. Н. В. Антиокислительная активность растений *Brassica juncea*, подвергнутых действию высоких концентраций меди // *Физиология растений*. 2005. Т. 52. С. 205 – 208.
3. Полесская О.Г. Растительная клетка и активные формы кислорода. М.: КДУ. 2007. 140 с.
4. Башмаков Д. И., Лукаткин А.С. Эколого-физиологические аспекты аккумуляции и распределения тяжелых металлов у высших растений / под общ. ред. проф. А. С. Лукаткина. Саранск : Изд-во Мордов. ун-та, 2009. 236 с.
5. Прадедова В., Ишеева О. Д., Саляев Р. К. Ферменты антиоксидантной защиты вакуолей клеток корнеплодов столовой свеклы // *Физиология растений*. 2011. Т.58. № 1. С.40 – 48.
6. Лукаткин А. С. Холодовое повреждение теплолюбивых растений и окислительный стресс. Саранск : Изд-во Мордов. ун-та, 2002а. 208 с.
7. Колупаев Ю. Е., Карпец Ю. В. Формирование адаптивных реакций на действие абиотических стрессоров. К. : Основа, 2010. 352 с.
8. Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance // *Trends in Plant Science*. 2002. V. 7. Issue 9. No. 1. P. 405 – 410.
9. Dietz K.-J., Baier M., Kramer U. Free radicals and reactive oxygen species as mediators of heavy metal toxicity in plants // *Heavy Metal Stress in Plants – From Biomolecules to Ecosystems* / Eds. M. N. V. Prasad, J. Hagemeyer. Berlin : Springer-Verlag, 1999. P. 73–97.
10. Лукаткин А. С., Пугаев С. В., Пугаев А. В. Синтетические регуляторы роста как индукторы холодоустойчивости и продуктивности растений // *Регуляторы роста и развития растений в биотехнологиях : Тез. докл. 6 Междунар. конф. М. : Изд-во МСХА, 2001. С. 108–109.*
11. Серегин И. И. Возможность применения регуляторов роста для снижения негативного действия кадмия на рост, развитие и продуктивность яровой пшеницы // *Агрехимия*. 2004. № 1. С. 71–74.
12. Павлов Л.В., Кондратьева И.Ю., Бурцева Т.В. Повышаем всхожесть томата экологически безопасным препаратом Рибав-экстра // *Овощеводство и тепличное хозяйство*. 2007. № 4. С. 10-11.
13. Лукаткин А.С., Каштанова Н.Н., Котлова Т.А. Влияние препарата Рибав-Экстра на рост и проницаемость мембран у проростков кукурузы в условиях температурного стресса // *Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского*. 2013. №1, ч. 1. С. 151–157.
14. Лукаткин А.С. Вклад окислительного стресса в развитие холодового повреждения в листьях теплолюбивых растений. 1. Образование активированных форм кислорода при охлаждении растений // *Физиология растений*. 2002b. Т.49, № 5. С. 697-702.

THE GROWTH REGULATOR RIBAV-EXTRA INFLUENCES ON SUPEROXIDE ANION LEVEL IN LEAVES OF TRITICUM AESTIVUM SEEDLINGS TREATED BY HEAVY METALS

Gruznova K.A., Bashmakov D.I., Lukatkin A.S.

Triticum aestivum L., heavy metals, oxidative stress, superoxide anion generation, plant growth regulators, Ribav-Extra

Influence of a growth regulator Ribav-Extra (10⁻⁴ %) and heavy metals (HMs) on superoxide anion generation in leaves of *Triticum aestivum* L. seedlings was investigated. It was registered that HMs raised superoxide anion generation in wheat plants. Ribav-Extra promoted partial decrease in superoxide anion level in wheat leaves. The preparation was most effective against ions of Cu²⁺ and Ni²⁺.

ПОРАЖЕНИЕ ФУЗАРИОЗОМ РАЗНЫХ СОРТОВ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ КАЛИНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

Давыдова Е.А.¹, Чупахина Г.Н.²

¹ Филиал ФГБУ «Россельхозцентр» по Калининградской области, г. Калининград, ул. Еловая аллея, 8, 236038, Россия, E-mail: rsc39@mail.ru

² ФГАОУ ВПО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», ул. А. Невского, 14, г. Калининград, 236041, Россия, E-mail :tchoupakhina@mail.ru

фузариоз колоса, озимая пшеница, дезоксиниваленол

Фузариоз колоса относится к одному из самых опасных заболеваний зерновых. Наряду с потерями урожая, вызванными снижением полевой всхожести семян, уменьшением количества зерен в колосе, фузариоз может приводить к накоплению в собранном урожае опасных микотоксинов, таких как дезоксиниваленол (ДОН), зearаленон [1].

В последние годы в Калининградской области, как и в целом по России, отмечается рост зараженности посевов пшеницы фузариозом колоса. В связи с этим в 2013 году по заданию Министерства сельского хозяйства Калининградской области филиал ФГБУ «Россельхозцентр» проводил фитосанитарный мониторинг зараженности фузариозом колоса (ФК) посевов озимой пшеницы в хозяйствах области и анализ зерна пшеницы на наличие дезоксиниваленола.

Фитосанитарный мониторинг осуществлялся согласно действующим рекомендациям по фитосанитарной экспертизе семян зерновых культур. На посевах визуально выявлялись признаки поражения растений ФК (*Fusarium graminearum* Schw., *Fusarium avenaceum* Sacc). В процессе проведения обследований определялись площадь зараженных фузариозом посевов и основные показатели, позволяющие объективно характеризовать их фитосанитарное состояние: распространенность (частота встречаемости) и интенсивность развития болезни (поражения растения). Интенсивность поражения колосьев пшеницы фузариозом определяли количественно [2].

Анализ проб зерна на наличие микотоксина дезоксиниваленола проводился с использованием жидкостного хроматографа «Хромос ЖХ-301» со спектрофотометрическим детектором, государственного стандартного образца ДОНа. Подготовка проб и выполнение измерений массовой концентрации микотоксинов проводились согласно МУК 4.1.787-99 «Определение массовой концентрации микотоксинов в продовольственном сырье и продуктах питания. Подготовка проб методом твердофазной экстракции» и «Методике выполнения измерений массовой доли микотоксинов в пищевых продуктах и продовольственном сырье методом высокоэффективной жидкостной хроматографии БСТ-МВИ-02-01», разработанной ЗАО «БиоХимМакСТ» [3,4].

Оценка содержания микотоксинов (на основании МДУ) осуществлялась согласно государственным нормативным документам, регламентирующим санитарно-гигиенические требования к качеству и безопасности зерна [5].

Проявления фузариоза контролировались в течение всего периода вегетации. Определялись распространенность (P,%) и интенсивность развития болезни (R,%).

Был проведен анализ содержания дезоксиниваленола в 83 пробах зерна озимой пшеницы разных сортов. Результаты представлены в табл. 1.

Таблица 1 - Развитие фузариоза колоса и содержание дезоксиниваленола в пробах озимой пшеницы разных сортов

Table 1 - The development of *Fusarium* ear and content deoxynivalenol in samples of winter wheat different sorts

Сорт пшеницы	% проб	Содержание ДОНа, мг/кг			Фузариоз колоса		Протравитель (основное действующее вещество)	Фунгициды (основные действующие вещества)
		среднее	max	min	P, %	R, %		
Московская 56	6,1	0,495	1,679	0,008	7,3	1,8	тритиконазол	пираклостробин эпоксиконазол
	1,2	-	0,016	-	2	0,5	тебуконазол	тебуконазол
Пико	3,7	0,186	0,414	0,069	10	2,5	тритиконазол	пираклостробин эпоксиконазол
Скипетр	2,4	0,181	0,361	-	13	3,25	флудиоксонил	тебуконазол
	4,9	0,078	0,308	0,005	10,2	2,55	тритиконазол	карбендазим
	1,2	-	0,223	-	9,2	2,3	тебуконазол	тебуконазол
Корунд	3,7	0,072	0,202	0,015	12,2	3,05	тритиконазол	тебуконазол
	6,1	0,015	0,046	0,031	8	2	тебуконазол	тебуконазол
	1,2	-	0,071	-	11	3,5	дифеноконазол	пропиконазол ципроконазол азоксистробин
Зентос	10,9	0,03	0,17	0,008	17	4,25	тритиконазол	тебуконазол
	7,3	0,008	0,05	-	5	1,25	тебуконазол	тебуконазол
	1,2	-	0,029	-	12,2	3,05	дифеноконазол	тебуконазол
Аронт	1,2	-	0,066	-	6	1,5	тебуконазол	пираклостробин эпоксиконазол
Торрилд	4,9	0,003	0,013	-	13	3,25	тритиконазол	пираклостробин эпоксиконазол
Торас	1,2	-	0,005	-	16	5,25	тритиконазол	тебуконазол
Самурай	4,9	0,001	0,005	-	9,9	2,47	дифеноконазол	пираклостробин эпоксиконазол

Из таблицы видно, что максимальная распространенность болезни отмечена на озимой пшенице сортов «Зентос» (17 %), «Торас» (16%), «Скипетр» (13%) и «Торрилд» (13%) при максимальной интенсивности поражения растений 4,25%, 5,25%, 3,25% и 3,25%, соответственно. Таким образом, данные сорта оказались наиболее восприимчивыми к фузариозу.

Против комплекса семенной инфекции перед севом семена протравливались препаратами на основе тритиконазола, тебуконазола, флудиоксонила, дифеноконазола. Протравливание семян снижает их инфицированность, но не защищает колос. Поэтому в период вегетации проводились фунгицидные обработки посевов. В основном использовались фунгициды на основе стробилурина и фунгициды азольной группы.

Причиной почти повсеместного проявления фузариоза в Калининградской области стала монокультура злаков, внесение повышенных доз азотных удобрений, заболевание снежной плесенью и корневые гнили фузариозного характера в комплексе с метеоусловиями [6].

В 31 пробе озимой пшеницы из 83 проанализированных содержание дезоксиноваленола не превышало МДУ, в одной пробе установлено превышение максимально допустимого уровня («Московская 56» - 1,679 мг/кг). МДУ содержания дезоксиниваленола для пшеницы – 0,7 мг/кг.

В сельском хозяйстве Калининградской области преимущественно высевается озимая пшеница сортов: «Корунд», «Зентос», «Московская 56», «Пико» и др. Анализ зараженности

различных сортов ФК показал, что практически во всех сортах озимой пшеницы встречаются зараженные растения. Развитие этого заболевания сопровождается накоплением микотоксина дезоксиниваленола, по этому показателю различные сорта озимой пшеницы отличаются в значительных пределах. Если пробы пшеницы сортов «Московская 56», «Пико», «Скипетр» содержали от 1,679 до 0,361 мг/кг, то пробы «Самурая», «Тораса», «Торрилда» содержали значительно меньшее количество дезоксиниваленола, хотя использованные в период вегетации фунгициды в случае «Московской 56», «Пико», «Торрилда», «Аронта» и «Самурая» были одинаковыми.

В данном случае можно говорить о сортовой устойчивости озимой пшеницы к поражению фузариозом. Эти данные могут оказаться полезными для биотехнологии при генно-инженерном конструировании сортов, устойчивых к фузариозу.

Литература

1. Григге Г., Герхард М., Хабермайер И. и др. Грибные болезни зерновых культур / Под ред. Ю.М.Стройкова. – Совместное издание Ландвиртшафтсферлаг, Мюнстер и БАСФ АГ, Лимбургерхоф, 2004. – 192 с.

2. Фитосанитарная экспертиза зерновых культур. (Болезни растений): Рекомендации. – М., 2002. – 140 с.

3. Определение массовой концентрации микотоксинов в продовольственном сырье и продуктах питания. Подготовка проб методом твердофазной экстракции: Методические указания. МУК 4.1.787-99. – М., 1999. – 30 с.

4. Методика выполнения измерений массовой доли микотоксинов в пищевых продуктах и продовольственном сырье методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. БСТ-МВИ-02-01. – М., 2001. – 24 с.

5. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы с изменениями и дополнениями: Сборник. – М., 2009. – 267 с.

6. Обзор фитосанитарного состояния посевов сельскохозяйственных культур в 2013 г. и прогноз на 2014 г. / М-во сел. хоз-ва РФ, филиал ФГБУ «Россельхозцентр» по Калининградской обл.; сост. В.М.Попова и др. – Калининград, 2013. – 91 с.

THE FUSARIUM DIFFERENT VARIETIES OF WINTER WHEAT IN THE CONDITIONS OF THE KALININGRAD REGION

Davydova E.A., Tchupakhina G.N.

Fusarium head blight, winter wheat, deoxynivalenol

Analyzed 9 varieties of winter wheat on the incidence of *Fusarium* and presence in grain deoxynivalenol. It is shown that less resistant to this disease was varieties «Zentos», «Toras», «Ski-petr» and «Torrild».

**СТРУКТУРНЫЕ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ
КОНКУРЕНТОСПОСОБНОСТИ БОРЩЕВИКА СОСНОВСКОГО
ЗА ПРЕДЕЛАМИ ЕСТЕСТВЕННОГО АРЕАЛА**

Далькэ И.В., Чадин И.Ф., Малышев Р.В., Захожий И.Г., Маслова С.П., Табаленкова Г.Н.

ФГБУН Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, ул. Коммунистическая, 28, г. Сыктывкар,
167982, Россия, E-mail: dalke@ib.komisc.ru

свет, пигменты, фотосинтез, транспирация, азот, почки, семена, инвазия

Проблема инвазий видов - вселенцев в природные экосистемы носит глобальный характер. Мультидисциплинарный подход в исследованиях этих видов позволяют оценить актуальное и потенциальное распространение и уровень их экологической опасности [1, 2]. Примером инвазии могут служить гигантские борщевики рода *Heracleum*. Естественный ареал борщевика Сосновского (*Heracleum sosnowskyi* Manden.) – Кавказ. На территории бывшего СССР борщевик был введен в культуру как кормовое растение во второй половине XX века. В конце 80-х вид распространился за пределы агроценозов, стал занимать нарушенные территории, обочины дорог. Целью работы было изучить структурно-функциональные особенности обеспечивающие конкурентоспособность борщевика Сосновского в процессе расселения.

В ценопопуляции борщевика Сосновского площадью 2.3 га (61.645622 с.ш., 50.758931 в.д.) изучали плотность распределения растений, линейные размеры их частей, массу, площадь листьев, подсчитывали количество почек в пазухах листьев подземной и надземной части побега. Семенную продуктивность определяли в период осыпания плодов. Для оценки почвенного банка семян отбирали пробы почвы с помощью почвенного бура. Световой режим ценоза изучали с помощью LI-1400 (LI-COR Inc, США). Индуцированную флуоресценцию хлорофилла а фотосистемы 2 (ФС 2) листьев определяли PAM-2100 (Walz, Германия), интенсивность CO₂ / H₂O-газообмена с помощью LCPго+ (ADC, Англия). В листьях содержание пигментов определяли спектрофотометрически UV-1700 (Shimadzu, Япония), общий азот на элементном анализаторе EA 1110 (CHNS-O) (CE Instruments, Италия).

Растения борщевика трогались в рост сразу после таяния снега. В конце марта под снежным покровом были обнаружены проросшие семена борщевика с первичным корешком. Ранней весной медианное значение количества проростков и ювенильных растений борщевика достигало 500 шт. / м². В фазу массовой бутонизации их количество снизилось в 6 раз. Медиана плотности генеративных побегов составила 1 шт. / м². В течение всей вегетации доля растений в предгенеративных возрастных состояниях достигала 99 %. К началу цветения высота генеративного побега достигала 3 м. На каудексе, в пазухах прикорневой розетки, погруженной в почву на 8-10 см, образуется в среднем 5-6 спящих генеративных почек, длиной до 2 см. Общая длина каудекса и стержневых корней растений борщевика достигала 2 м, диаметр каудекса от 8 до 13 см. Осенью отдельные генеративные особи могут формировать новые растения из почек, образующихся на каудексе. Число обнаруженных поликарпических особей не превышало 2 %, что согласуется с данными И.Ф. Сацыперовой [3].

Борщевик инвестирует значительную часть ассимилированного углерода на рост листовой поверхности и генеративных органов. В фазу цветения на стебли приходится до 50 % сырой биомассы, на листья 20 %, на подземные органы 15 % от целого растения. К началу формирования семян доля биомассы соцветий увеличивается до 13 % от общей. Ассимилирующая поверхность генеративного растения площадью около 2.5 м² эффективно поглощает солнечную радиацию. Под сплошной полог развитых листьев борщевика проникает не более 5 % фотосинтетически активной радиации (ФАР). В случае повреждения растений, быстрое

восстановление полога происходит за счет роста побегов из почек расположенных в укороченных междоузлиях в подземной части генеративного побега и вегетативных особей.

Величина удельной поверхностной плотности листьев (УППЛ) отражает уровень адаптации к световому режиму. С учетом массы крупных жилок листа УППЛ составила 0.8-1.1 г сухой массы/дм². Величина УППЛ была наименьшей у нижней формации листьев. Нижние листья накапливали 1.6 раза больше зеленых пигментов, чем верхние. Доля хлорофиллов, входящих в светособирающий комплекс (ССК), составляла в листьях нижнего яруса около 56 %, а в верхних листьях до 50 % фонда зеленых пигментов. Листья верхнего и среднего яруса отличались от нижних листьев более низким соотношением хлорофиллы/каротиноиды, за счет меньшего количества зеленых пигментов. Листья разных формаций не отличались между собой по потенциальной фотохимической активности, величина максимального квантового выхода была равна 0.80 отн. ед. Листья верхнего яруса значительно превосходили листья нижних ярусов по эффективности использования энергии светового потока в фотохимических процессах. При освещенности 500 мкмоль/м²с реальный квантовый выход фотохимии ФС 2 составлял около 80 % от максимального, у листьев среднего и нижнего яруса этот показатель был снижен на 30-40 %. В фазу цветения световая кривая фотосинтеза зрелых листьев борщевика хорошо описывается зависимостью: $F_v = a \cdot F_{AR} / (F_{AR} + b) - D_t$, где: F_v - видимый фотосинтез, мкмоль CO₂/м²с; D_t - темновое дыхание, 0.94±0.59 мкмоль CO₂/м²с; F_{AR} , мкмоль квантов света/м²с; предиктор a 7.90±0.76 мкмоль CO₂/м²с; b 137±52 мкмоль/м²с F_{AR} . У зрелых листьев величина квантового выхода фотосинтеза составляла 0.04 моль CO₂/моль F_{AR} , а среднее значение светового компенсационного пункта 25 мкмоль/м²с F_{AR} . Насыщение фотосинтеза светом наступало в диапазоне 500-700 мкмоль/м²с F_{AR} , максимальная скорость фотосинтеза (F_{max}) составляла 8 мкмоль CO₂/м²с. К показателям эффективности газообмена листа на уровне ценоза относят интенсивность радиации приспособления (ИРП) и интенсивность газообмена листа в ценозе при ИРП (ФИРП) [4]. У зрелых листьев борщевика величина ИРП составляла 70 мкмоль/м²с F_{AR} , что на порядок ниже F_{AR} над листьями ценоза и близко к освещенности под их пологом. Скорость F_v листьев при ИРП была в 3 раза ниже F_{max} . Эффективность использования азота при фотосинтезе характеризует отношение скорости видимого поглощения CO₂ к содержанию азота (Φ/N , мг CO₂/мг N ч). В листьях изученных нами растений борщевика содержание общего азота составляло 2.4 %. Величина Φ/N достигала у зрелых листьев 1.3-1.7 мг CO₂/мг N ч, что сопоставимо со средним значением Φ/N для *Helianthus barbatum* Lebed и 24 гемикриптофитов [5]. В диапазоне 500-2000 F_{AR} мкмоль/м²с листья растений испаряли около 1 ммоль H₂O/м²с и поддерживали высокую эффективность использования воды в процессе F_v . Расчеты показывают, что летом заросли борщевика площадью 1 га испаряют за сут. 5 т воды и ассимилируют 40 кг углерода.

Одно генеративное растение продуцировало в разные годы 15-20 тыс. шт. семян. По нашим наблюдениям рассеивание мерикарпиев в зарослях, происходит в радиусе до 3 м от растения. Анализ пространственного распределения числа семян борщевика показал, на границе ценопопуляции количество семян снижалось в 2 раза по сравнению с центральной частью участка. Число семян в почвенном банке положительно коррелирует с количеством генеративных особей. Вертикальное распределение осыпавшихся семян в почве неоднородное: 98 % семян обнаружено в верхнем слое почвы 0-10 см, при этом 80 % на глубине 0-5 см. Известно, что для окончательного формирования и развития зародыша борщевика требуется стратификация при температуре 0-10 °С в течение 4-5 месяцев [3]. В апреле в почве накапливалось 17 тыс. шт. семян/м² участка. В июле, запас семян снизился на 60 %, а оставшиеся в почве семена были нежизнеспособными. Искусственная стратификация семян, собранных с зонтиков осенью, во влажных условиях в течение 126 сут. при температуре + 4 °С показала, что 36 % семян остаются невсхожими. Таким образом, в течение вегетации интенсивно расходуется запас семян урожая предыдущего года, об этом свидетельствует их распределение в почве и высокая плотность проростков борщевика Сосновского. Показано, что 2.5 % потом-

ков борщевика Мантегацци достаточно для расселения и эффективного захвата новых территорий [6].

Борщевик Сосновского образует монодоминантные заросли в процессе расселения во вторичном ареале. Высокая конкурентоспособность по отношению к травянистым видам природной флоры обеспечивается за счет формирования сомкнутого полога листьев с высокой эффективностью использования ресурсов среды: света, воды, азота. Успех инвазии борщевика Сосновского напрямую зависит от самоподдержания на занятых территориях и эффективности его распространения. Самоподдержание и восстановление борщевика связано с постоянным фондом почек вегетативных и генеративных побегов, высокой семенной продуктивностью, интенсивным расходом почвенного банка семян в течение вегетации. Экспансия борщевика обеспечивается дальним переносом пропагул, но ограничивается сравнительно высокими требованиями растений к условиям почвенного питания.

Результаты авторов и других исследователей по проблеме инвазии борщевика Сосновского публикуются на сайте <http://proborshevnik.ru/>.

*Работа выполнена при поддержке проекта № 13-4-028-КНЦ Ориентированных фундаментальных исследований УрО РАН «Моделирование распространения семян и образования новых ценопопуляций инвазионного вида *Heracleum sosnowskyi* Manden. в агроклиматической зоне Республики Коми».*

Литература

1. Blossey B. Before, during and after: the need for long-term monitoring in invasive plant species management // *Biological Invasions*. 1999. V.1. № 2-3. P. 301–311.

2. Дгебуадзе Ю.Ю. и др. Общая концепция создания проблемно-ориентированного интернет-портала по инвазиям чужеродных видов в РФ // *Российский Журнал Биологических Инвазий*. 2008. № 2. С. 9-21.

3. Сацыперова И.Ф. Борщевики флоры СССР – новые кормовые растения. Л.: Наука, 1984. 223 с.

4. Тооминг Х.Г. Экологические принципы максимальной продуктивности посевов. М.: Гидрометеиздат, 1984. 363 с.

5. Wang W-J., et al. Plant biodiversity in a larch plantation from the view point of photosynthetic nitrogen use efficiency in northeast China // *Landscape and Ecological Engineering*. 2009. V.5. № 2. P.147-156.

6. Nehrbass N. et al. A simulation model of plant invasion: long-distance dispersal determines the pattern of spread // *Biological Invasions*. 2007. V. 9. № 4. P. 383-395.

STRUCTURAL AND PHYSIOLOGICAL FACTORS OF *HERACLEUM SOSNOWSKYI* COMPETITIVENESS OUTSIDE THE NATURAL AREA

Dalke I.V., Chadin I.F., Malyshev R.V., Zakhozhiy I.G., Maslov S.P., Tabalenkova G.N.

light, pigments, photosynthesis, transpiration, nitrogen, buds, seeds, invasion

The *Heracleum sosnowskyi* population age structure and soil seed bank, physiological traits of generative plants were studied. The main factors of competitiveness are: high light, nitrogen and water use efficiency in combination with high seed productivity, ability to form dense canopy very rapidly even after external disturbance.

**РОЛЬ ЦИТОКИНИНОВ В РЕГУЛЯЦИИ СООТНОШЕНИЯ КОРЕНЬ/ПОБЕГ
У РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ ИЗМЕНЕНИИ ТЕМПЕРАТУРЫ**

Дедова М.А., Высоцкая Л.Б., Кудоярова Г.Р.

ФГБУН Институт биологии УНЦ РАН, пр. Октября, 69, г. Уфа, 450054, Россия,
E-mail: vysotskaya@anrb.ru*соотношение корень/побег, цитокинины, Triticum durum***Введение**

Формирование соотношения массы корня и побега – важная ростовая реакция растений, обеспечивающая их приспособление к изменению условий обитания. Предполагают, что регуляция соотношения массы полярных органов осуществляется при участии цитокининов [1]. Если ростстимулирующая функция цитокининов при их воздействии на побег общепризнанна, то о том, каким образом цитокинины влияют на рост корней до сих пор ведутся споры. Подавление роста корней наблюдали при воздействии экзогенных цитокининов и при индукции *ipt*-гена, контролирующего синтез цитокининов [2]. Дефицит цитокининов у трансгенных растений, наоборот приводил к относительной активации роста корней [3]. В то же время данные с учетом особенностей мутантов по рецепторам цитокининов дают основание считать, что цитокинины необходимы для роста корневой системы [4, 5]. Противоречивость в интерпретациях данных в частности может быть связано с тем, что в этих исследованиях внимание в основном было сосредоточено на концентрации цитокининов, в то время как регуляция соотношения корень/побег может быть связана с перераспределением гормонов между побегом и корнем. Не менее важным является вопрос участия цитокининов в регуляции роста побега и корня растений не при стрессовых, а при фоновых изменениях внешних условий. Поэтому в данном исследовании мы поставили задачу изучения роли перераспределения цитокининов между полярными органами в регуляции соотношения корень/побег у растений пшеницы при температуре воздуха от 21 до 25 °С.

Материалы и методы

Семена растений пшеницы сорта Безенчукская проращивали при комнатной температуре в темноте на водопроводной воде. Проростки прямо на плотиках переносили на 10 % раствор Хогланда-Арнона и помещали в климатическую камеру, в которой поддерживали температуру 21, 23 и 25 °С, освещенность 4LS и относительное содержание воды в воздухе 60%. Показатели роста растений оценивали на пятые сут. после прорастания семян. Определение содержания фитогормонов после экстракции проводили с помощью ИФА [6].

Результаты и обсуждение

Мы обнаружили, что соотношение корень/побег и по массе, и по длине было максимальным при 21 °С и снижалось при более высоких температурах (уже при повышении температуры воздуха на 2 °С). При этом в корнях относительная концентрация суммы производных зеатина (соотношение концентрации производных зеатина в корне к концентрации этих гормонов в побеге) не изменялась. На первый взгляд не было перераспределения цитокининов между побегом и корнем.

Но определение содержания разных производных зеатина позволило обнаружить, что снижение соотношения концентрации нуклеотида зеатина корень/побег при температуре 21 °С соответствовало большему значению соотношения масс корень/побег (рис. 1А). Это согласуется с данными о том, что цитокинины тормозят рост корней и поддерживают рост побега.

В то же время мы наблюдали снижение соотношения суммарной концентрации зеатина и зеатинрибозида корень/побег при снижении доли корней в массе растения (рис. 1Б). Это противоречит распространенному мнению о том, что ЦК тормозят рост корней, но согласу-

ется с данными, свидетельствующими о необходимости участия цитокининов в поддержании роста корней.

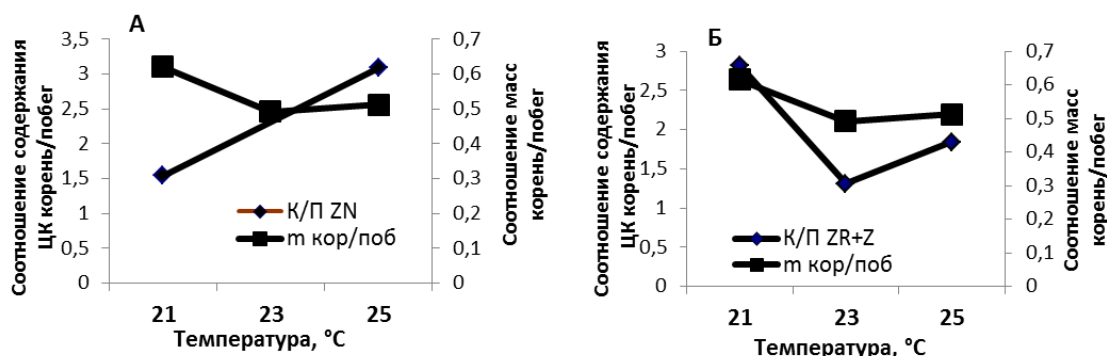


Рисунок 1 - Соотношение концентрации нуклеотида зеатина (ZN) – А, суммы зеатина и его рибозида (ZR+ Z) – Б в корне к концентрации этих цитокининов в побеге растений пшеницы, соотношение масс корень/побег

Figure 1 - Ratio of concentration zeatin nucleotide (ZN) – А, sum of zeatin and its riboside (ZR+ Z) – Б in root to concentration of these cytokinins in shoots of wheat, mass ratio of roots to shoots.

В этой ситуации логично задуматься о том, могут ли разные производные зеатина по-разному влиять на ростовые процессы корня? На этот вопрос в настоящее время ответить очень сложно, поскольку до сих пор нет прямых доказательств того, какие именно производные цитокининового ряда выполняют регуляторную функцию. Пролить свет на эту проблему могла бы информация о связывании цитокининов рецепторами и локализации рецепторов в разных частях растения. В настоящее время таких данных мало, но они все же есть. Так известно, что у растений Арабидопсиса имеется, по меньшей мере, три рецептора: ANK2, ANK3 и ANK4/CRE1/WOL. Исследования аффинных свойств рецепторов с использованием *Escherichia coli* экспрессирующей системы показали, что ANK3 и ANK4/CRE1/WOL имеют близкий коэффициент связывания с транс-зеатином, а ANK3 рецептор имеет намного ниже сродство к изопентениладенину чем ANK4/CRE1/WOL [7]. При этом ANK3 экспрессируется преимущественно в побегах, а ANK4/CRE1/WOL – преимущественно в корнях. Это позволяет высказать предположение, что регуляция соотношения побег/корень может зависеть и от концентрации гормонов, и от распределения чувствительных к ним рецепторов. В этой связи представляется необходимым изучение распределения в растениях пшеницы также и цитокининов изопентениладенинового типа. Еще одно перспективное направление исследований связано с проверкой предположения о том, что цитокинины могут влиять на рост корней не только напрямую, но и опосредованно через регуляцию роста побега.

Исследования поддержаны грантом РФФИ №13-04-00666 А.

Литература

1. Salisbury F.J., Hall A., Grierson C.S., Halliday K.J. Phytochrome Coordinates Arabidopsis Shoot and Root Development // *Plant J.* - 2007. - V. 50. - P. 429-438.
2. Kuderova A., Urbankova I., Valkova M., Malbeck J., Brzobohaty B., Nemethova D., Hejatk J. Effects of conditional IPTdependent cytokinin overproduction on root architecture of Arabidopsis seedlings // *Plant and Cell Physiology.* - 2008. - V. 49. – P. 570–582.
3. Werner T., Nehnevajova E., Köllmer I., Novák O., Strnad M., Krämer U., Schmülling T. Root-specific reduction of cytokinin causes enhanced root growth, drought tolerance, and leaf mineral enrichment in Arabidopsis and Tobacco // *The Plant Cell.* - 2010. - V. 22. - P. 3905-3920.
4. Higuchi M., Pischke M.S., Mahonen A.P., Miyawaki K., Hashimoto Y., Seki M., Kobayashi K., Kato Tabata S., Helariutta Y., Suusman M.R., Kakimoto T. // *In Planta function of the Ar-*

abidopsis cytokinin receptor family. // Proceedings of the National Academy of Sciences USA. 2004. V. 101. P. 8821-8826.

5. He S., Hoelscher A., Liu J., O'Neill D., Layton J., McCarroll R., Dotson S. Cell cycle isopentenyl transferase expression led to coordinated enhancement of cell division, cell growth and plant development in transgenic Arabidopsis // Plant Biotechnology. -2005. - V. 22. - P. 261-270.

6. Веселов С.Ю. Использование антител для количественного определения, очистки и локализации регуляторов роста растений. Уфа: Изд. БГУ, 1998. 138 с.

7. Romanov G.A., Lomin S.N., Schmulling T. Biochemical characteristics and ligand-binding properties of Arabidopsis cytokinin receptor AHK3 compared to CRE1/AHK4 as revealed by a direct binding assay // J. Exp. Bot. – 2006. - V. 57. - P. 4051-4058.

ROLE OF CYTOKININS IN THE CONTROL OF ROOT/SHOOT MASS RATIO IN WHEAT PLANTS UNDER TEMPERATURE CHANGES

Dedova M.A., Vysotskaya L.B., Kudoyarova G.R.

root/shoot ratio, cytokinins, Triticum durum

Ratio of the content of zeatin, its riboside and nucleotide has been studied in roots and shoots of wheat plants under 21, 23 и 25 °C. It was shown that the decline in root to shoot ratio of zeatin nucleotide concentration corresponded to the greater value of root/shoot mass. At the same time we discovered a decline in the root to shoot ratio of zeatin+its riboside under decreased percentage of root mass. The role of different forms of cytokinins in the control of root growth is discussed.

АФК-ИНДУЦИРУЕМАЯ АУТОФАГИЯ В КЛЕТКАХ РАСТЕНИЙ ПРИ БЛОКИРОВАНИИ ЭЛЕКТРОН-ТРАНСПОРТНОЙ ЦЕПИ МИТОХОНДРИЙ

Дмитриева С.А., Пономарева А.А., Минибаева Ф.В.

ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, ул. Лобачевского 2/31, а/я 30, г. Казань, 420111, Россия, E-mail: s_dmitrieva@list.ru

*аутофагия, АФК, митохондрия, электрон-транспортная цепь***Введение**

Аутофагия – один из основных катаболических путей деградации цитоплазматического содержимого в клетке, в ходе которого удаление макромолекул и органелл происходит при участии специфических аутолитических вакуолей – аутофагосом [1]. Запуск аутофагии в растительных клетках во многом зависит от редокс-статуса клеток и уровня активных форм кислорода (АФК) [2]. Ранее нами было показано, что непосредственная индукция окислительного стресса в клетках корней пшеницы при действии прооксидантов приводит к активации аутофагии [3]. Как известно, в нефотосинтезирующей растительной клетке электрон-транспортная цепь (ЭТЦ) митохондрий является основным сайтом генерации АФК [4]. В эпителиальных клетках человека линии U87 было показано, что нарушения в работе ЭТЦ митохондрий при действии митохондриальных ядов ведут к активации процесса аутофагии и усилению генерации АФК [5]. В растительных клетках роль митохондрий в индукции и регуляции аутофагии в настоящее время интенсивно изучается. В связи с этим, целью настоящей работы было изучение редокс-статуса клеток и индукции аутофагии при ингибировании ЭТЦ митохондрий в корнях пшеницы. Анализ соотношения аутофагических процессов и жизнеспособности клеток позволит выявить роль аутофагии в выживании или гибели растительных клеток при блокировании митохондриальной ЭТЦ.

Материалы и методы

Растительный материал. Проростки яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Казанская Юбилейная выращивали при температуре +22°C в течение 5 дней. В работе использовали следующие ингибиторы ЭТЦ митохондрий: ротенон (I комплекс), малонат (II комплекс), антимицин А (Ана, III комплекс), KCN (IV комплекс), салицилгидроксамовая кислота (СГК, ингибитор альтернативной оксидазы (АО)).

Определение концентрации перекиси водорода и интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ). Концентрацию H₂O₂ определяли с использованием ксиленола оранжевого как описано ранее [3]. Интенсивность ПОЛ определяли по содержанию продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой [3].

Определение жизнеспособности клеток. Жизнеспособность клеток определяли с помощью красителя Эванса синего [3]. В каждом варианте опыта анализировали не менее 1000 клеток.

Флуоресцентная визуализация аутофагосом. Аутофагосомы визуализировали с помощью флуоресцентного красителя LysoTracker Red DND-99 (λ_{ab} 577 нм/ λ_{em} 590 нм) с помощью конфокального микроскопа LSM-510 META (Carl Zeiss, Jena, Германия) [3].

Результаты и обсуждение

Ингибиторы переноса электронов по митохондриальной ЭТЦ оказали различное действие на индукцию аутофагии в клетках корней пшеницы. Обработка корней ингибиторами I, II и IV комплексов основной ЭТЦ не вызывала образования аутофагосом (рис. 1 а-в, д), тогда как Ана – ингибитор III комплекса – индуцировал появление в цитоплазме большого количества аутофагосом (рис 1 г).

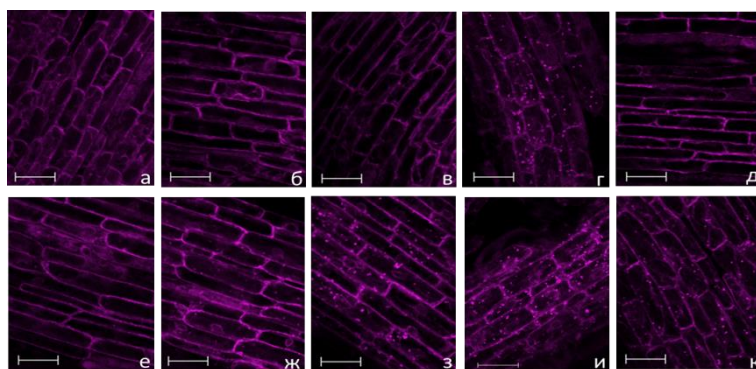


Рисунок 1 - Визуализация аутофагосом с помощью LysoTracker Red в клетках корней пшеницы при действии: а – контроль; б – ротенон; в – малонат; г – Ана; д – KCN; е – СГК; ж – СГК + ротенон ; з – СГК + малонат; и – СГК + Ана; к – СГК + KCN. Масштабный отрезок - 20 мкм

Figure 1 - Visualization of autofagosomes using LysoTracker Red in cells of wheat roots: а - control; б - rotenone; в - malonate; г - AnA; д- KCN; е - SHAM; ж - SHAM + rotenone; з - SHAM + malonate; и - SHAM + AnA, к - SHAM + KCN. Bar – 20 μm

Считается, что среди компонентов дыхательной цепи митохондрий наибольший вклад в образование супероксидного анион-радикала ($\text{O}_2^{\bullet-}$) вносят комплексы I и III [4]. В наших экспериментах применение ингибитора комплекса I ротенона не приводило к изменению редокс-статуса клеток (табл. 1). Наличие в растительных клетках ротенон-нечувствительных НАДН-дегидрогеназ, расположенных с обеих сторон внутренней мембраны, которые могут доставлять электроны к убихинону из матрикса или из межмембранного пространства, не позволяет полностью заингибировать поток электронов через комплекс I [6]. Блокирование комплекса III ЭТЦ с помощью Ана способствовало значительному повышению уровня H_2O_2 и интенсификации ПОЛ (табл. 1).

В растениях образование АФК в митохондриях может быть частично компенсировано благодаря отводу электронов через АО, роль которой возрастает при нарушении работы ЭТЦ и способствует уменьшению образования $\text{O}_2^{\bullet-}$ в митохондриях [7]. Посредством этого механизма АО вовлечена в антиоксидантную защиту и формирование большей устойчивости растений к неблагоприятным факторам окружающей среды [4]. Совместное действие на корни одного из исследованных ингибиторов основной ЭТЦ и ингибитора АО СГК приводило к увеличению содержания в клетках H_2O_2 и усилению процессов ПОЛ (табл. 1), что подтверждает значимость АО в антиоксидантной защите растительных клеток. Кроме того, при совместном действии на корни ингибиторов ЭТЦ и СГК на фоне усиления редокс-процессов в клетке происходило усиленное образование аутофагосом (рис. 1 ж-к), что предполагает вовлечение АО в регуляцию аутофагии в растительных клетках. В растениях АО играет роль так называемого митохондриального белка «выживания» [7], и ее ингибирование, приводя к развитию окислительного стресса, может снижать жизнеспособность клеток и активировать программируемую клеточную смерть. Действительно, совместное применение СГК и одного из ингибиторов ЭТЦ митохондрий приводило к снижению жизнеспособности клеток (табл. 1). Наибольшее падение жизнеспособности наблюдалось при действии Ана и совместном действии СГК и Ана (табл. 1).

Заключение

Таким образом, ингибирование ЭТЦ митохондрий, вследствие повышения уровня АФК и нарушения энергетического статуса клеток, может индуцировать аутофагию в клетках растений. Аутофагия может способствовать выживанию клеток путем удаления окисленных макромолекул. Однако развитие мощного окислительного стресса и усиленная аутофагическая деградация окисленных и поврежденных структур при действии митохондриальных ядов может приводить к значительной гибели клеток.

Таблица 1 - Содержание H₂O₂, уровня ПОЛ и жизнеспособности клеток в корнях при действии ингибиторов ЭТЦ митохондрий

Table 1- Amount of H₂O₂, the level of lipid peroxidation and cell viability in roots treated with inhibitors of mitochondrial electron transport chain (ETC)

Варианты	Концентрация	H ₂ O ₂ , мкМ*	ПОЛ, %**	Живые клетки, % ***
Контроль	0,25 мМ	3,7 ± 0,9	99,3 ± 9,4	97,4 ± 12,1
Ротенон	0,05 мМ	4,5 ± 0,6	110,7 ± 9,8	96,4 ± 14,8
Малонат	0,01 мМ	9,9 ± 0,1	117,1 ± 7,1	88,6 ± 18,2
АнА	0,01 мМ	16,4 ± 0,8	156,9 ± 6,8	67,6 ± 19,5
КСН	0,1 мМ	8,9 ± 0,6	113,7 ± 12,7	83,7 ± 17,4
СГК	0,1 мМ	5,1 ± 0,9	148,2 ± 9,9	96,1 ± 14,2
СГК + Ротенон	-/-	7,9 ± 0,6	136,7 ± 9,4	91,6 ± 19,3
СГК + Малонат	-/-	12,6 ± 0,1	153,6 ± 8,3	73,7 ± 16,9
СГК + АнА	-/-	19,7 ± 0,8	166,9 ± 9,5	59,5 ± 19,2
СГК + КСН	-/-	11,2 ± 0,6	123,6 ± 11,4	76,7 ± 18,1

Примечание: * 3 ч воздействия, ** - 6 ч воздействия, ***- 24 ч воздействия.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ (№№ 13-04-00865, 14-04-00205).

Литература

1. Shi Z., Li C.Y., Zhao S., Yu Y., An N., Liu Y.X., Wu C.F., Yue B.S., Bao J.K. A systems biology analysis of autophagy in cancer therapy // *Cancer Lett.* 2013. V. 337(2). P. 149-160.
2. Liu Y., Burgos J.S., Deng Y., Srivastava R., Howell S.H., Basshama D. Degradation of the endoplasmic reticulum by autophagy during endoplasmic reticulum stress in arabidopsis // *The Plant Cell.* 2012. V. 24. P. 4635-4651.
3. Дмитриева С.А., Пономарева А.А., Рябовол В.В., Минибаева Ф.В. Эффекты окислительного стресса на ультраструктуру и функциональную активность растительных митохондрий *in vivo* // *Биологические мембраны.* 2012. V. 29(4). P. 267-275.
4. Blokhina O., Fagerstedt K. Reactive oxygen species and nitric oxide in plant mitochondria: origin and redundant regulatory systems // *Physiologia Plantarum.* 2010. V. 138. P. 447-462.
5. Chen Y., Gibson S.B. Is mitochondrial generation of reactive oxygen species a trigger for autophagy? // *Autophagy.* 2008. V. 4(2). P. 246-248.
6. Møller, I.M. Plant mitochondria and oxidative stress: electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species // *Annu. Rev. Plant Physiol.* 2001. V. 52. P. 561-591.
7. Grabelnych O.I. The energetic functions of plant mitochondria under stress // *Journal of Stress Physiology & Biochemistry.* 2005. V. 1(1). P. 37-54.

ROS-INDUCED AUTOPHAGY IN PLANT CELLS FOLLOWING INHIBITION OF MITOCHONDRIAL ELECTRON TRANSPORT CHAIN

Dmitrieva S.A., Ponomareva A.A., Minibayeva F.V.

autophagy, ROS, mitochondrium, electron transport chain

Inhibition of mitochondrial electron transport chain induces autophagy in cells of intact wheat roots. The relationships between mitochondrial dysfunction, generation of ROS, activation of autophagy and cell death are discussed.

КСАНТОФИЛЛОВЫЙ ЦИКЛ И АНТИОКСИДАНТНАЯ СИСТЕМА ЗАЩИТЫ В ЛИСТЯХ *AJUGA REPTANS* L. ПРИ РАЗНЫХ СВЕТОВЫХ УСЛОВИЯХДымова О.В.¹, Гармаш Е.В.¹, Коковкина Е.В.¹, Latowski D.²¹ФГБУН Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Коммунистическая ул., 28, г.Сыктывкар, 167982, Россия, E-mail: dymovao@ib.komisc.ru²Jagiellonian University, Krakow, Poland*ксантофилловый цикл, α -токоферол, антиоксидантные ферменты, свет*

Устойчивость растений на клеточном уровне к избытку света связана с функционированием фотопротекторных систем в хлоропластах и активацией антиоксидантной системы в клетке. В хлоропластах важную роль в предотвращении фотодеструкции выполняют каротиноиды ксантофиллового цикла (КЦ). КЦ представляет световую конверсию виолаксантина (Вио) в зеаксантин (Зеа) через интермедиат антераксантин (Ант) с помощью фермента Вио-деэпоксидазы. Обратная темновая реакция катализируется Зеа-эпоксидазой. Основной функцией КЦ является способность к тушению возбужденного триплетного состояния хлорофилла [1, 2] и активных форм кислорода (АФК) [3, 4]. Клеточная система антиоксидантной защиты включает антиоксидантные ферменты и низкомолекулярные неферментные соединения. Целью работы было изучить функционирование КЦ и содержание компонентов антиоксидантной системы у растений *Ajuga reptans* L., произрастающих в естественных условиях при низкой освещенности и на полном свете.

В экспериментах использовали листья растений *Ajuga reptans* из затененных (150 мкмоль м⁻² с⁻¹ ФАР) (С-растения) и освещенных (1200 мкмоль м⁻² с⁻¹ ФАР) (Т-растения) местообитаний в Ботаническом саду Ягиеллонского университета (г. Краков, Польша). Нами установлено, что в июне листья Т-растений характеризовались в 3-3.5 раза большим накоплением фотосинтетических пигментов (хлорофиллов и каротиноидов) по сравнению с С-растениями. Среди каротиноидов в листьях превалировал лютеин (до 50%), доля β -каротина составляла около 20%, неоксантина – 15%. Среди компонентов КЦ доминировал Вио, в листьях С-растений присутствовали Ант и Зеа, которые в листьях Т-растений обнаружены в следовых количествах. В листьях Т-растений также были обнаружены следовые количества лютеин-эпоксида. Согласно [5] накопление лютеин-эпоксида повышает эффективность светосбора в антенне фотосистемы II (ФСII). На сильном свете Вио-деэпоксидаза конвертирует лютеин-эпоксид в лютеин.

Как нами ранее было показано [6], при длительной адаптации к естественным условиям освещенности на открытой местности растения характеризуются большим пулом ксантофиллов. Стабильно высокое содержание лютеина в пигментном аппарате С-растений обусловлено структурной ролью данного ксантофилла, который является неотъемлемым элементом периферического звена светособирающего комплекса ФСII, а также его возможной антиоксидантной функцией. Накопление Зеа указывает на высокий уровень дезэпоксидации (DEPS) пигментов ВКЦ, до 60 %. У Т-растений величина DEPS была на порядок ниже. Проведенные нами опыты по изучению кинетики реакции дезэпоксидации показали способность листьев преобразовать до 65% пула Вио в Зеа при высокой инсоляции (2000 мкмоль м⁻² с⁻¹ ФАР) за 45 мин. Доступность Вио для де-эпоксидации тем выше, чем более восстановлен пул пластохинонов. Согласно [7] трансформация Вио в Зеа происходит в липидном матриксе.

Основной мишенью стрессового воздействия являются клеточные мембраны, о состоянии которых судят по липидной составляющей. При этом содержание супероксидрадикала (O₂⁻) в листьях практически не менялось в зависимости от светового режима обитания. Это было, в первую очередь, связано с эффективной работой супероксиддисмутазы (СОД) – фермента, нейтрализующего O₂⁻ до H₂O₂. Активность СОД в листьях С-растений была выше в 1.5 раза по сравнению с Т-растениями. Изоферментный анализ СОД показал, что высокая активность фермента в листьях световых растений была обусловлена активацией хлоропластной Fe-содержащей формы СОД.

Вместе с тем, нами обнаружена усиленная аккумуляция в листьях световых растений другого прооксиданта – перекиси. Содержание перекиси и уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) были в 1.5 раза выше в листьях светового фенотипа. Известно, что H₂O₂ является более стабильным продуктом, чем O₂⁻. Однако листья С-растений практически не отличались по активности каталазы и пероксидазы – антиоксидантных ферментов, разлагающих перекись. Это свидетельствовало о повышенном окислительном статусе С-растений по сравнению с Т-растениями. По-видимому, содержащийся в большей концентрации в листьях Т-растений α-токоферол препятствовал развитию в мембранах свободно-радикальных цепных реакций.

Таким образом, ФА листьев С- и Т-растений хорошо защищен от избыточной инсоляции благодаря высокой активности КЦ и накоплению Зеа, который способен рассеивать избыток поглощенной световой энергии в виде тепла еще до передачи в реакционный центр. Вместе с тем, смещение про-/антиоксидантного статуса в условиях высокой инсоляции в полуденное время, по-видимому, является стабильной характеристикой метаболизма С-растений, связанной с развитием толерантности к световому фактору.

Работа поддержана грантом УрО РАН № 12-У-4-1008.

Литература

1. Gilmore A.M. Mechanistic aspects of xanthophyll cycle-dependent photoprotection in higher plant chloroplasts and leaves // *Physiol. Plant.* 1997. V. 99. PP. 197-209.
2. Latowski D., Grzyb J., Strzalka K. The xanthophyll cycle – molecular mechanism and physiological significance // *Acta Physiol. Plant.* 2004. V.26. P.197-212.
3. Navaux M., Niyogi K.K. The violaxanthin cycle protects plants from photooxidative damage by more than one mechanism // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1999. V.96. P.8762-8767.
4. Dall'Osto L., Lico C., Alric J., Giuliano G., Navaux 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 Biology.* 2006. 6:32. <http://www.biomedcentral.com/1471-2229/6/32>
5. Garcia-Plazaola J.I., Matsubara S., Osmond C.B. The lutein epoxide cycle in higher plants: its relationships to other xanthophyll cycles and possible functions // *Funct. Plant Biol.* V. 34. PP.759-773.
6. Дымова О.В., Головкин Т.К. Состояние пигментного аппарата растений живучки ползучей в связи с адаптацией к световым условиям произрастания // *Физиология растений.* 2007. Т.54. №1. С.47-53.
7. Стржалка К., Костецка – Гугала А., Латовски Д. Каротиноиды растений и стрессовое воздействие окружающей среды: роль модуляции физических свойств мембран каротиноидами // *Физиология растений.* 2003. Т.50. № 2. С. 188-193.

THE XANTHOPHYLL CYCLE AND ANTIOXIDATIVE DEFENCE SYSTEM IN *AJUGA REPTANS* LEAVES AT DIFFERENT LIGHT CONDITIONS

Dymova O.V., Garmash E.V., Kokovkina E.V., Latowski D.

xanthophyll cycle, α-tocopherol, antioxidant enzymes, light

The photosynthetic apparatus in leaves of *Ajuga reptans* plants is characterized by high activity of xanthophyll cycle and the accumulation of zeaxanthin. The shift of pro-/antioxidant status under high light is the stable trait of the sun plants metabolism. Our data provide evidence for the high adaptive potential of pigment apparatus in *Ajuga reptans*, which allows shade-tolerant plants to inhabit environments with different light regimes.

ВЛИЯНИЕ ГИПОКСИИ ВЫСОКОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ДИОКСИДА УГЛЕРОДА И НА АКТИВНОСТЬ И СВОЙСТВА СВЯЗАННОЙ С КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКОЙ β -ГЛЮКОЗИДАЗЫ РАСТЕНИЙ ГОРОХА

Ершова А.Н., Фатуллаева А.С.

ГОУ ВПО «Воронежский государственный педагогический университет», ул. Ленина, 86, г. Воронеж, 394043, Россия, E-mail: Aynur_Fatullaeva@mail.ru

β -глюкозидаза, клеточная стенка, горох, свойства, гипоксия

Введение

Изучение особенностей адаптации растений к недостатку кислорода необходимо в связи с тем, что постоянное или временное переувлажнение характерно для многих районов земного шара [1]. В условиях гипоксии меняется активность ферментных систем, что вызывает целый ряд перестроек метаболических путей, которые способствуют повышению устойчивости и позволяют растениям адаптироваться к временному недостатку кислорода [2].

β -Глюкозидаза (КФ 3.2.1.21), катализируя гидролиз β -гликозидной связи в β -D-арил- и олигоглюкопиранозидах, играет важную роль в обменных процессах клетки, поставляя эндогенную глюкозу [3]. В растениях гороха обнаружена β -глюкозидаза, расщепляющая специфический для этого растения изосукцинимид- β -гликозид (ИС-гликозид). Показано, что в растениях гороха существуют цитоплазматическая и связанная с клеточными стенками молекулярные формы фермента, которые отличались по ряду свойств, включая электрофоретическую подвижность, рН- и температурный оптимумы, субстратную специфичность. Целью работы было изучение активности и свойств связанной с клеточной стенкой β -глюкозидазы у растений, подвергшихся кратковременному воздействию гипоксии и CO_2 -среды.

Материалы и методы

Ферментные препараты выделяли из листьев 10-дневных проростков гороха (Рамонский 77), выращенных гидропонным методом на свету. Проростки помещали в темновых условиях в различные газовые среды: воздух, азот и CO_2 (100%) на 24 часа. Связанную с клеточной стенкой β -глюкозидазу выделяли и очищали после обработки клеточных стенок 1М NaCl, центрифугирования, высаливания сульфатом аммония и очистки на колонках с сефадексом G-25 (1,0×25 см) и G-100 (1,5×40). Активность фермента определяли с р-НФГ по количеству отщепившегося р-нитрофенола, при использовании других субстратов по отщепившейся глюкозе - глюкооксидазным методом [4]. За единицу активности (Е) фермента принимали то его количество, которое катализировало расщепление 1 мкмоль субстрата в 1 мин при 37°C и рассчитывали на мг белка по Лоури или спектрофотометрически при 260 нм. Все операции по выделению и очистке фермента проводили при 4°C.

Результаты и обсуждение

При выделении и очистке были получены высокоочищенные электрофоретически гомогенные ферментативные препараты связанной с клеточной стенкой формы β -глюкозидазы растений гороха со степенью очистки - 57,9 и удельной активностью 451,7 Е/мг белка. Было установлено, что нахождение растений в условиях дефицита кислорода и CO_2 -среды не влияло как на объемы, так и на скорость элюции ферментного препарата с хроматографических колонок при их очистке. Однако удалось достигнуть более высокую степень очистки (107,6) и получить препарат с удельной активностью в два раза выше из растений, если они находились в условиях CO_2 -среды. Известно [2], что в условиях гипоксии у растений происходит снижение внутриклеточного рН за счет накопления различных недоокисленных продуктов. В связи с этим изучили активность фермента при разных значениях рН у растений, подвергшихся действию дефицита кислорода и CO_2 -среды. Ранее было показано [5], что при дей-

ствии гипоксии у растений гороха для цитоплазматической формы β -глюкозидазы происходил сдвиг оптимума рН с 5,6 до 5,3. Как показали наши опыты подобный сдвиг оптимума рН наблюдался и для ионосвязанной с клеточной стенкой β -глюкозидазы растений гороха. При действии гипоксии оптимум рН фермента растений составил 4,5, а для CO_2 -среды – 4,3. Одной из причин этого является установившееся мнение, что действие углекислого газа связано с его влиянием на внутриклеточный рН растений и сдвигом его в кислую сторону

Субстратную специфичность β -глюкозидазы исследовали в присутствии природных и синтетических субстратов. В качестве природных субстратов выступали: изосукцинимид- β -гликозид (ИС-гликозид), целлобиоза, β -гентиобиоза, салицин. К синтетическим отнесли соединения с α - или β -глюкозидной связью, типа р-нитрофенил- β -D-глюкопиранозид (р-НФГ), а также р-нитрофенил- α -D-галактопиранозид или р-нитрофенил- β -D-галактопиранозид. При действии газовых сред на растения менялись не только активность фермента по отношению к разным субстратам, но и физико-кинетические характеристики ферментных препаратов, включая K_m и V_{max} . При действии на растения гипоксического стресса на растения снижение величины K_m для фермента было наиболее существенным по отношению к салицину ($K_m=2,93$ мМ), целлобиозе ($K_m=1,22$ мМ) и β -гентиобиозе ($K_m=1,42$). Можно предположить, что повышение активности связанной с клеточной стенкой β -глюкозидазы растений гороха в этих условиях может значительно увеличивать содержание свободной глюкозы, необходимой для дыхательного обмена растений в условиях дефицита кислорода.

Известно, что в условиях дефицита кислорода в клетках растений меняется содержание разных типов АФК, включая и пероксид водорода [6]. Предполагается, что пероксид водорода, как один из самых стабильных продуктов АФК влияет не только на активность ферментов, но может выступать наряду, с Ca^{2+} в качестве вторичного мессенджера в восприятии сигналов о быстро меняющейся концентрации кислорода в окружающей среде. Как показали наши исследования, присутствие в среде пероксида водорода даже в низкой концентрации, снижало активность β -глюкозидазы почти на 30%. При увеличении концентрации пероксида водорода до 1 мМ активность фермента падала на 60%. Дальнейшее возрастание его содержания в среде инкубации уже вызывало почти полную инактивацию фермента. В условиях гипоксического стресса и действии CO_2 -среды происходили значительные изменения не только кинетических характеристик β -глюкозидазы, но и ее стабильности в присутствии высоких концентраций пероксида водорода. Активность фермента падала после действия гипоксии на растения в присутствии 1 мМ пероксида водорода только на 50%, а в CO_2 -среде - на 45%.

Изучение влияния ионов металлов на активность ферментов имеет не только большое практическое значение, но и теоретическое. Наибольшее значение в регуляции активности ферментов, имеют те ионы, которые способны включаться в этапы биосинтеза и биоразрушения, усиливающие или угнетающие активность ферментов.

При действии различных концентраций иона Mn^{2+} и Cu^{2+} наблюдалось снижение активность β -глюкозидазы, как в условиях аэрации, так и в условиях недостатка кислорода. При действии 1М раствора, содержащего ионы Mn^{2+} и Cu^{2+} у β -глюкозидазы наблюдался более выраженный эффект стабилизации активности. Так, например, в условиях аэрации и при действии ионов Mn^{2+} (1М) она составила 16 ед./ мг белка, в условиях гипоксии - 21 ед./мг белка, а CO_2 -среды - 27 ед./мг белка. Ионы Zn^{2+} и Ag^+ также ингибировали активность обеих молекулярных форм β -глюкозидазы, но стабилизирующий эффект был более выражен для ионосвязанной формы. Так, например, в условиях аэрации ее активность в присутствии 1М Zn^{2+} составила 7 ед./мг белка, в условиях гипоксии 21 ед./мг белка, а в условиях CO_2 -среды 21ед./мг белка. Полученные нами данные показали, что такие ионы металлов как Zn^{2+} , Ag^+ , Cu^{2+} , Mn^{2+} оказывают ингибирующее действие на активность β -глюкозидазы растений гороха. Причиной этого может служить образование ими комплексов с функциональными группами в активном центре фермента. Увеличение их концентрации до 10 мМ снижало активность ионосвязанной молекулярной формы в условиях аэрации в 4-12

раз. Гипоксический стресс и CO₂ - среда не значительно изменяли активность β-глюкозидазы с ростом концентраций ионов металлов.

Ранее было установлено специфическое действие CO₂ на ферментные системы, связанные с катаболизмом углеводов, ферментов цикла трикарбоновых кислот [7]. Это позволило предположить, что углекислый газ, как один из важнейших компонентов газовой среды, влияя на активность ферментных систем, вызывает целый ряд перестроек метаболических путей, которые способствуют повышению устойчивости и позволяют растениям адаптироваться к временному недостатку кислорода.

Литература

1. Вартапетян Б.Б. Учение об анаэробном стрессе растений – новое направление в экологической физиологии, биохимии и молекулярной биологии растений / Б.Б.Вартапетян // Физиология растений. 2005. Т.52. С. 931-953.
2. Ершова А. Н. Метаболическая адаптация растений к гипоксии и повышенному содержанию диоксида углерода / А. Н. Ершова. – Воронеж: ВГУ, 2007. - 264с.
3. Туран Ю. Очистка и характеристика внутриклеточной β-глюкозидазы метилотрофных дрожжей *Pichia pastoris* / Ю.Туран, М. Женг // Биохимия. 2005. Т.16. Вып.2. С. 322-325.
4. Захарова Н.С., Петрова Т.А. β-Глюкозидазы листьев и корнеплодов столовой свеклы *Beta vulgaris* // Прикладная биохимия и микробиология. 2000. Т.36. №4. С.458-461.
5. Ершова А.Н. Выделение, хроматографическая очистка и свойства β-глюкозидазы растений гороха, подвергнутых воздействию гипоксии и CO₂-среды / А.Н. Ершова, Баркалова О.Н. // Сорбционные и хроматографические процессы. 2009. Вып.5. Т. 9. С. 714-721.
6. Ершова А.Н. Продукция активных форм кислорода и антиоксидантные ферменты растений гороха и сои при гипоксии и высоком содержании CO₂ в среде / А.Н.Ершова, Н.В.Попова, О.С. Бердникова // Физиология растений., 2011, Т.58, № 5, С. 1–10.
7. Попова Т.Н. НАДФ-изоцитратдегидрогеназа и превращение изоцитрата и 2-кетоглутарата в растениях, экспонированных в бескислородных средах / Т.Н. Попова, Б.Ф. Иванов, Л.А. Землянхун // Физиология растений. – 1991. Т. 38, №6. С. 1142-1149.

IMPACT OF HYPOXIA AND CO₂-MEDIA ON ACTIVITY AND PROPERTIES OF CELL WALL-BOUND β-GLUCOSIDASE OF PEA

Ershova A.N., Fatullaeva A.S.

β-glucosidase, cell wall, pea, properties, hypoxia

Cell wall bound β-glucosidase of pea splitted isosuccinimide-β-glycoside with highest speed (Km). Under hypoxia the activity of enzyme was increasing with regard to β-gentiobiose (Km=1,42 mM), cellobiose (Km=1,22 mM) and salicine (Km=2,93 mM). Under oxygen deficit and CO₂-media the enzyme stability was increasing towards hydrogen peroxide and shift of optimum pH from 4.6 to 4.3 was noted.

**СИГНАЛЬНАЯ ФУНКЦИЯ ОКСИДА АЗОТА В ПРОЦЕССАХ ПРОРАСТАНИЯ
ЗЕРНОВКИ ПШЕНИЦЫ**

Жук О.И.

Институт физиологии растений и генетики НАН Украины, ул. Васильковская 31/17, г. Киев,
03022, Украина, E-mail: zhuk_bas@voliacable.com

оксид азота, пшеница, зерновка, митотическая активность

Введение

Сигнальная функция оксида азота (NO) и других низкомолекулярных соединений азота не вызывает сомнений [1]. Показано участие NO в регуляции дыхательной системы митохондрий растений, клеточного цикла, процессов дифференциации и морфогенеза, цветения и корнеобразования [2]. Синтез NO приурочен к деятельности митохондрий и пероксисом и одним из его источников является нитратредуктаза. Образование NO нитратредуктазой усиливается в условиях ингибирования фотосинтеза в хлоропластах и цитозоле и является продуктом ассимиляции нитратов особенно в условиях теплового стресса [3]. Считают, что присоединение NO к тиолу цистеина с образованием S-нитрозотиола является ключевым окислительно-восстановительным модификатором в растениях и главным механизмом биоактивности NO [4]. Одним из наиболее значимых источников NO считают пероксисомы, в которых функционирует NO-синтаза [5]. Пероксисомы считают источниками сигналов, регулирующих экспрессию ядерных генов, продуцентами H₂O₂ путем β -окисления жирных кислот. Важным компонентом NO-сигналинга считают циклический гуанозинмонофосфат (GMP), который участвует в регуляции ауксинами деления клеток, дифференциации, формирования примордиев, апикальных меристем [6]. Показано, что ингибирование образования NO в протопластах клеток табака приводит к торможению вступления клеток в митотический цикл, снижению митотического индекса, прекращению роста боковых корней [7]. Эффект действия NO может быть воспроизведен применением донора оксида азота - нитропруссидом натрия (НПН). Несмотря на значительный интерес к проблеме роли NO в растениях, ряд его функций все еще остается неисследованным. Большая часть работ, посвященных его действию, связана с его влиянием на клетки вегетирующих растений. Сигнальная функция NO в запуске первого митотического цикла в период прорастания семян, их выхода из состояния органического и вынужденного покоя пока остается слабо исследованной. Целью нашей работы было изучение влияния NO на запуск первого митотического цикла в прорастающих семенах пшеницы.

Материалы и методы

Семена мягкой озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сортов Мироновская 808, Фаворитка, Смуглянка помещали для проращивания в чашки Петри, в каждую из которых добавляли по 10 мл воды или водного 0,5 мМ раствора нитропруссидом натрия (НПН). В каждой чашке размещали по 30 семян. Повторность опыта 7-кратная. Проращивание семян проводили в темноте при температуре 22 °С. Через 20 ч после начала проращивания раствор НПН заменяли водой, в которой проводили дальнейшее проращивание семян. Начиная с 20-го и до 70 ч проращивания семян проводили их фиксацию в смеси Бродского (формалин: этиловый спирт: уксусная кислота 3:1:0,5) в течение 12 ч. Затем фиксатор замещали 70% этиловым спиртом. Из зерновок выделяли зародыши, которые окрашивали ацетокармином, а затем из них готовили давленные препараты. На каждом препарате учитывали не менее 1000 клеток, среди которых подсчитывали число клеток в митозе. Митотическую активность выражали в процентах. Для каждой точки фиксации использовали 7-8 зародышей. Повторность опыта 5-кратная. Результаты обработаны статистически с помощью ANOVA.

Результаты и обсуждение

Вступление клеток зародыша пшеницы в первый митоз отмечали на 20 часу от начала проращивания и происходило до начала прорыва первым корнем coleоризы (рис.1).

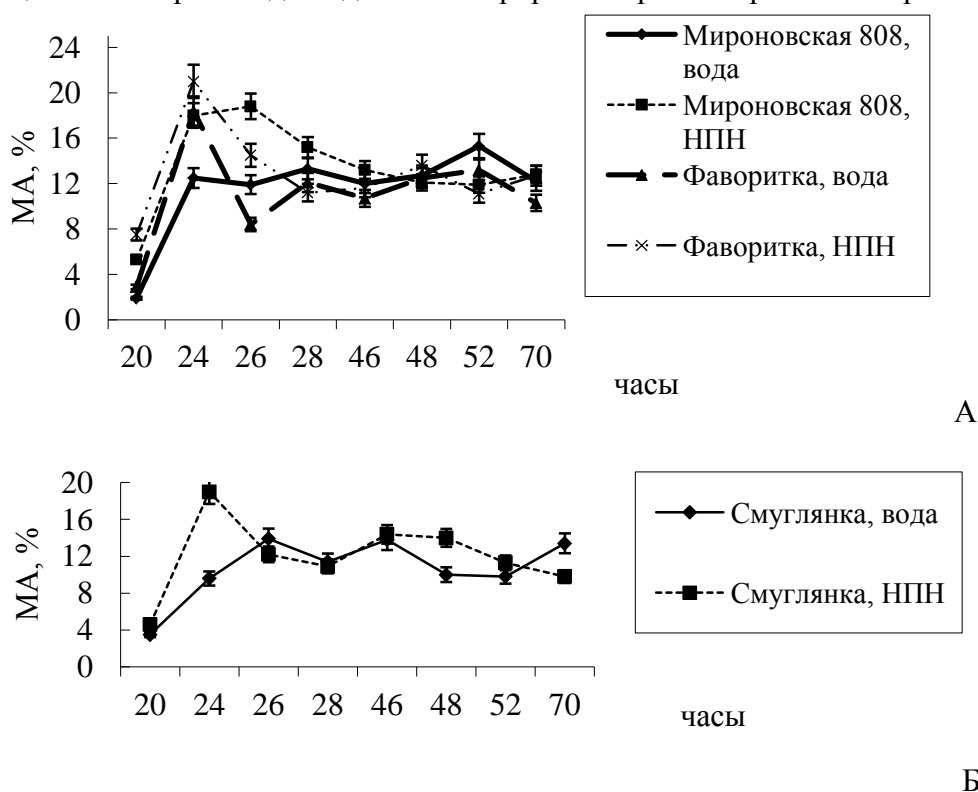


Рисунок 1 - Влияние NO на митотическую активность клеток зародышей пшеницы сортов Мироновская 808, Фаворитка (А), Смуглянка (Б) в период проращивания

Figure 1 - Effect of NO on mitotic activity wheat embryo cells varieties Mironivska 808, Favoritka (A), Smyglanka (B) during germination phase

Митозы отмечали в клетках меристем зародышевых листьев и корней. В течение следующих четырех часов происходило резкое увеличение количества клеток в митозе, особенно в тех вариантах опытов, где семена проращивали 20 ч на растворе, содержащем донор NO НПН. Количество клеток в митозе под действием NO у сортов Фаворитка и Смуглянка на 24 часу проращивания семян достигало 20% (рис. 1 А, Б). В последующие часы роста зародышевых листьев и корней количество клеток в митозе в меристемах снижалось и выравнивалось в контрольных и опытных вариантах у сортов Мироновская 808 и Фаворитка (рис.1 А). У сорта Смуглянка отмечено незначительное увеличение количества митозов на 48 часу проращивания семян (рис.1Б). Таким образом, сигнальная функция NO в процессе проращивания семян пшеницы проявилась в стимуляции вступления в митоз клеток меристем зародышевых корней и листьев. Участие NO в регуляции событий митотического цикла показано для большого числа растительных объектов, однако индукция проращивания семян злаков пока исследована слабо [2]. Полученные нами результаты свидетельствуют о взаимодействии NO с системами запуска первого митотического цикла в зародышах пшеницы в период проращивания семян.

Выводы

Показано, что NO участвует в регуляции процессов проращивания семян пшеницы, стимулирует пролиферативные процессы в меристемах зародышевых листьев и корней в период вступления клеток в первый митотический цикл после выхода из состояния покоя.

Литература

1. Nachiya T., Noguchi K. Integrative response of plant mitochondrial electron transport chain to nitrogen source// Plant Cell Rep. 2011. V. 30,N2. P.195–204.

2. Красиленко Ю.Ф., Емец А.И., Блюм Я.Б. Функциональная роль оксида азота у растений// Физиол. раст. 2010.Т.47,№4. С.483-494.
3. Hossain K.K., Nakamura T., Yamasaki H. Effect of nitric oxide on leaf non-photochemical quenching of fluorescence under heat stress conditions //Физиол.раст. 2011. Т.58,№4. С.542-546.
4. Lin A., Wang Y., Tang J., Xue P., Li Ch., Liu B., Hu B., Yang F., Loake G.J. Chu Ch. Nitric oxide and protein S–nitrosylation are integral to hydrogen peroxide–induced leaf cell death in rice// Plant Physiol. 2012. V.158. P.451-464.
5. Foyer Ch. H., Noctor G. Redox sensing and signaling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria// Physiol. plant. 2003. V.119. P.355-364.
6. Pagnussat G.C., Lanteri M.L., Lamattina L. Nitric oxide and cyclic GMP are messengers in the indole acetic acid –induced adventitious rooting process// Plant Physiol. 2003. V. 132, N3. P.1241–1248.
7. Beard R.A., Anderson D.J., Bufford J.L., Tallman G. Heat reduces nitric oxide production required for auxin–mediated gene expression and fate determination in tree tobacco guard cell protoplasts// Plant Physiol. 2012. V. 159, N4. P.1608–1623.

NITRIC OXIDE SIGNALING IN PROCESS OF WHEAT SEED GERMINATION

Zhuk O.I.

nitric oxide, wheat, seed, mitotic activity

It was shown that nitric oxide stimulated mitotic activity in wheat embryo leaves and roots under germination period. The highest number of cells at mitosis phase was detected in wheat embryos varieties Mironivska 808, Favoritka (A), Smyglanka (B) during NO supply. After NO removal from growth environment mitotic activity activity of cells decreased and equalized in control and experiment conditions.

РОЛЬ ОКСИДА АЗОТА В ИНДУЦИРОВАННИИ СИСТЕМНОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ПШЕНИЦЫ К *SEPTORIA TRITICI*

Жук И.В., Дмитриев А.П.

Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины,
ул. акад. Заболотного, 148, г Киев, 03680, Украина, E-mail: iren_zhuk@mail.ru

пшеница, Septoria tritici, оксид азота, устойчивость, антиоксидантные ферменты

Введение

Грибные патогены относят к одним из наиболее распространенных возбудителей болезней пшеницы. Показано, что большинство сортов мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) средне- и высокочувствительны практически ко всем грибным патогенам [1]. Широкое использование фунгицидов приводит не только к загрязнению окружающей среды, но и порой к усилению синтеза микотоксинов грибным патогеном [2]. Поиск природных источников повышения устойчивости растений пшеницы к патогенам выявил важную защитную роль оксида азота (NO) [3]. Показано, что NO является сигнальной молекулой при внедрении патогенов, участвует в реализации одного из ключевых механизмов защиты - реакции сверхчувствительности, в виде запрограммированной гибели клеток в месте инфекции. Выявлено, что синергическое взаимодействие NO и H₂O₂ усиливало лигнификацию клеточной стенки [4]. Установлено, что S-нитрозилирование белков является ключевым окислительно-восстановительным посттрансляционным модификатором в растениях и главным механизмом проявления биоактивности NO [5]. Полагают, что NO может контролировать синтез белков в условиях усиления продуцирования H₂O₂. Защитные реакции растений включают индуцируемый липополисахаридами синтез NO из аргинина, который вызывает накопление транскриптов генов альтернативной оксидазы и усиление активности антиоксидантных ферментов [6]. Изучение роли NO с использованием его донора нитропруссид натрия позволяет выявить его сигнальные функции в формировании ответа растения на патоген. Нашими предыдущими исследованиями показано, что NO увеличивал активность супероксиддисмутазы у растений яровой пшеницы в условиях заражения *Septoria tritici* [7].

Целью нашей работы было изучение влияния NO на формирование первичных реакций устойчивости пшеницы к септориозу.

Материалы и методы

Объектом исследований был сорт озимой мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. – Полесская 90, который выращивали в условиях полевого опыта на серой лесной почве в Киевской области. Обработку растений 0,5 мМ раствором донора NO – нитропруссид натрия (НПН) и заражение возбудителем септориоза проводили в фазу выхода в трубку. В качестве маркера индуцированной устойчивости определяли активность фенольной пероксидазы и каталазы [8, 9]. Отбор листьев проводили через сут. после заражения, в фазах колошения-цветения и молочной спелости зерна. Степень развития болезни оценивали в фазе молочно-восковой спелости зерна по Саари и Прескотту [10]. После созревания растений проводили анализ структуры урожая. Повторность эксперимента трехкратная. Результаты обрабатывали статистически с использованием ANOVA

Результаты и обсуждение

Показано, что действие NO на растения в условиях заражения септориозом повышало активность фенольной пероксидазы в наибольшей степени в фазе молочной спелости зерна в условиях максимального развития болезни (рис. 1А) В этот же период у необработанных растений активность пероксидазы снижалась. Действие NO на незараженные растения также индуцировало повышение активности пероксидазы, особенно в фазу колошения-цветения.

Активность каталазы у обработанных НПН и зараженных растениях уменьшалась в 3 раза, по сравнению с уровнем контроля в фазе выхода в трубку (рис 1 Б)

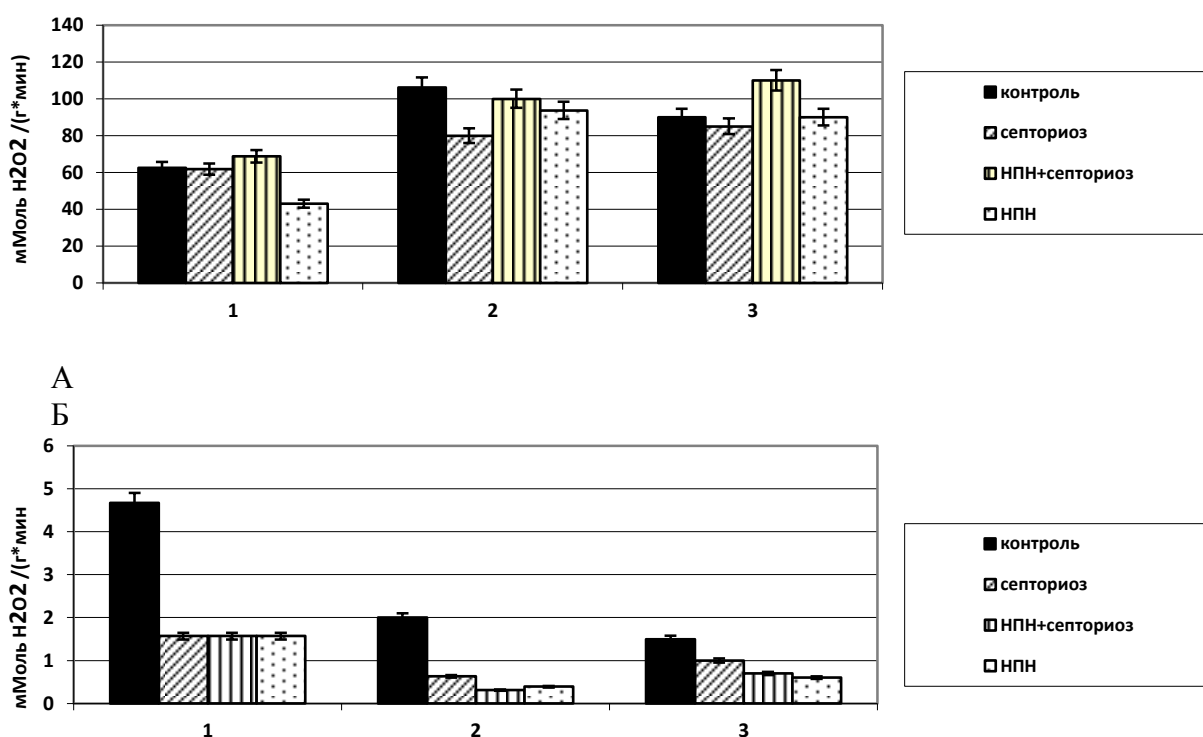


Рисунок 1 - Влияние обработки донором оксида азота – нитропруссидом натрия (НПН) на активность пероксидазы (А) и каталазы (Б) в листьях озимой пшеницы сорта Полесская 90 в условиях заражения возбудителе септориоза (1- фаза выхода в трубку, 2 – фаза колошения-цветения, 3 – молочной спелости зерна)

Figure 1 - The influence of nitric oxide donor treatment – sodium nitroprusside (SNP) on peroxidase (A) and catalase (B) activity in winter wheat variety Poliska 90 under *Septoria tritici* leaf blotch infection (1 – booting phase? 2 – earing-flowering phase, milky ripeness phase)

В фазах колошения-цветения и молочной спелости зерна активность каталазы под действием NO продолжала снижаться, по сравнению с контролем и ее предыдущими значениями. Полученные нами результаты согласуются с данными литературы об активации антиоксидантной защиты NO при заражении растений патогенами [3].

Оценка заражения септориозом растений пшеницы сорта Полесская 90 в фазе молочной спелости показала, что обработка НПН снижала степень поражения листьев на 10-15%. Анализ структуры урожая выявил, что обработка НПН повышала высоту растений и увеличивала площадь флагового листа, снижала количество невыполненных и деформированных зерен, увеличивала массу 1000 зерен ни урожай на 10-12% по сравнению с вариантом с заражением септориозом и необработанными растениями.

Выводы

Показано, что оксид азота стимулировал защитные механизмы растений озимой пшеницы при заражении септориозом, что проявлялось в виде повышения активности фенольной пероксидазы, формирующей клеточную стенку и снижении активности каталазы, утилизирующей продукт разрушения клеточных компонентов.

Литература

1. Леонова И.Н., Бадаева Е. Д., Орловская О.А, Родер М.С, Хотылева Л.В., Салина Е.А, Шумный В.К. Сравнительная характеристика гибридных линий *Triticum aestivum/Triticum durum* и *Triticum aestivum/ Triticum diococum* по геномному составу и устойчивости к гриб-

ным болезням в различных экологических условиях // Генетика.2013. Т.49, №11. С. 1276-1283.

2. Audenaert K., Callewaert E., Hofte M., Saeger S.De., Haesaert G. Hydrogen induced by the fungicide prothioconazole triggers deoxynivalenol (DON) production by the *Fusarium graminearum* // Plant Breed. And Seed Sci. 2010 V. 63. P.3-21.

3. Красиленко Ю.А., Емец А.И., Блюм Я.Б. Функциональная роль оксида азота у растений // Физиология растений. 2010 V.47, №4 С.483-494.

4. Mur L.A. J., Carver T. L.V., Prats E. NO way to live: the various roles of nitric oxide in plant-pathogen interactions// J. Exp. Bot. 2006 V. 57 P. 489-505.

5. Lin A. Wang Y., Tang J., Xue P. Li Ch., Lin L., Hu B., Yang F., Loake G.J., Chu Ch. Nitric oxide and protein S-nitrosylation are integral to hydrogen peroxide-induced leaf cell death in rice // Plant Physiol.2012 V.158 P.451 – 464.

6. Sun Aizhen, Nie ShengJun, Xing Da Nitric-oxide-mediated maintenance of redox homeostasis contributes to NPR1-dependent plant innate immunity triggered by lipopolysacchirides // Plant Physio. 2012 V. 160, №2. P.1081-1096.

7. Жук И.В., Дмитриев А.П. Участие щавелевой кислоты и донора оксида азота в индуцировании системной устойчивости пшеницы к возбудителю септориоза. // «Факторы устойчивости растений в экстремальных природных условиях и техногенной среде»// 10-13 июня 2013 г. Иркутск С. 83 - 86.

8. SeEVERS P. M., DALY J.M., CATEDRAL F.F. The role of peroxidase isozymes in resistance to wheat stem rust disease //Plant Physiol. 1971 V.48, N 3: P. 353-360.

9. Luck H. Catalase. In HU Bergmeyer, Methods of Enzymatic Analysis. Academic Press, New York, 1965. P. 885-894

10. Бабаянц Л.Т., Мештерхази А., Вехтер Ф. и др. Методы селекции и оценки устойчивости пшеницы и ячменя к болезням в странах-членах. СЭВ. Прага. 1988. 321 с.

THE ROLE OF NITRIC OXIDE IN INDUCTION OF SYSTEM WHEAT TOLERANCE TO SEPTORIA TRITICI LEAF BLOTCH

Zhuk I.V., Dmitriev A.P.

wheat, Septoria tritici, nitric oxide, tolerance, antioxidant enzymes

The aim of research was to investigate the effect of nitric oxide in induction of wheat defense responses against *Septoria tritici* agent during ontogenesis. Results obtained suggest that nitric oxide induces winter wheat variety Poliska 90 tolerance against leaf blotch agent *Septoria tritici*. The effect of NSP treatment increased the activity phenol peroxidases and decreased the catalase activity. The effect of NO also increased the grain quantity in ear and plant height.

СИГНАЛЬНАЯ ФУНКЦИЯ ПЕРЕКИСИ ВОДОРОДА В АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ К УСЛОВИЯМ ЗАСУХИ

Жук В.В.¹, Мусиенко Н.Н.²

¹Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины, ул. акад. Заболотного, 148, г. Киев, 03680, Украина, E-mail: zhuk_bas@voliacable.com

²Киевский национальный университет имени Тараса Шевченка, г.Киев, ул. Владимирская, 64/13, 01601, Украина

пшеница, перекись водорода, антиоксидантные ферменты, засуха

Введение

Засуха относится к главным лимитирующим факторам продуктивности злаков [1]. Индуцированное дефицитом воды ограничение фиксации CO₂ приводит к снижению генерации НАДФ+ в цикле Кальвина, усилению продуцирования активных форм кислорода (АФК) [2]. Пероксид водорода (H₂O₂) является наиболее долгоживущим видом АФК, продуцируется в хлоропластах, митохондриях, пероксисомах, цитозольных и апопластных пространствах, выполняет сигнальные функции [3]. Излишние количества H₂O₂ утилизируются ферментами аскорбат-глутатионового цикла, пероксидазами, каталазой [4]. К одной из главных сигнальных функций H₂O₂ относят активацию кальциевых каналов, регуляцию МАП-киназной активности, экспрессии генов, контролирующих антиоксидантные ферменты [5]. Показано положительное влияние экзогенного H₂O₂ на прорастание семян *Physum sativum* [6].

Нашими предыдущими исследованиями продемонстрировано сигнальное действие H₂O₂ на растения мягкой пшеницы в условиях температурного стресса, которое проявилось в регуляции эндогенного уровня H₂O₂, повышении активности ключевых антиоксидантных ферментов [7]. Целью данной работы было изучение сигнальной функции H₂O₂ в адаптации растений пшеницы к условиям засухи.

Материалы и методы

Объектом исследований были растения озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Полесская 90 в Украинском Полесье на серой лесной легкосуглинистой почве Национального научного центра «Институт земледелия» НААН Украины. Размер учетного участка составлял 1 м². Агротехника выращивания общепринятая для зоны. Опыты проводили в 2010-2012 годах. Обработку растений опытных вариантов H₂O₂ в концентрации 10-4М проводили методом опрыскивания в фазе выхода в трубку. Расход раствора на 1 м² составил 1л. Через сут. после обработки и до фазы молочной спелости зерна в флаговых листьях определяли содержание воды весовым методом, эндогенное содержание H₂O₂ (ПВ) в реакции с сульфатом титана [8], антиоксидантных ферментов, аскорбатпероксидазы (АПО) (ЕС 1.11.1.11) [9], каталазы (КАТ) (ЕС 1.11.1.6) [10], супероксиддисмутази (СОД) (ЕС 1.15.1.1) [11]. Активность АПО и КАТ выражали в мкМоль H₂O₂/мин, СОД в у.е. Анализ структуры урожая проводили с учетом не менее 50 растений в каждой повторности опыта. Результаты обрабатывали с помощью программы Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение

В условиях Украины частые засухи наблюдаются в период от цветения до молочной спелости зерна пшеницы. Показано, что содержание воды в флаговых листьях растений контрольного варианта снижалось в фазе налива зерна ниже 60% (рис.1). После обработки растений H₂O₂ в фазе выхода в трубку потеря воды флаговыми листьями в условиях природной засухи уменьшалась и оводненность листьев опытного варианта в фазе цветения составляла 70%. До фазы восковой спелости зерна содержание воды у флаговых листьев была на 10–12% выше по сравнению с соответствующими значениями в контроле. Восстановление содержания воды в листьях в молочной и восковой фазах спелости зерна после атмосферных

осадков у обработанных H₂O₂ происходило быстрее и достигало более значительных уровней содержания воды в листьях.

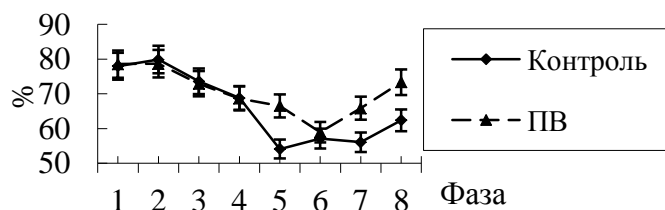


Рисунок 1 - Влияние обработки растений пшеницы сорта Полеская 90 H₂O₂ (ПВ) на содержание воды в флаговых листьях пшеницы (фаза 1-выход в трубку, 2- колошение, 3- цветение, 4- формирование зерновки, 5 - наливы зерна, 6- молочная спелость, 7, 8 –восковая спелость)

Figure 1 - Effect of wheat plants variety Poliska 90 treatment by H₂O₂ (HP) on flag leaves water content (phase 1-booting, 2-earing, 3-flowering, 4-grain forming, 5-grain filling, 6-milky, 7,8-wax ripeness)

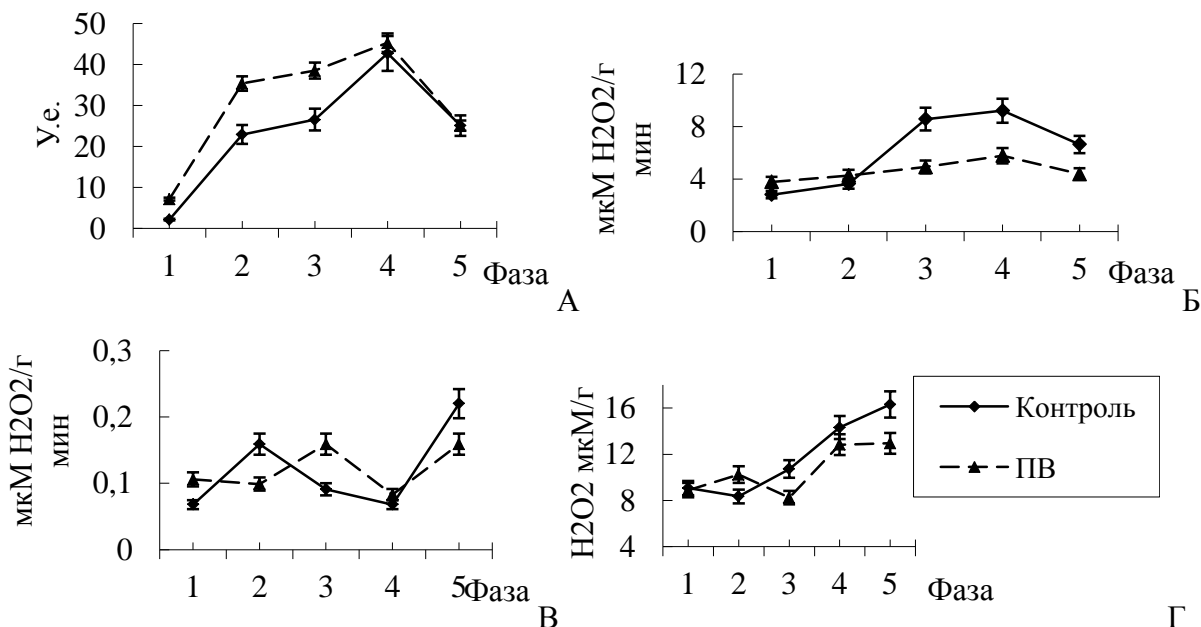


Рисунок 2 - Влияние обработки H₂O₂ на активность А-СОД, Б-АПО, В-КАТ, Г- содержание H₂O₂ в листьях пшеницы сорта Полеская 90 (фаза 1- выход в трубку, 2- колошение, 3- цветение, 4- наливы зерна, 5- молочная спелость)

Figure 2 - Effect of H₂O₂ (HP) treatment on A-SOD, B-APX, C-CAT activity, D-H₂O₂ content in wheat leaves variety Poliska 90 (phase 1-booting, 2-earing, 3-flowering, 4-grain filling, 5-milky ripeness)

Показано, что уже через сут. после обработки растений пшеницы H₂O₂ существенно повышалась активность СОД в флаговых листьях и оставалась на вышем, чем в контроле, уровне до фазы налива зерна (рис.2 А). В этот же период возрастало содержание эндогенного H₂O₂, источником которого в хлоропластах является СОД. Активность АПО и КАТ, которые являются главными утилизаторами H₂O₂, также повышалась непосредственно после воздействия экзогенного H₂O₂ (рис.2 Б, В). Таким образом, индукция экзогенным H₂O₂ адаптивных процессов в растениях озимой пшеницы в фазе выхода в трубку, в которой продолжается рост флагового листа, стебля, происходит формирование элементов цветка, вызывала повышение устойчивости растений пшеницы к дефициту воды в последующие фазы онтогенеза. Известно непосредственное участие H₂O₂ в регуляции движений замыкающих

клеток устьиц, которое, вероятно, лежит в основе его действия в условиях наших экспериментов, что включает цепь событий влияющих на процессы фотосинтеза, роста и конечную продуктивность растений пшеницы. Анализ структуры урожая показал, что у обработанных H₂O₂ растений увеличивалось количество зерен в колосе в среднем на 3 зерновки, масса 1000 зерен – на 2 г и возрастала урожайность с 39,5 ц/га в контроле до 41,5 ц/га в опытном варианте.

Выводы

Сигнальная функция экзогенного H₂O₂ на растения озимой пшеницы в условиях полевого опыта проявилась в регуляции эндогенного содержания H₂O₂, активности СОД, АПО, КАТ, снижении потери воды листьями, повышении продуктивности растений пшеницы в условиях природной засухи.

Литература

1. Barnabas B., Jager K., Feher A. The effect of drought and heat stress on reproductive processes in cereals// Plant, Cell Environment. 2008. V.31. P.11-38.
2. Vranova E., Inze D., van Breusegem F. Signal transduction during oxidative stress// J. Exp. Bot. 2002. V.53, N.372. P.1227-1236.
3. Foyer Ch.H., Noctor G. Redox sensing and signaling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria// Physiol. Plant. 2003. V.119. P.355-364.
4. Прадедова У.В., Ишеева О.Д., Салаяев Р.К. Классификация системы антиоксидантной защиты как основа рациональной организации экспериментальной организации экспериментального исследования окислительного стресса у растений// Физиол. растений. 2011. Т.58, №2. С.177-185.
5. Neill S., Desican R., Hancock J. Hydrogen peroxide signaling //Curr. Opin.Plant Biol. 2002. V.5. P.388-395.
6. Barba-Espin G., Diaz-Vivancos P., Job D., Belghazi M., Job L., Hernandez J.A. Understanding the role of H₂O₂ during pea seed germination: a combined proteomic and hormone profiling approach//Plant, Cell Environm. 2011. V.34. P.1907-1919.
7. Жук В.В., Бацманова Л.М., Мусиенко Н.Н. Индукция экзогенной перекисью водорода адаптивного ответа растений пшеницы на высокотемпературный стресс// Докл. НАН Украины. 2013. №4. С.135-138.
8. Chen L.-M., Kao C.-H. Effect of excess copper on rice leaves: evidence for involvement of lipid peroxidation // Bot. Bull. Acad. Sin. 1999. V.40. P.283 - 287.
9. Nakano Y., Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts// Plant Cell Physiol. 1981. V.22, N5. P.867-880.
10. Upadhyaya A., Sankhla D., Davis T.D. Sankhla N., Smith B.N. Effect of paclobutrazol on the activities of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves// J. Plant Physiol. 1985. V.121, N5. P.453-461.
11. Beyer W.F.Jr., Fridovich I. Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions// Anal. Biochim. 1987. V.161. P.559-566.

SIGNAL EFFECT OF HYDROGEN PEROXIDE ON WHEAT PLANTS ADAPTATION UNDER DROUGHT CONDITIONS

Musienko M.M., Zhuk V.V.

wheat, hydrogen peroxide, antioxidant enzymes, drought.

The effect of hydrogen peroxide treatment in booting phase on superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APO), catalase (CAT) activity, endogenous peroxide and water content in flag leaves, productivity of wheat variety Poliska 90 was studied in field experiment under drought conditions. It was established that treatment of plants by H₂O₂ reduced H₂O₂ content, increased water content, SOD, CAT activity in flag leaves and yield of wheat plants.

АККУМУЛЯЦИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ РАСТЕНИЯМИ В ПРОМЫШЛЕННО НАРУШЕННЫХ МЕСТООБИТАНИЯХ СРЕДНЕГО УРАЛА

Зиннатов Э.Р.², Жуйкова Т.В.², Лешукова Л.А.¹, Жуйкова Е.В.¹, Киселева И.С.¹

¹ФГАОУ ВПО «Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина»; ул. Мира 19, г. Екатеринбург, 620002, Россия, E-mail: Irina.Kiselyova@usu.ru;

²ФГБОУ ВПО «Нижнетагильская государственная социально-педагогическая академия», ул. Красногвардейская, г. Нижний Тагил Свердловской области, 57, Россия, 622031, E-mail: elvira_nt@list.ru

Plantago major, Plantago media, Taraxacum officinale, Tussilago farfara, Trifolium medium, Melilotus albus, тяжелые металлы, накопление в корнях, содержание в листьях, промышленно нарушенные биотопы

Введение

Тяжелые металлы (ТМ), оказывая цитотоксическое, мутагенное и канцерогенное действие, являются одними из самых опасных поллютантов. У растений ТМ ингибируют фотосинтез, нарушают минеральное питание и водный баланс, тормозят рост. Загрязнение природных территорий ТМ ставит задачу поиска путей восстановления таких земель или безопасного их использования. В связи с этим актуальным является изучение поглощения ТМ корнями растений и их транспорта по растительному организму с целью выявления растений гипераккумуляторов и эксклюдеров [1], пригодных, соответственно, для фиторемедиации, или возделывания на загрязненных площадях для хозяйственных целей, например, как корм для животных.

Материалы и методы

В пяти местообитаниях г. Нижний Тагил и его окрестностей, на шламоотвалах Качканарского ГОК (КГОК) и прилегающих к нему территориях были отобраны образцы почв и растений для последующего определения содержания ТМ. Почву отбирали с глубины 10 см в непосредственной близости от корневых систем растений. В каждом биотопе отобрано не менее 10 проб почв и/или шлама, 10 растений каждого вида, отдельно подземная и надземная части. Сборы проводили в фазе цветения растений. Содержание тяжелых металлов определяли после «мокрого озоления» образцов методом атомно-абсорбционного спектрального анализа [2] на приборе PerkinElmer AAS 300. По результатам измерений определяли уровень общей токсической нагрузки - Si [3]. В соответствии с уровнем загрязнения биотопы определены как: фоновые (Si = 1-3 отн.ед.), буферные (Si = 3-7 отн.ед.), импактные (Si = 7 и более отн.ед.). В качестве объектов изучены *Tussilago farfara* L., *Plantago major* L., *Plantago media* L., *Taraxacum officinale* Wigg., *Melilotus albus* M., *Trifolium medium* L. Выбор видов обусловлен их наличием на нарушенных территориях и близлежащей экологически чистой территории.

Результаты и обсуждение

Содержание подвижных форм ТМ (мкг/г) в почве регионального фона и техногенно нарушенных территорий различалось: 7 - 951 для Cu; 6-390 для Zn; 377-5700 для Fe; 0,2-124 для Co; 0,5-37 для Cr; 0,01-0,2 для Cd; 0,2-5 для Pb; 4-23 для Ni. Приоритетными загрязнителями являются железо, цинк, марганец и медь, концентрации которых в загрязненных почвах превышают фоновые в десятки и сотни раз. В подземных органах растений накапливается 5-100 мкг/г Cu; 8-150 мкг/г Zn; 0,4-17 мкг/г Co; 1-30 мкг/г Cr и 110-3300 мкг/г Fe. Высокой способностью к накоплению в корнях меди обладают *P. major*, *P. media*, *T. officinale*, *T. farfara*; цинка - *P. major*; железа - *M. albus*, *P. major*, *P. media*, *T. farfara*, и *T. officinale*; ко-

бальта – *M. albus*, *P. major*; хрома – *T. farfara*, *P. major*, *M. albus*. У большинства видов выявлена положительная связь между содержанием ТМ в почвах и их концентрацией в корнях.

Перемещение тяжелых металлов в системе почва-растение удобно оценивать с помощью коэффициента накопления (КН), равного отношению содержания элемента в корнях к содержанию подвижной формы соответствующего элемента в почвах (КН = Скорни/Спочвы) [3]. КН < 1 обычно наблюдается при повышенном содержании элемента в почве, что обусловлено активной работой корневого барьера. В ином случае КН ≥ 1, что свидетельствует о беспрепятственном поступлении ионов металлов в растение путем диффузии, либо об активном метаболическом поглощении элементов при содержании их в почве в микроколичествах. В биотопах близ Н.-Тагила (табл. 1) КН в большинстве случаев не превышал 1, а с ростом токсической нагрузки снижался.

Таблица 1 - Коэффициенты накопления тяжелых металлов (отн. ед.)

Table 1 - Coefficients of heavy metals accumulation

Виды	Токсическая нагрузка, отн. ед. (Нижний Тагил и его окрестности)					
	1,00	2,55	3,33	6,19	8,36	22,78
КНСu/KHZn						
<i>P. major</i>	0,7/0,9	0,8/0,4	0,4/0,4	0,3/0,4	0,3/0,2	0,1/0,2
<i>T. farfara</i>	2,0/0,4	1,3/0,1	0,3/0,2	0,2/0,1	0,20,1/	0,1/0,04
<i>T. officinale</i>	1,6/0,6	1,6/0,3	0,6/0,4	0,3/0,1	0,3/0,1	0,1/0,1
<i>M. albus</i>	0,5/0,9	0,4/0,2	0,1/0,2	0,8/0,6	0,1/0,1	0,02/0,1
<i>T. medium</i>	1,0/0,9	0,7/0,3	0,2/0,2	—/—	0,2/0,1	—/—
Токсическая нагрузка местообитаний, отн. ед. (Качканарский ГОК и его окрестности)						
	1,0 – 2,9	1,1- 4,3	2,6 -3,7	4,6		
КНСu						
<i>T. officinale</i>	23,6/8,32	14,2/4,1	30,8/14,4	21,8/3,5		
<i>P. media</i>	84,4/9,83	33,4/6,37	-/-	52,7/10,4		

Значения КНСu > 1 отмечены в фоновых и буферных местообитаниях у *T. officinale*, *T. farfara*, *P. media*, а КHZn > 1 у *T. officinale* *P. media* из окрестностей КГОК. Высокие значения коэффициента накопления меди по сравнению с цинком обусловлены более низким ее содержанием в почве фоновых и слабо загрязненных местообитаний и более высокой обеспеченностью почвы цинком, с одной стороны, и потребностью в этих элементах, с другой. Коэффициент накопления меди существенно выше у *P. media*., чем у *T. officinale*, что свидетельствует о более эффективном поглощении подорожником ионов меди из почвенного раствора. В импактных биотопах наименьшим КНСu = 0,02 обладал *M. albus*, а КHZn - *T. farfara*, что означает, что барьерная функция корней у них выражена сильнее в сравнении с другими видами, или поступившие ионы активно транспортируются в надземную часть растения.

В надземных органах растений концентрации ТМ (мкг/г) варьируют в пределах: 2–46 (Cu), 2,3–90 (Zn), 0,5–16 (Co), 0,5–5 (Cr), 52–1870 (Fe). Хорошей способностью к аккумуляции Cu обладают *P. major*, *P. media*, *T. officinale*, *T. farfara*, минимальной – *M. albus* и *T. medium*. Высокое содержание Zn в листьях характерно для *P. major*, *P. media* и *T. officinale*, Fe – *M. albus* и *T. officinale*. Минимальная концентрация Fe в листьях у *T. medium*. Со больше всего в листьях *M. albus* и *T. farfara*, Cr – у *T. farfara*, *P. major*, *M. albus*. *T. officinale* и *T. medium* накапливают Cr в листьях в очень малых количествах.

Передвижение ионов металлов в растении можно оценить по коэффициенту транслокации (КТ), равному отношению содержания элемента в надземных органах к его содержанию в подземных [3]. У *P. major* и *M. albus* при низком содержании ТМ в корнях КТ > 1 и снижался при уменьшении содержания ТМ; у *P. media* КТ для меди и цинка был меньше 1 во всех

случаях. У *Tussilago farfara* L. и *Trifolium medium* L. КТ мало изменялся, а у *T. officinale* для Cu был близок к единице, что указывает на низкую эффективность барьера корень/надземная часть, либо о слабом накоплении Cu в растении, а для Zn КТ > 2, т.е. цинк поступает из корня в надземную часть. Для *P. media* КТ для Cu и Zn существенно меньше единицы, значит металлы в большей степени накапливаются в корнях, а в надземную часть поступают менее интенсивно, что свидетельствует о высокой эффективности барьера корень/надземная часть.

Заключение

Анализ содержания ТМ в фоновых и загрязненных почвах, в надземных и подземных органах растений, а также коэффициентов накопления и транслокации позволяет выявить у изученных растений разные стратегии накопления таких эссенциальных элементов как медь и цинк. Установлена корреляционная связь между содержанием химических элементов в почве и в подземных органах растений. Выявлена видовая специфика в накоплении ТМ. Более высокой способностью накапливать Cu обладали *P. major*, *P. media*, *T. officinale*, *T. farfara*, Zn – *P. major*, *P. media*, Fe – *M. albus*, *T. officinale*. Виды обладали также разной эффективностью барьеров почва/корень и корень/побег для ТМ. Например, у одуванчика поступлению Cu в растение препятствует эффективная работа корневого барьера, тогда как Zn свободно поглощается корневой системой и вследствие низкой эффективности работы барьера корень/побег легко транспортируется в листья. *Plantago media* свободно поглощает из почвы Cu и Zn, накапливая их в корнях, но не в листьях, что свидетельствует о высокой эффективности барьера корень/побег.

Литература

1. Baker A. J. M. Accumulators and excluders strategies in the response of plants to heavy metals // J. Plant Nutr. 1981. V. 3. N 1/4. P. 643–654.
2. Алексеев Ю. В. Тяжелые металлы в почвах и растениях. Л.: Агропромиздат. 1987. 158 с.
3. Безель В. С., Жуйкова Т. В., Позолотина В. Н. Структура ценопопуляций одуванчика и специфика накопления тяжелых металлов // Экология. 1998. № 5. С. 376–382.

HEAVY METAL ACCUMULATION IN PLANTS IN INDUSTRIALLY DISTURBED HABITATS OF THE MIDDLE URALS

Zinnatova E.R, Zhujkova T.V., Leshukova L.A., Zhujkova E.V., Kiselyova I.S.

Plantago major, *Plantago media*, *Taraxacum officinale*, *Tussilago farfara*, *Trifolium medium*, *Melilotus albus*, heavy metals, root accumulation, leaf concentration, industrially disturbed habitats

Heavy metals concentration in soils, roots and shoots, accumulation and translocation coefficients allowed to reveal different strategies in the accumulation of such essential elements as copper and zinc in plants. *P. major*, *P. media*, *T. officinale*, *T. farfara* have shown a high ability to accumulate Cu, *P. major*, *P. media* – Zn and *M. albus*, *T. officinale* – Fe. Species differed in the effectiveness of barriers soil/root and root/shoot.

ИЗМЕНЕНИЯ В НАКОПЛЕНИИ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ПРИ ДЕЙСТВИИ КАДМИЯ НА КАЛЛУСНЫЕ КУЛЬТУРЫ ЧАЙНОГО РАСТЕНИЯ С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ

Зубова М.Ю.¹, Нечаева Т.Л.², Живухина Е.А.¹, Загоскина Н.В.²

¹Московский педагогический государственный университет, ул. Кибальчича, 6, г. Москва, 129164, Россия, E-mail: phenolic2012@yandex.ru

²ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая 35, г. Москва, 127276, Россия, E-mail: phenolic@ippras.ru

чай, культуры, кадмий, полифенолы

Введение

К числу веществ растительного происхождения, вызывающих большой интерес, относятся фенольные соединения (ФС), обладающие высокой биологической активностью и все более широко используемые в фармакологических целях [1, 2]. Они синтезируются практически во всех клетках высших растений, а уровень их накопления зависит от действия многих биотических и абиотических факторов [3]. К числу последних относятся тяжелые металлы, накопление которых в окружающей среде возрастает вследствие различных техногенных воздействий [4]. Одним из наиболее распространенных и токсичных их представителей является кадмий (Cd). В его присутствии отмечается подавление роста растений, изменение их морфо-физиологических характеристик, а также метаболизма [5]. В тоже время наши знания о влиянии Cd на образование фенольных соединений в клетках высших растений с различным уровнем дифференциации крайне малы.

Удобным объектом для таких исследований являются растения чая, обладающие специализированным обменом направленным на образование разнообразных ФС, а также инициированные из них культуры [6, 7]. Следует также подчеркнуть, что в условиях *in vitro* сохраняется способность к биосинтезу флаванов (ФЛ) – веществ, обладающих Р-витаминной капилляроукрепляющей активностью, что представляет большой практический интерес [8].

Известно, что биосинтез ФС осуществляется в таких клеточных органеллах, как пластиды, эндоплазматический ретикулум и аппарат Гольджи [9]. При этом в гетеротрофных тканях содержание этих веществ ниже, а состав – беднее, чем в фотомиксотрофных [10].

Целью исследования являлось изучение влияния Cd на гетеротрофную и фотомиксотрофную каллусные культуры чайного растения.

Материалы и методы

Каллусные культуры, инициированные из молодого стебля чайного растения, выращивали в темноте или при 16-час фотопериоде на модифицированной питательной среде Хеллера, содержащей 2,4-Д и глюкозу. В опытных вариантах к основной питательной среде добавляли Cd, используя для этого его соль -Cd(NO₃)₂ в концентрации 25 мг/л.

Определяли прирост каллусов, их оводненность.

Для извлечения ФС, каллусные ткани экстрагировали 96%-ным этанолом. В экстрактах определяли суммарное содержание фенольных соединений (с реактивом Фолина-Дениса) и содержание флаванов (с ванилиновым реактивом) [11]. Калибровочные кривые в обоих случаях строили по (-)-эпикатехину.

Результаты и обсуждение

Гетеротрофные каллусные культуры чайного растения, выращиваемые в темноте, представляли собой плотные каллусы светло-бежевого цвета. Фотомиксотрофная культура чая, выращиваемые на свету, также имела светло-бежевый цвет, но содержала окрашенные в зеленый цвет группы клеток на поверхности каллусов. При перенесении этих культур на среду с Cd у гетеротрофного каллуса изменений в морфо-физиологических характеристиках не

наблюдалось, тогда как фотомиксотрофный каллус приобретал более темный оттенок, а на его поверхности формировались небольшие участки бледно-зеленого цвета. В обоих случаях значительных изменений в приросте культур, по сравнению с контролем, не отмечалось. Все это свидетельствует о том, что присутствие Cd в среде в большей степени влияло на морфофизиологические характеристики фотомиксотрофной культуры чая, то есть на клетки с более высоким уровнем внутриклеточной внутритканевой дифференциации, как это было показано ранее [8].

Определение содержания ФС показало, что в гетеротрофной и фотомиксотрофной культурах, растущих на основной питательной среде, биосинтетическая способность к концу пассажа снижалась (рис. 1).

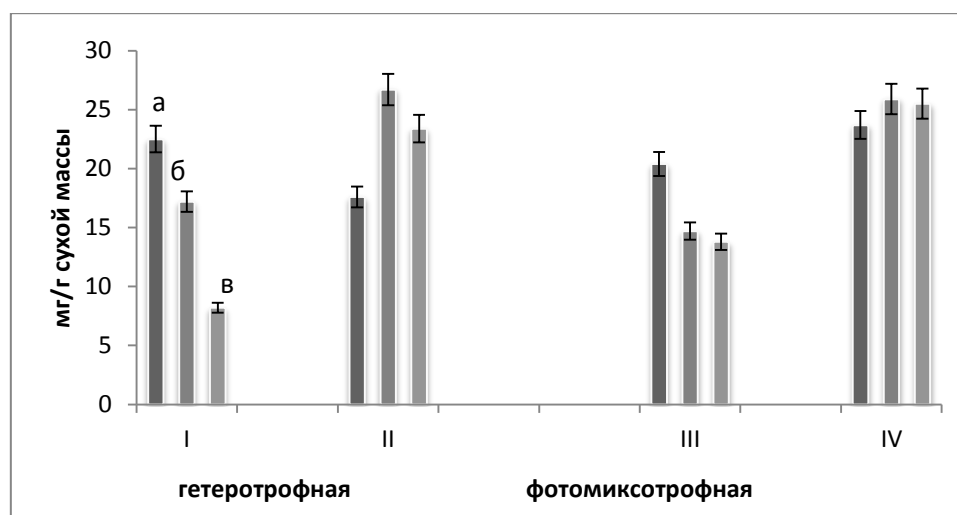


Рисунок 1 - Содержание фенольных соединений в гетеротрофной и фотомиксотрофной каллусных культурах чайного растения: I, III – основная питательная среде, II, IV – среда с Cd (25 мг/л); а, б, в – 20, 30, 40 дни роста

Figure 1 - Content of phenolic compounds in heterotrophic and fotomiksotrofnoy callus cultures of tea plant: I, III - basal medium, II, IV - medium with Cd (25mg/l); a, b, в - 20, 30, 40 days of growth

Выращивание каллусов на среде с Cd влияло на образование ФС, в большинстве случаев способствуя их накоплению. При этом у гетеротрофной культуры наибольшее содержание этих веществ было на 30 день культивирования, тогда как у фотомиксотрофной оно повышалось уже на 20 день роста, а потом практически не менялось.

Исходя из этих данных можно заключить, что повышение биосинтеза ФС при поступлении Cd в клетки чайного растения в большей степени проявляется в фотомиксотрофной культуре, по сравнению с гетеротрофной, что свидетельствует о взаимосвязи между уровнем структурной организации клеток и накоплением этих соединений вторичного метаболизма, защищающих их от стрессовых воздействий.

Работа выполнена при частичной поддержке фонда РФФИ (грант 14-04-01742)

Литература

1. Bidel L.P.R., Coumans M., Baissac Y. Boological activity of phenolics in plant cells // Recent advances in polyphenol research / Eds Cantos-Buelga C., Escribano-Bailon M.T., Lattanzio V. Iowa, USA: Wiley-Blackwell, 2010. V. 2. P. 163–205.
2. Куркин В.А. Фармакогнозия. Самара: ООО «Офорт». 2007. 900 с.
3. Вольнец А.П. Фенольные соединения в жизнедеятельности растений. Минск: Беларус. Навука, 2013. 283 с.
4. Джирард Д.Е. Основы химии окружающей среды. М.: Физматлит, 2008. 640 с.

5. Серегин И.В., Иванов В.Б. Физиологические аспекты токсического действия кадмия и свинца на высшие растения // Физиология растений. 2001. Т. 48. С. 606–630.
6. Saravanan M, Maria John K.M., Raj Kumar R., Pius P.K., Sasikumar R. Genetic diversity of UPASI tea clones (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) on the basis of total catechins and their fractions // Phytochemistry. 2005. V. 66. P. 561–565
7. Загоскина Н.В., Дубравина Г.А., Алявина А.К., Гончарук Е.А. (2003) Влияние ультрафиолетовой радиации на образование и локализацию фенольных соединений в каллусных культурах чайного растения // Физиология растений. 2003. Т. 50. С. 302-308.
8. Запрометов М.Н. Биохимия катехинов. М.: Наука, 1964. 250 с.
9. Запрометов М.Н. Фенольные соединения и их роль в жизни растения. LVI Тимирязевское чтение, М.: Наука, 1996. 45 с.
10. Запрометов М.Н., Загоскина Н.В. Еще об одном доказательстве участия хлоропластов в биосинтезе фенольных соединений // Физиология растений. 1987. Т.34. С. 165-172.
11. Запрометов М.Н. Основы биохимии фенольных соединений. М.: Просвещение, 1973 248 с.

**CHANGES IN ACCUMULATION OF PHENOLIC COMPOUNDS UNDER
THE INFLUENCE OF CADMIUM ON CALLUS CULTURES OF TEA PLANT
WITH DIFFERENT LEVELS OF INTRACELLULAR DIFFERENTIATION**

Zubova M.V., Nechaeva T.L., Zhivuhina E.A., Zagoskina N.V.

tea, culture, cadmium, polyphenols

Investigated the effect of cadmium (25 mg/l) on education of phenolic compounds in heterotrophic and fotomiksotrophic callus cultures of tea plant. Found that in the presence of cadmium accumulation of phenolic compounds increased, especially in fotomiksotrophic culture. These changes may be due to changes in antioxidant the system of cells.

ВЛИЯНИЕ ПИЩЕВОГО СУБСТРАТА НА АКТИВНОСТЬ И МОЛЕКУЛЯРНЫЙ СОСТАВ ГИДРОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ ЛИЧИНОК КОЛОРАДСКОГО ЖУКА

Ибрагимов Р.И., Цветков В.О., Шпирная И.А., Валиахметова К.И.

ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный университет», ул. З. Валиди, 32, г. Уфа, 450076, Россия, E-mail: ibragimov56@yandex.ru

протеазы, пектиназы, целлюлазы, амилазы, колорадский жук

Введение

Колорадский жук *Leptinotarsa decemlineata* Say является одним из самых опасных вредителей пасленовых культур, в первую очередь, картофеля. Колорадский жук - олигофаг, и фактор влияния кормового растения для вида имеет особое значение. Известно, что пригодны для питания и развития колорадского жука только 20 видов пасленовых [1]. Устойчивость растений картофеля к повреждениям насекомыми обеспечивается как анатомическими барьерами, так и биохимическими особенностями растений. Особенное значение для развития насекомого имеют биохимические барьерные механизмы защиты растения, среди которых одним из эффективных является так называемый некротический барьер [2]. Показано, что поранение растений личинками колорадского жука приводило к повышению активности ингибиторов протеиназ в листьях томатов и картофеля. Причем, повреждение даже одного листа вызывало активацию ингибиторов во всем растительном организме [3]. Показано, что механическое поранение листьев картофеля стимулирует транскрипцию генов белковых ингибиторов цистеиновых и аспартильных протеиназ [4, 5]. Добавление в пищу низкомолекулярного ингибитора цистеиновых протеиназ E-64 приводило к значительной задержке роста личинок [6]. Оказалось, что потребление пищи с высоким содержанием ингибиторов вызывает в организме насекомых ответные реакции, приводящие к изменению его метаболизма. Так, кормление личинок КЖ листьями картофеля с повышенным содержанием ингибитора конкретной пищеварительной протеиназы, стимулирует синтез в кишечнике насекомых других ферментов, неспецифичных к данному ингибитору [7].

Целью нашей работы было выявление изменений в активности и компонентном составе гидролитических ферментов при питании личинок колорадского жука различными видами пасленовых растений.

Материалы и методы

В опытах были использованы личинки колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata*), растения картофеля (*Solanum tuberosum*, сорта Невский, Луговской, Удача и Башкирский), томата (*Solanum lycopersicum*, сорт Молдавский ранний) и баклажана (*Solanum melongena*, сорт Юбилейный).

Навеску свежих насекомых растирали в ступке и экстрагировали трис-НСI- или ацетатным буфером при 4 °С, дважды центрифугировали 10 мин при 11000 g при 4 °С. Супернатант использовали для определения активности и выделения гидролитических ферментов.

Активность гидролаз определяли с помощью иммобилизованных в геле агарозы субстратов для ферментов: крахмала КМЦ и пектина, соответственно [8]. Выделение ферментов и гомогенатов насекомых осуществляли аффинной хроматографией с сорбентом на основе полиакриламидного геля. В качестве лигандов были использованы ферментные субстраты: желатин (для протеиназ), яблочный пектин (для пектиназ), каартофельный крахмал (для амилаз), карбоксиметилцеллюлоза (для целлюлаз).

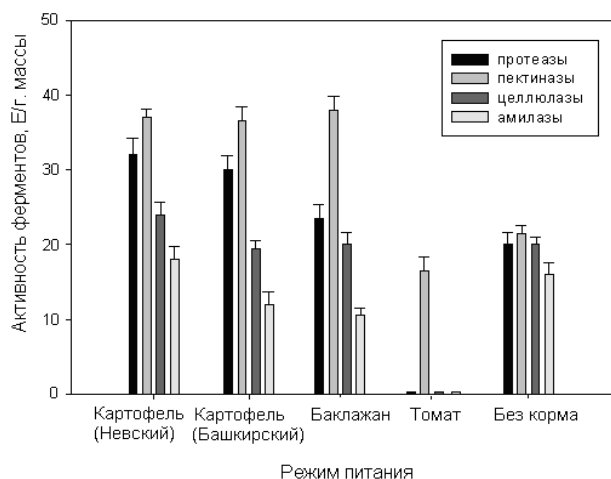
Для разделения белков проводили SDS-электрофорез в 10%-ном ПААГ по Лэммли. Гели окрашивали Кумасси G-250. Эксперименты проводили в трехкратной биологической и четырехкратной аналитической повторности.

Результаты и обсуждение

На рисунке 1 представлены данные об активности гидролитических ферментов в личинках колорадского жука, питавшихся листьями растений различных видов. У контрольных насекомых, не получавших пищу в течение 48 часов, активность исследованных гидролаз выявляется на уровне 16-23 Е/г массы. Видно, что видовые особенности растений оказывают существенное влияние на уровень активности пищеварительных гидролаз насекомых. При питании личинок листьями картофеля и баклажана активность протеиназ и пектиназ у насекомых значительно (в 1,5 – 2 раза) повышается по сравнению с уровнем активности контрольных (голодных) личинок.

Рисунок 1 - Активность гидролитических ферментов в гомогенатах личинок колорадского жука в зависимости от пищевого субстрата (вида растения). Контроль (без корма) – личинки, лишенные пищи в последние 48 ч.

Figure 1 - Activity of hydrolytic enzymes in homogenates of Colorado potato beetle larvae depending feeding substrate (plant species). Control sample (without feeding) – larvae which not obtained a food during 48 h



Тогда как целлюлолитическая и амилолитическая активности насекомых, питающихся листьями этих растений, выявляются на уровне показателей контрольных насекомых или ниже этих показателей. Поедание насекомыми листьев томата приводит к полному или частичному подавлению активности пищеварительных ферментов. Так, в гомогенате личинок этого варианта практически отсутствует амилолитическая, целлюлолитическая и протеолитическая активности, а пектиназная активность более чем в два раза ниже, чем в варианте с листьями картофеля и баклажана. Можно предположить, что высокий уровень ингибирования пищеварительных ферментов не позволяет насекомым полноценно усваивать пищевые компоненты растений томатов, что обеспечивает их высокую устойчивость к поеданию жуком.

Как видно из наших результатов, уровень активности протеаз, пектиназ, амилаз целлюлаз у личинок колорадского жука изменяется в зависимости от вида и сорта растений, которыми питаются насекомые. Данные об изменении активности и количественного состава протеолитических ферментов при питании различными пищевыми субстратами были получены и другими авторами [9, 10]. Наши результаты электрофореза аффиноочищенных ферментов личинок колорадского жука показали, что число электрофоретических компонентов фермента не зависит типа питательного растительного субстрата. Выявленные различия в уровне активности фермента обуславливаются, по-видимому, неодинаковой относительной активностью различных молекулярных форм фермента. Часть гидролитической активности насекомого подавляется и ингибиторами, содержащимися в растительном субстрате [11, 12].

Исследования выполнены в рамках государственного задания Минобрнауки РФ (рег. № 01201456414).

Литература

1. Jansky S.H., Simon R., Spooner D.M. A test of taxonomic predictivity: resistance to the Colorado potato beetle in wild relatives of cultivated potato // J. Econ. Entomol. 2009. V. 102. No. 1. P. 422-431.
2. Balbyshev N.F., Lorenzen J.H. Hypersensitivity and egg drop: a novel mechanism of host plant resistance to Colorado potato beetle (*Coleoptera: Chrysomelidae*) // J. Econ. Entomol. 1997. V. 90. No. 2. P. 652-657.
3. C.A. Ryan. Insect-induced Chemical Signals Regulating Natural Plant Protection Responses. // Variable plants and herbivores in natural and managed systems. New York, Academic press, 1983.
4. Hildmann T., Ebneith M., Peiia-Corth H., Sánchez-Serrano J., Willmitzer L., Prat S. General Roles of Abscisic and Jasmonic Acids in Gene Activation as a Result of Mechanical Wounding. // The Plant Cell, 1992, Vol. 4, 1157-1170.
5. Lawrence S., Novak N., Ju C., Cooke J. Potato, *Solanum Tuberosum*, Defense Against Colorado Potato Beetle, *Leptinotarsa Decemlineata* (Say): Microarray Gene Expression Profiling of Potato by Colorado Potato Beetle Regurgitant Treatment of Wounded Leaves.// J Chem Ecol, 2008), V 34, P. 1013–1024.
6. Hines M., Nielsen S., Shade R., Pomeroy M. The effect of two proteinase inhibitors, E-64 and the Bowman-Birk inhibitor, on the developmental time and mortality of *Acanthoscelides obtectus*// Entomologia Experimentalis et Applicata, 1990, V.57, Issue 3, P. 201–207.
7. Jongsma M., Bakker P., Peters J., Bosch D., Stiekema W. Adaptation of *Spodoptera exigua* larvae to plant proteinase inhibitors by induction of gut proteinase activity insensitive to inhibition // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol. 92, pp. 8041-8045, 1995.
8. Шпирная И.А., Умаров И.А., Шевченко Н.Д., Ибрагимов Р.И. Определение активности гидролаз и их ингибиторов с использованием субстратов, иммобилизованных в геле агарозы // Прикладная биохимия и микробиология, 2009. Т. 45, № 4. С. 497-501.
9. Overney S, Fawe A, Yelle S, Michaud D. Diet-related plasticity of the digestive proteolytic system in larvae of the Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) // Insect Biochemistry and Physiology, 1997, V. 36, № 4. P. 241–250.
10. Zhu-Salzman K, Zeng R. Molecular mechanisms of insect adaptation to plant defense: Lessons learned from a Bruchid beetle // Insect Science, 2008, V. 15, № 6. P. 477–481.
11. Шпирная И.А., Ибрагимов Р.И., Умаров И.А. Подавление активности гидролитических ферментов колорадского жука растительными белками//Вестник БашГУ, 2006, Т.11, № 3, С. 49 -52.
12. Шевченко Н.Д., Ибрагимов Р.И., Шпирная И.А., Умаров И.А., Хамадалиев Р.Ф. Активность компонентов системы «эстеразы – ингибиторы эстераз колорадского жука» в тканях картофеля//Вестник БашГУ, 2008, Т.13, № 4, С.922-925

EFFECT OF FEEDING SUBSTRATE ON ACTIVITY AND MOLECULAR CONTENT OF HYDROLYTIC ENZYMES OF COLORADO POTATO LARVAE

Ibragimov R.I., Tsvetkov V.O., Shpirnaya I.A., Valiakhmetova K.I.

proteinases, pectinases, cellulases, amylases, Colorado potato beetle

In this article the results of evaluation of Colorado potato beetle larvae, differing by feeding conditions, hydrolases activity are presented. Hydrolases, purified using affine chromatography, molecular content were estimated using denaturing electrophoresis. There was shown an essential difference of phytophagan nutrition hydrolases activity depending features of plant species and no differences in molecular content of insects enzymes.

УДК 581.1.

АККУМУЛЯЦИЯ ПРОЛИНА В ЛИСТЬЯХ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ ПРИ ВОДНОМ, СОЛЕВОМ СТРЕССАХ И ИХ СОЧЕТАНИИ

Иванов А.А., Кособрюхов А.А.

ФГБУН Институт фундаментальных проблем биологии РАН, ул. Институтская, 2, г. Пущино
Московской обл., 142290, Россия, E-mail: demfarm@mail.ru

Triticum aestivum, водный стресс, солевой стресс, пролин

Введение

Засуха и засоление являются одними из основных абиотических стрессов, ограничивающих рост и продуктивность сельскохозяйственных культур. Реакция растений на засуху и солевой стресс имеет много общих черт. Засоление снижает способность растений к поглощению воды, так называемая «химическая засуха», что является причиной быстрого сокращения темпов роста, а также приводит к ряду метаболических изменений, аналогичных действию засухи, например, осмотический и окислительный стрессы, закрытие устьиц, ингибирование фотосинтеза и сокращение газообмена, повреждение клеточных структур [1]. Аккумуляция пролина способствует уменьшению осмотического потенциала листьев и считается первой реакцией растений, подвергшихся солевому и водному стрессу. Кинетика накопления этого вещества зависит от интенсивности и продолжительности стресса [2]. Наибольшее накопление пролина наблюдались при комбинированном стрессе [3].

В настоящее время интенсивно изучается действие на растения отдельных стрессовых факторов. Однако в природе растения обычно подвержены влиянию различных сочетаний абиотических стрессов, таких как совместное воздействие засухи и засоления, физиолого-биохимический ответ растений на которые нельзя напрямую экстраполировать из соответствующих ответов растений на каждый из этих двух стрессов по отдельности [4]. Тем не менее, информации об эффекте совместного действия засухи и засоленности имеется недостаточно. Предполагалось, что водный стресс на засоленных почвах должен лишь усугублять токсическое действие соли, ограничивая поглощение воды корнями и способность растений противостоять засухе [5]. Таким образом, исследование влияния комбинации напряжений имеет значительное практическое и экологическое значение для выяснения путей повышения устойчивости растений на действие абиотических стрессов.

Материалы и методы

Растения пшеницы (*Triticum aestivum* L.) выращивали в течение 10 дней на субстрате из хорошо отмытого песка с поливом до полного насыщения субстрата. Относительную влажность субстрата вычисляли как % от полной влагоемкости данного субстрата. Для эксперимента использовали 2-й, молодой лист растений. Варианты опыта: 1. Засуха - создавали путём прекращения полива растений. 2. Засоление - осуществляли путём внесения в субстрат раствора NaCl до конечных концентраций 50, 100, 200 и 300 мМ с учетом полной влагоемкости субстрата; полив проводили для поддержания полной влагоемкости субстрата. 3. Переменная засуха при засолении - создавали путём полива засоленных вариантов по достижении относительной влажности субстрата 70-80%, процесс повторяли ежедневно в течении 10 дней. 4. Постоянная засуха при засолении – полное прекращение полива засоленных вариантов. Определение относительного содержания воды (ОСВ) проводили на отрезках листьев (20 мм) по соотношению сырой (FW) и сухой (DW) массы, используя уравнение: $OSB = 100 \cdot (FW - DW) / (TW - DW)$, где TW – сырая масса листьев при полном водном насыщении. Определение количества свободного пролина проводили спектрофотометрически в сухом растительном материале по методу Bates с соавт. [6]. Концентрацию Na⁺ измеряли на пламенном фотометре (BWB-XP Performance Plus, BWB Technologies, UK) после высушивания листьев при 70°C, экстракции в 500 мМ HNO₃ при 80°C 1.5 ч.

Результаты и обсуждение

Аккумуляция пролина в тканях листа наблюдается при самых разных видах стресса, в том числе при засухе и засолении. Однако в настоящее время существуют противоречивые данные о количестве накапливаемого пролина. До сих пор не удалось выявить закономерность между способностью растений синтезировать пролин и устойчивостью сортов к стрессам. Считается, что пролин синтезируется в цитоплазме клеток растений и выполняет функцию осмотически активного вещества, уравнивая градиент осмотического давления между цитозолем и вакуолью. При водном стрессе накапливается значительное количество пролина, что показано и в наших экспериментах. Более того, есть мнение, что накопление органических веществ характерно именно в случае водного стресса, в то время как при солевом стрессе преобладающим веществом, уравнивающим разницу осмотических потенциалов между почвой и растением, всё-таки, являются ионы соли. В начальный период тургор проростком сохранялся на первоначальном уровне, но по достижении некоторого порогового значения, превышающего осморегулирующий потенциал растения, оводнённость листьев резко падала. По-видимому, количество синтезируемого пролина было связано с поддержанием осмотического баланса между цитоплазмой и вакуолью и не могло поддерживать водный потенциал всего растения достаточно длительное время для противодействия развивающейся засухе.

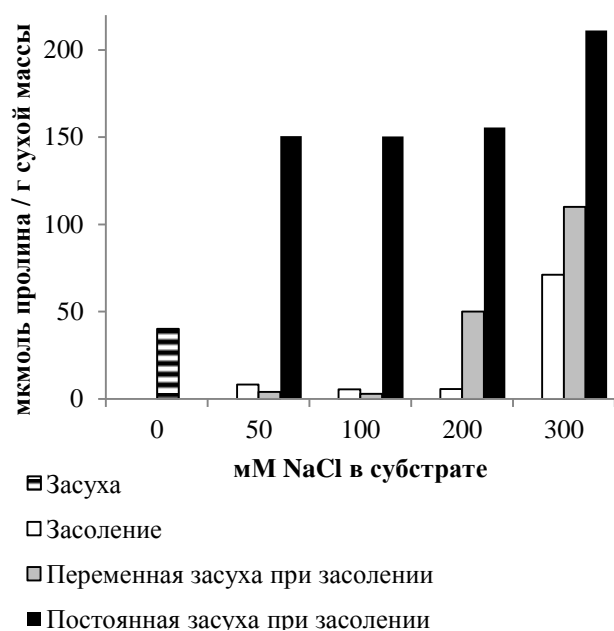


Рисунок 1 - Максимальное накопление пролина в листьях проростков пшеницы при засухе, засолении, комбинированном действии переменной засухи и засоления и комбинированном действии постоянной засухи и засоления

Figure 1 - The maximum accumulation of proline in leaves of wheat seedlings under drought, salinity, the combined effects of variable drought and salinity and combined effect of recurrent drought and salinity

При солевом стрессе накопление Na^+ в листьях при полной оводнённости субстрата происходило медленными темпами. Это может быть связано с эффективной работой механизмов эксклюзии, противодействующим транспорту Na^+ в растение на уровне корней или его загрузки в ткани листа на уровне сосудистой системы. Оводнённость растений поддерживалась на неизменном уровне на протяжении всего эксперимента во всех вариантах засоления. И только при высокой концентрации NaCl в субстрате на 8-й день опыта происходило падение оводнённости листьев, сопровождающееся накоплением пролина в незначительных количествах. В вариантах с низкой концентрацией соли в субстрате синтеза пролина не наблюдалось, не смотря на продолжающееся накопление Na^+ . Можно сделать заключение, что основными осмотически активными веществами, поддерживающими водный потенциал целого растения при

солевом стрессе, в данном случае являлись именно ионы соли.

При периодической засухе, сопровождающейся ежедневным подсыханием субстрата, накопление Na^+ шло более высокими темпами, чем при чисто солевом стрессе. Накопление пролина также наблюдалось лишь в вариантах с высокой концентрацией NaCl , но было заметно больше. В результате, в конце эксперимента, мы фиксировали довольно низкий уровень пролина, но который был заметно выше, чем в случае чисто солевого стресса. Принци-

пиально иная картина наблюдалась при комбинированном действии водного и солевого стрессов. Накопление пролина в количествах, намного превышающих таковые при каждом из этих стрессов в отдельности, происходило при всех концентрациях NaCl в субстрате. Динамика накопления Na⁺ была схожа с таковой варианта с переменной засухой, но несколько меньшей интенсивности. Меньшее накопление Na⁺ при комбинированном стрессе может быть связано с быстрым закрытием устьиц уже в самом начале эксперимента, хотя транспорт ионов соли в надземные органы продолжался и в этом случае, вероятно, по осмотическому градиенту. Темпы развития засухи сильно замедлялись в присутствии NaCl за счёт увеличения водоудерживающей способности субстрата. При концентрации NaCl до 100 мМ в субстрате увеличивалось время жизни растений пшеницы по сравнению с условиями при одной засухе. При низкой концентрации NaCl в субстрате отмечено невысокое содержание пероксида водорода и малонового диальдегида в листьях при неизменном уровне активности антиоксидантных ферментов. С увеличением концентрации NaCl в субстрате до 200-300 мМ возрастало накопление пролина, однако оводнённость листьев при этом резко падала, что приводило к гибели растений. Следовательно, при определении степени стресс-устойчивости растений в зависимости от количества накапливаемого пролина следует учитывать в каком диапазоне концентраций NaCl в почве производится эта оценка.

Заключение

Метаболический ответ проростков пшеницы при совместном водном и солевом стрессе носит неаддитивный характер и существенно отличается от ответа при каждом из этих стрессов в отдельности. Для инициации синтеза пролина необходимо не только присутствие соли в клетках растений, но и создание условий засухи.

Литература

1. Wang W., Vinocur B., Altman A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance // *Planta*. 2003. V. 218. P. 1-14.
2. Chaum S., Kirdmanee C. Proline accumulation, photosynthetic abilities and growth characters of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) plantlets in response to iso-osmotic salt and water-deficit stress // *Agric. Sci. China*. 2009. V. 8. P. 51-58.
3. Ahmed I.M., Dai H., Zheng W., Cao F., Zhang G., Sun D., Wu F. Genotypic differences in physiological characteristics in the tolerance to drought and salinity combined stress between Tibetan wild and cultivated barley // *Plant physiology and biochemistry*. 2013. V. 63. P. 49-60.
4. Mittler R. Abiotic stress, the field environment and stress combination // *Trends Plant Science*. 2006. V. 11. P. 15-19.
5. Grewal H.S. Response of wheat to subsoil salinity and temporary water stress at different stages of the reproductive phase // *Plant Soil*. 2010. V. 330. P. 103-113.
6. 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.

ACCUMULATION OF PROLINE IN WHEAT SEEDLING LEAVES UNDER DROUGHT, SALINE STRESS AND THEM COMBINATION.

Ivanov A.A., Kosobryukhov A.A.

Triticum aestivum, water stress, salt stress, proline

The metabolic response of wheat seedlings leaves to drought and salinity combined stress was nonadditive and differs from that caused by each of the different stresses applied individually. Both the presence of salts in plant cells, and also creation of drought conditions to initiate the synthesis of proline is necessary.

**ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ТЕМПЕРАТУРНОГО ФАКТОРА
В КАЧЕСТВЕ РЕГУЛЯТОРА МИКРОСПОРОГЕНЕЗА
ЛИСТВЕННОЙ СИБИРСКОЙ (*LARIX SIBIRICA*)**

Иванова А.Н., Голованова Т.И.

ФГАОУ ВПО «Сибирский федеральный университет», г. Красноярск, пр. Свободный 79,
660041, Россия, E-mail: annaivanova_2000@mail.ru

температурный фактор, микроспорогенез, мейоз, пыльца, микроспороциты, лиственница сибирская, дифференциация

Низкие положительные температуры рассматривают, как один из факторов, определяющий этапность онтогенеза и влияющий на фенотипическое проявление генотипа растения. Показано его влияние на становление полярности растительного организма и использовании как стрессора индукции андроклинии у покрытосеменных растений [1, 2, 3, 4, 5]. У лиственницы сибирской процесс формирования микроспорофиллов начинается во второй половине лета, процессы микроспорогенеза и формирования пыльцы протекают в течение осени и зимы и заканчиваются весной следующего года, в связи с этим для исследования брали мужские генеративные органы с деревьев *Larix sibirica* в период с октября 2000 г. по май 2001 г., и с октября 2001 г. по май 2002 г.

Среднемесячные температуры воздуха с момента заложения мужских генеративных органов в августе 2000 г. и в течение всего этапа развития по май 2001 г., характеризовались низкими температурами в отличие от 2001-2002 гг. в этот период среднемесячные температуры были более высокими (рис. 1). Поэтому динамика прохождения мейоза у лиственницы сибирской существенно различалась в эти периоды.

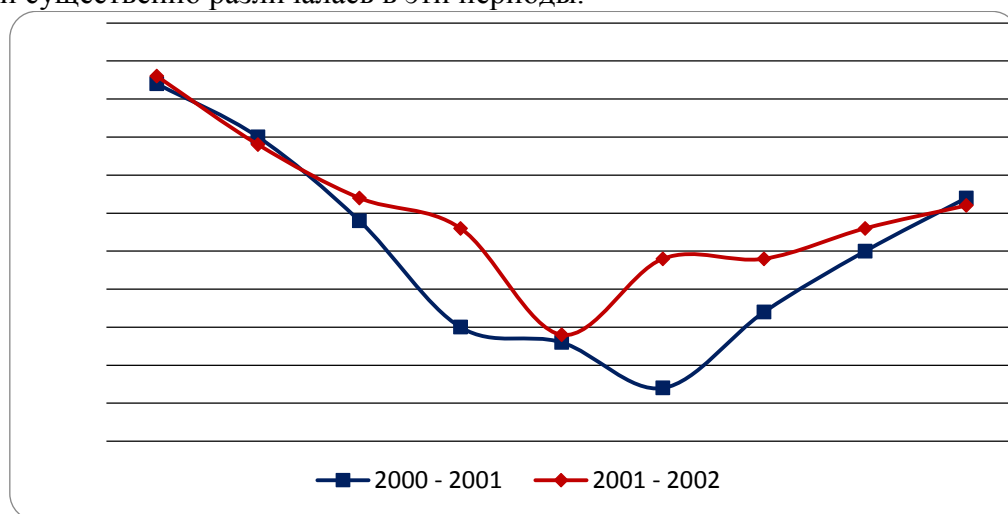


Рисунок 1 - Среднемесячные температуры 2000 – 2001 гг. и 2001 – 2002 гг.

Figure 1 - The average monthly temperature 2000-2001 and 2001-2002

В конце сентября и начале октября 2000 г. в микроспорангиях у лиственницы сибирской происходила дифференциация клеток археспория в микроспороциты, которые в этот период находились на стадии ранней профазы I (липтонома) и на этой стадии они оставались зимовать. Продолжение мейоза в мужских почках лиственницы начиналось лишь весной 2001 г. в конце марта. Наблюдали асинхронность мейоза внутри одного микроспорангия и в разных микроспорангиях одного дерева. Развитие материнских клеток микроспор у лиственницы сибирской затягивается и продолжается полтора-два месяца (табл. 1.).

Таблица 1 - Прохождение мейоза в микроспороцитах лиственницы сибирской 2000-2001 гг. и 2001-2002 гг.

Table 1 - Passage of meiosis in microsporocytes Siberian larch 2000-2001. and in 2001-2002

Дата наблюдений	Количество клеток по фазам мейоза, %											
	профаза i					метафаза i	анафаза i	диады	метафаза ii	анафаза ii	тетрады	микроспоры
	липтонема	зиготена	пахитена	диплотена	диакинез							
2000-2001 гг.												
1.10	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14.10	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28.10	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1.11	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14.11	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28.11	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1.12	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14.12	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28.12	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1.02	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14.02	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28.02	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1.03	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14.03	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28.03	75,3	-	-	-	-	13,3	2,3	9,1	-	-	-	-
1.04	64,5	-	-	-	-	20,5	0,5	13,0	0,5	1,0	-	-
14.04	19,6	-	-	-	-	19,9	4,5	30,2	2,4	7,9	15,5	-
28.04	56	-	-	-	-	9,6	1,2	22,0	6,4	30,0	25,2	-
1.05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	60,0	40,0
2001-2002 гг.												
1.10	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-
14.10	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-
28.10	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-
1.11	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-
14.11	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-
28.11	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-
1.12	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-
14.12	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-
28.12	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-
1.02	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-
14.02	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-
28.02	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-
1.03	-	-	-	-	75,5	24,5	-	-	-	-	-	-
14.03	-	-	-	-	30,5	20,0	5,2	39,2	3,1	2,0	-	-
28.03	-	-	-	-	17,3	19,2	5,8	35,4	4,7	7,3	27,6	-
1.04	-	-	-	-	5,9	15,5	14,3	15,8	25,4	7	22	-
14.04	-	-	-	-	6,4	9,6	1,2	22,0	56	30,0	25,2	-
28.04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	70,0	30,0
1.05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100

Необходимо отметить, что на протяжении 2001 – 2002 гг. в тот же самый период с октября по май, наблюдалась несколько иная картина. Как отмечалось этот период характеризовался заметным потеплением (рис. 1), что привело к вступлению клеток археспория в процесс микроспорогенеза в октябре. К этому времени в микроспорангиях лиственницы сибирской происходила дифференциация клеток археспория в микроспороциты и в состоянии профазы I (диплотена) микроспороциты оставались зимовать (табл. 1).

Таким образом, динамика мейоза зависела от метеорологических условий сезона: холодная погода замедляла процессы формирования материнских клеток микроспор и пыльцевых зерен, при теплой зиме развитие материнских клеток микроспор и пыльцы шло более быстрыми темпами.

Литература

1. Круглова Н.Н., Куксо П.А. Начальный этап индукция андроклинии // Усп. соврем. биол. 2006. Т. 126. № 5. С. 462-471.

2. Лазарева Г.Г., Миронова В.В., Омелянчук Н.А., Шва И.В., Вшивков В.А., Горпинченко Д.Н., Николаев С.В., Колчанов Н.А. Математическое моделирование морфогенеза растений Сиб. журн. вычисл. матем., 2008, 11:2, 151–166

PROSPECTS FOR THE USE OF THE TEMPERATURE FACTOR AS A REGULATOR OF MICROSPOROGENESIS OF SIBERIAN LARCH (*LARIX SIBIRICA*)

Ivanova A.N., Golovanova T.I.

temperature factor, microsporogenesis, meiosis, pollen, microsporangiums, larch, differentiation

Dynamics of meiosis depends on the weather conditions of the season: cold weather hindered the processes of formation of maternal cells microspores and pollen grains, with warm winter development of maternal cells microspores and pollen went faster.

ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ЛИПИДОВ ГАЛОФИТОВ, РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ ПО СТРАТЕГИИ ДАЛЬНЕГО ТРАНСПОРТА ИОНОВ Na⁺ И Cl⁻Иванова Т.В., Кузнецова Э.И., Халилова Л.А., Мясоедов Н.А., Балнокин Ю.В.,
Цыдендамбаев В.Д.ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая 35,
г. Москва, 127276, Россия, E-mail: itv_2006@mail.ru*Chenopodium album*, *Limonium gmelinii*, *Suaeda altissima*, корни, надземные органы, липиды, жирные кислоты, индекс ненасыщенности

Изменения качественного и количественного состава жирных кислот (ЖК) мембранных липидов играют важную роль в адаптации растений к изменяющимся условиям окружающей среды. Наиболее хорошо изучены изменения ЖК-состава липидов при адаптации растений к резким изменениям температуры. Способность растительных клеток быстро изменять ЖК-состав липидов своих мембран позволяет им за счет изменения температуры фазового перехода поддерживать текучесть липидных бислоев на уровне, сохраняющем мембранные белки в функционально-активном состоянии в широких температурных диапазонах [1]. Другим фактором среды, обуславливающим изменения ЖК-состава клеточных липидов, является дегидратация клеток в условиях низкотемпературного стресса. Намного меньше исследован состав ЖК липидов клеточных мембран растений в условиях засоления, хотя именно мембраны играют важнейшую роль в формировании свойства солеустойчивости растений. Ионный гомеостаз растительной клетки и распределение ионов в системе целого растения обеспечиваются не только функционированием локализованных в мембранах ионотранспортирующих белков, но и низкой ионной проницаемостью мембран, т.е. их способностью поддерживать трансмембранные ионные градиенты. Такая способность в значительной степени определяется ЖК-составом липидного бислоя мембран. Яркие различия в ЖК-составе мембранных фосфо- и гликолипидов следует ожидать у галофитов и гликофитов, а также у галофитов с различной организацией дальнего транспорта Na⁺ и Cl⁻, т.е. транспорта этих ионов в системе целого организма. Настоящая работа посвящена изучению содержания и ЖК-состава липидов у таких растений.

Материалы и методы

Исследования проводили на солеустойчивом гликофите *Chenopodium album*, галофите *Limonium gmelinii*, выделяющем соль на поверхность листьев с помощью солевых желез, и на соленакапливающим галофите *Suaeda altissima*. Растения выращивали в факторостатной камере в условиях водной культуры на среде [2] при оптимальной для роста, повышенной и пониженной концентрации NaCl в среде культивирования, освещая натриевыми лампами высокого давления Reflux 250. Корни и листья собранных растений по отдельности фиксировали в кипящем изопропанолу и гомогенизировали. Экстракцию суммарных липидов, получение ЖК синтез метиловых эфиров, а также идентификацию и анализ их состава методом ГЖХ-МС проводили как описано ранее [3].

Результаты и обсуждение

У соленакапливающего галофита *Suaeda altissima* в условиях оптимальной концентрации NaCl в среде (250 мМ) в надземных органах как абсолютное, так и относительное содержание липидов в расчете на сырую массу было более чем в 2,5 раза выше, а в расчете на сухую массу – примерно вдвое выше, чем при выращивании растений при 1 или 750 мМ NaCl. Изменение концентрации NaCl в питательном растворе в большую или меньшую сторону в корнях приводило к иным результатам. При оптимальной концентрации NaCl в среде содержание липидов в корнях в расчете на г сырой массы было более чем в 1,6 и 1,3 раза ниже, по сравнению с вариантом без засоления и при 750 мМ NaCl соответственно. В то же время, в расчете на сухую массу наблюдали совершенно иную картину: в отсутствие засоления абсолютное содержание липидов в корнях было таким же, как и при оптимальной концентрации NaCl в питательном растворе (250 мМ), а при 750 мМ NaCl этот показатель снижался лишь на ~30%. При оптимальной для роста *S. altissima* концентрации соли в ли-

пидах ее надземных органов было обнаружено 11 индивидуальных видов С12-С24 ЖК, главными из которых были пальмитиновая (С16:0), линолевая (С18:2) и α -линоленовая (С18:3) кислоты. В листьях и побегах растений, выращенных без NaCl либо при трехкратной по сравнению с оптимальной концентрацией соли, отмечали практически одинаковые изменения качественного и количественного ЖК-состава липидов листьев. В частности, происходило увеличение разнообразия ЖК, главным образом, за счет повышения числа видов С>20-ЖК. При этом наблюдали резкое (в 1,7–1,8 раза) снижение относительного содержания С18:3, сопровождавшееся значительным повышением доли С16:0 (в 2,6–2,7 раза), олеата (в 3,0–3,3 раза) и суммы С>20-ЖК (в 13–14 раз). Такие изменения ЖК-состава липидов надземных органов при выращивании растений в неоптимальных условиях приводили к 30% снижению индекса ненасыщенности (ИН) их ЖК. В липидах корней в условиях оптимальной концентрации NaCl в среде (250 мМ) было обнаружено 19 видов ЖК, главными из которых были С16:0 (32,3%) и С18:2 (50,9%). При 1 мМ NaCl в среде в липидах корней, так же как и в липидах листьев, наблюдалось увеличение разнообразия ЖК (до 32 индивидуальных видов), снижение в них уровня С16:0 (на 40%), повышение доли С18:3 и суммы С>20-ЖК (на 75% и в 4 раза соответственно). Повышение концентрации NaCl в среде до 750 мМ, наоборот, вызывало снижение разнообразия ЖК в липидах корней (до 16 видов ЖК). При этом имело место снижение уровня С16:0 (на 32%), повышение доли С18:3 и суммы С>20-ЖК (на 50% и в 4 раза соответственно). В итоге, выращивание растений в неоптимальных условиях засоления в отличие от надземных органов, в корнях приводило не к снижению, а к 14–20%-ному повышению ненасыщенности мембранных липидов.

У гликофита *Ch. album* в надземных органах абсолютное содержание липидов в расчёте как на сырую, так и на сухую массу было максимальным в отсутствие соли в среде и при 50 мМ NaCl. В диапазоне концентраций NaCl в среде культивирования от 150 до 300 мМ как абсолютное, так и относительное содержание липидов снижалось лишь на 1,4–7,5%. Что касается корней, то при обоих способах расчёта как абсолютное, так и относительное содержание липидов было максимальным в отсутствие NaCl в среде, однако в отличие от надземных органов, в условиях засоления количество липидов в корнях в расчёте на сухую массу снижалось на 6,8–24,2%, причём снижение абсолютного содержания липидов имело место уже при 50 мМ NaCl в среде. В отсутствие соли в липидах надземных органов идентифицировали 15 видов С12-С24-ЖК, главными из которых были С16:0 (19,8%), С18:2 (14,3%) и С18:3 (57,5%). При 50 мМ NaCl как качественный, так и количественный ЖК-состав липидов не изменялся, а при максимальном засолении в них наблюдались лишь незначительные изменения состава ЖК. При 300 мМ NaCl в среде в липидах надземных органов в них несколько снижалась доля С18:3 и повышался уровень С16:0, С18:2 и С18:Δ9, что приводило к снижению величины ИН (с 2,109 до 2,022). В липидах корней в отсутствие соли обнаружили 15 видов С12-С24-ЖК, главными из которых были С16:0 (22,7%), С18:1 (5,9%) и С18:2 (52,9%). Добавление в среду культивирования 50 мМ NaCl вызывало резкое увеличение числа индивидуальных видов ЖК (до 27), однако при более высоких концентрациях соли качественный состав ЖК был менее разнообразным (20 видов С12-С25-ЖК). Относительное содержание главных ЖК в ацилсодержащих липидах корней (как и величина ИН) при этом изменялось незначительно.

В надземных органах галофита *L. gmelinii*, выделяющего соль на поверхность листьев с помощью солевых желез, при выращивании в водной культуре при 250 мМ NaCl как абсолютное, так и относительное содержание липидов в расчёте на сырую массу было в ~1,4 раза выше, а в расчёте на сухую массу – примерно вдвое выше, чем при выращивании растений при 1 или 750 мМ NaCl. В корнях же наблюдали обратную картину – в условиях умеренного засоления (250 мМ) и абсолютное, и относительное содержание липидов при обоих способах расчёта было более чем в 1,4 раза ниже, чем в отсутствие засоления, но почти не отличалось от такового при 750 мМ NaCl. В отсутствие соли в липидах надземных органов идентифицировали 22 вида С12-С24-ЖК, главными из которых были С16:0 (20,8%), С18:1 (6,7%), С18:2 (20,2%) и С18:3 (46,3%). Умеренное засоление приводило к снижению разнообразия ЖК и к некоторому снижению уровня ненасыщенных С18-ЖК, сопровождавшегося увеличением доли С16:0 (до 24,2%) и снижением величины ИН (с 1,885 до 1,833), в то время как при 750 мМ NaCl уровень С18:2, С18:3 и величина ИН резко уменьшались (до 15,9, 38,8% и 1,586, соотв.), а доля С16:0 – увеличивалась (до 31,6%). В отсутствие соли главными

ЖК липидов корней, как и в надземных органах, были С16:0 (24,1%), С18:1 (11,6%), С18:2 (46,8%) и С18:3 (7,8%). При этом в корнях как умеренный, так и высокий уровень засоления вызывали резкое снижение концентрации С18:2, С18:3 (до 33,4-35,3% и 3,4-5,6% соотв.), сопровождавшееся повышением уровня С16:0 (до 30,7-36,4%) и С18:1 (до 15,7-15,8%) и величины ИН (до 0,961-1,070) причём эти изменения ЖК-состава были более заметными при умеренном уровне засоления.

Ранее было показано, что повышенное содержание соли в среде может индуцировать не только изменения в ЖК-составе мембранных липидов, но и рост содержания отдельных классов самих этих липидов – фосфо-, глико- и сульфолипидов [4]. В ряде случаев галофиты характеризовались повышенным уровнем некоторых из этих классов по сравнению с гликофитами [4, 5]. Таким образом, нами было подтверждено предположение о том, что все эти особенности содержания и ЖК-состава липидов также могут играть адаптивную роль в мембранах, приводя к снижению их текучести, ионной проницаемости.

Литература

1. Лось Д.А. Структура, регуляция экспрессии и функционирование десатураз жирных кислот // Успехи биол. химии. 2001. Т. 41. С. 163–198.
2. Robinson S.P., Downton W.J.S. Potassium, Sodium and Chloride Ion Concentration in Leaves and Isolated Chloroplasts of the Halophyte *Suaeda australis* R. Br. // Aust. J. Plant Physiol. 1985. V. 12. P. 471–478.
3. Сидоров Р.А., Жуков А.В., Верещагин А.Г., Цыдендамбаев В.Д. Низшие алкиловые эфиры жирных кислот из плодов бересклета// Физиология растений. 2012. Т.59. С.362–368.
4. Leach R.P., Wheeler K.P., Flowers T.J., Yeo A.R. Molecular Markers for Ion Compartmentation in Cells of Higher Plants II. Lipid Composition of the Tonoplast of the Halophyte *Suaeda maritima* (L.) Dum. // J. Exp. Bot. 1990. V. 41. P. 1089–1094.
5. Hirayama O., Mihara M. Characterization of Membrane Lipids of Higher Plants Different in Salt Tolerance // Agric. Biol. Chem. 1987. V. 51. P. 3215–3221.

FATTY ACID COMPOSITION OF LIPIDS IN HALOPHILIC PLANTS DIFFER IN LONG-DISTANT Na^+ AND Cl^- TRANSPORT STRATEGY

Ivanova T.V., Kuznetsova E.I., Khalilova L.A., Myasoedov N.A., Balnokin Yu.V., Tsydendambaev V.D.

Chenopodium album, *Limonium gmelini*, *Suaeda altissima*, roots, above-ground organs, lipids, fatty acids, unsaturation index

Lipid content and fatty acid composition in the above-ground organs and roots of the salt tolerant glycophytic plant *Chenopodium album* and halophytic plants *Suaeda altissima* and *Limonium gmelinii* under different NaCl concentrations in cultural media were investigated. In leaves and stems of *S. altissima* and *L. gmelinii* both the absolute and relative lipid content calculated per 1 g fresh or dry weight under optimal NaCl concentration in the cultivation medium (250 mM) were more than 2.0 and 1.4 times higher, than under 1 or 750 mM NaCl, respectively. In the above-ground organs of the *Ch. album* the lipid content was maximal under saltless conditions. Under high NaCl content the results in the root lipids were quite different.

КРАТКОВРЕМЕННЫЕ ПЕРИОДИЧЕСКИЕ ПОНИЖЕНИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ КАК СПОСОБ СТАБИЛИЗАЦИИ РАБОТЫ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ КРУГЛОСУТОЧНОГО ОСВЕЩЕНИЯ

Икконен Е.Н., Шибаева Т.Г., Сыроева М.И.

ФГБУН Институт биологии КарНЦ РАН, ул. Пушкинская, 11, г. Петрозаводск, 185610, Россия, E-mail: likkonen@gmail.com

Lycopersicon esculentum, круглосуточное освещение, кратковременное низкотемпературное воздействие, фотосинтез, квантовый выход фотосистемы II**Введение**

Выращивание растений при круглосуточном освещении потенциально может являться одним из энергосберегающих, экологически чистых приемов повышения продуктивности и ускорения развития растений в условиях искусственного климата. Однако применительно к ряду видов круглосуточное освещение приводит к развитию хлороза или некроза листьев, сопровождаемого снижением фотосинтетической активности и продуктивности растений [1]. Поэтому в настоящее время ведется активный научный поиск способов предотвращения негативного влияния круглосуточного освещения на растения. Так, в качестве одного из способов, предложено использовать суточный градиент температур день/ночь более 8°C, что в определенной мере предотвращает развитие хлороза листьев у некоторых растений семейства Solanaceae, в том числе у томата, однако тормозит развитие растений и накопление биомассы [2]. Мы предположили, что ежесуточные кратковременные (2 ч) понижения температуры до закаливающей величины (10°C) (ДРОП от англ. drop – падение) также могут предотвратить негативное влияние круглосуточного освещения на фотосинтетическую активность листьев растений томата. Таким образом, задачей данного исследования была оценка влияния кратковременных периодических понижений температуры на функциональное состояние фотосинтетического аппарата растений томата, выращиваемых при круглосуточном освещении.

Материалы и методы

Растения томата (*Lycopersicon esculentum* Mill., гибрид Верлиока) выращивали в камерах искусственного климата при поливе полным питательным раствором (рН 6,2–6,4), температуре воздуха 26°C, фотосинтетически активной радиации (ФАР) 150 мкмоль/(м²·с), влажности воздуха 60–70%, фотопериоде 16 ч (вариант 16Ф) или 24 ч (вариант 24Ф). С 8-го по 36-й день после посадки, часть растений, выращиваемых при 24 ч фотопериоде, ежедневно в конце ночного периода в течение 2 ч подвергали воздействию температуры 10°C (вариант 24Ф+ДРОП). Флуоресценцию хлорофилла измеряли при помощи анализатора фотосинтеза с импульсно-модулированным освещением MINI-PAM (Walz, Германия) на 18 и 36 сут. Максимальный квантовый выход фотохимической активности фотосистемы II (Fv/Fm) определяли после 20-мин темновой адаптации листьев. Эффективный квантовый выход фотохимической активности измеряли при 150 мкмоль/(м²·с) ФАР и рассчитывали как $\phi_{II} = \Delta F/Fm' = (Fm' - F)/Fm'$. Скорость видимого фотосинтеза растений измеряли на 5-7-х листьях растений на 36 сут. при температуре листа 10°, 15°, 20°, 25° и 35°C и ФАР, равной 1000 мкмоль/(м²·с) с помощью портативной фотосинтетической системы HSCM-1000 (Walz, Германия). Результаты представлены в виде средних значений из 5 повторностей и их ошибок. Достоверность различий средних определена с использованием дисперсионного анализа в пакете программ Statistica (v.8.0.550.0, StatSoft, Inc).

Результаты и обсуждение

В возрасте 18 дней параметры Fv/Fm и ϕ_{II} были выше у растений варианта 24Ф+ДРОП (табл.). По мере достижения растениями возраста 36 дней, величина Fv/Fm достоверно уве-

личилась только у растений варианта 16Ф. С возрастом растений параметр фII увеличился в листьях вариантов 16Ф и 24Ф+ДРОП, сохраняясь на исходно низком уровне у растений варианта 24Ф. Высокий уровень фотохимической активности ФСII в варианте 24Ф+ДРОП свидетельствует об отсутствии у растений, в отличие от варианта 24Ф, ингибирования процессов на уровне первичных реакций фотосинтеза.

Таблица 1 - Параметры Fv/Fm, фII и видимый фотосинтез листьев томатов вариантов 16Ф, 24Ф и 24Ф+ДРОП

Table 1 - The Fv/Fm, фII values and net CO₂ assimilation rate for the tomato plants of 16Ф, 24Ф and 24Ф+ДРОП experimental run

Показатель		16Ф	24Ф	24Ф+ДРОП
Fv/Fm	18 сут.	0.797 ± 0.007a	0.786 ± 0.008a	0.828 ± 0.001b
	36 сут.	0.825 ± 0.004c	0.712 ± 0.057ca	0.830 ± 0.002cb
фII	18 сут.	0.685 ± 0.009a	0.685 ± 0.009a	0.723 ± 0.006b
	36 сут.	0.803 ± 0.006c	0.638 ± 0.046da	0.781 ± 0.011c
Видимый фотосинтез, мкмоль CO ₂ / (м ² ·с), при				
10°С		6.12 ± 0.29a	2.94 ± 0.83a	5.52 ± 1.45a
15°С		11.48 ± 0.36b	5.15 ± 2.17c	12.26 ± 0.40b
20°С		14.54 ± 1.29b	5.76 ± 1.83c	11.89 ± 0.85b
25°С		17.24 ± 0.87d	8.91 ± 2.26c	12.62 ± 0.95b
35°С		12.13 ± 1.27b	7.26 ± 2.07c	12.56 ± 2.78b

Различные буквы в пределах каждого параметра указывают на достоверность различий средних значений при уровне значимости P<0.05

Действие круглосуточного освещения снизило относительно варианта 16Ф скорость видимого фотосинтеза листьев у растений варианта 24Ф при всех температурах измерения, а варианта 24Ф+ДРОП только при температуре 25°С (табл. 1). При температурах листа 10°, 15°, 20° и 35°С не выявлено достоверных различий в скорости фотосинтеза растений вариантов 16Ф и 24Ф+ДРОП. ДРОП-обработка растений, выросших при круглосуточном освещении достоверно повысила способность листьев ассимилировать CO₂. Таким образом, в условиях круглосуточного освещения и постоянной температуры произошло снижение фотосинтетической способности растений, сопровождаемое ингибированием первичных реакций фотосинтеза. Снижение уровня фотосинтеза растений варианта 24Ф могло быть обусловлено повышением содержания крахмала и сахаров [3], что по принципу обратной связи подавляет фотосинтез, а также накоплением активных форм кислорода [4], вызывающих деградацию хлорофилла. Накопление углеводов и активных форм кислорода может быть результатом нарушения донорно-акцепторного баланса вследствие избыточности поступающей световой энергии по отношению к способности растений ее использовать [5].

Можно предположить, что кратковременные воздействия низкой закалывающей температуры способствовали восстановлению нарушенного донорно-акцепторного баланса растений, выросших при круглосуточном освещении. Восстановление донорно-акцепторных отношений в хлоропласте растений томатов под влиянием ДРОП-обработки, возможно, было обусловлено усилением акцепторной составляющей баланса благодаря появлению дополнительных акцепторов, окисляющих переносчики электронов и дающих возможность длительно поддерживать транспорт электронов между фотосистемами I и II. Такими дополнительными акцепторами электронов могут являться элементы легко метаболизируемой биомассы, формирующей устойчивую к стрессу ультраструктуру как клетки в целом, так и хлоропластов [6]. Окислительно-восстановительный баланс в хлоропласте может восстанавливаться

также благодаря появлению альтернативных путей транспорта электронов, в том числе через альтернативную оксидазу [6]. Возможно, ежедневные низкотемпературные воздействия на растения варианта 24Ф+ДРОП могли активизировать альтернативную оксидазу и усилить альтернативные пути транспорта электронов, тем самым снижая образование активных форм кислорода и ингибирование процессов фотосинтеза.

Таким образом, результаты данного исследования показали, что кратковременные ежедневные воздействия низкими температурами способствовали стабилизации функционального состояния фотосинтетического аппарата растений томатов в условиях круглосуточного освещения.

Исследования выполнены с использованием оборудования Центра коллективного пользования научным оборудованием ИБ КарНЦ РАН при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 14-04-00840 а.

Литература

1. Sysoeva M.I., Markovskaya E.F., Shibaeva T.G. Plants under Continuous Light: a Review // *Plant Stress*. 2010. V. 4. №1. P. 5-17.

2. Ohyama K., Omura Y., Kozai T. Effects of air temperature regimes on physiological disorders and floral development of tomato seedlings grown under continuous light // *Hort. Sci.* 2005. V. 40. P. 1304-1306.

3. Van Gestel N.C., Nesbit A.D., Gordon E.P., Green C., Pare P.W., Thompson L., Peffley E.B., Tissue D.T. Continuous light may induce photosynthetic downregulation in onion – consequences for growth and biomass partitioning // *Physiologia Plantarum*. 2005. V. 125. P. 235-246.

4. Murage E., Masuda M. Response of pepper and eggplant to continuous light in relation to leaf chlorosis and activities of antioxidative enzymes // *Scientia Horticulturae*. 1997. V. 70. P. 269-279.

5. Климов С.В. Адаптация растений к стрессам через изменение донорно-акцепторных отношений на разных уровнях структурной организации // *Успехи соврем. биологии*. 2008. Т. 128, № 3. С. 281-299.

6. Климов С.В. Морозостойкость растений озимой пшеницы зависит от адаптации фотосинтеза и дыхания в разных временных интервалах // *Известия РАН. Серия биологическая*. 2009. № 3. С. 313-322.

DAILY SHORT-TERM LOW TEMPERATURE TREATMENTS CONTRIBUTE TO THE STABILIZATION OF THE PHOTOSYNTHETIC APPARATUS OF TOMATO PLANTS UNDER CONTINUOUS LIGHT

Ikkonen E.N., Shibaeva T.G., Sysoeva M.I.

Lycopersicon esculentum, continuous light, short-term low temperature treatment, photosynthesis, quantum yield of PSII

We studied the role of a daily temperature drop on a photosynthetic apparatus response of *Lycopersicon esculentum* to continuous light. The results implied that the daily short-term treatments by low temperature allow elimination of a negative effect of continuous light on photosynthetic performance of tomato plants.

ВЛИЯНИЕ МИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА БИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ПОЧВЫ ПОД ПОСЕВАМИ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ

Ильясова Е.Ю., Григориади А.С., Насибуллин Р.И.

ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный университет», ул. З. Валиди, 32, г. Уфа, 450076, Россия, E-mail: l-basta@mail.ru, nysha111@yandex.ru

посев сахарной свеклы, ферментативная активность почвы, Фитоспорин-М, Витаплан, штамм Bacillus subtilis 12-2

Введение

Повышение урожайности сельскохозяйственных культур при сохранении плодородия почвы – одна из важнейших проблем растениеводства, в том числе и свекловодства. Свеклосахарное производство – одна из важных сфер растениеводства по той причине, что свекла является кормовая культура для скота, сырьем для получения сахара. Важным моментом следует отметить чувствительность молодых проростков и растений к грибным болезням и почвенным вредителям, а также к качеству почвы. Примесь фунгицидов и инсектицидов при дрожжировании семян является важной мерой борьбы с вредными организмами, но при плохих условиях выращивания свеклы ещё не гарантирует свободы от поражения [1]. Ориентация защиты растений на биологические средства борьбы с вредителями, болезнями и сорняками позволяет одновременно решать вопросы сохранения урожая, повышения качества продукции и охраны почвенной среды [2].

Известно, что к числу наиболее перспективных агентов биологического контроля болезней растений относятся бактерии-эндофиты рода *Bacillus* Cohn, обладающие антагонизмом по отношению к патогенным микроорганизмам и способные значительно влиять на урожай культур [3]. Особый интерес представляет изучение влияния биологических препаратов не только на сами растения [4], но и на активность и направленность микробиологических процессов под посевами сельскохозяйственных культур, так как это напрямую связано с улучшением роста, развития и повышением их урожайности. В связи с этим цель нашей работы заключалась в оценке воздействия биопрепаратов на биологическую активность почвы в прикорневой зоне растений сахарной свеклы.

Материалы и методы

Полевые опыты по изучению комплексов биопрепаратов проводили в условиях Предуральской степной зоны Республики Башкортостан в 2013 году. Характеристика почвы опытного поля: темно-серая лесная почва, рН – 5,1, Нг – 9,1 мг-экв./100 г почвы, содержание гумуса 5,56%, фосфора и калия 6,33 и 13,08 мг на 100 г почвы соответственно. Исследования проводили на гибриде Сингента.

В испытания были включены биопрепараты Фитоспорин-М (содержит живые клетки и споры природной бактериальной культуры *Bacillus subtilis* 26 Д), Витаплан (содержит смесь штаммов *Bacillus subtilis*), а также выделенный и описанный ранее [5] штамм *Bacillus subtilis* 12-2. Препараты вносили двукратно: в фазу 2-3 и 4-6 пар настоящих листьев. Отборы проб проводились трижды в течение вегетационного периода и были приурочены к обработке семян и почвы биопрепаратами и основным фазам развития растений. Биологическую активность почвы в прикорневой зоне растений сахарной свеклы оценивали по уровню ферментативной активности, так как именно ферменты являются наиболее чувствительными биоиндикационным показателями. Активность каталазы определяли газометрическим методом, активность дегидрогеназы, полифенолоксидазы (ПФО), пероксидазы – спектрофотометрическим по методикам, описанным Ф.Х. Хазиевым [6].

Результаты и обсуждение

Ферментативная активность почвы является отражением деятельности микроорганизмов, которые в большом количестве обитают в прикорневой зоне растений. Из почвенных ферментов, сохраняющихся в ризосфере, наиболее показательной является активность каталазы, так как именно она осуществляет реакции разложения перекиси водорода на воду и кислород, привносит доступный

активный кислород микроорганизмам почвы, играет роль в кислородном балансе почвы. Обработка растений биопрепаратами приводила к повышению каталазной активности почвы по отношению к контролю (таб.). Так, на момент сбора урожая в образцах почвы, не подвергшейся обработке биопрепаратами, она составила 1,99 мл O₂ на 1 г почвы в мин., в вариантах с применением препаратов - 2,14 – 2,43. Причем, наиболее высокий показатель получен в варианте с использованием Витаплана.

Ферменты пероксидазы (ПО) осуществляют окисление органических веществ почв (фенолов, аминов, некоторых гетероциклических соединений) за счет кислорода перекиси водорода и других органических перекисей. Они выполняют защитную функцию, обезвреживая перекиси и разлагая ароматические ксенобиотики в почве, а также играют важную роль в процессе образования гумуса [7]. Отмечено, что двукратная обработка растений сахарной свеклы биопрепаратами Фитоспорин-М и Витаплан повышала активность пероксидазы в ризосфере в конце вегетации – в 2 и 1,6 раз соответственно.

Таблица 1 - Активность ферментов в ризосфере сахарной свеклы при обработке растений биопрепаратами

Table 1 - Activity of enzymes in a rizosfer of sugar beet when processing plants by biological products

Ферменты	Первая обработка			
	контроль	Фитоспорин-М	Витаплан	штамм 12-2
Каталаза (мл O ₂ /г, 1 мин)	0,78±0,04	1,36±0,006	1,16±0,08	0,84±0,041
ПО (мг 1,4-бензохинона/г, 30 мин)	0,48±0,02	0,72±0,051	0,73±0,05	0,47±0,003
Дегидрогеназа (мг ТТФ/г, 24 ч)	0,77±0,04	0,58±0,01	0,56±0,025	0,77±0,015
Протеаза (мг глицина/г, 24 ч)	0,074±0,001	0,072±0,003	0,078±0,003	0,078±0,002
Уреаза (NH ⁻ ₄ /г, 24 ч)	0,058±0,001	0,05±0,002	0,087±0,002	0,057±0,012
Вторая обработка				
Каталаза (мл O ₂ /г, 1 мин)	1,25±0,052	2,01±0,032	1,81±0,035	1,25±0,06
ПО (мг 1,4-бензохинона/г, 30 мин)	0,57±0,032	0,98±0,051	0,65±0,018	0,46±0,045
Дегидрогеназа (мг ТТФ/г, 24 ч)	2,22±0,032	1,32±0,03	1,36±0,012	2,14±0,05
Протеаза (мг глицина/г, 24 ч)	0,023±0,003	0,015±0,001	0,038±0,001	0,042±0,003
Уреаза (NH ⁻ ₄ /г, 24 ч)	0,075±0,003	0,097±0,001	0,09±0,002	0,065±0,006
Сбор урожая				
Каталаза (мл O ₂ /г, 1 мин)	1,99±0,02	2,14±0,01	2,43±0,01	2,2±0,02
ПО (мг 1,4-бензохинона/г, 30 мин)	0,36±0,002	0,731±0,01	0,589±0,01	0,41±0,002
Дегидрогеназа (мг ТТФ/г, 24 ч)	0,316±0,002	0,199±0,001	0,336±0,006	0,22±0,002
Уреаза (NH ⁻ ₄ /г, 24 ч)	0,017±0,001	0,013±0,002	0,039±0,001	0,047±0,001

Дегидрогеназы характеризуют общую метаболическую активность почвенной микрофлоры и способность почвы к самоочищению [8], а так же адекватно отражают функциональное состояние микрофлоры при загрязнении почвы пестицидами. Внесение биопрепаратов не оказало существенного влияния на данный показатель, в тоже время, обработки растений биопрепаратами не подавляли активность фермента.

Изучение протеолитической и уреазной активности почвы важно, поскольку связано с вопросами биологического кругооборота азота, что определяет в значительной мере почвенное плодородие, а также с разработкой мероприятий по рациональному использованию органических и минеральных удобрений. При этом протеазы участвуют в метаболизме азота в почве и динамике усвояемых форм азота. Однократная обработка растений сахарной свеклы биопрепаратами существенного влияния на протеолитическую активность не оказала. Двукратная обработка растений штаммом

Bacillus subtilis 12-2 и Витапланом способствовали повышению активности фермента в ризосфере корней сахарной свеклы в 1,8 и 1,65 раза соответственно по сравнению с контролем.

С действием уреазы связаны процессы гидролиза и превращения мочевины в доступную форму азота для питания растений. Кроме того, активность уреазы является одним из наиболее отзывчивых показателей, реагирующих на стрессовую ситуацию в почве. После 1-й обработки препаратом Витаплан активность уреазы увеличилась в 1,5 раза, в остальных вариантах оставалась на уровне контроля. Повторная обработка препаратами способствовала росту активности фермента во всех вариантах опыта, кроме варианта, где проводилась обработка штаммом *Bacillus subtilis* 12-2. Известно, что уреазы положительно реагируют на внесение удобрений, по-видимому, этим и объясняется некоторое увеличение активности фермента и в контрольном варианте.

Заключение

Таким образом, полученные результаты согласуются с литературными данными о механизмах полезного действия микроорганизмов на растения [9, 10]. Очевидно, под влиянием микроорганизмов и их метаболитов, являющихся основной составляющей биопрепаратов, происходила стимуляция корневых выделений растений, активирующих окислительно-восстановительные и гидролитические процессы, происходящие с участием этих ферментов, тем самым, оптимизируя биохимические процессы, связанные с синтезом гумуса, формированием эффективного плодородия и улучшением питательного режима.

Литература

1. Сулейманов И. Ж. Влияние норм минеральных удобрений на потребление питательных веществ сахарной свеклы в онтогенезе // Сахар, свекла. 2005. №2. С. 12-14.
2. Козлова Е.А. Биопрепараты в защите смородины черной // Вестник ОрелГАУ. 2012. №2. С. 73-75.
3. Мелентьев А.И. Аэробные спорообразующие бактерии *Bacillus Cohr* в агроэкосистемах. М.: Наука, 2005. 147с.
4. Пусенкова Л.И., Ильясова Е.Ю., Киреева Н.А. Влияние биопрепаратов на биологическую активность почвы и продуктивность сахарной свеклы // Агрехимия. 2012. №10. С. 20-26.
5. Lastochkina O.V., Il'yasova E. Yu., Shirokov A.V., Pusenkova L.I. Antifungal and growth stimulating activities of new *Bacillus subtilis* strains // Scientific enquiry in the contemporary world: theoretical basics and innovative approach. 2012. V. 1. P. 96-98.
6. Хазиев Ф.Х. Методы почвенной энзимологии. М.: Наука, 2005. – 252 с.
7. Звягинцев Д.Г., Бабьева И.П., Зенова Г.М.. Биология почв: Учебник.- 3-е изд., испр. и доп. – М.: Изд-во МГУ, 2005.- 445с.
8. Dick R.P. Enzyme activities as integrative indicators of soil health. 1997. P. 121–156.
9. Завалин А.А. Биопрепараты, удобрения и урожай. М.: ВНИИА, 2005. 302 с.
10. Крафт А.В. Влияние эффективных микроорганизмов на микробное сообщество чернозема выщелоченного и продуктивность сахарной свеклы: Дис... канд. с.-х. наук. Рамонь: ВНИИСС, 2004. 128 с.

INFLUENCE MICROBIAL PREPARATIONS ON THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF THE SOIL UNDER SUGAR BEET

Il'yasova E.J., Grigoriadi A.S., Nasibullin R.I.

sugar beet crop, soil enzyme activity, Fitosporin-M, Vitaplan, strain Bacillus subtilis 12-2

The purpose of work consisted in an assessment of influence of biological products on biological activity of the soil in a rhizosphere of plants of sugar beet. Biological products contains different strains of *Bacillus subtilis*. There was activating oxidation-reduction and hydrolytic processes, occurring to participation of the enzymes, thereby, optimizing the biochemical processes connected with synthesis of a humus, formation of effective fertility.

**ИНТЕНСИВНОСТЬ ТРАНСПИРАЦИИ У ЗЛАКОВЫХ КУЛЬТУР В УСЛОВИЯХ
ОСМОТИЧЕСКОГО СТРЕССА**Ионенко И.Ф.¹, Александров Е.А.², Сибгатуллин Т.А.¹, Воробьев В.Н.^{1,2}¹ ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, ул. Лобачевского 2/31,
г. Казань, 420111, Россия, E-mail: vorobyev@mail.knc.ru² ФГОАУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», ул. Кремлевская, 18,
г. Казань, 420008, Россия, E-mail: VNVorobev@kpfu.ru*транспирация, проницаемость мембран, ЯМР*

Потеря воды при транспирации должна быть эквивалентно подкреплена скоростью поглощения воды корнем. Современная модель радиального водного транспорта в корне предполагает наличие двух путей: апопластного и «из клетки в клетку». Апопластный путь обеспечивается свободным диффузионным пространством клеточной стенки. Путь от клетки к клетке включает симпластный поток через плазмодесмы и трансмембранный поток через клеточные мембраны. Формирование потока по апопласту или из клетки в клетку зависит от градиента между ксилемой и водной средой корня. Градиент может иметь осмотическую или гидростатическую природу. Осмотические градиенты стимулируют поглощение воды от клетки к клетке. Градиент гидростатического давления между водной средой корня и ксилемой управляет обоими путями радиального транспорта. Например, снижение гидростатического давления ксилемного сока за счет транспирации на 0,1 МПа приводит к снижению его осмотического потенциала на 0,1 МПа, что стимулирует поток от клетки к клетке [1]. В то же время гидростатические градиенты давления могут управлять массовым потоком воды по апопласту, где сопротивление водному потоку меньше. Апопластный путь характерен в дневное время сут. в условиях максимальной транспирации, в то время как в отсутствие гидростатического давления (ночное время) движущей силой радиального транспорта являются осмотические градиенты. Вклады апопластного пути и пути переноса воды из клетки в клетку, в поглощении воды корнем могут меняться в зависимости от вида растений. Например, у ячменя, согласно последним данным, радиальное поглощение воды происходит только путем из клетки в клетку, при участии аквапоринов [2].

Логично предположить, что растения способные и не способные к переключению радиального потока воды могут проявить различия в транспирации при осмотическом стрессе.

Материалы и методы

Объектом исследования были 7-10 дневные проростки яровой пшеницы сорта Симбирцит, озимой пшеницы - Казанская 560 и ярового ячменя – Святнич.

Интенсивность транспирации определяли на газоанализаторе GFS 3000 (Германия) с встроенным программным обеспечением.

Измерения коэффициентов самодиффузии воды в сегментах корня проводили на ЯМР-анализаторе «СПИН ТРЭЖ» (Resonance Systems Ltd., Йошкар-Ола) в поле постоянного магнита на резонансной частоте 19,1 МГц с помощью импульсной последовательности стимулированное эхо.

Осмоляльность определяли с помощью осмометра-криоскопа ОСКР-1 (КИВИ Осмометрия, С.-Петербург).

Осмотический стресс вызывали 15 и 18% растворами PEG 6000 после выхода параметров транспирации и фотосинтеза на плато.

Результаты и обсуждение

На рис. 1 представлено изменение интенсивности транспирации растений, корни которых помещены в растворы полиэтиленгликоля. За 60 мин. воздействия при осмотичности внешнего раствора $-0,3$ МПа максимум угнетения транспирации наблюдается у озимой пшеницы. Интенсивность транспирации ячменя снижается на 26%. У яровой пшеницы наблюдается незначительный рост данного показателя. Такое поведение может быть объяснено различиями в осмотичности клеток корня использованных растений. Осмотичность клеток корня яровой пшеницы на 23% выше, чем у озимой пшеницы и ячменя. Снижение интенсивности транспирации для растений с низкой осмотичностью клеток корня позволяет сохранить необходимую оводненность цитоплазмы клеток корня в условиях слабого осмотического стресса. Различия в снижении интенсивности транспирации могут быть связаны с проницаемостью мембран клеток корня. Проницаемость мембран клеток корня, определенная методом ЯМР, яровой пшеницы – $6,4 \pm 0,5 \times 10^{-5}$ м/с, озимой – $4,6 \pm 0,5 \times 10^{-5}$ м/с и у ячменя всего $2,4 \pm 0,4 \times 10^{-5}$ м/с.

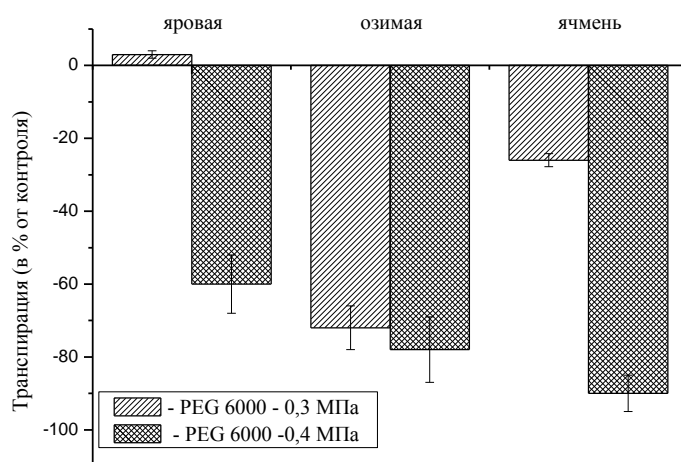


Рисунок 1 - Изменение интенсивности транспирации под влиянием PEG 6000
Figure 1 - Changes in transpiration intensity under the effect of PEG 6000

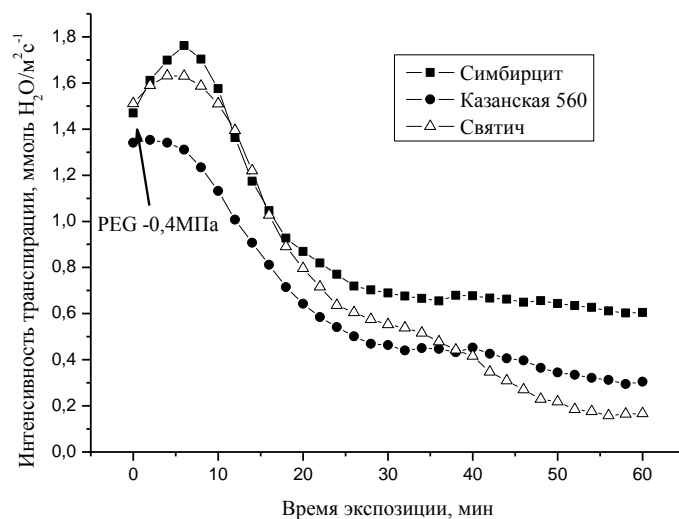


Рисунок 2 - Динамика транспирации в условиях осмотического стресса.
Figure 2 - Dynamics of transpiration under osmotic stress

Увеличение осмотичности внешнего раствора, как и ожидалось, приводит к однотипности в снижении транспирации с сохранением зависимости от водной проницаемости мембран клеток корня (рис. 1). В этих условиях динамика транспирации проявляет особенности анатомического строения проводящих путей ксилемы. Активация транспирации у яровой пшеницы и ярового ячменя (рис.2) вероятно связана с этими различиями, которые определяют возможность образование эмболии сосудов ксилемы [3].

Заключение

Полученные различия в снижении интенсивности транспирации, вероятно, связаны с проницаемостью мембран клеток корня. В условиях активной транспирации, когда гидростатические градиенты давления в ксилеме значительны, изменение осмотичности во внешней среде корня вызывает газовую эмболию у яровых сортов, что может быть использовано как показатель засухоустойчивости.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 13-04-01203

Литература

1. Suku S, Knipfer T, Fricke W. Do root hydraulic properties change during the early vegetative stage of plant development in barley (*Hordeum vulgare*)? // *Annals of Botany*, 2014, 113 (3): 385-402.
2. Knipfer T, Besse M, Verdeil J-L, Fricke W. Aquaporin-facilitated water uptake in barley (*Hordeum vulgare* L.) roots. // *Journal of Experimental Botany*. 2011. 62: 4115–4126.
3. Aloni R., Griffith M. Functional xylem anatomy in root-shoot junctions of six cereal species. // *Planta*. 1991. 184:123-129.

INTENSITY OF TRANSPIRATION IN CEREAL PLANTS UNDER CONDITIONS OF OSMOTIC STRESS

Ionenko I.F., Aleksandrov E.A., Sibgatullin T.A., Vorob'ev V.N.

transpiration, membrane permeability, NMR

Rapid displacement of incubation medium with standard osmotic potential by the one with much more high osmotic potential revealed characteristics of anatomic architecture of water transport in cereal plants. Spring barley and spring wheat respond by a brief increase in transpiration, which can result from gas embolism of xylem vessels. Transpiration inversely correlates to root cell membrane water permeability.

**СИМПЛАСТНЫЙ ПЕРЕНОС ВОДЫ В РЕГУЛЯЦИИ ВОДОПРОНИЦАЕМОСТИ
КОРНЕЙ ПРИ ИЗМЕНЕНИИ ТЕМПЕРАТУРЫ СРЕДЫ У РАСТЕНИЙ (*TRITICUM
AESTIVUM* L.) С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ ХОЛОДОУСТОЙЧИВОСТИ**

Ионенко И.Ф., Сибгатуллин Т.А.

ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, ул. Лобачевского 2/31,
а/я 30, г. Казань, 420111, Россия, E-mail: ionenko@mail.knc.ru

Triticum aestivum – диффузионный транспорт воды – проницаемость – симпласт- устойчивость - энергия активации - метод ЯМР

Информативным подходом к исследованию механизмов проницаемости клеток и тканей, обеспечивающих поддержание водного баланса растений при действии неблагоприятных факторов среды, таких как низкие температуры, обезвоживание, является изучение температурных зависимостей транспорта воды. Межклеточный транспорт воды через различные пути в растительной ткани (клеточные мембраны, симпласт, апопласт) характеризуется разными значениями энергии активации (E_a). Так низкие значения E_a трансмембранного пути являются одним из важных свидетельств канального (опосредованного аквапоринами) механизма транспорта воды [1]. Изменения E_a могут быть вызваны разными причинами, в частности: изменением вклада разных путей в трансмембранный перенос воды (белковые каналы и липидный бислой), фазовыми переходами в мембранах, наличием ограничивающих барьеров на пути переноса и др.

С целью выяснения природы и механизмов изменения транспорта воды в корнях растений при действии низких температур были исследованы температурные зависимости диффузионного переноса воды в диапазоне 5 - 35 °С в корнях различных по холодоустойчивости сортов пшеницы в условиях: 1 - после действия низких положительных температур (5 °С, 3 сут.); 2 - «подавления» (исключения из рассмотрения) транспорта воды по апопласту и «контрастирования» переноса воды по симпласту (метод парамагнитного допинга).

Материалы и методы

В экспериментах использовали два сорта мягкой пшеницы, различающейся холодоустойчивостью: озимая морозостойкая пшеница Казанская 560 (К560) и яровая холодочувствительная пшеница Казанская Юбилейная (КЮ). Холодостойкость сортов определяли по степени угнетения ростовых процессов при проращении семян в холодильной камере при температуре 5 °С (табл.).

Таблица - Показатели холодостойкости пшеницы

Table - Criteria of wheat cold resistance

Сорт пшеницы	Энергия прораствания семян при 5 0С (% от контроля*)	Количество зародышевых корней на 10 день проращивания при 5 0С (% от контроля*)
Казанская 560 (озимая)	88 ± 4	85 ± 3
Казанская Юбилейная (яровая)	37 ± 3	18 ± 2

*Контроль – проросшие при комнатной температуре семена

В качестве метода, регистрирующего перенос воды в корнях пшеницы, использовали метод ядерного магнитного резонанса с импульсным градиентом магнитного поля (ЯМР ИГМП). В экспериментах регистрировали трансляционное движение молекул воды за определенный фиксируемый промежуток времени по объему образца, помеченному градиентом магнитного поля. Для количественной оценки водопереноса определяли коэффициент самодиффузии воды - Def [2]. Для выделения симпластной составляющей переноса воды использовали непроникающий в клетки парамагнитный комплекс Gd-DTPA (25 мМ), который подавляет сигнал намагниченности апопластной воды. Измерения диффузионного транспорта воды проводили на ЯМР-анализаторе «СПИН ТРЭК»

(Resonance Systems Ltd., Йошкар-Ола) в поле постоянного электромагнита (Bruker, Германия) на резонансной частоте 19.1 МГц с помощью трех-импульсной последовательности стимулированного эха [3]. Температурные зависимости Def измеряли на сегментах корней в диапазонах понижения температуры от 20 до 5 0С и последующего повышения температуры от 5 до 35 0С с шагом 50. Из наклона зависимостей $\ln \text{Def}$ от $1/T$ (график Аррениуса) определяли величины энергии активации (E_a) процессов переноса молекул воды.

Результаты и обсуждение

Показано различие проницаемости межклеточных путей переноса воды у разных сортов пшеницы: более высокая проницаемость у Казанской Юбилейной ($6,4 \pm 0,5 \times 10^{-5}$ м/сек) по сравнению с Казанской 560 ($4,6 \pm 0,5 \times 10^{-5}$ м/сек). Действие низких температур (5 0С) в течение 1 - 3 сут. привело к увеличению интенсивности диффузионного транспорта воды и усилению трансмембранного обмена (укорочению времен релаксации), и в большей степени у слабоустойчивого сорта КЮ. Для выявления механизма интенсификации транспорта воды после действия низких температур (НТ) были измерены температурные зависимости Def у контрольных растений и предварительно подвергшихся действию НТ. Обнаружены различия в температурных зависимостях у сортов с разной холодостойкостью, и особенно на фоне предварительного холодового воздействия (рис.1). Показано, что холодостойкий сорт К560 характеризуется большей стабильностью водной проницаемости транспортных путей при изменении температуры по сравнению со слабо стойким КЮ.

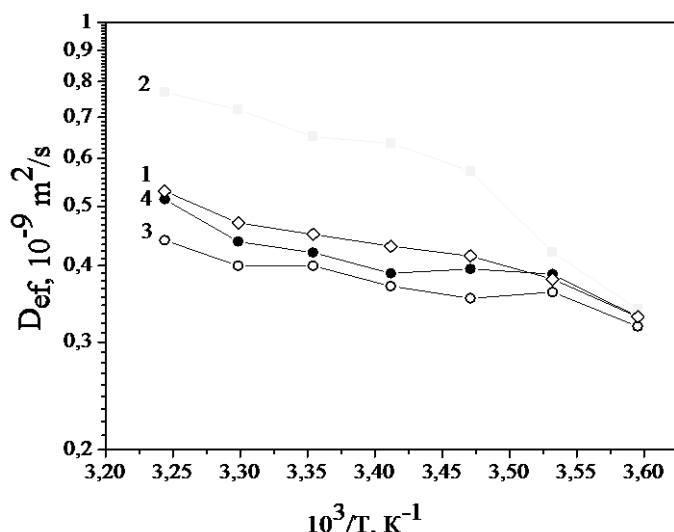


Рисунок 1 - Температурная зависимость Def в корнях пшеницы Казанской Юбилейной (1, 2) и Казанской 560 (3, 4): 1, 3 – 230; 2, 4 – 50 3 сут.

Figure 1 - Temperature dependence of Def for wheat roots of Kazanskaya Yubileynaya (1, 2) and Kazanskaya 560 (3, 4): 1, 3 – 230; 2, 4 – 50 3 d.

Низкие величины E_a трансмембранного переноса воды для более устойчивого сорта К560 были аналогичны значениям E_a для обычной воды (17 ± 2 кДж/моль), что свидетельствует об участии канального (опосредованного аквапоринами) механизма транспорта воды. Кроме того, предварительная холодовая обработка увеличила нелинейность температурных зависимостей и в большей степени у слабостойкого сорта. Появление области с повышенной E_a (45 ± 3 кДж/моль) у КЮ в диапазоне 5 – 15 0С (рис.1) может быть связано как с фазовыми переходами мембранных липидов при холодовом закаливании, так и с изменением проводимости симпласта для воды.

В опытах с парамагнитным допингом (Gd-DTPA) выявлена слабая температурная зависимость переноса воды по симпласту (плазмодесмам) (рис.2). При этом больший вклад симпластного переноса воды обнаружен у слабоустойчивого сорта КЮ. На фоне холодового закалывания зависимость более выражена у КЮ, что логично объясняется переходом плазмодесм из закрытого в открытое состояние при повышении температуры от 20 до 35 0С.

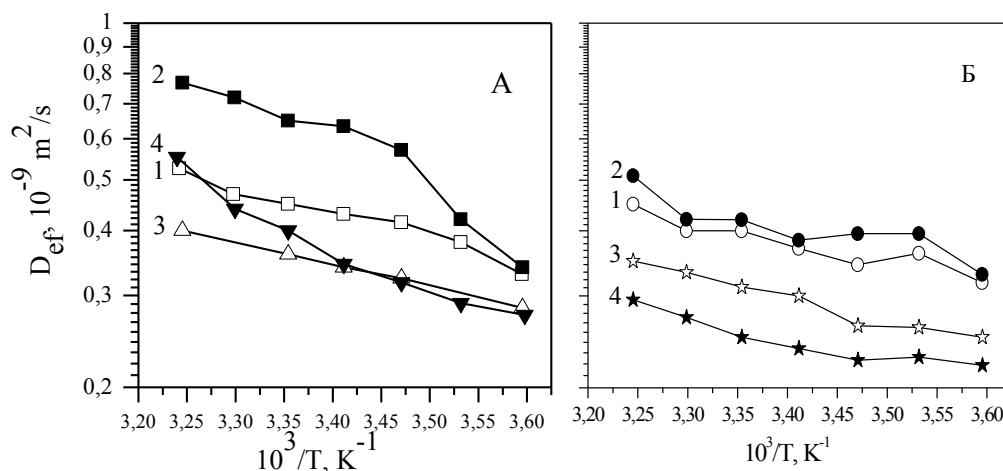


Рисунок 2 - Температурная зависимость Def в корнях пшеницы Казанской Юбилейной (А) и Казанской 560 (Б) 1 – контроль (230); 2 – 50 д; 3 - Gd-DTPA; 4 - 50 д + Gd-DTPA

Figure 2 - Temperature dependence of Def for wheat roots of Kazanskaya Yubileynaya (A) and Kazanskaya 560 (B): 1 – control (230); 2 – 50 d; 3 - Gd-DTPA; 4 - 50 d + Gd-DTPA

Заклучение

Полученные данные свидетельствуют о термоиндуцированных изменениях E_a транспорта воды вдоль разных путей в растительной ткани. Стабильность суммарной водной проницаемости транспортных путей при сохранении энергии активации E_a транспорта воды в тканях корня близкой к E_a обычной воды в условиях изменения температуры может служить признаком более устойчивого сорта пшеницы (тест на холодостойкость). Регуляция водопроницаемости при изменении температуры у закаленных к низким температурам растений происходит за счет регулирования проницаемости симпласта (перехода плазмодесм из закрытого в открытое состояние).

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 13-04-01203

Литература

1. Lee S.H., Chung G.C., Steudle E. Gating of aquaporins by low temperature in roots of chilling-sensitive cucumber and chilling-tolerant figleaf gourd // J. Exp. Bot. 2005. V. 56. P. 985-995.
2. Ионенко И.Ф., Анисимов А.В., Романов А.В. Влияние водного стресса и хлорида ртути на трансляционную диффузию воды в корнях проростков кукурузы // Физиология растений. 2003. Т. 50. С. 88-93.
3. Tanner J.E. Use of the stimulated echo in NMR diffusion studies // J. Chem. Physics. 1970. V. 52. P. 2523-2526.

SYMPLAST WATER TRANSPORT IN REGULATION OF ROOT WATER PERMEABILITY UNDER ENVIRONMENTAL TEMPERATURE CHANGES IN PLANTS (*TRITICUM AESTIVUM* L.) WITH DIFFERENT COLD RESISTANCE LEVEL

Ionenko I.F., Sibgatullin T.A.

water diffusion, permeability, symplast, resistance, activation energy, NMR method

Temperature dependences of water diffusion transport within the temperature range from 5 to 35 °C in the roots of two wheat lines differing in low temperature susceptibility were measured using the spin-echo NMR method with pulsed magnetic field gradient. Obtained results point to the existing of thermo induced changes in activation energy of water transport along different paths in plant tissues.

**МОДУЛЯЦИЯ ПРОНИЦАЕМОСТИ МЕЖКЛЕТОЧНЫХ ПУТЕЙ ПЕРЕНОСА ВОДЫ
В КОРНЯХ КУКУРУЗЫ В УСЛОВИЯХ ОСМОТИЧЕСКОГО СТРЕССА**

Ионенко И.Ф., Сибгатуллин Т.А.

ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, ул. Лобачевского 2/31,
а/я 30, г. Казань, 420111, Россия, E-mail: ionenko@mail.knc.ru*диффузионный транспорт воды, проницаемость, симпласт, аквапорины, метод ЯМР*

Первичным ответом растений в условиях низкого водного потенциала корнеобитаемой среды (засуха, засоление), как правило, является снижение гидравлической проводимости корней (L_p), что обеспечивает уменьшение потерь воды во внешнюю среду и поддержание водного баланса растения в целом [1]. Обычно снижение L_p связывают с подавлением активности и/или численности аквапоринов – мембранных водопроводящих каналов. Однако такая корреляция наблюдается далеко не всегда [1, 2], поскольку L_p , являясь интегральной величиной, отражает интенсивность переноса водных растворов по разным путям в ткани (апопласту, симпласту, через мембраны). Кроме того, в большинстве исследований рассматриваются ответы на длительное воздействие водно-солевого стресса (свыше 12 часов) и мало уделяется внимания механизмам, которые могут быть сразу вовлечены в ответ. В данной работе ставилась цель исследовать краткосрочные эффекты осмотически-активных веществ на проницаемость межклеточных путей переноса воды, оцениваемую методом ЯМР, на модельной системе – первичных корнях кукурузы.

Материалы и методы

В качестве модели для изучения ранних ответов на водно-солевой стресс использовали корни кукурузы сорта Пионер (PR39R86). В первом случае стресс вызывался погружением корней на 1 чв раствор ПЭГ-6000 (30 мМ), во втором – в 150 мМ NaCl. Осмотический потенциал растворов был одинаковый и составлял – 0.5 МПа.

Регистрация межклеточного переноса воды проводилась методом ядерного магнитного резонанса с импульсным градиентом магнитного поля (ЯМР ИГМП). Для количественной оценки водопереноса определяли коэффициент самодиффузии воды (Def). Для выделения различных составляющих водного переноса, для контроля изменений водопроницаемости мембран использовали метод парамагнитного допинга. С этой целью во внеклеточное пространство ткани вводился комплекс Gd-DTPA (25 мМ) с высокой релаксационной эффективностью, который не проникает внутрь клеток и дает возможность контрастирования симпластного переноса. Для модуляции трансмембранного переноса использовали блокаторы аквапоринов различного механизма действия (пропионовая кислота, хлорид ртути). Измерения диффузионного транспорта воды проводили на ЯМР-анализаторе «СПИН ТРЭК» (Resonance Systems Ltd., Йошкар-Ола) в поле постоянного электромагнита (Bruker, Германия) на резонансной частоте 19.1 МГц с помощью трех-импульсной последовательности стимулированного эха [3].

Результаты и обсуждение

Оба используемых осмотика оказали сходный эффект на суммарную водную проницаемость корней, оцениваемую из величин эффективного коэффициента самодиффузии воды - Def (рис.1). Под действием ПЭГа и NaCl наблюдалась интенсификация межклеточного транспорта воды (почти на 40 %). С целью выявления возможных изменений транспорта воды по симпласту (плазмодесмам) использовали Gd-DTPA, который «делает невидимым» трансмембранный и апопластный перенос. Сравнение значений Def в вариантах только с Gd-DTPA и в сочетании его с осмотиками (столбцы 4-6) указывает на возможные различия эффектов данных осмотиков на симпластный перенос воды: отсутствие эффекта при действии ПЭГа и небольшое усиление при действии NaCl. Ингибирование транспорта воды блокато-

рами аквапоринов у корней, предварительно подвергнутых действию водно-солевого стресса, указывает на участие аквапоринов в стимуляции транспорта в ответной реакции на стресс. Увеличение мембранной проницаемости при осмотическом стрессе может быть связано с повышением активности ТПР-аквапоринов [4], а механизмом такого повышения может быть их фосфорилирование. По мнению авторов [1] роль аквапоринов тонопласта в условиях осмотического стресса заключается в уравнивании осмотического потенциала цитоплазмы путем обмена воды с вакуолью. Для изучения возможного вовлечения механизмов фосфорилирования/дефосфорилирования аквапоринов в процесс транспорта воды при стрессе был использован ингибитор фосфатазы (100 мкМ NaF), который препятствует закрыванию аквапоринов, оставляя их в активном состоянии [5].

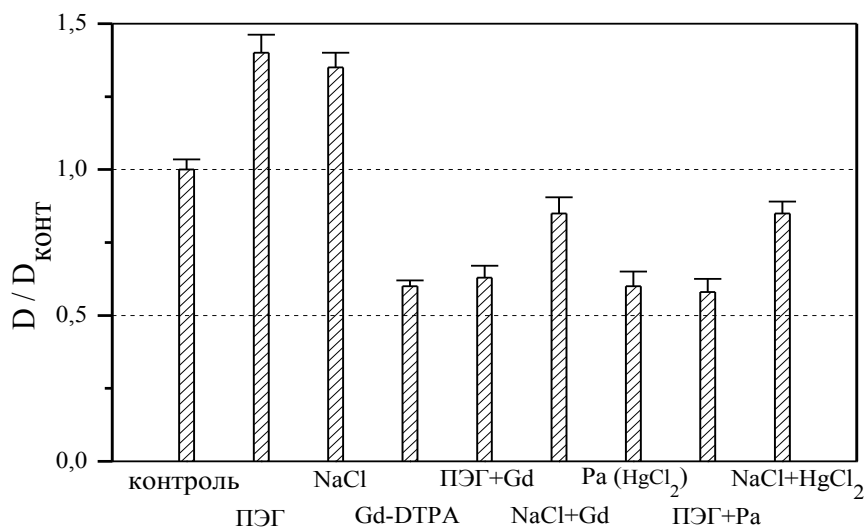


Рисунок 1 - Диффузионный транспорт воды в корнях кукурузы после действия осмотиков (ПЭГ, NaCl), Gd-DTPA, осмотиков в сочетании с Gd-DTPA, блокаторов аквапоринов (пропионовой кислоты – Pa и HgCl₂), осмотиков с последующей обработкой блокаторами

Figure 1 - Water diffusional transport in maize roots after the effect of osmotic agent (PEG, NaCl), Gd-DTPA, osmotic agent followed by Gd-DTPA, aquaporin blockers (propionic acid - Pa and HgCl₂), osmotic agent with following blocker treatment

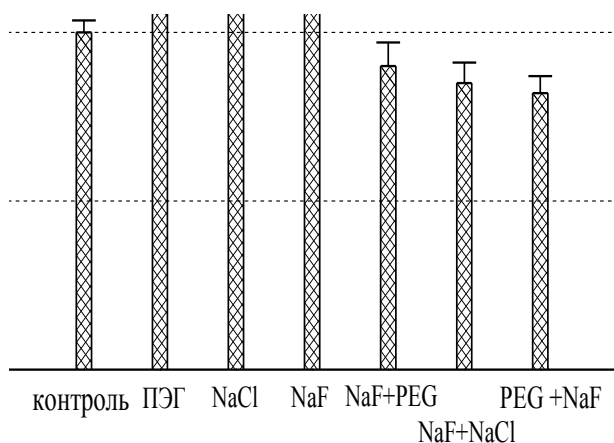


Рисунок 2 - Диффузионный транспорт воды в корнях кукурузы после действия осмотиков (ПЭГ, NaCl), ингибитора фосфатазы (NaF), осмотиков в разных сочетаниях с NaF

Figure 2 - Water diffusional transport in maize roots after the effect of osmotic agent (PEG, NaCl), phosphatase inhibitor (NaF), and osmotic treatment combined with NaF

Эффект NaF на корни в отсутствии стресса заключался в стимуляции водной проницаемости корней, по-видимому, вследствие перевода части аквапоринов из неактивного (исходно) в активное состояние. Влияние осмотического стресса на корни, обработанные ингибитором фосфатазы, было неожиданным. Вместо ожидаемого отсутствия эффекта или даже стимуляции наблюдалось снижение водной проницаемости корней. Такой же эффект был и при действии ингибитора на предварительно обработанные осмотиком корни. Можно предположить, что направленность изменений мембранной проницаемости при стрессе определяется исходным состоянием (активностью) аквапоринов.

Заключение

Действие осмотически-активных веществ различной природы, но с одинаковым осмотическим потенциалом привело к однотипным изменениям диффузионного транспорта воды в корнях кукурузы. Ранний ответ (до 1 часа) заключался в увеличении водной проницаемости корней, в большей степени связанной с повышением активности аквапоринов. Изменения в симпластном переносе после осмотического воздействия были незначительны. Показано, что направленность изменений водопроницаемости при водно-солевом стрессе зависела от исходного состояния аквапоринов (статуса их фосфорилирования).

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 13-04-01203

Литература

1. Aroca R., Porcel R., Ruiz-Lozano J. M. Regulation of root water uptake under abiotic stress conditions // J. Exp. Bot. 2012. V. 63. P. 43–57.
2. Vandeleur R.K., Mayo G., Shelden M.C., Gilliam M., Kaiser B.N., Tyerman S.D. The role of plasma membrane intrinsic protein aquaporins in water transport through roots: diurnal and drought stress responses reveal different strategies between isohydric and anisohydric cultivars of grapevine // Plant Physiol. 2009. V.149. P.445–460.
3. Tanner J.E. Use of the stimulated echo in NMR diffusion studies // J. Chem. Physics. 1970. V. 52. P. 2523-2526.
4. Ionenko I.F., Dautova N.R., Anisimov A.V. Early changes of water diffusional transfer in maize roots under the influence of water stress // Environ. Exp. Botany. 2012. V.76. P.16-23.
5. Hwang H. J., Oh K.-H., Park Ph. B., Lee C.-H. Effects of sodium fluoride on the water transport in leaves of barley and rice under salt stress in the light // J. Photosci. 2004. V. 11. P. 25-28.

MODULATION OF PERMEABILITY OF INTERCELLULAR WATER TRANSPORT PATHS IN MAIZE ROOTS UNDER OSMOTIC STRESS

Ionenko I.F., Sibgatullin T.A.

water diffusion, permeability, symplast, aquaporins, NMR method

Water diffusion transport in maize roots under osmotic stress (PEG-6000, NaCl, -0.5 MPa) was measured using the spin-echo NMR method. Obtained results point to the intensification of intercellular water transport under water-salt stress, which is connected to the increase in aquaporin activity. Symplast transfer was slightly affected by osmotic treatment. Changes in water permeability under stress was shown to depend on the original aquaporin state (phosphorylation level).

СОДЕРЖАНИЕ ГЛУТАТИОНА И ФИТОХЕЛАТИНОВ В КОРНЯХ И ЛИСТЬЯХ ЩЕТИННИКА ЗЕЛЕНОГО ПРИ ДЕЙСТВИИ КАДМИЯ

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

ФГБУН Институт биологии КарНЦ РАН, ул. Пушкинская, 11, г. Петрозаводск, 185610, Россия., E-mail: kaznina@krc.karelia.ru

*Setaria viridis L. (Beauv.), кадмий, восстановленный глутатион, фитохелатины***Введение**

В настоящее время признано, что одним из наиболее эффективных и экономически выгодных методов, обеспечивающих очистку почв от загрязнения тяжелыми металлами, является фиторемедиация. Но для успешного ее применения на практике требуются виды растений, способные произрастать на почвах, загрязненных тяжелыми металлами, накапливать их в значительном количестве в своих органах и формировать при этом большую биомассу. Кроме того, необходимо изучение механизмов, обеспечивающих металлоустойчивость этих растений. Одним из таких видов является щетинник зеленый (сем. Poaceae), который, как показали наши предыдущие исследования, успешно растет и развивается в присутствии довольно высоких концентраций тяжелых металлов в почве [1, 2]. Поскольку одним из наиболее важных механизмов металлоустойчивости растений является детоксикация ионов тяжелых металлов в цитоплазме клеток непротеиновыми тиолами, цель данной работы заключалась в изучении влияния кадмия – одного из наиболее токсичных тяжелых металлов – на содержание глутатиона (GSH) и фитохелатинов в корнях и листьях данного вида растений.

Материалы и методы

Растения щетинника зеленого (*Setaria viridis L. (Beauv.)*) выращивали в песчаном субстрате до фазы 3-х листьев, после чего их помещали на питательный раствор (контроль) или на питательный раствор с добавлением 100 мкМ кадмия в форме сульфата (опыт). Через 4 сут экспозиции в корне и листе, сформированном за это время, определяли концентрацию кадмия и содержание GSH и фитохелатинов, а также оценивали влияние металла на накопление биомассы растениями и рассчитывали индекс устойчивости.

Содержание кадмия в корнях и листьях растений определяли методом инверсионной вольтамперометрии с использованием полярографа АВС-1.1 (Вольта, Россия). Разложение растительных образцов проводили в смеси HNO₃ и H₂O₂ в соотношении 4:1 с использованием микроволновой системы пробоподготовки МС-6 (Вольта, Россия). Индекс устойчивости (It) вычисляли по формуле: $It = I_{Me} / I_k$, где I_{Me} – биомасса растений опытного варианта; I_k – биомасса растений контрольного варианта. Количество GSH и фитохелатинов определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с предколоночной дериватизацией с монобромобиманом согласно методике Снеллера [3] по стандарту GSH (“Sigma”). Расчет площадей пиков осуществляли с помощью компьютерной программы МультиХром (Версия 1,5X).

Биологическая повторность в пределах каждого варианта опыта составляла для разных показателей от 6 до 20 растений. Аналитическая повторность при проведении химических анализов 3-5-кратная. Весь опыт повторяли дважды. Достоверность различий оценивали с помощью критерия Стьюдента при $P < 0.05$.

Результаты и обсуждение

Проведенные исследования показали, что щетинник зеленый способен накапливать в корнях и листьях довольно большое количество кадмия. В частности, только за 4 дня экспозиции на растворе с кадмием его содержание в корнях составило 49.99 ± 7.0 мг/г сырого веса, в листе – 4.74 ± 0.01 мкг/г сырого веса (в растениях контрольного варианта его содержание в корнях было 0.3 ± 0.01 мкг/г сырого веса, а в листе оказалось ниже предела чувствительно-

сти метода, т.е. меньше 0.01 мкг/г сырого веса). При этом биомасса опытных растений мало отличалась от контрольных, а индекс устойчивости оказался равным 0.92. Для примера, при этих же условиях у растений ячменя содержание металла в корнях и листьях было равным 20.5 и 2.4 мкг/г сырого веса, соответственно, индекс устойчивости – 0.71 [4].

Доказано, что GSH и фитохелатины участвуют в связывании токсичных ионов в цитоплазме клеток с образованием комплексов, обеспечивая тем самым устойчивость растений к кадмию [5]. При этом GSH является предшественником фитохелатинов, а также может сам участвовать в хелатировании ионов металлов. В наших исследованиях в присутствии кадмия количество GSH в клетках растений заметно снижалось, причем более сильно (в 2.4 раза) в листе, что, вероятнее всего, связано с расходом его молекул на синтез фитохелатинов (табл.). Тем не менее его содержание в листьях все равно оставалась почти в 2 раза выше, чем в корне. Отмеченный эффект можно, очевидно, объяснить тем, что в нормальных условиях среды листья синтезируют GSH в избытке, экспортируя его в другие ткани. В условиях же повышенных концентраций тяжелых металлов во внешней среде и в растении экспорт GSH сокращается, сохраняя его относительно высокое содержание в листе [6].

Таблица 1 - Содержание GSH и фитохелатинов в клетках корня и листа растений щетинника зеленого после 4-дневной экспозиции на растворе с Cd²⁺ (100 мкМ)

Table 1 - The content of GSH and phytochelatin in root and leaf cells of green foxtail plants exposed to the Cd²⁺ (100 мкМ) for 4 days

Вариант	Содержание GSH, мкМ/г сырой массы		Содержание фитохелатинов, мкМ GSH /г сырой массы	
	корень	лист	корень	лист
Контроль	24.82 ± 1.93	100.29 ± 5.62	11.34 ± 1.12	14.39 ± 2.71
Cd ²⁺	20.61 ± 0.89	41.65 ± 2.41	69.70 ± 2.54	119.59 ± 4.32

Одновременно со снижением уровня GSH в клетках растений в присутствии кадмия резко возросло содержание фитохелатинов. При этом в листе их количество оказалось выше, чем в корне. Более заметное увеличение концентрации фитохелатинов в листьях по сравнению с корнями (несмотря на меньшее содержание в них кадмия) было отмечено ранее у кукурузы [7], ячменя [8] и табака [9]. Авторы полагают, что это является важным механизмом металлоустойчивости растений, обеспечивающим защиту клеток мезофилла от токсичных ионов и позволяющим поддерживать работу фотосинтетического аппарата на должном уровне.

Таким образом, проведенное исследование подтвердило, что щетинник зеленый обладает способностью успешно расти и развиваться в условиях повышенного содержания в почве кадмия, формируя при этом большую биомассу, и, что особенно важно для фиторемедиации, накапливает этот металл в своих органах в значительных количествах. Судя по полученным данным важную роль в устойчивости щетинника к кадмию играют фитохелатины, содержание которых в корнях и листьях растений при действии металла существенно возрастает. Особенно резкое (почти на порядок) повышение уровня фитохелатинов происходит в листе, что, очевидно, способствует активному связыванию ионов кадмия и, тем самым, защите клеток мезофилла от его токсического действия.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы Президиума РАН «Живая природа: современное состояние и проблемы развития».

Литература

1. Лайдинен, Г.Ф. Влияние свинца на рост и развитие *Setaria viridis* L. (Beauv.) / Г.Ф. Лайдинен [и др.]. // Растительные ресурсы. – 2004. – Т. 40. – Вып. 3. – С. 53-59.
2. Казнина, Н.М. Устойчивость щетинника зеленого к повышенным концентрациям цинка / Н.М. Казнина [и др.]. // Известия РАН. Серия биологическая. – 2009. – № 6. – С. 677-684.

3. Sneller, F.E.S. / Derivatization on Phytochelatins from *Silene vulgaris*, Induced upon Exposure to Arsenate and Cadmium: Comparison of Derivatization with Ellman's Reagent and Monobromobimane // F.E.S. Sneller [et al.]. // J. Agric. Food Chem. – 2000. – V. 48. – P. 4014-4019.
4. Казнина, Н.М. Влияние возрастных различий на устойчивость растений ячменя к кадмию / Н.М. Казнина [и др.]. // Физиология растений. – 2012. – № 1. – С. 74-79.
5. Sanità di Toppi, L. Response to cadmium in higher plants / L. Sanità di Toppi, R. Gabbriellini // Environ. Exp. Bot. – 1999. – V. 41. – P. 105-30.
6. Heiss, S. Phytochelatin Synthase (PCS) Protein is Induced in *Brassica juncea* Leaves after Prolonged Cd Exposure / S. Heiss [et al.]. // J. Exp. Bot. – 2003. – V. 54. – P. 1833-1839.
7. Wójcik, M. Cd-tolerance of Maize, Rye and Wheat Seedlings / M. Wójcik, A. Tukiendorf // Acta Physiol. Plant. – 1999. – V. 21. – № 2. – P. 99-107.
8. Akhter, M.F. Reduced Translocation of Cadmium from Roots is Associated with Increased Production of Phytochelatins and their Precursors / M.F. Akhter, B. McGarvey, S.M. Macfie // J. Plant Physiol. – 2012. – V. 169. – P. 1821-1829.
9. Wojas, S. Overexpression of Phytochelatin Synthase in Tobacco: Distinctive Effects of AtPCS1 and CePCS genes on Plant Response to Cadmium / S. Wojas [et al.]. // J. Exp. Bot. – 2008. – V. 59. – P. 2205-2219.

THE CONTENT OF GLUTATHIONE AND PHYTOCHELATINS IN ROOTS AND LEAVES OF GREEN FOXTAIL PLANTS TO CADMIUM ACTION

Kaznina N.M., Titov A.F., Batova Y.V., Laidinen G.F.

Setaria viridis L. (Beauv.), cadmium, reduced glutathione, phytochelatins

The effect of cadmium (100 μM) on the content of reduced glutathione (GSH) and phytochelatins in roots and leaves of green foxtail (*Setaria viridis* L. (Beauv.)) were studied. Four-day-long exposure to the cadmium solution significant increase the concentration of cadmium in the roots and leaves of plants, but on the formation of biomass is not affected. In the presence of metal in the cells decreased GSH content and at the same time increasing the content of phytochelatins, more pronounced in the leaf, which obviously contributes to the binding of cadmium ions and thereby protect mesophyll cells from its toxic action.

**АДАПТАЦИЯ *EX VITRO* РАСТЕНИЙ-РЕГЕНЕРАНТОВ СИРЕНИ НА
ОРГАНО-МИНЕРАЛЬНОМ СУБСТРАТЕ, ИНОКУЛИРОВАННОМ
*BACILLUS SUBTILIS***

Калацкая Ж.Н.¹, Ламан Н.А.¹, Молчан О.В.², Спиридович Е.В.³, Брель Н.Г.³

¹Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси,
ул. Академическая, 27, г. Минск, 220072, Республика Беларусь, E-mail: kalatskayaj@mail.ru

²Институт микробиологии НАН Беларуси, ул. Купревича, 2, г. Минск, 220141,
Республика Беларусь

³Центральный ботанический сад НАН Беларуси, ул. Сурганова, 2В, г. Минск, 220072,
Республика Беларусь

адаптация ex vitro, микроклоны Syringa L, органо-минеральные субстраты, бактерии Bacillus subtilis

Введение

Для микрорастений, выращенных в культуре *in vitro*, характерны мелкие и тонкие листья, слабо развитая кутикула, нарушение работы устьиц, не вполне сформировавшиеся сосуды ксилемы, а также в большинстве случаев недостаточно развитые корни. В этой связи критической стадией введения видов, полученных путем микроклонального размножения, в культуру является их адаптация к условиям *ex vitro*. При переносе в нестерильные условия теплицы микроклоны испытывают состояние стресса, которое может привести к гибели растений из-за низкой влажности, повышенной температуры, инфицирования грибами, вирусами, бактериями, поэтому нуждаются в обеспечении оптимальных условий. Немаловажное значение в этом случае имеет подбор корнеобитаемых сред, максимально способствующих интенсивному развитию корневой системы растений-регенерантов [1, 2]. В естественных условиях растения находятся в постоянном взаимодействии с почвенной микрофлорой. Многие из микроорганизмов почвы подавляют развитие патогенов, улучшают азотное и фосфорное питание растений. Поскольку микроклоны *in vitro* находятся в стерильных условиях и не вступают во взаимодействие с микроорганизмами, целесообразно насыщать почвогрунты специально отобранными штаммами бактерий, которые выделяют в корнеобитаемую среду биологически-активные вещества, стимулируя рост и устойчивость растений, и проявляют антагонистическую активность к патогенам.

Материалы и методы

В условиях теплицы исследована эффективность инокуляции микроорганизмами *Bacillus subtilis* штаммы 10/19 и 9/6 глино-торфяного субстрата (в количестве 15 мл/л субстрата) при адаптации микроклонов сирени к условиям *ex vitro*. Контролем служил органо-минеральный субстрат без включения микробиологического препарата. Разработанный авторами органо-минеральный субстрат представляет собой смесь нейтрализованного верхового торфа с глинистым сырьем (керамзитовый песок и глина) с включением макро- и микроудобрений. Адаптацию проводили в кассетах с объемом ячейки 100 мл. На первых этапах адаптации (в течение 2 недель) кассеты помещали в укрытия из спонбонда, которые позволяли поддерживать высокую влажность воздуха и оптимальную освещенность наземной части, затем микросаженцы выращивали без создания специальных условий освещенности и влажности. Объектами исследования являлись растения-регенеранты рода сирени (*Syringa L.*) из коллекции Центрального ботанического сада НАН Беларуси сортов: Президент Гриви, Школьница, Ионская ночь, Снежный ком. На субстраты пересаживали микроклоны более 20 мм высотой, прошедшие предадаптацию на стерильном перлите [3]. Приживаемость в течение первых двух недель после пересадки на субстраты фиксировали по появлению новых листьев, в дальнейшем отмечали высохшие и отмершие растения.

Опыт проведен в четырехкратной повторности, n=15. Статистическую обработку данных проводили с помощью Microsoft Office Excel: для каждого среднего арифметического значения (M) определяли стандартную ошибку ($\pm mM$) при уровне значимости 0,05.

Результаты и обсуждение

Дана оценка жизнеспособности микроорганизмов *Bacillus subtilis*, входящих в состав органо-минерального субстрата при адаптации ex vitro микроклонов сирени. Результаты исследований свидетельствуют о том, что бактерии-антагонисты характеризуются способностью хорошо приживаться и колонизировать прикорневое пространство микросаженцев. Так, численность микроорганизмов-антагонистов по мере развития растений постепенно возрастает и к концу эксперимента составляет $3,8-4,6 \times 10^8$ клеток/г субстрата, что на 24–34% выше, чем количество исходно вносимых бактерий.

Установлено, что инокуляция органо-минерального субстрата микроорганизмами *Bacillus subtilis* штаммами 10/19 и 9/6 положительно влияет на приживаемость регенерантов сирени (табл. 1).

Таблица 1 - Количество адаптировавшихся растений-регенерантов сирени на исследуемых субстратах, %

Table 1 - The quantity of survival plant-regenerants *Syringa* L. on investigated substrates, %

Сорт сирени	Ионская ночь	Снежный ком	Президент Гриви	Школьница
Через 2 недели после пересадки регенерантов в субстраты				
Органо-минеральный субстрат	81,3 \pm 5,9	84,4 \pm 4,7	100	71,9 \pm 6,4
Органо-минеральный субстрат+ <i>Vac.sub.</i> 10/19	93,8 \pm 3,6	96,9 \pm 3,1	100	84,4 \pm 3,1
Органо-минеральный субстрат+ <i>Vac.sub.</i> 9/6	90,6 \pm 3,1	93,8 \pm 3,6	100	93,8 \pm 3,6
Через 1 месяц после пересадки регенерантов в субстраты				
Органо-минеральный субстрат	81,3 \pm 5,9	84,4 \pm 4,7	100	68,8 \pm 6,5
Органо-минеральный субстрат+ <i>Vac.sub.</i> 10/19	93,8 \pm 3,6	87,5 \pm 5,1	100	78,1 \pm 3,1
Органо-минеральный субстрат+ <i>Vac.sub.</i> 9/6	90,6 \pm 3,1	90,6 \pm 6,0	100	87,5 \pm 7,2
Через 2 месяца после пересадки регенерантов в субстраты				
Органо-минеральный субстрат	81,3 \pm 5,9	84,4 \pm 4,7	90,6 \pm 6,0	62,5 \pm 8,8
Органо-минеральный субстрат+ <i>Vac.sub.</i> 10/19	90,6 \pm 3,1	87,5 \pm 5,1	96,9 \pm 3,1	75,0
Органо-минеральный субстрат + <i>Vac.sub.</i> 9/6	87,5	87,5 \pm 5,1	100	84,4 \pm 6,0
Количество неприжившихся микроклонов				
Органо-минеральный субстрат	18,7	15,6	9,4	37,5
Органо-минеральный субстрат+ <i>Vac.sub.</i> 10/19	9,4	12,5	3,1	25,0
Органо-минеральный субстрат + <i>Vac.sub.</i> 9/6	12,5	12,5	-	15,6

Из представленной таблицы видно, что приживаемость микроклонов сирени на органо-минеральном субстрате во многом зависит от сорта. Количество адаптировавшихся регене-

рантов колеблется от 62,5% - сорт Школьница до 90,6% - сорт Президент Гриви. Выявлено, что инокуляция субстрата штаммами бактерий *Bacillus subtilis* положительно влияет на адаптацию микроклонов сирени, число выживших растений в среднем увеличилось на 6-12%. Лучший результат по адаптации достигнут для условно восприимчивого сорта Школьница, где приживаемость регенерантов сирени увеличилась на 20% при использовании бактерий *Bacillus subtilis* штамма 9/6. Незначительное влияние микроорганизмов на адаптацию микроклонов зарегистрирован на сорте Снежный ком, где приживаемость на субстрате при интродукции бактериями увеличилась лишь на 3,1%. В настоящее время проводится работа по оптимизации состава, соотношения компонентов органо-минерального субстрата и количества вносимых микроорганизмов для увеличения числа прижившихся микроклонов и интенсификации роста и развития микросаженцев.

Заключение

Бактерии-антагонисты *Bacillus subtilis*, входящие в состав органо-минерального субстрата, характеризуются способностью хорошо приживаться и колонизировать прикорневое пространство микросаженцев, их численность в течение 3 месяцев опыта увеличивается на 24–34% от исходного количества внесенных микроорганизмов. Инокуляция органо-минерального субстрата микроорганизмами *Bacillus subtilis* штаммами 10/19 и 9/6 положительно влияет на адаптацию растений-регенерантов сирени и позволяет увеличить процент приживаемости микроклонов сирени в условиях *ex vitro* на 6-12% в зависимости от восприимчивости сорта.

Литература

1. Дедюхина, О.Н. Адаптация растений-регенерантов *Eremogone saxatilis* (L.) Иконн. к почвенным условиям / О.Н. Дедюхина, А.С. Константинова, О.Г. Баранова // Вестник Удмуртского университета. – 2011. – Вып. 3. – С. 31-35.
2. Плаксина, Т.В. Приемы адаптации растений-регенерантов к условиям *ex vitro* / Т.В. Плаксина // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2011. – № 2. – С. 43-48.
3. Молканова, О.И. Разработка биотехнологических приемов размножения сирени обыкновенной *Syringa L.* / О.И. Молканова, Ю.М. Зинина, Н.В. Македонская, Н.Г. Брель, Т.И. Фоменко, Е.В. Спиридович // Физиология и биохимия культурных растений. – 2010. – Т 42., №2. – С.117–124.

ADAPTATION OF PLANT-REGENERANTS SYRINGA L TO EX VITRO CONDITIONS USING INOCULATED BACILLUS SUBTILIS ORGANIC-MINERAL SUBSTRATE

Kalatskaya J.N., Laman N.A., Molchan O.V., Spirydovich E.V. Brel N.G.

adaptation, ex vitro conditions, microshoots of Syringa vulgaris L, organic-mineral substrate, bacteria Bacillus subtilis

The article presents the data for the adaptation of regenerants *Syringa L.* varieties to *ex vitro* conditions using organic-mineral substrate inoculated *Bacillus subtilis* strain 10/19 and 9/6. Microorganisms introduced into substrate achieve high survival rate and colonize rhizosphere of micro plants. Their quantity increases by 24-34 % from initial within 3 months. Inoculated *B. subtilis* organic-mineral substrate increases ability to survive of plants-regenerants to *ex vitro* conditions on the average by 6-12 % depending on varieties susceptibility.

ОЦЕНКА ВИТАЛИТЕТА ДРЕВЕСНЫХ НАСАЖДЕНИЙ КАЛИНИНГРАДА

Калинина Е.А., Бедарева О.М., Мурачева Л.С.

ФГБОУ ВПО «Калининградский государственный технический университет»,
Советский пр., 1, г. Калининград, 236022, Россия, E-mail: agronomia@mail.ru

древесная растительность, зеленые насаждения, жизненные категории, жизненное состояние, устойчивость, техногенные нагрузки

Введение

В условиях современной городской среды ее экологическое состояние отражает древесная растительность лесопарковых экосистем, в частности зеленые насаждения вдоль улиц и магистралей.

Древесные зеленые насаждения города имеют не только декоративное значение, но и рассматриваются в качестве экологического барьера, принимающего на себя часть техногенного и антропогенного загрязнения. Отрицательной стороной для самих растений является тот факт, что загрязняющие вещества приводят к морфологическим изменениям, нарушению роста и развития, а в последствии к отмиранию растений различных возрастных групп [1].

Поскольку воздействие негативных факторов на экологию города на сегодняшний день является серьезной проблемой, на первый план выходит оценка экологического состояния городских насаждений в целях сохранения и улучшения окружающей среды.

В соответствии с проблематикой, цель исследования заключается в анализе жизненного состояния дендрофлоры урбано-среды, их устойчивости к техногенной нагрузке.

Материалы и методы

Объектами исследований послужили деревья, растущие вдоль улицы Чернышевского, г. Калининграда. Породы и виды деревьев определяли по П. Ф. Маевскому[2]. Учитывали количественный состав популяций каждой породы деревьев.

Определение жизненного, фитосанитарного состояния осуществлено по специализированной методике [3] на основе диагностических признаков, выявляющих отношения каждого отдельного дерева к той или иной категории жизненного состояния.

Результаты и обсуждение

В процессе лесопатологического обследования санитарного состояния объекта были определены породы и видовой состав 128 деревьев, а также их категории и характеристики виталитета отмечено наличие повреждений, поражений болезнями и вредителями, что в целом позволяет судить о культуртехническом состоянии

В настоящее время преобладающим видом обследования является клен белый (*Acer pseudoplatanus* L.). Доля его участия в ассортименте зеленых насаждений составляет 49%. Остальные виды представлены в меньшей степени: липа сердцевидная (*Tilia cordata* L.) Mill.) составляет 30% от общего числа деревьев в обследованных насаждениях, клен сахаристый (*Acer saccharinum* L.) – 10%; яблоня культурная (*Malus domestica* Borkh.), граб обыкновенный (*Carpinus betulus* L.), каштан конский обыкновенный (*Aesculus hippocastanum* L.), тополь бальзамический (*Populus balsamifera* L.) - менее 5%.

По принятой шкале жизненного состояния выявлены следующие категории:

- I. без признаков ослабления - 50 шт. (39%);
- II. ослабленные, усыхание отдельных ветвей - 50 шт. (39%);
- III. сильно ослабленные, усыхание ветвей более 2/3; 11 шт. (8,6%);
- IV. отмирающее, свежий сухостой - 15 шт. (11,7%);
- V. старый сухостой - 2 шт. (1,6%).

Среди доминирующих видов наименьшее количество ослабленных и усыхающих деревьев отмечено среди таких видов, как лещина обыкновенная (*Corylus avellana* L.) и клен бе-

лый (*Acer pseudoplatanus* L.) . Наибольшее количество ослабленных и усыхающих деревьев обнаружено в популяциях у клена сахаристого (*Acer saccharinum* L.) и липы сердцевидной (*Tilia cordata* L.).

Основными причинами массового усыхания, изреживания и отмирания деревьев являются: низкая агротехника ухода, переуплотнение почв, механические повреждения и, как следствие высокая степень повреждения вредителями и болезнями. Потеря декоративности и усыхание многих древесных пород обусловлены наличием фитопатологических факторов, вызывающих некрозные и сосудистые болезни. Их распространению способствуют слабый контроль за состоянием посадочного материала и недостаточные санитарные рубки в очагах болезни.

Заключение

Таким образом, по результатам лесопатологического обследования можно сделать вывод о неблагоприятном воздействии факторов городской среды на рост и развитие отдельных пород деревьев в общем ассортименте насаждений, о чем свидетельствуют физиологические и морфологические показатели устойчивости. Однако, несмотря на техногенную нагрузку, санитарно-гигиеническая роль древесной растительности города является мощным средством нейтрализации вредных последствий техногенного загрязнения для городского населения.

Литература

1. Мурачева Л.С. Мониторинг лесопарковых экосистем на урбанизированных территориях Калининградской области/ Л.С. Мурачева, О.М. Бедарева, В.К. Хлюстов. – Калининград: ФГБОУ ВПО «КГТУ».- 2013. – 248 с.

2. Маевский П.Ф. Флора средней полосы европейской части России/ П.Ф. Маевский. – М. – 2006. – 596 с.

3. Кученева Г.Г. Оценка состояния городских зеленых насаждений (деревья, кустарники, травяной покров) / Г.Г. Кученева., А.Е. Королева. Калининград: Янтарный Сказ. - 1996. - 9 с.

ASSESSMENT OF LIFE THE STATE OF TREE PLANTATIONS IN KALININGRAD

Kalinina E., Bedareva O., Muracheva L.

woody vegetation, trees, life category, anthropogenic load

Studied the species composition of trees in the city. Defined bioecological features of woody plants. Describes their life condition. The conclusion about the degree of resistance of trees to technogenic loads.

ОПТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЛИСТЬЕВ ПШЕНИЦЫ ПРИ ДЕФИЦИТЕ АЗОТА И ПОЧВЕННОЙ ЗАСУХЕ

Канаш Е.В., Русаков Д.В., Осипов Ю.А.

ГНУ Агрофизический научно-исследовательский институт РАСХН,
Гражданский проспект, 14, г. С.-Петербург, 195220, Россия, E-mail: ykanash@yandex.ru

пшеница, спектры отражения листьев, дефицит азота, почвенная засуха, диагностика

Биохимические и структурные изменения листьев, происходящие под влиянием неблагоприятных факторов среды, сопровождаются изменением их оптических характеристик, которые могут быть зарегистрированы с помощью специального оборудования до появления внешних симптомов угнетения и повреждения растений. Анализ спектральных характеристик отраженной от поверхности листьев радиации позволяет выявить возникновение дефицита азота на самых ранних этапах, когда внешние симптомы азотного голодания еще отсутствуют [1-3]. С помощью метода контактной спектроскопии было показано, что активизация вторичного метаболизма, направленного на синтез веществ, обеспечивающих защиту растительных клеток от деградации (антиоксидантные ферменты, фенольные и другие соединения), служит одним из первых симптомов угнетения растений при возникновении окислительного стресса, вызванного азотным голоданием [1]. Цель данной работы – исследовать особенности оптических характеристик листьев пшеницы при дефиците азота и почвенной засухе и оценить степень выраженности симптомов водного дефицита в зависимости от уровня азотного питания.

Материалы и методы

Растения пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Красноуфимская 100 выращивали под лампами ДНаТ 400 при освещенности 20-22 кЛк, фотопериоде 16 ч в сосудах емкостью 3 литра, наполненных дерново-подзолистой почвой. Исходное содержание азота в почве – 0,05 г на кг почвы. Дополнительный азот (NH₄NO₃) был внесен в количестве 0 (N0) и 0.30 (N0.3) г на кг почвы. Доза азота была распределена на 3 подкормки во время кущения, в начале и по завершении трубкования. Влажность почвы до стадии трубкования была равна 80% от предельной полевой влагоемкости (ППВ) - контроль. Растения были подвергнуты действию почвенной засухи в течение 7 дней в период от завершения трубкования до начала колошения. Влажность почвы в этот период поддерживали равной 30% ППВ.

Спектры отраженной от листьев радиации регистрировали по завершении действия почвенной засухи *in situ* с помощью миниатюрной оптоволоконной спектрорадиометрической системы фирмы Ocean Optics (США), которая обеспечивает оптическое разрешение 0.065 нм в диапазоне от 300 до 1000 нм с шагом 0,3 нм. Для записи спектров отражения в каждом варианте отбирали по 30 растений (повторность опыта 2-кратная). После записи спектров рассчитывали следующие индексы отражения: хлорофилла – ChlRI, отношения суммы каротиноидов к сумме хлорофиллов – SIPI, рассеяния радиации, обусловленного изменением внутренней структуры листа - R800, активности фотохимических процессов фотосинтеза PRI, модифицированного нами [1], антоцианов - ARI, флавонолов - FRI и водной полосы – WRI. Расчетные формулы перечисленных индексов, их связь с нетто продуктивностью растений и примеры использования для оценки физиологического состояния и устойчивости рассмотрены ранее [1, 4-5]. Статистическая обработка результатов выполнена с помощью программ MS Excel 2010 и Statistica 8. Сила факторного эффекта η^2 (азотного питания и почвенной засухи) определена в процентах как отношение соответствующей суммы квадратов отклонений изучаемых оптических и биометрических показателей от их средних значений к общей сумме квадратов.

Результаты и обсуждение

Почвенная засуха, которой растения были подвергнуты в период от завершения трубкования до начала колошения, стала причиной снижения урожайности. Потеря урожая зерна при оптималь-

ном поливе в варианте N0 достигла 27%, после 7-дневной засухи - 47%. Сила влияния почвенной засухи на число зерен, формирующихся на одном растении, очень низкая (3%) и недостоверная (табл. 1). Это вполне объяснимо, поскольку к началу засухи растения уже прошли этапы органогенеза, на которых закладываются структуры, определяющие величину показателя «число зерен». Снижение урожайности после засухи является следствием формирования более мелких зерен. Сила влияния (η^2) засухи и дефицита азота на показатель «масса 1000 семян» соответственно равна 23% и 7%.

Низкий уровень азотного питания, как и следовало ожидать, стал причиной существенной потери урожая зерна. Однако причина уменьшения урожайности в этом случае – формирование меньшего числа зерен в колосе ($\eta^2 = 61\%$). Несмотря на то, что сформированные в варианте N0 зерна были более крупными, чем в варианте N0.3, это лишь частично компенсировало общее уменьшение массы семян, полученных с одного растения.

Таблица 1 - Влияние дефицита азота и почвенной засухи на показатели урожайности пшеницы
Table 1 - Effect of nitrogen deficiency and drought on crop yields of wheat

Показатель урожайности растения	Уровень азотного питания		Почвенная засуха	
	η^2	p	η^2	p
Число зерен, шт	61	5.43×10^{-11}	3	0.0832
Масса 1000 зерен, г	7	0.0485	23	0.0005
Масса зерен, г	28	2.6×10^{-5}	17	0.0007

Примечание: η^2 – сила факторного эффекта, p – уровень достоверности влияния фактора

Почвенная засуха и дефицит азота вывали увеличение отражающей способности листьев во всем спектральном диапазоне измерения, но наиболее значительно в зеленой, желтой, оранжевой и красной области спектра. Изменение индексов отражения, характеризующих интенсивность и эффективность работы фотосинтетического аппарата, свидетельствует об угнетении растений при низком уровне азотного питания и содержания воды в почве. Сравнение индексов отражения показало, что при дефиците азота и засухе спектральные характеристики листьев меняются по-разному. Основным симптом азотного голодания растений известен очень хорошо. Это хлороз листьев, в первую очередь нижних ярусов, обусловленный потерей хлорофилла. При проведении данного исследования записывали спектры отражения закончивших рост листьев верхних ярусов, симптомы азотной недостаточности у которых отсутствовали, и, тем не менее, наблюдали достоверную потерю хлорофилла – уменьшение ChlRI. В таблице 2 приведены значения силы факторного влияния на различные индексы отражения. ChlRI является единственным из индексов, на который засуха в условиях выполненного эксперимента оказала лишь небольшое воздействие ($\eta^2=4\%$).

Таблица 2 - Влияние дефицита азота и засухи на индексы отражения листьев пшеницы
Table 2 - Effect of nitrogen deficiency and drought on wheat leaf reflection indices

Индекс	Влияние азота		Влияние засухи	
	η^2	p	η^2	p
ChlRI	20	1.4×10^{-7}	4	0,0147
SIPI	2	0,0714	15	7.6×10^{-6}
R800	3	0,0452	28	4.2×10^{-11}
HDRI	15	1.4×10^{-7}	30	9.1×10^{-14}
ARI	1	0,8893	9	0,0007
FRI	12	4.4×10^{-6}	20	1.2×10^{-8}
WRI	2	0,0297	55	1.8×10^{-24}

Примечание: η^2 – сила факторного эффекта, p – уровень достоверности влияния фактора

Отличия в реакции растений на недостаток азота и почвенной влаги проявляются также при сравнении значений SIPI, R800, ARI, WRI, а также при оценке силы факторного эффекта, который

оказывают эти стрессоры. Сила влияния почвенной засухи на перечисленные индексы отражения высока – WRI (55%), R800 (28%), SIPI (15%), и ARI (9%) и существенно превышает силу влияния дефицита азота. В условиях данного эксперимента влияние дефицита азота на SIPI и ARI недостоверно, сила факторного эффекта на R800 и WRI невелика и равна 3 и 2% соответственно. После почвенной засухи существенно изменились показатель рассеяния - R800 и индекс водной полосы - WRI. Оба стрессора усилили тепловую диссипацию (увеличение PRI), и способствовали накоплению флавонолов (увеличение FRI). Сравнивая η^2 азотного дефицита и почвенной засухи можно сделать вывод, что последняя оказала более сильный негативный эффект (табл. 2).

Таким образом, дефицит азота оказал наиболее сильное влияние на содержание хлорофилла (ChlRI), почвенная засуха – на отношение каротиноиды/хлорофилл (SIPI), интенсивность рассеяния, обусловленное особенностями внутренней структуры листа (R800), содержание антоцианов (ARI) и воды (WRI). Действие каждого из неблагоприятных факторов вызвало увеличение тепловой диссипации, связанное с превращением пигментов ксантофиллового цикла (PRI) и накопление флавонолов (FRI). Существенные различия оптических характеристик растений при дефиците азота и воды свидетельствуют о хороших перспективах для создания технологий мониторинга агрофитоценозов, позволяющих не только обнаружить участок посева с угнетенными растениями, но и выявить стрессор, действие которого стало причиной угнетения. Дальнейшие исследования должны охватывать аспект, когда нехватка воды может быть обнаружена путем измерения спектральных характеристик отраженной радиации до того, как произойдет значительное необратимое ингибирование роста.

Литература

1. Kanash E.V., Osipov Yu.A. Optical signals of oxidative stress in crops physiological state diagnostics // Precision agriculture 2009. Wageningen, Netherlands. P. 81-89.
2. Канаш Е.В., Осипов Ю.А. Оптические критерии при оценке состояния фитоценозов // Биологические системы: устойчивость и механизмы функционирования. Сборник материалов III Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, 1-5 марта 2010. Нижний Тагил. 2010, С. 265-270.
3. Якушев В.П., Канаш Е.В., Осипов Ю.А., Якушев В.В., Лекомцев П.В., Воропаев В.В. Оптические критерии при контактной и дистанционной диагностике состояния посевов // Сельскохозяйственная биология. 2010. №3 С. 94-101.
4. Канаш Е.В., Осипов Ю.А. Диагностика физиологического состояния и устойчивости растений к действию стрессовых факторов среды (на примере УФ-В радиации) // Методические рекомендации. С.-Петербург. РАСХН/ГНУ АФИ РАСХН. 2008. 35 с.
5. Канаш Е.В., Осипов Ю.А. Оптические характеристики листьев при окислительном стрессе и их связь с устойчивостью и продуктивностью растений. Материалы XII съезда РБО «Фундаментальные и прикладные проблемы ботаники в начале XXI века». Ч.6. Петрозаводск, 2008. С. 59-62.

OPTICAL CHARACTERISTICS OF WHEAT LEAVES UNDER NITROGEN DEFICIENCY AND SOIL DROUGHT

Kanash E.V., Rusakov D.V., Osipov Yu.A.

wheat, leaf reflectance spectra, nitrogen deficiency, soil drought, diagnostics

The influence of nitrogen deficit and soil drought on optical characteristics of wheat leaves was studied in controlled experiment conditions. Under pronounced nitrogen deficiency strongly limiting plant growth the deterioration of physiological state of plants can be revealed by registering the reduction of chlorophyll reflection index. Under drought is pronounced chlorophyll concentration does not vary or varies only slightly, plant depression is detected by the increase of indices, which is a sign of photosynthetic radiation-use-efficiency reduction.

ОКСИД АЗОТА ЗАДЕЙСТВОВАН В РАЗВИТИИ ИНДУЦИРОВАННОЙ ТЕПЛОУСТОЙЧИВОСТИ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ

Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Швиденко Н.В., Луговая А.А.

Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева, п/о «Коммунист-1»,
г. Харьков, 62483, Украина, E-mail: plant_biology@mail.ru

Triticum aestivum L., оксид азота (NO), NO-синтаза, нитратредуктаза, тепловое закаливание, теплоустойчивость

По современным представлениям оксид азота (NO) считается одним из важных участников сигнальной трансдукции в растительных клетках [1]. Молекулы NO принимают участие в развитии адаптивных реакций растений на действие абиотических и биотических стрессоров [2, 3]. Усиление синтеза NO в ответ на действие высоких температур зарегистрировано в проростках люцерны [4], культуре клеток табака [5], растениях арабидопсиса [6] и риса [7]. В то же время возможная связь между процессами образования оксида азота и формированием устойчивости остается малоисследованной. Показано повышение содержания оксида азота в листьях риса при двухчасовом действии закалывающей температуры 38°C [7]. Обработка растений скавенджером оксида азота препятствовала развитию их теплоустойчивости. При этом, однако, не известно, участвует ли оксид азота в индуцировании устойчивости растений при кратковременном действии высоких температур. Также не выяснены ферментативные источники оксида азота, задействованные в его генерации при действии на растения гипертермии.

Исследовали влияние кратковременного воздействия закалывающей температуры на образование оксида азота в корнях проростков пшеницы и связь этого эффекта с формированием теплоустойчивости. Также в задачу работы входило выяснение возможной роли фермента подобного NO-синтазе животных и нитратредуктазы в индуцированном гипертермией синтезе оксида азота в корнях проростков пшеницы.

Материалы и методы

В качестве объекта исследования использовали этиолированные проростки мягкой озимой пшеницы (*Triticum aestivum L.*) сорта Элегия, выращенные на очищенной водопроводной воде при температуре 22°C. Трехсуточные проростки соответствующих вариантов опыта в течение 24 ч инкубировали на растворах скавенжера NO (2-phenyl-4,4,5,5-tetramethylimidazoline-1-oxyl-3-oxide – РТЮ в концентрации 100 мкМ), ингибиторов NO-синтазы (NG-nitro-L-arginine methyl ester – L-NAME, 2 мМ) или нитратредуктазы (вольфрамат натрия, 1 мМ). Концентрации эффекторов выбирали на основании предварительных опытов. Контрольные проростки в это время продолжали инкубировать на воде. После обработки исследуемыми соединениями часть проростков подвергали одномоментному закалывающему прогреву в водном термостате при температуре 42,0±0,1°C. Образцы, которые не обрабатывались эффекторами, инкубировали на воде. Как было установлено нами ранее, максимальная теплоустойчивость проростков развивалась через 24 ч после закалывающего прогрева. В этот момент определяли их подвергали потенциально летальному прогреву в водном ультратермостате при температуре 46,0±0,1°C в течение 10 мин. Через 4 сут после воздействия повреждающего прогрева оценивали относительное количество выживших проростков. Содержание NO в корнях и побегах определяли по реакции Грисса. Опыты проводили в трехкратной биологической повторности и каждый воспроизводили независимо три раза. На рисунках приведены средние величины и их стандартные отклонения.

Результаты и обсуждение

Закалывающий прогрев проростков вызывал повышение содержания оксида азота уже через 15 мин. Количество NO в тканях корней оставалось увеличенным на 25-35% в течение

двухчасового закаливания. Затем эффект прогрева уменьшался и через 24 ч содержание оксида азота в корнях закаленных проростков почти не отличалось от величин в соответствующем контроле.

В последующих экспериментах методом ингибиторного анализа определяли возможный вклад ферментативных систем в вызываемое закаливающим прогревом увеличение содержания оксида азота в тканях проростков. Известно, что основным ферментом, катализирующим синтез оксида азота в клетках животных, является NO-синтаза. Несмотря на то, что наличие гена NO-синтазы у растений до сих пор ставится под сомнение, данные ингибиторного анализа свидетельствуют о наличии у растений ферментного комплекса, по крайней мере, подобного NO-синтазе животных [1]. Другим ферментативным источником оксида азота у растений является нитратредуктаза, которая может преобразовывать нитрит в оксид азота в НАДФН-зависимой реакции.

В наших экспериментах как ингибитор NO-синтазы L-NAME, так и ингибитор нитратредуктазы вольфрамат натрия сами по себе несколько снижали содержание эндогенного оксида азота в корнях проростков пшеницы (рис. 1). Оба ингибитора приблизительно в одинаковой степени нивелировали и увеличение содержания оксида азота, которое наблюдалось в корнях через 1 ч после закаливания. Таким образом, можно полагать, что в усилении образования оксида азота в тканях проростков пшеницы после закаливания задействованы два ферментативных источника оксида азота.

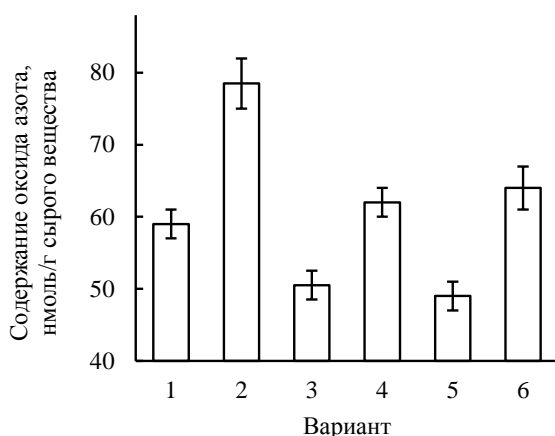


Рисунок 1 - Содержание оксида азота в корнях проростков пшеницы через 24 ч после начала обработки эффекторами и (или) через 1 ч после закаливающего прогрева. 1 – контроль; 2 – закаливание; 3 – L-NAME (2 мМ); 4 – закаливание + L-NAME (2 мМ); 5 – вольфрамат натрия (1 мМ); 6 – закаливание + вольфрамат натрия (1 мМ)

Figure 1 - Nitric oxide content in roots of wheat plantlets in 24 hours after beginning of treatment with effectors and (or) in 1 hours after hardening heating. 1 – control; 2 – hardening; 3 – L-NAME (2 mM); 4 – hardening + L-NAME (2 mM); 5 – sodium wolframate (1 mM); 6 – hardening + sodium wolframate (1 mM)

Представляло интерес оценить влияние скавенжера NO РТЮ и ингибиторов ферментов, синтезирующих оксид азота, на базовую и индуцированную закаливанием теплоустойчивость проростков пшеницы. Обработка проростков РТЮ и ингибитором NO-синтазы L-NAME вызывала относительно небольшое, но достоверное при $p \leq 0,05$ повышение их теплоустойчивости (рис. 2). Ингибитор нитратредуктазы вольфрамат натрия сам по себе не влиял на теплоустойчивость проростков. Скавенжер NO и оба ингибитора синтеза NO частично снимали повышение теплоустойчивости проростков, вызываемое закаливающим прогревом. Эти результаты указывают на участие оксида азота, образуемого ферментом подобным NO-синтазе животных и нитратредуктазой, в формировании защитных реакций проростков, обуславливающих повышение их теплоустойчивости. Сложнее объяснить повышение теплоустойчивости проростков, вызываемое скавенжером оксида азота и ингибитором NO-синтазы L-NAME. Такой эффект может быть связан с неспецифическим (побочным) действием этих соединений. В то же время нельзя исключить, что угнетение NO-синтазной сигнальной системы само по себе может выступать в качестве стресс-фактора, индуцирующего защитные реакции растения. Так, показано повышение активности антиоксидантных ферментов в каллусах хлопчатника под влиянием РТЮ [8].

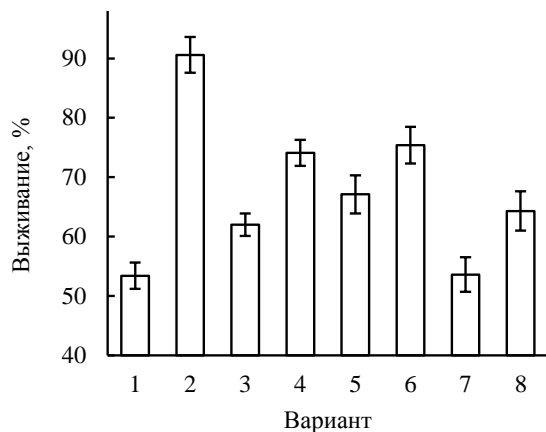


Рисунок 2 - Выживание проростков пшеницы после 10-минутного прогрева при температуре 46°C. 1 – контроль; 2 – закаливание; 3 – РТЮ (100 мкМ); 4 – закаливание + РТЮ (100 мкМ); 5 – L-NAME (2 мМ); 6 – закаливание + L-NAME (2 мМ); 7 – вольфрамат натрия (1 мМ); 8 – закаливание + вольфрамат натрия (1 мМ)

Figure 2 - Survival of wheat plantlets after 10-minutes heating at temperature 46°C. 1 – control; 2 – hardening; 3 – PTIO (100 μM); 4 – hardening + PTIO (100 μM); 5 – L-NAME (2 mM); 6 – hardening + L-NAME (2 mM); 7 – sodium wolframate (1 mM); 8 – hardening + sodium wolframate (1 mM)

Однако вопрос о возможности индуцирования протекторных систем в используемой нами модели (проростках пшеницы) скавенджером NO и ингибитором NO-синтазы требует специальных исследований.

Литература

1. Neill S., Bright J., Desikan R. Hancock J., Harrison J., Wilson I. Nitric oxide evolution and percepton // J. Exp. Bot. 2008. V. 59. P. 25-35.
2. Siddiqui M.H., Al-Wahaibi M.H., Basalah M.O. Role of nitric oxide in tolerance of plants to abiotic stress // Protoplasma. 2011. V. 248. P. 447–455.
3. Hasanuzzaman M., Gill S.S., Fujita M. Physiological role of nitric oxide in plants grown under adverse environmental conditions // Plant acclimation to environmental stress / Eds. N. Tuteja, S.S. Gill. Springer Science+Business Media New York, 2013. P. 269-322.
4. Leshem Y.Y., Wills R.B.H., Ku V.V.-V. Evidence for the function of the free radical gas – nitric oxide (NO·) – as an endogenous maturation and senescence regulating factor in higher plants // Plant Physiol. Biochem. 1998. V. 36. P. 825-833.
5. Gould K.S., Lamotte O., Klinguer A., Pugin A., Wendehenne D. Nitric oxide production in tobacco leaf cells: a generalized stress response? // Plant Cell Environ. 2003. V. 26. P. 1851-1862.
6. Бакакина Ю.С., Дубовская Л.В., Волотовский И.Д. Влияние высокотемпературного стресса на внутриклеточную концентрацию NO и эндогенное содержание ц ГМФ в проростках *Arabidopsis thaliana* // Весці Нац. акадэміі навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2009. № 4. С. 34-39.
7. Song L., Zhao H., Hou M. Involvement of nitric oxide in acquired thermotolerance of rice seedlings // Rus. J. Plant Physiol. 2013. V. 60, № 6. P. 785-790.
8. Vital S.A., Fowler R.W., Virgen A., Gossett D.R., Banks S.W., Rodriguez J. Opposing roles for superoxide and nitric oxide in the NaCl stress-induced upregulation of antioxidant enzyme activity in cotton callus tissue // Environ. Exp. Bot. 2008. V. 62. P. 60-68.

NITRIC OXIDE IS INVOLVED IN DEVELOPMENT INDUCED HEAT RESISTANCE OF PLANTLETS OF WHEAT

Karpets Yu.V., Kolupaev Yu.E., Shvydenko N.V., Lugovaya A.A.

Triticum aestivum L., nitric oxide (NO), NO-synthase, nitrate reductase, heat hardening, heat resistance.

One-minute hardening heating of wheat plantlets at temperature 42°C invoked the transitional increasing of content of nitric oxide in tissues. Preliminary treatment of plantlets with the inhibitors of NO-synthase or nitrate reductase substantially levelled the increasing of nitric oxide content in tissues and the development of heat resistance affected by hardening heating.

ХАРАКТЕР ВОЗДЕЙСТВИЯ ГУМАТА НА РАСТЕНИЯ ПШЕНИЦЫ ПРИ ВЫСОКИХ КОНЦЕНТРАЦИЯХ МЕДИ В СРЕДЕ

Кирдей Т.А.

ФГБОУ ВПО «Ивановская государственная сельскохозяйственная академия имени академика Д.К. Беляева», ул. Советская, 45, г. Иваново, 153012, Россия, E-mail: T.A.Kirdey@mail.ru

гумат, медь, фитотоксичность, пшеница, водная культура

Введение

Изучение устойчивости растений к антропогенному загрязнению является одним из приоритетных направлений современной биологической науки. Среди многочисленных загрязнителей особое место занимают тяжелые металлы, оказывающие токсическое воздействие на живые организмы. В настоящее время накоплен большой фактический материал по способности растений накапливать тяжелые металлы, изучаются механизмы детоксикации металлов в растениях. Однако изменение металлоустойчивости растений в процессе их развития, процессы адаптации растений к высоким концентрациям тяжелых металлов остаются невыясненными.

В связи с ростом техногенного загрязнения окружающей среды особую актуальность приобретает протекторная функция гуминовых веществ [1,2], которые представляют собой уникальную группу природных высокомолекулярных веществ, образующихся в процессе разложения органических остатков при затрудненном доступе кислорода. Известно, что гуматы (водорастворимые соли гуминовых кислот) связывают различные ксенобиотики, в том числе и тяжелые металлы, снижая их токсичность для растений [3,4].

Одним из самых токсичных тяжелых металлов является медь [5], которая поступает в окружающую среду в избыточных количествах с отходами промышленности, а также с медьсодержащими пестицидами, широко используемыми в сельскохозяйственном производстве. В связи с вышеизложенным, целью работы являлось выяснение характера влияния гумата, полученного из торфа, на фитотоксичность меди.

Материалы и методы

Объектами исследования были растения яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Приокская. Семена проращивали в чашках Петри на фильтровальной бумаге с растворами сульфата меди в концентрациях 100, 250, 500 и 1000 мкМ при температуре 20–220 С. Растения выращивали в условиях водной культуры на питательной смеси Хогланда в камере искусственного климата. Гуминовый препарат [6] использовали в концентрации 0,01% и 0,005 % для проращивания семян и для выращивания растений соответственно. Концентрации выбраны по результатам ранее проведенных экспериментов. Реакцию растений на действие ионов металлов и гумата оценивали по всхожести семян, морфологическим показателям проростков на седьмой день эксперимента, а также по накоплению биомассы и морфологическим показателям развития растений в фазы кущения, выхода в трубку и колошения. Контролем служили растения, выращенные без сульфата меди в среде. Степень металлоустойчивости определяли по соотношению сухой массы растений на опытных и контрольном вариантах. Коэффициент протекторного действия гумата рассчитывали как соотношение массы растений, выращенных при использовании гуминового препарата и без гумата. При проведении математической обработки результатов эксперимента использовали дисперсионный анализ.

Результаты и обсуждение

Высокие концентрации сульфата меди – 500 и 1000 мкМ - существенно снизили всхожесть семян пшеницы – на 19 и 22 % по сравнению с контролем. Гумат усиливал рост проростков как без сульфата меди в среде, так и при относительно невысоких концентрациях - 100 и 250 мкМ. При более высоких концентрациях токсичного иона влияние гумата не доказано статистически.

Токсическое действие меди проявляется прежде всего на процессах роста растений. Степень металлоустойчивости растений значительно снижается с увеличением концентрации меди в среде, а также в процессе развития растений – в 2 раза в фазу кущения и в 89 раз в фазу колошения (фаза развития контрольных растений) (табл. 1). Повышение устойчивости к высоким концентрациям меди в процессе вегетации растений наблюдается только при 100 мкМ в присутствии гумата.

Таблица 1 - Степень металлоустойчивости растений пшеницы (%)
Table 1 - Rate of wheat metal-resistance (%)

Варианты	Кущение	Выход в трубку	Колошение
1. CuSO ₄ 100 мкМ	14,55	10,63	70,20
2. CuSO ₄ 100 мкМ + Гумат	47,27	58,62	189,57
3. CuSO ₄ 250 мкМ	10,91	2,30	2,63
4. CuSO ₄ 250 мкМ + Гумат	14,55	53,16	5,43
5. CuSO ₄ 500 мкМ	10,00	4,31	9,64
6. CuSO ₄ 500 мкМ + Гумат	12,73	2,59	2,72
7. CuSO ₄ 1000 мкМ	6,36	1,44	0,79
8. CuSO ₄ 1000 мкМ + Гумат	5,45	1,44	0,52

*Фазы развития указаны для контрольных растений

Избыток меди ингибировал как накопление биомассы, так и линейный рост растений (рис.1). Степень снижения длины побегов и корней растений нарастала с увеличением концентрации меди в среде. Гумат показал высокую эффективность в среде без сульфата меди и при концентрации сульфата меди 100 мкМ. При 250 мкМ CuSO₄ гумат снизил токсическое действие меди в меньшей степени, а при 500 мкМ – усилил ингибирующее действие меди.

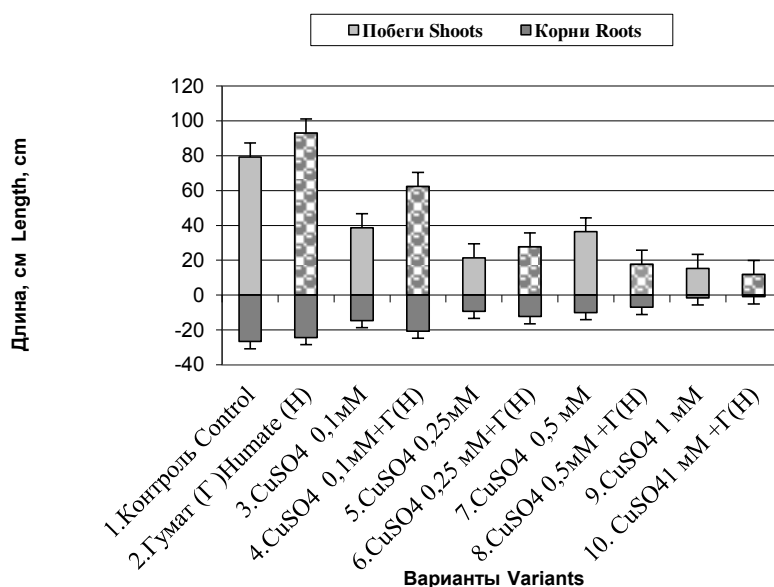


Рисунок 1 - Влияние высоких концентраций меди и гумата на линейный рост растений пшеницы в фазу колошения контрольных растений. (Бары на диаграмме показывают значения НСР₀₅)

Figure 1 - Effect of high concentrations of copper and humate on linear growth of wheat plants at ear-forming stage of control plants. (Bars on the diagram show values the smallest meaningful difference under dispersion analysis)

Таблица 2 - Коэффициент протекторного действия гумата

Table 2 - Coefficient of humate protective influence

Варианты	Кущение	Выход в трубку	Колошение
1.Контроль(CuSO ₄ 0)	1,82	1,24	1,11
2 CuSO ₄ 100 мкМ	3,25	5,51	2,70
3.CuSO ₄ 250 мкМ	1,33	23,12	2,07
4. CuSO ₄ 500 мкМ	1,27	0,60	0,28
5. CuSO ₄ 1000 мкМ	0,86	1,00	0,67

*Фазы развития указаны для контрольных растений

Заключение

Таким образом, проведенные исследования позволяют выделить противоположно направленные эффекты влияния гумата на устойчивость растений пшеницы к высоким концентрациям меди: 1. Стимуляция роста и снижение токсического действия меди на растения при относительно низких концентрациях сульфата меди (100 и 250 мкМ);

2. Торможение роста и усиление токсического действия меди при высоких концентрациях сульфата меди (500 мкМ).

Литература

1. Христева Л.А. К природе действия физиологически активных гумусовых веществ на растения в экстремальных условиях//Гуминовые удобрения: Теория и практика их применения. Днепропетровск, 1977. Т. 6.- С. 3-15.

2. Орлов Д.С. Гумусовые кислоты почв и общая теория гумификации. – М.:МГУ, 1990.

3. Семенов А.А. Влияние гуминовых кислот на устойчивость растений и микроорганизмов к воздействию тяжелых металлов/Автореферат дис...канд.биол.наук. – Москва, 2009.

4. Будаева А.Д.,Золтоев Е.В., Бодоев Н.В., Бальбурова Т.А. Сорбция ионов тяжелых металлов гуматами аммония, натрия, калия//Фундаментальные исследования. – 2005. - №9 – С. 112-113.

5. Yruela I. Copper in Plants: Acquisition, Transport and Interactions // Funct. Plant Biol. 2009. V. 36. P. 409-430.

6. Калинин Ю.А., Вашурина И.Ю., Кирдей Т.А. Способ получения жидких торфяных гуматов/Патент на изобретение № 2310633. – Бюл. № 32, 2007.

THE CHARACTER OF HUMATE EFFECT ON WHEAT PLANTS UNDER HIGH ENVIRONMENTAL CONCENTRATIONS OF COPPER

Kirdey T.A.

humate, copper, phytotoxicity, wheat, water crop

The effect of humic peat preparation on phytotoxicity of copper sulphate in concentrations 100, 250, 500 and 1000 mcM was studied. For assessment of humate effectiveness it was suggested to use the coefficient of humate protective influence. It was stated that humate has opposite effects on metal-resistance qualities of wheat: it reduces phytotoxicity of copper under low (100 and 250 mcM) and increases it under high (500 mcM) concentrations of copper sulphate in environment.

**ВЛИЯНИЕ ВЫСОКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ФОТОСИНТЕЗ
ФЛАГОВЫХ ЛИСТЬЕВ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ**

Киризий Д.А.

Институт физиологии растений и генетики НАН Украины, ул. Васильковская, 31/17, г. Киев,
03022, Украина, E-mail: kiriziy@gmail.com

Triticum aestivum L., пшеница, фотосинтез, высокая температура

Введение

Глобальные изменения климата сопровождаются усилением контрастности погодных явлений в отдельных регионах выращивания сельскохозяйственных культур [1]. В частности увеличивается вероятность возникновения экстремально высоких температур, даже в зонах считавшегося до сих пор умеренного климата [2, 3]. Пшеница является наиболее распространенной культурой, выращиваемой практически во всех странах, имеющих развитое сельское хозяйство, и благодаря своей экологической пластичности способной давать урожаи во всех климатических зонах, где возможно земледелие. Поскольку в основе продуктивности растений лежит фотосинтез, вопросы термотолерантности фотосинтетического аппарата пшеницы являются весьма актуальными [3, 4, 5]. К ним относится оценка устойчивости процесса ассимиляции CO₂ к действию высокой температуры и разработка приемов смягчения действия этого стрессового фактора, изучение причин генотипических различий термотолерантности среди сортов и видов пшеницы для дальнейшего улучшения этого важного признака селекционно-генетическим путем, поиск молекулярных маркеров и т.п.

Известно, что скорость ассимиляции листом CO₂ с увеличением температуры выше оптимальной падает, причем, как показали исследования последнего времени, это снижение во многом определяется термочувствительностью шаперонного белка Рубиско-активазы [3]. Высокая температура влияет также на конфигурацию и проницаемость мембран хлоропластов, а отсюда – и на все связанные с ними процессы [6]. Однако интенсивность фотосинтеза является интегральным показателем функционального состояния фотосинтетического аппарата и позволяет оценить не только температурный предел этого процесса, но и характер релаксации после снятия действия стрессового фактора.

Цель нашей работы состояла в изучении температурных зависимостей интенсивности видимого фотосинтеза листьев растений двух контрастных сортов озимой пшеницы в условиях циклического изменения температуры. С одной стороны такой подход имитирует возможную дневную динамику этого фактора, с другой – позволяет оценить полноту восстановления изучаемого физиологического показателя при возвращении в нормальные условия.

Материалы и методы

Опыты проводили на озимой мягкой пшенице (*Triticum aestivum L.*) двух сортов: Фаворитка (современный высокоинтенсивный сорт селекции Института физиологии растений и генетики НАН Украины) и Мироновская 808 (высокорослый сорт селекции 1960-х гг.). Интенсивность фотосинтеза измеряли в лабораторных условиях на интактных флаговых листьях растений, выращенных в условиях вегетационного опыта при оптимальных поливе, минеральном питании и естественном освещении по достижении фазы молочной спелости зерновок. Измерения проводили на установке, смонтированной на базе инфракрасного оптико-акустического газоанализатора ГИАМ-5М, включенного по дифференциальной схеме. Участок листа длиной 7 см подвергали прогреву в листовой камере, состоящей из двух половинок, верхняя из которых со стеклянным окном отделена от нижней тонкой прозрачной пластиковой пленкой. Листья фиксировали между двух половинок камеры, края которых для обеспечения герметизации обклеены губчатой резиной, так, что верхняя поверхность листа плотно контактировала с пленкой. Через верхнюю половину камеры постоянно прокачивали

воду заданной температуры из ультратермостата, а через нижнюю – атмосферный воздух (1 л/мин), который после осушения подавался на анализатор. Таким образом, температура листовой пластинки в процессе измерений интенсивности ассимиляции CO₂ была максимально приближенной к температуре воды из ультратермостата, которую можно было задавать согласно схеме эксперимента. На протяжении одного цикла измерений температуру в камере последовательно изменяли по такой схеме (°C): 20→25→30→35→40→45→40→35→30→25→20. Продолжительность экспозиции при каждой температуре составляла 30 мин, переход между температурными условиями происходил за 5 мин. Интенсивность фотосинтеза фиксировали на протяжении 4-5 мин в конце каждой экспозиции. Лист в камере освещали лампой накаливания КГ-2000 через водяной фильтр, плотность лучевого потока составляла 400 Вт/м² ФАР. Освещение было непрерывным на протяжении всего эксперимента.

Результаты и обсуждение

Результаты измерений представлены на рис. в виде круговой диаграммы. Видно, что у растений сорта Фаворитка интенсивность фотосинтеза флаговых листьев выше, чем у Мироновской 808 во всем исследованном диапазоне температур. Температурный оптимум интенсивности видимого фотосинтеза у обоих сортов находился между 25 и 30 °C. Вместе с тем у Фаворитки при повышении температуры до 45 °C интенсивность фотосинтеза уменьшилась лишь в 2,7 раза, а у Мироновской 808 – в 4,7 раза. При последующем снижении температуры до оптимальной этот показатель у Фаворитки восстановился почти до 90 % исходного значения, тогда как у Мироновской 808 – лишь до 65 %.

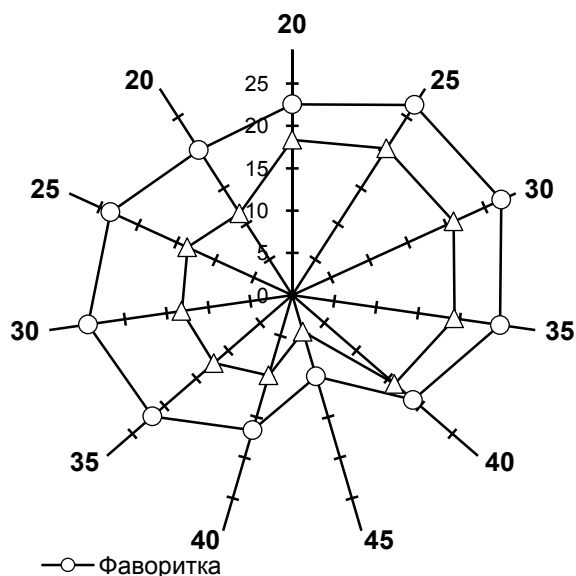


Рисунок 1 - Динамика интенсивности ассимиляции CO₂ флаговыми листьями двух сортов пшеницы при циклическом изменении температуры (цифры возле осей соответствуют значениям температуры в °C, засечки на осях – значениям интенсивности фотосинтеза в мг CO₂/(дм² · час))

Figure 1 - Dynamics of flag leaves CO₂ net assimilation rate of two wheat varieties under cyclic change of temperature (figures near axes correspond to temperature values in °C, marks on the axes – net assimilation rate in mg CO₂/(dm² · h))

Таким образом, у растений сорта Фаворитка процесс фотосинтеза был гораздо интенсивнее и термостабильнее, чем у сорта Мироновская 808, что иллюстрирует почти вдвое большая площадь, охватываемая кривой температурной динамики интенсивности ассимиляции CO₂ листом первого сорта, а также меньшая асимметрия ее ветвей относительно оси 20-45 °C. Флаговые листья растений сорта Мироновская 808 характеризовались меньшей пло-

щадью температурного динамического диапазона, и сильной асимметрией ветвей относительно центральной оси.

Из литературы известно, что у новых высокоинтенсивных сортов пшеницы интенсивность фотосинтеза листьев заметно выше, чем у сортов старой селекции, хотя резервы улучшения этого признака считаются далеко не исчерпанными [7]. Наши результаты согласуются с литературными данными и вместе с тем показывают, что более высокая термотолерантность фотосинтетического аппарата сорта Фаворитка обеспечивает ему дополнительные преимущества в ассимиляционной деятельности по сравнению со старым сортом при воздействии такого стрессового фактора, как высокая температура. Не исключено, что высокая экологическая пластичность данного сорта во многом объясняется наличием в его геноме пшенично-ржаной транслокации, однако этот вопрос требует дальнейшего изучения.

Заключение

Интенсивность фотосинтеза, его термотолерантность, скорость и полнота релаксации после воздействия высокой температуры у растений озимой пшеницы современного высокоинтенсивного сорта Фаворитка выше, чем у сорта старой селекции Мироновская 808. Это свидетельствует о перспективности дальнейшего улучшения термостабильности ассимиляционного аппарата пшеницы селекционно-генетическим путем.

Литература

1. Моргун, В.В. Экофизиологические и генетические аспекты адаптации культурных растений к глобальным изменениям климата / В.В. Моргун, Д.А. Киризий, Т.М. Шадчина // Физиология и биохимия культ. растений. – 2010. – Т. 42. – № 1. – С. 3 - 22.
2. Warming and Nitrogen Fertilization Effects on Winter Wheat Yields in Northern China Varied Between Four years / L.T. Liu, C.S. Hu, J.E. Olesen, Z.Q. Ju, P.P. Yang, Y.M. Zhang // Field Crops Research. – 2013. – V. 151. – P. 56 - 64.
3. Wahid, A. Heat Tolerance in Plants: An Overview / A. Wahid, S. Gelani, M. Ashraf, M.R. Foolad // Environ. and Exp. Bot. – 2007. – V. 61. – P. 199 - 223.
4. Kaur, V. Grain Yield in Wheat as Affected by Short Periods of High Temperature, Drought and their Interaction during Pre- and Post-anthesis Stages / V. Kaur, R.K. Behl // Cereal Res. Commun. – 2010. – V. 38. – № 4. – P. 514 - 520.
5. Dias, A.S. Bread and Durum Wheat under Heat Stress: A Comparative Study on the Photosynthetic Performance / A.S. Dias, J. Semedo, J.C. Ramalho, F.C. Lidon // J. of Agron. and Crop Sci. – 2011. – V. 197. – № 1. – P. 50 - 56.
6. Mathur, S. Analysis of High Temperature Stress on the Dynamics of Antenna Size and Reducing Side Heterogeneity of Photosystem II in Wheat Leaves (*Triticum aestivum*) / S. Mathur, S.I. Allakhverdiev, A. Jajoo // Biochimica et Biophysica Acta. – 2011. – V. 1807. – P. 22 - 29.
7. Raising Yield Potential of Wheat. II. Increasing Photosynthetic Capacity and Efficiency / M.A. Parry, M. Reynolds, M.E. Salvucci, C. Raines, P.J. Andralojc, X.-G. Zhu, G.D. Price, A.G. Condon, R.T. Furbank // J. Exp. Bot. – 2011. – V. 62. – № 2. – P. 453 - 467.

HIGH TEMPERATURE EFFECT ON ASSIMILATION RATE OF WINTER WHEAT FLAG LEAVES

Kiriziy D.A.

Triticum aestivum L., wheat, photosynthesis, high temperature

Net assimilation rate and its relaxation under high temperature action were higher in flag leaves of new high intensive variety Favoritka in comparison with old variety Mironovskaya 808. This argue about availability of further improvement of wheat assimilating apparatus thermostability by breeding-genetically way.

СОВМЕСТНОЕ ДЕЙСТВИЕ РЕГУЛЯТОРА РОСТА МЕЛАФЕНА И МИКРОЭЛЕМЕНТОВ ЦИНКА, И МАРГАНЦА НА АНТИОКСИДАНТНУЮ СИСТЕМУ РАСТЕНИЯ КАРТОФЕЛЯ

Кириллова И.Г., Бычков И.А.

ФГБОУ ВПО «Орловский государственный университет», ул. Комсомольская, 95, г. Орёл,
302026, Россия, E-mail: kaf_botany@univ-orel.ru

мелафен, микроэлементы, цинк, марганец, ферменты-антиоксиданты, гидроперекиси, малоновый диальдегид

Как известно, изучение механизма действия синтетических регуляторов роста является актуальной проблемой. К регуляторам роста последнего поколения относится мелафен, который представляет собой дигидрат меламиновой соли бис(гидроксиметил)-фосфиновой кислоты. В литературе достаточно данных, что мелафен является физиологически активным соединением, действующим в низких концентрациях $1 \cdot 10^{-9}$ – $1 \cdot 10^{-7}$ %. Показано, что данный препарат положительно влияет на ростовые процессы, продуктивность, устойчивость растений, синтез физиологически активных соединений и т.д. [1]. Вместе с тем, исследований по взаимодействию мелафена с другими регуляторами, в частности, с микроэлементами все еще недостаточно. Так, имеются единичные данные о взаимодействии регулятора роста мелафена с микроэлементом бором [2]. В данной работе исследовано совместное действие регулятора роста мелафена и микроэлементов цинка, и марганца на антиоксидантную систему растения картофеля (активность ферментов-антиоксидантов и продукты перекисного окисления липидов).

Для исследований использовали растения картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта Удача селекции ВНИИ картофельного хозяйства (Россия). Растения выращивали в условиях вегетационного домика в почвенной культуре на серой лесной почве N90P60K150. Обработку регулятором роста мелафеном и микроэлементами проводили путем замачивания посадочных клубней в водных растворах: мелафена - 10 мкМ/л, цинкового купороса ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) – 2,8 мМ/л и перманганата калия ($KMnO_4$) - 0,19 мМ/л в течение 2 часов. Определяли следующие показатели: активность пероксидазы и полифенолоксидазы - по методу Бояркина; аскорбатоксидазы - спектрофотометрическим методом; количество продуктов ПОЛ: концентрацию малонового диальдегида по цветной реакции с тиобарбитуровой кислотой, гидроперекисей – по реакции с роданитом аммония. Опыты проводили в 3-кратной биологической и 5-7-кратной химической повторности. Достоверность результатов оценивали по критерию Стьюдента.

Как известно из литературы, пероксидаза и полифенолоксидаза являются конечными оксидазами и характеризуют интенсивность заключительной фазы дыхания. Из рис. 1 видно, что мелафен и мелафен совместно с микроэлементами значительно снижают активность пероксидазы в клубнях картофеля в период вхождения их в глубокий покой. Наименьшую активность пероксидазы проявляла в вариантах: «мелафен» и «мелафен + цинк» (снижение составило 16,2% по сравнению с контролем), в варианте «мелафен + марганец» активность пероксидазы снизилась в меньшей степени (48,4% от уровня контроля). Что касается полифенолоксидазы, то отмечено существенное увеличение активности данного фермента в клубнях картофеля в варианте «мелафен+цинк» (в 2,5 раза) (рис.2). Индивидуальная обработка регулятором роста мелафеном, напротив, снизила активность данного фермента. Что касается совместной обработки мелафеном и микроэлементом марганцем, то в данном варианте опыта этот показатель остался на уровне контроля. Снижение активности пероксидазы и полифенолоксидазы в клубнях картофеля в вариантах с обработкой мелафеном и мелафеном совместно с микроэлементом марганцем (пероксидаза) может свидетельствовать о большей их устойчивости к фитопатогенам. Такие указания в литературе имеются.

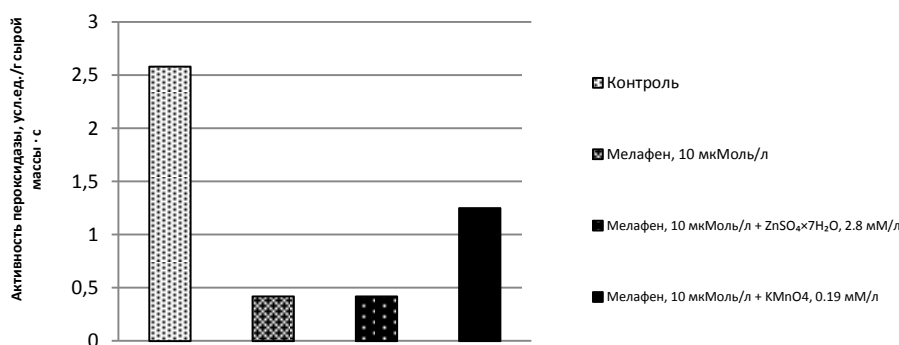


Рисунок 1 - Влияние мелафена и микроэлементов на активность пероксидазы в клубнях растения картофеля

Figure 1 - Influence of melaphen and micronutrients on peroxidase activity in the tubers of the potato

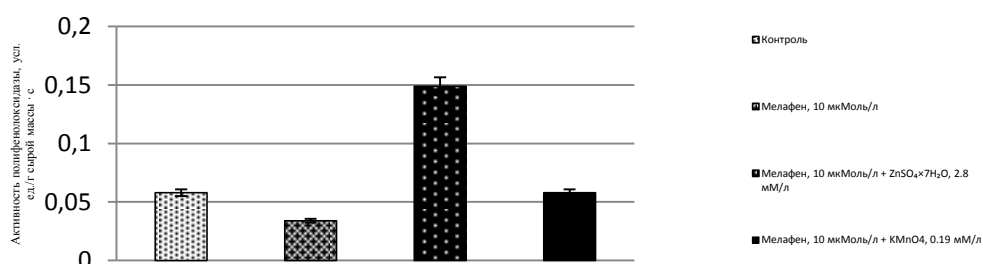


Рисунок 2 - Влияние мелафена и микроэлементов на активность полифенолоксидазы в клубнях растения картофеля

Figure 2 - Influence of melaphen and micronutrients on polyphenoloxidase activity in tubers of potato

Определение активности аскорбатоксидазы в клубнях картофеля показало несколько иную картину (рис.3). Так, обработка растений картофеля мелафеном и мелафеном совместно с микроэлементами способствовала повышению активности данного фермента в клубнях картофеля, что может быть ответной реакцией растения на понижение активности другого окислительного фермента – пероксидазы. Наибольшее увеличение активности данного фермента отмечено в варианте с совместной обработкой мелафеном и микроэлементом цинком.

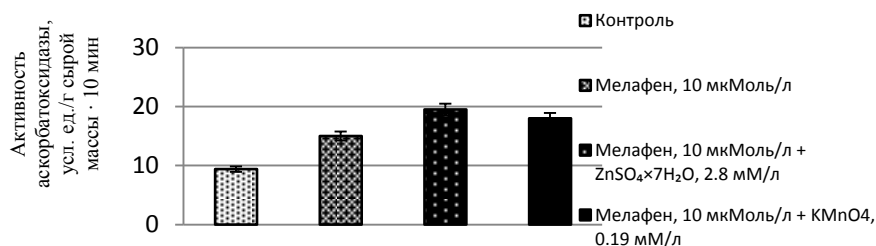


Рисунок 3 - Влияние мелафена и микроэлементов на активность аскорбатоксидазы в клубнях растения картофеля

Figure 3 - Influence of melaphen and micronutrients on ascorbateoxidase activity in the tubers of the potato

Исследование продуктов липопероксидации мембран показало, что содержание гидроперекисей (промежуточного продукта перекисного окисления липидов) имело тенденцию к снижению во всех вариантах опыта по сравнению с контролем (от 3,7 до 17,5% от уровня контроля) (табл.1). Наименьшее количество гидроперекисей отмечено в варианте с совместной обработкой регулятором роста мелафеном и микроэлементом марганцем. Концентрация малонового диальдегида – ко-

нечного продукта окисления липидов мембран также оказалась ниже во всех вариантах опыта по сравнению с контролем (табл.1). Причем, наибольший эффект оказала индивидуальная обработка мелафеном (снижение составило 44,6% от уровня контроля). Аналогичные данные были получены нами ранее при использовании более низких концентраций мелафена. Совместная обработка растений мелафеном и изучаемыми микроэлементами оказала меньший эффект в отношении снижения величины данного показателя.

Таким образом, показано, что индивидуальное применение мелафена оказало больший эффект на энзиматическую систему «пероксидаза–полифенолоксидаза». Отмечено существенное снижение активности указанных окислительных ферментов в клубнях картофеля. На этом фоне наблюдалось наименьшее содержание малонового диальдегида- конечного продукта липопероксидации мембран. Совместное применение мелафена и микроэлемента цинка вызвало существенное повышение активности полифенолоксидазы и аскорбатоксидазы, что вероятно, связано с активизацией метаболических процессов.

Таблица 1 - Влияние мелафена и микроэлементов на содержание гидроперекисей и концентрацию малонового диальдегида в клубнях растения картофеля

Table 1 - The influence of melaphen and micronutrient on the content of hydroperoxides and malondialdehyde concentration in tubers of potato plants

Вариант	Содержание гидроперекисей, D 480 нм	Концентрация малонового диальдегида, мкМ МДА/ г сырой массы
Контроль	0,69±0.03	25,2±1,5
Мелафен, 10 мкМ/л	0,67±0,03	11,3±0,57
Мелафен, 10 мкМ/л + ZnSo ₄ ·7H ₂ O, 2,8мМ/л	0,61±0,02	17,4±1,01
Мелафен, 10 мкМ/л+ KMnO ₄ , 0,19 мМ/л	0,57±0,03	12,4±061

Литература

1.Платонова Т.А., Ладьженская Э.П., Евсюнина А.С., Кораблева Н.П. Действие мелафена на ростовые процессы в клубнях картофеля// Сельскохозяйственная биология. 2010. № 1. С. 86-89.

2.Сяпуков Е. Е.Энергетическая и экономическая эффективность регуляторов роста и борной кислоты в технологии сахарной свеклы //Вестник Ульяновской ГСХА.2012. №4. С.20-23.

COMBINED ACTION OF GROWTH REGULATOR MELAPHEN AND MICRONUTRIENTS ZINC, AND MANGANESE ON ANTIOXIDANT SYSTEM OF POTATO PLANTS

Kirillova I.G., Bychkov I.A.

melaphen, microelements, zinc, manganese, antioxidant enzymes, hydroperoxides, malondialdehyde

Investigated the effect of growth regulator conscientious melaphen (10 mmol / L) and trace elements zinc (ZnSo₄·7H₂O - 2,8 mmol / l) and manganese (KMnO₄ - 0,19 mmol / l) on the activity of antioxidant enzymes and lipid peroxidation products in tubers potatoes. It is shown that the use of individual melaphen had a greater effect on the enzymatic system " peroxidase - polyphenol oxidase ." A substantial reduction in activity of these enzymes in oxidative potato tubers . Against this background, there was the smallest content of malondialdehyde, the end product of lipid peroxidation of membranes. Joint application melaphen and micronutrients zinc and manganese caused increased activity of ascorbateoxidase.

УСТОЙЧИВОСТЬ К ДЕСИКАЦИИ ВИДОВ ПШЕНИЦ, РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ УРОВНЕМ ПЛОИДНОСТИ И ГЕНОМНЫМ СОСТАВОМ

Киселева И.С., Бондаренко О.В., Ермошин А.А., Носова К.С.

ФГАОУ ВПО «Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина»; ул. Мира 19, г. Екатеринбург, 620002, Россия, E-mail: Irina.Kiselyova@usu.ru

пшеница, водный режим, устойчивость к десикации, ПОЛ, СОД

Введение

В условиях заметного изменения погодных и климатических факторов и усиления аридизации вопрос об устойчивости растений к засухе актуален и имеет большую теоретическую и практическую значимость. В мировом земледелии пшеница является важнейшей сельскохозяйственной культурой, что обусловило ее интенсивное изучение, в том числе, засухоустойчивость. Однако способность противостоять обезвоживанию и сохранять высокую продуктивность, в значительной мере, охарактеризована для сортов и генотипов мягкой и твердой пшеницы и, в меньшей степени, для их предковых форм и иных представителей рода. Это обусловило цель данного исследования - выявить анатомо-морфологические и физиолого-биохимические основы устойчивости видов пшениц к обезвоживанию в зависимости уровня ploидности и геномного состава.

Материалы и методы

Объекты исследования – 14 видов рода *Triticum* L. (38 подвидов и разновидностей), различающиеся числом хромосом и геномным набором (табл. 1). Семена для исследования были любезно предоставлены ВНИИР им. Н.И. Вавилова, НИИСХ Юго-Востока, и Красноуфимской селекционной станцией. Растения выращивали на биологической станции УрФУ мелкоделяночным способом.

Таблица 1 - Перечень видов, уровень ploидности, геномный состав

Table 1 - List of species, genome, ploidy

Вид	2n	Геном
<i>Triticum monococcum</i> L.	14 (диплоиды)	A
<i>Triticum dicoccum</i> Schuebl.	28 (тетраплоиды)	AuB
<i>Triticum dicoccoides</i> (Koern.ex Asschers. Et Graebn.)		
<i>Triticum turgidum</i> L.		
<i>Triticum turanicum</i> Jakubz.		
<i>Triticum aetiopicum</i> Jakubz.		
<i>Triticum persicum</i> Vav.ex Zhuk.		
<i>Triticum polonicum</i> L.		
<i>Triticum timopheevii</i> Zhuk.	28 (тетраплоиды)	AbG
<i>Triticum militinae</i> Zhuk. et Miguach.		
<i>Triticum spelta</i> L.	42 (гексаплоиды)	AuBD
<i>Triticum compactum</i> Host		
<i>Triticum aestivum</i> L.		
<i>Triticum sphaerococcum</i> Perc.		

Исследования проводили в течение четырех полевых сезонов 2009 – 2012 гг. Использовали флаговые листья в фазу колошения с 30 растений. Каждый лист – биологическая повторность. С листьев удаляли лишнюю влагу, отрезали верхушку и основание, оставшуюся часть разрезали на равные доли, которые взвешивали, помещали в воду на 2ч для полного насыщения. Половину фрагментов листьев оставляли в воде – контроль, другую подвергали десикации высушиванием в течение 1ч – опыт, (освещенность – 20 клк, $t^{\circ} = +22^{\circ}\text{C}$). Определяли сырую и сухую массу до и после опыта, водоемкость, водный дефицит [1]; ПОЛ, активность СОД и пероксидазы, [2], содержание пролина

по Бэйтсу в модификации [3]. Во все годы показатели определяли для каждого вида. Вычисляли средние значения для групп разного геномного состава.

Результаты и обсуждение

Водоемкость листьев варьировала в разные сезоны, но в группе диплоидов всегда была наименьшей – 67%-75%, у тетраплоидов - 70%-79%, гексаплоидов – 69%-77% (различия между группами по тесту Краскела-Уолиса значимы для $P < 0,05$). В группах с разным геномным набором различия в водоемкости тканей листа также были значимы для уровня $P < 0.05$ и составили для геномов А - 67%-75%, AbG -71%-79%, AuB – 70%-78%, AuBD – 69%-71%. Вероятно, разная водоемкость тканей обусловлена особенностями организации мезофилла разных видов пшениц, толщиной листа, объемом межклетников [4,5].

После подсушивания листьев в течение 1ч определяли водный дефицит. Диапазон изменчивости показателя составил в группах диплоидов, тетраплоидов и гексаплоидов, соответственно, 32%-66%, 20%-51%, 15%-49%. У групп пшениц с разным геномным составом: А – 32%-66%, AbG -25%-68%, AuB – 19%-49%, AuBD – 15%-49%. Все различия между группами значимы для $P < 0.05$. Потеря воды при десикации может быть обусловлена водоудерживающей способностью коллоидов цитоплазмы, количеством и состоянием аквапоринов в тонопласте и плазмалемме, количеством и размерами устьиц.

У всех видов пшеницы число устьиц в единице поверхности на верхней стороне листа было больше, чем на нижней, и у диплоидов больше, чем у аллополиплоидов (табл. 2). Наименьшее количество и размеры устьиц - у видов с геномом AbG. Небольшое количество устьиц отмечено также у мягкой пшеницы, однако они имели крупные размеры.

Таблица 2 - Диапазон изменчивости количества (103/см²) и высоты (мкм) устьиц

Table 2 - The range of stomata number (103/cm²) and height (μm) variability

Показатель	геном			
	2n	4n		6n
	А	AbG	AuB	AuBD
Количество устьиц, верхний эпидермис	7,1-7,2	3,5-6,0	6,2-7,5	5,4-6,5
Количество устьиц, нижний эпидермис	5,5-6,1	3,0-4,2	4,7-6,0	3,0-5,2
Высота устьиц, верхний эпидермис/ нижний эпидермис	36 / 30	27 / 27	34 / 30	35 / 34

В условиях водного дефицита, вызванного десикацией, интенсивность ПОЛ у видов с геномом AuB и AuBD возрастала на 17% и 14%, соответственно, хотя дефицит воды у них был выражен меньше. В тоже время, у видов с геномом А и AbG, уровень водного дефицита которых был большим, интенсивность ПОЛ мало изменялась по сравнению с контролем, что свидетельствует о более высокой устойчивости этих геномов к водному дефициту. Уровень ПОЛ определяется не только силой стрессовых воздействий, но и активностью компонентов антиоксидантной системы растений. Выявлены особенности видов с разным геномным составом по содержанию пролина, активности СОД и гваяколовой пероксидазы в норме и при стрессе, вызванном десикацией. Так, растения с геномом А накапливали наибольшее количество пролина в контроле (90 мкг/г), что в 1.5-2 раза больше, чем у других растений. В условиях десикации концентрация пролина в листьях всех растений увеличивалась на 15%-30%, но все равно у группы А была больше, чем у других в 1,3-1,8 раза. Растения с геномами AuB и AuBD имели высокую исходную активность пероксидазы и увеличивали ее при стрессе в 1,2-1,5 раза, тогда как исходный уровень активности этого фермента у других растений был в 2 раза ниже и при водном стрессе практически не изменялся. Виды с геномом AbG обладали в 1.7- 1.8 раза более высокой активностью СОД в контроле и в 1.3-1.8 раза при десикации.

Заключение

Изучение показателей водного режима и антиоксидантных систем у видов пшениц при стрессе, вызванном десикацией, показало, что растения с разным числом хромосом в ядерном геноме и разным генетическим составом имеют особенности в переживании дефицита воды и адаптации к этому состоянию. Показано, что при десикации водный стресс быстрее развивается у моногеномных видов А и дигеномных диплоидов AbG, однако уровень ПОЛ при стрессе у них растет значительно медленнее, чем у других изученных групп. Вероятно, это обусловлено способностью видов с геномом А накапливать пролин как антиоксидант в значительных количествах, а у видов с геномом AbG – высокой тотальной активностью СОД. Особенности мезоструктуры фотосинтетического аппарата листьев [4,5] и характеристика устьичного аппарата указывают на более ксероформный тип организации мезофилла листа у дигеномных тетраплоидных AbG видов пшениц. Мягкая пшеница (AuBD) в сравнении с дигеномными тетраплоидами AuB имеет меньшее количество устьиц при одинаковых размерах, следовательно, имеет меньшую потенциальную способность к транспирации, что, вероятно, объясняет наименьшие значения потери воды ею при десикации. Полученные сведения могут представлять интерес в связи с тем, что в определенной степени объясняют способность удерживать воду в тканях и противостоять развитию окислительного стресса и характеризуют, таким образом, элементы засухоустойчивости растений.

Литература

1. Борисова Г. Г., Киселева И. С., Некрасова Г. Ф., Фирсов Н. Н., Храмцова Е. В. Физиология растений и микробиология: методические указания к летней полевой практике -Екатеринбург: Изд-во Уральского государственного университета, 2006. - 53 с
2. Некрасова Г. Ф., Малева М. Г. Методы оценки устойчивости растений к стрессовым факторам. - Екатеринбург: Издательство Уральского университета, 2007. - 28 с.
3. 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.
4. Храмцова Е.В., Киселева И.С., Любомудрова Е.В., Малкова Н.А. Оптимизация структуры мезофилла листа аллоплоидных и диплоидных видов пшеницы // Физиология растений. 2003. Т.50. №1. С. 24-33.
5. Храмцова Е.В., Киселева И.С. Роль генома в формировании фототрофных тканей листьев диплоидных и аллоплоидных видов пшеницы // Физиология растений. 2004. Т.51. №2. С. 278-286

TOLERANCE TO DESICCATION IN WHEAT SPECIES, DIFFERENT IN PLOIDY AND GENOME CONTENT

Kiselyova I.S., Bondarenko O.V., Ermoshin A.A., Nosova K.S.

Triticum, water balance, tolerance to desiccation, lipid peroxidation, SOD

Characteristics of water balance and antioxidant system in wheat species, different in ploidy and genome content, were studied in conditions of sufficient water and desiccation. Low level of lipid peroxidation after desiccation was shown in species with genome A and AbG, which were characterised by a high level of proline (A) and SOD (AbG). Common wheat (AuBD) and tetraploid AuB had a smaller losses of water, but were less tolerant to desiccation.

**ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЦИАНОБАКТЕРИИ *NOSTOC LINCKIA*
НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ И НА ФИТОТОКСИЧНОСТЬ
МЕТИЛФОСФОНОВОЙ КИСЛОТЫ**

Коваль Е.В.¹, Огородникова С.Ю.^{1,2}

¹ГОУ ВПО «Вятский государственный гуманитарный университет»,
ул. Красноармейская, 26, г. Киров, 610002, Россия

²ФГБУН Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, ул. Красноармейская, 26, г. Киров, 610002,
Россия, E-mail: svetao_05@mail.ru

метилфосфоновая кислота, ячмень, nostoc linckia, перекисное окисление липидов, каротиноиды

Проблема загрязнения метилфосфонатами актуальна для регионов, где они используются в хозяйственной деятельности. Потенциальными источниками поступления являются предприятия, ведущие синтез данных соединений, а также объекты по уничтожению фосфорорганических веществ.

Метилфосфоновая кислота (МФК) - конечный продукт гидролиза и универсальный маркер фосфорсодержащих отравляющих веществ. МФК устойчива в природных условиях и сохраняется в почве десятилетиями [1], наличие стабильной углерод-фосфорной связи, делает это соединение устойчивым к тепловому воздействию, гидролизу и фотолизу [2]. Известно, что даже в малых концентрациях, МФК оказывает влияние на растения и почвенную микрофлору [3].

Есть данные, что некоторые прокариотические микроорганизмы и некоторые низшие эукариоты способны расщеплять С-Р связь [4]. Ряд цианобактерий (ЦБ) проявляет устойчивость к фосфорорганическим токсикантам [5]. ЦБ обладают наивысшим биотическим потенциалом, в массе развываясь и в почве и в воде. Среди них встречаются как особо стойкие, так и наиболее чувствительные к внешним воздействиям штаммы. Доказано, что некоторые виды ЦБ не только устойчивы к неблагоприятным условиям, но и способны при этом оптимизировать существование растений, обеспечивая их доступными формами азота и переводя токсиканты в недоступные для корней формы [6]. Интересны ЦБ в качестве потенциальных деструкторов загрязнителей или как компонент в системе растение – ЦБ – загрязненный субстрат, повышающий устойчивость растений к токсиканту.

Цель работы - изучить влияние ЦБ *Nostoc linckia* на показатели жизнедеятельности растений ячменя, выращенных в присутствии МФК.

Объектами исследования были растения ячменя сорта Новичок и цианобактерия *N. linckia*. Культура ЦБ для опытов была взята из музея микроорганизмов ВятГСХА.

Семена ячменя проращивали в чашках Петри на дистиллированной воде в присутствии ЦБ и без них. При инокуляции семян *N. linckia* добавляли 2-х месячную культуру ЦБ с титром клеток $4.6 \cdot 10^7$. Семидневные проростки ячменя пересаживали в сосуды на водную среду, в качестве которой использовали питательный раствор Кнопа (контроль), растворы МФК, приготовленные на растворе Кнопа ($5 \cdot 10^{-4}$ М и $1 \cdot 10^{-3}$ М).

Изучали влияние обработки растений ЦБ на функциональный статус растений, выращенных в присутствии МФК, по изменению линейного роста органов растения и по биохимическим показателям: интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) листьев, содержание каротиноидов.

Для изучения влияния МФК на ростовые процессы отбирали по 30 растений каждого варианта, разделяли по органам, измеряли длину корней и побегов.

Интенсивность ПОЛ анализировали по цветной реакции тиобарбитуровой кислоты с малоно-вым диальдегидом (МДА), который образуется в процессе ПОЛ [7].

Содержание пигментов каротиноидов в листьях ячменя определяли спектрофотометрически в ацетоновой вытяжке (440,5 нм) [8].

Изучено влияние МФК на накопление продуктов ПОЛ в листьях ячменя. В варианте с МФК ($5 \cdot 10^{-4}$ М) отмечали снижение активности ПОЛ в листьях на 20% от контрольного уровня (рис. 1). МФК более высокой концентрации ($1 \cdot 10^{-3}$ М) также вызывала снижение активности ПОЛ, но в меньшей степени. Обработка семян ЦБ, напротив, индуцировала процессы ПОЛ в листьях ячменя. Наиболее четко данная особенность проявилось в варианте с растениями, выращенными в присутствии МФК высокой концентрации ($1 \cdot 10^{-3}$ М). Уровень МДА при этом достиг контрольного.

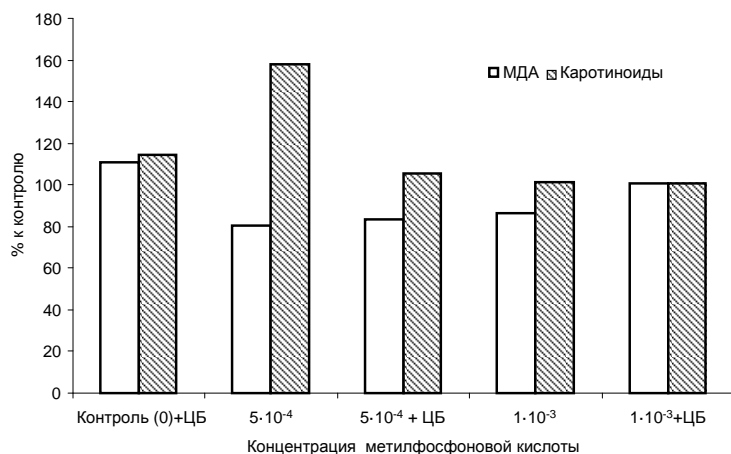


Рисунок 1 - Содержание малонового диальдегида и каротиноидов в листьях ячменя

Figure 1 - Malondialdehyde content and carotenoids in leaves of barley

Каротиноиды – пластидные пигменты, которые выполняют протекторную функцию в клетке, они взаимодействуют с органическими радикалами жирных кислот, действуя при этом в качестве «ловушек» радикалов.

Наряду с активацией процессов ПОЛ, обработка семян ЦБ, индуцировала возрастание содержания каротиноидов в листьях, что свидетельствует о высокой активности окислительных процессов в растительных клетках. Значительное увеличение, в 1,5 раза, уровня каротиноидов в листьях вызывала МФК ($5 \cdot 10^{-4}$ М). Накопление каротиноидов, выполняющих протекторные функции, по-видимому, привело к снижению интенсивности процессов ПОЛ в листьях ячменя, в опыте с МФК ($5 \cdot 10^{-4}$ М). Содержание каротиноидов в остальных вариантах опыта оставалось в пределах контроля.

Рост является интегральным процессом, который отражает степень адаптации растений к условиям среды. При стрессе идет перестройка метаболизма растения, характеризующаяся ингибированием энергоемких анаболических процессов, что, как правило, приводит к торможению роста [9].

Рост является интегральным процессом, который отражает степень адаптации растений к условиям среды. При стрессе идет перестройка метаболизма растения, характеризующаяся ингибированием энергоемких анаболических процессов, что, как правило, приводит к торможению роста [9].

Под влиянием МФК, ЦБ и совместном действии МФК+ЦБ не происходило угнетение роста побегов (табл. 1). В отличие от побегов, корневая система ячменя была более чувствительна к действию МФК и ЦБ. Растения, семена которых были обработаны ЦБ при прорастании, отличались большей длиной корней. Возможно, ростстимулирующий эффект связан с наличием в цианобактериях ауксино- и гиббериллиноподобных веществ. МФК, напротив, вызывала угнетение линейного роста корней. Причем, одинаковое действие оказывала МФК в разных концентрациях. Ранее подобные эффекты мы отмечали на ячмене и других видах растений [3]. Предварительная цианобактериальная инокуляция семян не снимала токсического действия МФК на рост корней. Длина корней опытных растений была в среднем на 30% ниже, чем контрольных.

Было изучено действие предварительной обработки семян ячменя ЦБ *N.linckia* на жизнедеятельность растений и фитотоксичность МФК. Было выявлено токсическое действие МФК на проростки ячменя, что проявилось в резком снижении длины корней и увеличении пигментов-антиоксидантов каротиноидов при воздействии кислоты в низкой концентрации ($5 \cdot 10^{-4}$ моль/л). Предварительная обработка семян ЦБ приводила к увеличению устойчивости растений к действию МФК. Цианобактериальная инокуляция семян вызывала снижение интенсивности окислительных процессов в листьях растений, выращенных в присутствии МФК. ЦБ оказывали ростстимулирующий эффект на корни растений. На основе полученных данных можно сделать вывод о потенциальной возможности ЦБ *N. linckia* оказывать протекторное действие на растения в условиях загрязнения метилфосфоновой кислотой.

Таблица 1 - Влияние метилфосфоновой кислоты (моль/л) и ЦБ *N. linckia* на рост растений ячменя

Table 1 - Methylphosphonic acid effect (mol / l) and a cyanobacterium *N. linckia* on the barley plant growth

Вариант	Длина, % к контролю	
	побег	корень
Контроль (0)+ЦБ	99.12	117.06
МФК ($5 \cdot 10^{-4}$)	106.73	70.61
МФК ($5 \cdot 10^{-4}$)+ЦБ	104.97	72.51
МФК ($1 \cdot 10^{-3}$)	97.48	73.17
МФК($1 \cdot 10^{-3}$) + ЦБ	101.81	71.65

Литература

1. Савельева Е.И., Зенкевич И.Г., Кузнецова Т.А., Радилов А.С., Пшеничная Г.В. Исследование продуктов превращений фосфорорганических отравляющих веществ методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии // Российский химический журнал. 2002. Т. XLVI. № 6. С. 82 - 91.
2. Кононова С.В., Несмеянова М.А. Фосфонаты и их деградация микроорганизмами // Биохимия. 2002. Т. 67. Вып. 2. С. 220 – 233.
3. Огородникова С.Ю., Головки Т.К., Ашихмина Т.Я. Реакции растений на фосфорорганический ксенобиотик – метилфосфоновую кислоту. Сыктывкар: 2004. 24 с.
4. Quinn, J.P., Peden, J.M.M., Dick, R.E.// Appl. Microbiol Biotechnol. 1989. V. 31. P. 283-287.
5. Домрачева Л.И., Кондакова Л.В., Ашихмина Т.Я. Применение тетраэдрально-топографического метода определения дегидрогеназной активности цианобактерий в загрязненных средах // Теоретическая и прикладная экология. 2008. №2. С. 23.
6. Панкратова Е.М., Зяблых Р.Ю., Калинин А.А., Ковина А.Л., Трефилова Л.В. Конструирование микробных культур на основе синезеленой водоросли *Nostoc Paludosum* Kutz // Альгология. 2004. т. 14. №4. С. 445 - 458.
7. Лукаткин А. С. Холодовое повреждение теплолюбивых растений и окислительный стресс. Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2002. 208 с.
8. Шлык А.А. Определение хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев // Биохимические методы в физиологии растений. М.: Наука, 1971. С. 154 – 171.
9. Alexieva V., Ivanov S., Sergiev I., Karanov E. Interaction between stresses // Bulg. J. Plant Physiol. 2003. Special issue. P. 1 – 17.

THE ASSESSMENT OF THE IMPACT OF THE CYANOBACTERIUM NOSTOC LINCKIA ON A VIABILITY OF BARLEY PLANTS AND METHYLPHOSPHONIC ACID PHYTOTOXICITY

Koval E., Ogorodnikova S.Y.

methylphosphonic acid, barley, Nostoc linckia, lipid peroxidation, carotenoids

The cyanobacteria (CB) *Nostoc linckia* and barley plants responses to the action of methylphosphonic acid (MPA) were studied. In the presence of the MPA ($1 \cdot 10^{-3}$ - $1 \cdot 10^{-4}$ M) there was a decrease of activity of lipid peroxidation and an increase in the content of carotenoids in the cells of the CB. Pretreatment of seeds CB increased plant resistance to the action of the MPA.

**АЛЛЕЛОПАТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ *HERACLEUM SOSNOWSKYI* MANDEN,
СОРНЫХ И ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ НА КУЛЬТУРНЫЕ ВИДЫ**

Кондратьев М.Н., Ларикова Ю.С., Бударин С.Н., Клечковская Ю.Б., Паштанова Е.С.

ФГБОУ ВПО «Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия им. К.А. Тимирязева», Тимирязевская ул., 49, г. Москва, 127550, Россия, E-mail: Phys1976@google.com

аллелопатия, аллелохимикалии, ответные реакции, тест-растения

В настоящее время всё в большей степени утверждается мнение, что вымирание растительных видов и сокращение биоразнообразия связано с влиянием деятельности человека. Однако определённое элиминирование растительных видов происходит вследствие естественного отбора, включая механизмы конкуренции и аллелопатии. То есть, в ходе эволюции, как конкуренция, так и аллелопатия, играют важную роль в регулировании видового разнообразия растительных сообществ. Аллелопатические соединения – это вторичные метаболиты растений, которые выделяются из них в окружающую среду с помощью четырех эколого-физиологических процессов: испарения, вымывания, разложения растительных остатков в почве и корневой экссудации (рис. 1).

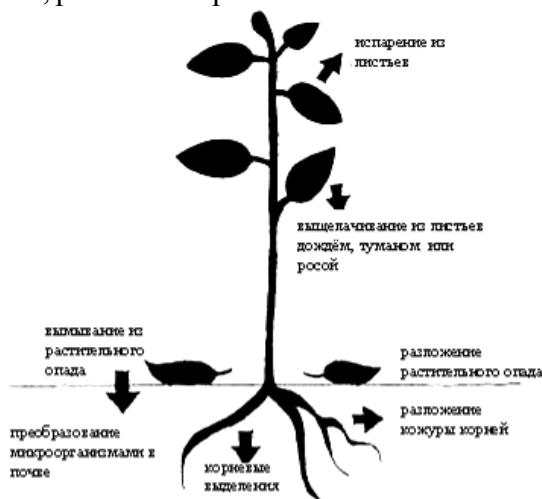


Рисунок 1 - Пути попадания аллелохимикалий в окружающую среду.

Figure 1 - Allelohimicaly pathways to the environment.

Это связано с тем, что аллелопатические эффекторы присутствуют, практически, во всех органах растений: семенах, корнях, листьях, цветках и выделяются в почву и окружающий растения воздух. В неактивной форме они присутствуют в вакуолях или межклеточном пространстве, но могут свободно транспортироваться в клетки или на поверхность листьев и корней для привлечения, защиты или как химические сигналы

[1]. Более того, такие соединения выступают в качестве посредников во взаимодействии растение-растение, растение-микроорганизм, растение-насекомое, и играют важную роль в механизмах адаптации растений и коэволюции растений и насекомых.

Исследования проводились на видах растений, выполняющих различные функции в естественных и агрофитоценозах: борщевике Сосновского (*Heracleum sosnowskyi* Manden) эргазиофитофите с выраженной инвазивной активностью, сорняках - хвоще полевым (*Equisetum arvense* L.), полыни горькой (*Artemisia absinthium*), тысячелистнике обыкновенном (*Achillea millefolium*), лекарственных растениях – зверобое продырявленном (*Hypericum perforatum*), ромашке лекарственной (*Matricaria chamomilla*), душице обыкновенной (*Origanum vulgare*), валериане лекарственной (*Valeriana officinalis*), календуле лекарственной (*Calendula officinalis*), тмине обыкновенном (*Carum carvi*). В качестве тест-растений (растений-мишеней) служили прорастающие семена и проростки пшеницы озимой (*Triticum aestivum*), ячменя (*Hordeum vulgare*), редиса (*Raphanus sativus*), салата (*Lactuca sativa*), щавеля (*Ramex*), гороха посевного (*Pisum sativum*), молочая окаймленного (*Euphorbia marginata*), зайцевхоста яйцевидного (*Lagurus ovatus*). Приёмы воздействия аллелохимикалий из растений-доноров были следующими: 1) совместное проращивание плодов *Heracleum sosnowskyi* и семян тест-растений, 2) проращивание семян тест растений на вытяжках разной концентрации из вегетативных органов растений – доноров аллелохимикалий, 3) опрыскивание надземных органов молодых растений тест-культур вытяжками из листьев борщевика Сосновского.

Совместное проращивание плодов борщевика и семян культурных растений (пшеницы и гороха) при соотношениях между ними 1:5, 5:5, 15:5 не выявило негативного эффекта веществ, содержащихся в плодовой оболочке, на проращивание семян культурных растений. Более того, проращивание зерновок гороха сорта Глориоза активировалось на 35-60%, в зависимости от соотношения. С расширением соотношения между плодами борщевика и семенами овощных растений существенно снижалась всхожесть семян салата, капусты и редиса, в то время как не отмечалось эффекта на проращивание семян щавеля и томата. С расширением соотношения между плодами борщевика Сосновского и семенами лекарственных растений заметно активировалось проращивание семян зверобоя, в то время как проращивание семян тмина и валерьяны ингибировалось на 60-80% (рис. 2).

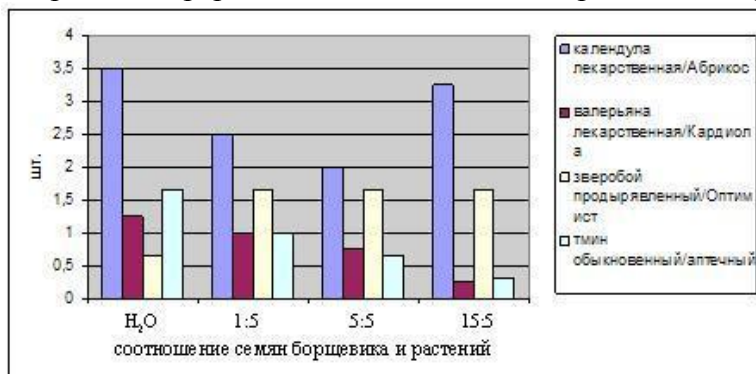


Рисунок 2 - Влияние плодов *Heracleum sosnowskyi* на проращивание семян лекарственных растений

Figure 2 - Effect of fruit *Heracleum sosnowskyi* on seed germination of medicinal plants

Совместное проращивание плодов борщевика и семян декоративных растений практически не отражалось

на проращивании семян амаранта и молочая, но несколько тормозилось проращивание семян гвоздики турецкой.

В другом эксперименте исследовался эффект опрыскивания разбавленным соком (1:1) из растений борщевика Сосновского на молодых растениях редиса (*Raphanus sativus* L.), кресс-салата (*Lepidium sativum* L.) и листового салата (*Lactuca sativa* L.). Опрыскивание соком приводило к снижению интенсивности роста, сырой и сухой массы стеблей и корней, площади листовой поверхности всех тестовых культур в среднем на 10-15%. Результаты определения концентрации клеточного сока и потенциального осмотического давления надземных органов после их опрыскивания разбавленным соком борщевика, показали, что представители *Brassicaceae* - редис и кресс-салат, обладали большим осмотическим давлением (кПа), по сравнению с контролем, соответственно, на 30% и в 2 раза.

В англоязычной научной литературе активно обсуждается возможность использования химических компонентов, входящих в состав аллелохимикалий, в качестве биогербицидов и биопестицидов в связи с отсутствием негативного воздействия с их стороны (в отличие от промышленных гербицидов и пестицидов) на окружающую среду [2]. Мнение определённой части исследователей склоняется к использованию не конкретных веществ, а неочищенных вытяжек из растений, так как многие вторичные соединения, содержащиеся в них и обладающие аллелопатической активностью, имеют несколько изоформ, дополняющих в эффекте на объект друг друга [3].

В этой связи нами было исследовано влияние вытяжек из вегетативных органов *Heracleum sosnowskyi*, *Equisetum arvense*, *Artemisia absinthium*, *Achillea millefolium*, *Matricaria chamomilla*, *Hypericum perforatum* и *Origanum vulgare* на энергию проращивания, всхожесть и линейные параметры органов проростков ряда тест-растений. Было выявлено, что неразбавленный или разбавленный 1:1 и 1:4 сок борщевика однозначно ингибирует проращивание семян и рост проростков растений. Снижались как энергия проращивания семян, так и их всхожесть. Чем мельче были семена тест-растений, тем сильнее проявлялся ингибирующий эффект. Однако при разбавлении сока 1:16, проявляется видовая специфичность ответных реакций у опытных растений. Энергия проращивания, всхожесть семян, линейные параметры проростков пшеницы (*Triticum aestivum*), гороха (*Pisum sativum*), зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum*) существенно возросли, тогда как у остальных исследованных видов угнетающий эффект сохранялся.

Экстракты из надземных органов сорняков проявили значительно больший ингибирующий эффект на проращивание семян тест-растений, хотя и в данных исследованиях проявлялась видовая специфичность в ответных реакциях у проростков *Triticum aestivum* и *Raphanus sativus*. Разбавлен-

ные водные экстракты (1:10, 1:50, 1:100) из всех исследованных сорных растений ингибировали рост, как корней, так и надземных органов проростков тест-растений, причём чётко соблюдалась концентрационная зависимость ингибирования, которое ослабевало по мере увеличения разбавления водной вытяжки. Наиболее высоким процент ингибирования был при использовании вытяжки тысячелистника, причём рост корней ингибировался в большей степени, чем надземных органов. Так, процент ингибирования роста корней, при использовании вытяжки 1:10, составлял в среднем 92% - у редиса и 89% - у пшеницы, тогда как ингибирование роста надземных органов составляло, соответственно, - 66 и 81%. В целом, рост проростков пшеницы (*Triticum*) ингибировался в значительно большей степени, чем проростков редиса (*Brassicaceae*). По силе возрастания ингибирующего эффекта на рост тест-растений сорные растения составили ряд: *Equisetum arvense* ← *Artemisia absinthium* ← *Achillea millefolium*.

Считается [4], что лекарственные растения особенно богаты вторичными соединениями, отдельные компоненты которых используются в медицине. В настоящее время продолжается поиск новых форм с целью расширения коллекции фармакопейных растений. Однако некоторые из них, после прекращения выращивания в промышленных масштабах, перешли в разряд эргазиофитов (например, *Melilotus altissimus* Thuill., *Lavandula spica*) и даже инвазивных видов (например, *Alliaria petiolata*, *Ailanthus altissima* и другие). В этой связи представляется важным выявить наличие аллелопатического эффекта компонентов сока этих растений. Сок, выделенный из надземных органов *Matricaria chamomilla*, *Hypericum perforatum* и *Origanum vulgare*, проверялся в качестве фактора на энергию прорастания и всхожесть семян озимой пшеницы. Наиболее сильный ингибирующий эффект оказывала вытяжка из ромашки лекарственной даже при её разбавлении водой 1:100. Также негативный эффект на энергию прорастания и всхожесть зерновок пшеницы оказывала вытяжка из органов душицы обыкновенной, хотя в более мягкой форме. Вытяжка из листьев зверобоя продырявленного при разбавлении 1:100 активировала энергию прорастания и увеличивала всхожесть зерновок пшеницы. Использование вытяжек, разбавленных 1:50, из всех исследованных лекарственных растений приводило к полной гибели зерновок пшеницы (0 прорастания).

Заключение

Все исследованные виды обладают потенциальной аллелопатической активностью. Эффект аллелохимикалий (ингибиторов) на культурные растения зависит как от вида растения – донора аллелохимикалий, так и вида растения-мишени, на которые они могут действовать в естественных и агрофитоценозах. Ингибирующие эффекты прежде всего проявляются при прорастании семян культурных растений и на стадии проростков.

Литература

1. Chou C.H. Roles of allelopathy in plant biodiversity and sustainable agriculture//Plant science, 1999, 18, 609-636.
2. Opende K., Suresh W. Comparing impacts of plant extracts and pure allelochemicals and implications for pest control//Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources. 2009, 4, №049. 1-30.
3. Weir T.L., Park S-W, Vivanco J.M. Biochemical and physiological mechanisms mediated by allelochemicals//Plant Biology. 2004, 7, 472-479.
4. A.K.M.Mominul I, Kaoto-Noguchi H. Allelopathic Potentiality of Medicinal Plant *Leucas aspera*//Intern. J. of Sustainable Agr.. 2012, 4(1):01-07.

ALLELOPATHIC EFFECT OF HERACLEUM SOSNOWSKYI MANDEN, WEEDS AND MEDICINAL PLANTS ON THE CULTIVATED SPECIES

Kondratiev M.N., Larikova Yu.S., Budarin S.N., Klechkovskaya Yu.B., Pashtanova E.S.

allelopathy, allelochemicals, responses, test-plants

Investigated allelopathic effect of juice from the aerial organs invasive species *Heracleum sosnowskyi*, weed and medicinal plants on cultivated species. Effect on seed germination and seedling growth depended of the degree of dilution of juice plant species donor allelochemicals and type of testing plants. Upon dilution of 1:100 juice in some cases there was an increase of vigor and germination by testing plants.

**ВЛИЯНИЕ СВЕТА РАЗЛИЧНОГО СПЕКТРАЛЬНОГО СОСТАВА НА
УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ ЛЬВИНОГО ЗЕВА К ХОЛОДОВОМУ СТРЕССУ**

Кондратьева В.В., Шелепова О.В., Воронкова Т.В., Шатило В.И., Олехнович Л.С., Енина О.Л.

ФГБУН Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН, г. Москва, Ботаническая ул., 4,
127246, Россия, E-mail: lab-physiol@mail.ru

львиный зев, синий и красный свет, светодиодные панели, салициловая кислота, холодовой стресс

Свет узкополосного спектрального состава, источником которого являются светодиодные панели в сочетании с естественным освещением, существенно повышают урожайность оранжерейных культур, изменяя интенсивность фотосинтеза, рост и усвоение азота [1]. Изменения интенсивности, длины волны и продолжительности освещения могут вызвать экспрессию определенных генов и синтез ряда новых веществ, влияющих на ароматические свойства генеративных органов растений [2]. Существует предположение, что узкоспектральный свет связан с активацией COR генов, инициирующих синтез белков холодового стресса [3, 4]. При этом в трансдукцию генов и аккумуляцию белков вовлекается несколько светозависимых реакций [4], что вызывает существенную корректировку метаболических процессов в растении: меняется гормональный и углеводный статус растительных клеток, проницаемость их мембран, активируется или ингибируется работа отдельных ферментов. Высказывается мнение, что COR гены можно активировать, облучив растения красным (660 нм) и синим (400 нм) светом [5]. Возможно, такая светообработка позволяет растениям подготовиться к переключению метаболических процессов на адаптационный режим. Целью нашей работы было определение влияния досветки синим и красным светом от светодиодных панелей на устойчивость декоративных растений к действию холодового стресса. О степени адаптации растений судили по изменению массы корней и надземных органов, целостности мембран клеток листьев, содержанию моносахаров в клетках их тканей, уровню салициловой кислоты и фотосинтетических пигментов в надземных органах. Опыт проведен в оранжерее отдела защиты растений ГБС РАН в апреле 2013 г.

Материалы и методы

Объектом исследований был выбран низкорослый сорт львиного зева “Floral shower”, часто используемый в открытом грунте при озеленении городов. Перепады суточных температур в осенний и весенний периоды могут вызывать повреждение этих растений, кроме того, не исключены воздействия на них и стрессов антропогенного характера. Планшеты с двухнедельными растениями, выращенными из семян в оранжерейных условиях ($t+18^{\circ}\text{C}$, влажность воздуха 85%), при естественном освещении в течение двух недель дополнительно к дневному свету досвечивали ежедневно с 16 до 20ч синим (СС) и красным (КС) светом от светодиодных панелей. Контролем служили растения выросшие только при естественном освещении. Затем все растения поместили в камеру при $t+2^{\circ}\text{C}$ на 48 часов. После окончания досветки и воздействия низких положительных температур были отобраны пробы для биохимических анализов в 3х повторностях (5 растений каждая). О состоянии мембран клеток судили по общему выходу электролитов и отдельно ионов K^{+} из высечек листьев в бидистиллят. Электропроводность элюата определяли на кондуктометре. Содержание салициловой кислоты (СК) и моносахаров в тканях наземной части растений анализировали по модернизированным в лаборатории методикам [6, 7], содержание хлорофиллов “a” и “b” определяли фотоколориметрическим методом [8].

Результаты и обсуждение

После окончания досветки в варианте КС растения вступили в фазу массовой бутонизации и имели наибольшую массу корней и надземных органов. Выход электролитов из клеток листьев ($57,7 \mu\text{S}$) незначительно превышал таковой у растений контрольного варианта ($57,1 \mu\text{S}$), но потеря ионов калия была меньше, чем в контроле ($7,1 \text{ мкг/мл}$ и $9,0 \text{ мкг/мл}$ соответственно). Суммарное содержание хлорофиллов “а” и “b” на грамм сырого вещества во всех вариантах почти не отличались друг от друга. Однако, уровень СК, фенольного соединения играющего важную роль в механизме адаптации растения к абиотическим и биотическому стрессам [9], у растений в варианте КС был в два раза ниже, чем в контроле и в 2,5 раза ниже, чем в варианте СС. Уровень моносахаров, выполняющих в клетке наряду с энергетической и протекторную функцию, в тканях надземных органов при освещении красным светом был минимальным. В варианте СС после окончания досветки содержание СК и моносахаров в тканях листьев оказалось выше, чем в других вариантах. Однако, общая масса растения была ниже, чем в контроле и варианте КС. Кроме того, при досветке синим светом вырос уровень выхода электролитов из клеток листьев по сравнению с контролем, хотя выход K^+ был близок к контролю.

Воздействие низких положительных температур вызвало неоднозначную реакцию у растений трех вариантов. И в контроле, и в обоих опытных вариантах снизился уровень СК и возросло содержание моносахаров в тканях надземных органов. Однако наиболее устойчивыми были растения в варианте СС. У них возросла масса корней и надземных органов, не изменилось суммарное содержание хлорофиллов “а” и “b”, существенно (в 1,5 раза по сравнению с исходным) снизился выход электролитов из тканей листьев, а потеря ионов K^+ уменьшилась в два раза, что указывает на стабилизацию структуры мембран. Кроме того, в тканях листьев растений варианта СС отмечен наиболее высокий по сравнению с контролем и вариантом КС уровень салициловой кислоты. Ее роль в запуске и регуляции протекторного механизма растений противоречива [9, 10]. Недостаток или избыток СК могут вызвать усиление стрессового воздействия, так как это вещество контролирует уровень активных форм кислорода (АФК), негативно влияющих на клеточные мембраны. СК является составной частью каскадных преобразований, приводящих к экспрессии генов синтеза ферментов антиоксидантной защиты. В варианте КС уровень СК мало изменялся по сравнению с исходным, хотя содержание моносахаров возросло почти в два раза. Но в этом варианте повысилась текучесть мембран, а выход ионов K^+ возрос более чем в три раза. Однако, после прекращения действия холодового стресса растения в вариантах КС и СС быстро восстановились, масса надземных органов, корней и габитус растений почти не изменились. Тогда как у контрольных растений, несмотря на высокий уровень моносахаров, в два раза снизилась масса корней и надземных органов, существенно вырос выход электролитов и ионов K^+ . Восстановление растений после стресса шло медленно и декоративные оценки их цветения были ниже, чем в вариантах после досветки синим и красным светом. Возможно, свет различного спектрального состава включал разные пути активации протекторных механизмов. Триггерную функцию в этой активации могут выполнять и СК и АФК, а их сигнальные пути частично перекрываются. Формируется комплекс информационной сети с антагонистическими и синергическими звеньями [9]. Возможно, в варианте СС салициловая кислота способствовала быстрому переключению метаболических процессов на адаптационный режим, а при досветке красным светом этот механизм мог включаться после выброса АФК и экспрессия защитных генов осуществлялась СК-независимым путем.

В итоге низкорослые растения львиного зева сорта *Floral shower*, получившие перед холодовым стрессом в течение двух недель досветку синим и красным светом от светодиодных панелей меньше повреждались, обильно цвели, быстрее восстановились после воздействия холода, чем контрольные растения.

Литература

1. Margit Olle. The effect of light emitting diode lighting on greenhouse plant growth and quality. / Margit Olle, Akvilė Viršilė. // Agricultural and food science. – 2013 – V. 22 – P. 223-234.
2. Tomas A. Light modulation of volatile organic compounds from petunia flowers and select fruits. / Tomas A. Colquhoun, Michael L. Schwieterman, Jessica L. Gilbert, Elizabeth A. Jaworski, Kelly M. Langer, Correy R. Jones, Gabrielle V. Rushing, Tia M. Hunter, James Olmstead, David G. Clark, Kevin M. Folta. // Postharvest Biology and Technology. – 2013 – V. 86 – P. 37-44.
3. Crosatti C. Harden and chloroplast to protect the plant. / Crosatti C., Rizza F., et al. // Physiologia plantarum – 2013 – V. 147 (1) – P. 55-63
4. Crosatti C. The accumulation of a cold-regulated chloroplastic protein is light – dependent. / Cristina Crosatti, Chiara Soncini, A. Michele Stanca, Luigi Cattivelli. // Planta – 1995 – P. 458-463.
5. J. Claude Kader. Light and hormones in cold response. / Jean Claude Kader, Michel Delney. // Botanical research – Academic Press, 2011. – V. 49 – 300 p.
6. Шелепова О. В. Физиолого-биохимические аспекты длительного воздействия на растения мяты света неизменного спектрального состава. / Шелепова О.В., Кондратьева В.В., Воронкова Т.В., Олехнович Л.С., Енина О.Л. // Бюллетень Гл. бот. сада. РАН – 2012 - № 2 – С. 68-73.
7. Воронкова Т.В., Шелепова О.В. Патент 2406293 RU МПК А01G 7/00 2006/01. Способ определения содержания водорастворимых углеводов и крахмала из одной навески.
8. Lichtenthaler W., Wellburn A.R.. Determinations of total carotenoids and chlorophylls "a" and "b" of leaf extracts in different solvents. // Biochemical Society Transactions. – 1983. – V. 603. – P. 591-592.
9. Yuan S. Role of salicylic acid in plant a biotic stress /Shu Yoan, Hong-Hui Lin // Z. Naturforsch C. – 2008, May-Jun – V. 5-6 – P. 313-320.
10. T. Janda. Role of salicylic acid in the induction of a biotic stress tolerance. / T. Janda, E. Horváth, G. Szalai, E. PáLdi // Biomedical and life Sciences. Salicylic Acid: A Plant Hormone – 2007 – P. 91-150. DOI: 10.1007/1-4020-5184-0_5.

THE EFFECT OF DIFFERENT SPECTRAL LIGHT ON SNAPDRAGON PLANT RESISTANCE TO COLD STRESS

Kondrat'eva V.V., Shelepova O.V., Voronkova T.V., Shatilo V.I., Olekhnovich L.S., Enina O.L.

snapdragon; blue light, red light, LED panel, salicylic acid, cold stress

The influence of additional to daily light irradiation with spectral blue light (BL 400 nm) or red light (RL 660 nm) on snapdragons plants 'Floral shower' resistance to cold stress was investigated. Both RL and BL were shown to induce more rapid rehabilitation from cold stress compared to control. The role of salicylic acid in plant adaptation to cold stress is discussed.

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРНОГО РЕЖИМА НА ПИГМЕНТНЫЙ СПЕКТР И ЛИПОКСИГЕНАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ

(*TRITICUM AESTIVUM* L.) СОРТА ВОЛОДАРКА

Косаковская И.В.¹, Бабенко Л.М.¹, Скатерная Т.Д.²

¹Институт ботаники им. Н. Г. Холодного НАН Украины, ул. Терещенковская, 2, 01601,
г. Киев, Украина, E-mail: lilia.babenko@gmail.com

²Институт биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины ул. Мурманская, 1, г. Киев,
02660, Украина

Triticum aestivum, пигменты, липоксигеназа, температура, устойчивость

Введение

Определяющим фактором роста, развития и урожайности аграрных культур является температурный режим. Отклонения от обычной для вида температуры вызывает дестабилизацию метаболизма. Спектр фотосинтетических пигментов, динамика накопления их в растении влияют на продуктивности аграрных культур [1]. Соотношение хлорофиллов а/в при стрессовых условиях используется в качестве маркера устойчивости [2]. В формировании адаптивных реакций важная роль принадлежит физиологически активным (сигнальным) продуктам катаболизма, в числе которых фермент липоксигеназа (ЛОГ) [3]. Активность ЛОГ рассматривается в качестве биологического маркера физиологического состояния растения [4]. Цель настоящего исследования состояла в анализе реакций 7-ми и 14-дневных проростков морозоустойчивого сорта озимой пшеницы Володарка на температурные стрессы для выяснения возможного участия пигментного комплекса и липоксигеназы в формировании устойчивости к температурному режиму.

Материалы и методы

Сорт *Triticum aestivum* L. Володарка принадлежит к короткостеблевым сортам интенсивного типа. Экологически пластичен, морозоустойчив. Стандарт для зоны Лесостепи и Полесья Украины [1]. Откалиброванные семена стерилизовали, переносили в чашки Петри на увлажненную фильтровальную бумагу и оставляли для прорастания при температуре +24°C, плотности фотосинтетического протонного потока 110 мкмоль/м² x сек. (фотопериод 16:8). Через 24ч проростки пересаживали в горшки на минеральный субстрат фирмы «Grodan» (Украина), температура и режим освещения не изменялись. Для создания теплового и холодового стрессов 7-ми и 14-дневные проростки подвергали действию температур +40°C и +4°C в течение двух часов. Пигменты выделяли, используя фильтры Шотта и экстракцию ацетоном. Измерения проводили на спектрофотометре ($\lambda=662, 644$ и $440,5$ нм). Содержание пигментов определяли согласно формуле Хольм-Веттштейна, количество пигментов в образце (мг/г сырого вещества) рассчитывали по формуле: $A=C \cdot V/N \cdot 1000$, где C – концентрация пигментов (мг/л), V – объем экстракта (мл); N – навеска (г) [5]. Для выделения липоксигеназы надземную часть и корни проростков гомогенизировали в охлажденном до +4°C 0,1 М фосфатном буфере (рН 6,3), содержащем 2 мМ ФМСФ, 0,04% натрий метабисульфит (вес/объем). Гомогенат центрифугировали, супернатант использовали для определения активности ЛОГ. Стационарную скорость липоксигеназного катализа определяли спектрофотометрически по кинетике оптического поглощения при $\lambda=235$ нм, которая соответствует максимуму поглощения сопряженного диенового хромофора в молекуле гидропероксида линолевой кислоты, молярный коэффициент экстинкции которого составлял 23000 М⁻¹·см⁻¹ [6]. Стандартная реакционная смесь объемом 2.5 мл содержала: натрий-фосфатный буферный раствор (0.1М, рН 7.0) или натрий-фосфатный буферный раствор (0.1М, рН 6.0) или натрий-фосфатный буферный раствор (0.1М, рН 6.5), 0.02% луброл РХ (вес/объем), 100 мкМ линолевую кислоту. Реакцию инициировали добавлением 20–100 мкл раствора фермен-

та (концентрация белка 0.5-1.5 мг/мл) и проводили при $25 \pm 0,10$ С. Опыты проводили в двух биологических и трех аналитических повторностях. Для статистической обработки результатов использовали программу “Excel 2002”, “Origin 6.0”. Достоверность различия оценивали по критерию Стьюдента, используя 5% уровень значения ($P \leq 0,05$).

Результаты и обсуждение

В надземной части проростков выявлено две изоформы 9-ЛОГ: ЛОГ–1 (рН 7.0) и ЛОГ–2 (рН 6.0), в корнях – одну 9-ЛОГ (рН 6,5). В контрольных условиях активность 9-ЛОГ–1 и 9-ЛОГ–2 у 7–дневных проростков была выше, чем у 14–дневных. Активность корневой 9-ЛОГ (рН 6.5), напротив, уменьшалась. После теплового стресса активность всех изоформ ЛОГ увеличивалась. Значительный рост зафиксирован для 9-ЛОГ–2 из надземной части 7–дневных и 9-ЛОГ из корней 14–дневных проростков (табл. 1).

Таблица 1 – Активность изоформ липоксигеназы, выделенной из надземной части (9-ЛОГ–1, 9-ЛОГ–2) и корней (9-ЛОГ) проростков озимой пшеницы сорта Володарка (мкМ гидропероксида линолевой кислоты/мин·мкг белка)

Table 1 - Activity of lipoxygenase isoforms isolated from leaves (9-LOK–1, 9-LOK–2) and roots (9-LOK) of winter wheat cv. Volodarka seedlings (mkM of linoleic acid hydroperoxide/min·mkg protein)

Образец	9-ЛОГ–1	%	9-ЛОГ–2	%	9-ЛОГ	%
Контроль (7дней)	327,03±16,05	100	48,72±8,45	100	61,07±6,11	100
+4°C, 2 ч.	298,01±11,23	91	64,48±7,07	132	59,50±5,45	97
+40°C, 2 ч.	379,12±14,13	115	115,17±7,21	236	102,44±5,22	167
Контроль (14дней)	146,87±19,14	100	322,01±5,22	100	28,91±6,34	100
+4°C, 2 ч.	177,63±13,02	120	354,12±4,24	109	23,66±3,08	82
+40°C, 2 ч.	211,58±14,56	144	404,88±3,15	125	84,03±4,72	290

Выявленные изменения в активности ЛОГ после температурных стрессов носили специфический характер. Рост активности изоформ ЛОГ из надземной части и корней 7–дневных проростков и корней 14–дневных после теплового стресса свидетельствовал о раздражающем эффекте высокой температуры. Изменения в активности ЛОГ после холодого стресса у морозоустойчивого сорта Володарка были значительно менее выраженными. Рост активности ЛОГ в корнях и надземной части указывает на привлечение продуктов липоксигеназного каскада к процессам формирования защитных и стабилизационных механизмов во время действия высокой температуры. У 7–дневных проростков количество хлорофилла а после холодого стресса уменьшалось, тогда как тепловой стресс вызывал увеличение уровня хлорофилла b и уменьшение каротиноидов. Соотношение хлорофиллы а+b/каротиноиды возрастало после теплового стресса с 10,9 до 18,5. У 14–дневных проростков холодого стресс вызывал увеличение количества хлорофилла а, соотношение хлорофиллов а/b увеличивалось с 2,1 до 2,9, в тоже время уменьшалось содержание хлорофилла b и каротиноидов. Наиболее выразительные изменения, зафиксированные после холодого стресса для соотношения хлорофиллы а+b/каротиноиды. Тепловой стресс сопровождался увеличением количества каротиноидов и уменьшением соотношения хлорофиллы а+b/каротиноиды с 8,3 до 6,8. Увеличение величины соотношения хлорофиллов после холодого стресса коррелирует с признаком морозоустойчивости сорта Володарка. (табл. 2).

Таблица 2 - Содержание пигментов в надземной части проростков озимой пшеницы сорта Володарка (мг/г сырого вещества)

Table 2 - Pigments level in leaves of winter wheat cv. Volodarka seedlings (mg/g fresh weight)

Контроль 7 дней	0.645±0.050	0.298±0.032	0.086±0.011	2.164	0.943	10.965
+40С, 2ч.	0.614±0.052	0.302±0.042	0.092±0.011	2.033	0.916	9.957
+40oC, 2ч.	0.657±0.041	0.362±0.029	0.055±0.013	1.815	1.019	18.527
Контроль 14 дней	0.787±0.048	0.369±0.051	0.139±0.012	2.133	1.156	8.317
+40С, 2 ч.	0.856±0.045	0.288±0.032	0.126±0.027	2.972	1.144	9.079
+40oC, 2ч.	0.774±0.050	0.331±0.042	0.163±0.028	2.338	1.105	6.779

Заключение

В результате проведенного исследования выявлена корреляция между признаком морозоустойчивости озимой пшеницы сорта Володарка и особенностями реакций пигментного комплекса, и активности липоксигеназы на действие температурных стрессов. Увеличение количества хлорофилла а, соотношений хлорофиллов а/б и хлорофиллы а+б/каротиноиды после холодового стресса указывают на участие хлорофилла а в формировании устойчивости сорта к действию низкой температуры. Рост активности изоформ липоксигеназы после теплового стресса можно рассматривать, как индикатор экологической пластичности сорта. Выявленные изменения в липоксигеназной активности, спектре и соотношении фотосинтетических пигментов рассматриваются нами как компоненты адаптации к действию температурных стрессов, обеспечивающие кратковременную защиту, а в дальнейшем способные влиять на формирование механизмов специализированной адаптации.

Литература

1. Моргун В.В., Санін Є.В., Швартау В.В. Клуб 100 центнерів. – К.: Логос, 2008. – 87 с.
2. Андрианова Ю.Е., Тарвчевский И.А. Хлорофилл и продуктивность растений. – М.: Наука, 2000. – 135 с.
3. Porta H., Rocha-Sosa M. Plant lipoxygenases. Physiological and molecular features // Plant Physiol. – 2002. – 130, № 1. – P.15–21.
4. Тарчешкий И.А. Сигнальные системы клеток растений. – М.: Наука, – 2002. – 294с.
5. Мусієнко М.М., Паршикова Т.В., Славний П.С. Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин. – К.: Фітосоціоцентр, 2001, – 201с.
6. Gibtan M., Vanderberger B. Product yield on oxygenation of linoleate by soybean lipoxygenase: the value of the molar extinction coefficient in the spectrophotometric assay // Anal. Biochem. – 1987. – 163, № 2. – P. 343–349.

EFFECT OF TEMPERATURE ON THE PIGMENT SPECTRUM AND LIPOXYGENASE ACTIVITY OF WINTER WHEAT (*TRITICUM AESTIVUM* L.) CV. VOLODARKA

Kosakovskaya I.V., Babenko L.M., Skaternya T.

Triticum aestivum L., pigments, lipoxygenase, temperature, resistance

The study showed a correlation between frost-resistant of winter wheat cv. Volodarka and reactions of pigment complex and lipoxygenase activity to temperature stresses. Increasing of chlorophyll a amount, chlorophyll a/b and chlorophyll a+b/carotenoids after cold stress indicates the participation of chlorophyll a in resistance to low temperature. Increased of lipoxygenase activity after heat stress can be regarded as an indicator of ecological plasticity of cv. Volodarka.

**АДАПТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ФОТОСИНТЕЗА *ZOSTERA MARINA* L.
ПРИ ГРАДИЕНТНОМ СНИЖЕНИИ ИНТЕНСИВНОСТИ СВЕТА**

Кособрюхов А.А.¹, Стародубцева А.А.², Марковская Е.Ф.²

¹ФГБУН Институт фундаментальных проблем биологии РАН, ул. Институтская, 2,
г. Пущино Московской обл., 142290, Россия, E-mail: kosobr@rambler.ru

²ФГБОУ ВПО «Петрозаводский государственный университет»,
г. Петрозаводск, пр. Ленина 33, E-mail: volev10@mail.ru

Zostera marina L., скорость фотосинтеза, активность РБФК/О, скорость электронного транспорта, утилизация триозофосфатов, хлорофилл *a* и *b*, светособирающий комплекс

Введение

Широкое распространение zostеры по миру и ее высокий уровень биологической продуктивности, соизмеримый во всех климатических зонах, привлекает внимание исследователей и свидетельствует о высоком уровне пластичности [1, 2, 3].

Имеющиеся в литературе данные касаются изучения структурно-функциональных характеристик zostеры при различных условиях внешней среды и, прежде всего, действия различного уровня интенсивности света, вызванного различной глубиной произрастания. Так, исследование ростовых, продукционных и фотосинтетических характеристик растений, произрастающих на глубине 1,3 м и 5,5 м показало, что скорость фотосинтеза при световом насыщении, темное дыхание, содержание хлорофилла и отношение хлорофилл *a/v*, а также плотность и площадь листьев не изменялись через две недели при кратковременных изменениях интенсивности света у растений, произрастающих на небольшой глубине [4]. При низких уровнях интенсивности света (34 и 11%) наблюдалось снижение максимальной скорости электронного транспорта и интенсивности процесса при световом насыщении [5]. В работе [6] содержание хлорофилла, эффективность фотосинтеза и максимальный квантовый выход (F_v/F_m) трансплантатов zostеры были значительно выше у образцов взятых на глубине 1,5 м и 2,5 м. по сравнению с 0,5 м. Размер растений, биомасса и продуктивность листьев также были выше в глубоком месте.

Таким образом, в той или иной мере, выяснены общие закономерности ростовых процессов, активности отдельных звеньев фотосинтетического аппарата растений, произрастающих на различной глубине и, соответственно, при различных уровнях интенсивности света. Однако вопросы, связанные с биохимическими аспектами функционирования фотосинтетического аппарата растений произрастающих на различной глубине или подвергающихся периодическому изменению глубины погружения и, в результате, уровню интенсивности света остаются недостаточно изученными. В условиях приливно-отливной зоны Белого моря изменение глубины произрастания растений (прилив-отлив) происходит в пределах 1,5-1,9 м с периодом около 12 часов. По имеющимся данным, в сопоставимых условиях [7], около 80 % ФАР задерживается верхним метровым слоем воды и, в результате, фотосинтетический аппарат должен обладать достаточной пластичностью для адаптации к меняющимся уровням интенсивности света.

В этой связи представлялось важным выяснение механизмов, обеспечивающих произрастание zostеры на краю ареала, на приливно-отливной зоне. В задачу настоящей работы входило исследование структурно-функциональных показателей фотосинтетического аппарата - содержания пигментов, газообмена zostеры морской, произрастающей на различной глубине, на литорали.

Материалы и методы

Объектом исследований служили растения zostеры морской (*Zostera marina* L.), произрастающей в естественных условиях приливно-отливной зоны Белого моря. Образцы расте-

ний (кусочки сформировавшегося побега с 2-3 листьями) отбирали, соответственно, с поверхности воды, глубины 10-15 см и 35-40 см., помещали во влажную камеру и сразу переносили на берег к месту измерения. Измерение скорости газообмена проводили с помощью переносного газоанализатора LCPro+ фирмы ADC BioScientific Ltd (Великобритания) в естественных условиях с 11 до 14ч при естественной интенсивности света 400-450 мкмоль фотон м⁻²с⁻¹, температуре воздуха 22-25оС. Световые кривые строили путем повышения интенсивности светового потока от искусственного источника света в пределах 0–1200 мкмоль фотон м⁻²с⁻¹. Углекислотные зависимости скорости CO₂ газообмена отдельного листа строили изменяя концентрацию CO₂ в воздухе, подаваемом в ассимиляционную камеру газоанализатора в пределах 0-1600 мкмоль CO₂ моль⁻¹ при насыщающей интенсивности света. Содержание пигментов определяли в 4-5 образцах, взятых у растений с каждой экспериментальной площади. Вычисляли концентрацию хлорофиллов а и b. Измерения проводили в трех биологических и трех аналитических повторностях. Достоверность результатов оценивали с помощью t-критерия Стьюдента при P = 0,95.

Результаты и обсуждение

Растения zostеры, произрастающие на разной глубине различались по параметрам световой кривой фотосинтеза. Образцы взятые с поверхности воды и, в результате, находящиеся в течение 30-40 мин. в условиях естественной освещенности, имели самые высокие значения скорости фотосинтеза при световом насыщении – $16,8 \pm 1,7$ мкмоль CO₂ м⁻² сек⁻¹. Уже на глубине 10-15 см фотосинтез снижался до $10,8 \pm 1,4$ мкмоль CO₂ м⁻² сек⁻¹. Дальнейшее увеличение глубины взятия образцов до 35-40 см незначительно сказывалось на скорости фотосинтеза ($8,3 \pm 0,8$ мкмоль CO₂ м⁻² сек⁻¹). Полученные результаты показывают, что большее изменение активности фотосинтетического аппарата растений при насыщающей интенсивности света происходит при изменении условий взятия образцов – с поверхности воды или полностью погруженного растения. Скорость темнового дыхания, квантовая эффективность фотосинтеза также снижались с увеличением глубины взятия образцов. Однако характер изменений отличался от полученных данных для фотосинтеза. Скорость дыхания и эффективность фотосинтеза снижались незначительно у растений, взятых с глубины 10-15 см, по сравнению с образцами с поверхности, но уже на глубине 35-40 см. имело место снижение скорости дыхания и квантовой эффективности фотосинтеза. Таким образом, приспособление растений к условиям произрастания – воздушно-водной среде, глубине взятия образцов, происходило за счет изменения различных параметров световой кривой фотосинтеза, скорости дыхательного газообмена.

Для более детального выяснения активности отдельных звеньев работы фотосинтетического аппарата использовали анализ углекислотных кривых по модели Фаркьюхара и др.[8]. Повышение концентрации CO₂ приводило к повышению скорости фотосинтеза zostеры. По сравнению с результатами при естественной концентрации CO₂ скорость фотосинтеза у растений на осушке, увеличилась в 3-4 раза, взятых с глубины 10-15 см в 2-1,5 раза, а с глубины 30-40 см – в 3-4 раза. Наблюдаемые изменения активности фотосинтетического аппарата растений при повышенной концентрации CO₂ – снижение скорости фотосинтеза у образцов из воды, были обусловлены изменением скорости различных звеньев реакции карбоксилирования. У образцов, взятых на глубине 10-15 и 35-40 см, отмечены высокие значения активности РБФК/О. С глубиной наблюдалось снижение эффективности карбоксилирования (ЭК) (от $5,4 \pm 0,3$ до $0,7 \pm 0,3$). Скорость электронного транспорта также резко снижалась у растений в воде по сравнению с воздушно-водной средой и не изменялась в диапазоне 15-40 см. Напротив, скорость утилизации триозофосфатов снижалась при увеличении глубины от 15 до 40 см.

Таким образом, растения, произрастающие в верхней зоне литорали на различной глубине, и подвергающиеся периодическому изменению уровня интенсивности света вследствие прилива - отлива, формируют фотосинтетический аппарат различающийся по своим функциональным характеристикам. Это связано как с изменениями активности световых и

темновых реакций фотосинтеза, так и структурным состоянием фотосинтетического аппарата - изменением содержания пигментов. В листьях zostеры содержание хлорофиллов а и в снижалось при отборе проб из моря, по сравнению с образцами, находящимися на поверхности воды. При увеличении глубины наблюдалось снижение отношения хлорофиллов а/в, что связано с увеличением доли Chlb как компонента светособирающего комплекса в условиях затенения.

Заключение

Анализ полученных результатов и данные литературы показывает, что произрастание zostеры на различных глубинах в условиях приливно-отливной зоны связано со способностью вида к структурно-функциональным перестройкам фотосинтетического аппарата и достаточно эффективном использовании растением света различной интенсивности. Zostera обладает уникальной функциональной пластичностью, в реализацию которой включены все структурные и функциональные особенности фотосинтетического аппарата, что обеспечивает ее широкую эврибионтность, которая сопровождается высокими значениями продуктивности во всех точках ее ареала.

Литература

1. Вехов В. Н. Зостера морская (*Zostera marina* L.) Белого моря. М.: Изд-во Моск. гос. ун-та, 1992. 143 с.
2. Duarte C. M. Seagrass biomass and production: a reassessment C.M. Duarte, C.L. Chiscano // *Aquatic Botany*. 1999. V. 65. P. 159-174.
3. Holmer M., Baden S., Bostrom C., Moksnes P. Regional variation in eelgrass morphology, production and stable sulfur isotopic composition along Baltic Sea and Skagerrak coasts // *Aquatic Botany*. 2009. V. 91. № 4. P. 303-310.
4. Dennison W.C., Alberte R.S. Photosynthetic responses of *Zostera marina* L. (Eelgrass) to in situ manipulations of light intensity // *Oecologia*. 1982. V. 55. № 2. P. 137-144.
5. Ochieng C.A., Short F.T., Walker D.I. Photosynthetic and morphological responses of eelgrass (*Zostera marina* L.) to gradient of light conditions // *J. of experimental marine biology and ecology*. 2010. V. 382. № 2. P. 117-124.
6. Li W.T., Kim S.H., Kim J.W., Kim J.H., Lee K.S. An examination of photoacclimatory responses of *Zostera marina* transplants along a depth gradient for transplant-site selection in a disturbed estuary // *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 2013. V. 118. P. 72-79.
7. Макаров М. В., Рыжик И. В., Воскобойников Г. М., Матишов Г. Г. Влияние глубины произрастания на морфофизиологические показатели *Fucus vesiculosus* L. Баренцева моря. // Доклады академии наук. 2010. Т. 430. №3. С. 427-429.
8. Farquhar, G.D., von Caemmerer, S., Berry, J.A., A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ plants // *Planta*. 1980. V. 149. № 1. P. 78-90.

ADAPTIVE CHANGES OF ZOSTERA MARINA L. PHOTOSYNTHESIS TO A GRADIENT OF LIGHT CONDITION

Kosobryukhov A.A., Starodubtseva A.A., Markovskaya E.F.

Zostera marina L. rate of photosynthesis, activity of RuBPCO, rate of electron transport, triose phosphate utilization, chlorophyll a and b, light harvesting complex

Photosynthetic responses of the eelgrass *Zostera marina* L was investigated to identify mechanisms that prolong its survival during periods of low light and permit its subsequent recovery. The chlorophyll content, photosynthesis, rate of electron transport, triose phosphate utilization were higher at the shallow site as compared to deep site. We also tested whether the responses were consistent in plants growing at different depths.

**УВЕЛИЧЕНИЕ ТЕПЛОУСТОЙЧИВОСТИ КОРНЕЙ ПШЕНИЦЫ
ПРИ ЧАСТИЧНОЙ ЗАМЕНЕ НИТРАТА В СРЕДЕ НА АММОНИЙ**

Ктиторова И.Н., Скобелева О.В.

ГНУ Агрофизический научно-исследовательский институт РАСХН,
Гражданский проспект, 14, г. С.-Петербург, 195220, Россия, E-mail: ktitorov@mail.ioffe.ru*Triticum aestivum*, тепловой стресс, рост корней, продольная и поперечная растяжимость, гидравлическая проводимость, осмотическое давление, азотное питание**Введение**

Повышение температуры почвы является одним из факторов глобального изменения климата, ограничивающих урожайность сельскохозяйственных культур. В связи с этим, исследование реакции корней растений на тепловой стресс представляет как научный, так и практический интерес. Особенности метаболизма растений при нитратном и аммонийном питании во многом определяют их способность к адаптации к тем или иным факторам среды [1]. Есть основания полагать, что устойчивость растений к тепловому стрессу может быть модифицирована подбором оптимального соотношения используемых форм азота. Целью настоящей работы было выявление причин торможения роста корней пшеницы при тепловом стрессе, и анализ возможности снижения уровня повреждения корней при тепловом стрессе за счет изменения условий азотного питания.

Материалы и методы

Объектами исследования были 4-7-дневные проростки пшеницы сорта Ленинградка, которые выращивали на пористых пластинах, погруженных либо в раствор Кнопа, содержащий 10мМ NO_3^- (нитратное питание), либо в модифицированный раствор Кнопа, содержащий 5мМ NH_4NO_3 (нитрат-аммонийное питание). Тепловой стресс вызывали 10-минутной экспозицией корней при $t=40-42^\circ\text{C}$. Регистрировали темпы роста корней и побегов в первые сут. после теплового стресса и биофизические параметры зон роста корней, которые являются чувствительными индикаторами уровня стресса в корнях [2]. Продольную растяжимость корней в зоне роста (δl) рассчитывали по изменению длины односантиметровых кончиков корней при полной потере тургора, вызванной замораживанием-оттаиванием [2]. Внутрикорневое осмотическое давление (Π_i) определяли в микропробах клеточного сока на криоосмометре [2]. Гидравлическую проводимость мембран ризодермы (L_p) и поперечную растяжимость корней в зонах роста ($\delta D/D$) измеряли с помощью датчика малых перемещений, регистрируя изменения диаметра корня, лежащего в проточной кювете с раствором, в ответ на изменение наружного осмотического давления ($\Delta\Pi_o$) [2]. L_p рассчитывали методом “начальных потоков” по начальной скорости изменения диаметра корня, $\delta D/D$ - по стационарному значению изменения диаметра корня в ответ на $\Delta\Pi_o$ [2]. В каждом опыте было по 3–5 биологических повторностей. На графиках представлены средние арифметические значения параметров и их доверительные интервалы при 95%-ном уровне вероятности по t-критерию.

Результаты и обсуждение

При выращивании проростков на нитратном питании 10-минутный прогрев корней при $40-42^\circ\text{C}$ приводил к некоторому снижению роста побегов и резкому торможению роста корней в первые сут. наблюдения (рис.1). Торможение роста корней было обусловлено снижением δl (рис.1) и сопровождалось тенденцией к повышению Π_i (данные не показаны), которое часто является следствием торможения роста корней [2]. Увеличение параметров L_p и $\delta D/D$, как мы показали ранее, указывает на состояние сильного стресса в зоне роста корней [2].

Выращивание проростков на нитрат-аммонийном питании повышало их устойчивость к тепловому стрессу, что проявлялось в увеличении темпа роста корней и их продольной растяжимости, а также в снижении показателей сильного стресса- увеличенных значений L_p и $\delta D/D$ через сут. после действия стрессора (рис.1).

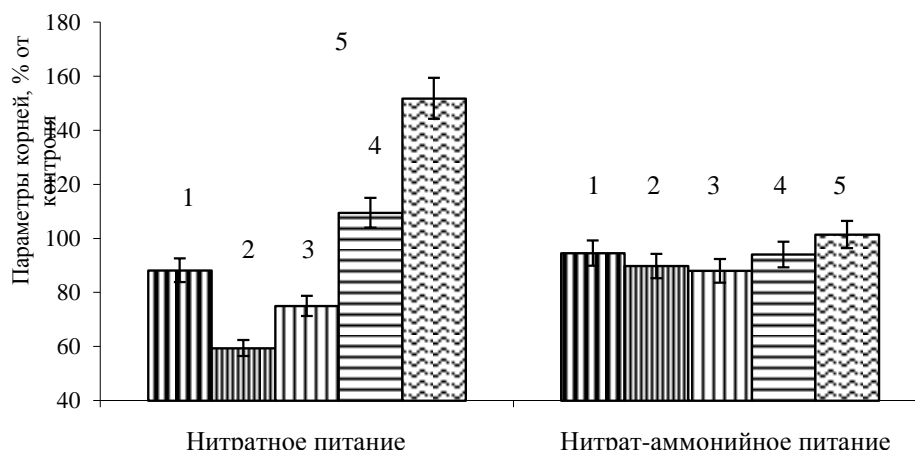


Рисунок 1 - Влияние условий азотного питания на рост и биофизические параметры корней пшеницы в первые сут. после теплового стресса. 1, 2 – скорость роста побегов (1) и корней (2); 3 – δl ; 4 – $\delta D/D$; 5 – L_p . Данные представлены в % от контроля (нитратное питание, без стресса)

Figure 1 - The influence of nitrogen nutrition on growth and biophysical parameters of wheat roots on the first day after heat stress. 1,2 –elongation rate of shoots (1) and roots (2); 3- δl ; 4 – $\delta D/D$; 5 – L_p . The results are expressed as percentage of the control level (non-stressed seedlings in nitrate-medium)

Данные рис.2 показывают, при нитрат-аммонийном питании параметры L_p , $\delta D/D$ и δl не подвергались на ранней фазе стресса тех резких изменений, которые происходили при нитратном питании. Это указывает на повышение термостабильности плазмалеммы и клеточных стенок при введении в среду аммония.

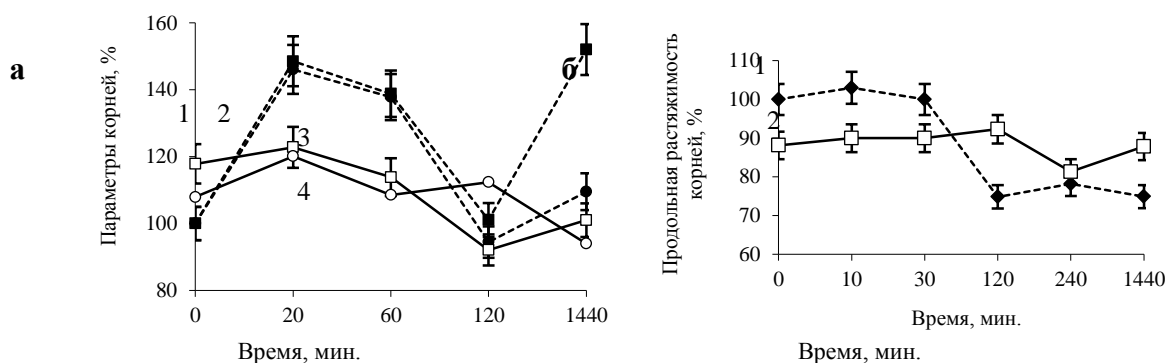


Рисунок 2 - Влияние азотного питания на динамику параметров корней пшеницы в первые часы развития теплового стресса. а: 1,3 – L_p при нитратном (1) и нитрат-аммонийном (3) питании; 2,4 – $\delta D/D$ при нитратном (2) и аммонийном (4) питании. б: 1,2 – δl при нитратном (1) и нитрат-аммонийном (2) питании; Данные в % от контроля (нитратное питание, без стресса)

Figure 2 - The influence of nitrogen nutrition on the dynamics of wheat roots parameters during the first hours of heat stress development. а: 1,3 – L_p under nitrate (1) or nitrate-ammonium (3) nutrition; 2,4– $\delta D/D$ under nitrate (2) or nitrate-ammonium (4) nutrition б: 1,2 – δl under nitrate (1) or nitrate-ammonium (2) nutrition The results are expressed as percentage of the control level (non-stressed seedlings in nitrate-medium).

Причиной увеличения параметров L_p и $\delta D/D$ (рис.2а, кривые 1,2; нитратное питание) в первые двачстрессового ответа, может быть временное снижение тургорного давления, связанное с температурными фазовыми переходами в мембранах, с увеличением их проницаемости и утечкой электролитов. Известно, что L_p и $\delta D/D$ увеличиваются при снижении тургора. Причиной последующего снижения параметров L_p и $\delta D/D$ может быть активация H^+ -помпы и постепенное восстановление тургора. Повышение термостабильности плазмалеммы при добавке в среду аммония может быть

связано с увеличением продукции протона при ассимиляции аммония и связыванием протона с анионными сайтами плазмалеммы, которое, как известно, приводит к снижению ее проницаемости. Следует отметить, что приближение параметров L_p и $\delta D/D$ к уровню контроля через 2 ч после действия теплового стресса не означает восстановления исходного физиологического состояния, т.к. именно в это время наблюдается снижение δl (рис.2б, кривая 1) косвенно указывающее на рост концентрации Ca^{2+} в цитозоле [2] и развитие стрессового ответа, по мере которого восстановление параметров L_p и $\delta D/D$ (рис.2а, 2ч) сменялось их ростом (рис.2а, сут.), указывающим на сохранение высокого уровня стресса через сут. после действия стрессора. Инверсию изменений параметров L_p и $\delta D/D$ по мере развития и усиления стрессового ответа мы наблюдали ранее при УФ-Б облучении корней и побегов и при введении в среду избытка аммония или салицилата [2]. Повышение термостойчивости корней в присутствии аммония может быть также связано с накоплением протекторов, предотвращающих тепловую денатурацию и окислительное повреждение мембран и макромолекул. Относительное увеличение Сацит $^{2+}$, которое может сопутствовать введению в среду аммония [2], активирует глутаматдекарбоксилазу и ускоряет синтез ГАМК (γ -аминомасляной кислоты) - важнейшего протектора теплового стресса [3]. Ускорению синтеза ГАМК в присутствии аммония также может способствовать накопление ее предшественника- глутамата, [3]. Важной причиной термозависимого торможения роста корней в условиях нитратного питания может быть также высокая термочувствительность нитратредуктазы. Следовательно, защитная функция аммония при тепловом стрессе может быть связана с появлением у растений возможности перехода на ассимиляцию аммония, не требующую участия нитратредуктазы.

Заключение

Проведенное исследование выявило возможность повышения устойчивости корней пшеницы к тепловому стрессу путем введения в среду аммония. Одной из причин снижения уровня теплового стресса в корнях может быть повышение термостабильности плазмалеммы за счет повышения продукции протона при ассимиляции аммония и протонирования анионных сайтов на поверхности мембран. Многообразие особенностей метаболизма корней злаков в присутствии аммония и нитрата заслуживает дальнейшего изучения.

Литература

1. Guo S., Zhou Y., Shen Q., Zhang F.. Effect of Ammonium and Nitrate Nutrition on Some Physiological Processes in Higher Plants – Growth, Photosynthesis, Photorespiration and Water relations // Plant Biol. 2007. V.9. P.21-29.
2. Ктиторова И.Н., Скобелева О.В., Агальцов К.Г. Информативность биофизических параметров при выяснении причин торможения роста корней в стрессовых условиях // Физиология растений. 2011. Т.58. №6. С.1-9.
3. Bouche N., Fait A., Bouchez D., Moller S.G., Fromm H.. Mitochondrial succinic-semialdehyde dehydrogenase of the γ -aminobutyrate shunt is required to restrict levels of reactive oxygen intermediates in plants // PNAS.2003. V.100. №11.P.6843-6846.

WHEAT ROOTS HEAT TOLERANCE INCREASE AT PARTIAL REPLACEMENT OF EXTERNAL NITRATE BY AMMONIUM

Ktitorova I.N., Skobeleva O.V.

Triticum aestivum, heat stress, root growth, longitudinal and transverse extensibility, hydraulic conductance, osmotic pressure, nitrogen nutrition

On the first day after 10 min heating of wheat seedling roots up to 40-42°C the heat stress level characterized by root growth retardation and the dynamics of growth zone parameters (longitudinal extensibility decrease, transverse extensibility increase, hydraulic conductance increase) was much less under nitrate-ammonium nutrition than under nitrate nutrition. It may be partly due to higher membrane thermo-stability in the presence of ammonium.

**ВЛИЯНИЕ ПРЕДПОСЕВНОЙ ОБРАБОТКИ СЕМЯН ТОМАТА
LYCOPERSICON ESCULENTUM MILL. КОМПЛЕКСОМ ХИТОЗАН-ФУЛЛЕРЕН НА
МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ РАССАДЫ**

Куделина Т.Н., Казакевич А.В., Обуховская Л.В.

ГНУ «Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси»
ул.Академическая, 27, г. Минск, 220072, Республика Беларусь, E-mail: 10tan10@mail.ru

Lycopersicon esculentum Mill., фуллерен, хитозан

Введение

В растениеводстве постоянно ведется поиск экологически чистых методов повышения резистентности растительного организма к действию абиотических стрессоров и фитопатогенов. В последнее время для этого используют элиситоры как вещества, обладающие иммуностимулирующим эффектом на растения. Типичным примером биогенных элиситоров является хитозан. Он является нетоксичным биоразлагаемым, биосовместимым полимером. Эти свойства во многом определяют его практическое применение в медицине, косметологии, пищевой промышленности, а также в сельском хозяйстве для защиты от болезней [1]. Установлено, что предпосевная обработка семян хитозаном индуцирует у ряда растений болезнеустойчивость, способствует развитию корневой системы, формированию более устойчивого к полеганию и абиотическим стрессорам растения с высокой продуктивностью [2].

Развитие нанотехнологий дает возможность использовать фуллерены (недавно открытая новая аллотропная молекулярная форма углерода. Они представляют собой сферические полиэдрические молекулы диаметром около 1 нм, содержащие 60 и более углеродных атомов) в качестве носителей для целевой доставки различных физиологически активных, лекарственных и диагностических препаратов в клетки. Суть данного подхода состоит в том, чтобы предваряя ситуацию стресса, в симпорте с наночастицей инфильтрировать в семена нужное физиологически активное вещество. Доставка полученных конъюгатов в клетки растения осуществляется на стадии предпосевной обработки семян (инкрустации).

Нашей задачей было исследовать влияние предпосевной обработки семян растений томата гибрида Жеронимо комплексом фуллерен-хитозан на морфологические и физиологические параметры рассады.

Материалы и методы

Объектом исследования были растения томата высокостебельного гибрида Жеронимо голландской селекции, выращенные гидропонным способом на минеральной вате. Фотопериод 16 ч. Для освещения использовали светодиодные излучатели. Синтез комплекса хитозан-фуллерен выполнен сотрудниками Института биоорганической химии НАНБ. Для замачивания семян томата использовали 0,05 %-ный раствор хитозана в 1 %-ной янтарной кислоте и 0,05 %-ный раствор комплекса хитозан-фуллерен в 1 %-ной янтарной кислоте, pH довели до значения 6,0 при помощи 1 %-ного раствора NaHCO₃. Семена выдерживали в растворе в течение 24 ч. Контрольные семена замачивали в воде.

Исследовали морфометрические показатели рассады томатов (длину и массу стебля, количество листьев, диаметр стебля, массу корней, массу листьев) и их физиологическое состояние (содержание фотосинтетических пигментов, скорости дыхания и фотосинтеза, параметры водного обмена) ткани листьев. Пигментный состав определяли методом Виттштейна в 100 %-ном ацетоне [3]. Скорости дыхания и фотосинтеза по кислороду определяли с помощью прибора PlantVital5030 (Германия). Из полученных данных по скоростям фотосинтеза и дыхания рассчитывали коэффициент виталитета (коэффициент фотосинтетической эффективности), равный отношению скорости фотосинтеза к скорости дыхания (KphA) [4].

Для исследования параметров водного режима растений использовали методику электронного мониторинга водного обмена ассимиляционной ткани листа, разработанную в лаборатории водного обмена и фотосинтеза растений Института экспериментальной ботаники им. В.Ф.Купревича НАН Беларуси. Регистрировали изменения объема и массы предварительно насыщенной водой ткани листа в процессе ее дегидратации [5].

Результаты и обсуждение

Анализ морфометрических параметров 2-х месячных растений рассады томатов сорта Жеронимо показал, что масса корней у растений, обработанных комплексом хитозан-фуллерен, превышала этот показатель у растений, обработанных хитозаном на 18,8 %, и на 55,9 % у контрольных растений. Масса надземной части – на 47,0 и на 56,8 %, соответственно.

Для растений варианта хитозан-фуллерен установлено более высокое содержание хлорофилла а (табл. 1) по сравнению с контролем и растениями, обработанными хитозаном.

Таблица 1 - Содержание фотосинтетических пигментов в листьях, скорости дыхания и фотосинтеза растений томата сорта Жеронимо

Table 1 - Content of photosynthetic pigments in the leaves, rates of respiration and photosynthesis of tomato plants cultivar Geronimo

Показатель \ Вариант опыта	Контроль	Хитозан	Хитозан-фуллерен
Концентрация хл а, мг/дм ²	3,16±0,025	3,44±0,017	3,64±0,049
Концентрация хл b, мг/дм ²	1,16±0,021	1,32±0,006	1,24±0,046
Концентрация каротиноидов, мг/дм ²	1,01±0,032	0,99±0,116	1,10±0,013
Соотношение хл а/b	2,69±0,057	2,59±0	2,93±0,108
KphA	1,8±0,27	2,4±0,36	2,6±0,37
Скорость дыхания, мкмоль O ₂ /(м ² *с)	1,939±0,0662	1,313±0,1451	1,382±0,2051
Скорость фотосинтеза, мкмоль O ₂ /(м ² *с)	3,417±0,4289	2,936±0,2472	3,449±0,1735

Коэффициент фотосинтетической эффективности (KphA) был выше у растений, обработанных хитозаном и комплексом хитозан-фуллерен, чем у контрольных растений, за счет снижения скорости дыхания (табл. 1). Но следует отметить, что скорость фотосинтеза у растений, обработанных хитозаном, была ниже, чем у контрольных и обработанных комплексом хитозан-фуллерен.

Растения томатов, выращенные из семян, обработанных комплексом хитозан-фуллерен, отличались морфоструктурными и физиологическими параметрами, указывающими на формирование у них более стрессоустойчивого фенотипа растения (большая эластичность листа, больший объем межклетников, больший показатель жесткости ткани, большее время стабильного тургора), по сравнению с контрольными растениями и растениями из семян, обработанными хитозаном (табл. 2).

Заключение

Т.о., установлено, что предпосевная обработка семян комплексом хитозан-фуллерен (концентрация комплекса 0,05%) способствует формированию более мощных по морфометрическим показателям (масса стебля, масса корней, масса листьев, диаметр стебля) растений. Их морфоструктурные и физиологические параметры свидетельствуют о более высоком адаптивном потенциале, по сравнению с растениями из семян, обработанных хитозаном. Увеличение скорости фотосинтеза и снижение скорости дыхания позволяют прогнозировать и увеличение продуктивности этих растений.

Таблица 2 - Параметры водного обмена и морфоструктуры листьев растений томата

Table 2 - Water transport parameters and morphostructural characteristics of tomato plant leaves

Показатель	Вариант опыта	Контроль	Хитозан	Хитозан-фуллерен
Время стабильного тургора, мин		28,6±3,05	31,6±13,86	41,0±14,93
Скорость дегидратации на участке стабильного тургора по изменению веса, мкг/мин		73,3±15,71	115,8±14,54	82,2±6,24
Скорость дегидратации на участке от мах тургора до циторриза по изменению веса, мкг/мин		73,6±10,90	58,5±16,2	38,3±3,96
Скорость дегидратации на участке от мах тургора до циторриза по изменению объема, 10-3 мм ³ /мин		61,0±2,32	52,9±2,25	51,2±4,05
Толщина листовой пластинки, мм		0,21±0,028	0,22±0,032	0,24±0,026
Эластичность листа, % от макс.тургора		59,3±4,54	53,2±1,25	75,3±7,94
Объем межклетников, % от объема высечки		32,8±11,45	34,7±8,31	42,1±5,72
Показатель жесткости ткани		4,3±1,15	5,6±0,80	6,2±0,77

Литература

1. Озерецковская О.Л., Васюкова Н.И., Зиновьева С.В. Хитозан как элиситор индуцированной устойчивости растений // Сб. Хитин и хитозан: Получение, свойства и применение / под ред. К.Г. Скрябина [и др.] – М.: Наука, 2002. – С. 339-345.
2. Hadwiger L.A., Frinstensky B., Riggemann R.C. // Chitin, chitosan and related enzymes / Ed. Zikakis J.P. N.Y.: Plenum press, 1984. - P. 1332-1339.
3. Гавриленко В.Ф., Ладыгина М.Е., Хандобина Л.М. Большой практикум по физиологии растений. М., «Высшая школа», 1975.
4. Акиньшина Н.Г., Азизов А.А., Карасева Т.А., Клозе Э. Новые возможности в оценке состояния растений // Сибирский экологич. Журн., 2008. – № 2. – С. 249-254.
5. Телюк Н.А., Реуцкий В.Г., Родионов П.А. Водный режим ассимиляционной ткани листьев растений различных экологических групп / Проблемы экспериментальной ботаники: к 100-летию со дня рождения В.Ф.Купревича. — Мн.: Беларуская навука, 1997. – С.436-449.

INFLUENCE OF PRE-SEEDING TREATMENT OF TOMATO SEEDS *LYCOPERSICON ESCULENTUM* MILL BY CHITOSAN-FULLERENE COMPLEX ON MORPHOLOGICAL AND PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF SEEDLINGS

T.N. Kudelina, A.V. Kazakevich, L.V. Obyhovskaya

Lycopersicon esculentum Mill., fullerene, chitosan

Pre-seeding treatment by chitosan and chitosan-fullerene complex had a stimulating effect on plants: plant arised from seeds treated by chitosan-fullerene had more powerful morphological and physilogical characteristics. These plants had higher content of photosynthetic pigments, higher co-efficient of photosynthetic efficiency, parameters of water transport which are characteristic for more stress resistant plant.

РОЛЬ ГОРМОНОВ В РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ НА ПРИСУТСТВИЕ КОНКУРЕНТОВ И УРОВЕНЬ МИНЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ

Кудоярова Г.Р., Коробова А.В., Высоцкая Л.Б.

ФГБУН Институт биологии УНЦ РАН, пр. Октября, 69, г. Уфа, 450054, Россия,
E-mail: guzel@anrb.ru*конкуренция растений, плотность посева, рост, минеральное питание, чувствительность к этилену***Введение**

Конкуренция между растениями за ресурсы является одним из решающих факторов в жизни растений в естественных и агро- фитоценозах. Захват ресурсов в этих условиях определяется способностью растений воспринимать присутствие конкурентов. Так, торможение роста листьев (предпосылка для удлинения побега и выноса фотосинтезирующих органов в верхние ярусы) происходит еще до начала затенения, что связано с фитохромной реакцией на свет, отраженный от соседних растений [1]. Показано отсутствие этой реакции у нечувствительных к этилену растений, что указывает на роль этого газообразного фитогормона в конкуренции за свет [2]. Представляло интерес выяснить, участвует ли этилен в конкуренции за минеральное питание. Наши данные, полученные при изучении ингибитора рецепции этилена 1-МЦП, указывали на такую возможность [3]. В данной работе для изучения роли этилена в конкуренции за элементы минерального питания был использован нечувствительный к этилену мутант *etr1-1*.

Материалы и методы

Эксперименты проводили с растениями исходной формы арабидопсиса экотипа *col* (*Columbia*) и мутанта *etr1-1*, потерявшего чувствительность к этилену [4]. Семена стратифицировали в темноте при температуре 7 °С в течение 4 сут., разложив в чашках Петри на влажной фильтровальной бумаге. Затем разное количество семян помещали на поверхность песка в контейнерах объемом 50 мл, насыщенного 100%-ным или 1%-ным раствором Хогланда–Арнона (содержание микроэлементов было одинаковым в обоих питательных растворах). Сосуды размещали в поддоны с небольшим количеством питательного раствора соответствующей концентрации, и растения проращивали в климокамере (MLR-351 H, Sanyo) при температуре 23/21 °С (световой/темновой период) и 16-часовом световом периоде (120 моль м⁻² с⁻¹ ФАР). Относительная влажность воздуха в первую неделю прорастания была 90%, а затем – 70%. Через 2 недели осторожно отмывали песок от корней, осушали их с помощью фильтровальной бумаги, измеряли массу побега и корня и длину главного корня. Для определения продукции этилена растения на полторачпомещали в пробирку, закрытую резиновой пробкой. Пробу воздуха извлекали микрошприцом и определяли в ней концентрацию этилена с помощью газового анализатора (6890N, Agilent Technologies UK Ltd, Wokingham, UK). Повторность опыта трехкратная. На рисунках представлены средние величины характеристик и их ошибки (n = 20).

Результаты и обсуждение

Масса растений арабидопсиса исходного экотипа *col* была максимальной у одиночных растений, росших в контейнере без конкурентов на фоне 100 %-ного питательного раствора (рис. 1а). Как разбавление питательного раствора, так и увеличение количества растений в контейнере тормозило накопление биомассы растений. Линии, отражающие зависимость массы растений от их количества в контейнере на фоне 100 %-ного и 1 %-ного питательных растворов, шли почти параллельно друг другу. Параллельность линий указывает на отсутствие взаимодействия между двумя факторами (плотность посадки и уровень минерального питания). Элементы минерального питания являются именно теми ресурсами, за захват ко-

торых растения должны конкурировать. Тем не менее, двухфакторный анализ позволяет предполагать, что в первые недели после прорастания влияние конкуренции на массу растений не зависело от минерального питания, и торможение ее накопления в присутствии конкурентов могло быть результатом не субстратной, а сигнальной регуляции.

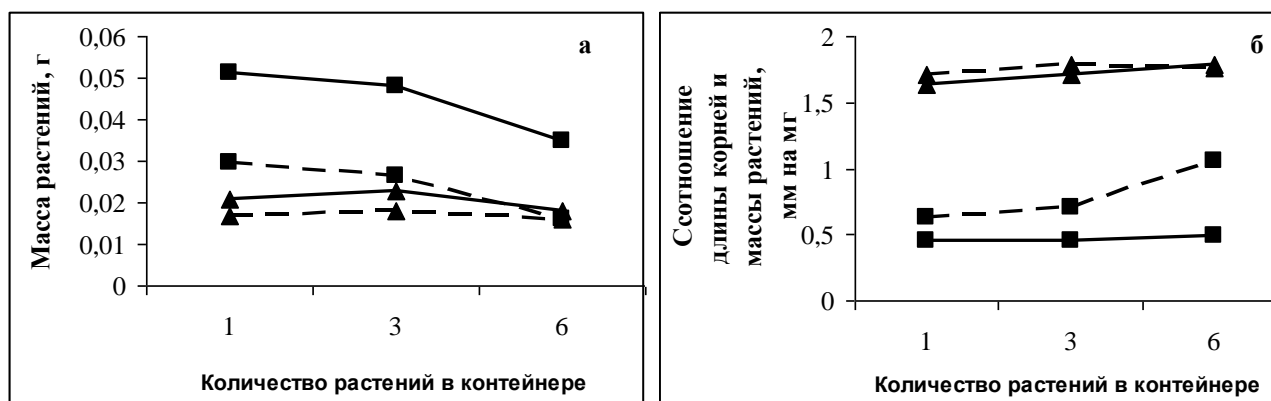


Рисунок 1 - Масса (а) и соотношение длины корней и массы растений (б) мутантных (▲) и исходных (■) генотипов, росших на 100 %-ном (сплошная линия) и 1 %-ном (пунктир) питательном растворе

Figure 1 - Mass (a) and ratio root length/mass of plant (b) of mutant and its parental genotype under 100% (full line) and 1% (dotted line) nutritious solution

Рост корней играет важную роль в оптимизации поглощения ионов. Известно, что относительная активация роста корней (меньшая степень подавления их роста по сравнению с растением в целом) является характерной реакцией на дефицит ресурсов в среде обитания корней [5]. Для оценки относительной скорости удлинения корней мы измерили соотношение длины главного корня и массы растения. Как видно из рис.1б, этот показатель слабо варьировал в зависимости от количества конкурентов у растений col, получавших достаточно макроэлементов. Эти результаты подтверждают, что для захвата ресурсов конкурирующим растениям не требовалось активировать удлинение корней. Иную картину мы наблюдали при анализе растений, испытывавших дефицит питания. Здесь соотношение было выше, чем у «сытых» растений, и возрастало с увеличением плотности посадки (особенно резко при переходе от трех к шести растениям). Таким образом, при дефиците питания конкуренция приводила к относительной активации роста корней, как и сам недостаток питания.

Для того чтобы проверить предполагаемую роль этилена в реагировании растений на уровень питания и присутствие конкурентов мы померили показатели роста нечувствительных к этилену мутантных растений *etr1-1*. Как видно из рис. 1а и 1б, масса мутантных растений была меньше, чем у растений исходного генотипа, слабо отзывалась на разбавление питательного раствора, и не зависела от присутствия конкурентов. Показатель относительного удлинения корней (соотношение длины корней к массе растений) был, наоборот, выше у мутантных растений по сравнению с исходным генотипом, что соответствует данным литературы о подавлении роста корней этиленом [6]. Хотя этилен считается гормоном стресса, по данным литературы его продукция снижается при дефиците азота [2]. По нашим данным, продукция этилена у *col* также была ниже на фоне дефицита питания (200 и 260 пкмоль на г сырого веса вчу «голодных» и «сытых» растений, соответственно). Таким образом, относительно медленный рост корней в длину у «сытых» *col* растений можно объяснить его подавлением под влиянием повышенной продукции этилена, а отсутствие зависимости этого показателя от уровня минерального питания или конкуренции у *etr1-1* – их нечувствительностью к этилену.

В целом, как масса растений, так и соотношение длины корней к массе растений у мутантных растений меньше менялись в ответ на уровень минерального питания, чем у *col* рас-

тений, и, в отличие от последних, практически не реагировали на присутствие конкурентов. По этому показателю мутанты были ближе к «голодным» конкурирующим немутировавшим растениям. Создается впечатление, что отсутствие чувствительности к этилену помешало мутантным растениям «почувствовать» отсутствие соседей и высокий уровень питания и использовать доступные ресурсы для поддержания быстрого роста. В некоторых работах высказывалось предположение, что снижение чувствительности растений к присутствию конкурентов может нивелировать некоторые отрицательные последствия загущенности посевов и позволит повысить норму высева [1]. Наши данные свидетельствуют о том, что потеря чувствительности к соседям не способствует активации роста, по крайней мере, на ранних стадиях развития растений.

Исследования поддержаны грантом РФФИ №14-04-00775 А.

Литература

1. Ballare С. Illuminated behavior: phytochrome as a key regulator of light foraging and plant anti-herbivore defense // *Plant, Cell and Environment*. – 2009. – V. 32. – P. 713–725.
2. Pierik R., Sasidharan R., Voesenek L.A. Growth control by ethylene: adjusting phenotypes to the environment // *Journal of Plant Growth Regulation*. – 2007. – V. 26. – P. 188–200.
3. Vysotskaya L., Wilkinson S., Davies W.J., Arkhipova T., Kudoyarova G. The effect of competition from neighbours on stomatal conductance in lettuce and tomato plants // *Plant, Cell and Environment*. – 2011. – V. 34. – P. 729–737.
4. Li H., Guo H. Molecular basis of the ethylene signaling and response pathway in *Arabidopsis* // *Journal of Plant Growth Regulation*. - 2007. - V. 26. - P. 106–117.
5. Vysotskaya L.B., Korobova A.V., Veselov S.Y., Dodd I.C., Kudoyarova G.R. ABA mediation of shoot cytokinin oxidase activity: assessing its impacts on cytokinin status and biomass allocation of nutrient deprived durum wheat // *Functional Plant Biology*. - 2009. - V. 36. - P. 66–72.
6. Ruttink T., Boot K., Kijne J., Bisseling T., Franssen H. ENOD40 affects elongation growth in tobacco Bright Yellow-2 cells by alteration of ethylene biosynthesis kinetics // *Journal of Experimental Botany*. – 2006. – V. 57. – P. 3271–3282.

ROLE OF HORMONES IN PLANT REACTION TO THE PRESENCE OF COMPETITORS AND LEVEL OF MINERAL NUTRITION

Kudoyarova G.R., Korobova A.V., Vysotskaya L.B.

plant competition, density of planting, growth, mineral nutrition, ethylene insensitive

During first weeks of growth the mass of ethylene insensitive *Arabidopsis* plants was lower and relative root elongation – higher than in parental genotype and unlike the latter both characteristics in the mutant did not depend on mineral nutrition and competition.

ФИЗИОЛОГО – БИОХИМИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ЯБЛОНИ НА ТЕХНОГЕННОЕ ЗАГРЯЗНЕНИЕ

Кузнецов М.Н., Куликов И.М.

ГНУ Всероссийский селекционно-технологический институт садоводства и питомниководства
РАСХН, ул. Загорьевская, 4, г. Москва, 115598, Россия, E-mail: vstisp@vstisp.org

экология, лист яблони, фитогормоны

Введение

Антропогенные изменения затронули практически все экосистемы и сформировали устойчивую тенденцию повышения содержания тяжелых металлов в продукции плодового хозяйства. Наиболее общие проявления действия тяжелых металлов на растения – это ингибирование фотосинтеза, нарушение баланса основных фитогормонов, транспорта ассимилянтов и минерального питания, изменение водного и гормонального статусов, торможение роста и развития растений (Hollenbach В.; Казнина и др., 2005; Серегин, 2001; Прудников, 2007). Поиск путей получения экологически безопасной продукции садоводства неизбежно приводит к необходимости глубокого комплексного исследования физиолого-биохимических изменений растений. Для выявления механизмов, обеспечивающих процессы адаптивности растений, исследование листьев является наиболее информативным.

Материалы и методы

Использованные в статье данные были получены в процессе обследования садовых насаждений на территории, прилегающей к Думчинскому отвалу шлаков АООТ «Цветные металлы и сплавы» (АООТ ЦМиС), Орловская область. Объектами исследований, на примере которых рассмотрены некоторые экофизиологические параметры, являются листья яблони сорта Осеннее полосатое. Отбор суммарных проб листовой массы осуществляли по периметру кроны на высоте 1,5 м, не менее чем с 5 деревьев. Пероксидазную и О-дифенолоксидазную (полифенолоксидазную) активность определяли колориметрическим методом А. Н. Бояркина (Методы современной биохимии, 1975; Методы биохимических исследований, 1987); определение хлорофилла по А. А. Шлыку (1968).

Результаты и обсуждение

Анализ фитогормонов в листьях яблони, подвергшихся продолжительному действию источника загрязнения на удалении 150 м от отвала, показал предельную разбалансировку между индолилуксусной (ИУК) и абсцизовой (АБК) кислотами (рис.1).

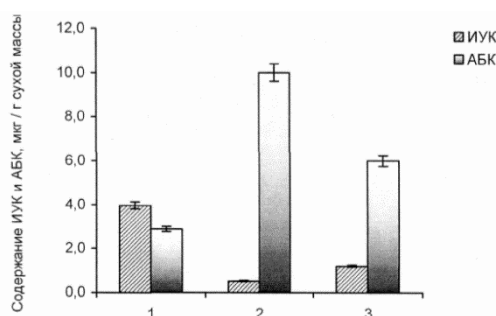
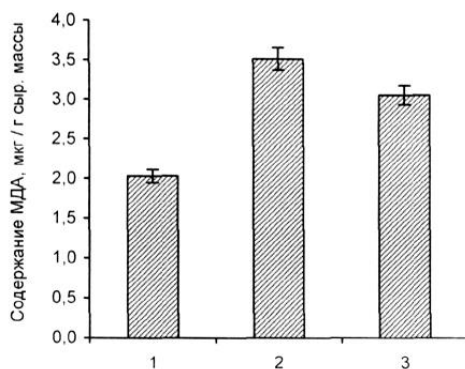


Рисунок 1 – Содержание индолилуксусной и абсцизовой кислот в листьях яблони в зависимости от удаления от источника техногенного загрязнения

Figure 1 - The content of indoleacetic and abscisic acid in apple leaves depending on the distance from the source of anthropogenic pollution

На фоне резкого возрастания АБК и значительного снижения ИУК в листьях яблони в точке 100 м активность суммарной пероксидазы на 50,7% была ниже контроля. Однако рез-

кий дисбаланс исследуемых нами фитогормонов, вероятно, приводит к ингибированию антиокислительных процессов. Поэтому, на фоне снижения разбалансировки между ИУК и АБК в точке, удалённой от источника загрязнения на 3000 м, активность пероксидазы была ниже контроля на 19%. Изменения в гормональном статусе и активности антиоксидантного фермента пероксидазы, вызванные разной интоксикационной нагрузкой техногенного загрязнения, в конечном итоге сказались и на интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) мембран. В 100 м от шлакоотвала содержание малонового диальдегида (МДА) в листьях растений на 73% было выше контроля (рис.2). При удалении на 3000 м, интенсивность процессов ПОЛ превысила этот показатель у контрольных растений на 48% на фоне увеличения активности пероксидазы (по сравнению с точкой 100 м) и меньшего дисбаланса между ИУК и АБК.



1 – контроль, 2 – 100 м, 3 – 3000 м

Рисунок 2 – Содержание малонового диальдегида в листьях яблони в зависимости от удаления от источника техногенного загрязнения

Figure 2 - Content of malondialdehyde in apple leaves depending on the distance from the source of anthropogenic pollution

Таким образом, в результате проведённых исследований было показано, что в зависимости от разной степени удалённости растений яблони от источника техногенного загрязнения наблюдается изменение активности антиоксидантного фермента и интенсификации процессов липопероксидации биомембран на фоне нарушения баланса фитогормонов.

Литература

1. Казнина Н.М. влияние свинца на фотосинтетический аппарат однолетних злаков/ Н.М.Казнина, Г.Ф. Лайдинен, А.Ф. Таланов// Известия РАН. Серия биология. – 2005.- № 2. – С.84-188. 2003.
2. Серегин И.В. Физиологические аспекты токсического действия кадмия и свинца на высшие растения / И.В.Серегин// Успехи биологической химии. – 2001. – Т.41. –С.283-300.
3. Прудников П.С. Влияние селена на физиолого-биохимические процессы при адаптации растений картофеля к гипотермии:автореф.дисс.канд.биол.наук./ П.С. Прудников. – М.: МСХА, 2007. -28с.
4. Hollenbach B. Cadmium Leads to Stimulated Expression of the Lipid Transfer Protein Senes in Barley: Implications for the Involvement of Lipid Transfer Proteins in Wax Assembly / B. Hollenbach L. Schraider, W. Hartung, K.J.Dietz // Planta. – 1997/ - V. – P. 9 – 19.

**PHYSIOLOGICAL - BIOCHEMICAL REACTION OF AN APPLE
ON TECHNOGENIC POLLUTION**

Kuznetsov, M.N., Kulikov I.M.

ecology, apple leaf, plant hormones.

Discusses the influence of technogenic factors on the hormonal system of plants. An infringement of balance of hormones. The activity of antioxidant enzyme depends on the remoteness of the plant Apple trees from the source of technogenic pollution.

АКТИНОВЫЙ ЦИТОСКЕЛЕТ УЧАСТВУЕТ В ОТВЕТЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК НА ЗАСОЛЕНИЕ И ДЕЙСТВИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

Куликова А.Л., Кузнецова Н.А.

ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая 35,
г. Москва, 127276, Россия, E-mail: akulikova05@mail.ru*засоление, медь, стресс, актиновый цитоскелет***Введение**

Актиновый цитоскелет (АЦ) участвует в системах восприятия большинства внутри и внеклеточных сигналов и является центром, при посредстве которого регулируется активность большинства клеточных функций [1]. АЦ представляет собой динамичную сеть, состоящую из микрофиламентов актина, как отдельных, так и собранных в плотные пучки, в которой происходят постоянные процессы синтеза и распада компонентов. Предполагается роль перестроек АЦ в создании механизма устойчивости растений к абиотическим стрессам. Установлено, что действие солевого стресса при 12- часовой экспозиции растений на 150 мМ или 250 мМ NaCl приводит к увеличению количества полимерного актина и увеличению диаметра пучков филаментов в эпидермальных клетках листа и корня арабидопсиса [2]. Через 18ч на 150 мМ NaCl организация АЦ сохранялась, а при 250 мМ NaCl происходил распад филаментов актина и последующая гибель проростков. Добавление 1,5 мкМ фаллоидина (пептида, стабилизирующего актиновые филаменты) спасало проростки от гибели при солевом стрессе, а добавление 1 мкМ латрункулина (вещества, препятствующего полимеризации актина) усиливало солевой стресс [2].

Организация АЦ при солевом стрессе связана с функционированием SOS (salt overly sensitive) - регуляторного пути, направленного на поддержание в клетке Na/K гомеостаза. Организация актиновых филаментов в клетках корневой ризодермы арабидопсиса у мутантов *sos3* отличалась от организации АЦ в клетках проростков дикого типа и проявляла гиперчувствительность к засолению [3]. При внесении в среду 50 мМ NaCl, у мутантов *sos3* через 24ч происходила дезорганизация и частичное разрушение АЦ в клетках ризодермы, сопровождающееся 50 % ингибирование роста корня. Внесение в среду Ca²⁺ снижало ингибирующий эффект соли. Можно заключить, что организация АЦ зависит от работы SOS3, компонента регуляторной системы, воспринимающего изменения в содержании Ca²⁺ при солевом стрессе. Кальций имеет огромное значение для регуляции активности ряда цитоскелетных белков. С другой стороны, АЦ регулирует работу кальциевых мембранных каналов.

Имеется ряд сведений о влиянии стресса, вызываемого действием тяжелых металлов, на организацию АЦ. Так, внесение в среду инкубации 5 – 10 мкМ CdCl₂ приводило за 2 – 20ч эксперимента к изменению ориентации прядей актиновых филаментов в корневых волосках арабидопсиса с продольной на поперечную [4]. При этом в клетках отмечалось нарушение градиента Ca²⁺, ингибирование везикулярного транспорта и изменение состава клеточной стенки. Экспозиция в течение 20ч растворах, содержащих 9 - 27 мкМ Pb(NO₃)₂, приводила к дезорганизации и агрегации актиновых филаментов. в пыльцевых трубках сосны, в степени, пропорциональной концентрации свинца [5]. Целью настоящей работы было изучение действия засоления и избытка меди на содержание филаментного актина в растительных клетках.

Материалы и методы

Для проведения опытов использовали 4-х дневные проростки сои (*Glycine max* L.) и 4-х недельные растения хрустальной травки (*Mesembryanthemum crystallinum* L), выращенные в камере фитотрона на водной питательной смеси. Растения опытных вариантов хрустальной травки выращивали на среде с добавлением 400 мМ NaCl в течение периода времени от 3ч до

3 сут.. Растения сои экспонировали на среде, содержащей 10 или 50 мкМ CuSO₄ в течение 20 часов. После проведения опыта корни отмывали в дистиллированной воде и гомогенизировали в среде следующего состава: 1 % тритон X -100 , 50 mM Hepes, pH 7,5; 5 mM MgCl₂; 60 mM KCl; 5 mM EGTA; 5% меркаптоэтанол; 5 mM фенолметилсульфонил фторид, ингибитор трипсина, лейпептин и химостатин (по 10 мкг/мл). Гомогенат фильтровали через двойной слой мираклоса и центрифугировали при 15 000g, 30 мин. При этом в осадок выпадали филаменты актина, объединенные в сеть и связанные с сохранившимися фрагментами клеточной стенки и мембраны. Надосадочную жидкость далее центрифугировали при 100000 g в течение 2 часов, при этом в осадок переходили мелкие фрагменты сети и одиночные филаменты актина. Белки полученных фракций подвергали денатурирующему электрофорезу в 10 % ПААГ с ДДС- Na по методу Laemmli и последующему полусухому блоттингу на приборе фирмы BioRad (США). В каждую лунку при электрофорезе вносили 50 мкг белка гомогената. Количество белка определяли с помощью Кумасси R-250 по Esen и контролировали по окраске блотов Ponso S. Относительное содержание актина во фракции определяли по окрашиванию белковых полос, прореагировавших с анти-актиновыми антителами фирмы ICN, clone C4. Интенсивность окрашивания оценивали с помощью компьютерной программы Gel Pro 31.

Результаты и обсуждение

Из данных, приведенных на рис.1, А следует, что рост растений на среде, содержащей 400 mM NaCl, приводил к изменению количества актина во фракциях осадков, полученных при центрифугировании гомогената корней при 15000 и 100000 g. Заметное увеличение количества актина происходило уже после 3-х часового засоления, наибольшая степень увеличения достигалась через 6 часов действия NaCl, через 3 сут. количество полимерного актина было значительно ниже контрольного.

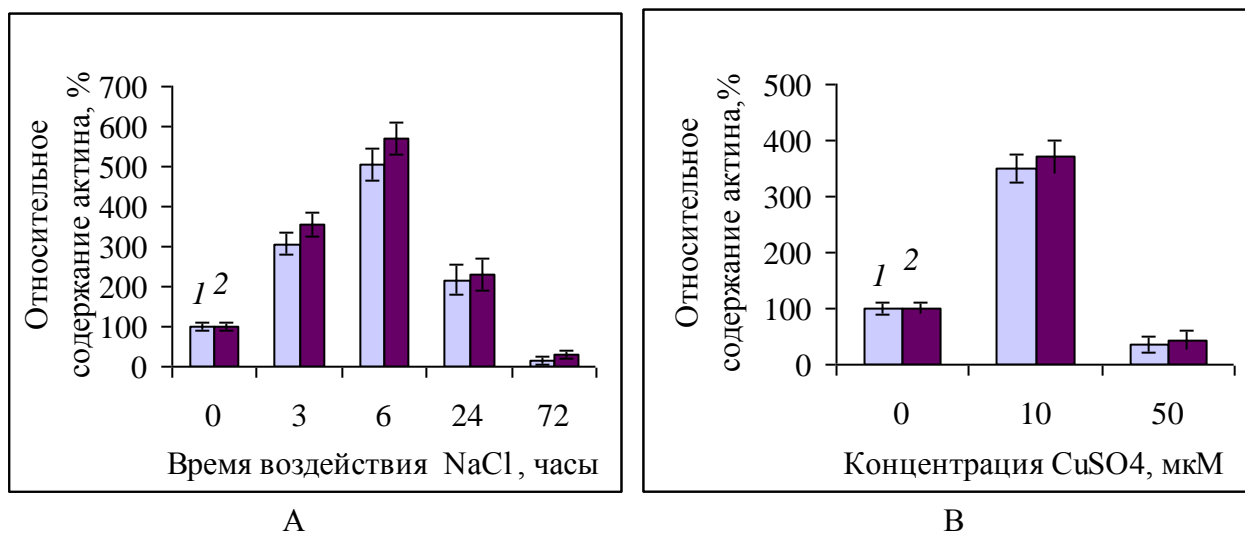


Рисунок 1 - Влияние избытка хлористого натрия (А) и сернокислой меди (В) на содержание актина во фракциях корневого гомогената. А – корни проростков хрустальной травки. Б – корни проростков сои. 1 –осадок 15 000 g , 2 – осадок 100 000 g. Воздействие CuSO₄ – 20 ч

Figure 1 - Effect of NaCl (A) and copper (B) excess on the content of actin in the subcellular fractions of roots homogenates. A- ice plant roots. B – soybean roots. 1 – 15 000 g pellet, 2 -100000 g pellet. Concentration of NaCl – 400 mM. Time of CuSO₄ treatment – 20 h

Известно, что избыток меди в среде значительно ингибирует рост и изменяет морфологию корней сои. В наших опытах наличие в среде 10 мкМ CuSO₄ приводило за 20чэксперимента к увеличению содержания актина в осадках низко- и высокоскоростного центрифугирования гомогенатов кончика корня сои (рис. 1, В). Это может свидетельствовать

об увеличении полимеризации актина и агрегации актиновых филаментов под действием умеренного избытка меди Экспозиция растений на среде, содержащей 50 мкМ Cu, вызывала падение уровня актина в осадках, вероятно, в связи с частичным разрушением АЦ и деполимеризацией актина; при этом удлинение корня и образование боковых корней останавливались. Изменения количества филаментного актина свидетельствуют о перестройках цитоскелета и вовлечении АЦ в ответные реакции растений на действие повреждающих факторов.

Работа выполнена при частичной поддержке гранта РФФИ № 13-0401001

Литература

1. Sinclair A., Shenkel M., Mathur J. Signalling to the Actin Cytoskeleton During Cell Morphogenesis and Patterning // Signalling and Communications in Plants. / Eds. Baluska F., Mancuso S. Springer-Verlag. 2009. P. 135 – 153.

2. Wang C., Zhang L., Yuan M., Ge Y., Liu Y., Fan J., Ruan Y, Cui Z., Tong S., Zhang S. The Microfilament Cytoskeleton Plays a Vital Role in Salt and Osmotic Stress Tolerance in *Arabidopsis*. // Plant Biology. 2010. V. 12. P. 70 – 78.

3. Ye J., Zhang W., Guo Y. Arabidopsis SOS3 Plays an Important Role in Salt Tolerance by Mediating Calcium-Dependent Microfilament Reorganization // Plant Cell Rep. 2013. V. 32. P. 139 – 148.

4. Fan J.-L., Wei X.-Z., Wan L.-C., Zhang L.-Y., Zhao X.-Q., Liu W.-Z., Hao H.-Q., Zhang H.-Y. Disarrangement of Actin Filaments and Ca²⁺ Gradient by CdCl₂ Alters Cell Wall Construction in *Arabidopsis thaliana* Root Hairs by Inhibiting Vesicular Trafficking // J. Plant Physiol. 2011. V. 168. P. 1157 - 1167.

5. Sheng X., Zhang S., Jiang L., Li K., Gao Y., Li X. Lead Stress Disrupts the Cytoskeleton Organization and Cell Wall Construction During *Picea wilsonii* Pollen Germination and Tube Growth // Biol. Trace Elem. Res. 2012. V. 146. P. 86 – 93.

ACTIN CYTOSKELETON OF PLANT CELLS PARTICIPATES IN THE RESPONSE TO SALT AND HEAVY METAL STRESS

Kulikova A.L., Kuznetcova N.A.

salt stress, copper stress, actin cytoskeleton

The importance of actin cytoskeleton has been indicated for various environmental stresses. We found, that 3 - 24 h incubation of *Mesembryanthemum crystallinum* L plants in 400 mM NaCl increased actin level of root homogenate pellets. 72 -h salt stress led to a considerable decrease in the actin content. 20 hours treatment of *Glycine max* L. seedlings with 10 μM CuSO₄ results in increase in the amount of polymeric actin in root cells and 50 μM CuSO₄ significantly decreased actin level.

КОМПОНЕНТЫ CO₂-КОНЦЕНТРИРУЮЩЕГО МЕХАНИЗМА У РЕЛИКТОВОЙ АЛКАЛОФИЛЬНОЙ ЦИАНОБАКТЕРИИ MICROCOLEUS

Куприянова Е.В., Пронина Н.А.

ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая 35,
г. Москва, 127276, Россия, E-mail: ivlaanov@mail.ru (Е.В. Куприянова)*цианобактерии, содовые озера, геном, карбоангидраза, CO₂-концентрирующий механизм (ССМ)***Введение**

Около 3.5 миллиардов лет назад, когда кислородный фотосинтез был «изобретен» цианобактериями, концентрация CO₂ в атмосфере на несколько порядков превышала современную [1]. Таким образом, ранняя модель фотосинтетического аппарата была адаптирована именно к этим условиям. Низкий уровень атмосферного CO₂ в современную геологическую эпоху ставит перед всеми фотоавтотрофами задачу по поддержанию адаптивных механизмов, позволяющих осуществлять эффективный фотосинтез в данных условиях. В клетках современных цианобактерий эту адаптацию обеспечивает функционирование CO₂-концентрирующего механизма (ССМ), основанного на совместной работе транспортеров неорганического углерода (C_i) и фермента карбоангидразы (КА), катализирующей взаимопревращение CO₂ и HCO₃⁻ [2, 3]. Результатом действия ССМ является создание повышенной концентрации CO₂ вблизи активных центров РБФК/О, что существенно повышает эффективность фиксации C_i в цикле Кальвина.

Исследования модельных штаммов цианобактерий показали, что их ССМ включает в себя следующие компоненты [2]: 1) транспортеры HCO₃⁻ (BCT1, SbtA и BicA), ответственные за активное поглощение бикарбоната; 2) системы облегченной диффузии CO₂ (NDH-13/4), переводящие пассивно проникающую в клетки углекислоту в HCO₃⁻ за счет работы КА-подобных белков CbpX/Y; 3) карбоксисомальные КА (β-КА CsaA/CsoSCA, γ-КА CcmM), ответственные за перевод пула HCO₃⁻ в CO₂ для РБФК/О.

Крайне интересными объектами для изучения ССМ являются алкалофильные цианобактерии содовых озер. С одной стороны, эти организмы обитают в среде с высоким содержанием бикарбоната, что теоретически не требует внутриклеточного накопления C_i. С другой стороны, цианобактерии содовых озер рассматривают как реликты наземной микробиоты Протерозоя, сохранившейся в экстремальных условиях обитания [4]. Изучение этих организмов может дополнить имеющуюся на настоящий момент картину возникновения и эволюции ССМ. Отдельные компоненты ССМ и внутриклеточное накопление C_i у представителей алкалофильных цианобактерий были обнаружены нами ранее [5]. Ставший в последнее время доступным подход по получению полной геномной последовательности организма дает более широкие перспективы для исследования.

Материалы и методы

Объектом исследования являлась алкалофильная цианобактерия *Microcoleus sp.* IPPAS B-353 из Коллекции микроводорослей ИФР РАН. Штамм был выделен из содового озера Хилганта (Забайкалье, Россия, 50° 42' с.ш., 115° 06' в.д.) [6]. Культуру выращивали в условиях, описанных ранее [7]. Выделение геномной ДНК осуществляли по методике Williams [8]. Секвенирование, сборка генома и его аннотация выполнены фирмой Seeders Inc. (Республика Корея).

Результаты и обсуждение

Для реликтовой алкалофильной цианобактерии *Microcoleus sp.* IPPAS B-353 получена полная геномная последовательность кольцевой хромосомы (неопубликованные данные: DDBJ/EMBL/GenBank, ATDS00000000, версия ATDS01000000; BioSample, SAMN02205029) .

В геноме *Microcoleus* обнаружено несколько открытых рамок считывания (ОРС), возведенная аминокислотная последовательность которых имеет гомологию с известными белками КА [5]. Помимо обнаруженной нами ранее [9] β -СА СаhВ1, являющейся гомологом СсаА, *Microcoleus* обладает карбоксисомальной КА γ -класса СсмМ, характерной для всех β -цианобактерий. Еще один ген, названный нами саhG, кодирует белок, гомологичный γ -КА СаmН из анаэробной археобактерии *Methanosarcina thermophila*.

Что касается систем переноса HCO_3^- , в геноме *Microcoleus* был обнаружен оперон, предположительно кодирующий ВСТ1 транспортер, а также две ОРС, кодирующие ВисА-подобные белки [5]. Присутствие в геноме *Microcoleus* ОРС, кодирующих белки, гомологичные СhpX/Y, может свидетельствовать о наличии у этой цианобактерии систем облегченной диффузии CO_2 .

Полученные нами данные говорят о том, что в целом система КА *Microcoleus* IPPAS В-353 имеет много общего с таковой у модельных штаммов β -цианобактерий. Однако следует подчеркнуть, что белок СаhВ1 у *Microcoleus* является наружным [9] в отличие от карбоксисомальной СсаА у *Synechocystis* и *Synechococcus*. Следует также отметить, что возведенные последовательности белков, соответствующих у *Microcoleus* двум γ -КА (СсмМ и СаhG), имеют одиночные замены аминокислот, считающихся для этого класса фермента консервативными. Аналогичным образом, единичные замены консервативных аминокислот имеют место у белка СhpX *Microcoleus*. Обнаруженные различия между системой КА модельных β -цианобактерий и *Microcoleus* могут быть следствием обособленной эволюции последнего в экстремальных условиях содовых озер.

Заключение

Согласно классическим представлениям, ССМ появился около 350 млн. лет назад, когда произошло глобальное понижение концентрации CO_2 в атмосфере [2]. Однако, не исключается возможность возникновения ССМ при снижении содержания CO_2 в атмосфере в ледниковый период примерно 2.4, 0.75 и 0.6 млрд. лет назад [10]. Также имеется мнение, что ССМ сформировался 2.3-2.5 млрд. лет назад в Докембрии, несмотря на высокую концентрацию CO_2 и следовую O_2 в атмосфере. Наличие толстых экзополисахаридных чехлов у древних бентосных цианобактерий приводило к снижению диффузии и, как следствие, к недостатку CO_2 и повышению внутриклеточной концентрации O_2 , ингибирующего карбоксилазную активность РБФК/О. Подобные условия могли способствовать становлению ССМ [10]. Дополнительное затруднение диффузии также могло иметь место из-за отложения CaCO_3 во внешних слоях клетки при кальцификации древних цианобактерий [7].

Можно полагать, что наличие всех элементов ССМ у реликтовых цианобактерий свидетельствуют в пользу очень раннего докембрийского происхождения ССМ. Вместе с тем, полученные нами данные ставят вопрос о том, является ли присутствие компонентов ССМ у алкалофильных цианобактерий артефактом или этот механизм служит необходимым инструментом для фотосинтетической ассимиляции Сi в условиях содовых озер. Очевидно, ССМ может активироваться у цианобактерий содовых озер при неблагоприятных условиях (сезонные циклы опреснения). Второй причиной сохранения функционально активного ССМ может служить недостаток подходящей формы экзогенного Сi: при высоких рН в среде наблюдается избыток карбоната и низкая концентрация HCO_3^- . Помимо этого, упомянутая выше проблема затрудненной диффузии CO_2/O_2 в циано-бактериальных сообществах сохраняется и в наши дни.

Таким образом, ССМ мог впервые появиться у бентосных цианобактерий в Докембрии, что позволило им в дальнейшем не только приспособиться к атмосфере с низким содержанием CO_2 , но и сохраниться до наших дней в экстремальных условиях содовых озер.

Работа поддержана грантом Российского фонда фундаментальных исследований (№ 13-04-00193а).

Литература

1. Kasting J.F. Theoretical constraints on oxygen and carbon dioxide concentrations in the Precambrian atmosphere // *Precambrian Res.* 1987. V. 34. P. 205–229.
2. Price G.D., Badger M.R., Wodger F.J., Long B.M. Advances in understanding the cyanobacterial CO₂-concentrating mechanism (CCM): functional components, Ci transporters, diversity, genetic regulation and prospects for engineering into plants // *J. Exp. Bot.* 2008. V. 59. P. 1441–1461.
3. Куприянова Е.В., Пронина Н.А. CO₂-концентрирующий механизм при фотосинтезе цианобактерий: организация, физиологическая роль и эволюция // *Фотосинтез: открытые вопросы и что мы знаем сегодня* / Под ред. Аллахвердиева С.И., Рубина А.Б., Шувалова В.А. М.-Ижевск: Институт компьютерных исследований, 2013. С. 617–640.
4. Заварзин Г.А. Становление Биосферы // *Вестн. РАН.* 2001. Т. 71. С. 988–1001.
5. Куприянова Е.В., Синетова М.А., Cho S.M., Park Y.-I., Маркелова А.Г., Лось Д.А., Пронина Н.А. Особенности системы карбоангидраз алкалофильных цианобактерий // *Физиология растений.* 2013. Т. 60. С. 491–498.
6. Герасименко Л.М., Митюшина Л.Л., Намсараев Б.Б. Маты *Microcoleus* из алкалофильных и галофильных сообществ // *Микробиология.* 2003. Т. 72. С. 84–92.
7. Kupriyanova E., Villarejo A., Markelova A., Gerasimenko L., Zavarzin G., Samuelsson G., Los D., Pronina N. Extracellular carbonic anhydrases of the stromatolite-forming cyanobacterium *Microcoleus chthonoplastes* // *Microbiology (SGM).* 2007. V. 153. P. 1149–1156.
8. Williams J.G.K. Construction of specific mutations in photosystem II photosynthetic reaction center by genetic engineering methods in *Synechocystis* PCC6803 // *Methods Enzymol.* 1988. V. 167. P. 766–778.
9. Kupriyanova E.V., Sinetova M.A., Markelova A.G., Allakhverdiev S.I., Los D.A., Pronina N.A. Extracellular β -class carbonic anhydrase of the alkaliphilic cyanobacterium *Microcoleus chthonoplastes* // *J. Photochem. Photobiol. B: Biology.* 2011. V. 103. P. 78–86.
10. Giordano M., Beardall J., Raven, J.A. CO₂ concentrating mechanism in algae: mechanisms, environmental modulation, and evolution // *Annu. Rev. Plant Biol.* 2005. V. 56. P. 99–131.

COMPONENTS OF THE CO₂-CONCENTRATING MECHANISM IN RELICT ALKALIPHILIC CYANOBACTERIUM MICROCOLEUS

Kupriyanova E.V., Pronina N.A.

cyanobacteria, soda lakes, genome, carbonic anhydrase, CO₂-concentrating mechanism (CCM)

The components of CO₂-concentrating mechanism were identified in genome of the alkaliphilic relict cyanobacterium *Microcoleus* IPPAS B-353. The composition of the CCM components of *Microcoleus* is quite similar to that of ‘modern’ β -cyanobacteria. This may indicate that the appearance CCM could occur much earlier in the Precambrian period, then currently assumed at about 350 million years ago.

ВЛИЯНИЕ НИКЕЛЯ И БАКТЕРИЙ *BACILLUS SUBTILIS* НА МИКОРИЗУ ПШЕНИЦЫ

Курамшина З.М.¹, Смирнова Ю.В.¹, Хайруллин Р.М.²

¹Стерлитамакский филиал ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный университет»,
пр. Ленина, 49, г. Стерлитамак, 453109, Россия, E-mail: kuramshina_zilya@mail.ru

²ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, пр. Октября, 71, г. Уфа, 450054, Россия,
E-mail: krm62@mail.ru

Triticum aestivum, везикулярно-арбускулярная микориза, эндофитные штаммы *Bacillus subtilis*, никель

Введение

В настоящее время в растениеводстве особое внимание привлекают препараты на основе эндофитных штаммов микроорганизмов, благодаря их способности проникать в растительные ткани и мутуалистически сосуществовать с растением-хозяином. Кроме этого, некоторые виды подобных бактерий, например, *Bacillus subtilis* способны продуцировать различные по структуре антибиотики, ферменты и другие биологически активные вещества [1], защищающие растения от фитопатогенов, стимулирующие рост, улучшающие минеральное питание, повышающие устойчивость растений к различным стрессовым факторам, в том числе и к действию тяжелых металлов [2]. Несмотря на позитивные результаты применения некоторых препаратов на основе живых клеток эндофитных штаммов бактерий *B. subtilis* их биологические свойства и экологическая роль остаются до конца не изученными. Например, в научной литературе не встречаются сведения о влиянии эндофитных антагонистов *B. subtilis* на эндомикоризные грибы. Не выяснена также роль эндофитных бактерий в формировании эндомикоризы в условиях токсического действия различных соединений, в том числе и тяжелых металлов.

Целью настоящей работы явилось изучение влияния инокуляции семян пшеницы эндофитными штаммами бактерий *Bacillus subtilis*, способных служить основой коммерческих биофунгицидов на микоризацию корней в условиях воздействия ионов никеля.

Материалы и методы

Объектом исследования были растения мягкой яровой пшеницы *Triticum aestivum* L. сорта Омская 35. Перед посевом семена калибровали, отбирали, обрабатывали суспензией спор (106 клеток/мл) эндофитных штаммов бактерий *B. subtilis* 26Д (коллекция ВНИИСХМ №128, основа коммерческого препарата фитоспорин М) и *B. subtilis* 11ВМ (ВНИИСХМ №519, штамм перспективный для создания биофунгицида). Семена высевали в почву (выщелоченный чернозем), собранную с поля, где выращивалась яровая пшеница. В почву после посева поливали равными для каждого контейнера объемами раствором соли Ni(NO₃)₂·6H₂O так, чтобы концентрация ионов металлов достигала, соответственно, 10 и 200 мг/кг почвы, для контрольных сосудов использовали дистиллированную воду.

Растения выращивали в одинаковых условиях при дневном освещении и температуре воздуха 20-22°C, периодически поливая их равным количеством дистиллированной воды по мере подсыхания верхнего слоя почвы. Через 60 дней растения аккуратно извлекали из земли, не повреждая корней и листьев, промывали в проточной воде, подсушивали и измеряли длину корней и побегов. Корни затем анализировали на наличие микоризы. Для этого их осветляли в растворе 10%-ного гидроксида калия, затем промывали дистиллированной водой, переносили в 2%-ный раствор соляной кислоты и окрашивали трепановым синим (7). При определении степени колонизации микоризы использовали стандартную технику световой микроскопии окрашенных корней. При помощи компьютерной программы «Mycocalc»

вычисляли частоту (F %) и интенсивность (M %) колонизации микоризы в корневой системе согласно Trouvelot (1986) [3].

Эксперимент проводили в трех биологических повторностях. В таблицах приведенные средние из трех повторов и их стандартные отклонения, рассчитанные с использованием программы «Microsoft Exel 2003».

Результаты и обсуждение

Обработка семян пшеницы спорами бактерий *Bacillus subtilis* шт. 26Д и 11 ВМ понижала частота микоризации на 20,4% и 27%, соответственно, интенсивность микоризации в корневой системе практически не изменялась (таблицы 1 и 2), что соответствовало данным, полученным нами ранее [2].

Таблица 1 -Влияние ионов никеля и бактерий *B. subtilis* на частоту микоризации (F%) корней пшеницы

Table 1 -The effect of nickel ions and *B. subtilis* bacteria on the mycorrhization frequency (F%) of wheat roots

Сельскохозяйственные культуры	Вариант	Контроль	Никель, мг/кг	
			10	200
Пшеница	Без обработки	76.0 ±0.3	47.8±0.6	39.0±0.1
	<i>B.subtilis</i> 26Д	60.5±0.1	59.4±0.7	45.2±0.3
	<i>B.subtilis</i> 11ВМ	55.4±0.1	47.5±0.2	41.7±0.4

Таблица 2 - Влияние ионов никеля и бактерий *B. subtilis* на интенсивность микоризации (M%) корней пшеницы

Table 2 -The effect of nickel ions and *B. subtilis* bacteria on the mycorrhization intensity (M%) of wheat roots

Сельскохозяйственные культуры	Вариант	Контроль	Никель, мг/кг	
			10	200
Пшеница	Без обработки	1.32±0.2	0.8±0.2	0.5±0.2
	<i>B.subtilis</i> 26Д	1.1±0.2	1.1±0.2	0.6±0.1
	<i>B.subtilis</i> 11ВМ	0.8±0.1	0.6±0.1	0.5±0.1

Поступление никеля в почву подавляло формирование микоризы в корнях всех культур в том случае, если семена не обрабатывались ни одним из бактериальных препаратов. С ростом концентрации иона металла такой негативный эффект усиливался. Показатель F снижался при воздействии металла в концентрации 10 мг/кг на 59%, 200 мг/кг – на 94,8% в сравнении со значениями в контрольном варианте, где в почву не вносили соли и не обрабатывали семена (табл. 1); показатель M – снижался на 39,4% и 62%, соответственно (табл. 2).

Предобработка семян сельскохозяйственных культур бактериальными препаратами снижала токсическое действие иона металла. Так, у растений, обработанных бациллами штамма *B. subtilis* 26Д, частота и интенсивность микоризации при воздействии ионов никеля в концентрации 10 и 200 мг/кг были на 16% и 20% соответственно выше, чем у неинокулированных бактериями растений (табл. 1, 2).

Заключение

У растений, предобработанных бациллами, при стрессе, вызванном никелем, снижение микоризообразования было менее выражено, чем у неинокулированных. Ранее [4] нами было высказано предположение о том, что уменьшение микоризообразования в корнях пшеницы является комплексным показателем проявления биологической активности эндофитных бацилл. Известно, что *B. subtilis*, способны синтезировать в большом количестве разнообразные антагонистичные метаболиты (различные по структуре антибиотики, ферменты и другие биологически активные вещества) [5]. Уменьшение выноса тяжелых металлов из почвы растениями может происходить, вероятно, из-за аккумуляции металлов микроорганизмами,

сорбции ионов на их клеточной стенке, синтеза бациллами хелатирующих агентов и образования нерастворимых соединений.

Литература

1. Whipps J.M. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere / J.M. Whipps // J. Exp. Bot. – 2001. – Vol. 52. – P. 487–511.

2. Курамшина З.М. Повышение толерантности проростков подсолнечника *Helianthus annuus*, инокулированных эндофитным штаммом *Bacillus subtilis* 26, к действию тяжелых металлов. Сообщение 2. Антистрессовая активность эндофита *Bacillus subtilis* 26, при действии тяжелых металлов на растения подсолнечника *Helianthus annuus*. Материалы IV Всероссийской научно-практической конференции «Проблемы экологии Южного Урала» / З.М. Курамшина, Ю.В.Смирнова, Р.М. Хайруллин // Вестник Оренбургского государственного университета». Оренбург. – 2009. –С. 461– 463.

3. Trouvelot A, Kough and Gianinazzi-Pearson V. Mesure du taux de mycorrhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle / V. Gianinazzi-Pearson and S. Gianinazzi // Physiological and Genetical Aspect of Mycorrhizae . INRA Press. Paris,. – 1986. – P. 217– 221.

4. Егоршина А.А. Фосфат-мобилизирующая активность эндофитных штаммов *Bacillus subtilis* и их влияние на степень микоризации корней пшеницы / А.А. Егоршина, Р.М. Хайруллин, М.А.Лукьянцев, З.М. Курамшина, Ю.В. Смирнова // Журнал Сибирского федерального университета. Серия «Биология». – 2011. –Т. 4. – № 2. – Стр. 172–182.

5. Минина Т.С. Новые эндофитные штаммы *Bacillus subtilis* как основа биофунгицидов / Т.С.Минина // Вестник Казанского государственного аграрного университета. –2009.– № 2(12). – С. 55–59.

THE EFFECT OF NICKEL AND *BACILLUS SUBTILIS* BACTERIA ON THE WHEAT MYCORRHIZAE

Kuramshina Z.M., Smirnova Y.V., Khairullin P.M.

Triticum aestivum, vesicular-arbuscular mycorrhiza, endophytic strains of *Bacillus subtilis*, nickel.

Treatment of wheat seeds by *Bacillus subtilis* bacteria reduced the mycorrhization of plant roots. Adding salt of nickel nitrate (10 and 200 mg / kg soil) to the soil inhibited the development of mycorrhizal fungi. In all the studied cultures, pretreated bacilli, under stress caused by nickel, reducing mycorrhiza formation was less vivid than in noninoculated plants.

ВЛИЯНИЕ ЦИТОХАЛАЗИНА Б - СТРУКТУРНОГО МОДИФИКАТОРА МИКРОФИЛАМЕНТОВ НА РОСТ ОРГАНОВ *SOLANUM TUBEROSUM*

Ланцев В.Л.

ФГБОУ ВПО «Орловский государственный университет», ул. Комсомольская, 95, г. Орел,
302026, Россия, E-mail: vic_lan@mail.ru

цитохалазин Б, масса органов, картофель

Цитоскелет растительной клетки в последнее время является объектом пристального внимания исследователей. Доказано, что микротрубочки и микрофиламенты участвуют в реализации внутриклеточной подвижности органоидов, определяют полярность клетки, выполняют сигнальную функцию [1,2]. Наряду с этим, остается малоизученным вопрос об участии элементов цитоскелета в регуляции роста и развития растений. Прежде всего это касается актиновых филаментов [3].

Целью проведенного исследования стало изучение влияния специфического ингибитора полимеризации актина цитохалазина Б на ростовые показатели растений картофеля.

Исследования проводили на растениях *S. tuberosum* сорта Удача селекции ВНИИКХ (Коренёво, Россия), выращенных в почвенной культуре на серой лесной почве в условиях агробиостанции Орловского госуниверситета. Влажность почвы поддерживали на уровне 60% от её полной влагоемкости. Варианты опыта включали: опрыскивание растений через 15 дней после появления всходов 0,01 мМ раствором цитохалазина Б, контрольные растения опрыскивали водой. Сырую и сухую массу органов картофеля определяли путем взвешивания на электронных весах (ВСТ – 600/10, Россия). Биологическая повторность опытов пятикратная. Достоверность полученных результатов оценивали при помощи критерия Стьюдента.

Анализ данных таблицы свидетельствует о том, что деструкция актиновых филаментов оказала неоднозначное влияние на массу различных органов растения. Так, сырая масса листьев и стеблей практически не изменилась по сравнению с контролем (она была в пределах ошибки опыта). Вместе с тем, цитохалазин Б достоверно увеличил массу корней (на 60% против контроля). Особо следует отметить тот факт, что нарушение целостности актинового цитоскелета существенным образом уменьшило массу клубней - в 3,5 раза. Возможно, это связано с нарушением оттока ассимилятов, так как количество клубней в данном варианте было на уровне контроля ($3,4 \pm 0,3$ против $3,55 \pm 0,4$).

Таблица 1 - Масса органов растений картофеля, обработанных цитохалазином Б
Table 1 - Weight of organs of potato plants treated with cytochalasin B

Вариант	Сырая масса органов, г			
	стебли	листья	корни	клубни
Контроль	$30,54 \pm 1,34$	$18,13 \pm 0,71$	$6,44 \pm 0,54$	$34,89 \pm 2,59$
Цитохалазин Б	$27,38 \pm 2,01$	$21,79 \pm 1,22$	$10,37 \pm 1,11$	$9,75 \pm 0,47$

Специфическое влияние цитохалазина Б на рост отдельных органов в конечном итоге сказалось на массе целого растения (рис. а). Снижение составило 23% по сравнению с контролем. Данные рис. б свидетельствуют о том, что это произошло за счет уменьшения массы подземной части растений.

Сходные результаты получены и при измерении сухой массы как целых растений, так и их отдельных органов. При этом отмечено, что оводненность во всех вариантах опыта составила приблизительно 87%.

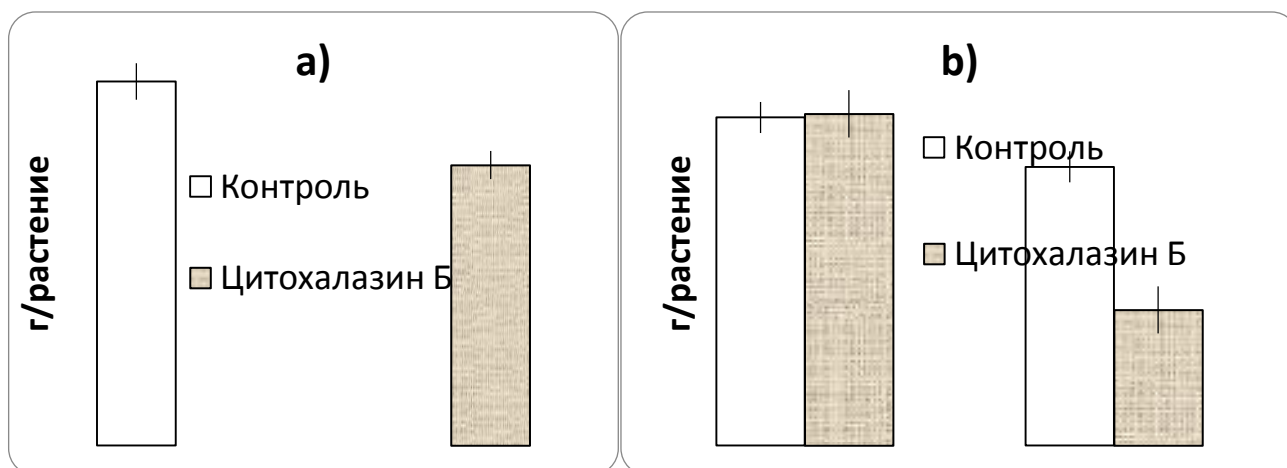


Рисунок 1 - Влияние цитохалазина Б на массу растения в фазу цветения (г/растение)
 а). масса целого растения, б). масса надземной (1) и подземной (2) части растений.

Figure 1 - Effect of cytochalasin B on the weight of the plants in the flowering phase.

a). weight of the whole plant, b). mass of over-ground (1) and underground (2) parts of plants.

Таким образом, в условиях нарушения целостности актинового цитоскелета цитохалазином Б выявлено: значительное торможение процесса клубнеобразования, некоторая стимуляция роста корней и отсутствие эффекта на накопление массы надземных побегов.

Литература

1. Медведев С.С., Маркова И.В. Цитоскелет и полярность растений // Физиология растений. 1998. Т. 45. №2. С. 185 – 197.
2. Клячко Н.Л. Цитоскелет и внутриклеточная подвижность у растений // Физиология растений. 2005. Т. 52. №5. С. 786 – 795.
3. Шевченко Г.В. Взаимодействие микротрубочек и микрофиламентов в дистальной зоне растяжения корня *Arabidopsis thaliana* // Цитология и генетика. 2009. №4. С. 3 - 11.

THE INFLUENCE OF CYTOCHALASIN B - STRUCTURE MODIFIER OF MICROFILAMENTS ON A GROWTH OF ORGANS OF *SOLANUM TUBEROSUM*

Lantcev V.L.

cytochalasin B, mass of organs, potato

Investigated the dependence of the mass of *Solanum tuberosum* on the integrity of the actin cytoskeleton. Plants subjected to the action of cytochalasin B, characterized by: a significant inhibition of the tuber, a stimulation of root growth and the lack of effect on the accumulation of mass overground shoots.

УДК: 581.1:577.15.

ЗАГРЯЗНЕНИЕ ПОЧВЫ Cu И Pb, СОДЕРЖАНИЕ Fe, Cu, Mn, Zn, Pb И АКТИВНОСТЬ НИТРАТРЕДУКТАЗЫ В РАСТЕНИЯХ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПРИМЕНЕНИЯ СУЛЬФАТОВ

Лисник С.С., Тома С.И., Корецкая Ю.Л.

Институт генетики, физиологии и защиты растений АН Республики Молдовы,
ул. Лесная, 20, г. Кишинёв, Молдова, E-mail: slisnic@rambler.ru

тяжёлые металлы, загрязнение почвы, фитоэкстракция, нитратредуктаза, сульфаты

Введение

В условиях напряженной экологической ситуации во многих регионах мира изучение загрязнения почв тяжелыми металлами является одним из сложных комплексных проблем защиты окружающей среды. Загрязнение тяжелыми металлами происходит как за счет развития современной промышленности, так и физиологических и биохимических особенностях металлов. В Молдове загрязнение почв медью отмечается под многолетними насаждениями (садов и виноградников) в результате интенсивных проведенных обработок содержащей медь препаратами. Загрязнение почв тяжелыми металлами сопровождается нарушениями в структуре микроорганизмов почв, связанных непосредственно с ферментативной активностью почв, нарушается поступление элементов питания и обмен веществ в растениях, вследствие чего снижается урожай и его качество [1,2].

Одним из способов улучшения физиологического состояния растений в таких условиях может быть применение сульфатов. Известно, что сера в растении участвует в процессах фотосинтеза, дыхания, синтеза хлорофилла, каротиноидов, некоторых витаминов, в азотном и углеводном обмене, в более эффективном включении в метаболизм элементов питания. Стимулирование метаболизма у растений сульфатами связано с участием серы в образовании S-N групп и S-S связи ферментов [3,4, 6].

Цель настоящих исследований – выявить закономерности в изменении активности нитратредуктазы в листьях, накоплении Pb, Cu, Fe, Mn и Zn в растениях при загрязнении почвы солями свинца и меди и влияние сульфатов на эти процессы.

Материалы и методы

Загрязнение почвы Pb и Cu в условиях полевого опыта проводилась на полях экспериментальной базы института генетики, физиологии и защиты растений АН Республики Молдовы на микроделанках (1м²) в трёх повтрностях. Удобрения при посеве вносились из расчёта 90 и 180 кг поллютанта/га. Сульфат натрия вносили из расчёта 60 кг элемента/га. Почва – чернозём карбонатный. Схема опыта: контроль; контроль+ S90; Pb90; Pb90 +S; Pb180; Pb180 +S. и по той же схеме варианты с загрязнениями Cu. Некорневая обработка растений сои (сорт Букурия) сульфатами проводилась 0,1%- ным раствором сернокислого натрия из расчёта 150л/га в фазе ветвления и начало цветения. Для выявления накопления тяжелых металлов в надземной массе растений вдоль автодорог были отобраны образцы ячменя (сорт Витанта), подсолнечника (гибрид Дрофа SNH 311) на расстоянии 20, 70 и 120м от автодорог. Эффект применения сульфатов изучали и при некорневой обработке сахарной свёклы (в фазе смыкания листьев в рядок) сульфатами на сорте Gerorgina на расстоянии 20м от автодороги.

Активность нитратредуктазы *in vivo* определяли по Мульдеру [5], содержание моносахаров и сахарозы – по Бертрану[5], содержание тяжелых металлов – на AAS-1.

Результаты и обсуждение

Загрязнение почвы Pb и Cu приводило к некоторому снижению первичного процесса восстановления нитратов в листьях растений сои по сравнению с листьями растений контрольного варианта, особенно при высоких дозах загрязнителей (180 кг/га). На фоне повышенных доз Pb и Cu внесение сульфатов способствовало поддержанию на более высоком

уровне активности нитратредуктазы в листьях, что свидетельствует о стимулировании в этих условиях ассимиляции нитратов растениями. Поддержание на более высоком уровне активности нитратредуктазы в листьях связано как с частичной иммобилизацией Pb и Cu в почве, так и с усилением поступления серы в растения, с взаимодействием поступившей серы с Pb и Cu, восстановлением S-H групп и S-S связей в энзимах, в том числе нитратредуктазы.

Эффект серы более существенен при применении некорневой обработки растений сульфатами. Это может быть связано с тем, что при высоких дозах тяжелых металлов в почве повышается их содержание в растениях, способствуя, тем самым, падению активности нитратредуктазы в листьях. Поступление серы в листьях после некорневой обработки сульфатами способствует иммобилизации Pb и Cu в растениях, активации серосодержащих ферментов, приводящих, в конечном счете, к улучшению физиологического состояния растений. Следует отметить также, что более высокая активность нитратредуктазы у обработанных растений серой наблюдалось в течение всего вегетационного периода.

Загрязнение почвы Pb и Cu значительно повлияло на повышение их содержания в надземной части растения. Внесение серы в почву несколько снизило содержание Pb и Cu в надземной массе. Это связано главным образом с эффектом «разбавления роста» растений, поскольку общий их вынос (Фитоэкстракция) в этих условиях выше. Наблюдается антагонизм в накоплении Pb и Cu при избыточном содержании одного из них в почве. Отметим также незначительное снижение содержания Mn, Zn и Fe при загрязнении почвы Cu и повышение содержания Mn и Zn при загрязнении Pb.

Выявлено повышение содержания тяжёлых металлов в надземной массе растений подсолнечника (гибрид Дрофа) и ячменя (сорт Витанта) при их возделывании вдоль автодорожных трасс. Содержание Pb, Cu, Zn и Fe несколько выше на расстоянии 10 – 20 м от автострад, что непосредственно связано со сжиганием топлива транспортными средствами. Их накопление (в меньшей степени) наблюдалось и на расстоянии до 70 м от трассы и практически отсутствовало на расстоянии 120 м. Следует также отметить различия в накоплении тяжёлых металлов от культуры: содержание тяжелых металлов в растениях подсолнечника на единицу сухого вещества выше, чем у ячменя, что, по-видимому, связано с более выраженной способностью растений подсолнечника поглощать, транспортировать и аккумулировать тяжелые металлы в надземной части растения. В опытах с сахарной свёклой сорта Georgina (Оргеевский район, компания с ограниченной ответственностью „Vindex Agro”) на расстоянии 10 – 20 м от автострады отмечено накопление в листьях Pb, Fe, Cu и Mn в то время как содержание Zn практически не изменилось. Тенденция к увеличению содержания этих тяжелых металлов наблюдалась и на расстоянии до 70 м от автотрассы. Такие же закономерности наблюдались и в корешках. В корнеплодах же отмечено некоторое повышение содержания Fe и Cu, в то время как содержание Pb, Zn и Mn не изменялось.

На расстоянии 20 м от автотрассы в фазе смыкания листьев в рядок проводилась некорневая обработка растений сахарной свёклы 0,05% - ным раствором сернокислого натрия. Обработка растений сульфатами поддерживала первичный процесс восстановления нитратов в листьях на более высоком уровне по сравнению с контрольным вариантом, где листья обрабатывались водой. Применение некорневой обработки растений сульфатами способствовало повышению урожая корнеплодов на 3,7 т/га или на 4,9%, в то же время содержание в них сахара осталось практически на уровне контроля - 15,7% (в контроле – 15,6%).

Выводы

1. Загрязнение почвы Pb и Cu способствовало их накоплению в надземной массе растений, к снижению в листьях активности нитратредуктазы и накоплению биомассы растений. Внесение сульфатов в почву и некорневым способом на фоне загрязнения Pb и Cu приводило к поддержанию активности нитратредуктазы в листьях на более высоком уровне и увеличению накопления надземной массы растениями сои. Фитоэкстракция Pb и Cu из почвы возрастало главным образом за счёт «эффекта разбавления» роста растений.

2. Отмечено некоторое накопление Pb в надземных органах на культурах соя, ячмень, подсолнечника, сахарная свекла на расстоянии 10 – 20 м от автотранспортных магистралей. Накопление поллютанта значительно снижается на расстоянии 70 м и практически отсутствует на расстоянии 120 м от автомагистралей.

3. Применение некорневой обработки растений сахарной свеклы 0,05%-ным раствором сернокислого натрия способствовало повышению активности нитратредуктазы в листьях (на расстоянии 10 – 20 м от автотранспортных дорог), увеличению урожая корнеплодов на 3,7 т/га или на 4,9% и сохранению содержания в них сахара на уровне контроля – 15,7% (на контроле – 15,6%).

Литература

1. Andres Schützendübel and Andrea Polle. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization. *Journal of Experimental Botany*, 2001. V.53, N 53, P.1351- 1365

2. Arshad Jamall, Yong-Sun Moon, Malik Zainul Abdin. Enzyme activity assessment of peanut (*Arachis hypogea* L.) under slow-release sulphur. Fertilization. *Australian Journal of Crop Science*, 2010. 4. (3):P. 169-174

3. Kastori R., Petrovic N. Effect of lead on the activities of some enzymes of nitrogen metabolism in sugar beet. *Biol. Plant*, 1994. V.36. P.193.

4. Toma S., Lisnic S. Rolul sulfurului în reglarea activității nitratreductazei în plante la poluarea solului cu cupru și plumb. *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei*. Chișinău. 2004. N1. P. 165-169.

5. Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П., Перуанский Ю.В., Луковникова М.И., Луковников М.И. Методы биохимического анализа растений. Ленинград. 1987. С. 430.

6. Ягодин Б.А. Сера, магний и микроэлементы в питании растений. *Агрохимия*, 1985. N11. С.117-125.

POLLUTION OF SOIL WITH Pb AND Cu, CONTENT OF Fe, Cu, Mn, Zn, Pb AND NITRATE REDUCTASE ACTIVITY IN PLANTS DEPENDING ON SULPHATES APPLICATION

Lisnic S.S., Toma S.I., Coretscaia Iu.L.

heavy metals, soil pollution, phytoextraction, nitrate reductase, sulphates

Administration of sulphates in soil and foliar treatment of soybean plants by sulphates on the background soil pollution with copper and lead contributed in increasing of nitrate reductase activity in leaves and accumulation of vegetative mass by plants. Application of sulphates contributes to a slight decrease in the accumulation of pollutants in aerial organs of plants and their increased phytoextractions is due to the effect of "growth dilution" of plants.

**РАЗРАБОТКА НОВОГО МЕТОДА ДИАГНОСТИКИ УСТОЙЧИВОСТИ
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР К ЗАГРЯЗНЕНИЮ ПОЧВ
ФТОРИДАМИ АЛЮМИНИЕВОГО ПРОИЗВОДСТВА**

Ломоватская Л.А., Рыжун О.В., Симакова А.А., Соколова Л.Г., Романенко А.С.

ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, ул. Лермонтова,
132, а/я 317, г. Иркутск, 664033, Россия, E-mail: LidaL@sifibr.irk.ru

фторидное загрязнение почв, пшеница, люцерна, кукуруза, редька масличная, цАМФ, диагностика устойчивости

Известно, что повышенное содержание легкорастворимых фторсодержащих соединений в почве может способствовать их интенсивной транслокации в системе «почва-растение». Несомненно, что степень токсичного влияния фтора на растения зависит от его концентрации в почве и эффективности функционирования физиологических барьеров самих растений [11]. Поэтому отбор сельскохозяйственных культур, отличающихся повышенной устойчивостью к фторидам алюминиевого производства весьма важен. В связи с этим возникает вопрос о критериях, по которым можно оценивать устойчивость той или иной культуры. Сигнальные системы растений весьма подходящий объект для исследования стрессовой реакции растений, поскольку изменение их активности, связано с изменением экспрессии генома, и, в конечном счете, ведет к модуляции других физиологических параметров растений [3,4,6,8]. Существует ряд доказательств, указывающих на то, что циклический аденозинмонофосфат (цАМФ), как вторичный мессенджер аденилатциклазной сигнальной системы (АСС) системы, участвует в ответной реакции растений на различные виды стрессов [2,4,9,10,11]. Исходя из этого, представляло интерес исследовать изменение активности АСС некоторых сельскохозяйственных культур к загрязнению почв фторидами.

Материалы и методы

Объектом исследований служили районированные сорта яровой пшеницы *Triticum aestivum* L. (Тулунская-12), люцерны посевной *Medicago sativa* (Таежная), кукурузы *Zea mays* L. (Обский 140СВ), редьки масличной *Raphanus sativus* (линия ИргСХА). Все растения возделывались в полевых мелкоделяночных опытах одновременно на незагрязненной (вариант опыта «контроль») и загрязненной фторидами алюминиевого производства ИркАЗ-РУСАЛ (вариант опыта «промышленное загрязнение») агросерых почвах. Также, на незагрязненной почве моделировали близкий уровень загрязнения путем внесения фторида натрия, который преобладает в составе твердых выбросов ИРКАЗа (вариант опыта «модельное загрязнение»). Опыты проводили по разработанной ранее методике [5].

Содержание фторидов в почве и растениях определяли спектрофотометрически [1]. Уровень цАМФ в образцах определяли модифицированным ИФА с применением первичных антител к цАМФ и вторичных антител, меченных пероксидазой [11].

Результаты и обсуждение

На незагрязненной почве (контроль) концентрация водорастворимых фторидов составляло 4 мг/кг или < ПДК (ПДК – 10 мг/ кг почвы), на загрязненной NaF (модельное загрязнение) – 87 мг/кг или 9 ПДК, тогда как на загрязненной выбросами ИРКАЗа (промышленное загрязнение) - 103 мг F /кг или 10 ПДК.

Анализ активности АСС растений, оцениваемый по уровню цАМФ в различных органах, показал, что ее уровень весьма индивидуален для каждого вида растений. Обращает на себя внимание тот факт, что у пшеницы уровень цАМФ во всех вариантах опыта был значительно выше, чем в органах других видов растений. Прослеживалась тенденция максимального содержания цАМФ в листьях (табл.1).

Таблица 1 - Концентрация цАМФ (нМ/ г. массы сыр в-ва) в органах растений различных сельскохозяйственных культур

Table 1 - cAMP concentration (nM/ g. raw substance) in the bodies of plants of various crops

Орган	Контроль	Модельное загрязнение	Промышленное загрязнение
Пшеница			
Корень	20±3	64±5	720±45
Стебель	0,68±0,09	1,5±0,08	200±12
Лист	198±15	256±18	370±22
Кукуруза			
Корень	0,2±0,01	0,2±0,01	0,1±0,006
Стебель	0,2±0,01	20±1	0,1±0,005
Лист	0,3±0,01	30±2,5	0,7±0,05
Люцерна			
Корень	0,04±0,002	0,03±0,001	0
Стебель	0,08±0,006	1600±98	0,02±0,001
Лист	0,2±0,01	1000±79	0,6±0,005
Редька масличная			
Корень	0,03±0,001	0,001±0,0003	0,1±0,001
Стебель	0,06±0,003	0,01±0,001	0
Лист	0,2±0,01	0,01±0,001	0

Вызывают интерес результаты по влиянию в варианте «модельное загрязнение». У всех видов растений, кроме редьки масличной, уровень цАМФ возрастал очень существенно, и в большей степени в листьях. При этом, у пшеницы этот феномен был выражен в меньшей степени, чем у растений люцерны и кукурузы. Наиболее сильная активация АСС у нее наблюдалась в корнях. Это, скорее всего, свидетельствует об индивидуальных видовых особенностях растений и связано со специфичностью реализуемых механизмов устойчивости. О наличии предполагаемых особенностей говорит и максимальный активирующий эффект в корнях пшеницы. У растений остальных видов, за исключением редьки масличной, уровень цАМФ преобладал в стебле и листьях. Это, в свою очередь, свидетельствует о развитии системной модуляции активности АСС, поскольку непосредственное воздействие NaF испытывали только корни, но уровень цАМФ повышался в листьях и стебле. Фторид, являясь легко растворимым и подвижным соединением, проникает в корень. Таким образом, возникает возможность активации мембранной аденилатциклазы (мАЦ). Известно, что фторид является активатором G-белка, через который и происходит передача сигнала к мАЦ [11].

Анализ почвы в варианте «промышленное загрязнение» показал присутствие в ней тяжелых металлов, которые способны существенно модулировать активность растительных сигнальных систем. В растениях пшеницы активация АСС была выражена в наибольшей степени. В люцерне и в редьке масличной активность АСС была заингибирована в различной степени.

В литературе имеются сведения о том, что пшеница весьма толерантна к фторидам и тяжелым металлам [7]. Наименее устойчивыми к таким видам загрязнений считаются кукуруза и люцерна. Таким образом, первые результаты, изложенные в этой статье, свидетельствуют о наличии связи между степенью модуляции активности АСС растений и устойчивостью к поллютантам различной природы.

Выводы

Таким образом, изложенные результаты позволяют сделать ряд выводов:

- Несмотря на то, что непосредственный контакт с поллютантом испытывают только корни, эффект от их воздействия на АСС растений наблюдается во всех органах растений.

- Загрязнение почв фторидами стимулирует активность АСС в клетках пшеницы, люцерны и ингибирует в клетках редьки масличной.
- Активность АСС растений, выращенных на почвах с промышленным загрязнением, снижена во всех органах растений. Исключение составляет пшеница, где сохраняется высокий уровень цАМФ в подземных и надземных частях растения.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 14-05-00735 А

Литература

1. Дмитриев М.Т. Санитарно-химический анализ загрязняющих веществ в окружающей среде / М.Т. Дмитриев, Н.И. Казнина, И.А. Пинигина // Справочное издание – М.: Химия, 1989. – С. 368.
2. Каримова Ф.Г. цАМФ–зависимое фосфорилирование белков гороха, индуцированное форсколином / Ф. Г. Каримова, Е. В. Тырыкина, О. Ю. Захарова // Физиология растений. – 2005. – Т. 52. – С. 27–35.
3. Кузнецов В. В. Общие системы устойчивости и трансдукция стрессорного сигнала при адаптации растений к абиотическим факторам / В.В. Кузнецов // Вестник Нижегородского Университета, с. Биология. – 2001. – № 1. – С. 65-69.
4. Ломоватская Л.А. Аденилатциклазы и устойчивость растений к стрессам / Л.А. Ломоватская, А.С. Романенко, Н. В. Филинова.– Иркутск: Изд-во Инст. Геогр. Им. В. Б. Сочавы СО РАН, 2010. – 87 с.
5. Помазкина Л. В. Интегральная оценка влияния техногенного загрязнения и климатических факторов на агроэкосистемы Байкальской природной территории / Л. В. Помазкина // Успехи современной биологии. – 2011. – Т. 131, № 2. – С. 193-202.
6. Репкина Н. С. Влияние тяжелых металлов на экспрессию генов у растений / Н.С. Репкина, В. В. Таланова, А. Ф.Титов // Труды Карельского НЦ РАН. – 2013. – №3. – С. 31–45.
7. Танделов Ю. П. Фтор в системе почва–растение / Ю. П. Танделов – Красноярск, 2012. – 146 с.
8. Шакирова Ф. М. Сигнальная регуляция устойчивости растений к патогенам / Ф. М. Шакирова., А. Р. Сахабутдинова // Успехи соврем. биологии. – 2003. – Т. 123. – С.563-572.
9. Cooke C. J. Evidence that cyclic AMP is involved in the hypersensitive response of *Medicago sativa* to a fungal elicitor /x C. J.Cooke, C. J.Smith, T.J.Walton, R. P.Newton // *Phytochemistry*. – 1994. – V. 35. – P. 889–894.
10. Jiang J. Evidenes for involvement of endogenous cAMP in Arabidopsis defense responses to *Verticillium* toxins / J.Jiang, L. W. Fan, W. H. Wu // *Cell Research*. – 2005. –V. 15. – P. 585-592.
11. Lomovatskaya L.A. A modified ensame immunoassay method for determination of cAMP in Plant cells / L. A. Lomovatskaya, A. S. Romanenko, N. V. Filinova, O. V. Rykun // *Trends inimmunolabelled and related techniques*. – 2012. – P.161–168.

EFFECT OF HIGH DOSES OF FLUORIDE IN THE SOIL ON THE ACTIVITY OF ADENYLYL CYCLASE SIGNALING SYSTEM OF PLANTS

Lomovatskaya L.A., Rykun O.V., Simakova A., Sokolova L.G., Romanenko A.S.

fluoride contamination of soil, wheat, alfalfa, corn, oilseed radish, cAMP, diagnostic stability.

The article presents the first results on the response of adenylyl cyclase signaling system of different crops on the fluoride contamination of the soil. It is assumed that changes in the activity of adenylyl cyclase signaling system of the plants in these conditions can then be used as an objective diagnostic indicator of sustainability.

ИЗМЕНЕНИЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ И УЛЬТРАМИКРОСТРУКТУРЫ КЛЕТОК ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ ЗАСОЛЕНИЯ

Луценко Э.К., Федоренко Г.М.

ФГАОУ ВПО «Южный федеральный университет»,
ул. Б. Садовая, 105/42, г. Ростов-на-Дону, 344006, Россия, E-mail: ertil808@rambler.ru

прорастание семян, засоление, митоз, каталаза, ультрамикроструктура корня

Одним из факторов агрессивности среды обитания растений являются засоленные почвы, площади которых постоянно увеличиваются. Засоление является одним из главных генетических свойств и мелиоративных особенностей почв аридных областей, а также свойство, лимитирующее их плодородие. Засоленность – один из основных признаков неблагоприятного экологического состояния земель.

Известно, что рост растения является интегральной характеристикой, отражающей степень адаптации растения к изменениям условий окружающей среды. Адаптация растений к условиям засоления является сложным процессом, протекающим на всех уровнях их структурной организации и затрагивающим практически все функции растения.

Целью данной работы явилось изучение изменений физиологического состояния и ультрамикроструктуры проростков пшеницы сорта «Зерноградская». Семена проращивали на растворах NaCl в концентрации 0,1 М, что позиционируется со слабым уровнем засоления. Семена пшеницы проращивали в чашках Петри на фильтровальной бумаге в растворе NaCl в течение 5 сут.. Контролем служили семена, выращенные на дистиллированной воде. Оводненность проростков определяли с помощью анализатора влажности SARTORIUS. Начало митозов смотрели на временных давленных препаратах, фиксированных смесью Карнуа и окрашенных ацетокармином. Активность каталазы определяли по убыли субстрата (H₂O₂), способного образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс желтого цвета. Оптическую плотность контрольных и опытных проб измеряли на спектрофотометре DU-800 фирмы Beckman Coulter (США). Ультратонкие срезы корешков проростков получали на приборе EM UC26 (Leica, FRG) и дополнительно контрастировали солями тяжёлых металлов, а их исследование проводили в электронном микроскопе Tecnai 12 (Phillips, Holland). Полутонкие срезы толщиной 0,5-1 мкм для светооптического наблюдения дополнительно окрашивали метиленовым синим и исследовали в светооптическом микроскопе LOMO Санкт Петербург при увеличении 80 и 160 раз.

Проведенные исследования показали, что в течение 30ч воздействия солевого раствора на проростки пшеницы содержание воды в растущей части семени практически не изменялось и в среднем составляло 70%. В последующие часы наблюдалась тенденция к снижению водопоступления в опытном варианте. Однако достоверной разницы между опытом и контролем не наблюдалось и у проростков 3-х суточного возраста.

О ростовых процессах в набухающих семенах пшеницы судили по появлению первых митозов в меристематических клетках корешков проростков. Данные о влиянии засоления на появление первых митозов представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Влияние засоления субстрата на инициацию первых митозов в корешках проростков пшеницы

Table 1 - Effect of substrate salinity on the initiation of the first mitosis in the roots of wheat seedlings

Время экспозиции	12	13	14	14,5	15	16	17	18	19	20	21	22
H ₂ O				+	+	+	+	+	+	+	+	+
NaCl 0,1M					+	+	+	+	+	+	+	+

Из таблицы следует, что заметного влияния на начало митотической деятельности меристемы корней проростков исследуемый уровень засоления не оказал, что повлекло и последующее отсутствие заметной разницы в показателях всхожести и энергии прорастания семян между опытным и контрольным вариантами.

Известно, что даже слабый уровень засоления у растений вызывает окислительный стресс. Одним из показателей наличия окислительного стресса является повышение активности ферментов- компонентов антиоксидантных систем, к числу которых относится и каталаза.

Таблица 2 -Влияние засоления на активность каталазы (Мкат/л)
Table 2 - Effect of salinity on the activity of catalase

Вариант опыта	Контроль побеги	Контроль корни	Опыт побеги	Опыт корни
Контроль H ₂ O	0,3574	0,3368	0,1619	0,2520
0,1 М NaCl	0,3819	0,4915	0,2128	0,2713

Из данных, приведенных в таблице, видно, что активность фермента каталазы возрастает при повышенной концентрации соли в растворе возрастает, но разница между контролем и опытом хотя и является достоверной, но не существенной. Повышение активности фермента отмечено как в надземной части растения, так и в корнях.

Сравнение ультраструктуры цитоплазматических органелл контрольных образцов (рис 1) и выращенных при засолении 0,1 М NaCl (рис 2), в подавляющей части клеток исследуемой области корневой меристемы существенных изменений не выявило. В то же время в цитоплазме клеток опытного варианта отмечено увеличение числа вакуолей и появление внутри этих органелл электронно-плотного содержимого (рис 2). Однако следует отметить, что их форма и размеры не отличались от контроля. Кроме того, значительно сократилось число пластид, содержащих крахмальные зерна (рис 2).

В отдельных клетках корешков проростков опытного варианта происходило заметное набухание пузырьков и вакуолей у противоположных полюсов диктиосом аппарата Гольджи, а также отмечено уменьшение числа рибосом, прикрепленных к мембранам эндоплазматической сети, хотя при этом набухания самих канальцев не выявлено. Кроме того, характерно наличие крупных скоплений микроорганизмов вдоль наружной клеточной оболочки. Часть этих них проникает внутрь оболочки и локализуется между её слоями.

Видимых различий ультраструктуры со стороны митохондриального и ядерного аппарата не наблюдалось.

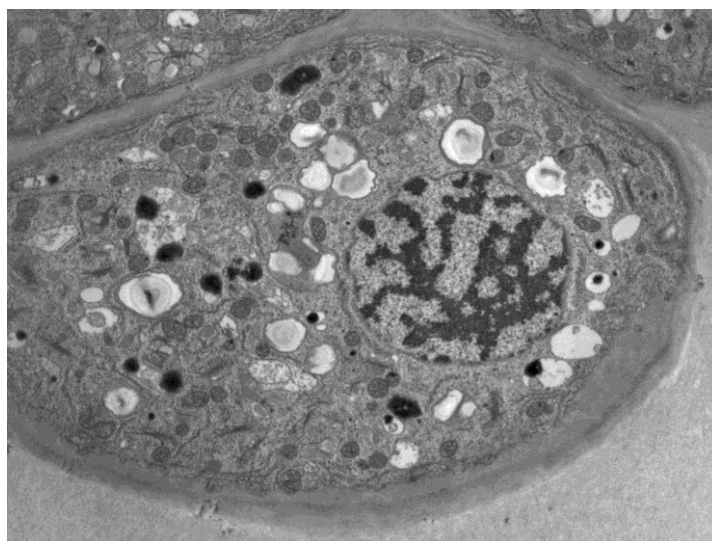


Рисунок 1 - Поперечный срез меристемы корня пшеницы. Контроль
Figure 1 - Cross section of the root meristem of wheat. Control

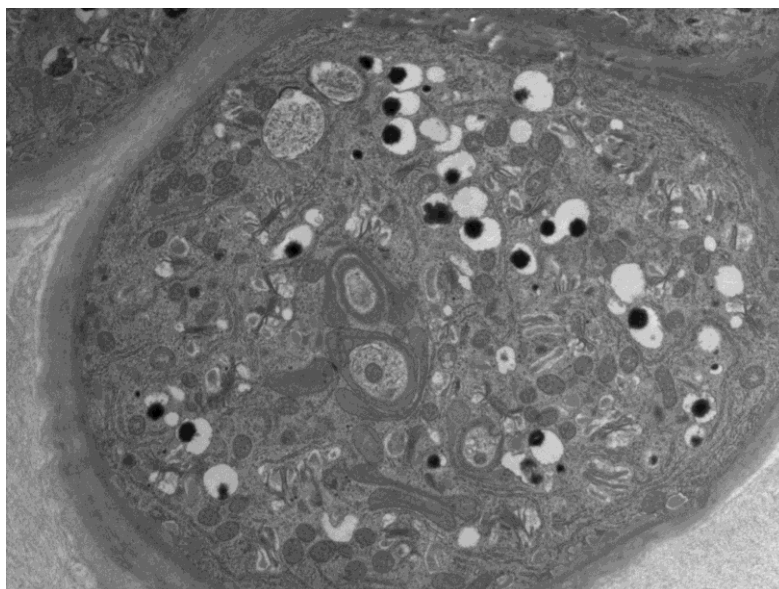


Рисунок 2 - Поперечный срез корня меристемы пшеницы. 0,1M NaCl
Figure 2 - Cross section of the root meristem of wheat. 0,1M NaCl

Анализируя полученные результаты, можно сделать заключение о том, что степень угнетающего действия соли на ростовые процессы у растений во многом обуславливается сортовыми различиями культуры. Более солеустойчивый сорт пшеницы «Зерноградская» характеризовался наименьшими физиологическими изменениями, чем изученный нами ранее сорт «Харьковская-46», в проростках которого достаточно заметные изменения отмечались уже в первые часы прорастания семян [1].

Литература

1. Луценко Э.К., Галактионова М.В.//Состояние меристемы и физиолого-биохимические показатели прорастающих семян пшеницы в условиях солевого стресса. Годичное собрание Общества физиологов растений. Материалы всероссийской научной конференции с международным участием «Инновационные направления современной физиологии растений». Москва 2013. С.-295-296.

CHANGES IN THE PHYSIOLOGICAL STATE OF THE CELL ULTRASTRUCTURE OF WHEAT SEEDLINGS UNDER SALINE CONDITIONS

Lutsenko E.K., Fedorenko G.M.

seed germination, salinity, mitosis, catalase, ultrastructure of root

The influence of salinity on the growth parameters of wheat seedlings , their water content , the activity of the catalase as a component of antioxidant system and the ultrastructure of root meristem has been studied.

ФИТОХРОМ-ИНДУЦИРОВАННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО ГОМЕОСТАЗА ЛИСТЬЕВ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ И СТРЕССУСТОЙЧИВОСТЬ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА

Любимов В.Ю., Креславский В.Д., Ширшикова Г.Н., Кособрюхов А.А.

ФГБУН Институт фундаментальных проблем биологии РАН, ул. Институтская, 2, г. Пущино Московской обл., 142290, Россия, E-mail: valyu@stack.online.net

аскорбатпероксидаза, дальний красный свет, каталаза, красный свет, пероксид водорода, пероксидаза, фитохром, ФС 2, фотосинтез

Введение

Окислительно-восстановительный гомеостаз (ОВГ) мезофильных клеток листьев растений является во многом определяющим фактором функционирования всех жизненно важных процессов фотоавтотрофной клетки: генетических, энерготрансформирующих и метаболических. Основными параметрами, определяющими ОВГ, является стационарный пул активных форм кислорода (главным образом O₂- и H₂O₂), а также активность ферментов их утилизирующих. Эти параметры могут изменяться под воздействием как экзогенных факторов (биотические и абиотические стрессоры), так и ряда эндогенных регуляторных систем. Одной из таких эндогенных систем является светозависимая фитохромная система. Целью настоящей работы было исследование возможного регулирования ОВГ фототрофных клеток высших растений системой ФxВк ⇌ ФxВдк.

Материалы и методы

Эксперименты проводили на 3-х недельных проростках растений салата (*Lactuca sativa* L.) и арабидопсис (*Arabidopsis thaliana*, экотип Columbia-0). Растения выращивали в контролируемых условиях: 12чтемнота, 21°C, 12чсвет (120 мкмоль м⁻² с⁻¹), 25°C. Для создания стрессового состояния растения облучали в течение 40 мин.УФ-А от лампы Т8 18W BLB (Selecta) с $\lambda_{\text{max}} = 365$ нм, $\lambda_{1/2} = 24$ нм, I = 8–12 Вт м⁻² на поверхности листа. Предварительное освещение красным светом (КС: $\lambda_{\text{max}} = 660$ нм, $\lambda_{1/2} = 32$ нм) осуществляли с помощью светодиодной панели, а дальним красным (ДКС: $\lambda_{\text{max}} = 730$ нм, $\lambda_{1/2} = 12$ нм) светом – от лампы накаливания через интерференционный светофильтр.

Активность общей пероксидазы измеряли спектрофотометрически, используя в качестве субстрата 3,3'-диаминобензидин·НСl ($\lambda = 450$ нм, E=4,4 мМ⁻¹ см⁻¹). Активность аскорбат пероксидазы измеряли спектрофотометрически по методу (1). Активность каталазы измеряли стандартным спектрофотометрическим методом ($\lambda = 240$ нм, E=43,6 М⁻¹ см⁻¹). Пероксид водорода измеряли билюминесцентным методом (2) с некоторыми модификациями (3). Скорость фотосинтеза измеряли на проростках инфракрасным газоанализатором Infralyt 4 (Infralyt GmbH, Marburg, Germany) в замкнутой системе при насыщающей интенсивности света. Измерение фотохимической активности ФС 2 подробно описано (4).

Результаты и обсуждение

Функционирование фитохромной системы, регулирующей многие биохимические и физиологические процессы как в фототрофных, так и гетеротрофных тканях растений, может, по видимому, зависеть от дозы поглощённого Фx-активного излучения (для ФxВк → ФxВдк это свет с $\lambda_{\text{max}} = 660$ нм). Мы исследовали зависимость состояния ОВГ в листьях арабидопсис от дозы падающего на объект КС (рис. 1). ОВГ характеризовали как комплекс показателей активности H₂O₂-восстанавливающих ферментов (ДАБ-пероксидазы и каталазы) и стационарного уровня пероксида водорода (СУП). Было установлено, что при увеличении дозы КС от 0 до 3,6 кДж м⁻² (1 Вт м⁻², 60 мин) активность каталазы линейно снижалась до 80% от контрольного уровня. Однако, характер изменения СУП не коррелировал с монотонным незначительным снижением каталазной активности: при низкой КС-облучённости, когда активность каталазы близка к контрольной, количество H₂O₂ снижалось на 20-25%, а при более высоких дозах КС кривая H₂O₂ проходила че-

рез контрольный уровень и затем превышала его на 30-35%. Процесс, ответственный за такое изменение СУП был обнаружен при измерении активности ДАБ-пероксидазы: в области низких доз КС активность фермента превышала контрольный уровень на 40-45%, а при максимальной дозе приближалась к контрольному уровню. Эти результаты показывают, что существенно Фх-регулируемым ферментом, контролирующим ОВГ, является пероксидаза, а не каталаза. Помимо цитоплазматических пероксидаз в хлоропластах функционирует мощный механизм детоксикации АФК – аскорбатпероксидазная система (1). Дозовая кривая этого фермента по КС, промеренная на листьях салата, обнаружила ту же тенденцию, что и ДАБ-окисляющие пероксидазы. Для доказательства того, что при КС-облучении листьев высших растений изменения ОВГ происходят благодаря функционированию именно фитохромной системы был проведён эксперимент с использованием облучения дальним красным светом после КС (рис. 3). Такая схема облучения приводит к тому, что в том диапазоне доз КС, при которых пероксидазы активируются, наблюдалось частичное снятие эффекта (на 25-35%), что доказывает участие в регуляции ОВГ системы ФхВк ↔ ФхВдк. Т.о. можно заключить, что регуляция ОВГ фитохромной системой происходит, главным образом через активность аскорбат- и цитоплазматических пероксидаз.

Известно, что разнообразные стрессы могут приводить в результате нарушения нормального дыхания и фотосинтеза к увеличению образования АФК, что может негативно отражаться на энергозапасующих и метаболических процессах. Одним из таких факторов является УФ-облучение. В наших экспериментах (рис. 4) такое воздействие приводило к значительному снижению фотохимической активности ФС 2 (кр. УФ). Активация фитохромной системы (кр. КС+УФ) частично (15-20%) снимала ингибирующее действие стрессора. Это неполное снятие ингибирования можно, исходя из наших данных, отнести на счёт сдвига ОВГ к более восстановительному состоянию. Под действием УФ-стресса происходит резкое ингибирование (рис. 5А, на 60-80%) ассимиляции CO₂. При этом устьичная проводимость снижается только на 20-35% (рис. 5Б). Предоблучение КС снимает ингибирующий эффект стрессора по CO₂ на 40%, почти не влияя на проводимость. Анализ данных, представленных на Рис. 4 и 5, даёт возможность заключить, что, помимо некоторых известных на сегодня процессов под действием ФхВк ↔ ФхВдк через активность пероксидаз происходит регуляция ОВГ, способствующая более эффективной работе фотосинтетического аппарата.

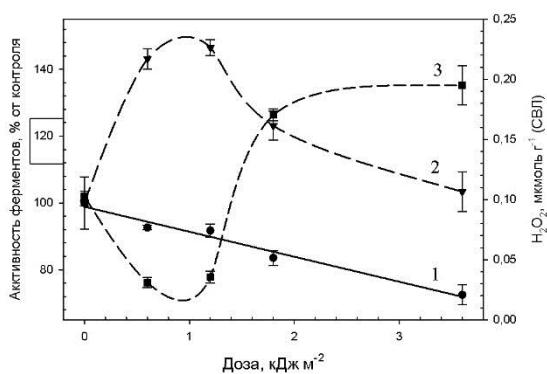


Рисунок 1 - Влияние дозы облучения КС (□=660 нм, 1 Вт м-2) на активность каталазы (1), пероксидазы (2) и стационарного пула пероксида водорода (3) в листьях арабидопсиса

Figure 1 - Influence of dose of RL-irradiation (□=660 nm, 1 W m-2) upon activity of catalase (1), peroxidase (2), and stationary pool of hydrogen peroxide (3) in *Arabidopsis* leaves

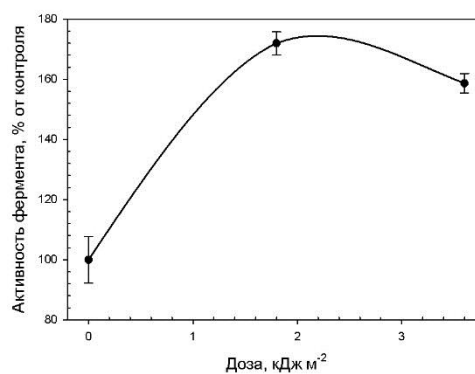


Рисунок 2 - Влияние дозы облучения КС (□=660 нм, 1 Вт м-2) на активность аскорбатпероксидазы в листьях салата

Figure 2 - Influence of dose of RL-irradiation (□=660 nm, 1 W m-2) upon activity of ascorbate peroxidase in lettuce leaves

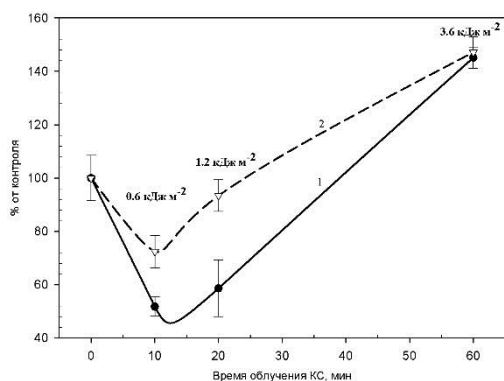


Рисунок 3 - Содержание перекиси водорода в листьях арабидопсиса при различных режимах КС(1)- и КС-ДКС(2)-облучения

Figure 3 - Amount of hydrogen peroxide in *Arabidopsis* leaves under different RL(1)- and RL-FRL(2)-irradiation.

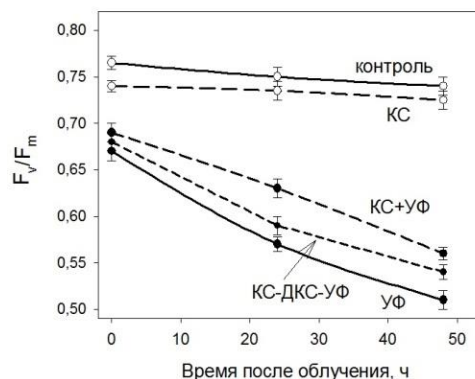


Рисунок 4 - Влияние кратковременного облучения КС и ДКС на фотохимическую активность ФС 2 листьев салата, измеренную в течение 48 ч после облучения. 10-дневные растения освещались 40 мин УФ-А или 10 мин КС или КС-ДКС, затем УФ-А

Figure 4 - Influence of RL- and FRL-irradiation on the photochemical activity of PS 2 in lettuce leaves measured during 48 h after irradiation. 10-days-old plants was irradiated with UV-A (40 min) or RL (10 min) and RL-FRL followed by UV-A

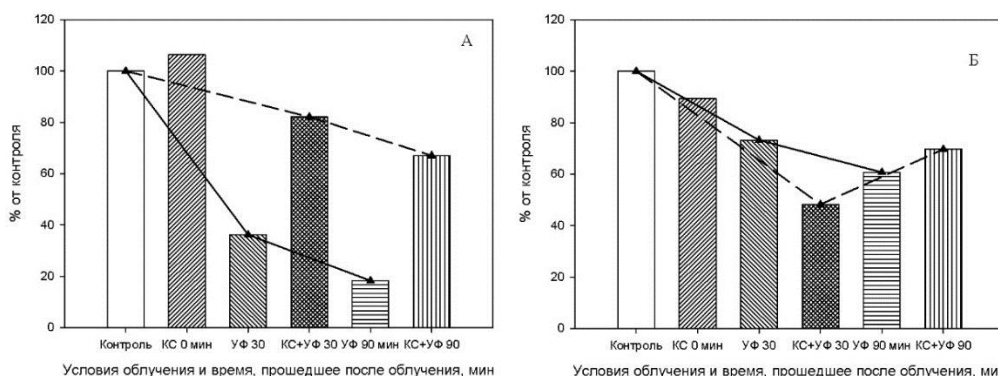


Рисунок 5 - Влияние УФ- и предварительного КС-облучения на ассимиляцию CO2 (А) и транспирацию (Б) листьев арабидопсис

Figure 5 - Influence of UV- and preliminary RL-irradiation upon the CO2 assimilation (A) and transpiration (B) in *Arabidopsis* leaves

Литература

1. Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts// *Plant Cell Physiol.*, 1981, 22, 867-880.
2. Cormier M.J., Prichard P.M. An investigation of the mechanism of the luminescent peroxidation of luminol by stopped flow techniques// *J. Biol. Chem.*, 1968, 243, 4706-4714.
3. Любимов В. Ю., Застрижная О.М. Роль перекиси водорода в фотодыхании С4-растений// *Физиол. раст.*, 1992, 39, 701-710.
4. Mehta P., Kreslavsky V., Bharti S., Allakhverdiev S.I., Anjana A. Analysis of salt stress-induced changes in PS II heterogeneity by prompt fluorescence and delayed fluorescence in wheat (*Triticum vulgare*)// *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 2011, 104, 308–313.

PHYTOCHROM-INDUCED REGULATION OF OXIDATIVE-REDUCTIVE HOMEOSTASIS OF PLANT LEAVES AND SUSTAINABILITY OF PHOTOSYNTHETIC APPARATUS

Lyubimov V. Yu., Kreslavski V.D., Shirshikova G.N., Kosobryukhov A.A.

ascorbate peroxidase, catalase, far red light, hydrogen peroxide, red light, peroxidase, phytochrom, photosynthesis, PS 2

ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ ВОДОНОСНОЙ ПАРЕНХИМЫ В РАСПРЕДЕЛЕНИИ ХЛОРИДА В ЛИСТЕ ГАЛОФИТА *SUAEDA ALTISSIMA*Майорова О.В.¹, Орлова Ю.В.¹, Халилова Л.А.¹, Мясоедов Н.А.¹, Балнокин Ю.В.^{1,2}¹ ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая 35, г. Москва, 127276, Россия, E-mail: oli-ifr.ran@mail.ru, orl-jul@mail.ru² ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Ленинские горы, д. 1, стр. 12, г. Москва, Россия, 119991, E-mail: balnokin@mail.ru*Suaeda altissima*, галофит, ультраструктура клеток, транспорт ионов, солеустойчивость**Введение**

Распределение и транспорт Na⁺ и Cl⁻ в системе целого растения играют важную роль в формировании механизмов, лежащих в основе солеустойчивости растений. Считается, что солеустойчивые растения обладают способностью избегать накопления Na⁺ и Cl⁻ в активно метаболизирующих тканях, депонируя эти ионы в частях растений, не несущих большой метаболической нагрузки (1,2). Такое представление, однако, слабо обосновано экспериментальными данными. Цель работы состояла в исследовании распределения ионов Cl⁻ по тканям листа *Suaeda altissima*, что потребовало также изучения анатомии и ультраструктуры клеток этого растения.

Материалы и методы

Растения *S. altissima* выращивали на питательном растворе, содержащем NaCl в концентрациях 1, 250, и 750 мМ согласно методике, описанной ранее (3). В экспериментах использованы растения 30 дневного возраста. Распределение Cl⁻ в тканях изучали с помощью энергодисперсионного спектрометра (рентгеновский ЭДС микроанализ) совмещенного со сканирующим электронным микроскопом, ультраструктуру клеток листа – с помощью трансмиссионного электронного микроскопа.

Результаты и обсуждение

Исследования анатомии листьев продемонстрировали у *S. altissima* коронарно-сведоидную анатомию, типичную для суккулентов. На поперечном срезе листа можно было видеть (от центра к периферии) клетки проводящего пучка, водоносной паренхимы, обкладки, мезофилла и эпидермы (рис. 1а,в). Рентгеновский микроанализ показал наличие ионов Cl⁻ в клетках всех тканей листа. Их содержание возрастало по мере увеличения концентрации NaCl в питательном растворе. Наиболее заметное увеличение содержания Cl⁻ наблюдалось в водоносной паренхиме. При этом в клетках обкладки содержание ионов хлора было наименьшим (рис. 1б,г).

Электронно-микроскопическое исследование выявило у клеток водоносной паренхимы ряд характерных особенностей. Во-первых, эти клетки сильно вакуолизированы. Вакуоль занимает подавляющую часть объема клетки, а цитоплазма располагается тонким слоем по периферии. Размер клеток водоносной паренхимы становился заметно больше, если в питательном растворе присутствовал NaCl. Наличие NaCl в высоких концентрациях (750 мМ) приводило к увеличению толщины листа и возрастанию суккулентности (отношение массы воды в листе к площади его поверхности). Во-вторых, в клетках водоносной паренхимы растений, выращенных как в условиях засоления, так и в контроле, отсутствовали ядра. Повидимому, потеря ядер клетками водоносной паренхимы происходит на ранних этапах развития листа и не связана с описанными ниже процессами деградации.

Накопление Cl⁻ во многих клетках водоносной паренхимы сопровождалось деструктивными процессами. Деструктивные изменения, наиболее ярко выраженные при наружной концентрации NaCl 750 мМ, проявлялись в интенсивной везикуляции цитоплазмы, образовании большого числа пиноцитозных инвагинаций (ПИ), направленных из цитоплазмы в ваку-

оль, и отделении их от цитоплазмы (рис.2 а,б). Наружная мембрана ПИ является производной тонопласта, а внутренняя – плазмалеммы. Ранее нами было высказано предположение, что двумембранные структуры в клетках листа *S. altissima* осуществляют перенос Cl⁻ из апопласта в вакуоли, минуя цитоплазматический компартмент (4). Пиноцитозные структуры, оказавшиеся внутри вакуоли, включали в себя различного рода цитоплазматический материал, который после отделения пиноцитозной инвагинации от цитоплазмы оказывался внутри вакуоли, где, по-видимому, подвергался лизису. Как следствие интенсивной везикуляции цитоплазмы и переноса мембранных структур в вакуоль цитоплазма постепенно истончалась. Конечной стадией деструктивных изменений было разрушение тонопласта, в результате чего происходило слияние остатков цитоплазмы и вакуолярного содержимого. В итоге клетки водоносной паренхимы превращались в структуры, ограниченные плазмалеммой и заполненные разрушенным цитоплазматическим материалом, хлоропластами и митохондриями. В дальнейшем хлоропласты набухали, ламеллы тилакоидов стромы сильно расходились, но организация гран не изменялась. В целом описанный процесс по морфологической картине напоминал программированную клеточную смерть вакуолярного типа (5) и может быть отражением массового переноса различных веществ, включая ионы Na⁺ и Cl⁻, в условиях засоления из цитоплазмы и апопласта в вакуоль.

Заключение

Клетки водоносной паренхимы, скорее всего, являются депо для поступающих в лист с транспирационным током ионов Cl⁻. Можно предположить, что аккумуляция Cl⁻ и, возможно, Na⁺ в водоносной паренхиме позволяет снизить содержание этих ионов в фотосинтезирующих клетках мезофилла и обкладки, внося этим вклад в солеустойчивость *S. altissima*.

Данная работа проводилась при финансовой поддержке гранта РФФИ 12-04-00987-а.

Выражаем благодарность заведующему межкафедральной лаборатории электронной микроскопии Биологического факультета МГУ Давидовичу Г.Н. и ведущему инженеру лаборатории Богданову А.Г. за помощь, внимание, всестороннюю поддержку, оказанные на всех этапах работы.

Литература

1. Балнокин Ю.В. Ионный гомеостаз и солеустойчивость растений // М.: «Наука», 2012. 99с.
2. Балнокин Ю.В. Растения в условиях стресса // Физиология растений / Под ред. Ермакова И.П. М.: Academia, 2005. С.636.
3. Балнокин Ю.В., Куркова Е.Б., Халилова Л.А., Мясоедов Н.А., Юсуфов А.Г. Пиноцитоз в клетках корня соленакапливающего галофита *Suaeda altissima* и его возможное участие в транспорте ионов Cl⁻ // Физиология растений. 2007. Т.54. С. 892-901.
4. Куркова Е.Б., Балнокин Ю.В. Пиноцитоз и его возможная роль в транспорте ионов в клетках соленакапливающих органов галофитов // Физиология растений. 1994. Т.41. С. 578-582.
5. Bassham D. C. Plant autophagy – more than a starvation response // Plant Biology. 10: 587-593.

A POSSIBLE ROLE OF WATER STORAGE TISSUE IN CL⁻ DISTRIBUTION IN LEAF OF THE HALOPHYTE *SUAEDA ALTISSIMA*

Mayorova O.V., Orlova Y.V., Halilova L.A., Myasoyedov N.A., Balnokin Y.V.

Suaeda altissima, halophytes, ultrastructure of cells, ion transport, salt tolerance

The role of the water storage tissue cells of the salt accumulating halophyte *Suaeda altissima* in distribution of Cl⁻ ions entering the leaf with transpiration stream is under investigation. It is assumed that the accumulation of Cl⁻ and, probably, Na⁺ in the cells of water storage tissue can reduce the content of these ions in the photosynthetic mesophyll cells and the bundle sheath cells, thus contributing to salt tolerance of *S. altissima*.

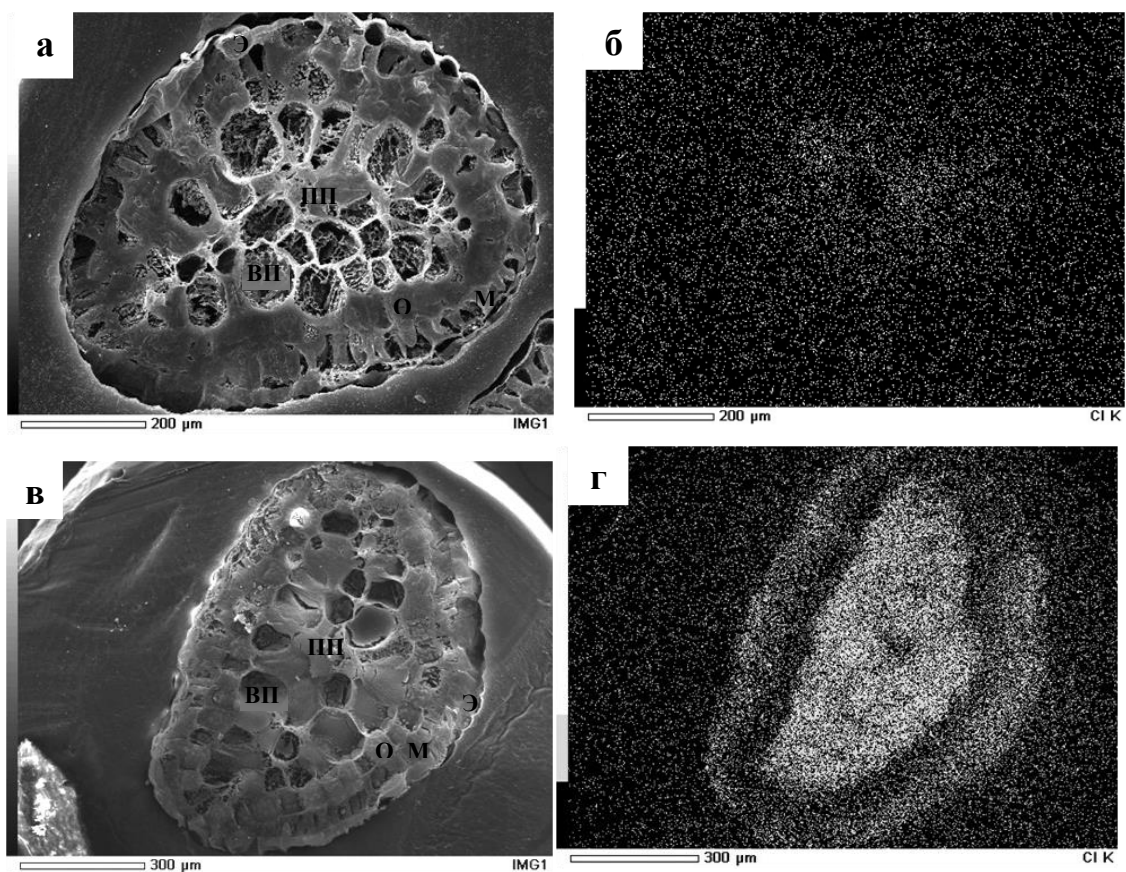


Рисунок 1 - Рентгеновский микроанализ распределения элемента Cl по тканям листьев *S. altissima*, выполненный с помощью сканирующего электронного микроскопа.

а, в – Типичные поперечные срезы листьев *S. altissima*, полученные методом сублимационной сушки. ПП – проводящий пучок, ВП – водоносная паренхима, О – обкладка, М – мезофилл, Э – эпидерма. б, г – локализация Cl на поперечных срезах листьев. Растения выращены на питательных растворах, содержащих 1 mM (а, б) или 750 mM (в, г) NaCl.

Figure 1 - SEM-X-ray microanalysis of Cl element distribution in *S. altissima* leaves at tissue level. а, в – Typical freeze-substituted cross-sections of *S. altissima* leaves. ПП – vascular bundle, ВП – water storage tissue cells, О – bundle sheath, М – mesophyll cells, Э – epidermal cells. б, г – Cl element locations in leaf cross-sections of plants. The plants are grown on the nutrient solutions with 1 mM (а, б) or 750 mM (в, г) NaCl

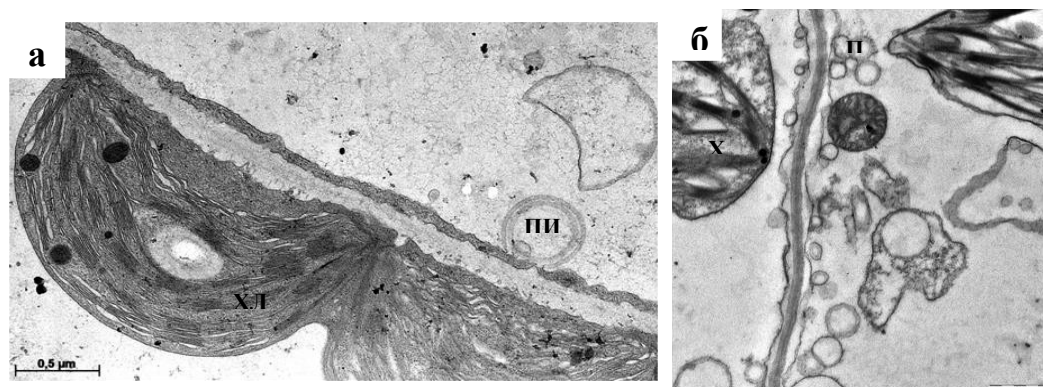


Рисунок 2 - Ультраструктура клеток водоносной паренхимы листьев *S. altissima*, полученная с помощью трансмиссионного электронного микроскопа. Растения выращены на питательных растворах, содержащих 1 mM (а) или 750 mM (б) NaCl. ПИ – пиноцитозные инвагинации, ХЛ – хлоропласт

Figure 2 - *S. altissima* leaf water storage tissue cells ultrastructure investigated with transmission electron microscope. The plants are grown on the nutrient solutions with 1 mM (а) or 750 mM (б) NaCl. ПИ – pinocytotic invagination, ХЛ – chloroplast

ВЛИЯНИЕ МЕТИЛФОСФОНОВОЙ КИСЛОТЫ НА СОДЕРЖАНИЕ ПИГМЕНТОВ И АКТИВНОСТЬ ХЛОРОФИЛЛАЗЫ В ЛИСТЬЯХ КУКУРУЗЫ

Максимовских С.Ю., Плотникова О.М..

Региональный центр государственного экологического мониторинга объектов по хранению и уничтожению химического оружия по Курганской области, ул Сибирская, 8, г. Курган, 640000, Россия, E-mail: mak-su@bk.ru

метилфосфоновая кислота, высшие растения, пигменты листьев, активность хлорофиллазы

Введение

В период работы объекта по уничтожению химического оружия в окружающей среде может появиться метилфосфоновая кислота (МФК, $\text{CH}_3\text{PO}(\text{OH})_2$), которая является продуктом деструкции уничтожаемых фосфорорганических отравляющих веществ. МФК в виде солей является устойчивым продуктом, поэтому может накапливаться в воде и почве, оказывая воздействие на все живые организмы. После ряда исследований влияния МФК на дикорастущие растения, ячмень, пелюшку [2], мхи [4], абсолютная безопасность МФК стала подвергаться сомнению, и в 2010 г. в России введен в действие норматив допустимой концентрации МФК в почве в районах размещения объектов уничтожения химического оружия [3]. Для утилизации МФК разрабатываются способы биологического разложения [5].

Целью настоящей работы было изучение влияния метилфосфоновой кислоты в диапазоне концентраций от 10-1 до 10-17 г/л на всхожесть семян, содержание пигментов и активность хлорофиллазы в листьях проростков кукурузы.

Материалы и методы

Исследования проводили с использованием протравленных семян кукурузы. В рулоны из фильтровальной бумаги размером 15 см на 60 см закручивали по 50 семян на расстоянии 1,5-2 см. Для прорастания семян в отдельные емкости помещали по три рулона, в которых находился раствор МФК с различной концентрацией объемом 400 мл. Семена кукурузы проращивали 14 дней при естественном освещении и комнатной температуре, добавляя каждый день по 50 мл дистиллированной воды.

В исследовании был выбран диапазон концентраций МФК: 10-1, 10-3, 10-5, 10-7, 10-9, 10-11, 10-13, 10-15, 10-17 г/л. В контрольном опыте использовали дистиллированную воду.

Для определения пигментов и активности хлорофиллазы в растительном материале был использован спектрофотометрический анализ ацетоновой вытяжки. Все опыты выполнялись в трех параллелях. В контроле и каждом опыте для определения концентрации пигментов и активности хлорофиллазы брали две навески по 0,2 г усредненной пробы листьев кукурузы. Активность хлорофиллазы оценивают по разности образовавшегося хлорофиллида в опытной и контрольной пробах, выраженного в процентах к общему содержанию зеленых пигментов в контрольной пробе. Для расчета концентрации хлорофиллида используют коэффициент 0,69 [1]. Экспериментальные данные статистически обработаны с применением t-критерия Стьюдента при доверительной вероятности 0,95.

Результаты и обсуждение

Результаты исследования для обсуждения представлены как в абсолютных значениях, так и в процентах относительно контроля (для чего использовались средние значения), что позволило исключить мелкие погрешности при выполнении эксперимента. Анализ содержания пигментов в листьях проростков кукурузы, выращенной в среде при различной концентрации метилфосфоновой кислоты, показал, что содержание хлорофилла а и b уменьшалось при всех концентрациях МФК в среднем в 1,7 раза (рис. 1). Для хлорофилла b отмечено более значительное снижение его содержания в листьях: минимально в среднем в 2 раза и максимально в среднем в 8 раз.

Уровень каротиноидов относительно контроля возрастал минимально в 1,2 раза и максимально – в 1,9 раза при проращивании семян в среде с низкими концентрациями МФК (рис. 2).

Наименьшее увеличение уровня каротиноидов (на 10-20%) при минимальном снижении уровня хлорофилла а отмечено при концентрациях МФК 10-7 и 10-11 г/л. Необходимо отметить, что максимальный рост каротиноидов (в 2,2 раза) при максимальном снижении уровня хлорофилла b происходил при проращивании семян в среде с самой низкой из исследованных концентраций МФК – 10-17 г/л.

Максимальное снижение активности хлорофиллазы в 2-3 раза происходило при проращивании семян кукурузы в среде МФК с концентрациями 10-1, 10-3 и 10-13, 10-15 г/л, т.е. при достаточно высоких и низких концентрациях с разницей в 12 порядков(рис.3).

Выводы

МФК в среде выращивания в диапазоне концентраций от 10-1 до 10-17 г/л оказывало негативное влияние на уровень хлорофиллов а и b в листьях проростков кукурузы, уменьшая их суммарное содержание в 2-3 раза. При этом уровень хлорофилла а понижался в 1,7-2,3 раза, а для уровня хлорофилла b снижение отмечалось до 8-10 раз, в том числе для концентрации 10-17 г/л (что соответствует 10-19 моль/л). При проращивании семян кукурузы при всех исследованных концентрациях МФК отмечено накопление каротиноидов (максимально в 2,2 раза для концентрации 10-17 г/л). Минимальное накопление каротиноидов и снижение уровня хлорофилла а отмечено для концентраций МФК 10-7 и 10-11 г/л, что соответствует известному факту, что каротиноиды выполняют фотопротекторную функцию, способствуя подавлению окислительных процессов в растительных тканях. Наименее зависимым от концентрации МФК был показатель суммы фотосинтезирующих пигментов хлорофиллов, которая уменьшалась в среднем в 2,5 раза. Для изменения активности хлорофиллазы в зависимости от концентрации МФК в среде выращивания выявлена бимодальная зависимость с наименьшей активностью фермента при концентрациях МФК 10-1, 10-3 и 10-13, 10-15 г/л

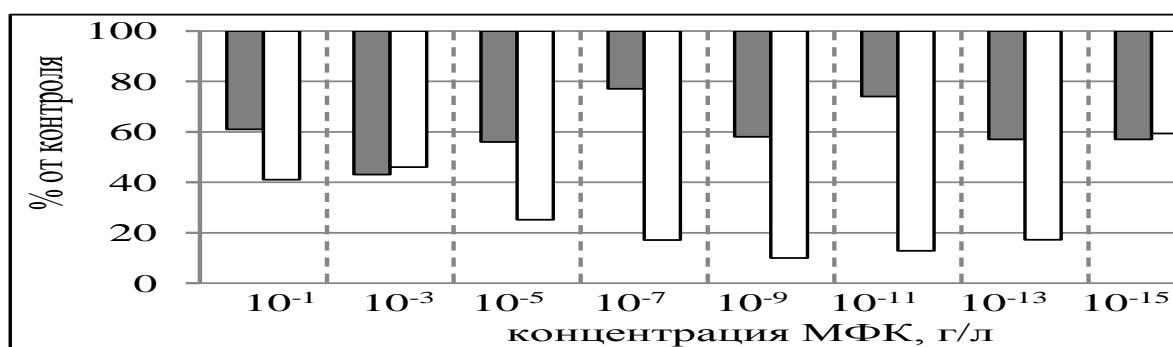


Рисунок 1 – Изменение содержание хлорофиллов а и b в листьях проростков кукурузы в зависимости от концентрации МФК

Figure 1 - Changing the content of chlorophylls a and b in the leaves of maize seedlings in the independence of the MPA

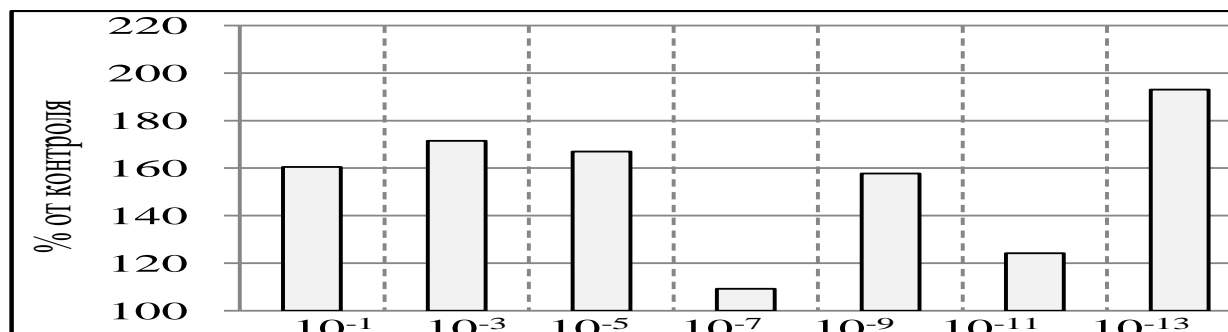


Рисунок 2 – Изменение содержания каротиноидов в листьях проростков кукурузы в зависимости от концентрации МФК

Figure 2 - Changing the content of carotenoids in the leaves of maize seedlings depending on the concentration of the MPA

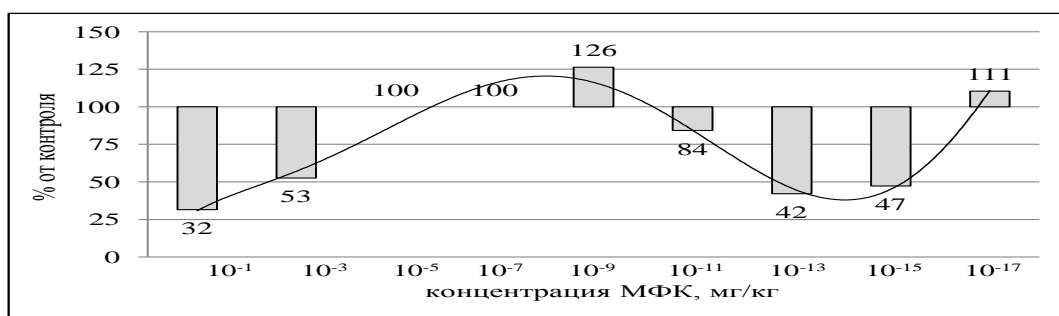


Рисунок 3 – Изменение активности хлорофиллазы в листьях проростков кукурузы в зависимости от концентрации МФК в среде выращивания

Figure 3 - Changes in the activity of chlorophyllase in the leaves of maize seedlings depending on the concentration of the MPA in a growing

Литература

1. Гавриленко В.Ф. Большой практикум по фотосинтезу: Учебное пособие / Под ред. И.П. Ермакова. – М.: Академия, 2003. –250 с.
2. Огородникова С.Ю., Головки Т.К., Ашихмина Т.Я. Реакции растений на действие метилфосфоновой кислоты // Теоретическая и прикладная экология. -2007. -№ 1. -С. 78-93.
3. Ориентировочная допустимая концентрация метилфосфоновой кислоты в почве населенных мест районов размещения объектов по уничтожению химического оружия: ГН 2.1.7.2609-10 // Бюллетень нормативных актов федеральных органов исполнительной власти. № 26. 2010.
4. Серебрякова Н.Н. Влияние ксенобиотиков на физиологию и биохимию листостебельных мхов // Вестник Оренбургского государственного университета. -2007. -№ 12. -С. 71-75.
5. Efremenko E.N., Lyagin I.V., Senko O.V., et al. Application of gel systems with various biocatalysts detoxifying neurotoxic agents for pollution control, water purification, and self-defense // In book: "Sol-gel methods for materials processing" Ser. NATO Science for Peace and Security. Eds. P. Innocenzi e.a. Netherlands: Springer. -2008. -P.77-89.

INFLUENCE METHYLPHOSPHONIC ACID ON PIGMENT CONTENT AND CHLOROPHYLLASE ACTIVITY IN LEAVES OF MAIZE

Maksimovskih S.U., Plotnikova O.M.

methylphosphonic acid, higher plants, leaf pigments, the activity of chlorophyllase.

The effect of methylphosphonic acid (MPA) in the concentration range of 10^{-1} to 10^{-17} g/l on the pigment content and chlorophyllase activity in the leaves of higher plants on the case of maize. It is shown that the MPA inhibits major pigments of plants. MPA has the greatest effect on chlorophyll b, inhibiting its formation in the whole range of 2-7 times. Revealed the dependence of the wave-like MPA, the activity of chlorophyllase, which is equally reduced by 2-3 times under the influence of high and low doses of the MPA.

ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННЫХ АНТОЦИАНОВ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ЭЛОДЕИ ПРИ ДЕЙСТВИИ КАДМИЯМалева М.Г.¹, Чукина Н.В.¹, Гармаш Е.В.²¹ФГАОУ ВПО «Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина»; ул. Мира 19, г. Екатеринбург, 620002, Россия, E-mail: maria.maleva@mail.ru²ФГБУН Институт биологии Коми НЦ УрО РАН; ул. Коммунистическая 28, г. Сыктывкар, 167982, Россия, E-mail: garmash@ib.komisc.ru*Elodea*, антоцианы, антиоксидантная система, окислительный стресс, тяжелые металлы**Введение**

Антоцианы – окрашенные растительные гликозиды, относящиеся к флавоноидам. Лиственные антоцианы являются мощными антиоксидантами: выступают в качестве ловушек АФК, обеспечивают запуск сигнальных каскадов, индуцируя синтез защитных соединений [1, 2]. В литературе обсуждаются возможности направленного воздействия экзогенных протекторных соединений на устойчивость растений посредством усиления антиоксидантной защиты [3, 4]. Загрязнение водных экосистем тяжелыми металлами (ТМ) является одним из наиболее сильных стрессовых факторов. Избыток ТМ вызывает окислительный стресс и подавляет важные жизненные функции у гидрофитов [5]. Целью нашей работы было исследовать влияние экзогенных антоцианов на функционирование антиоксидантной системы *Elodea densa* Planch. при действии кадмия, относящегося к группе наиболее фитотоксичных металлов.

Материалы и методы

Объект исследования – погруженный гидрофит *Elodea densa* Planch. Побеги элодеи предварительно инкубировали на 5% среде Хогланда-Арнона I с добавлением смеси экзогенных антоцианов (АЦ) в концентрации 100 мг/л. Антоцианы были получены экстрагированием из краснокочанной капусты с помощью смеси метанол:0.1% соляная кислота (1:10). После промывки 0.01% раствором Na-ЭДТА и H₂O дист. растения помещали на 5 сут. на среду с добавлением 100 мкМ CdSO₄. Во второй опытный вариант (100 мкМ CdSO₄) помещали побеги без предварительной инкубации. Контролем служили растения, обработанные и необработанные экзогенными антоцианами, инкубированные на среде без добавления металла. Содержание Cd в листьях элодеи определяли методом атомно-абсорбционной спектроскопии с использованием ААС Vario 6 («Аналитик Йена», Germany). Определяли параметры, отражающие прооксидантный статус (концентрация супероксидрадикала (O₂⁻), перекиси водорода H₂O₂, уровень перекисного окисления липидов, ПОЛ) и показатели антиоксидантной защиты (содержание каротиноидов, пролина, активность супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), аскорбатпероксидазы (АПО)). Содержание белка определяли по методу Брэдфорда. Методы представлены в работе [6]. Статистическая значимость результатов определялась с использованием непараметрического критерия (Mann-Whitney U-тест, p < 0.05).

Результаты и обсуждение

Листья *Elodea densa* активно аккумулировали ионы кадмия, но несколько (в 1.3 раза) выше в случае с предварительной инкубацией на смеси АЦ. Диаграмма, представленная на рисунке, обобщает изменения большинства исследуемых про- и антиоксидантных показателей. Кадмий вызывал сильный окислительный стресс в листьях элодеи. За 5 сут. экспозиции растений на металле уровень ПОЛ и содержание O₂⁻ возрастало в 1.3 раза, а концентрация H₂O₂ – в 7 раз по сравнению с контролем. Предварительная инкубация с АЦ приводила к накоплению внутриклеточных АЦ. Есть основания полагать, что экзогенные антоцианы проникают в клетки макрофита путем пассивной диффузии или с участием особых транспортных систем.

Преинкубация с экзогенными АЦ вызвала значительное снижение активности процессов перекисидации липидов и содержания O_2^- (на 20% и 42% относительно контроля соответственно). При этом отмечали резкое увеличение концентрации H_2O_2 (в 14 раз от контроля). Возможно, экзогенные АЦ стимулировали образование H_2O_2 , которая может выполнять не только прооксидантную, но и сигнальную функцию, являясь вторичным мессенджером запуска стрессовых сигнальных каскадов, мобилизующих синтез защитных соединений [7]. Высокое содержание H_2O_2 в обоих вариантах могло быть и следствием повышенной активности СОД и снижением активности КАТ (рис. 1). При этом активность АПО, также участвующей в разложении перекиси, увеличивалась почти в 1.5 раза при действии кадмия после предварительной инкубации на АЦ.

Устойчивость растений к действию ТМ в значительной степени зависит от накопления в клетках низкомолекулярных ферментных антиоксидантов. Действие Cd, особенно в сочетании с предварительной обработкой АЦ, стимулировало синтез пролина, обладающего осморегуляторным, антиоксидантным и стресс-протекторным действием [4], более чем в 2 раза по сравнению с контролем. Другие эффекты наблюдали в отношении каротиноидов и аскорбата, содержание которых в листьях резко снижалось (на 56 и 70% соответственно) в ответ на стресс металла. Предварительная инкубация на АЦ стимулировала синтез каротиноидов и лишь немного нивелировала токсическое действие Cd на содержание аскорбата. Известно, что аскорбат как антиоксидант может реагировать со многими молекулами АФК и их детоксифицировать. Окисленные формы аскорбата восстанавливаются с помощью соответствующих редуктаз, использующих НАДФН и глутатион в качестве восстановительных эквивалентов [8]. Возможно, эффекты кадмия привели к окислению большей части аскорбата из-за избыточного накопления перекиси. Не исключено также, что кадмий мог вызывать истощение пула НАДФН и глутатиона, необходимых для восстановления аскорбата.

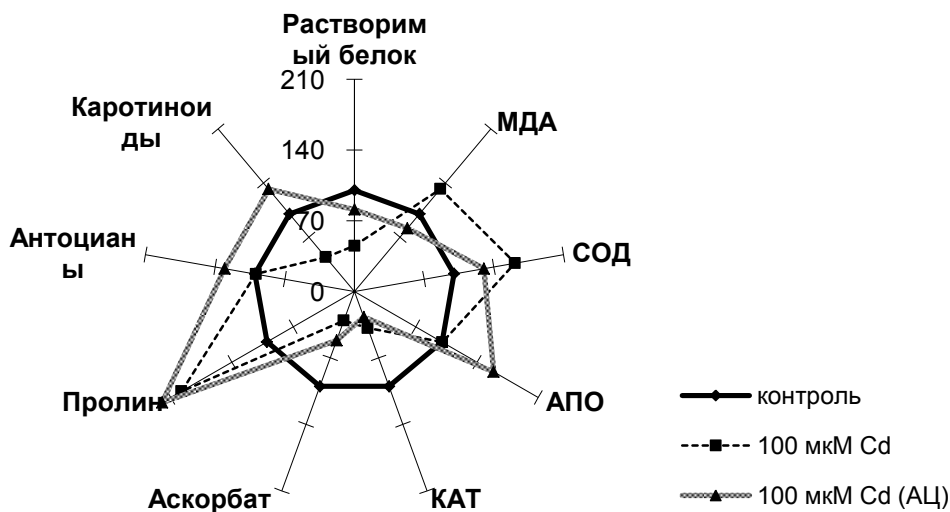


Рисунок 1 - Влияние экзогенных антоцианов (АЦ) на развитие про-/антиоксидантных реакций в листьях элодеи при действии Cd. Данные представлены в процентах от контроля

Figure 1 - Effect of exogenous anthocyanins on pro-/antioxidant reactions in elodea leaves under Cd stress. The data are expressed in a percentage of the control values

Заклучение

Таким образом, предварительная обработка растений элодеи экзогенными АЦ ослабляла токсическое действие кадмия за счет активации ферментов-антиоксидантов (СОД, АПО) и повышенного накопления низкомолекулярных антиоксидантов – каротиноидов, пролина. Это способствовало стабилизации белкового комплекса и клеточных мембран. Полученные результаты согласуются с гипотезой о способности АЦ индуцировать биосинтез других антиоксидантов при действии ТМ [2]. Это указывает на существование строго регулируемой

сигнальной сети в клетке, направленной на усиление антиоксидантной ответной реакции растений на стресс.

Литература

1. Husain S.R., Cillard J., Cillard P. Hydroxyl Radical Scavenging Activity of Flavonoids // *Phytochemistry*. 1987. V. 26. № 9. P. 2489–2491.
2. Hatier J.-H., Gould K.S. Foliar anthocyanins as modulators of stress signals // *Journal of Theoretical Biology*, 2008. V. 253, P. 625–627.
3. Лукаткин А. С., Ешкина С. В., Осмоловская Н. Г. Влияние экзогенных антиоксидантов на генерацию супероксидного анион-радикала в листьях огурца при стрессовом действии охлаждения и ионов меди // *Вестник С.-Петербург. ун-та. Сер. 3*. 2013. Вып. 4. С. 65–73.
4. Сошникова Т.Н., Радюкина Н.Л., Королькова Д.В., Носов А.В. Пролин и функционирование антиоксидантной системы растений и культивируемых клеток *Thellungiella salsuginea* при окислительном стрессе // *Физиология растений*. 2013. Т. 60. № 1. С. 47–60.
5. Maleva M.G., Nekrasova G.F., Malec P., Prasad M.N.V., Strzałka K. Ecophysiological tolerance of *Elodea canadensis* to nickel exposure // *Chemosphere*. 2009. V. 77. P. 392–398.
6. Борисова Г.Г., Малева М.Г., Некрасова Г.Ф., Чукина Н.В. Методы оценки антиоксидантного статуса растений: Учебно-методическое пособие. Екатеринбург: Изд-во Уральского университета, 2012. 73 с.
7. Schutzendubel A., Polle A. Plant responses to abiotic stress: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhiztion // *Journal of Experimental Botany*. 2002. V. 53. № 372. P. 1351–1365.
8. Кения М.В., Лукаш Ф.И., Гуськов Е.П. Роль низкомолекулярных антиоксидантов при окислительном стрессе // *Успехи современной биологии*. 1993. Т. 113. № 4. С. 456–460.

EFFECT OF EXOGENOUS ANTHOCYANINS ON ELODEA ANTIOXIDANT SYSTEM UNDER CADMIUM STRESS

Maleva M.G., Chukina N.V., Garmash E.V.

Elodea, anthocyanins, antioxidant system, oxidative stress, heavy metals

The effect of exogenous anthocyanins on *Elodea densa* Planch. antioxidant system under cadmium stress was investigated. The results showed that pre-incubation of elodea plants with exogenous anthocyanins reduced the toxic effect of cadmium by activation of antioxidant enzymes (SOD, APO) and the accumulation of low-molecular weight antioxidants – carotenoids, proline.

ФАКТОРЫ ПЛОДОНОШЕНИЯ ПЕРСИКА

Малина Р.Б., Шишкану Г.В., Титова Н.В.

Институт генетики, физиологии и защиты растений АН Республики Молдова, ул. Лесная, 20, г. Кишинев, МД 2002, Молдова, E-mail: malinaraya@mail.ru

персик, продуктивность листьев, урожай, факторы плодоношения

Известно, что некоторые породы и сорта плодовых культур страдают от периодичного плодоношения, которое проявляется в чередовании урожайных и неурожайных лет. У растений перегруженных плодами снижается качество продукции, слабеет защита от неблагоприятных факторов среды. Изучение и выявление причин периодичности плодоношения позволит глубже познать потенциал продуктивности плодовых деревьев и обеспечить устойчивый урожай фруктовых садов.

Биологическую и хозяйственную продуктивность плодовых изучали в 2010-2012 гг. на растениях персика, выращенных в лизиметрах (1x1x2,5м) Института генетики, физиологии и защиты растений АН Молдовы. Поддерживался оптимальный режим влажности почвы путем регулярного полива, удобрения вносили по общепринятым нормам. Были изучены три сорта персика: Коллинс, Редхавен, Молдавский желтый. В течение вегетации по фазам развития растений изучали фотосинтетический и дыхательный газообмен, транспирацию с помощью прибора РТМ-48[1], флуоресценцию хлорофилла (РАМ 2000), содержание пигментов (СФ Т60 U). Вели учет листовых параметров и плодов, учитывали урожай каждого растения с целью установить зависимость плодоношения от влияния внешних и внутренних факторов. К действию внутренних факторов можно отнести генетическое происхождение сорта, индивидуальный потенциал продуктивности растения, формирование фотосинтетического аппарата, избирательную направленность потока ассимилятов на развитие плодов. Внешние факторы складывались из метеорологических условий, степени обрезки побегов, состояния почвы и др. Метеоусловия Молдовы на широте Кишинева в течение трех лет характеризовались значительным усилением аридности (31,3-28,5-17,9), последовательным повышением среднегодовой температуры (10,9°-11,0°-11,1°) при средней многолетней - 9,5°. Особенно неблагоприятным для всех растений региона был 2012 год. Количество осадков в период налива плодов было около 30-50 % нормы при высоких температурах (35-39°). Ранее была выявлена непосредственная реакция отдельных органов растения на изменение климатических условий года [2]. Наиболее отзывчивыми оказались форма листовой пластинки и пигментная система. Изучение массы, площади, количества листьев на одно растение, листового индекса (ЛИ), фотосинтетического потенциала (ФП) выявило, что эти признаки находятся вне прямой зависимости от колебаний природных факторов. Коэффициент изменчивости (Vс) массы листьев в пределах сорта за три года составил 18%. Вариабельность по количеству листьев, их площади, ЛИ была на уровне 22-23%.

Таблица 1 - Вариабельность массы, пощади, количества листьев в пересчете на одно растение. 1-сорт Редхавен, 2-сорт Коллинс

Table 1 - Variability of mass, area, number of leaves per one plant 1-s.Redhaven, 2-s. Kollins

Вариант	Количество листьев				Масса листьев, г сухого вещества				Площадь листьев, м ²			
	2010	2011	2012	сред	2010	2011	2012	сред	2010	2011	2012	сред
1	1870	1630	1800	1766	700	600	700	666	10.2	7.7	8.9	8,9
2	1540	1870	1550	1650	480	600	580	550	8.5	9.8	8.4	8,9

Данные показатели свидетельствуют о том, что развитие листового аппарата по годам и сортам представлено достаточно однородной выборкой.

Ответная реакция плодов на усиление испаряемости и воздушной засухи была выражена в уменьшении размеров и массы околоплодника на 7 - 11%. При этом урожай садового сообщества за эти годы оставался стабильным, несмотря на различие погодных условий. Было установлено, что по массе плодов отдельные деревья в разные годы различались в два-три раза, а разница по всему садовому сообществу была в 7-8 раз. Если развитие листового аппарата по годам было сравнительно одинаковым, значит, плоды формируются за счет внутренней структурной организации и фотосинтетической деятельности листа. Варианты с повышенной нагрузкой плодами отличались интенсивностью роста побегов и быстрым формированием листового полога. Перед наливом плодов содержание пигментов в листьях урожайных растений было на 20-25% больше. Интенсивность фотосинтеза и транспирации в период созревания плодов была в 2-3 раза больше. Установлена также повышенная активность фотосистемы II по относительному квантовому выходу флуоресценции хлорофилла [3]. Продуктивность 1м² листьев как отношение сырой массы плодов к единице площади (ПЛ) варьирует в широких пределах 200-800 г/м². Такая же закономерность выявлена и по продуктивности 1г листьев, который производит от 1,5г до 14г массы плодов. Такой разброс показателей свидетельствует о большом потенциале биохимических реакций внутри листа. Если же ПЛ пересчитать на количество плодов в каждом варианте опыта, то получим очень близкие результаты по сортам и годам (табл. 2).

Таблица 2 - Отношение сырой массы плодов с одного растения к площади (ПЛs) и количеству (ПЛn) листьев. N- Количество плодов

Table 2 - Ratio of harvest from one plant to area and number of leaves

Год	Ранний сорт		Поздний сорт		Ранний сорт		Поздний сорт	
	ПЛs	ПЛs/N (k)	ПЛs	ПЛs/N (k)	ПЛn	ПЛn/N	ПЛn	ПЛn/N
2010г	199	9.97	721	11.45	1.0	0.06	4.0	0.06
2011г	416	9.55	240	10.90	2.0	0.05	1.3	0.06
2012г	122	10.9	480	11.48	0.6	0.06	2.6	0.06
Среднее	246	10.1	480	11.28	1.2	0.06	2.6	0.06

Аналогичный результат получен и при пересчете урожая на массу сухого вещества листьев (ПЛm). Практически ежегодно единица площади листа (или единица массы) воспроизводит $n \times k$ граммов плодов, где n – количество плодов, величина переменная, k – постоянный коэффициент для определенного сорта. Сортные различия, вероятно, связаны с разной продолжительностью работы фотосинтетического аппарата. Масса одного плода раннего сорта около 100г. Поздние сорта созревают на 25-30 дней позже, плоды достигают массы до 130-160г и содержат больше сухих веществ. После уборки урожая интенсивность фотосинтеза, транспирации, дыхания временно падает, различия между вариантами разной продуктивности становятся минимальными. Выявлено, что для растений персика периодичность плодоношения отдельного растения трехлетняя, каждый третий год дерево приносит минимальный урожай. По всему садовому сообществу цикличность носит скользящий характер, что поддерживает регулярное плодоношение.

Таким образом, установлено, что фотосинтетическая продуктивность единицы массы или площади листьев регулируется аттрагирующими центрами и зависит от количества плодов и времени их созревания.

Литература

1. Балаур Н.С., Воронцов В.А. Клейман Э.И., Тон Ю.Д. Новая технология многокомпонентного мониторинга CO₂ –обмена у растений // Физиология растений, 2009, т.56., с.466-470.
2. Р.Б. Малина, Г.В.Шишкану, Н.В.Титова Морфо-физиологическая адаптация листьев персика сорта Коллинс к стрессовым факторам природного характера // Матер. Всерос.н.конфер. «Факторы устойчивости растений в экстремальных природных условиях и техногенной среде», Иркутск, 10-13 июня 2013. ISBN 978-5-91344-512-4. С.147-149.
3. Р.Б. Малина, Г.В.Шишкану, Н.В.Титова Фотосинтетическая продуктивность сортов персика при различной нагрузке.// Studia universitatis, seria „Științe ale naturii”. Chișinău, 2012. 1(51), с.66-71.

FRUITING FACTORS OF PEACH

Malina R.B., Shishkanu G.V., Titova N.V.

peach leaf productivity, harvest, fruiting factors

It was studied the biological and economic productivity of peach on fruiting plants grown in lysimeters. It was found that photosynthetic efficiency per mass unit or leaf area is controlled by the amount of attractive centers and depends on the amount of fruits and timing of their ripening.

К ВОПРОСУ О МЕХАНИЗМЕ ПРОДУКЦИОННОГО ПРОЦЕССА ЭФЕМЕРОИДОВ В СВЯЗИ С ПРОБЛЕМОЙ КРИОФИЛИИ.

Мамушина Н.С., Зубкова Е.К., Тютерева Е.В., Буболо Л.С., Чеботарева К.Е.

ФГБУН Ботанический институт им.В.Л.Комарова РАН, ул. Проф. Попова, 2, г. С.-Петербург, 197376, Россия, E-mail: zubkovaelena44@mail.ru

фотосинтез, фотодыхание, темновое дыхание, эфемероиды

Изучение механизма продукционного процесса включает исследование трех слагаемых CO_2 – газообмена – фотосинтеза, фотодыхания и темнового дыхания. Анализ биологии развития ранневесенних растений бореальной зоны позволяет выделить следующие специфические особенности: 1) короткие сроки развития надземной биомассы – около 2-2,5 месяцев; 2) активный рост и цветоносов, и ассимилирующих органов, который начинается в условиях снеготаяния ранней весной при сочетании относительно низкой температуры и высокой инсоляции, что теоретически создает угрозу проявления процесса фотоингибирования, т.е. возможна деструкция фотосинтетического аппарата и клеток мезофилла листа. Однако изучение различных показателей процесса фотосинтеза ассимилирующих органов эфемероидов свидетельствуют о том, что этот феномен в данном случае не наблюдается (1).

В литературе общепринята точка зрения, что функцию защиты фотосинтетического аппарата от окислительного стресса и деструкции в условиях низкой температуры и высокой инсоляции выполняют фотодыхание и темновое дыхание (2).

На свету в клетках мезофилла листа С3-растений происходит сложное взаимодействие между органеллами: хлоропласт-пероксисома-митохондрия. Оно обусловлено транспортом метаболитов между этими органеллами. Основная функция пероксисомы – фотодыхание, а митохондрии в зеленой клетке осуществляют две функции – фотодыхание и темновое дыхание. Как работает темновое дыхание на свету, до сих пор ведутся дебаты (3). На основании литературных и собственных экспериментальных данных, полученных для ассимилирующих органов эфемероидов полагаем, что цикл Кребса и ЭТЦ митохондрий продолжают функционировать на свету с той же скоростью, что и в темноте, если не выше (1,4).

Основной задачей наших многолетних исследований было изучение механизма продукционного процесса надземной биомассы, т.е. ассимилирующих органов эфемероидов в ходе ранневесенней вегетации, основными компонентами которого является фотосинтез, фотодыхание и темновое дыхание. Исследование этих слагаемых CO_2 -газообмена листа, их взаимосвязей в ходе онтогенеза, а также изучение ультраструктуры клеток мезофилла листа эфемероидов и составляло основную цель данной работы.

Материалы и методы

Объектами в данном исследовании служили следующие виды эфемероидов, произрастающие в парке Ботанического института им.В.Л.Комарова РАН: *Scilla sibirica* Haw., *Ficaria verna* Huds., *Anemone ranunculoides* L., а для сравнения *Ranunculus acris* L., *R.repens* – летневегетирующие виды из того же семейства, что и *F.verna* и *A.ranunculoides*.

В течение 2 полевых сезонов нами было проведено исследование с использованием газоанализатора (LCA-4) трех элементов CO_2 -газообмена листьев эфемероидов и летневегетирующих растений в ходе их весенней вегетации (синхронно пробы фиксировали для электронной микроскопии, чтобы изучить ультраструктуру клеток мезофилла).

Результаты и обсуждение

Результаты изучения элементов CO_2 -газообмена интактного листа и ультраструктуры клеток мезофилла представлены в табл. 1.

Обращают на себя внимание следующие факты:

1) Интенсивность фотосинтеза и темнового дыхания у чистяка и анемоны выше, чем у лютиков, хотя число хлоропластов и митохондрий примерно одинаково.

2) Интенсивность «фотодыхания» принципиально выше у эфемероидов, чем у двух видов лютиков, что коррелирует и с большим числом пероксиом.

Таблица 1 - CO₂-газообмен листа эфемероидов и летневегетирующих растений на стадии цветения (в $\mu\text{molCO}_2/\text{м}^2/\text{сек}$, FAR - 900)

Table 1 - CO₂-gasexchange of ephemerooids and summer plants leaf on the stage of flowering (in $\mu\text{molCO}_2/\text{м}^2/\text{сек}$, FAR – 900)

Объект и температура измерения	Нетто-фотосинтез	Число хлоропластов на 100 мкм ² среза	Темновое дыхание	Число митохондрий на 100 мкм ² среза	Выделение CO ₂ в темноте после фотосинтеза 30 сек.	Фото-дыхание	Число пероксиом на 100 мкм ² среза
<i>Scilla sibirica</i> 23°	5,7±0,3	13	0,7±0,2	13	1,6±0,3	0,9±0,3	8
<i>Ficaria verna</i> 25°	10,8±1,7	14	0,8±0,4	17	1,7±0,3	0,9±0,3	6
<i>Anemona Ranunculoides</i> 23°	11,2±1,4	13	1,3±0,3	11	2,1±0,5	0,8±0,2	5
<i>Ranunculus acris</i> 23°	4,3±0,2	15	0,5±0,1	9	0,8±0,2	0,3±0,1	1-2
<i>Ranunculus repens</i> 23°	5,0±0,3	14	0,4±0,1	10	0,8±0,1	0,4±0,1	1-2

Как мы вычисляли условно величину «фотодыхания»? Каков функциональный смысл показателя «выделение CO₂ в темноте сразу после света»? Первые 5 секунд продолжается поглощение CO₂, а затем в течение 30-60 сек. наблюдается уже выделение CO₂, которое затем выходит на плато и становится равным темновому дыханию. Мы предполагаем, что первый «выброс CO₂» сразу после света характеризует фотодыхание, в ходе которого идет окисление и декарбоксилирование «молодых» метаболитов (глицина) фотосинтетического происхождения.

Ранее нами в опытах с меченым глицином было показано, что уже на ранних этапах роста (*Scilla* и *Ficaria*) происходит формирование фермента глициндекарбоксилазы, который отвечает за выделение CO₂ в процессе фотодыхания (5), т.е. потенциальные возможности окисления глицина уже существуют в белой и зеленой зоне листа *S.sibirica*, но этот эффект не обнаруживается на уровне газообмена, так как отсутствует процесс фотосинтеза как источника глицина.

Косвенным доказательством являются факты, полученные для листа *Scilla*, где можно выделить 3 зоны. В случае белой зоны мы измеряем только CO₂-газообмен темнового дыхания, а в зеленой регистрируем и фотодыхание (табл.2). Обращает на себя внимание и тот факт, что в начале роста листа мы регистрируем самое высокое темновое дыхание, которое снижается в ходе вегетации, а фотодыхание возрастает вместе с фотосинтезом, но не проявляется в конце вегетации на этапе старения.

Изучение ультраструктуры клеток мезофилла листа двух видов эфемероидов в начальном этапе роста продемонстрировало следующее: в белой зоне листа *Scilla* пластиды еще не сформированы, граны и тилакоиды развиты слабо, вакуоль отсутствует, в цитоплазме хорошо развит ЭР, рибосом много, чаще собраны в полисомы, много митохондрий (40), их число в зеленой зоне уменьшается, пероксиом мало. Таким образом, эта ультраструктурная «картина» клетки позволяет предполагать активный синтез белка в клетках мезофилла, что и коррелирует с высокой интенсивностью темнового дыхания, который, как известно, поставляет энергию для этого процесса, и может выполнять функцию защиты от окислительного стресса. На этапе условной зрелости клеток мезофилла эфемероидов в систему защиты включается и процесс фотодыхания, который достигает максимальных значений.

Заключение

Эфемероиды бореальной зоны можно отнести к криофитам, для которых низкая температура является не «стрессовой», а облигатным фактором для осуществления программы роста и развития подземной и наземной биомассы. В ходе эволюционной адаптации к жизни в бореальной зоне эфе-

мероиды совершенствовали стратегию защиты процесса фотосинтеза от угрозы фотоингибирования на разных уровнях организации метаболизма клеток мезофилла листа. Эта система защиты включает сопряженное функционирование фотодыхания и темнового дыхания в пероксисомах и митохондриях на свету, что и обеспечивает активную ассимиляцию углерода при фотосинтезе на всех этапах вегетации эфемероидов, т.е. осуществление продукционного процесса в условиях ранней весны.

Таблица 2 - CO₂-газообмен листа эфемероидов в ходе вегетации (в $\mu\text{л CO}_2/\text{м}^2/\text{сек}$) при FAR – 900
Table 2 - CO₂-gasexchange of ephemeroide leaf during the plant vegetation (in $\mu\text{molCO}_2/\text{м}^2/\text{сек}$, FAR – 900)

Объект	Дата проведения опытов								
	12.04.2011. 12°C			12.05.2011. 14°C			27.05.2011. 15°C		
	свет	тем- нота	темнота после света	свет	тем- нота	темнота по- сле света	свет	тем- нота	темнота после света
<i>Scilla sibirica</i> белая зона	-2,4	-2,3	-2,4						
зеленая зона	+0,7	-2,6	-2,8(0,2)	+6,9	-0,7	-2,1(1,4)	+4,1	-0,8	-0,8(0)
<i>Ficaria verna</i>	+4,0	-4,2	-4,7(0,5)	+10,4	-1,0	-1,9(0,9)	+1,6	-0,7	-0,7(0)

Литература

1. Мамушина Н.С., Зубкова Е.К. Функционирование основных этапов темнового дыхания на свету у C3-растений с разным сезонным ритмом//Физиология растений. 1995. Т.42. С.30-37.
2. Heber U., Bligny R., Streb P., Douce R. Photorespiration is essential for the protection of photosynthetic apparatus of C3 plants against photoinactivation//Bot.Acta. 1996. Vol.109. P.307-315.
3. Adrianj Nunes-Nesi, Wagner L.Araujo and Alisdais R.Fernie. Targeting Mitochondrial Metabolism and Machinery as a Means to Enhance Photosynthesis//Plant Physiology. 2011. V.155. P.101-107
4. Krömer S., Malmberg G., Gärdestrom P. Mitochondrial contribution to photosynthetic metabolism//Plant Physiology/ 1993. V.102. P. 947-955
5. Мамушина Н.С., Зубкова Е.К., Юдина О.С. Метаболизм C14-глицина как субстрата фотодыхания в листе эфемероидов на разных стадиях развития растений//Физиология растений. 2008. Т.55. С.46-52.

THE PRODUCTIONAL PROCESS OF EPHEMEROIDES - THE PROBLEM OF CRYOPHYLL

Mamushina N.S., Zubkova E.K., Bubolo L.S., Chebotareva K.E.

photosynthesis, photorespiration, dark respiration, ephemeroide

Photosynthesis, dark respiration and photorespiration of assimilating organs were studied in ephemeroide, namely *Scilla sibirica*, *Ficaria verna*, *Anemone ranunculoides* as well as summer-vegetating *Ranunculus acris* and *R.repens*. The portable gas-analyzator (Li-Cor) was used for measuring CO₂ exchange in situ (untouched leaf). The ultrastructure of leaf mesophylls was also investigated. There is no inhibition of dark respiration in the light and the high level of photorespiration is observed in ephemeroide as compared with summer species (*Ranunculus acris*, *R.repens*). This result correlates with the number of peroxisomes which is higher in ephemeroide cells (5-8) than in mesophyll cells of *R. acris* and *R.repens* (1-2). It means that there is no photoinhibition of photosynthesis in early spring under the low temperature and high insolation in ephemeroide, and dark respiration, photorespiration play the role of defense. Namely these processes are the background of cryophyllia of ephemeroide.

О МИКОСИМБИОТРОФИИ ОРХИДНЫХ (*ORCHIDACEAE*) УМЕРЕННОГО КЛИМАТА СЕВЕРНОГО ПОЛУШАРИЯ В ПЕРИОД ПОКОЯ

Маракаев О.А., Холмогоров С.В.

ФГБОУ ВПО «Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова», ул. Советская, 14, г. Ярославль, 150000, Россия, E-mail: marakaev@uniyar.ac.ru

Dactylorhiza maculata, орхидные, микосимбиотрофия, микосимбионт, покой**Введение**

Представители семейства *Orchidaceae* находятся в симбиозе с микоризным грибом в течение большинства этапов онтогенеза – с момента прорастания семени и до естественной гибели растения [1, 2]. Сложность этих отношений заключается в их зависимости от физиологического состояния растений, особенностей надземной и подземной сферы, фаз сезонного развития и времени года. Состояние микосимбионта в подземных органах орхидных умеренного климата северного полушария в период покоя, в том числе зимнего, заслуживает отдельного внимания как особый этап жизненного цикла партнеров симбиоза, когда отсутствуют процессы их активного роста и развития. В это время многие биохимические процессы протекают во много раз медленнее, чем в растущем растении, особенно распад сложных органических веществ до более простых соединений (крахмала до сахаров, белков до аминокислот и др.). До настоящего времени данные о микосимбиотрофии орхидных в период покоя, когда автотрофный партнер симбиоза сохраняет возможность получать органические соединения исключительно гетеротрофным путем и в большей степени зависит от микоризного гриба отсутствуют [3, 4]. Изучение этих вопросов необходимо как для раскрытия особенностей микосимбиотрофии орхидных, являющейся ключевым вопросом их биологии [1, 5], так и для решения важнейших общебиологических проблем взаимодействия в симбиотических системах различного уровня [6].

В связи с этим целью работы было выявление параметров микосимбиотрофии пальчатокоренника пятнистого *Dactylorhiza maculata* (L.) Soó – одного из наиболее широко распространенных представителей орхидных умеренного климата северного полушария – в течение естественного (зимнего) покоя.

Материалы и методы

Объектом исследования являлся пальчатокоренник пятнистый (*Dactylorhiza maculata* (L.) Soó), принадлежащий к жизненной форме орхидных со стеблекорневым тубероидом – органом, выполняющим запасующую функцию [7]. В работе изучены генеративные особи, подземные органы которых отбирали ежемесячно с октября по апрель во вторую декаду. Растения произрастали на дерново-подзолистой суглинистой почве с содержанием гумуса в корнеобитаемом слое – 1,4%, рН – 5,1. Исследование микосимбиотрофии проводили по методике И.А. Селиванова [8]. Придаточные корни и окончания тубероидов мацерировали и окрашивали анилиновой синью в 40% молочной кислоте, готовили давленные препараты [9]. Обилие микосимбионта оценивали по 5-бальной шкале под световым микроскопом при увеличении $\times 100$. Определение качественных характеристик микосимбионта проводили на давленных препаратах и на срезах, которые получали на микротоме с термоохлаждающим столиком ТОС-2 [9]. На препаратах отмечали наличие гиф, пелотонов (клубков гиф), зернистой массы. Средняя проба включала 5 придаточных корней и 5 корневых окончаний тубероидов, взятых от разных экземпляров растений. В среднем для исследованных проб оценивали по 230 полей зрения. Рассчитывали показатели интенсивности и частоты встречаемости микоризной инфекции [8], а также долю выявленных состояний микосимбионта по отношению к общему числу просмотренных полей зрения для каждой пробы. Статистическую обработку

полученных экспериментальных данных проводили по стандартным методикам [10] с использованием программы Excel'2007.

Результаты и обсуждение

Одним из важнейших параметров микосимбиотрофии является интенсивность микоризной инфекции, характеризующая обилие микосимбионта в подземных органах. Этот показатель у *D. maculata* достигает минимальных значений с января по март, составляя в придаточных корнях 21-25%, в окончаниях тубероидов – 19-21%. В это время интенсивность микоризной инфекции ниже в 2 раза, чем в начале периода покоя (октябрь-декабрь). К его завершению (апрель) количество микосимбионта в подземных органах увеличивается на 30-40% по отношению к марту. Параметром, свидетельствующим о соотношении между огрибненными и неогрибненными участками подземных органов, служит частота встречаемости микоризной инфекции. Ее максимальные значения в придаточных корнях и окончаниях тубероидов *D. maculata* отмечены в октябре-декабре (более 90%), минимальные – в январе-апреле (60-70%).

В течение большей части периода покоя (октябрь-февраль) в клетках подземных органов *D. maculata* представлена в основном зернистая масса (80-90%), оставшаяся после лизиса микосимбионта. Это состояние эндофита становится единственным в придаточных корнях *D. maculata* в январе-феврале и существенно преобладает (более 90%) в окончаниях тубероидов в феврале. Выявленная картина может свидетельствовать об активном метаболическом контроле над развитием микосимбионта со стороны растения, находящегося в состоянии покоя. Лизис микосимбионта связывают с активностью гидролаз и окислительных ферментов, поглощением кислорода и синтезом кислой фосфатазы в клетках растения и грибной плазме. Накопление зернистой массы в течение осенне-зимнего периода может быть обусловлено недостаточной активностью систем ее утилизации в растительных клетках. Одновременно с зернистой массой в подземных органах *D. maculata* в течение покоя обнаруживаются гифы и пелотоны, доля которых, как правило, незначительна и составляет до 1,5% и 10% соответственно. Гифы в это время представляют собой небольшие, длиной 70-90 мкм, утолщенные фрагменты, локализованные в межклетниках коровой паренхимы.

В последние месяцы покоя (март-апрель) в клетках подземных органов *D. maculata* доля зернистой массы уменьшается на 40-70% при одновременном увеличении количества пелотонов. Возможно, в это время в клетках активнее используются продукты лизиса микосимбионта, происходит рост и развитие «зимовавших» в подземных органах гиф, а также активное проникновение новых гиф из почвы, что впервые отмечается в апреле. Этим процессам способствуют и меняющиеся внешние условия – освобождение почвы от снежного покрова, ее прогревание, высокий уровень увлажнения и др.

Заключение

Таким образом, выявленные параметры микосимбиотрофии генеративных особей *D. maculata* – низкая интенсивность микоризной инфекции и высокая частота ее встречаемости при одновременном преобладании в клетках зернистой массы – свидетельствуют об угнетенном состоянии микосимбионта в придаточных корнях и окончаниях тубероидов в течение периода покоя – с октября по март. В апреле количество микосимбионта в придаточных корнях и окончаниях тубероидов *D. maculata* возрастает при одновременном увеличении числа гиф и пелотонов, что может быть связано с физиолого-биохимическими изменениями в подземных органах.

Литература

1. Rasmussen H.N. Terrestrial orchids from seed to mycotrophic plant. Cambridge University Press, 1995. 444 p.
2. Cameron D.D., Leake J.R. & Read, D.J. Mutualistic mycorrhiza in orchids: evidence from plant-fungus carbon and nitrogen transfers in the green-leaved terrestrial orchid *Goodyera repens* // New Phytologist. 2006. V. 171. P. 405 – 416.

3. Currah R.S., Smreciu E.A., Hambleton S. Mycorrhizae and mycorrhizal fungi of boreal species of *Platanthera* and *Coeloglossum* (*Orchidaceae*) // Canadian Journal of Botany. 1990. V. 68. P. 1171 – 1181.
4. Вахрамеева М.Г., Татаренко И.В., Варлыгина Т.И. Основные направления изучения дикорастущих орхидных (*Orchidaceae* Juss.) на территории России и сопредельных государств // Бюл. МОИП. Отд. биол. 2004. Т. 109. Вып. 2. С. 37 – 56.
5. Куликов П.В., Филиппов Е.Г. Особенности микоризообразования в онтогенезе орхидных умеренной зоны в природе и культуре *in vitro* // Бюл. МОИП. Отд. биол. 2003. Т. 108. Вып. 1. С. 51 – 59.
6. Бухарин О.В., Лобакова Е.С., Перунова Н.Б., Усвяцов Б.Я, Черкасов С.В. Симбиоз и его роль в инфекции. Екатеринбург: УрО РАН, 2011. 300 с.
7. Татаренко И.В. Орхидные России: жизненные формы, биология, вопросы охраны. М.: Агрус, 1996. 206 с.
8. Селиванов И.А. Микосимбиотрофизм как форма консортивных связей в растительном покрове Советского Союза. М.: Наука, 1981. 231 с.
9. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. М.: Агропромиздат. 1988. 255 с.
10. Зайцев Г.Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. М.: Наука, 1984. 424 с.

**ABOUT MYCOSYMBIOTROPHY OF MODERATE CLIMATE ORCHIDS
(*ORCHIDACEAE*) OF THE NORTHERN HEMISPHERE
DURING THE DORMANT PERIOD**

Marakaev O.A., Kholmogorov S.V.

Dactylorhiza maculate, orchids, mycosymbiotrophy, mycosymbiont, dormant period

Has been identified the depression of mycosymbiont in adventitious roots and endings tubers of *Dactylorhiza maculata* during the dormant period (October-March). Has been shown that for April the number of mycosymbiont in adventitious roots and endings tubers *D. maculata* increases while increasing the number of hyphae and the peloton. Supposedly the obtained results are correlated with physiological and biochemical changes in the underground organs.

ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ АККУМУЛЯЦИИ ТМ РАСТЕНИЯМИ ГОРОДСКОЙ СРЕДЫ

Масленников П.В., Букреева В.В., Бабайцева Е.В.

ФГАОУ ВПО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта»,
ул. А. Невского, 14, г. Калининград, 236041, Россия, E-mail: pashamaslennikov@mail.ru

тяжелые металлы, загрязнение окружающей среды, фитоурбоценозы, фитоиндикация, фиторемедиация.

Введение

Урбанизацию можно охарактеризовать как глобальный социально-экономический процесс, сопровождающийся глубоким антропогенным изменением природной среды, заменой естественных экосистем урбоэкосистемами. Наиболее сильно техногенное воздействие на природную среду и население проявляется в крупных промышленных городах, которые по интенсивности и площади аномалий загрязняющих веществ представляют собой техногенные и биогеохимические провинции [1]. В спектре загрязняющих веществ городской среды тяжелые металлы (ТМ) занимают значительное место, поскольку, не подвергаясь существенной физико-химической и биологической деградации, они накапливаются в поверхностном слое почв, в течение длительного времени остаются доступными для корневого поглощения растениями и активно включаются в процессы миграции по трофическим путям. Работы многих исследователей показали, что между химическим составом растений и элементным составом среды существует определенная связь, но прямая зависимость содержания ТМ в растениях от содержания в почве часто нарушается из-за избирательной способности растений к накоплению элементов в необходимом количестве [2]. По-видимому, существуют генетический и экологический факторы формирования элементного состава растений. Их приоритетность меняется в зависимости от условий окружающей среды, при техногенном загрязнении экологический фактор становится ведущим [3, 4].

Цель настоящей работы – исследовать накопление металлов в городских почвах и доминирующих видах растений городской среды.

Материалы и методы

В работе исследовалось накопление металлов (Cu, Zn, Mn, Sr, Ni, Ca, Fe, Br, Rb) в аккумулятивном горизонте городских почв и в наиболее распространенных в городских ландшафтах видах древесных, кустарниковых и травянистых растений. Район исследования - 7 постоянных пробных площадок на территории г. Калининграда (ИУ1-ИУ7) с различным уровнем трансформации микроэлементного состава почв и загрязнения их тяжелыми металлами. В качестве контроля (ИУК) использовался участок с минимальной техногенной нагрузкой и природным фоновым уровнем поллютантов, удаленный на 40-50 км от крупных промышленных источников загрязнения окружающей среды (г. Светлогорск).

Для биогеохимического апробирования применялись наиболее распространенные в городских ландшафтах виды древесных, кустарниковых и травянистых растений. Сбор растительного материала проводился в течение вегетационного периода (июнь-июль) 2012 г. Содержание металлов в пробах определяли методом рентгенофлуоресцентного анализа на приборе «Спектроскан Макс - G» (ООО НПО «Спектрон», Россия). Образцы растений и почвы для анализа подготавливали в соответствии с методикой М049-П/10 [5].

Результаты и обсуждение

Основной источник поступления ТМ в главные компоненты биогеоценоза города, почву и растения – атмотехногенные выбросы, Калининград в этом отношении не исключение. Загрязнение атмосферного воздуха города обусловлено выбросами более 200 промышленных предприятий, ТЭЦ, котельных. Существенный вклад в среднегодовой суммарный вы-

брос в атмосферу загрязняющих веществ привносит автотранспорт, обладающий низкими эксплуатационно-техническими характеристиками. Его удельный вес - 83,8% от общего объема, что превышает более чем в 6 раз выбросы от стационарных городских источников [6-8].

Показано, что в образцах городских почв выявлено значительное превышение фоновых значений меди, цинка, марганца, стронция и никеля. Распределение указанных элементов в составе почвенных аномалий по коэффициенту концентрации образует убывающий ряд: $Cu > Zn > Mn > Sr > Ni$. Максимальное содержание поллютантов наблюдалось в промышленных и селитебных многоэтажных зонах с повышенной транспортной нагрузкой (ИУ7). Концентрация металлов в верхнем слое почвы ИУ7 превышала фоновый показатель: Cu – в 3,6 раза, Zn - в 3,1 раза, Mn и Sr – в 2,6 раза, Ni в 2,4 раза. В целом ландшафты предприятий города характеризовались сильной деградацией биологического круговорота веществ - источником техногенной эмиссии и аккумуляции поллютантов. В селитебной зоне содержание Cu, Zn, Mn, Sr и Ni в аккумулятивном горизонте почв было ниже, но также превосходило их фоновый уровень в среднем в 1,4-2,9 раза. Жилые здания служат механическим барьером на пути воздушных потоков и способствуют формированию техногенных педогеохимических аномалий, контрастность которых зависит от высоты и расположения сооружений. Минимальные концентрации Sr и Cu отмечены для агроселитебных, селитебных малоэтажных зон (ИУ1-2). Уровень других металлов превышал фон: Mn – в 1,8; Ni - в 2,2; Zn - в 2,6 раза. Содержание оксида кальция (CaO) и железа (Fe₂O₃) в почвенных пробах участков было ниже предела количественного определения.

Анализ данных о содержании металлов в исследуемых растениях, произрастающих на фоновых и загрязненных участках, позволил выявить виды растений аккумулирующих их в наибольших количествах. Максимальное содержание металлов в растениях наблюдалось на участке с высоким уровнем почвенного загрязнения (ИУ7). Для марганца в большей степени характерно накопление в листьях древесных растений, чем кустарников или трав. Максимальное содержание металла наблюдалось в листьях березы повислой и клена остролистного (ИУ7). Среди древесных видов предельная концентрация железа выявлена в листьях липы сердцевидной и березы повислой, кустарников – в листьях чубушника вечнозеленого и розы морщинистой, травянистых растений – в листьях клевера белого, ежи сборной, одуванчика лекарственного. Среди видов активно накапливающих Zn - сирень обыкновенная и роза морщинистая. Наибольшее содержание стронция выявлено в образцах клевера лугового. В листьях снежноягодника белого и таволги Вангутта обнаружено активное накопление рубидия. В листьях бузины черной, пижмы обыкновенной и ежи сборной наблюдалось активное накопление брома: содержание металла в этих растениях было выше фонового в среднем в 11,5-13,5 раза. Такие металлы как никель и медь в листьях растений города накапливались незначительно. Содержание Ni в растениях варьировало от 1 до 4 мг/кг, и по сравнению с фоном не имело достоверных различий. Накопление меди наблюдалось преимущественно травянистыми растениями (1-11 мг/кг), в листьях кустарников и деревьев содержание Cu - ниже предела количественного определения. Содержание Ca в исследуемых растениях составило – 0,01-0,04%. При загрязнении почвы металлами установлено значительное снижение КБП исследуемых элементов для большинства видов растений. Исключение составили некоторые виды, у которых интенсивность поглощения металла оказалась более высокой по сравнению с фоновым участком: береза обыкновенная (Mn), клен остролистный (Mn), тополь черный (Mn), роза морщинистая (Zn), сирень обыкновенная (Zn, Mn), клевер луговой (Sr),

Литература

1. Воскресенский В.С., Воскресенская О.Л. Изучение накопления радионуклидов в системе «почва – растение» в условиях антропогенного загрязнения //Труды Кубанского государственного аграрного университета. Краснодар: Изд-во КубГАУ, 2008. № 5. С. 125–128.
2. Позняк С.С. Содержание тяжелых металлов в растительности агрофитоценозов в зоне воздействия крупных промышленных центров // Экологический вестник: научно-практический журнал, 2010. №3. С. 5-14.

3. Чупахина Г.Н., Масленников П.В., Скрыпник Л.Н. и др. Реакция пигментной и антиоксидантной систем растений на загрязнение окружающей среды г. Калининграда выбросами автотранспорта // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2012. № 2. С. 171-185.

4. Чупахина Г.Н., Масленников П.В., Мальцева Е.Ю. и др. Антиоксидантный статус растений в условиях загрязнения кадмием городской среды // Вестник Балтийского федерального университета им. И. Канта. 2011. № 7. С. 16-23.

5. Методика выполнения измерения массовой доли металлов и оксидов металлов в порошковых пробах почв рентгенофлуоресцентным методом. М049-П/10. СПб.: ООО НПО «Спектрон», 2010. 17 с.

6. Масленников П.В., Чупахина Г.Н., Красноперов А.Г. Использование метода газоразрядной визуализации при оценке антиоксидантного статуса растений в условиях токсического действия кадмия // Вестник Балтийского федерального университета им. И. Канта. 2013. № 7. С. 14-21.

7. Масленников П.В. Реакция антиоксидантной системы чины приморской (*Lathyrus maritimus* Bigel.) на действие ионов кадмия // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. 2013. № 11-1. С. 67-70.

8. Масленников П.В., Велиева Э.Т., Галямова Ю.Р. Роль низкомолекулярных антиоксидантов в адаптации озимой ржи (*Secale cereal* L.) к токсическому действию CdCl₂ // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. 2013. № 12-1. С. 48-51.

STUDY OF HEAVY METAL ACCUMULATION IN PLANTS OF URBAN ENVIRONMENT

Maslennikov P.V., Bukreev A.V., Babaytseva E.V.

environmental contamination, heavy metals, phytoindication, phytourbocenosis, phytoremediation

The paper presents the results of a study of accumulation of heavy metals (Cu, Zn, Mn, Sr, Ni, Ca, Fe, Br, Rb) in soils and leaves the most common plant species the Kaliningrad urboenvironment. We have studied the background levels of metals in soils and plants. The maximum content of pollutants in soils and plants was observed in the high-rise commercial and residential areas with high traffic load. Wood, shrubs and herbaceous plants have unequal ability to accumulate metals and contain varying amounts of pollutants. Out of the elements of the plants most accumulated manganese and iron. Plants with a high storage capacity of TM may be useful for phytoremediation of polluted areas of cities.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РОСТА И УСТОЙЧИВОСТИ ПОДЗЕМНОГО МЕТАМЕРНОГО КОМПЛЕКСА КОРНЕВИЩНЫХ РАСТЕНИЙ

Маслова С.П.

ФГБУН Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, ул. Коммунистическая, 28, г. Сыктывкар, 167982, Россия, E-mail: maslova@ib.komisc.ru

корневища, рост, развитие, регуляция, адаптация

Введение

Корневищные многолетние растения формируют подземный метамерный комплекс, характеризующийся собственными механизмами регуляции роста, вегетативного развития и ростовых ориентаций [1]. Подземные побеги – корневища являются «фондом вегетативных диаспор» – зачатков новых организмов, запас которых определяет устойчивость и конкурентоспособность растений в различных экологических условиях. Подземные побеги обеспечивают вегетативное размножение и расселение, служат основным хранилищем органического углерода, запасы которого обеспечивают перезимовку и отрастание растений весной. Целью исследований было изучение закономерностей функционирования подземного метамерного комплекса длиннокорневищных многолетних растений в связи с ростом, развитием и устойчивостью.

Материалы и методы

Полевые эксперименты провели на растениях второго и третьего года жизни, выращенных из семян (*Phalaroides arundinacea*) или корневищ (*Achillea millefolium* и *Mentha arvensis*) при площади питания 0.4×0.7 м². Изучали накопление биомассы, скорость дыхания, тепловыделения, содержание растворимых сахаров и свободных фитогормонов. Для оценки роста, скорости запасаания энергии использовали термодинамическую модель, связывающую скорость роста с дыханием и тепловыделением [2]. Отбор проб растений осуществляли в фазу вегетативного развития (май, июнь), генеративного развития (июнь-август), в конце сезона вегетации (сентябрь-ноябрь) и зимой (январь).

Результаты и обсуждение

Установлено, что динамики роста, накопления и распределения биомассы длиннокорневищных растений определяются репродуктивной стратегией многолетников, что направлено на эффективное использование ассимилятов при реализации генеративной и вегетативной репродукции [3, 4]. Интенсивный рост, ветвление, новообразование метамеров корневищ осуществляется в период генеративного развития растений (июль-август) и продолжается вплоть до глубокой осени. Во время образования генеративных органов в надземной части доля подземной биомассы достигала 30% и возрастала к осени до 50 %. Рост корневищ осуществлялся за счет увеличения числа и длины метамеров, что свидетельствует о продолжении процессов деления и растяжения клеток верхушечных и латеральных меристем подземных побегов в осенний период при низких положительных температурах в зоне обитания корневищ.

Скорость дыхания корневищ растений в летний период составляла в среднем 1.5 мг СО₂/г сухой массы ч и снижалась на 30 % к концу октября. Корневища, извлеченные из почвы в январе, после кратковременной адаптации при 20 оС, были способны поддерживать скорость дыхания на уровне 40 % от величины, измеренной летом. Летом на долю растворимых сахаров приходилось 15 % сухой биомассы корневищ, а в осенний период отмечено возрастание уровня сахаров на 30 %. При этом, основную долю, 60 %, в тканях корневища составляли олигосахариды. В летний период отмечено сравнительно высокое содержание ауксинов, цитокининов и АБК. Максимальная активность АБК в июле, когда начинался активный рост молодых корневищ, может быть связано с участием этого гормона в регуляции

ростовых процессов, связанных с транспортом метаболитов и водным балансом. В конце сезона вегетации, апикальные зоны корневищ характеризовались увеличением соотношения гиббереллины/АБК и цитокинины/АБК (рис. 1).

Выявлены закономерности изменения скорости роста корневищ в процессе их морфогенеза в зависимости от температуры (рис. 2). Зона температурного оптимума роста подземных побегов находится в области низких и умеренных положительных температур (5-20°C), а в позднеосенний период сдвигается в сторону более низких положительных (2-15°C). Почки подземных побегов сохраняют способность к росту и запасанию энергии в зимний период, когда температура почвы в зоне их обитания падает до 0...-3 °С., что свидетельствует о вынужденном покое корневищ. Зимой температура замерзания воды в тканях апикальной части корневищ составляла -10 °С и была втрое ниже температуры почвы в зоне их локализации, что свидетельствует о запасе прочности и устойчивости многолетних подземных побегов, способных к зимовке и отрастанию весной.

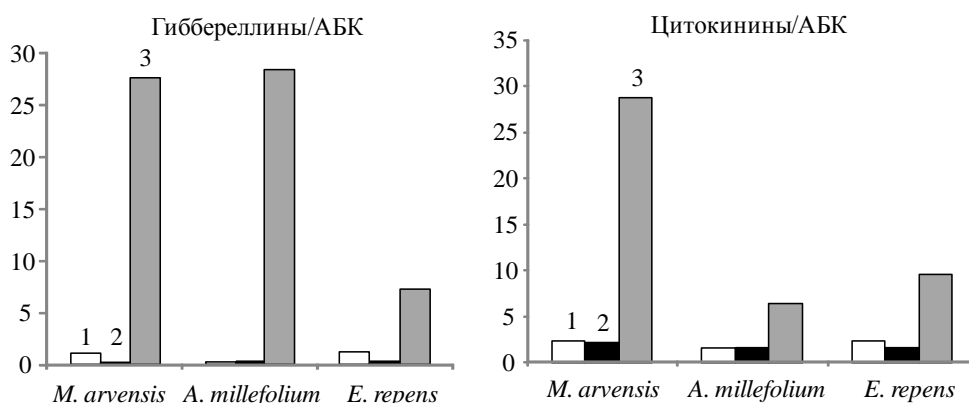


Рисунок 1 - Сезонная динамика соотношения фитогормонов в тканях подземных побегов корневищных растений. 1 – май, 2 – июль, 3 – сентябрь

Figure 1 - Seasonal dynamics of the phytohormones ratio in the underground shoots of rhizomatous plants. 1 – May, 2 – July and 3 – September

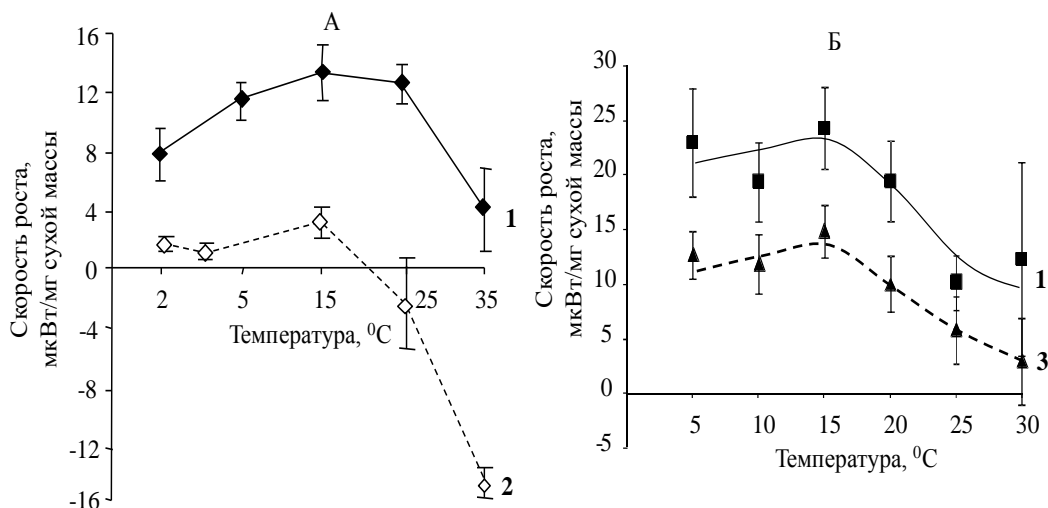


Рисунок 2 - Температурная зависимость скорости роста корневищ *Phalaroides arundinacea* (А) и *Achillea millefolium* (Б). 1 - июль, 2 - ноябрь, 3 - январь. Данные рассчитаны по результатам микрокалориметрического определения дыхания и тепловыделения [2]

Figure 2 - Temperature dependence of growth activity of rhizomes of *Phalaroides arundinacea* (A) and *Achillea millefolium* (B). 1 – July, 2 – November and 3 – January. The data were calculated by the results of microcalorimetric determination of the rate of respiration and heat emission [2]

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют об активном росте и метаболизме подземных побегов – корневищ после завершения роста надземных побегов и вплоть до глубокой осени. В это время осуществляются морфогенетические преобразования в меристемах корневищ, связанные с закладкой почек, перестройкой механизма диагравитропизма в отрицательный гравитропизм, после чего почка формирует ортотропный побег. Возрастание соотношения гиббереллины/АБК и цитокинины/АБК в осенне-зимний период свидетельствует об активном росте метамеров корневищ, формировании осевых органов боковых почек в узлах вновь образующихся метамеров подземного побега. Узлы метамеров корневища представляют собой латеральные рост-активные зоны, обеспечивающие подземное диагравитропное ветвление корневища. Показано накопление растворимых углеводов, особенно олигосахаридов, в тканях корневищ в период их интенсивного роста и ветвления. Сахара как сигнальные молекулы могут регулировать клеточное деление, рост, дифференциацию, метаболизм в тканях подземных побегов, участвовать в адаптации корневищ к действию низких температур.

Заключение

На основе комплексных исследований структурно-функциональной организации подземного метамерного комплекса корневищных растений, показаны закономерности функционирования и устойчивости подземных побегов, их гормонально-трофической регуляции роста, развития и адаптации в условиях холодного климата. Морфогенетические преобразования в подземных почках осенью протекают на фоне изменения гормонального баланса в пользу ростовых гормонов, накопления неструктурных сахаров (олигосахаридов) и сопряжены с повышенной дыхательной активностью. Это является необходимым условием для линейного роста и формообразовательных процессов в латеральных зонах корневища, обеспечивающих подземное диагравитропное ветвление, при подготовке растений к перезимовке. Впервые изучена зависимость скорости роста верхушки корневищ от температуры на разных этапах морфогенеза верхушечной почки. Показана способность почек подземных побегов к росту и запасанию энергии в январе, когда температура почвы в зоне обитания корневищ снижается до отрицательных температур.

Литература

1. Маркаров А.М., Головки Т.К. Ростовая ориентация подземных побегов многолетних травянистых растений 3. Морфофизиология подземных побегов и развитие сарментов // Физиология растений. 1995. Т.42. №5. С.709-713.
2. Hansen L.D., Hopkin M.S., Rank D.R. et al. The relation between plant growth and respiration: A thermodynamic model // Planta. 1994. V.194. №1. P.77-85.
3. Маслова С.П., Табаленкова Г.Н., Куренкова С.В., Плюснина С.Н. Сезонная динамика анатомо-морфологической структуры и содержания фитогормонов и сахаров в подземных побегах *Phalaroides arundinacea* // Физиология растений. 2007. Т.54. №4. С.555-561.
4. Маслова С.П., Табаленкова Г.Н., Малышев Р.В., Головки Т.К. Сезонные изменения роста и метаболической активности подземных побегов тысячелистника обыкновенного // Физиология растений. 2013. Т. 60. № 6. С. 865–873.

PHYSIOLOGICAL MECHANISMS OF GROWTH AND RESISTANCE OF RHIZOMATOUS PLANTS UNDERGROUND METAMERIC COMPLEX

Maslova S.P.

rhizome, growth, development, regulation, adaptation

Growth and metabolic activity of underground shoots of rhizomatous plants were studied. A reduction in the respiration of underground shoots, the accumulation of soluble sugars, the increase in the ratios GA/ABA and cytokinins/ABA in autumn and winter were found. We showed the ability of buds of underground shoots to grow and accumulate energy in January when soil temperature in the zone occupied with rhizomes falls to zero and below.

**КРАСНЫЙ СВЕТ РЕГУЛИРУЕТ ИНДУКЦИЮ ГЕНОВ ХОЛОДОВОГО ОТВЕТА
У ЦИАНОБАКТЕРИИ *SYNECHOCYSTIS SP.***

Миронов К.С.

ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая 35,
г. Москва, 127276, Россия, E-mail: IFR@IPPRAS.RU*Synechocystis*, холодовой стресс, красный свет, экспрессия генов, жирные кислоты

Накопление полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) липидов мембран в клетках микроорганизмов при снижении окружающей температуры связывают с понижением вязкости клеточных мембран согласно теории гомеовязкостной адаптации (ТГА). Нами был получен мутант цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803 (далее *Synechocystis*) по генам *desA* и *desD*, кодирующим, соответственно, дельта-12 и дельта-6 десатуразы жирных кислот (ЖК). Данный мутант характеризуется абсолютной неспособностью синтезировать ПНЖК и представляет интерес для изучения роли ПНЖК при адаптации клеток цианобактерий к холодovому стрессу.

Клетки дикого типа (ДТ), приспособившись к холодovому стрессу, накапливают 18:3 и 18:4 омега-3 ПНЖК. Мы обнаружили, что это накопление носит строго светозависимый характер. При этом регуляция экспрессии генов холодovого ответа, в частности, гена омега-3 десатуразы, *desB*, также светозависима.

Для оценки степени упорядоченности клеточных мембран мы оценивали величину анизотропии поляризации флуоресценции (АПФ) 1,6-дифенил-1,3,5-гексатриена (ДФГ). Нами было показано, что адаптивное снижение вязкости мембран клеток *Synechocystis* при снижении окружающей температуры происходило также строго светозависимо. Вопреки ожиданиям, клетки *desA/desD*-мутанта также оказались способны регулировать вязкость мембран, несмотря на ТГА, хотя, их мембраны отличались повышенной вязкостью в сравнении с мембранами клеток дикого типа. Т.о. существует дополнительный фактор, кроме накопления ПНЖК, способный изменять упорядоченность липидов мембран цианобактерий. Кроме того, мы показали, что гены, демонстрирующие светозависимый характер индукции, экспрессируются сильнее в клетках *desA/desD*-мутанта. Следовательно, их экспрессия определяется также и физическим состоянием клеточных мембран. Гены этой группы находятся под контролем гистидин-киназы Hik33, которая является сенсором холодovого стресса в клетках *Synechocystis*.

Нами также было проведено исследование спектрального состава света, который необходим для формирования ответа на холодovый стресс клетками *Synechocystis*. Для этого мы исследовали индукцию накопления транскриптов генов холодovого ответа при облучении светом различных длин волн: от 400 до 700 нм. Оказалось, что для светозависимой индукции экспрессии генов холодovого ответа важен 700-нм свет. Мы связываем светозависимость адаптивного характера ответа на холодovый стресс с функционированием упомянутой Hik33 в частности с наличием PAS-домена у этой гистидин-киназы. Кроме того, нельзя исключать возможность регуляции ответа на холодovый стресс со стороны цианобактериального фитохрома, максимум дальнекрасной формы которого – 704 нм. При этом 700-нм свет должен обеспечивать фотоконверсию фитохрома в красную форму, которая у цианобактерий считается не активной. Если предположение о вовлеченности фитохрома верно, то фитохром, возможно, выступает в качестве негативного регулятора экспрессии генов холодovого стресса.

**RED LIGHT REGULATES COLD SHOCK GENES EXPRESSION
IN CYANOBACTERIUM SYNECHOCYSTIS SP.**

Mironov K.S.

Synechocystis, cold shock, red light, gene expression, fatty acids

Cold stress begins with the perception and transduction of the cold signal via membrane sensor histidine kinase Hik33 that controls gene expression depending on membrane physical state. Cold sensor Hik33 carries the PAS-domain. The latter is attributed to regulatory proteins that participate in regulation of circadian clock in various organisms and in coordination of metabolism in photosynthetic cells. We assume that red light-dependent effects of cold regulation of gene expression and fatty acid accumulation might be regulated via the PAS domain of this sensory kinase.

**ВЛИЯНИЕ ВЫСОКОДИСПЕРСНЫХ ШЛАМОВ ЧЕРНОЙ МЕТАЛЛУРГИИ НА
AVENA SATIVA L.**

Михайлова С.И., Астафурова Т.П., Буренина А.А., Зотикова А.П., Моргалев Ю.Н.

ФГБОУ ВПО «Национальный исследовательский Томский государственный университет»,
пр. Ленина, 36, г. Томск, 634050, Россия, E-mail: mikhailova.si@yandex.ru

высокодисперсные шламы черной металлургии, тяжелые металлы, фитотестирование, Avena sativa L.

Увеличение объемов разнообразных отходов черной металлургии на территории РФ и сопутствующие экологические проблемы требуют разработки современных технологий их утилизации, в частности с использованием биоконверсии. Содержащиеся в металлургических отходах тяжелые металлы, в силу их цитотоксического, мутагенного и канцерогенного действия, считаются главными загрязнителями окружающей среды [4]. Все более актуальными становятся вопросы оценки влияния высокодисперсных компонентов металлургических шламов на растения с целью разработки способов биологической утилизации отходов.

Эффективным методом оценки потенциальной опасности техногенных отходов является фитотестирование, которое широко используется как способ токсикологической оценки сред и прием оценки токсичности или биоактивности различных материалов, химикатов, промышленных отходов. Перспективно использование фитотестирования в новой сфере – интенсивно развивающейся технологии для оценки биобезопасности наноматериалов [1, 3, 6].

Цель данной работы – изучение влияния высокодисперсных шламовых образований черной металлургии на морфометрические и биохимические показатели растений *Avena sativa L.* на ранних этапах развития.

Материалы и методы

Исследование проводили на проростках семян овса посевного сорт Талисман. В работе использован доменный шлак из шламонакопителей Череповецкого металлургического комбината. Основные элементы исследованного шлака содержатся в виде оксидов (Fe_2O_3 , SiO_2 , Al_2O_3 , ZnO), причем содержание оксида железа составляет около 60 %.

В методике использована современная технология фитотестирования в прозрачных пластиковых двухкамерных планшетах, которая позволяет проанализировать как прямое, так и опосредованное действие анализируемых веществ [5]. Семена проращивали двумя способами: на подложке из фильтровальной бумаги и на референтной почве. В каждом опыте испытывали две концентрации исходного шлака (ШИ 1 % и ШИ 10 %), в качестве контроля служила дистиллированная вода. Приготовленные планшеты инкубировали в термостате в условиях, соответствующих ГОСТу 12038–84 [2].

Влияние шлака на проростки овса оценивали по изменению морфометрических и биохимических параметров. Содержание флавоноидов, суммы хлорофиллов и азотного индекса определяли на флавоноид– и хлорофилло– метре Dualex 4 (Франция). Азотный индекс рассчитывается как отношение хлорофиллов к флавоноидам. Измерения проводятся в диапазоне от 0,00 до 3,00 мг/см² точность абсорбции –5%.

Статистическая обработка данных проведена с помощью пакета Statistica 8.

Результаты и обсуждение

Проращивание семян овса на планшетах с использованием разных субстратов (воды и почвы) показало, что обе концентрации шлака (1% и 10%) проявили биоактивность по отношению к данному тест-растению, причем во всех случаях достоверных изменений параметров наблюдались превышения показателей по сравнению с контролем (табл. 1).

Таблица 1 – Влияние исходного шлама на морфометрические показатели овса
Table 1 – Effect of initial sludge on morphometric parameters of oats

Показатели	Водная среда			Почва		
	контроль	ШИ 1 %	ШИ 10 %	контроль	ШИ 1 %	ШИ 10 %
Высота проростка, мм	97,6±5,8	118,0±2,5*	117,3±4,0*	110,8±4,4	135,5±6,9*	130,5±7,5*
Длина корня, мм	110,7±3,4	124,1±5,1*	130,3±2,7*	108,2±4,1	120,4±13,5*	122,2±5,3*
Масса надземная, мг	78±3 6±0	102±3* 9±0*	88±3* 7±0*	99±8 8±1	122±13 11±1	126±6* 11±1*
Масса корней, мг	53±4 5±0	87±3* 7±0*	76±5* 6±0	44±7 5±1	71±10* 8±1*	57±4* 6±0
Масса проростка, мг	131±6 11±1	189±5* 16±0*	165±7* 13±1*	143±8 14±1	193±22* 19±2*	183±10* 17±1*
Примечание: В числителе – масса сырая, в знаменателе – масса воздушно-сухая; знаком * отмечены достоверные различия при $p < 0,05$						

Наиболее отзывчивыми оказались весовые параметры, особенно масса корня, которая увеличилась на 43–64 % при культивации на водной среде и на 30–61% – на почвенной среде. Наибольший стимулирующий эффект был установлен при выращивании овса в обеих средах с добавлением 1%-ного шлама.

При проведении фитотестирования загрязненных сред информативными являются биохимические показатели растений. Важным параметром, характеризующим реакцию растений, является количество хлорофилла – основного фотосинтетического пигмента, на содержание которого значительно влияет уровень микроэлементов в почве, в частности содержание железа. В ответ на воздействие тяжелых металлов в растениях обычно происходит накопление вторичных веществ фенольной природы, которые образуют комплексы с тяжелыми металлами, поэтому в тестовых растениях было определено содержание флавоноидов в расчете на см² листа (табл. 2).

Таблица 2 – Влияние исходного шлама на биохимические показатели овса
Table 2 – Effect of initial sludge on biochemical parameters of oats

Показатели	Контроль	ШИ 1 %	ШИ 10 %
Суммарное содержание хлорофиллов, мг/см ²	4,8±0,45	5,84±0,41*	5,44±0,55
Флавоноиды, мг/см ²	0,63±0,09	0,71±0,12	0,84±0,07*
Индекс азотного баланса	8,25±0,55	7,37±0,28	6,59±0,45*
Примечание: знаком * отмечены достоверные различия при $p < 0,05$			

Флавоноиды являются индикаторами азотного статуса растений: когда растение находится в оптимальной форме, оно использует основной обмен веществ и синтезирует белки, в случае дефицита азота растение направляет метаболизм на увеличение синтеза флавоноидов. Индекс азотного баланса растений рассчитывается как отношение хлорофиллов к флавоноидам и дает возможность получать наиболее раннюю информацию об азотном статусе расте-

ний. В опытных вариантах у овса азотный индекс понижается за счет повышения флавоноидов.

Заключение

В результате фитотестирования высокодисперсных шламов черной металлургии методом планшетов с использованием в качестве тест-растения овса сорт Талисман выявлен ряд биоэффектов. Установлено, что добавление металлургического шлама в водную и почвенную среду в обеих концентрациях (1% и 10%) стимулирует рост овса на начальных этапах онтогенеза. Наибольший стимулирующий эффект был установлен при выращивании овса в обеих средах с добавлением 1%-ного шлама. Максимальный стимулирующий эффект был получен на весовых параметрах, так сырая масса корней овса увеличилась на 61–64 %.

При проведении фитотестирования перспективно использование экспресс-диагностики состояния растений с помощью прибора Dualex 4, позволяющего в режиме реального времени оценить ряд биохимических показателей.

Литература

1. Астафурова Т.А., Моргалёв Ю.Н., Боровикова Г.В., Зотикова А.П., Верхотурова Г.С., Зайцева Т.А., Постовалова В.М., Цыцарева Л.К. Изучение фитотоксичности наночастиц бинарных соединений алюминия и кремния // *Нанотехника*. – 2011. – № 3 (27). – С. 81–88.

2. ГОСТ 12038-84 Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. – М.: Изд-во стандартов, 1984. – 28 с.

3. Лисовицкая О.В., Терехова В.А. Фитотестирование: основные подходы, проблемы лабораторного метода и современные решения // *Доклады по экологическому почвоведению*. – 2010. – № 1. – Вып. 13. – С. 1–18.

4. Лянгузова И.В. Промышленное загрязнение окружающей среды (краткий обзор проблемы) // *Проблемы экологии растительных сообществ*. Спб.: ООО «ВВМ». – 2005. – С. 23–27.

5. Методика измерений биологической активности гуминовых веществ методом фитотестирования «Фитоскан». Биологические методы контроля ФР. 1.31.2012.11560. – М: МГУ имени М.В. Ломоносова, 2012 г. – 19 с.

6. Моргалёв Ю.Н., Астафурова Т.П., Боровикова Г.В., Зотикова А.П., Зайцева Т.А., Постовалова В.М., Верхотурова Г.С., Моргалёва Т.Г. Аккумуляция наночастиц платины в растениях пшеницы и гороха и особенности их морфологических изменений // *Нанотехника*. 2012. – № 3 (31). – С.81–86.

INFLUENCE OF HIGH DISPERCED METALLURGIC WASTE SLIMES OF AVENA SATIVA L.

Mikhaylova S.I., Astafurova T.P., Burenina A.A., Zotikova A.P., Morgalev Y.N.

high dispersed slimes of black metallurgy, heavy metals, phytotesting, Avena sativa L.

In the article are presented the results of phytotesting of high dispersed waste slime with increased content of iron. In laboratory conditions have been investigated the growth and биохимические параметры of *Avena sativa* under influence of different concentrations of waste slime (1% and 10%) with use of planetable method of couching of seeds on two types of substrates (water and soil). It was revealed a stimulant effect of 1% slime on seedlings of *Avena sativa*.

**СКОРОСТЬ ГЕНЕРАЦИИ СУПЕРОКСИДНОГО АНИОН-РАДИКАЛА В
КАЛЛУСНОЙ КУЛЬТУРЕ ОГУРЦА ПРИ ДЕЙСТВИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ**

Михайлова И.Д., Лукаткин А.С.

ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева»,
ул. Большевикская, 68, г. Саранск, 430005, Россия, E-mail: kariglazayi@yandex.ru

калус, огурец, тяжелые металлы, никель, свинец, цинк, медь, супероксидный анион-радикал

Активная деятельность человека приводит к загрязнению окружающей среды различными поллютантами. Особенно остро стоит проблема загрязнения наземной и водной среды тяжелыми металлами (ТМ). Почвы, загрязненные ТМ, становятся мало пригодными для использования в сельском хозяйстве. Попадая в растения, ТМ снижают продуктивность сельскохозяйственных культур; они вовлекаются в пищевые цепи и накапливаются в тканях консументов в опасных дозах. Поэтому актуальным становится изучение влияния ТМ на физиологические процессы у растений. Большую роль в неблагоприятных воздействиях ТМ на растительные клетки играет возникающий окислительный стресс. Одним из его проявлений является генерация активированных форм кислорода (АФК), в первую очередь – супероксидного анион-радикала. Он может запускать цепь биохимических нарушений как сам по себе, так и через другие АФК, образующиеся на его основе. Поэтому необходимо знать, как происходит генерация АФК при неблагоприятных воздействиях на растения. Цель работы: изучение влияния ионов тяжелых металлов на скорость генерации супероксидного анион-радикала в каллусной культуре огурца.

В качестве объекта исследования был взят огурец (*Cucumis sativum* L.) сорта Единство. Получали стерильные растения, проводили их эксплантацию на среду Мурасиге-Скуга (МС), полученный каллус пересаживали на среду МС с добавлением ТМ. В работе использовали соли $Pb(NO_3)_2$, $CuSO_4 \times 5H_2O$, $NiSO_4 \times 7H_2O$ в концентрациях 10 мкМ, 0,1 мМ, 1 мМ, а также $ZnSO_4 \times 7H_2O$ (0,1 мМ, 1 мМ, т.к. в среде МС содержится около 30 мкМ ионов Zn^{2+}). Каллус выращивали 4-6 недель и определяли скорость генерации супероксидного анион-радикала. В качестве контроля брали каллус, выращенный на питательной среде МС без добавления ТМ.

На каллусной культуре огурца гипокотильного происхождения определяли эффекты длительного выращивания на среде с добавлением ТМ на генерацию O_2^- . Выявлено, что в большинстве вариантов ионы ТМ не показали существенного увеличения (табл.). Так, на среде с ионами никеля скорость генерации супероксидного анион-радикала в каллусной культуре огурца была ниже водного контроля, причем наименьшее значение (меньше контроля в 2 раза) наблюдалось при концентрации 1 мМ. На уровне контроля находились значения генерации O_2^- при действии низких концентраций ионов свинца, однако наблюдали резкое снижение (в 2 раза относительно контроля) при самой высокой концентрации 1 мМ. При действии ионов меди во всех исследованных концентрациях было 2-3-кратное снижение генерации супероксида относительно контроля. И лишь на фоне избыточной концентрации ионов цинка наблюдали существенное превышение контроля по генерации O_2^- .

Таким образом, длительное выращивание каллусов огурца на среде МС с избытком ТМ не индуцировало повышенную генерацию O_2^- (кроме высоких доз Zn^{2+} в среде). Возможно, что развивающаяся в условиях хронического действия ТМ культура клеток адаптируется к ТМ – либо за счет автоселекционных процессов, либо путем биохимической адаптации. В дальнейшем это может служить основой для выведения металлоустойчивых линий растений.

Таблица 1 - Скорость генерации O₂⁻ в 4-недельных каллусах огурца при действии различных концентраций ТМ, % к водному контролю

Figure 1 - Rate of superoxide generation in the 4-weeks old cucumber callus affected by various concentrations of HM, % to control

Ионы ТМ	Концентрация ионов		
	10 мкМ	0,1 мМ	1 мМ
Ni ²⁺	81,3	91,5	52,9
Pb ²⁺	99,4	93,0	64,3
Zn ²⁺	-	134,9	169,6
Cu ²⁺	53,0	61,4	36,1

Литература

1. Пескин А. В. Окислительный стресс как критерий оценки окружающей среды / А. В. Пескин, С. Д. Столяров // Известия РАН. Сер. биол. наук. – 1994. – № 4. – С. 588–595.
2. Лукаткин А. С. Цитокинин-подобные препараты ослабляют повреждения растений кукурузы ионами цинка и никеля / А. С. Лукаткин, Н. В. Грачева, Н. Н. Грищенко // Физиология растений. – 2007. – Т. 54 - №3. – С. 432-439.
3. Егорова Н. А. Разработка методических основ клеточной селекции лаванды *in vitro* на устойчивость к NaCl. // Экосистемы, их оптимизация и охрана. – 2011. – Вып. 5 – С. 173-179.

THE RATE OF SUPEROXIDE GENERATION IN CUCUMBER CALLUS AFFECTED BY HEAVY METALS

Michailova I.D., Lukatkin A.S.

callus, cucumber, heavy metals, nickel, lead, zinc, cooper, superoxide generation

The effect of heavy metal ions on the rate of generation of superoxide anion radical in the callus culture of cucumber (*Cucumis sativum* L.) was studied. The long-term cultivation of cucumber callus on medium with an excess of HM did not induce the high O₂⁻ generation (despite of Zn²⁺). It is possible that cell cultures were adapted to the HM under the chronic HM action, and this may be by auto-selection processes, or by biochemical adaptation. It can be used to derive plant lines resistant to heavy metals.

УДК 581.1

ДИНАМИКА АКТИВНОСТИ ЛЕКТИНОВ В КОРНЯХ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ ТЯЖЁЛЫХ МЕТАЛЛОВ И СТЕВИОЗИДА

Михайлов А.Л., Невмержицкая Ю.Ю., Тимофеева О.А.

ФГОАУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», ул. Кремлевская, 18, г. Казань, 420008, Россия, E-mail: almihaylov@bk.ru

лектины, тяжелые металлы, стевиозид

Введение

В последние десятилетия повышенное внимание уделяется проблемам загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами, которые представляют большую опасность для сельскохозяйственных экосистем. И одной из приоритетных задач современного растениеводства является поиск новых регуляторов роста и физиологически активных веществ, способных эффективно регулировать уровень тяжелых металлов в растениях. В настоящее время большой интерес вызывают природные соединения, часто обладающие специфичной биологической активностью. К таким веществам относятся сладкие дитерпеноидные гликозиды, которые содержатся в растении *Stevia rebaudiana* Bertoni. Известно, что агликон стевиозида – стевиол, благодаря особенностям своего строения, претендовал на роль предшественника гибберелловой кислоты [5]. В связи с этим цель нашей работы состояла в исследовании динамики изменений активности лектинов в проростках пшеницы при действии стевиозида и тяжелых металлов.

Материалы и методы

Объектом исследования служили корни проростков яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Омская 33. Стевиозид был получен из растительного сырья в ИОФХ им. А.Е. Арбузова в лаборатории фосфорных аналогов природных соединений чл. – корр. РАН В.Ф. Миронова. Растения выращивали в лабораторных условиях в кюветах на водопроводной воде при освещении 100 Вт/м² и 12-часовом фотопериоде при температуре 23°C в течение 9 сут. В опытных вариантах растения росли на растворе стевиозида (10⁻⁸ М). Затем 5-ти суточные растения переносили на растворы тяжелых металлов CdSO₄, CuSO₄ в концентрации 10 мкМ и 1мМ. Растворимые лектины экстрагировали 0.05 н HCl, лектины клеточной стенки – 0.05% раствором тритона X-100. Лектиновую активность определяли с помощью реакции гемагглютинации с эритроцитами 1 группы крови. Белок определяли по методу Bradford. Измерение концентрации тяжелых металлов проводили методом атомно-абсорбционной спектrophотометрии. Опыты проводили в 3-х биологических повторностях.

Результаты и обсуждение

Анализ накопления металлов показал, что и в корни, и в листья проростков Cd и Cu поступали в заметных количествах как при 1 мМ, так и 10 мкМ в среде выращивания растений, причем в корнях содержание ТМ было значительно выше по сравнению с листьями (таб.1). Кадмий в большей степени адсорбировался в растениях по сравнению с медью.

Предварительная обработка растений стевиозидом приводила к уменьшению накопления кадмия и меди в высокой концентрации в надземной части проростков, но увеличивала накопление этих металлов в корнях. Наблюдаемое в наших экспериментах торможение поступления и накопления ТМ в надземной и подземной части проростков пшеницы после предобработки раствором дитерпенового гликозида обусловлена, по-видимому, химическими свойствами стевиозида и его протекторной способностью.

В течение эксперимента наблюдались незначительные изменения активности растворимых лектинов у контрольных растений, которые можно объяснить суточной динамикой в ходе всего эксперимента.

Таблица 1 - Влияние стевиозида (10⁻⁸ М) на содержание ТМ в корнях и листьях проростков пшеницы, мкг/г сух.веса

Table 1 - Effect of stevioside (10⁻⁸ M) on the content of heavy metals in the roots and leaves of wheat seedlings, µg / g of dry weight

ТМ	-стевиозид			+стевиозид		
	H ₂ O	Me (1 Мм)	Me (10 мкМ)	H ₂ O	Me (1 мМ)	Me (10 мкМ)
Корни						
Cu	7,20±0,08	174,36±0,06	22,68±0,04	8,37±0,07	394,20±0,10	44,70±0,07
Cd	14,36±0,01	10306,40±0,04	565,74±0,10	22,34±0,08	12285,81±0,0	632,18±0,04
Листья						
Cu	18,60±0,05	53,10±0,04	25,80±0,10	18,00±0,08	21,00±0,03	16,80±0,01
Cd	2,40±0,01	642,00±0,03	58,20±0,04	7,50±0,01	367,20±0,05	68,10±0,04

Изучение динамики активности растворимых лектинов при выращивании растений на растворах CuSO₄ и CdSO₄ как с высокой (1 мМ), так и с низкой концентрацией (10 мкМ) показало, что активность этих белков значительно возрастала в течение всего эксперимента (1-4 сут) и достигала своего максимального значения на 4-е сут.. При этом чувствительность активности растворимых лектинов к кадмию была выше, чем к меди. Вероятно, увеличение активности растворимых лектинов является транзитным и растет по мере развития повреждения растений от тяжелых металлов. В тоже время, известно, что АЗП является стрессовым белком, и увеличение его активности может свидетельствовать о вовлечении АЗП в защитные реакции к действию тяжелых металлов.

Механизм действия регуляторов роста осуществляется через изменения в синтезе и активности различных белков. Имеются данные о способности лектинов, помимо углеводов, связываться с молекулами фитогормонов. Так, лектин пшеницы АЗП обладает высоким сродством к целому ряду фитогормонов, таких, как ауксины, цитокинины и гибберелловая кислота [4]. Можно предположить, что комплекс лектины – фитогормоны участвует в запасании гормонов и регуляции роста растений [6]. В связи с этим мы определяли динамику активности у растений, выращенных на среде со стевиозидом. Стевиозид незначительно повышал активность растворимых лектинов по сравнению с контролем в течение всего эксперимента.

Предварительная обработка растений пшеницы раствором стевиозида (10⁻⁸ М) в течение 4 сут. уменьшала эффект обеих концентраций CdSO₄ и CuSO₄ на активность растворимых лектинов, причем наибольшее протекторное действие стевиозида проявилось на фоне CuSO₄ (10 мкМ) на 4 сут. эксперимента.

При высаживании растений озимой пшеницы на растворы с избытком Cd и Cu уже через сут. наблюдалось значительное увеличение активности лектинов, связанных с клеточной стенкой, при этом высокие концентрации ТМ в большей степени влияли на лектины клеточной стенки, по сравнению с низкими концентрациями. В низких концентрациях (10 мкМ) медь и кадмий стимулировали активность этих белков только на 4-е сут..

Стевиозид (10⁻⁸ М), добавленный в среду выращивания растений, ингибировал активность лектинов клеточной стенки.

Предварительная обработка растений стевиозидом снимала эффект кадмия на активность лектинов клеточной стенки до уровня контрольных растений, начиная с первых сут. эксперимента.

В варианте с Cu (1 мМ и 10 мкМ) под влиянием стевиозида происходило значительное увеличение активности лектинов клеточной стенки на 1-3 сут. эксперимента, а на 4-е сут. активность лектинов клеточной стенки в этом варианте достигала уровня контрольных растений.

Заключение

Модификация действия тяжелых металлов на культурные растения при применении различных регуляторов роста показана в ряде работ [1, 2, 3]. Установлены протекторные свойства регуляторов роста растений в условиях токсического действия тяжелых металлов, при применении некоторых из них выявлено уменьшение накопления тяжелых металлов. С другой стороны применение ряда соединений в условиях действия тяжелых металлов может приводить к усилению накопления и/или токсического действия металлов на растения. Наблюдаемая в наших экспериментах модификация влияния тяжелых металлов на рост проростков яровой пшеницы после предобработки раствором стевиозида, по-видимому, обусловлена видом поллютанта и его химическими свойствами.

Литература

1. Башмаков Д.И., Пыненкова Н.А., Сазанова К.А., Лукаткин А.С. Влияние синтетического регулятора роста цитодеф и тяжелых металлов на окислительный статус растений огурца // Физиология растений. – 2012. Т. 59. № 1. С. 67-73.
2. Лукаткин А.С., Грищенко Н.Н., Грачева Н.В. Влияние регуляторов роста на проницаемость клеточных мембран в листьях кукурузы при стрессовом воздействии ионов Ni²⁺. // Материалы III Международной конференции «Регуляция роста и продуктивности растений». – Минск, 2003. – 215 с.
3. Серегин И.В., Кожевникова А.Д. Распределение кадмия, свинца, никеля и стронция в набухающих зерновках кукурузы // Физиология растений. – 2005. – Т. 52, № 4. – С. 635-640.
4. Bogoeva V.P., Radeva M.A., Atanasova L.Y., Stoitsova L.Y., Boteva R.N. // Biochim. Biophys. Acta. - 2004. - V. 1698. - P. 213-218.
5. Hanson J.R. The tetracyclic diterpenes // Oxford.: Pergamon - 1968. – P. 132.
6. Oliveira B.H., Stiirmer J.C., Filho J. D. S. [et al.] Plant growth regulation activity of steviol and derivatives // Phytochemistry – 2008. - V.69. - P. 1528-1533.

DYNAMICS LECTIN ACTIVITY IN SEEDLING ROOTS WINTER WHEAT UNDER THE INFLUENCE OF HEAVY METALS AND STEVIOSIDE

Mikhailov A.L., Nevmerzhitskaya Y.Y., Timofeeva O.A.

lectins, heavy metals, stevioside

Investigated the effects of stevioside on the accumulation of heavy metals and the dynamics of lectin activity in wheat seedlings. Stevioside reduced the heavy metals in the aboveground part of the plant and remove the effect of toxicants on the activity of lectins.

ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ ВИШНИ К КОККОМИКОЗУ

Мотылева С.М., Кузнецов М.Н., Мертвищева М.Е.

ГНУ Всероссийский селекционно-технологический институт садоводства и питомниководства, ул. Загорьевская 4, г. Москва, 115598, Россия, E-mail: vstisp@vstisp.org

лист вишни, морфометрические признаки, фенольный комплекс, зольный состав, жидкостная хроматография, сканирующая электронная микроскопия, энергодисперсионная спектроскопия

Введение

Вишня является ценной плодовой культурой, однако в результате суровых зим, эпифитотийных вспышек грибных болезней, произошло сильное сокращение площадей вишневых садов и в настоящее время культура нуждается в восстановлении. Для этого необходимы высокоадаптивные сорта, устойчивые к биотическим факторам среды. Иммуитет растений обусловлен физиолого-биохимическими механизмами защиты и наличием морфологических барьеров – структурными особенностями поверхности листьев и стеблей (Вавилов, 1935; Ищенко, 1979; Wustenberghs et al., 1998). Возможность диагностики устойчивости вишни к биотическим факторам среды на ранних этапах селекционного процесса, прогнозирование генетической изменчивости и наследования физиолого-биохимических и морфоанатомических признаков является актуальным.

Цель исследований - выявление механизмов устойчивости косточковых культур к коккомикозу по комплексу признаков для создания устойчивых генотипов.

Материалы и методы

Удобным объектом для получения информационных показателей является лист. В данной работе были исследованы листья 10 генотипов вишни из коллекции ГНУ ВНИИСПК, любезно предоставленные д.с.-х.н. Джигадло Е.Н. Родительские формы: Тургеневка, сорт средней устойчивости к коккомикозу и 82990 (Памяти Вавилова x 1-320), донор устойчивости к коккомикозу и полученные гибридные формы 35(1), 35(3), 35(5) и 35(6). Родительские формы Тургеневка и 85017 (Любская x Вишня Максимовича), донор устойчивости к коккомикозу и полученная гибридная форма 34(2). Родительские формы Любская и 82990 и полученная гибридная форма 50(1).

В работе использовали современные приборно-аналитические методы. Особенности скульптуры, развитие патогенна, морфометрические признаки – количество устьиц - определяли методом сканирующей электронной микроскопии на микроскопе JEOL JSM 6310; качественный состав фенольных соединений (профили водно - спиртовых экстрактов) – методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на хроматографе KNAUER; элементный состав золы листьев – методом энергодисперсионной спектроскопии на ЭДС-анализаторе мини-куб, совмещенным с микроскопом.

Результаты и обсуждение

Установлены статистически значимые различия анатомических признаков листа вишни, подтверждающие отклонение гибридов в сторону устойчивых к коккомикозу родительских форм: количество устьиц на 1мм²; отношение длины устьиц к их ширине; толщина верхней и нижней эпидермы, количество клеток (рис. 1).

Для большинства устойчивых гибридов характерно уменьшение количества устьиц. Особенности их строения (наличие складов, валиков, расположение относительно общей поверхности листа, наличие слизевых пробок) - снижают возможности проникновения мицелия патогена вглубь (рис.2).

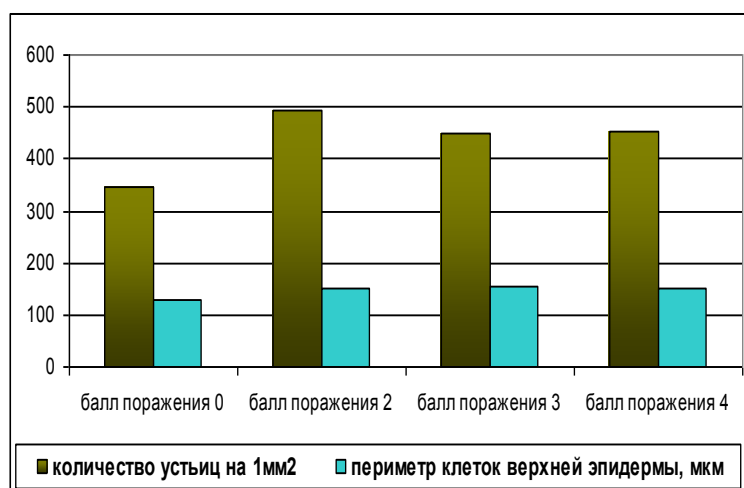


Рисунок 1 - Количество устьиц на единицу площади (средние значения)
 Figure 1 - The number of stomata per unit area (average values)

Толщина эпидермы также выполняет барьерную роль для проникновения инфекции, например, устойчивая гибридная форма 50(1) имеет ярко выраженный плотный, однородный воскоподобный слой (рис.3).

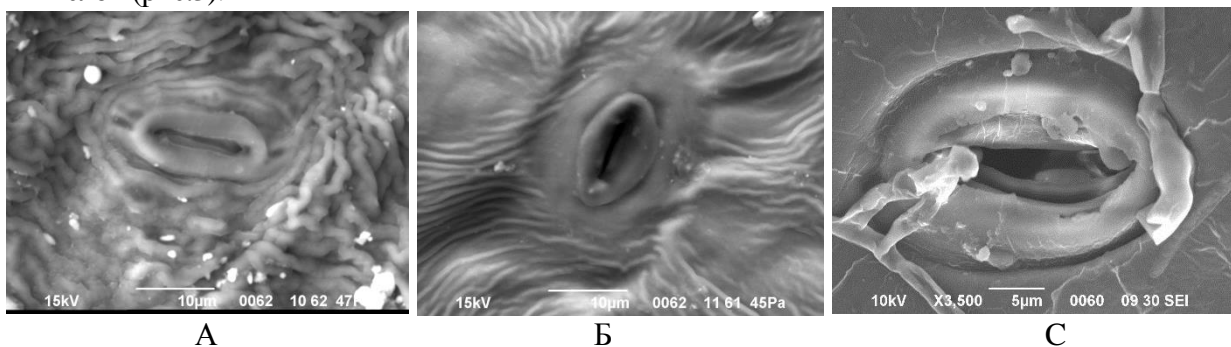


Рисунок 2 - Расположение устьиц на поверхности листа (А, Б). Проникновение патогенна (С)
 Figure 2 - The location of stomata on a leaf surface (A,B). The penetration of pathogenic (C)

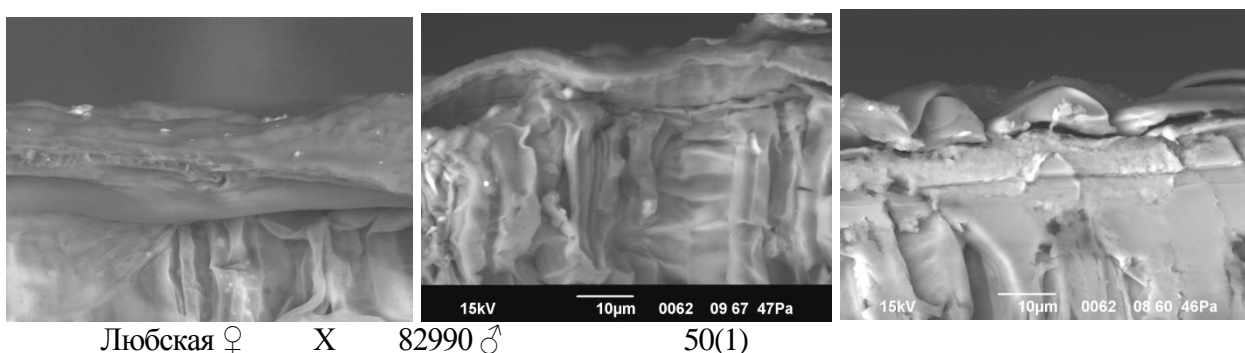


Рисунок 3 - Особенности строения кутикулы родительских форм и гибрида, устойчивого к коккомикозу

Figure 3 - Structural features of the cuticle of parental forms and hybrids resistant to *Coccomyces hiemalis*

Хроматографические профили иллюстрируют общность качественного состава фенольных соединений гибрида и родительской формы (рис. 4).

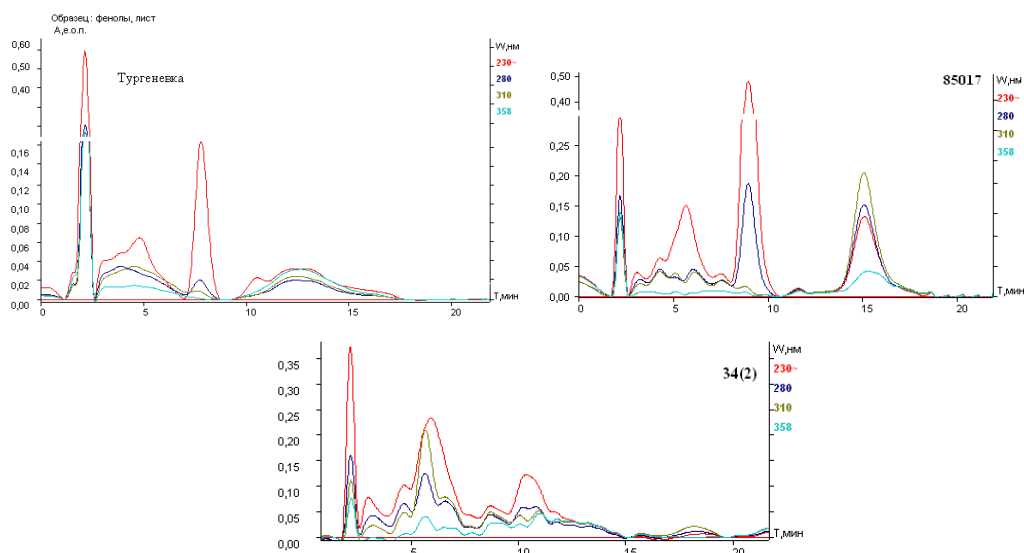


Рисунок 4 - Хроматографические профили спиртовых (70%) экстрактов листьев вишни
 Figure 4 - Chromatographic profiles alcoholic extracts (70%) leaf cherry

Методом энергодисперсионной спектроскопии установлено, что в золе устойчивых к коккомикозу гибридов содержание кремния в среднем в 2 раза, фосфора в 10, а серы в 3,5 больше, чем в исходных родительских формах.

Выводы

По всем исследованным диагностическим параметрам выявлено, что устойчивые к коккомикозу гибридные формы уклоняются в сторону доноров устойчивости. Результаты проведенных исследований подтверждают информативность каждого из используемых методов и позволяют прогнозировать степень устойчивости вишни к биотическим факторам среды, что в свою очередь дает возможность на ранних этапах селекционного процесса отобрать наиболее адаптивные формы для использования в дальнейшей селекционной работе.

Литература

1. Вавилов Н.И. Иммуитет растений к инфекционным заболеваниям // Изв.Петровской с.-х. академии. 1918. № 1-4. 239. 165с.
2. Ищенко, Л. А. Коккомикоз вишни: биология возбудителя и источники устойчивости / Л.А.Ищенко, О.С., Жуков, Л.А. Щекотова // Микология и фитопатология. 1979. - №4.- С. 327-330.
3. Wustenberghs H., Keulemans J., Simon P., Peusens G. The influence of virus infections on vegetative and generative growth of sour and sweet cherries // Abstracts: XXV International Horticultural Cong ress, Brussels, 2-7 August, 1998. – P.9.

SUSTAINABILITY ASSESSMENT OF CHERRIES TO *COCCOMYCES HIEMALIS*

Motyleva S.M., Kuznetcov, M.N., Mertvysheva M.E.

sheet cherry, morphometric characteristics, phenolic complex, ash composition, liquid chromatography, scanning electron microscopy and energy dispersive spectrometry

Discusses symptoms of sustainability cherry to *Coccomyces hiemalis*. Investigated the performance of micro-morphology and anatomy of a sheet, the composition of a phenolic complex, the content of elements in ashes. Confirmed the information content of each indicator. The complex approach allows to predict the degree of resistance cherry to biotic factors of the environment at the early stages of the selection process.

**АКТИВНОСТЬ САХАРОЗОСИНТАЗЫ В ТКАНЯХ СТВОЛА ДЕРЕВЬЕВ
КАРЕЛЬСКОЙ БЕРЕЗЫ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ НА РАЗНЫХ
ПО ПЛОДОРОДИЮ ПОЧВАХ**

Мощенко Ю.Л., Галибина Н.А., Подгорная М.Н.

ФГБУН Институт леса КарНЦ РАН, ул. Пушкинская, 11, г. Петрозаводск, 185910, Россия,
E-mail: tselishcheva.yulia@mail.ru

сахарозосинтаза, инвертаза, карельская береза

Введение

Древесина карельской березы является известным примером аномального морфогенеза у древесных растений. В Институте леса КарНЦ РАН, Л.Л. Новицкой была сформулирована гипотеза о том, что нарушение дифференциации камбиальных производных возникает в результате избыточного накопления сахаров, в частности сахарозы, в проводящей флоэме и изменения путей метаболизации дисахарида [4]. В растительных тканях метаболизация сахарозы происходит через ферментативное расщепление с участием инвертазы или сахарозосинтазы.

Целью работы было изучение сахарозосинтазной активности в тканях ствола деревьев карельской березы, произрастающих на разных по плодородию почвах и отличающихся по степени узорчатости древесины и по диаметру ствола.

Материалы и методы

Отбор образцов проводился в Пряжинском (Сяпся) и Кондопожском (Нелгомозеро) центральных лесничествах. Для исследования были взяты 20-летние растения, различающиеся по степени проявления узорчатости древесины. По характеристике почвенных условий растения разделили на три группы. Деревья, произрастающие на участках с запасом доступного азота 100% (I группа), 84% (II группа) и 72% (III группа) от ежегодной потребности березы повислой. Деревья I группы отличались наиболее высокими значениями высоты и диаметра ствола.

Из ствола берез отбирали ткани ксилемы, растирали в жидком азоте и гомогенизировали при 40С в буфере содержащем 50 мМ Hepes (pH 7,5), 1мМ ЭДТА, 1 мМ ЭГТА, 3 мМ DTT, 5 мМ MgCl₂, 0,5 мМ PMSF. После 20-минутной экстракции гомогенат центрифугировали при 10000 g в течение 20 минут. Осадок трехкратно промывали буфером. Осадок и объединенный супернатант диализовали при 40С в течение 18–20ч против буфера для гомогенизации, разбавленного в 10 раз. Осадок использовали для определения активност апопластной (связанной с клеточными стенками) инвертазы, а супернатант – сахарозосинтазы. Активности ферментов определяли после инкубации полученного препарата при 300С в течение 30 минут. Инкубационная среда для определения активности инвертазы содержала 100 мМ ацетатный буфер, pH 4,7, концентрация сахарозы – 25 мМ. Количество образовавшейся в процессе инкубации глюкозы определяли глюкозооксидазным методом. Инкубационная среда для определения активности сахарозосинтазы содержала 70 мМ Hepes (pH 7,4), 5 мМ MgCl₂, 1 мМ уридиндифосфат, 1 мМ пироглутамат, 1 мМ НАДФ, 50 мМ сахарозу, 1 U глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, 2 U фосфоглюкомутазы. Активность инвертазы и сахарозосинтазы выражали в мкмоль глюкозы на г сырой ткани.

Результаты и обсуждение

Полученные в ходе биохимического анализа данные свидетельствуют о том, что безузорчатые растения березы повислой имеют наиболее высокие значения активности сахарозосинтазы в ксилеме, по сравнению с узорчатыми деревьями, но при этом отличаются более низкой ферментативной активностью апопластной инвертазы (рис.1). Такое соотношение активностей ферментов, возможно связано с тем, что в ходе сахарозосинтазного расщепле-

ния сахарозы образуется большое количество УДФ-глюкозы, используемой на синтез компонентов клеточных стенок ксилемы [3].

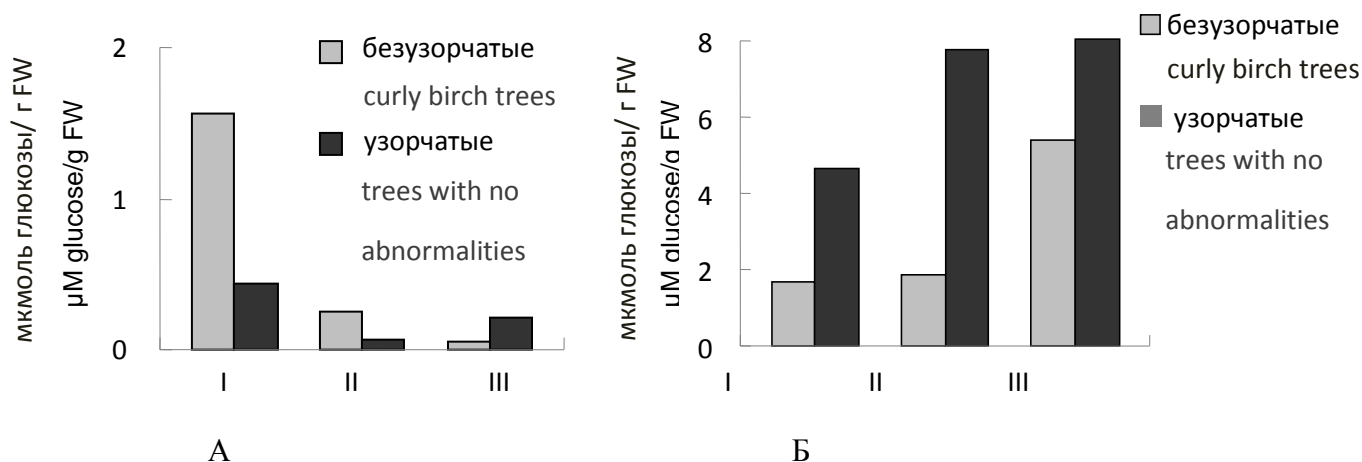


Рисунок 1 - Активности апопластной инвертазы(Б) и сахарозосинтазы (А) в тканях ксилемы (I,II,III – группы деревьев)

Figure 1 - Apoplasmic invertase and sucrose synthase activity in xylem (I,II,III –trees groups)

Высокая активность сахарозосинтазы у растений I группы указывает на преобладание у этих растений синтетических процессов и, наоборот, низкие значения активности у растений III группы – на преобладание катаболических процессов [2]. У безузорчатых растений II группы в ксилеме активность сахарозосинтазы ниже, по сравнению с деревьями I группы, что, вероятно, является причиной снижения морфометрических показателей (рис.1).

Узорчатые растения I группы, произрастающие на более богатых азотом почвах, отличаются высокой сахарозосинтазной активностью, а растения II группы, испытывающие дефицит азота – высокой активностью апопластной инвертазы (рис.1).

У узорчатых растений III группы снижение содержания в почве азота не сопровождалось снижением сахарозосинтазы в ксилеме, наоборот, ее активность даже возросла. При этом биохимические исследования активности инвертазы в тех же тканях показывают, что большой дефицит азота у растений III группы не влияет на активность апопластного фермента и данный показатель остается почти неизменным (рис.1). Поэтому можно предположить, что в тканях есть определенный предел возрастания ферментной активности и дальнейшее накопление сахарозы уже не приводит к увеличению активности апопластной инвертазы, способствуя тем самым, увеличению активности других форм инвертаз и сахарозосинтазы [1].

Заключение

В ходе исследования были выявлены различия в активности ферментов метаболизации сахарозы у деревьев березы повислой, отличающихся по степени проявления узорчатости древесины. Так, наиболее высокие значения активности сахарозосинтазы были выявлены у безузорчатых растений березы, при этом активность апопластного фермента была выше у растений с признаками узорчатости. Различия в активности ферментов углеводного обмена наблюдались также между группами деревьев, произрастающих на разных по плодородию почвах. Так, снижение уровня азота в почве у безузорчатых растений II и III группы привело к снижению активности сахарозосинтазы в ксилеме. У растений с узорчатым строением снижение сахарозосинтазной активности наблюдалось только у деревьев II группы.

Литература

1. Галибина Н.А., Красавина М.С., Новицкая Л.Л., Софронова И.Н. Ферменты метаболизации сахарозы при формировании аномалий карельской березы // Структурные и функ-

циональные отклонения от нормального роста и развития растений под воздействием факторов среды: материалы международной конференции, 2011, с.79-84.

2. Галибина Н.А., Новицкая Л.Л. Метаболические причины формирования узорчатой древесины карельской березы// Инновационные направления современной физиологии растений, 2013, с.47-48.

3. Новицкая Л.Л., Галибина Н.А. Транспортная и запасная формы сахаров у березы повислой (*Betula pendula* Roth)// Структурные и функциональные отклонения от нормального роста и развития растений под воздействием факторов среды: материалы международной конференции, 2011, с. 230-236.

4. Новицкая Л.Л. Карельская береза: механизмы роста и развития структурных аномалий. Петрозаводск: Verso, 2008. 144 с.

ACTIVITY OF SUCROSE SYNTHASE AND INVERTASE IN TRUNK TISSUES OF CURLY BIRCH TREES GROWING ON SOIL WITH DIFFERENT FERTILITY

Moshchenskaya Yu.L, Galibina N.A, Podgornaya M.N

sucrose synthase, invertase, karelian birch

We studied the activity of apoplastic invertase and sucrose synthase in trunk tissues karelian birch trees. Differences in the enzyme activity of sucrose synthase and invertase were found between curly birch trees with figured trunk wood and the plants with no abnormalities. Also, there were differences of sucrose breaking enzymes activities between variant groups of trees growing on soil with different fertility.

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ В КЛЕТКАХ ЛИСТЬЕВ КАРТОФЕЛЯ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОЙ ГИПОТЕРМИИ

Нарайкина Н.В., Синькевич М.С., Трунова Т.И.

ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая 35,
г. Москва, 127276, Россия, E-mail: sinkevich_m@mail.ru*окислительный стресс, картофель, СОД, гипотермия*

Согласно современным представлениям, окислительный стресс является одним из основных факторов повреждения теплолюбивых растений при гипотермии [1], которая сопровождается повышением содержания активных форм кислорода (АФК), что может приводить к их гибели. В отличие от теплолюбивых [2], холодостойкие растения выживают даже после длительного пребывания при положительных околонулевых температурах [3], что позволяет предположить более развитую у них систему защиты от АФК. Известно, что уровень повреждений от окислительного стресса определяется, с одной стороны, скоростью генерации АФК, а с другой, – эффективностью антиоксидантной системы клеток. Одним из важнейших элементов защиты является такой антиоксидантный фермент, как супероксиддисмутаза (СОД), нейтрализующая начальное звено в образовании различных видов АФК – супероксидный анион-радикал (O_2^-).

Обычно растительные клетки содержат несколько типов СОД, различающихся между собой строением активного центра и содержащих в качестве коферментов ионы металлов [4]. Наша задача состояла в том, чтобы идентифицировать типы СОД по содержащимся в активных центрах металлам и оценить уровень активности изоформ, дающих наибольший вклад в общую активность, при низкой положительной температуре.

Объектом исследования служили растения картофеля (*Solanum tuberosum* L., сорта Десница), выращенные в камере фитотрона ИФР РАН при температуре 22°C в гидропонической культуре на нейтральной минеральной среде. В качестве тестового режима было выбрано воздействие температуры 5°C при 16-часовом освещении в течение 5 сут.. Отбор проб производили каждые сут.. Контролем служили экземпляры, не подвергавшиеся воздействию гипотермии. Предварительно очищенный центрифугированием и фильтрацией через колонки PD-10 экстракт белка из листьев растений наносили на полиакриламидный гель и проводили нативный электрофорез по Орнштейну и Дэвису, с последующим окрашиванием всего геля на активность СОД нитросиним тетразолием. По ингибированию окрашивания в зоне белковых полос судили об изменении уровня активности соответствующего типа СОД в процессе охлаждения.

Проведенные исследования показали, что в процессе продолжительного охлаждения растений при 5°C суммарная активность СОД существенно менялась и была в течение первых трех сут. значительно выше исходных значений. Также было проведено сравнительное изучение активности различных изоформ СОД в течение всего периода охлаждения, после предварительного определения при помощи ингибиторного анализа, к какому типу принадлежат эти изоформы.

На основании ингибирования активности различных изоформ в геле была обнаружена одна изоформа Mn-содержащего типа СОД, не ингибируемая H_2O_2 , а также четыре изоформы Fe-содержащего типа СОД, не ингибируемые NaCN. Кроме них в листьях присутствовали две изоформы Cu/Zn-типа, активность которых подавлялась обоими ингибиторами. Была изучена посуточная динамика активности изоформ СОД, вносящих, по нашей оценке, наибольший вклад в суммарную активность, и выявлено возрастание активности каждой из них в два и более раз уже на первые сут. холодной экспозиции. К концу воздействия холода наблюдался постепенный возврат активностей к исходным значениям.

Среди исследованных изоформ СОД наибольшая исходная активность наблюдалась у Fe-СОД3, а наименьшая – у Mn-СОД. После сут. гипотермии активность существенно повышалась у всех изоформ, достигая наибольших величин у Fe-СОД3, при этом, по сравнению с исходными значениями, сильнее активировалась Cu/Zn-СОД2, т.к. интенсивность окрашивания ее полосы в геле менялась почти на порядок.

Таким образом, основываясь на данных об уровне активности различных типов СОД при воздействии низких положительных температур, можно предположить, что общая активность фермента при гипотермии изменялась в основном за счет активности Fe-СОД и, в некоторой степени – Cu/Zn-СОД.

Литература

1. Miller G., Shulaev V., Mittler R. Reactive oxygen signaling and abiotic stress // *Physiol. Plant.* 2008. V. 133. P. 481–489.
2. Лукаткин А.С. Холодовое повреждение теплолюбивых растений и окислительный стресс. Саранск: изд-во Мордов. ун-та, 2002. 208 с.
3. Синькевич М.С., Нарайкина Н.В., Трунова Т.И. Процессы, препятствующие повышению перекисного окисления липидов у холодостойких растений при гипотермии // *Физиология растений.* 2011. Т. 58. С. 875–882.
4. Alscher R.G., Erturk N., Heath L.S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants // *J. Exp. Biol.* 2002. V. 531. P. 1331–1341.

ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», ул. Кремлевская, 18,
г. Казань, 420008, Россия, E-mail: Yulia.Nevmerzhitskaya@kpfu.ru

пшеница, лектины клеточной стенки, морозоустойчивость

Введение

Лектины – это гликопротеины, обнаруженные во всех живых организмах, отличительной особенностью которых является способность обратимо связывать различные углеводные лиганды. В связи с этим им отводят главную роль в восприятии и передаче внешнего сигнала в различные компартменты клетки. Так, арабиногалактановые белки (АГБ) клеточной поверхности, относящиеся к лектинам, могут быть как адгезивными, так и сигнальными молекулами.

Целью нашей работы являлся поиск биологически активных соединений, индуцирующих развитие морозоустойчивости растений озимой пшеницы.

Материалы и методы

Объектом исследования служили корни проростков озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Мироновская 808. Исследуемые соединения были синтезированы в ИОФХ им. А.Е. Арбузова (КНЦ РАН, г. Казань). Растения выращивали в лабораторных условиях в кюветах на водопроводной воде при освещении 100 Вт/м² и 12-часовом фотопериоде при температуре 23 °С в течение 7 сут. В опытных вариантах растения росли на растворах дитерпеноида стевиола (10–8 М) и его производных: стевиозида (10–8 М), дигидростевиола (10–8 М), стевиолбиозида (10–8 М) и бисдигидростевиоил малоната (10–8 М). Концентрации стевиол-производных соединений были подобраны в предварительных экспериментах. Лектины клеточной стенки экстрагировали 0.05% раствором тритона X-100. Дальнейшее концентрирование и очистку лектиновых белков проводили согласно схеме: высаливание 60% сульфатом аммония с последующим диализом, гель-хроматография на Сефадексе G-150. Лектиновую активность определяли с помощью реакции гемагглютинации с эритроцитами 1 группы крови [1]. Белок определяли по методу Bradford [2]. Морозоустойчивость тестировали по выходу электролитов [3]. Опыты проводили в 3-х биологических повторностях. Результаты опытов представлены как средние арифметические и их стандартные ошибки.

Результаты и обсуждение

В ранее проведенных исследованиях мы показали, что ингибитор потенциал-зависимых кальциевых каналов дилтиазем останавливал закаливание проростков пшеницы, что сопровождалось исчезновением в клеточной стенке лектинов с молекулярной массой 110 и 60 кДа [1]. На основании этих данных был сделан вывод об участии этих белков в формировании морозоустойчивости растений.

В связи с этим на следующем этапе нашей работы мы проводили поиск соединений, которые индуцировали образование в клеточной стенке лектина с мол. массой 60 кДа. Для этой цели мы использовали дитерпеноид стевиол и его производные, полученные в ИОФХ им. А.Е. Арбузова (г. Казань). Всего было проанализировано 15 соединений. Стевиол (13-гидрокси-энт-каур-16-ен-19-овая кислота) не только сходен по строению с гибберелловой кислотой, но и проявляет гиббереллиноподобную активность [5]. К тому же некоторые гиббереллины, не обладая рострегулирующей активностью, могут, тем не менее, повышать устойчивость растений к различным неблагоприятным факторам среды, в том числе и к низким температурам.

У растений Мироновской 808 в контрольном варианте (растения, выращенные на воде) среди полученных белковых фракций лектиновая активность обнаруживалась во фракциях, содержащих белки с молекулярной массой 89, 77, 54, 45, 35, 19 кДа (рис.1)

Стевиол и его производные по-разному влияли на профиль элюции белков клеточной стенки растений Мироновской 808. Среди них были отобраны соединения, вызывающие появление в профиле элюции белка с молекулярной массой 60 кДа: стевиол, дигидростевиол, бис(дигидростевиоил)малонат, стевиолбиозид и стевиозид (рис.1).

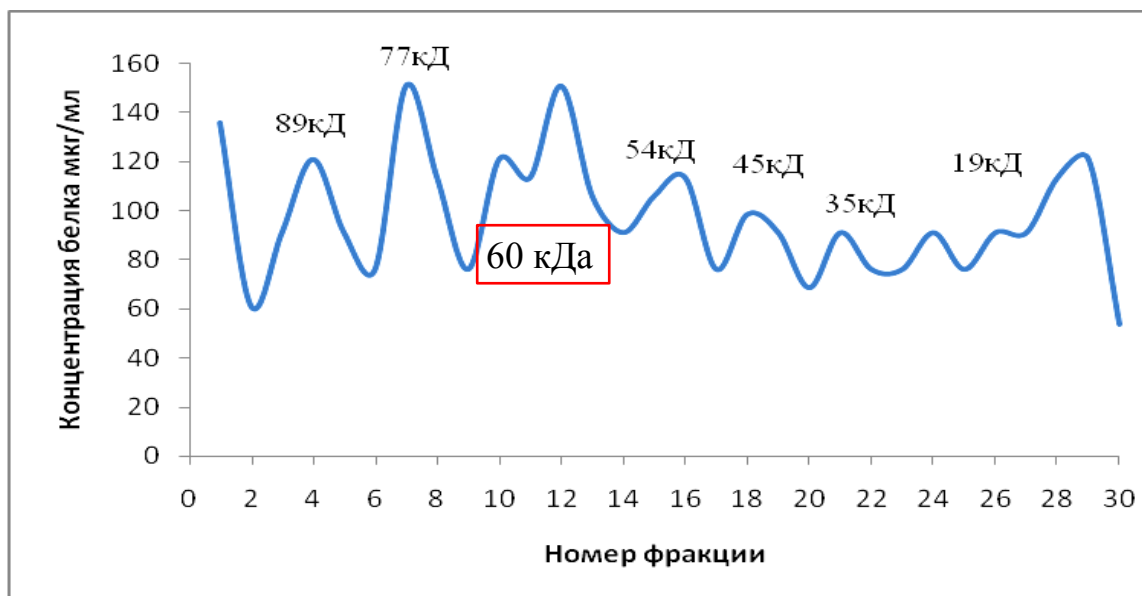


Рисунок 1 - Профиль элюции белков клеточной стенки проростков озимой пшеницы Мироновская 808

Figure 1 - Profile of elution of cell wall proteins of winter wheat Mironovskaya 808 seedlings

Для подтверждения предположения о вовлеченности белка 60 кДа в индукцию морозоустойчивости растений мы определили LT50 у проростков Мироновской 808, выращенных на растворах стевиола (10-8 М), дигидростевиола (10-8 М), бис(дигидростевиоил)малоната (10-8 М), стевиолбиозид (10-8 М) и стевиозид (10-8 М).

Как видно из табл. 1, все исследованные соединения повышали морозоустойчивость у незакаленных растений, но в разной степени. Максимальное воздействие на показатель LT50 оказал дитерпеновый гликозид стевиозид. Следует отметить, что эффект производных стевиола на морозоустойчивость проростков сравним с АБК, а действие самого стевиозид даже несколько превышало влияние АБК, так как ранее нами было показано, что АБК снижало LT50 проростков пшеницы до -7.6 °C, тогда как стевиозид – до -8 °C [6].

Таблица 1 - Влияние стевиола и его производных на показатель LT50

Table 1 - The influence of steviol and its derivatives on LT50

Вариант	LT50, °C
H ₂ O	-6.2 ± 0.2
Стевиол (10-8 М)	-7.4 ± 0.1
Стевиозид (10-8 М)	-8.0 ± 0.2
Дигидростевиол (10-8 М)	-6.9 ± 0.3
Стевиолбиозид (10-8 М)	-7.3 ± 0.1
Бис(дигидростевиоил)малонат (10-8 М)	-7.5 ± 0.1

Заключение

Таким образом, в результате проведенных исследований мы установили, что стевииол и его производные индуцируют формирование морозоустойчивости растений, которое происходит с участием лектина клеточной стенки с мол. массой 60 кДа. Этот белок, вероятно, связан с функционированием кальциевой сигнальной системы и является одним из звеньев проведения сигнала через клеточную поверхность.

Литература

1. Тимофеева, О.А. Активность и состав лектинов клеточной стенки пшеницы при действии низких температур и ингибиторов кальциевой сигнальной системы / О.А. Тимофеева, Ю.Ю. Невмержицкая, М.А. Московкина // Физиология растений. – 2010. – Т.57, №2. – С.209-216.
2. Bradford, 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.
3. Uemura, M., Steponkus, P.L. Parallel effects of freezing and osmotic stress on the ATPase activity and protein composition of plasma membrane of winter rye seedlings // Plant Physiol. - 1989. - Vol. 91. - P. 961-969.
4. Тимофеева, О.А. Производные дитерпеноида стевииола регулируют рост и повышают морозоустойчивость озимой пшеницы / О.А. Тимофеева, Ю.Ю. Невмержицкая, И.Г. Мифтахова, А.С. Стробыкина, А.Л. Михайлов, И.Ю. Стробыкина, В.Ф. Миронов // Доклады РАН. – 2010. – Т. 35, №2. – С. 282-285.
5. Невмержицкая, Ю.Ю. Стевиозид повышает устойчивость озимой пшеницы к действию низких температур и тяжелых металлов /Ю.Ю. Невмержицкая, О.А. Тимофеева, А.Л. Михайлов, А.С. Стробыкина, И.Ю. Стробыкина, В.Ф. Миронов// Доклады РАН. – 2013. – Т. 452, №3. – С. 346-349.

INDUCTORS OF FROST RESISTANCE LECTIN OF PLANTS OF THE NATURE

Nevmerzhitskaya Yu.Yu., Timofeeva O.A., Strobyskina A.S., Mikhaylov A.L.

wheat, cell wall lectins, frost resistance

It is established that diterpenoid of steviol and its derivatives: stevioside, dihydrosteviol, steviolbioside and bis(dihydrodiol)malonate increase frost resistance of winter wheat Mironovskaya 808 seedlings through formation the 60 kDa cell wall lectins protein induction.

УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ РОДА *VITIS* (TOURNEF) L. К УСЛОВИЯМ ЛЕТНЕГО ПЕРИОДА АНАПО-ТАМАНСКОЙ ЗОНЫ

Ненько Н.И., Ильина И.А., Петров В.С., Киселева Г.К., Схаляхо Т.В., Сундырева М.А.

Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства, ул. 40 лет Победы, 39, г. Краснодар, 350901, Россия, E-mail: kubansad@kubannet.ru

виноград, сорта, засухоустойчивость, жаростойкость, водный режим, пролин, сахароза, фенолкарбоновые кислоты, проницаемость мембран

Введение

С потеплением климата на планете за последние годы на юге Северо - Кавказского региона летний период стал более засушливым. Изменение температурного и гидротермического режимов, оказывающих воздействие на растения, в том числе виноград, приводит не только к недобору урожая, но и к гибели насаждений [1]. В связи с этим особенно актуально изучение засухоустойчивости сортов винограда различного эколого-географического происхождения, произрастающего на этой территории, для выявления сортов наиболее приспособленных к условиям возделывания [2].

Цель работы - изучить физиолого-биохимические показатели устойчивости растений винограда различных эколого-географических групп к комплексу стрессоров летнего периода и выявить сорта перспективные для возделывания в условиях анапо-таманской зоны.

Материалы и методы

Исследования проводятся в Анапо-Таманской зоне Краснодарского края, на базе Анапской ампелографической коллекции, квартал технических сортов винограда и квартал столовых сортов винограда на черноземе южном карбонатном. Растения одного 1995 года посадки, подвой Кобер 5ББ. Формировка – двусторонний высокоштамбовый спиральный кордон АЗОС. Схема посадки 3 x 2,5 м. Устойчивость к засухе растений *Vitis* (Tournef) L. изучалась на примере сортов европейского происхождения (раннего срока созревания - Мадлен Анжевин, среднего - Бархатный, позднего – Каберне Совиньон Аг Чакрак) и межвидовых гибридов европейско-американской группы (раннего срока созревания Кристалл (евро-амуро-американский), Краса севера, Бианка, среднего - Достойный и Красностоп АЗОС и позднего - Первенец Магарача, Каберне АЗОС). Оценку адаптационной устойчивости изучаемых сортов винограда к низкой влагообеспеченности проводили по такому комплексу показателей, как общая оводненность, содержание свободной и связанной воды, пролина, сахарозы, к высокой температуре - коэффициент повреждения мембран (по выходу катионов в модельном опыте), содержание фенолкарбоновых кислот. Об интенсивности фотосинтеза судили по содержанию пигментов в листьях, а об устойчивости хлорофилл – белкового комплекса по динамике содержания белка и хлорофиллов а и б, анатомическому строению листовой пластинки [3-11].

Результаты и обсуждение

На территории г. Анапа, где расположена ампелоколлекция температура воздуха в июле 2011 – 2013 гг. превысила 36 - 37°C, в августе - 31 - 35°C. В 2011, 2012 гг. осадки составили менее 20-30 мм. За период 2011-2013 гг. отмечалось смещение периода с низкой влагообеспеченностью с июля в 2011 г. на август в 2012 и 2013 гг. В стрессовых условиях воздушной и почвенной засухи летнего периода большей оводненностью листьев (76,8 - 77,3 %) характеризовались межвидовые гибриды Кристалл, Восторг, Бианка, Краса севера раннего срока созревания, (73,7-74,3 %) – сорта Бархатный, Достойный, Красностоп АЗОС, Ромулус, Чарас мускатный – среднего и (73,6-78,1) - сорта Молдова, Первенец Магарача, Кутузовский – позднего срока созревания.

Более устойчивыми к засухе по величине показателя соотношения связанной воды к свободной (К) в условиях экстремально высокой температуры июля (К= 6,9 – 12,5) с последующей репарацией в августе при скудных осадках (К= 2,5-3,9 для раннеспелых, 4,5-8,5 – среднеспелых и 4,7-5,8-позднеспелых), при незначительной изменчивости этого показателя в динамике за июль-август (НСР05= 1,86; 2,85; 3,33 для сортов раннего, среднего и позднего сроков созревания, соответствен-

но) были межвидовые гибриды раннего (Кристалл, Восторг, Бианка, Краса севера) среднего (Достойный, Каберне АЗОС, Ромулус, Чарас мускатный) и позднего (Кутузовский, Молдова) сроков созревания, сорта Западно-европейской группы Мадлен Анжевин, Бархатный, побережья черного моря - Чауш белый, Пухляковский и внутривидовой гибриды - Мускат ранний. Более активные репарационные процессы в августе отмечались у сортов Краса севера, Восторг, Достойный, Каберне АЗОС, Ромулус, Чарас мускатный, Кутузовский, Молдова.

Повышенный показатель отношения содержания связанной воды к свободной в июле у всех изучаемых сортов винограда согласуется с высоким содержанием сахарозы, связывающей воду в листьях ($K_{кор} = 0,5 - 0,64$). У сортов Кристалл, Восторг, Мускат ранний, Бархатный, Красностоп АЗОС, Ромулус более стабильный уровень связанной воды в засуху поддерживают как пролин, так и сахароза.

Большим содержанием суммы хлорофиллов (а+б) характеризовались межвидовые гибриды Восторг, Краса севера, Каберне АЗОС, Красностоп АЗОС, Кутузовский и внутривидовой гибриды Мускат ранний. Более высокое содержание каротина в июле отмечалось у большинства межвидовых гибридов, внутривидового гибрида Мускат ранний и сортов Бархатный и Кишмиш белый.

Установлено, что большей жаростойкостью обладали все сорта межвидового происхождения ($KП < 50\%$) раннего (Кристалл, Бианка, Восторг), среднего (Красностоп АЗОС, Ромулус, Чарас мускатный) и позднего (Кутузовский, Молдова) сроков созревания. Устойчивость клеточных мембран к высокой температуре у межвидовых гибридов определяется преимущественно устойчивостью белкового комплекса к разрушению, а у сортов Мадлен Анжевин, Каберне Совиньон (зап. европейских), Кишмиш белый, Ач чакрак (восточной группы) и межвидовых гибридов Достойный, Ромулус, Первенец Магарача – повышенным содержанием фенолкарбоновых кислот, предохраняющих липидный комплекс от разрушения.

Анатомо-морфологические исследования, проведенные в конце июня показали, что сорта винограда отличаются по анатомо-морфологическим параметрам листовой пластинки (рис.).

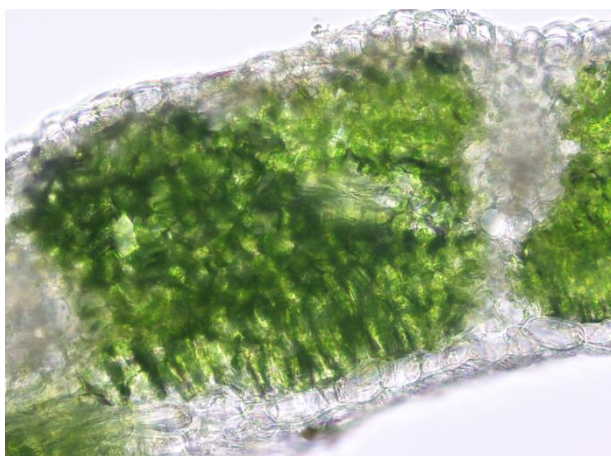


Рисунок 1 - Поперечный срез листовой пластинки винограда сорта Бархатный
Figure 1 - Cross section of the leaf of grape varieties Velvet

Общая толщина листовой пластинки винограда варьировала от 139 усл.ед у сортов Достойный и Пухляковский до 165 усл.ед. у сорта Ромулус, толщина верхнего эпидермиса - от 10 усл.ед. у сорта Молдова до 13 усл.ед. у сортов Бианка, Мускат ранний, Ромулус, слоя палисадной паренхимы - от 49 усл.ед. у сорта Пухляковский до 66 усл.ед. у сорта Бархатный, слоя губчатой паренхимы - от 68 усл.ед. у сорта Бархатный до 91 у сорта Ромулус.

У всех сортов отмечено преобладание слоя губчатой паренхимы над слоем палисадной. Наибольшее развитие слоя палисадной паренхимы отмечено у сорта Бархатный, у которого доля палисадного слоя от общей толщины листовой пластинки составляла 45,2 %, доля губчатого слоя от общей толщины листовой пластинки составляла 46,6 %. Наименьшее развитие слоя палисадной паренхимы отмечено у сорта Молдова, у которого доля палисадного слоя от общей толщины листовой

пластинки составляла 35,0 %, доля губчатого слоя от общей толщины листовой пластинки составляла 57,7 %.

Выводы

Межвидовые гибриды Кристалл, Бианка, Восторг, Красностоп АЗОС, Достойный, Ромулус, Чарас мускатный, Кутузовский и Молдова устойчивы, как к обезвоживанию, так и к высокой температуре, что позволяет рекомендовать их для селекции, как источник признаков засухоустойчивости, и для возделывания в условиях анапо-таманской зоны.

Литература

1. Егоров Е.А. Актуализация приоритетов в селекции плодовых, ягодных, орехоплодных культур и винограда для субъектов Северного Кавказа // Современные методологические аспекты организации селекционного процесса в садоводстве и виноградарстве.- Краснодар, СКЗНИИСиВ, 2012.- С. 3-45
2. Ненько, Н.И. Адаптация технических сортов винограда к засухе в анапо-таманской зоне / Н.И. Ненько, Г.К. Киселева, Т.В. Схаляхо // Виноградарство и виноделие. Сборник научных трудов. Ялта, 2011.- Т. 41, Ч.2.- С.21-23.
3. Ненько, Н.И. Проницаемость клеточных мембран как критерий оценки засухоустойчивости винограда / Н.И. Ненько, Т.В. Схаляхо // Садоводство и виноградарство, 2011, №1 С. – 25 -28.
4. Ненько, Н.И. Физиологические методы в адаптивной селекции плодовых культур / Н.И. Ненько, Т.Н. Дорошенко, Т.А. Гасанова // Современные методологические аспекты организации селекционного процесса в садоводстве и виноградарстве.- Краснодар, СКЗНИИСиВ, 2012.- С. 189-198.
5. Методика государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур. М.: Колос. 1970. Вып. 5.- 159 с.
6. Кушниренко М.Д., Печерская С.Н. Физиология водообмена и засухоустойчивости растений. Кишинев.: Штиинца. 1991. 306 с.
7. Воробьев Н.В. Определение содержания сахарозы, фруктозы и глюкозы в растительных тканях с помощью антронового реактива. Бюллетень НТИ ВНИИриса. Краснодар. 1985. Вып.33: 11-13.
8. Захарова М.В. Методика определения массовой концентрации свободных аминокислот / М.В. Захарова, И.А. Ильина, Г.В. Лифарь, Ю.Ф. куба // Методическое и аналитическое обеспечение исследований по садоводству, Краснодар.- 2010.- С. 289-295
9. Практикум по биохимии. Под ред. С.Е. Северина, Г.А.Соловьевой. М.: Изд-во МГУ. 1989. 509 с.
10. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений.- М.: Колос.- 1967.- 176 с.
11. Ненько, Н.И. Особенности анатомо-морфологического строения листа перспективных технических сортов винограда в связи с влагообеспеченностью / Н.И. Ненько, Г.К. Киселева, Т.В. Схаляхо // Высоточные технологии производства хранения и переработки винограда .- Краснодар: СКЗНИИСиВ.- 2010.- С. 70-73.

RESISTANCE OF PLANTS OF THE KIND OF *VITIS* (TOURNEF) L. UNDER THE CONDITIONS OF THE SUMMER PERIOD OF THE ANAPO - TAMAN ZONE

Lenko N.I., Ilyina I.A., Petrov V.S., Kiseleva G.K., Sundyreva M.A., Shalyaho T.V.

grapes varieties, drought-resistance, heat-resistance, water regime, proline, sucrose, phenol carbonic acids, the permeability of membranes

Studied the stability of grapes of different origin to a range of abiotic stress factors summer period Anapa-Taman zone. On the basis of the anatomic-morphological, physiological-biochemical and indicators established that hybrids Euro-American origin have paired resistant to stress factors summer period.

СОДЕРЖАНИЕ ЛИПИДОВ В ПЛАСТИДНОМ АППАРАТЕ ГАЛОФИТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТИПА СОЛЕНАКОПЛЕНИЯ И ЖИЗНЕННОЙ ФОРМЫ РАСТЕНИЙ

Нестеров В.Н.¹, Богданова Е.С.¹, Иванова Л.А.², Иванов Л.А.², Розенцвет О.А.¹

¹Институт экологии Волжского бассейна РАН, ул. Комзина, 10, г. Тольятти Самарской обл., 445003, Россия, E-mail: nesvik1@mail.ru

²Ботанический сад УрО РАН, ул. 8 марта, 202а, г. Екатеринбург, Россия, E-mail: larissa.ivanova@botgard.uran.ru

галофиты, адаптация, гликолипиды, мезоструктура листа

Введение

Галофиты – растения, эволюционно приспособленные произрастать на засоленных территориях за счет механизмов адаптации, проявляющихся на различных уровнях организации – от молекулярного до организменного. При этом они чрезвычайно неоднородны по своим экологическим, физиолого-биохимическим, морфологическим и анатомическим признакам. В зависимости от типа накопления солей в растительных тканях галофиты делятся на соле-накапливающие (эвгалофиты), солевывделяющие (криногалофиты) и соленепроницаемые (гликогалофиты) [1]. Различия морфологических и анатомических признаков связаны с наличием или отсутствием на листьях солевых желез, типом структуры листьев – ксеро-морфным, суккулентным, или существованием у отдельных видов Кранц-анатомии клеток хлоренхимы [2].

Адаптация фотосинтетического аппарата к условиям среды может происходить путем изменения анатомической структуры листа, количественных показателей фотосинтетических тканей и содержания основных пигментов фотосинтеза [3]. При этом, регуляция фотосинтетической функции на уровне листа происходит как за счет изменения числа хлоропластов в единице площади листа, так и за счет функциональных характеристик единичного хлоропласта [4]. В отличие от других типов пластид хлоропласты отличаются наличием сложно организованной системы внутренних мембран. Фотосинтетический аппарат растений встроены в матрицу полярных глицеролипидов (ГЛ) мембран тилакоидов, состоящих из моно- и дигалактозилдиацилглицеринов, сульфохиновозилдиацилглицеринов и фосфатидилглицеринов [5]. В то же время вопрос о роли ГЛ в адаптации фотосинтетического аппарата растений к засолению остается до сих пор мало изученным. В связи с этим, целью данной работы было – исследовать структурные и биохимические параметры хлоропластов в листьях галофитов, отличающихся по жизненной форме и типу накопления солей.

Материалы и методы

В работе исследовали состав и содержание основных липидов хлоропластных мембран, структурные показатели хлоропластов в листьях галофитов, произрастающих на засоленных почвах бассейна оз. Эльтон. Объектами исследования были выбраны растения, дифференцированные по стратегии солеустойчивости и жизненной форме: эвгалофиты – однолетники *Salicornia perennans* Willd. (Sp), *Suaeda acuminata* (C.A. Mey.) Moq. (Sa) и полукустарничек *Halocnemum strobilaceum* (Pall.) Bieb. (Hs), криногалофит – травянистый многолетник *Limonium gmelinii* (Willd.) O. Kuntze (Lg) и гликогалофит – полукустарничек *Artemisia santonica* L. (As). Все изученные растения обладали СЗ-типом фотосинтеза. Для анализов отбирали полностью сформированные листья среднего яруса с генеративных особей каждого вида или средние части фотосинтезирующих побегов у безлистных растений *S. perennans* и *H. strobilaceum*. Выделение фракции хлоропластов, экстракцию и анализ липидов осуществляли в соответствии с методическими рекомендациями [6]. Количество липидов в хлоропластах определяли как сумму моногалактозилдиацилглицеринов (МГДГ), дигалактозилди-

цилглицеринов (ДГДГ), сульфохиновозилдиацилглицеринов (СХДГ) и фосфатидилглицеринов (ФГ). Подсчет числа клеток и хлоропластов проводили на высечках из средней части листа, зафиксированных в 70%-ном этаноле, используя метод [3].

Результаты и обсуждение

На рисунке представлены данные по содержанию липидов, выделенных из фракции хлоропластов галофитов в расчете на единицу массы пигментов, числу хлоропластов в клетке и числу клеток мезофилла. Изученные виды растений расположены в порядке снижения способности соленакопления. В данном ряду обнаружено сопряженное изменение содержания липидов и параметров клеток и хлоропластов (рис. 1, а). Во фракции обогащенной хлоропластами, наибольшее содержание липидов было отмечено у эвгалофитов *S. acuminata* и *S. perennans* (2367 и 1155 мкг/мг пигментов, соответственно). Далее в порядке убывания следовали: *H. strobilaceum* (609 мкг/мг), *L. gmelinii* (303 мкг/мг) и *A. santonica* (223 мкг/мг пигментов). Уменьшение содержания липидов хлоропластов в ряду снижения способности к соленакоплению сопровождалось уменьшением числа хлоропластов в клетке и увеличением числа клеток мезофилла в единице площади листа (рис. 1, б и в). Число хлоропластов в клетке было прямо пропорционально размерам клеток. Для более крупных клеток мезофилла *S. acuminata* и *S. perennans* характерно более высокое число хлоропластов (178 и 77, соответственно) по сравнению с другими видами растений, что отражается и на содержании липидов хлоропластных мембран. Среди соленакапливающих галофитов полукустарничек *H. strobilaceum* отличался от однолетних форм меньшим размером клеток и большим их количеством в единице площади листа, что связано с особенностями его жизненной формы. Показано, что древесные растения характеризуются мелкими клетками и большей их концентрацией в листе по сравнению с травянистыми и особенно однолетниками [7]. При этом *H. strobilaceum* занимает промежуточное положение по содержанию тилакоидных липидов между эвгалофитами *S. acuminata*, *S. perennans* и криногалофитом *L. gmelinii*. Гликогалофит *A. santonica* характеризуется минимальным отношением липидов и пигментов.

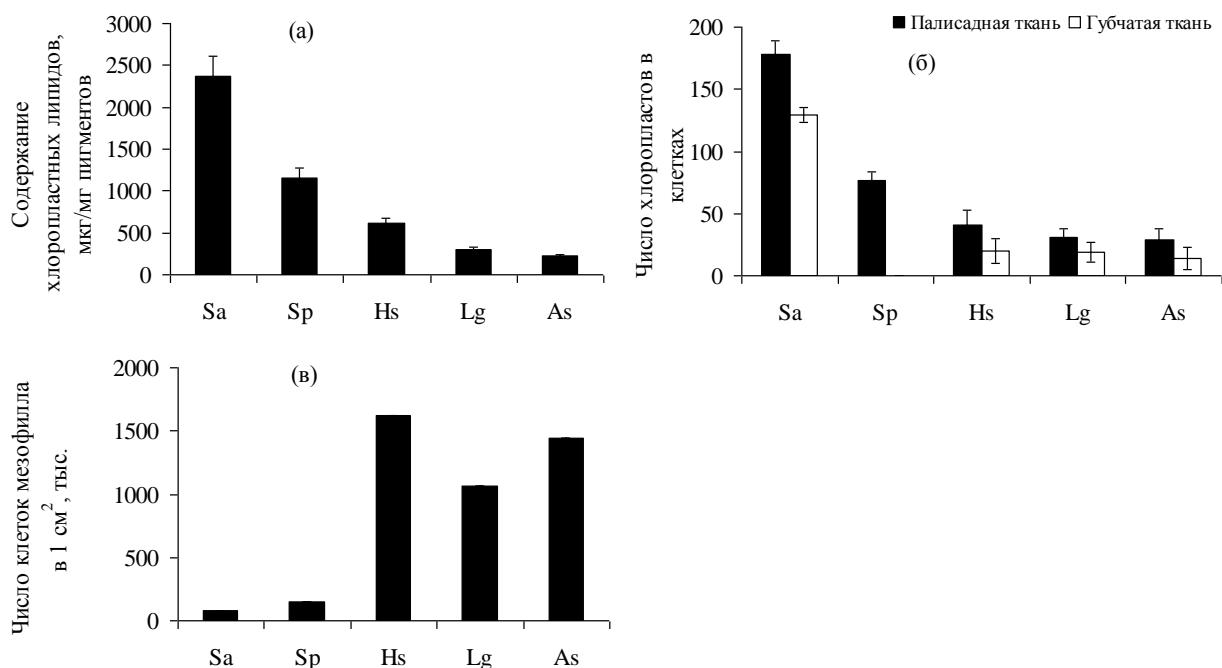


Рисунок 1 - Молекулярные и структурные особенности фотосинтетического аппарата галофитов

Figure 1 - Molecular and structural features of the halophytes photosynthetic device

На основании полученных данных можно сделать вывод, что наряду со структурной специфичностью фотосинтетических тканей в зависимости от стратегии соленакопления

нами обнаружены различия в содержании липидов в расчете на фотосинтетические пигменты. Так, эвгалофиты-однолетники отличаются более высоким содержанием ГЛ в хлоропластах, числом хлоропластов и меньшим числом клеток в сравнении с крино- и гликогалофитами. Различие в соотношении липиды/пигменты свидетельствует о специфичности структурно-функциональной организации фотосинтетического аппарата галофитов, различающихся по жизненной форме и типу соленакопления.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 12-04-0111-а.

Литература

1. Строганов Б.П. Физиологические основы солеустойчивости растений (при разнокачественном засолении почвы). М.: АН СССР, 1962. 336 с.
2. Voznesenskaya E.V., Chuong S.D.X., Koteyeva N.K., Franceschi V.R., Freitag H., Edwards G.E. Structural, Biochemical, and Physiological Characterization of C4 Photosynthesis in Species Having Two Vastly Different Types of Kranz Anatomy in *Genus Suaeda* (*Chenopodiaceae*) // *Plant biology*. 2007. V. 9. P. 745–757.
3. Иванова Л.А., Пьянков В.И. Влияние экологических факторов на структурные показатели мезофилла листа // *Ботанический журнал*. 2002. Т. 87. № 2. С. 17–28.
4. Мокронос А.Т., Гавриленко В.Ф. Фотосинтез. Физиолого-экологические и биохимические аспекты. М.: Изд-во МГУ, 1992. 320 с.
5. Hölzl G., Dörman P. Structure and function of glycerolipids in plants and bacteria // *Progr. Lipid Res.* 2007. V. 46. P. 225–243.
6. Кейтс М. Техника липидологии. М.: Мир, 1975. 323 с.
7. Иванова Л.А. Структурная перестройка мезофилла листа в ряду жизненных форм растений // *Доклады Академии наук*. 2012. № 6. С. 687–690.

THE CONTENT OF LIPIDS IN THE HALOPHYTES PLASTID DEVICE DEPENDING ON SALINITY RESISTANCE AND LIFE FORM OF PLANTS

Nesterov V.N., Bogdanova E.S., Ivanova L.A., Ivanov L.A., Rozentsvet O.A.

halophytes, adaptation, glycolipids, leaf mesostructure

We studied the content of lipids of chloroplast membranes, number of chloroplast in a cells, quantity of cells in photosynthetic organs of halophytes, differing in life form and salinity resistance.

**ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РОЛЬ ПЕРОКСИДАЗЫ В ОРГАНАХ И ТКАНЯХ
КАРЕЛЬСКОЙ БЕРЕЗЫ**

Никерова К.М., Галибина Н.А.

ФГБУН Институт леса КарНЦ РАН, ул. Пушкинская, 11, г. Петрозаводск, 185910, Россия,
E-mail: knikerova@yandex.ru*карельская береза, пероксидаза, изоформы, субстраты, нитрат калия***Введение**

В основу работы легло изучение активности пероксидазы в органах и тканях у двух форм березы повислой, различающихся по текстуре древесины, - обычной березы повислой (*B. pendula var. pendula*) и карельской березы (*B. pendula var. carelica*) спектрофотометрическим методом. Мы наблюдали субстрат-специфичность фермента и проявление действия его отдельных изоформ. Для этого субстратами пероксидазного окисления были несколько органических веществ. Изучение активности фермента проводилось в различных условиях pH. Следует заметить, что субстратная специфичность определяется редокс-потенциалами субстратов и окисленных форм фермента и их стабильностью, поскольку каталитический процесс действия фермента представляет собой окислительно-восстановительную реакцию. [8; 303-322].

Ещё в 1968 г. Уилкинсон отнес пероксидазу к числу ферментов, для которых доказано присутствие множественных молекулярных форм [11]. Ферменты, представленные в виде одной полипептидной цепи, такие, как пероксидаза, обладают наибольшей степенью молекулярной гетерогенности. Их изоэнзимный набор состоит из кислых, нейтральных и щелочных форм. Очевидно, у таких ферментов большую роль играют модификации за счет присоединения различных кофакторов и определенной полимеризации с другими соединениями, например с сахарами и фенолами [3,6,7]. Мы обратили внимание на различную активность пероксидаз, выделенных из тканей ствола и листьев в условиях нормы, и при действии избыточного количества нитрата калия. Внесение экзогенного нитрата было выбрано, учитывая ареал произрастания карельской березы, который характеризуется невысоким уровнем плодородия почвы. Также мы пронаблюдали, как пероксидаза, являясь ферментом антиоксидантной защиты, участвует в адаптации растений к изменению азотного питания.

Материалы и методы

Объектами исследования являлись 7-летние деревья обычной березы повислой и карельской березы с проявившимися признаками структурных аномалий. Объекты находились в одинаковых почвенно-климатических условиях на Агробиологической станции Карельского научного центра РАН в 2 км от Петрозаводска (61° 45' с.ш., 34° 20' в.д.). Все растения были разделены на две группы – опытные, подвергшиеся обработке нитратом калия (KNO₃), и контрольные. Отбор растительных образцов проводили в период активного роста (начало июля), когда основным акцептором ассимилятов являлись камбиальная зона ствола и дифференцирующаяся ксилема. На анализ отбирали листья с укороченных побегов (брахибластов) и удлиненных побегов (ауксибластов), ткани ствола – ксилему и флоэму.

Активность пероксидазы при расщеплении гваякола оценивали при pH=5 и при pH=7,8 в листовом аппарате (ауксибластах и брахибластах), бензидина - при pH=7,8 в тканях ствола и кверцетина - при pH=4, pH=7 и pH=10 во флоэме, ксилеме.

В ходе реакции пероксидазного окисления бензидина образуется промежуточное комплексное соединение - бензидиновый синий. Данное соединение является крайне неустойчивым и быстро разрушается. В связи с этим, определение активности пероксидазы производилось по изменению концентрации исходного вещества – бензидина. Определение активности пероксидазы в реакции окисления гваякола производилось по изменению концентрации од-

ного из конечных продуктов реакции - тетрагваякола. По литературным данным нет точного описания, какие продукты образуются в результате пероксидазного окисления кверцетина, однако предложена схема окисления кверцетина в присутствии тирозиназы [2; 5343-5347]. Так как оба этих фермента относятся к классу оксидоредуктаз, можно предположить, что механизм реакции аналогичен.

Результаты и обсуждение

Внесение нитрата калия приводило к существенному возрастанию нитратного азота в почве и повышению его содержания в корнях по сравнению с контрольными деревьями. В листовом аппарате достоверное возрастание нитратов было отмечено только в листьях с ауксибластов у карельской березы. Накопление нитратов только в листьях с удлиненных побегов может быть связано с тем, что ауксибласты, в отличие от брахибластов, растут в длину в течение всего вегетационного периода, тем самым натягивая большее количество воды с нитратами из корней.

Показано, что в период интенсивного роста в аномальных по строению тканях ствола *B. pendula var. carelica* активность пероксидазы значительно превосходит таковую в тканях *B. pendula var. pendula*. При этом активность фермента во флоэме намного выше, чем в ксилеме, что связано с количественным преобладанием фермента во флоэме.

Внесение нитрата калия приводило к возрастанию пероксидазной активности, как в тканях флоэмы, так и ксилемы у карельской и обычной березы повислой. Вероятно, повышенная концентрация нитрата калия под опытными деревьями вызвала нарушение нормального протекания метаболических процессов и явилась фактором изменения внешних условий для растения, повысив тем самым активность изучаемого фермента.

Следует заметить, что в том случае, когда субстратом являлся кверцетин, наибольшая активность фермента была зафиксирована при $pH=7$, при крайних значениях $pH=4$ и $pH=10$ фермент проявил себя неоднозначно.

В листовом аппарате изучаемых растений пероксидазная активность не была такой высокой, как в тканях ствола. Высокие дозы азотного питания приводили к разнонаправленным изменениям у двух форм березы повислой, так у *var. pendula* активность фермента возрастала, в то время как у *var. carelica* значения ее снижались. Также здесь была отмечена разница в значениях активности фермента при различных условиях pH . В среде, когда $pH=5$, активность фермента намного выше, нежели при $pH=7,8$.

Заключение

Получено, что активность пероксидазы находится в тесной связи с активностью ферментов углеводного обмена. В ходе метаболизма растения могут образовываться различные вторичные метаболиты, многие из которых являются по химической характеристике соединениями фенольной природы. Флавоноиды способны оказывать влияние на ход самых разнообразных физиологических процессов по различным механизмам [5; 673-751]. В основе биологического действия фенольных соединений лежат их антиоксидантные свойства, заключающиеся в способности реагировать со свободорадикальными соединениями, образующимися в условиях окислительного стресса [1, 4]. Таким образом, фенольные соединения как раз могут стать субстратами пероксидазного окисления. Они будут взаимодействовать с пероксидазой, которая является сложным белком-гемопропротеидом [10]. Следовательно, при большом их содержании, активность фермента будет увеличиваться. И значения активности пероксидазы у карельской формы поэтому выше, чем у обычной.

Исключение составляет лишь механизм действия пероксидазы в листовом аппарате, где эта закономерность нарушается. Здесь можно провести аналогию с уже проводившимися исследованиями. Ранее для диагностики узорчатой древесины в потомстве карельской березы был разработан метод, основанный на определении активности пероксидазы лубяной ткани в однолетних сеянцах потомства карельской березы в фазе глубокого покоя [9]. О наличии признаков узорчатой древесины судили по скорости проявления активности пероксидазы, которая находится в обратно пропорциональной зависимости с признаком узорчатости. Воз-

можно, лист, как орган, формирующийся в растении *de novo*, как раз и подчиняется этой закономерности, поэтому значения активности пероксидазы при внесении нитратов оказываются меньшими, чем у растения в обычных условиях.

Таким образом, мы предполагаем, что проявление высокой пероксидазной активности в аномальных тканях у карельской березы может быть, как следствием нарушения морфогенеза, так и опосредованно, через ряд сигнальных молекул, индуцировать формирование узорчатой структуры.

Литература

1. Antioxidants and prevention of chronic disease / J. K. Willcox [et al.] // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. – 2004. – Vol. 44, №4. – P. 275-295.
2. Kubo K., Nihei K., Shimizu K. // Bio. Med. Chem. 2004. 12. P. 5343 - 5347.
3. Morita Y., Yoshida C., Maeda Y. Properties and structures of peroxidase isoenzymes of Japanese radish // Agr. Biol. Chem. 1971. Vol. 35, N 7. P. 1074 - 1083.
4. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions / M. A. Soobrattee [et al.] // Mutat. Res. – 2005. – Vol. 579, №1/2. – P. 200-213.
5. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer / E. Middleton, Jr. [et al.] // Pharmacol. Rev. – 2000. – Vol. 52, №4. – P. 673 - 751.
6. Войлоков А. В. Генетический контроль изоферментов высших растений // Успехи соврем. генетики. 1978. Т. 4. С. 150 - 170.
7. Войлоков А. В., Нарбут С.И. О разнообразии спектров анионных пероксидаз у межлинейных гибридов редиса // Генетика. 1974. Т. 10. N 5. С. 160 - 162.
8. Газарян И.Г., Хушпульян Д.М, Тишков В.И. Особенности структуры и механизма действия пероксидаз растений // Успехи биологической химии. Т. 46, 2006, С. 303 - 322.
9. Попов В.К., Авраменко Р.С., Филоненко Е.В. Способ диагностики узорчатой древесины карельской березы // Описание изобретения к патенту РФ. 1996. № 2063679.
10. Рогожин В.В. Пероксидаза: строение и механизм действия / В.В. Рогожин. – Иркутск: Изд-во ИрГТУ, 2007. – 200 с.
11. Уилкинсон Д. Изоферменты. М.: Мир, 1968. 220 с.

FUNCTIONAL ROLE OF PEROXIDASE IN ORGANS AND TISSUES OF TREES OF SILVER BITCH

Nikerova K.M., Galibina N.A.

Betula pendula Roth, peroxidase, isoforms, substrates, potassium nitrate

The aim of work was studying the peroxidase activity in organs and tissues in two forms of Silver birch trees with different degrees of manifestation of wood grain figure. Guaiacol, benzidine and quercetin were substrates of peroxidase oxidation. The peroxidase activity was carried out in different pH conditions. All plants were divided in two groups – experienced trees, which were influenced by potassium nitrate (KNO₃), and control trees.

**ВЛИЯНИЕ ЗАСУХИ НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ ГАЗООБМЕН, АКТИВНОСТЬ
АНТИОКСИДАНТНОЙ И ОСМОПРОТЕКТОРНОЙ СИСТЕМ
ЛИСТЬЕВ ПРОРОСТКОВ КУКУРУЗЫ**

Николаева М.К., Маевская С.Н., Воронин П.Ю.

ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая 35,
г. Москва, 127276, Россия, E-mail: mknikolaeva@mail.ru

Zea mays, засуха, газообмен, антиоксидантная система, пролин, сахара, МДА

Введение

Засуха является одним из важных факторов внешней среды, влияющих на рост, развитие и продуктивность растений. В настоящее время 1/3 мирового континента испытывает недостаток влаги. В дальнейшем потепление климата приведет к сокращению водных ресурсов планеты и увеличению площади засушливых земель. В настоящее время большое внимание уделяется исследованию С4-растений, характеризующихся высокой продуктивностью и большей эффективностью использования воды по сравнению с С3-растениями. Важной зерновой культурой, урожайность которой под влиянием засухи значительно снижается, является кукуруза. Несмотря на успехи в выведении устойчивых к засухе гибридов, понимание механизмов адаптации и устойчивости растений кукурузы к засухе остается актуальной задачей, требующей безотлагательного решения. Задачей работы являлось исследование ответной реакции молодых проростков кукурузы сорта «Тройная сладость» на почвенную засуху на ранней стадии развития (фаза роста третьего листа). Определяли интенсивность фотосинтетического СО₂-газообмена, активность ферментов антиоксидантной защиты, аскорбатпероксидазы (АскП) и глутатионредуктазы (ГР), содержание растворимых антиоксидантов (аскорбата и глутатиона), а также пролина, растворимых углеводов и МДА.

Материалы и методы

Растения кукурузы (*Zea mays* L.) сорта «Тройная сладость» выращивали на смеси песка и почвы (соотношение 2 : 1) при интенсивности света 200 мкмоль/(м² с), 16 – часовом фотопериоде и температуре 25/20оС (день/ночь). На восьмой день после появления всходов опытные растения прекращали поливать. Продолжительность засухи 5 и 7 сут.. За это время влажность почвы в опыте снизилась до 23 и 27%. Контрольные растения поливали ежедневно, поддерживая влажность почвы на уровне 60% от полной влагоемкости. Пробы для анализа брали из средней части растущего третьего листа. Стационарный СО₂/Н₂О-газообмен измеряли на неотделенном листе с помощью одноканального ИК-газоанализатора (LI-820, «LiCor», США) в открытой системе при атмосферной концентрации СО₂ и интенсивности света 200 мкмоль/(м² с) [1].

Для определения содержания Аск и глутатиона навеску листьев (0.2 г) растирали на холоду в 3 мл охлажденной 5% ТХУ, добавляя нерастворимый поливинилпирролидон, 3% (в/об. среды). Гомогенат центрифугировали при 14 000 г в течение 5 мин. Содержание Аск и суммарное содержание глутатиона определяли, как описано ранее [2]. Для определения активности АскП и ГР навеску листьев (0.25–0.30 г) растирали в ступке в 3 мл среды, содержащей 0.1 М Нерес-КОН буфер (рН 7.0), 0.1 мМ ЭДТА, 2 мМ Аск, добавляя нерастворимый поливинилпирролидон, 2% (в/об среды). Гомогенат центрифугировали в течение 15 мин при 15 000 г. Активность АскП и ГР определяли в супернатанте, как описано ранее [3].

Содержание растворимых сахаров определяли в фиксированных кипящим 96% этанолом листьях (0.20–0.30 г). Растворимые углеводы экстрагировали 3 раза 80% этанолом (50–60оС). После центрифугирования при 1000 г в течение 15 мин супернатанты объединяли и упаривали досуха. Остаток растворяли в 3 мл воды и добавляли 3 мл хлороформа для удаления пигментов. После центрифугирования водную фазу очищали с помощью 0.3 Н

$\text{Ba}(\text{OH})_2$ и 10% $\text{Zn}(\text{SO})_4$. Количество фруктозы и сахарозы определяли с помощью резорцина [2]. Для определения содержания глюкозы использовали готовую систему ферментов глюкозооксидаза-пероксидаза (“Sigma”).

Свободный пролин экстрагировали дважды из навески (0.3 г) листьев 3% раствором 5-сульфосалициловой кислоты. Гомогенат центрифугировали при 1000 g в течение 15 мин. Содержание пролина в супернатанте определяли, как описано ранее [3].

Уровень перекисного окисления липидов оценивали по тесту с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-тест), основанному на взаимодействии ТБК с конечными продуктами окисления липидов, основную долю которых составляет МДА. Содержание МДА определяли, как описано ранее [3].

Содержание хлорофиллов а и b и каротиноидов определяли спектрофотометрически при 663, 644 нм и 470 нм после извлечения 80% ацетоном.

Результаты и обсуждение

При 5-дневной засухе функциональная активность фотосинтетического аппарата не изменялась. При действии 7-дневной засухи интенсивность фотосинтеза и транспирации снизились на 50%, что было вызвано закрытием устьиц [4].

Для характеристики антиоксидантной системы оценивали размеры пулов растворимых в воде антиоксидантов и активность АскП и ГР. Показано, что 5-дневная засуха не влияла на содержание аскорбата и активность АскП. При действии 7-дневной засухи содержание аскорбата в листьях опытных растений увеличивалось на 36%, активность АскП повышалась на 24% по сравнению с контролем. Увеличение содержания аскорбата свидетельствует о его активной регенерации, которая может осуществляться не только в аскорбат/глутатионовом цикле, а также с участием восстановленного ферредоксина и НАДФ·Н. Повышение активности АскП, вероятно, является адаптивным ответом и отражает накопление АФК. В условиях наших опытов содержание глутатиона и активность ГР не изменялись. Можно предполагать, что сохранение уровня глутатиона и активности ГР было достаточно для эффективного функционирования антиоксидантной системы.

Помимо исследования влияния засухи на компоненты антиоксидантной системы определяли содержание растворимых углеводов и пролина, которые наряду с важной ролью в осмотической регуляции, могут обезвреживать АФК, а также участвуют в стабилизации мембран при водном стрессе [5]. Показано, что наиболее сильное накопление редуцирующих сахаров наблюдалось при 5-дневной засухе. При этом содержание сахарозы было близким к контролю. Под влиянием 7-дневной засухи содержание сахарозы повысилось на 40%. Значительное накопление редуцирующих сахаров, возможно, связано с увеличением активности инвертазы или является результатом гидролиза крахмала.

Одновременно с повышением содержания редуцирующих сахаров значительно увеличилось содержание пролина: в 2.5 и 7.5 раза при 5- и 7-дневной засухе, соответственно. Увеличение содержания пролина наблюдалось при различных стрессах [5, 6]. Накопление пролина при засухе имеет большое значение для повышения устойчивости растений благодаря его осмопротекторным и антиоксидантным свойствам. Кроме того, биосинтез пролина из глутамата требует активного потребления восстановителя – НАДФ·Н. Поэтому накопление пролина, возможно, снижает отношение НАДФ·Н/НАДФ и уменьшает перевосстановленность электрон-транспортной цепи фотосинтеза в условиях засухи [6].

При действии 5- и 7- дневной засухи содержание МДА, показателя степени перекисного окисления липидов, не изменялось. Это позволяет заключить, что в листьях опытных растений не происходила активация системы перекисного окисления липидов и сохранялась интактность фотосинтетических мембран. О стабильности мембранной системы свидетельствует также тот факт, что содержание хлорофилла в листьях опытных растений оставалось на уровне контроля. Полученные данные позволяют заключить, что эффективное функционирование антиоксидантной и осмопротекторной систем у изучаемого сорта кукурузы предотвратило развитие окислительного стресса.

Заключение

Исследование влияния почвенной засухи на проростки кукурузы показало, что 5-дневная засуха не влияла на функциональную активность фотосинтетического аппарата. При этом активность АскП и ГР, а также содержание аскорбата, глутатиона и МДА в листьях опытных растений не изменялось. Наблюдалось значительное накопление редуцирующих сахаров (глюкозы и фруктозы в 3 раза) и пролина (в 2.5 раза). При воздействии 7-дневной засухи интенсивность CO₂-газообмена снизилась на 50%. В этих условиях содержание аскорбата увеличивалось на 36%, активность АскП – на 24%, что свидетельствует об активации аскорбат/глутатионового цикла. Содержание глутатиона и активность ГР при этом не изменялись. Содержание редуцирующих сахаров повысилось на 140% и сахарозы на 40%. В этих условиях содержание пролина увеличилось в 7.5 раз. Содержание МДА не изменилось, что свидетельствует об отсутствии активации перекисного окисления липидов и сохранении интактности фотосинтетических мембран. Содержание хлорофилла в листьях опытных растений оставалось на уровне контроля. Полученные данные позволяют заключить, что эффективное функционирование антиоксидантной и осмопротекторной системы предотвратило развитие окислительного стресса в листьях молодых проростков кукурузы. Причиной снижения интенсивности фотосинтеза являлось увеличение устьичного сопротивления.

Литература

1. Воронин П.Ю. Установка для измерения флуоресценции хлорофилл, CO₂ – газообмена и транспирации отделенного листа // Физиология растений. 2014. Т. 61. С. 291–96.
2. Маевская С.Н., Николаева М.К. Реакция антиоксидантной и осмопротекторной систем проростков пшеницы на засуху и регидратацию // Физиология растений. 2013. Т. 60. С. 351–359.
3. Николаева М.К., Маевская С.Н., Шугаев А.Г., Бухов Н.Г. Влияние засухи на содержание хлорофилла и активность ферментов антиоксидантной системы в листьях трех сортов пшеницы, различающихся по продуктивности // Физиология растений. 2010. Т. 57. С. 94–102.
4. Saccardy K., Cornic G., Brulfert J., Reyss A. Effect of drought stress on net CO₂ uptake by *Zea* leaves // *Planta*. 1996. V. 199. 589–595.
5. Кузнецов В.В., Шевякова Н.И. Пролин при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция // Физиология растений. 1999. Т. 46. С. 321–336.
6. Hare P.D., Cress W.F., van Staden J. Dissecting the role of osmolite accumulation during stress // *Plant Cell Environ.* 1998. V. 21. P. 535–553.

EFFECT OF DROUGHT ON GAS EXCHANGE, ACTIVITY OF ANTIOXIDANT AND OSMOPROTECTIVE SYSTEMS OF MAIZE SEEDLING LEAVES

Nikolaeva M.K., Maevskaya S.N., Voronin P.Yu.

Zea mays, drought, antioxidant system, proline, sugars, MDA

During the stage of vegetative growth, maize seedlings (cv. Troynaya sladist') were tolerant to drought stress. The efficient functioning of antioxidant and osmoprotective systems and high content of ascorbate and glutathione along with high activity of ascorbate peroxidase in the leaves of control plants might contribute to drought stress tolerance.

ВЛИЯНИЕ КРЕМНИЯ НА РЕАЛИЗАЦИЮ АДАПТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ

Ниловская Н.Т., Осипова Л.В., Курносова Т.Л.

ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт агрохимии им. Д.Н. Прянишникова
РАСХН, ул. Прянишникова, 31-А, 127550, г. Москва, E-mail: kurnosova_t@mail.ru

кремний, продуктивность, яровая пшеница, водный дефицит, кадмий, нетто-ассимиляция, адаптивный потенциал

Введение

В условиях нестабильного климата и усиления антропогенной нагрузки на растения поиск соединений, повышающих адаптивный потенциал зерновых культур, является актуальной проблемой. Соединения кремния, играющего важную роль в жизнедеятельности растительного организма, как правило, используются для повышения продуктивности и защиты растений от вредителей и болезней [1-4]. В последнее время показана его способность к повышению резистентности сельскохозяйственных культур к абиотическим стрессам [5-9].

Материалы и методы

Для изучения роли кремния в формировании адаптивных реакций при действии различных стрессов была проведена серия лабораторных и вегетационных экспериментов. Изучали формирование продуктивности яровой пшеницы при действии нарастающего водного дефицита и загрязнении почвы кадмием. Кремнием в виде силиката калия обрабатывали семена перед посевом. Яровую пшеницу сорта Эстер выращивали в почвенной культуре в условиях искусственного климата, поддерживая на оптимальном уровне облученность, температуру и влажность воздуха и почвы. Почвенную засуху моделировали путем прекращения полива при достижении растениями VI этапа органогенеза. Полив возобновляли при наступлении влажности устойчивого завядания пшеницы, что происходило, когда почвенная влагоемкость снижалась до 14% ПВ. В вариантах с загрязнением почвы вносили раствор азотнокислого кадмия в дозе 40 мг/кг почвы.

В лабораторных экспериментах по активности роста зародышевых корней была выбрана оптимальная концентрация силиката калия для предпосевной обработки семян (ПОС), которая составила 0,3%.

Результаты и обсуждение

В результате проведенных исследований было установлено, что ПОС кремнием снижала негативное действие двух видов стресса. При воздействии нарастающего водного дефицита растения, семена которых обработаны силикатом кремния, сохраняли оводненность зачаточного колоса, водный дефицит листьев верхнего яруса был ниже, чем в необработанном контроле, а водоудерживающая способность больше, что, возможно, связано со способностью поликремниевых кислот удерживать воду [5]. Эффективность восстановительных процессов при применении кремния также была выше, о чем свидетельствует величина нетто-ассимиляции углекислоты в репарационный период. Депрессия продуктивности пшеницы от засухи в варианте с кремнием была меньше из-за большей сохранности заложившихся цветков на конусе нарастания главного побега и реализации их в зерновки.

Токсическое действие тяжелого металла проявилось как на продуктивности пшеницы, так и на накоплении его в растениях. Предпосевная обработка семян кремнием способствовала снижению угнетающего действия кадмия на озерненность колоса и, соответственно, массу зерна, а также на содержание тяжелого металла в зерне, что, возможно, объясняется способностью монокремниевых кислот связывать ионы металла в подвижные комплексы.

Выводы

Таким образом, предпосевная обработка семян кремнием снижала негативное действие нарастающей засухи, сохраняя оводненность генеративных органов в период действия стресса и увеличивая активность репарационных процессов после его окончания. Применение кремния способствовало инактивации токсического влияния тяжелого металла на продуктивность и накопление кадмия в растениях.

Литература

1. Ермаков Е.Н., Панова Г.Г., Канаш Е.В., Мухоморов В.К., Степанова О.А. Значение кремния в жизни растений. Регулируемая агроэкосистема в растениеводстве и экофизиологии // АФИ. – 2007. – С. 96-118.
2. Пашкевич Е.Б., Кирюшин Е.П. Роль кремния в питании растений и защите сельскохозяйственных культур от фитопатогенов // Проблемы агрохимии и экологии. – 2008. - № 2. - С. 52-57.
3. Самсонова Н.Е. Использование соединений кремния при выращивании зерновых культур // Плодородие. – 2009. - № 6. – С. 20-24.
4. Забеганов Н.В. Влияние кремнийсодержащего нанокompозитного препарата на содержание и вынос элементов питания яровой пшеницей и горохом // Агрохимический вестник. – 2012. - № 1. – С. 27-29.
5. Матыченков В.В. Роль подвижных соединений кремния в растениях и системе почва-растение / Автореф. дис. д.б.н. – Пущино, 2008. 32 с.
6. Самсонова Н.Е., Капустина М.В., Зайцева З.Ф. Влияние соединений кремния и минеральных удобрений на урожайность яровых зерновых культур и содержание в них антиоксидантных ферментов // Агрохимия. – 2013. - № 10. С. 66-74.
7. Inal A., Pilbeam D.I., Gunes A. Silicon increases tolerance to boron toxicity and reduces oxidative damage in barley // J. of Plant Nutrition. – Jan. 2009. – Vol. 32. - Issue 1. – P. 112-128.
8. Hattori T., Ishii K., An P., Inanaga S. Growth Enhancement of rye by silicon application under two different soil water regimes // J. of Plant Nutrition. – Feb. 2009. – Vol. 32. - Issue 2. – P. 187-196.
9. Tale Ahmad S., Haddad R. Study of silicon effects on antioxidant enzyme activities and osmotic adjustment of wheat under drought stress // Czeoh. J. Genet. Plant Breeding. – 2011. – Т. 47. - № 1. – P. 17-27.

THE EFFECT OF SILICON ON THE IMPLEMENTATION THE ADAPTIVE CAPACITY OF SPRING WHEAT

Nilovskaya N.T., Osipova L.V., Kurnosova T.L.

silicon, spring wheat, water deficit, cadmium, net assimilation, adaptive capacity

It was shown, that the presowing treatment of seeds silicon reduced the negative effect of drought, keeping the generative organs during the validity of stress and increasing the activity reparation process after its completion. The use of silicon reduces the toxic effects of heavy metal on productivity and accumulation of cadmium in the grain of wheat.

РОЛЬ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ И ЭТИЛЕНА В РАЗВИТИИ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ К ГРИБНОЙ ИНФЕКЦИИ С УЧАСТИЕМ КОМПОНЕНТОВ ПРО-/АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ

Нужная Т.В., Веселова С.В., Максимов И.В.

ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, пр. Октября, 71, г. Уфа, 450054, Россия,
E-mail: veselova75@rambler.ru*Triticum aestivum L., Septoria nodorum Berk., салициловая кислота, этефон, 1-метилциклопропен, перекись водорода, пероксидаза, каталаза.***Введение**

Салициловая кислота (СК) и этилен являются одними из основных растительных гормонов, индуцирующих защитные реакции растений против патогенов. Из исследований на арабидопсисе известно, что СК-зависимый путь регуляции защитного ответа эффективен против биотрофных патогенов, а этилен-зависимый – против некротрофов. Кроме того, при заражении растений патогенами различной или смешанной трофности, что часто встречается в природе, важны взаимодействия сигнальных путей для регуляции механизмов защиты. Влияние этилена на СК неоднозначно и может быть как положительным [1], так и отрицательным [2]. В одном случае этилен может усиливать ответ арабидопсиса на СК, что приводит к экспрессии маркерного гена СК-пути PR1 [1]. В другом случае этилен может подавлять накопление СК, индуцируемое патогеном, и снижать устойчивость растений [2]. Однако, мало известно о взаимодействии этих сигнальных путей и их участии в регуляции про-/антиоксидантного статуса у однодольных растений при гемибиотрофной инфекции.

Цель данной работы – изучить образование перекиси водорода (H₂O₂), изменение активности пероксидазы (ПО) и каталазы (КАТ) под воздействием СК, этефона (ЭТ) (химического предшественника этилена) и ингибитора рецепции этилена 1-метилциклопропена (1-МЦП) при формировании устойчивости растений пшеницы к грибу *Septoria nodorum* Berk.

Материалы и методы

Объектом исследований служили 7-суточные проростки мягкой яровой пшеницы сорта Казахстанская 10 (Каз10), выращенные в лабораторных условиях на водной культуре и подвергнутые предпосевной обработке СК в концентрации 50 мкМ. Часть срезанных первых листьев проростков, помещенных в чашки Петри, обрабатывали раствором 1-МЦП («AgroFresh Inc, Spring House PA», USA) в концентрации 2 мМ, часть – раствором этефона (Sigma, Germany) в концентрации 1,5 мМ, немедленно закрывали и помещали в темноту. Через 24 ч листья инфицировали суспензией пикноспор агрессивного штамма гриба *S. nodorum* (105 спор/мл) из коллекции лаборатории. Содержание H₂O₂ оценивали при 560 нм с использованием ксиленового оранжевого. Активность ПО определяли по окислению (о-) фенилендиамина (ОФД) в присутствии H₂O₂ при 490 нм. Активность каталазы определяли по способности H₂O₂ образовывать с солями молибдата стойкий окрашенный комплекс. Все опыты проводились в 3 биологических и 3 аналитических повторностях.

Результаты и обсуждение

Анализ развития септориоза на листьях пшеницы показал, что как контрольные растения (без обработок), так и обработанные этефоном были восприимчивы к грибу *S. nodorum*, так как на листьях развивались пикниды гриба, окруженные большими зонами хлорозов, занимающих до 40 и 50% площади листа, соответственно (4 балла). Предпосевная обработка семян СК, обработка ингибитором рецепции этилена 1-МЦП и их последовательное применение повышали устойчивость растений пшеницы к септориозу, при этом наблюдалось развитие небольших зон некрозов без хлорозов и пикнид, занимающих от 10 до 20% площади листа (2, 1, 2 балла, соответственно). Интересно, что при последовательной обработке СК и

этефоном наблюдалось развитие некрозов и площадь поражения уменьшалась до 30% (3 балла), что может говорить о снятии СК отрицательного эффекта этефона.

Изучение характера генерации H₂O₂ в листьях пшеницы, как первой защитной реакции растений на проникновение патогена, показало, что в обработанных этефоном листьях генерация H₂O₂ подавлялась, а в предобработанных СК, 1-МЦП и их смесью усиливалась и была в 2 раза выше, чем в инфицированных необработанных листьях через 48чзаражения (таб.1). В случае последовательной обработки СК и этефоном генерация H₂O₂ поддерживалась на высоком уровне в течение всего эксперимента (таб.1), что может объяснить развитие некрозов на этих листьях.

Таблица 1 - Влияние салициловой кислоты (СК) и этилена на генерацию H₂O₂ в листьях пшеницы при инфицировании грибом *S. nodorum*

Table 1 - Effect of salicylic acid (SA) and ethylene on generation of H₂O₂ in wheat leaves infected with *S. nodorum* fungus

Вариант	Время после инфицирования, ч		
	24	48	72
H ₂ O ₂ , мкМ / г сырой массы			
Контроль	15,9±0,9	14,4±2,3	17,2±1,7
<i>S. nodorum</i>	24,2±2,8	21,7±2,9	10,9±1,3
СК	33,1±4,6	54,1±6	32,3±2,9
СК+ <i>S. nodorum</i>	38,1±4,3	44,4±4,6	26,8±2,9
1-МЦП	20,0±2,0	36,4±4,6	25,3±3,2
1-МЦП+ <i>S. nodorum</i>	32,5±2,8	39,4±5,8	21,3±2,5
СК+1-МЦП	23,1±3,8	39,5±4,3	38,7±5,2
СК+1-МЦП+ <i>S. nodorum</i>	35,3±4,9	42,5±4,1	26,1±2,4
ЭТ	12,9±1,0	23,2±1,5	14,7±1,6
ЭТ+ <i>S. nodorum</i>	7,4±1,6	11,5±1,9	9±1,1
СК+ЭТ	39,9±4,9	39,8±3,9	39,4±0,08
СК+ЭТ+ <i>S. nodorum</i>	43,9±4,5	46,5±5,2	31,3±2,9

Исследование активности двух ферментов про-/антиоксидантной системы – ПО и КАТ, принимающих участие в генерации и утилизации H₂O₂ – показало, что высокая генерация H₂O₂ и повышение устойчивости растений под влиянием обработок СК, 1-МЦП и их смеси коррелировало с увеличением активности ПО (рис.1, а) и ингибированием активности КАТ (рис.1, б) при инфицировании, что согласуется с данными литературы о влиянии СК на активность КАТ и ПО [3]. Ингибирование накопления H₂O₂ и снижение устойчивости растений к септориозу под влиянием этефона было связано, вероятно, в увеличением активности КАТ и ингибированием активности ПО (рис.1) при инфицировании, по сравнению с контролем. У необработанных восприимчивых растений мы также наблюдали повышение активности КАТ на фоне довольно низкой генерации H₂O₂, однако, мы не наблюдали ингибирования активности ПО, наоборот она повышалась (рис.1). При последовательной обработке СК и этефоном не было обнаружено ингибирования активности ПО и увеличения активности КАТ (рис.1), что может частично объяснить высокое содержание H₂O₂ в листьях, но не исключает механизмы регуляции этого процесса с помощью других ферментов прооксидантной системы.

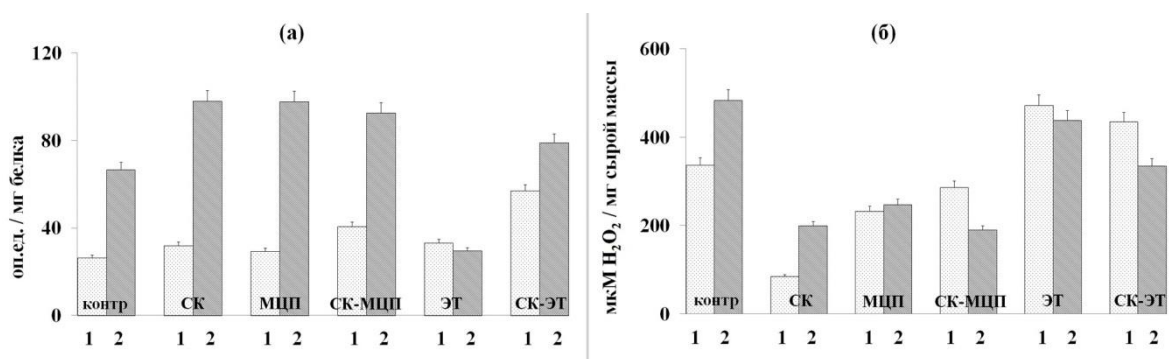


Рисунок 1 - Влияние салициловой кислоты (СК) и этилена на активность пероксидазы (а) и каталазы (б) в листьях пшеницы через 72ч после инфицирования грибом *S. nodorum*: 1-контроль, 2-инфицирование

Figure 1 - Effect of salicylic (SA) and ethylene on activity of peroxidase (a) and catalase (б) in wheat leaves 72 h after infection with fungus *S. nodorum*: 1-control, 2-infection

Полученные нами результаты говорят о том, что положительное влияние СК и отрицательное влияние этилена на защитный ответ растений при гембиотрофной инфекции, проявляется в регуляции активности ферментов про-/антиоксидантной системы. Причем, в присутствии СК отрицательный эффект действия этилена снимается, также как при ингибировании рецепции этилена. Эти факты говорят о том, что рецепция этилена в растениях при гембиотрофной инфекции является одним из ключевых факторов, негативно влияющих на их защитный ответ, действуя, скорее всего, через подавление защитных реакций, регулирующих СК.

Работа поддержана грантом РФФИ № 14-04-97079-р_поволжье_a.

Литература

1. Leon-Reyes A., Spoel S H., De Lange E S., Abe H, Kobayashi M et al. Ethylene Modulates the Role of nonexpressor of pathogenesis-related genes1 in cross talk between salicylate and jasmonate signaling // *Plant Physiology*. 2009. V.149. P. 1797-1809.
2. Chen H., Xue L, Chintamanani S., Germain H., Lin H., Cui H. et al. Ethylene insensitive3 and Ethylene insensitive3-like1 repress salicylic acid induction deficient2 Expression to Negatively Regulate Plant Innate Immunity in *Arabidopsis* // *The Plant Cell*. 2009. V. 21. P. 2527-2540.
3. Kawano T., Furuichi T. Salicylic acid as a defence-related plant hormone: Roles of oxidative and calcium signaling paths in salicylic acid biology // *Salicylic acid: A plant Hormone*. Ed. Hayat S., Ahmad A. 2007. Springer. Berlin. Heidelberg. P. 277 – 322.

ROLE OF SALICYLIC ACID AND ETHYLENE ON DEVELOPMENT OF RESISTANCE OF WHEAT PLANTS AGAINST FUNGUS INFECTION UNDER PARTICIPATION OF COMPONENTS OF PRO/ANTIOXIDANT SYSTEMS

Nuzhnaya T.V., Veselova S.V., Maksimov I.V.

Triticum aestivum L., *Septoria nodorum* Berk., salicylic acid, ethylene, hydrogen peroxidase, catalase, peroxidase.

Effect of salicylic acid (SA) and ethylene on defense response of plants to hemibiotrophic infection was studied. There was revealed the negative role of ethylene and positive role of SA on resistance of wheat plants against fungus *Septoria nodorum* Berk through regulation of hydrogen peroxidase and activity of enzymes catalase and peroxidase.

ВОЗДЕЙСТВИЕ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ, ЯВЛЯЮЩИХСЯ СЛЕДСТВИЕМ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ, НА РАСТЕНИЕ, КАК НА ЕДИНУЮ СИСТЕМУ

Нурминская Ю.В., Еникеев А.Г.

ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, ул. Лермонтова, 132, г. Иркутск, 664033, Россия, E-mail: nurminskaya@sifibr.irk.ru

трансгеноз, разбалансировка генных комплексов, механизмы гомеостаза популяции.

Свойства растений со встроенной чужеродной конструкцией всегда описывают при их получении. Каждый исследователь при этом имеет своё видение того, какие свойства этих растений наиболее значимы, и, так как охватить необъятное невозможно, выбирает лишь некоторые характеристики для изучения. Следствием этого стал огромный массив данных о свойствах ГМР, с трудом поддающийся систематизации и, в связи с этим, не позволяющий увидеть взаимосвязи изученных свойств друг с другом. Для системного подхода к интерпретации данных о свойствах ГМР остро не хватает единой концепции, описывающей физиологические и биохимические свойства таких растений как новой искусственно созданной биологической системы.

На данный момент можно выделить как минимум три попытки такого подхода. Все они были предложены в отечественной литературе.

Так, А.А. Жученко предполагал, что вставка ДНК может приводить к нарушению работы коадаптированных генных комплексов [1]. Внедрение генетической конструкции в ДНК растения является по своей сути инсерционной мутацией. Известно, что встройка чужеродной ДНК вблизи места инсерции влияет на экспрессию растительных генов, вызывает ряд самых различных мутаций – от точечных мутаций до крупных перестроек хромосом [2]. Всё это оказывает влияние на нормальное функционирование генома [3].

Коадаптированные генные комплексы – продукт эволюции генома эукариот. Естественный отбор приводил к тому, что случаи совместного действия двух генов закреплялись в генотипе популяции. Так в процессе эволюции возникали блоки генов, которые участвовали в реализации какой-то конкретной задачи в онтогенезе. Комплексы генов являются «эволюционной памятью генома» об адаптации вида в ходе эволюции к различным неблагоприятным факторам. Впоследствии фактор, вызвавший образование комплекса генов, мог перестать действовать на популяцию, но разрушения комплекса не происходило [1].

Выполняя важнейшую функцию обеспечения онтогенетической адаптации, коадаптированные комплексы генов поддерживают на достаточно высоком уровне гомеостаз развития организма. В связи с этим генные блоки достаточно защищены: при рекомбинации они, как правило, не разрушаются [1]. Поскольку эти комплексы выполняют важную роль в процессах адаптации у растений, при нарушении их работы вследствие генетической трансформации возможны нарушения фитоиммунитета у ГМР [1, 4].

Нужно отметить, что концепция А.А.Жученко основывается на особенностях генома эукариот, в частности растений. Геном растения рассматривается как динамическая система, в которой все части взаимодействуют между собой. Это касается и отдельных генов, которые находятся во взаимодействии друг с другом.

Взяв за основу предположение А.А.Жученко о нарушениях коадаптированных комплексов генов у трансгенных растений, и Л.А. Животовский создал математическую модель увеличения изменчивости фенотипических признаков у популяции таких растений на протяжении нескольких поколений. Данная модель является первой и единственной попыткой прогнозировать микроэволюционные процессы у популяции, в которой присутствуют особи со встроенной генетической конструкцией. Модель показала, что увеличившаяся фенотипическая изменчивость по комплексам адаптивных признаков может стать причиной усиления

давления на популяцию стабилизирующего отбора и появления риска её последующей элиминации из экосистемы [5].

Как А.А. Жученко, так и Л.А. Животовский признавали трансформацию стрессовым фактором, однако они не рассматривали эту сторону проблемы. Позже А.Г. Еникеев с соавторами предложили концепцию агробактериальной трансформации как комплексного стрессующего фактора [6]. Были отмечены такие стресс-факторы, как поранение, инфицирование патогеном (агробактерией), культивирование *in vitro*, внедрение в геном чужеродной ДНК, воспринимаемое растительной клеткой как атака патогена, и генетический стресс вследствие инсерционной мутации [6]. Возможно, к перечисленному можно также добавить селекцию на антибиотике. Такие стрессующие этапы трансформации, как поранение, культивирование *in vitro*, благодаря методам трансформации *in planta*, можно исключить. Однако этого недостаточно для пренебрежения стрессовой реакцией растения на генетическую трансформацию. В связи с этим многие неожиданные последствия трансформации могут быть обусловлены состоянием перманентного стрессового напряжения у трансформантов [6].

Известно, что воздействие стрессовых факторов приводит к увеличению рекомбинаций и количества мутаций, к усилению онтогенетического шума [1, 7]. Из последствий, вызванных этими явлениями, можно выделить увеличение фенотипической изменчивости признаков (в частности, флуктуирующей асимметрии билатеральных структур), что вполне согласуется с идеями как А.А. Жученко, так и Л.А. Животовского.

Нужно отметить, что рассмотренные подходы к восприятию трансгенного растения как единой системы органично дополняют друг друга.

Синтез этих концепций и подходов можно представить на рис 1.



Рисунок 1. Стрессовые факторы, действующие на растительный организм при генетической трансформации и эффект их действия на растение в целом

Figure 1. The stressing factors affecting to a plant during the transformation procedure and effects of their action to the plant how a complete system.

Интересно, что, согласно этой схеме, дополнительное стрессовое воздействие может запускать цепную реакцию «увеличение количества мутационных событий → генетический стресс → разбалансировка коадаптированных комплексов генов», что, в конечном итоге, приводит к двум вышеуказанным следствиям – увеличению изменчивости признаков и снижению адаптивного потенциала. Это позволяет предположить, что трансформированное растение в случае, когда трансформация привела к сильной разбалансировке комплексов генов и усилила чувствительность к стрессовым факторам, представляет собой крайне нестабильную систему, и эта нестабильность в ряду поколений может усугубляться.

Несомненно, длительная коэволюция растений и патогенов, использующих механизм встраивания своей ДНК в геном хозяина (вирусы и агробактерии), привела к существованию у растений систем стабилизации работы генома при встройке чужеродной ДНК. «Эволюционный танец» хозяина и патогена всегда оставляет генетический след взаимного приспособления у обоих организмов [8]. Для растения *Agrobacterium* – не новинка, и растение должно иметь механизмы геномной стабилизации при возникновении стрессового напряжения и при разбалансировке генных блоков вследствие встройки Т-ДНК [9]. То, что это возможно, подтверждается присутствием в природе «естественных трансформантов» – ряда видов рода *Tabacum* и одного

из видов рода *Linaria*, в геноме которых обнаружены последовательности Т-ДНК *Agrobacterium rhisogenes*. [10]. В связи с этим мы можем предположить, что, даже если трансформация приводит к дезорганизации коадаптированных генных комплексов, растение оказывается способно, в конце концов, справиться и с этой проблемой, обретя, по-видимому, равновесие – новое равновесие новой системы. Однако успешность работы механизмов гомеостаза развития будет зависеть от ряда причин, а именно, прежде всего, от степени нарушения работы блоков генов, а также наличия в конструкции последовательностей, эволюционно незнакомых – генов неродственных видов растений, генов животных, синтетических генов [11].

Литература

1. Жученко А.А. Экологическая генетика культурных растений и проблемы агросферы (теория и практика) – М.: ООО «Издательство «Агрорус», 2004. – т. I – 690с.
2. Koncz C., Nemeth K., Redei G.P., Schell J. T-DNA insertional mutagenesis in Arabidopsis//Plant. Mol. Biol., 1992, V.20, P. 963-976
3. Хадеева Н.В., Яковлева Е.Ю., Дунаевский Я.Е, Белозерский М.А. Сравнительный анализ инсерционных мутантов табака и арабидопсиса, трансформированных одинаковыми векторными конструкциями//Генетика, 2012, Т48, №2, С. 194-203
4. Балашова Н.Н., Лахматова И.Т., Лупашку Г.А. Трансгенные растения в сельском хозяйстве и возможный риск в связи с проблемами иммунитета живых организмов//Сельскохозяйственная биология, 2001, №5, С. 3-13
5. Животовский Л.А. Стабилизирующий отбор и приспособленность популяций ГМО//ГМО – скрытая угроза России. – М.: ОАГБ, ЦЭПР, 2004. – С. 93–104.
6. Еникеев, А.Г., Копытина, Т.В., Семёнова, Л.А., Натяганова, А.В., Гаманец, Л.В., Волкова, О.Д. Агробактериальная трансформация как биотический стрессирующий фактор//Журнал стресс-физиологии и биохимии растений, 2008, Т.4, №1, С. 11–15. http://www.jspb.ru/issues/2008/N1/JSPB_2008_1_11-19.
7. Захаров В.М. Онтогенез и популяция: оценка стабильности развития в природных популяциях//Онтогенез, 2001, 32, № 6, С. 404–421.
8. Тихонович И.А., Проворов Н.А. Кооперация растений и микроорганизмов: новые подходы к конструированию экологически устойчивых агросистем//Успехи современной биологии, 2007, Т.127, №4. С. 339-357
9. Щербаков В. П. Эволюция как сопротивление энтропии. I. Механизмы видового гомеостаза//Журнал общей биологии, 2005, Т.66, № 3, С. 195–211.
10. Matveeva T.V., Bogomaz D.I., Pavlova O.A., Nester E.W., Lutova L.A. Horizontal gene transfer from genus *Agrobacterium* to plant *Linaria* in nature//MPMI, 2012, 25, № 12, P. 1542–1551.
11. Nielsen K.M. Transgenic organisms: time for conceptual diversification?//Nature Biotechnology, 2003, V.21, №3. P. 227-228.

THE STRESSING FACTORS AFFECTING TO A PLANT DURING THE TRANSFORMATION PROCEDURE AND EFFECTS OF THEIR ACTION TO THE PLANT HOW A COMPLETE SYSTEM

Nurminskaya Y.V., Enikeev A.G.

transgenesis, imbalance of coadapted gene complexes, mechanisms of population homeostasis

A synthesis of three ideas of plant reaction to genetic transformation is made. They are assumptions about an imbalance of coadapted gene complexes in consequence of transgenesis, about an increasing of traits variability, and conception that a transformation is a complex of stressing factors. There are two main effects of to the plant because of transformation: an increasing of traits variability and a decreasing of the adaptation ability.

ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ ЯБЛОНИ К ХОЛОДОВОМУ СТРЕССОРУ И ТЕПЛОВОМУ ШОКУ В НАЧАЛЕ ВЕГЕТАЦИИ

Ожерельева З. Е., Красова Н. Г., Галашева А. М.

ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур РАСХН,
д. Жилина Орловскіј району Орловской области, 302530, Россия,
E-mail: zoya.ozhereleva@mail.ru

яблоня, весна, холодовой стрессор, тепловой шок

Введение

В начале вегетации (май) молодые побеги и листья на кольчатках при неблагоприятных погодных условиях часто подвергаются экстремальным для вегетирующих растений факторам (холод, перегрев, засуха), что приводит к угнетению и торможению ростовых процессов.

Повреждение растений холодом в начале вегетации сопровождается потерей ими оводнённости и изменением окраски, что является следствием нарушения транспорта воды к транспирирующим органам. В результате этого наблюдаются значительные нарушения физиологических функций, которые связаны с нарушением обмена нуклеиновых кислот и белков. У растений наблюдаются усиление распада белков и накопление в тканях растворимых форм азота. Из-за изменения структуры митохондрий и пластид аэробное дыхание и фотосинтез снижаются. Деградация хлоропластов, разрушение нормальной структуры пигментно-липидного комплекса приводят к подавлению функции запасаания энергии этими органоидами, что способствует нарушению энергетического обмена растения в целом. Изменение проницаемости мембран приводит к тому, что нарушаются поступление и транспорт воды в растения и отток ассимилятов, токсичных веществ из клеток. Все эти изменения существенно снижают жизнеспособность растений и могут привести к их гибели [1, 3]. Кроме того, в этих условиях растения более подвержены действию болезней и вредителей, что также приводит к снижению качества и количества урожая. У растений более холодостойких потери воды наименьшие, поэтому отмеченные нарушения выражены значительно слабее и не сопровождаются гибелью растения.

Высокая температура также оказывает губительное влияние на растительные организмы, что вызывает изменения водного баланса, повреждения мембран и белков. Различные белки-ферменты денатурируют при различной температуре. Однако даже частичная денатурация ферментов приводит к нарушению процессов обмена. Накапливаются растворимые азотистые соединения и другие ядовитые промежуточные продукты обмена, в результате чего происходит гибель клеток. Высокая температура тормозит как фотосинтез, так и дыхание, нарушает транспорт воды. Уменьшается сопряженность энергетических процессов [2, 5].

В связи с тем, что растения очень часто подвергаются как холодовому, так и тепловому стрессорам в начале вегетации, изучение устойчивости яблони к негативному воздействию повреждающих факторов является актуальным.

Материалы и методы

Метод основан на реакции сортов яблони на холодовой стрессор и тепловой шок по потере воды в листьях в начале вегетации.

Исследования проводились, согласно методическим рекомендациям В.Г. Леонченко и др. (2007) [4].

Материалом исследований послужили листья сортов яблони отечественной и зарубежной селекции. Моделирование холодового стрессора при экстремальной для молодых листьев температуре -10°C в течение 2ч теплового шока при $+50^{\circ}\text{C}$ в течение 1,5 ч проводили в камере искусственного климата «ESPEC» PSL-2KPH (Япония).

Контролем служил вариант опыта, при котором листья каждого сорта взвешивались и раскладывались на столе для подвядания. Через 24ч листья взвешивали и определяли потерю воды в % к первоначальному содержанию.

Результаты и обсуждение

В начале вегетации у большинства изучаемых сортов яблони ткани листьев содержали среднее количество воды (60,3...67,6%). Только у сортов Квинти и Белорусское сладкое отмечена низкая оводнённость тканей молодых листьев – 58,9 и 55,9%, соответственно (рис. 1).

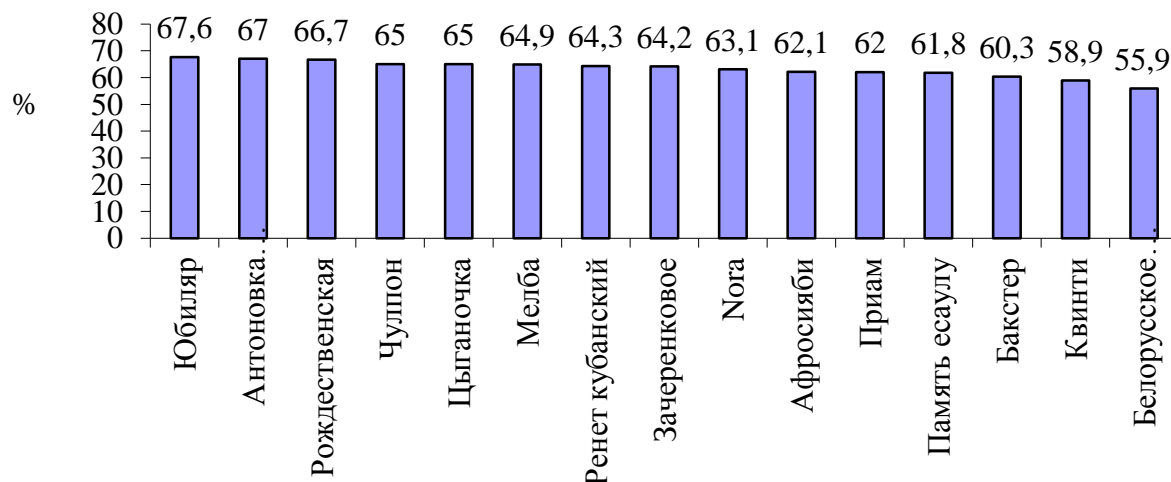


Рисунок 1 - Оводнённость листьев сортов яблони в начале вегетации, %

Figure 1 - Water content of leaves of apple cultivars at the beginning of vegetation, %

При воздействии температуры -10°C у устойчивых сортов к холодному стрессору весной потери воды возрастают незначительно по сравнению с контролем. К ним относятся Антоновка обыкновенная (45,9...58,9%), Афросияби (45,9...54,1%), Бакстер (42,2...47,5%), Белорусское сладкое (45,6...50,8%), Зачеренковое (47,9...59,4%), Квинти (36,7...37,5%), Рождественское (28,3...35,8%), Цыганочка (44,1...57,3%), Чулпон (45,3...54,1%), Юбиляр (25,3...28,4%). Сорта Мелба (40,6...52,2%), Нора (46,3...77,3%), Память есаулу (42,1...50,3%), Приам (42,3...54,0%), Ренет кубанский (49,8...62,2%) проявили неустойчивость к холодному стрессору, т.к. у них выявлены значительные потери воды листьями по сравнению с контролем (рис. 2).

Реакция на тепловой шок ($+50^{\circ}\text{C}$) весной у всех сортов была сильнее, чем на холодной стрессор (-10°C). При тепловом шоке наибольшую устойчивость проявили сорта яблони: Бакстер (42,2...54,3%), Квинти (36,7...46,1%), Юбиляр (25,3...31,8%), Память есаулу (42,1...56,5%), Приам (42,3...52,0%), Ренет кубанский (49,8...50,1%). Листья данных сортов потеряли воду незначительно по сравнению с контролем. Большинство изучаемых сортов яблони были неустойчивы к тепловому шоку, т.к. теряли много воды. У них относятся: Антоновка обыкновенная (45,9...73,8%), Афросияби (45,9...65,0%), Белорусское сладкое (45,6...65,1%), Зачеренковое (47,9...61,6%), Рождественское (28,3...41,3%), Цыганочка (44,1...60,8%), Чулпон (45,3...69,4%), Мелба (40,6...54,6%), Нора (46,3...64,4%) (рис. 2).

Выводы

Установлена различная реакция сортов яблони на воздействие температурных стрессоров по потере воды в листьях в весенний период. В результате проведённых исследований выявлено, что реакция на тепловой шок весной у всех сортов была сильнее, чем на холодной стрессор. Наиболее устойчивыми к холодному стрессу: сорт народной селекции - Антоновка обыкновенная; среднерусские сорта - Рождественское, Юбиляр; южно-уральский сорт - Зачеренковое; белорусский сорт - Белорусское сладкое; украинский сорт - Цыганочка; среднеазиатские сорта - Афросияби, Чулпон; американский сорт - Бакстер; канадский - Квинти.

К тепловому шоку устойчивость проявили: среднерусский сорт - Юбиляр; северокавказские сорта - Память есаулу, Ренет кубанский; западноевропейский сорт - Приам; американский сорт - Бакстер и канадский сорт - Квинти.

Таким образом, сорта яблони Бакстер, Квинти, Юбиляр в начале вегетации проявили устойчивость как к холодному стрессу, так и тепловому шоку.

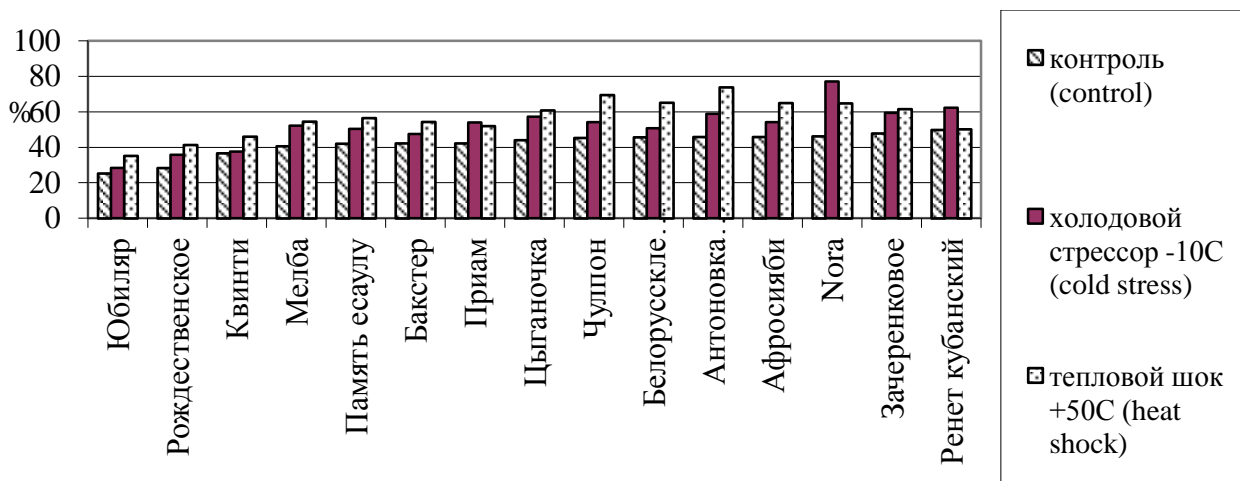


Рисунок 2 - Потери воды при холодном стрессе -10°C и тепловом шоке $+50^{\circ}\text{C}$ по сравнению с контролем

Figure 2 - Water losses during cold stress -10°C and heat shock $+50^{\circ}\text{C}$ in comparison with control

Литература

1. Александров В.Я. Клетки, макромолекулы и температура / Л.: Наука, 1975. – 329 с.
2. Горышина Т.К. Экология растений / М.: Высшая школа, 1979. – 368 с.
3. Культиасов И.М. Экология растений / М.: Высшая школа, 1982. – 384 с.
4. Леонченко В. Г. и др. Предварительный отбор перспективных генотипов плодовых растений на экологическую устойчивость и биохимическую ценность плодов (метод. реком.). – Мичуринск, 2007. – 72 с.
5. Полевой В.В. Физиология растений / М.: Высшая школа, 1989. – 464 с.

ESTIMATION OF APPLE RESISTANCE TO COLD STRESS AND HEAT SHOCK AT VEGETATION ONSET

Ozherelieva Z.E., Krasova N.G., Galasheva A.M.

apple, spring, cold stress, heat shock

Winter-hardy apple varieties have been revealed as a result of investigations: Antonovka Obyknovennaya, Afrosiyaby, Bakster, Belorusskoye Sladkoye, Zarechenkovoye, Quinty, Rozhdestvenskoye, Tzyganochka, Chulpon and Yubilar. Heat shock resistant apple varieties have been also revealed: Backster, Quinty, Yubilar, Pamyat Yesaulu, Priam and Renet Kubansky. Backster, Quinty and Yubilar have combined resistance to cold stress and heat shock in their genotypes.

**ВЛИЯНИЕ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ НА СИНТЕЗ
ЭФИРНЫХ МАСЕЛ В РАСТЕНИЯХ ЮЖНОГО УРАЛА**

Опекунова М.Г.¹, Крылова Ю.В.¹, Курашов Е.А.^{1,2}, Чихачева А.Ю.¹

¹ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет», Университетская наб., 7-9, г. С.-Петербург, 199034, Россия, E-mail: m.opkunova@mail.ru, E-mail: juliakrylova@mail.ru

²Институт озерадения РАН, ул. Севастьянова, 9, г. С.-Петербург, 196105, Россия, E-mail: evgeny_kurashov@mail.ru

Лекарственные растения, эфирные масла, загрязнение, тяжелые металлы

Введение

Добыча и обогащение полиметаллических руд на Южном Урале привели к антропогенному загрязнению окружающей среды тяжелыми металлами (ТМ – Cu, Zn, Fe, Mn, Pb, Cd, As и др.), которое накладывается на естественные геохимические ореолы рассеяния, усиливая токсическое действие на биоту [1, 2 и др.]. Накопление ТМ в растениях оказывает негативное воздействие на синтез биологически активных веществ, в том числе, эфирных масел. Поэтому одной из задач проводимых работ стало изучение химического состава дикорастущих видов растений Башкирского Зауралья и определение особенностей его изменения под влиянием техногенеза.

Материалы и методы

Комплексные экологические исследования проведены в 1998-2013 гг в зоне воздействия горнорудных предприятий Башкирского Зауралья (Баймакский р-н, г. Сибай). Изучены степные природно-территориальные комплексы (ПТК) вблизи Сибайского карьера (с. Старый Сибай и оз. Култубан), хвостохранилища обогатительной фабрики (с. Калининское), а также фоновые территории в пределах Сибай-Гайской рудоносной зоны (с. Мукасово) и вне ее (с. Исяново, оз. Талкас). Подробная методика и характеристика района исследований даны в ранее опубликованных работах [3-5].

Влияние техногенного загрязнения на содержание эфирных масел и их качественный состав определено на примере южно-уральских популяций *Thymus marschallianus* Willd., *Th. serpyllum* L. и *Salvia stepposa* Schost. В почвах наряду с основными физико-химическими параметрами определено валовое содержание ТМ и их подвижных форм, извлекаемых ацетатно-аммонийным буфером, в растениях – общее содержание ТМ. Качество лекарственных растений оценивалось по количеству эфирного масла, составу и изменению соотношения веществ эфирных масел. Определение содержания эфирного масла в растительном сырье проводилось путем перегонки его с водяным паром по методу Гинзберга. Компонентный состав эфирного масла растений выявлялся на хромато-масс-спектрометрическом комплексе TRACE DSQ II (Thermo Electron Corporation) с квадрупольным масс-анализатором. Идентификация выявленных соединений проведена с использованием библиотек масс-спектров «NIST-2005» и «Wiley».

Результаты и обсуждение

Как показали проведенные исследования, почвы и растения фоновых ПТК Сибай-Гайской рудоносной зоны характеризуются высоким содержанием ТМ. индикаторным элементом полиметаллического оруденения является Zn, среднее валовое содержание которого в изученных почвах достигает 223 мг/кг, что почти в 3,5 раза превосходит фон для черноземов и немного выше ОДК. Доля подвижных форм ТМ в почвах фоновых ПТК Сибай-Гайской рудоносной зоны невелика и составляет в среднем 2-3 (до 5)%. По мере приближения к производственным объектам значительно увеличивается концентрация в почвах Zn, Cu, Fe. Максимальные значения валового содержания и подвижных форм ТМ отмечаются на территории вблизи с. Калининское. Подкисление рН почвенных растворов за счет поступления серосодержащих выбросов способствует увеличению миграционной способности ТМ, так что доля подвижных форм возрастает в среднем до 7-8%, а в некоторых ПТК – до 20%.

По полученным данным за последние 30 лет отмечено увеличение содержания ТМ в почвах и растениях, что обусловлено нарастанием техногенной нагрузки на ПТК. Содержание Cu, Zn, Fe и Mn в дикорастущих растениях вблизи объектов горнорудного производства в 1,5-2 раза превышает фоновые показатели.

Изученные растения относятся к непривычным концентраторам ТМ: *Th. marschallianus* выделяется как концентратор Cu, Zn, Fe и Mn, *S. stepposa* – Cu, Zn и Fe. В фоновых ПТК уровень их содержания в *Th. marschallianus* выше, чем в *S. stepposa*. Однако при антропогенном загрязнении отмечается обратная зависимость – шалфей характеризуется более высокой интенсивностью аккумуляции ТМ.

Как показали результаты проведенных исследований, природные популяции изученных видов адаптированы к высоким содержаниям ТМ, поэтому в условиях естественных геохимических аномалий растения синтезируют качественное эфирное масло. Прямой зависимости между его количеством и концентрацией ТМ в надземной биомассе не обнаружено. Количество его и компонентный состав в растениях фоновой территории меняется, прежде всего, в зависимости от характера местообитания, физико-химических свойств почв (степени гумусированности и механического состава), состава растительного сообщества и внутриспециевых связей. Значительные изменения количества эфирного масла отмечаются по годам в зависимости от погодных условий. В то же время отмечается влияние Zn на органолептические свойства эфирного масла, значительное увеличение концентрации этого металла приводит к ухудшению запаха и изменению его цвета.

В эфирном масле *S. stepposa* обнаружено 57 компонентов (идентифицировано 54), наиболее обильны из которых: гексаналь; гексеналь; бензальдегид; 6-метилгепт-5-ен-2-он; (2E,4E)-гепта-2,4-диеналь; бензенацетальдегид; линалоол; 3,4,4-триметилциклопент-2-ен-1-он; α -терпинеол; тимол, карвакрол, β -ионон, диизобутилфталат. В эфирном масле *Th. marschallianus* выявлено 75 веществ, среди которых преобладают тимол, линалоол, α -пинен, β -пинен, α -терпинеол, ρ -цимен, терпинеол-4, карвакрол, лимонен, γ -терпинен, α -терпинен, борнеол, кариофилен, цимол.

При нарастании техногенного стресса на первых этапах наблюдается возрастание концентрации эфирного масла в растениях. В дальнейшем по мере увеличения нагрузки содержание его уменьшается. Вместе с тем, определенного уровня концентрации ТМ, на котором происходит реакция «срыва», за которой отмечается резкое снижение содержания эфирного масла, не установлено. В каждом отдельном случае фиксируются разные содержания ТМ в почвах и растениях. При возрастании техногенеза, с изменением форм соединений химических элементов, наблюдается ухудшение качества эфирного масла, его органолептических характеристик и компонентного состава (упрощение, и доведение до одного преобладающего, например, карвакрола). При этом содержание бензенацетальдегида, гептадиенала, гексанала, линалоола, диизобутилфталата в шалфее снижается, а концентрация тимола, карвакрола, терпинена, борнеола, цимола, терпинеола, ванилинола увеличивается. Адаптация вида к повышению уровня техногенного загрязнения ТМ происходит в основном за счет вариаций продуктивности карвакрола и тимола. В чабреце при техногенном загрязнении снижается содержание тимола, лимонена, борнеола, терпинеола-4, α -терпинеола, ρ -цимена, а содержание карвакрола, линалоола, α -терпинена, кариофиленна, α -пинена, цимола увеличивается.

Большое влияние на состав эфирного масла растений оказывает также пастбищная нагрузка. На территории близ с. Исяново при низком содержании ТМ в почвах и растениях в пробе *S. stepposa*, отобранной из несвойственного ему полынно-рудерально-разнотравного сообщества, наблюдаются значительные изменения качественного состава эфирных масел. При этом были найдены 3 неидентифицированных вещества, которые также были обнаружены в пробе *S. stepposa* из наиболее загрязненного района вблизи с. Калининское. В зональных степно-разнотравно-типчаково-ковыльных степях при высоком уровне антропогенного загрязнения ТМ южно-уральская популяция *S. stepposa*, характеризующаяся высокой устойчивостью к повышенному содержанию Cu, Zn и Fe в почвах, отличается большей стабильностью биохимиче-

ского состава, чем в составе вторичного полынно-рудерально-разнотравного сообщества, сформировавшегося вследствие чрезмерного выпаса.

Заключение

Южно-уральские популяции *S. stepposa* и *Th. marschallianus*, адаптированные к повышенному содержанию ТМ, в фоновых ПТК характеризуются высоким качеством эфирного масла. В то же время при техногенном загрязнении, когда меняются формы нахождения ТМ в окружающей среде, а также при деградации фитоценоза в результате пастбищной регрессии наблюдается ухудшение, в первую очередь, их запаха и компонентного состава. Отмечается упрощение и доведение до одного преобладающего вещества, прежде всего, карвакрола.

Результаты проведенных исследований имеют значение как в связи с определением качества лекарственного сырья и изменения его под влиянием техногенеза, так и для выявления причин и условий формирования металлоустойчивых популяций дикорастущих видов на обогащенных металлами почвах. Последнее интересно в эволюционном аспекте, так как позволяет понять физиологические основы металлоустойчивости, пути внутривидовой дифференциации и приспособления растений к неблагоприятным условиям минерального питания.

Литература

1. Ковальский В.В., Кривицкий В.А., Алексеева С.А., Летунова С.В., Опекунова М.Г., Скарлыгина-Уфимцева М.Д., Берман Ш., Илзиль А., Петерсон Н., Жогова Е.П., Рублик Р.Я. Южно-Уральский субрегион биосферы // Труды биогеохимической лаборатории. 1981. Т.19. С. 3-64.
2. Опекунов А.Ю., Опекунова М.Г. Геохимия техногенеза в районе разработки Сибайского медно-колчеданного месторождения // Записки Горного института, т. 203, 2013. С. 196-204.
3. Опекунова М.Г., Алексеева-Попова Н.В., Арестова И.Ю., Грибалев С.В., Краснов Д.А., Бобров Д.Г., Осипенко О.А., Соловьева Н.И. Тяжелые металлы в почвах и растениях Южного Урала. I. Экологическое состояние фоновых территорий // Вестн. С.-Петерб. ун-та. Сер. 7. 2001. Вып. 4 (№ 31). С. 45-53.
4. Опекунова М.Г., Алексеева-Попова Н.В., Арестова И.Ю., Грибалев С.В., Краснов Д.А., Бобров Д.Г., Осипенко О.А., Соловьева Н.И. Тяжелые металлы в почвах и растениях Южного Урала. Ч.II. Экологическое состояние антропогенно нарушенных территорий // Вестн.С.-Петерб.ун-та. Сер. 7: Геология, география. 2002. Вып. 1(№ 7). С. 63-71.
5. Опекунова М.Г., Крылова Ю.В., Курашов Е.А., Чихачева А.Ю. Изменение качества лекарственных растений *Thymus marschallianus* Willd. и *Salvia stepposa* Schost. под воздействием загрязнения тяжелыми металлами на Южном Урале // Бюллетень Брянского отделения РБО, 2013. № 2(2). С. 97-112.

THE EFFECT OF HEAVY METAL POLLUTION IN SYNTHESIS OF ESSENTIAL OILS IN PLANTS OF SOUTH URAL

Opekunova M.G., Krylova Y.V., Kurashov E.A., Chikhacheva A.Yu.

medicinal plants, essential oils, pollution, heavy metals

The influence of heavy metals (HM) pollution on the content of essential oils and their qualitative composition of *Thymus marschallianus* Willd. and *Salvia stepposa* Schost. in the South Ural is discussed. It is shown that the quality of essential oils is determined by a complex of factors of habitat conditions, phytocenosis, physico-chemical properties of soils, the concentration of total and mobile forms of HM, as well as the intensity of technogenic and grazing pressure.

ВЛИЯНИЕ СЕЛЕНА И ЦИНКА НА УСТОЙЧИВОСТЬ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР К РАЗЛИЧНЫМ АБИОТИЧЕСКИМ СТРЕССАМ

Осипова Л.В.¹, Верниченко И.В.², Быковская И.А.¹, Яковлева П.А.²

¹ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт агрохимии им. Д.Н. Прянишникова
РАСХН, г. Москва, ул. Прянишникова, 31а. 127550, Россия,

²ФГБОУ ВПО «Российский государственный аграрный университет – Московская
сельскохозяйственная академия им. К.А. Тимирязева», Тимирязевская ул., 49,
г. Москва, 127550, Россия, E-mail: legos4@yandex.ru

зерновые культуры, селен, цинк, абиотический стресс, предпосевная обработка семян (ПОС)

Введение

Условия климатической вариабельности и антропогенной нагрузки на современные сорта привело к уменьшению урожайности зерновых культур и снижению стабильности сельскохозяйственного производства. Одним из путей решения этой проблемы является повышение адаптивного потенциала яровой пшеницы, ячменя и тритикале. Установленные в последние годы механизма действия различных видов стрессов позволили предположить наличие общего способа повышения устойчивости.

Материалы и методы

В вегетационных микрополевых экспериментах изучали протекторное действие микроэлементов селена и цинка в виде предпосевной обработки семян на развитие адаптивных реакций и формирование продуктивности яровых зерновых культур пшеницы, ячменя и тритикале. В вегетационных опытах в критический период закладки генеративных элементов колоса моделировали стрессы различной природы – обезвоживание, засоление, действие тяжелого металла и гербицида. В микрополевых опытах индуктором развития стресса служил паракват. Во всех экспериментах реакцию растений оценивали по характеру роста и развития апекса главного побега, содержанию хлорофиллов, экзосмосу электролитов из листьев и по активности поглощения ^{15}N в репарационный период, что определяли методом изотопной индикации.

Результаты и обсуждение

Проведенные исследования показали, что при действии всех видов стрессов в растениях пшеницы, ячменя и тритикале происходили аналогичные изменения физиологических реакций, и снижалась продуктивность. У всех культур тормозилось развитие конуса нарастания главного побега, увеличилось соотношение хлорофиллов а и b, возрастала проницаемость мембран, уменьшилась поглотительная функция корневой системы. Степень выраженности повреждений зависела от вида стресса, его напряженности, определяемой концентрацией соединения, вызывающего стресс. В предварительных опытах на проростках были выбраны концентрации сахарозы, NaCl, Cd(NO₃)₂ и параквата, вызывающие примерно одинаковое торможение ростовых функций. Однако на растениях, находящихся на VI этапе органогенеза со сформировавшимся габитусом степень их негативного воздействия была различна. Несмотря на это использование селена, и цинка для предпосевной обработки семян снижало негативное действие всех изучаемых сортов на реализацию адаптивного потенциала яровых зерновых. Повышение неспецифической устойчивости пшеницы, ячменя и тритикале обусловлено активизацией системы элементами которой является, селен и цинк. О неспецифической устойчивости – комплекса одинаковых физико-биологических изменений, происходящих при различных стрессовых воздействиях писали ещё Генкель [1] и Удовенко [2]. В последние годы показано, что общим ответом на любое негативное воздействие является развитие окислительного стресса и активизация антиоксидантной системы [3-8].

Эффективность действие ПОС селенитом и цинком связана со стабилизацией пигментного аппарата, сохранением целостности мембран и активацией поглотительной способности корней в пост стрессовый период при оптимизации условий культивирования.

Заключение

Таким образом, селен и цинк используемые для предпосевной обработки семян стимулировали протекторные механизмы в растительном организме и уменьшали негативное действие абиотических стрессов различной природы (обезвоживание, засоление, действие тяжелого металла и гербицида) на зерновую продуктивность пшеницы, ячменя и тритикале.

Литература

1. Генкель П.А. О сопряженной и конвергентной устойчивости растений// Физиология растений. - 1979. - Т. 26. - №5. - С. 921-930
2. Удовенко Г.В. Устойчивость растений к абиотическим стрессам. С-Пб. – «ВИРАЖ». - С.293-245
3. Berkowitz G.A. Water and Solt Stress//Cambridge Univ. Press. – 1988. – P. 226-237
4. Chaves M.M., Oliveira M.M. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits// J.Exp.Bot. – 2004. – V.55.- P.2365-2384
5. Flexas J. et al. Keeping a positive carbon balance under ad verse conditions// Physiol. Plant. = 2006. – V.127. – P.343-352
6. Полесская О.Г., Каширина Е.И., Алехина Н.Д. Влияние солевого стресса на антиоксидантную систему растений в зависимости от условий азотного питания //Физиология растений. – 2006. – Т. 35. - № 2. – С. 207-214.
7. Гарькова А.Н., Русяева М.М., Нуштаева О.В., Аросланкина Ю.Н., Лукаткин А.С. Обработка гербицидом гранстар вызывает окислительный стресс в листьях злаков //Физиология растений. – 2011. – Т. 58. - № 6. – С. 935-943.
8. Николаева М.К., Маевская С.Н., Шугаев А.Г., Бухов Н.Г. Влияние засухи на содержание хлорофилла и активность ферментов антиоксидантной системы в листьях трех сортов пшеницы различающихся по продуктивности//Физиология растений. - 2010. - Т.57. - №1. - С. 94-102

THE EFFECTS OF TRACE ELEMENTS SELENIUM AND ZINC ON THE STABILIT OF CEREALS TO VARIOUS ABIOTIC STRESSES

Osipova L.V., Vernichenko I.V., Bykovskaya I.A., Yakovleva P.A.

cereals, selenium, zinc, abiotic stress, stability

Selenium and zinc used for proceeding treatment stimulated protective processes in the plant organism and de reduces the negative impact of abiotic stresses different nature (dehydration, salinity effect of heavy metals and herbicide).

ФГБОУ ВПО «Казанский государственный аграрный университет», ул. К. Маркса, 65,
г. Казань, 420015, Россия, E-mail: pahomovav@mail.ru

стресс, обратимые и необратимые изменения, ранняя экспресс-диагностика, витальные критерии

В настоящее время фитострессология (несмотря на ряд дискуссионных вопросов) заняла прочные позиции в современной физиологии и биохимии растений. Хорошо изучены симптоматика стрессового состояния растений и защитно-компенсаторные механизмы клеток при действии неблагоприятных факторов среды. Однако по-прежнему слабым звеном в изучении стресса остается его ранняя экспресс-диагностика.

Известно, что в первой фазе фитостресса развивается целый комплекс однотипных, но не тождественных изменений. К начальным обратимым неспецифическим процессам, происходящим в клетках растений при действии стрессора относятся переход Ca^{+} в цитоплазму из вакуолей, митохондрий и ЭПР; увеличение теплообмена; изменение текучести мембран; активация сборки актиновых микрофиламентов цитоскелета; усиление катаболизма липидов и биополимеров; образование вторичных мессенджеров, активирование протеинкиназ; снижение синтетических процессов (но одновременно активируется синтез РНКазы); разрыхление белковых глобул, изменение их вторичных, третичных и четвертичных структур; снижение фотосинтеза; повышение проницаемости мембран и выход из клеток различных веществ; деполаризация мембран, подкисление цитоплазмы; нарушение окислительного фосфорилирования; активация гликолиза; развитие свободнорадикальных реакций; синтез стрессовых белков на фоне падения общего количества белка; дезинтеграция полисом; образование стрессовых гранул; увеличение синтеза стрессовых гормонов (этилена, абсцизовой и жасмоновой кислот); снижение содержания ауксинов и гиббереллинов; изменение структурно-функционального состояния клеточной стенки; торможение поглотительной активности клеток, деления и роста и др. (Пахомова, 2000).

Описанные изменения взаимосвязаны, протекают как каскадные саморазвивающиеся процессы и служат пусковым звеном для включения целой цепи различных обменных реакций, первоначальное назначение которых заключается в восстановлении исходного состояния клетки. Однако вопрос о том, что является ключевым звеном изменений, происходящих в клетках при действии стрессоров, остается до конца неизученным.

Различают первичные нарушения, обусловленные непосредственным действием стрессора на клетку; вторичные отклонения, вызванные первичными нарушениями метаболических функций; результирующие изменения ряда интегральных параметров организма. К первичным изменениям относятся изменения осморегуляции цитоплазмы, биоэнергетических процессов, структурной целостности и состава мембран, структурного состояния ядерной ДНК. Вторичные нарушения включают в себя торможение белкового синтеза, увеличение концентрации фитогормонов ингибиторного характера, подавление деления и растяжения клеток. Результирующими нарушениями являются изменение интенсивности поглощения и утилизации минеральных элементов питания, изменение прироста общей биомассы и т.п.

Исходя из этого очевидно, что ранняя стресс-диагностика растений предполагает фиксацию первичных (предпочтительно) или вторичных нарушений гомеостаза клеток. Однако в этом случае подобная стресс-диагностика является достаточно трудоемкой или элитарной в связи с использованием дорогостоящего оборудования и необходимости обучения исследователей сложным методам в ведущих научных центрах и университетах. Эти обстоятельства практически исключают экспресс-диагностику начальных изменений клеток растений при стрессе в полевых условиях. Кроме того следует иметь в виду, что ряд описанных начальных обратимых

неспецифических изменений поразительно напоминают симптомы третьей фазы стресса – стадии истощения, в течение которой протекают необратимые изменения.

Поэтому остро стоит вопрос о разработке ранней экспресс-диагностики стрессового состояния растений с целью разработки и применения эффективных средств защиты растений в производственных неблагоприятных условиях существования.

Установлено (Браун, Моженок, 1987), что одним из ранних, постоянных и наглядных показателей неспецифического адаптационного синдрома клеточной системы является увеличение связывания протоплазмой нетоксичных катионных красителей (нейтрального красного, метиленового синего, акридинового оранжевого и др.). Реакция живой протоплазмы на действие раздражителей градуальна, то есть с увеличением силы раздражителя увеличивается и количество сорбированного протоплазмой красителя. Таким образом, количество поглощенного клеткой красителя может служить мерой глубины альтерации.

На наш взгляд, незаслуженно забытой является методика, разработанная в лаборатории Д.Н. Насонова его сотрудниками А.А. Брауном и М.Ф. Ивановым на животных тканях (Браун, Моженок, 1987). Схема методики проста. Контрольные и опытные ткани помещают в раствор разбавленного красителя (0,01-0,1 ммоль/л). После инкубации ткани вынимают из раствора красителя и заливают подкисленным 70% спиртом. Через сут. весь краситель из клеток переходит в спирт, после чего окрашенные вытяжки колориметрируют. Интенсивность окраски вытяжки из опытных тканей выражают в процентах по отношению к контролю. Для получения более точных данных рекомендуется по возможности сократить срок окрашивания до начала сегрегации (гранулообразования) красителя в клетках.

К сожалению, данная методика не нашла широкого применения в физиологии растений. Справедливости ради следует сказать, что модификация этой методики в фитофизиологии и растениеводстве применяется лишь для цитофизиологической оценки жизнеспособности растительных клеток (Александров, 1955 и др.).

Важно, что увеличение окраски клеток при альтерации рядом исследователей объясняется нарушением целостности плазматической мембраны и связанным с этим увеличением ее проницаемости. Поэтому количество связанного клетками красителя может служить также показателем изменения барьерной функции мембран - одного из важнейших составляющих гомеостаза клеток.

Что же касается экспресс-диагностики необратимых изменений клеток в стадии истощения стрессовой реакции, или неспецифического адаптационного синдрома (для их разграничения со сходными первичными, но обратимыми изменениями), можно рекомендовать регистрацию момента нарушения гранулообразования в клетках, которое является постоянным, легко выявляемым признаком стресса. Исследования просты и проводят следующим образом. Ткани помещают в раствор некоторых слабых оснований и катион-кислот. Как правило, в качестве гранулообразователей чаще всего используют основные витальные красители (перечисленные выше), реже – аммонийные соли, алкалоиды (новокаин, хинин), некоторые лекарственные вещества, антибиотики. Вскоре в цитоплазме клеток наблюдают образование сначала мелких, а затем все более крупных сферических структур (гранул или зон сегрегации), достигающих через несколькозначительных размеров (4-15 мкм). В растворах бесцветных гранулообразователей гранулы бесцветны, в растворах красителей окрашены в соответствующий цвет (Браун, Моженок, 1987). Причем, эти гранулы нескольких формирования представляют достаточно устойчивые образования.

Следует иметь в виду, что диффузный тип окраски клеток и нарушение гранулообразования на начальных этапах стресса обратим, а на поздних – необратим в связи с необратимым нарушением биоэнергетических процессов в клетках.

Аналогично показателем начального этапа стресса может служить обратимый выход ионов калия из клеток, регистрируемый с помощью пламенной фотометрии, и, соответственно, необратимая утечка калия – на стадии истощения неспецифического адаптационного синдрома клеток (Пахомова, 2000).

Важно подчеркнуть, что вышеописанные показатели могут использоваться и в диагностике устойчивости растений к действию различных стрессоров.

Литература

1. Пахомова В.М. Неспецифический адаптационный синдром биосистем и общие закономерности реактивности клеток. - Казань: Изд-во КГУ, 2000. - 180 с.
2. Браун А.Д., Моженок Т. П. Неспецифический адаптационный синдром клеточной системы. – Л.: Наука, 1987. - 232 с.
3. Александров В.Я. Цитофизиологическая оценка различных методов определения жизнеспособности растительных клеток // Тр. Бот. Ин-та АН СССР. Сер. 4, 1955. Т. 10. С. 308 – 355.

EXPRESS-DIAGNOSTICS OF PLANT CELL STRESS

Pakhomova V.M., Daminova A.I.

stress, reversible and irreversible changes, early express-diagnostics, vital colour

It has been suggested the express-diagnostics of distinct steps of plant cell stress reaction: the amount of vital colour is bound by cells in the initial stage of stress (nonspecific adaptive syndrome) and disruption of vital colour granule formation (segregation) until late in stress.

РОЛЬ ЭКЗОГЕННОГО АСКОРБАТА В ФОРМИРОВАНИИ ОТВЕТНЫХ РЕАКЦИЙ *CERATOPHYLLUM DEMERSUM L.* НА ДЕЙСТВИЕ ИОНОВ КАДМИЯ

Поморцева К.А., Борисова Г.Г.

ФГАОУ ВПО «Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина», ул. Мира 19, г. Екатеринбург, 620002, Россия, E-mail: pomor-a.ksieniia@list.ru

Ceratophyllum demersum L., аскорбиновая кислота, ионы кадмия, стресс, антиоксидантная система, фотосинтетические пигменты

Введение

В настоящее время проводится много исследований, направленных на выяснение способов регулирования устойчивости растений посредством усиления работы антиоксидантной системы. Интенсивно идет изучение влияния различных веществ (аскорбата, спермина, путресцина и др.), на адаптацию растений. В ряде работ отмечается, что обработка растений некоторыми экзогенными веществами приводит к снижению генерации АФК и стимуляции экспрессии генов антиоксидантной системы [1, 2]. Так, аскорбиновая кислота находится во всех растительных тканях, защищая клетки от избыточного образования активных форм кислорода (АФК) при неблагоприятных условиях. Это соединение обладает способностью восстановления свободных радикалов и участвует в снижении разрушительных воздействий окислительного стресса. Аскорбат может выступать в качестве как антиоксиданта, так и кофактора фермента. В литературе практически нет данных об изменении физиолого-биохимических показателей у водных растений в ответ на стресс при внесении в среду инкубирования аскорбиновой кислоты.

Цель данного исследования – оценка роли экзогенного аскорбата в ответных реакциях высших водных растений на действие повышенных концентраций ионов кадмия.

Материалы и методы

Объектом исследования был *Ceratophyllum demersum L.* (роголистник погруженный). Растения инкубировали в течение сут. в дистиллированной воде с добавлением Cd^{2+} (1 мг/л) и аскорбата (10 мкМ) как по отдельности, так и совместно. В качестве контрольных вариантов использовали растения, инкубированные в дистиллированной воде без добавления веществ. В листьях растений определяли содержание ионов кадмия, интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ), активность аскорбатпероксидазы, гваяколовой пероксидазы и содержание фотосинтетических пигментов. Анализ содержания кадмия проведен с использованием атомно-абсорбционной спектроскопии. Интенсивность ПОЛ оценивали по содержанию ТБК-реагирующих продуктов [3]. Активность гваяколовой пероксидазы определяли на спектрофотометре по увеличению оптической плотности реакционной среды при длине волны 470 нм каждые 10 секунд [4], а активность аскорбатпероксидазы – по снижению оптической плотности раствора при окислении аскорбата при 290 нм по модифицированному методу Nakano, Asada [5]. Содержание фотосинтетических пигментов определяли спектрофотометрически. Расчет хлорофиллов проводили по формуле Vernon, содержание каротиноидов рассчитывали по Wettstein [6]. Для экстрагирования пигментов из листьев использовали 80 % водный раствор ацетона.

Каждое определение проводили в пятикратной биологической и трехкратной аналитической повторности. В таблице представлены средние значения показателей и их стандартные ошибки.

Результаты и обсуждение

Считается, что антиоксидантный эффект аскорбиновой кислоты главным образом реализуется посредством ее участия в работе ферментативных антиоксидантов, особенно ферментов аскорбат-глутатионового цикла [7]. Однако известно, что аскорбиновая кислота может инактивировать свободные радикалы и непосредственно (без апофермента). Одной из гипотез данного исследования было предположение о том, что в первые часы стрессового воздействия, вызван-

ного присутствием ионов кадмия, ключевую роль в нейтрализации АФК играет экзогенный аскорбат, который действует непосредственно на свободные радикалы.

Результаты исследования показали, что при добавлении кадмия его содержание в листьях увеличивалось в 1000 раз по сравнению с контрольным вариантом. Совместное внесение кадмия и аскорбата вызывало увеличение поглощения Cd²⁺ растениями, хотя и незначительно (на 14 % по сравнению со средой с отдельным внесением Cd²⁺).

Интенсивность перекисидации липидов как индикатор повреждения мембран в присутствии Cd²⁺ увеличивалась по сравнению с контролем, а в варианте при совместном действии кадмия и аскорбата снижалась. Наблюдаемый эффект, по-видимому, связан с тем, что избыток поллютанта переводился в неактивную форму, не оказывая токсического действия на растения. Возможно, что добавление аскорбата изменяло окислительно-восстановительный баланс и приводило к усилению функционирования исследуемых ферментов. Поэтому снижение повреждений может быть обусловлено более быстрой активацией антиоксидантной системы защиты.

При этом активность гваяколовой пероксидазы возрастала во всех вариантах по сравнению с контролем (табл. 1). В варианте с кадмием наблюдалось увеличение активности данного фермента по сравнению с контролем (в 2,6 раза). По-видимому, растения испытывали сильный окислительный стресс из-за поступивших высоких концентраций кадмия. При совместном присутствии сульфата кадмия и аскорбата активность данного фермента была максимальной.

Таблица 1 - Активность антиоксидантных ферментов в листьях *Ceratophyllum demersum* при инкубировании с кадмием и аскорбатом

Table 1 - Activity of antioxidant enzymes in the leaves of *Ceratophyllum demersum* incubated with cadmium and ascorbate

Варианты	Активность гваяколовой пероксидазы	Активность аскорбатпероксидазы
	мМ/г сухой массы · мин	
Контроль	6,020 ± 0,467	9,715 ± 0,0002
Cd ²⁺	15,612 ± 0,104	8,678 ± 0,002
Аскорбат	10,904 ± 0,568	10,292 ± 0,012
Cd ²⁺ + аскорбат	18,229 ± 0,524	11,703 ± 0,010

Активность аскорбатпероксидазы в варианте с кадмием снижалась по сравнению с контролем. Максимальные значения наблюдались при одновременном действии кадмия и аскорбата. Аскорбиновая кислота может в качестве кофактора аскорбатоксидазы инактивировать свободные радикалы, выполняя сходную роль с супероксиддисмутазой. Таким образом, добавление аскорбиновой кислоты увеличивало активность двух исследуемых пероксидаз, что наиболее отчетливо проявилось в отношении гваяколовой пероксидазы.

О влиянии катионов тяжелых металлов на накопление хлорофилла в растениях в литературе имеется много данных, но сведений об изменениях в состоянии фотосинтетического аппарата водных макрофитов в ответ на действие аскорбата практически нет.

Проведенные исследования показали, что при добавлении Cd²⁺ содержание хлорофилла b и каротиноидов достоверно увеличилось по сравнению с контролем. Однако при совместном действии аскорбата и кадмия содержание всех фотосинтетических пигментов существенно снижалось (по сравнению с Cd²⁺). Соотношение форм хлорофилла является важным показателем в оценке фотосинтетического процесса по причине того, что хлорофилл a связан с реакционными центрами фотосистем, а форма b – со светособирающим комплексом фотосистемы 2. В норме этот показатель должен соответствовать 2,2-3,0 [8]. В вариантах с Cd²⁺ и аскорбиновой кислотой (при отдельном действии) наблюдалось существенное снижение соотношения форм хлорофиллов по сравнению с контролем (до 1,5), что может свидетельствовать о нарушениях в работе фотосинтетического аппарата. При совместном действии аскорбата и кадмия происходило незначительное снижение этого соотношения (до 2,2).

Выводы

Таким образом, полученные данные показали, что внесение аскорбата усиливало поступление ионов кадмия в листья роголистника, приводя к активации исследуемых ферментов-антиоксидантов, но при этом уровень повреждений снижался. Содержание фотосинтетических пигментов уменьшалось при одновременном действии кадмия и аскорбата по сравнению с вариантами при их раздельном действии.

Литература

1. Лукаткин А.С., Ешкина С.В., Осмоловская Н.Г. Влияние экзогенных антиоксидантов на генерацию супероксидного анион-радикала в листьях огурца при стрессовом воздействии охлаждения и ионов меди // Вестн. С.-Петерб. ун-та. Серия 3. 2013. Вып.4. С.65–73.
2. 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.
3. Uchiyama M., Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test // Anal. Biochem. 1978. V. 86. P. 287–297.
4. Chance B., Maehly A.C. Assay catalase and peroxidase. Methods in Enzymology. N. Y.: Academic Press. 1955. P. 764–775.
5. Nakano Y., Asada K Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. // Plant Cell Physiol. 1981. V. 22. P. 867–880.
6. Гавриленко В.Ф., Жигалова Т.В. Большой практикум по фотосинтезу. М., 2003. 256 с.
7. Кения М.В., Лукаш А.И., Гуськов Е.П. Роль низкомолекулярных антиоксидантов при окислительном стрессе // Успехи современной биологии. 1993. Т. 113, № 4. С. 456–470.
8. Яцко Я.Н. Пигментный аппарат вечнозеленых растений на Севере: автореф. дис. ...канд. биол. наук. СПб., 2010. 23 с.

ROLE OF EXOGENOUS ASCORBATE IN FORMATION OF *CERATOPHYLLUM DEMERSUM* L. RESPONSE UNDER CADMIUM ACTION STRESS

Pomortseva K.A., Borisova G.G.

Ceratophyllum demersum L., ascorbic acid, cadmium, stress, antioxidant system, photosynthetic pigments

The role of exogenous ascorbate on indicators of antioxidant status and content of photosynthetic pigments in higher aquatic plants (for example, *Ceratophyllum demersum* L.) under cadmium ions action have investigated. Incubation of plants with cadmium sulfate for 24 h resulted in an increase in the lipid peroxidation intensity and increase of a guaiacol peroxidase and ascorbate peroxidase activities. Decrease in the lipid peroxidation intensity and increase the peroxidase activity was observed under the simultaneous impact of cadmium and ascorbate. Influence of ascorbate on content of photosynthetic pigments in leaves of plants has been shown.

**ДИНАМИЧЕСКИЕ ПРЕОБРАЗОВАНИЯ МИТОХОНДРИЙ
ПРИ ДЕЙСТВИИ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ЯДОВ**

Пономарева А.А., Рахматуллина Д.Ф., Газизова Н.И., Минибаева Ф.В.

ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, ул. Лобачевского 2/31,
г. Казань, 420111, Россия, E-mail: na.ponomareva@mail.ru*электрон-транспортная цепь, ротенон, антимицин А, митохондриальная сеть***Введение**

В настоящее время роль митохондрий в клетках определяется не только энергообеспечением, но и участием органелл в синтезе сигнальных молекул и белковых факторов, которые необходимы для регуляции метаболических и катаболических процессов, сигнальных каскадов и всех типов клеточной смерти [1, 2]. Использование «митохондриальных ядов» – ингибиторов работы комплексов электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) является классическим приёмом при изучении функциональной активности митохондрий. Блокирование работы того или иного комплекса ЭТЦ дает возможность оценить вклад конкретного участка в последующие метаболические и функциональные перестройки и проследить компенсаторные реакции органелл. В задачи нашего исследования входила характеристика функциональных изменений митохондрий и возможных путей реорганизации митохондриома клетки при одновременном блокировании работы I и III комплексов ЭТЦ.

Материалы и методы

Объектом исследования служили отсеченные корни 4-суточных проростков пшеницы *Triticum aestivum* L. сорта Казанская Юбилейная. Растения выращивали на 0,25 мМ CaCl₂, этот же раствор использовали в качестве контрольной среды инкубации и для приготовления растворов ингибиторов. Использовали ингибиторы ЭТЦ: I комплекса - 10 мМ ротенон, III комплекса - 10 мМ антимицин А. Интенсивность дыхания определяли манометрическим методом Варбурга [3]. В гомогенате определяли содержание H₂O₂ и интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) [4]. Для качественной оценки АФК *in vivo* использовали флуоресцентный краситель - 2'7'-дихлорфлуоресцин диацетат (1 мкМ DCFDA lab 505 нм / λ_{em} 535 нм). Для визуализации митохондрий и оценки их мембранного потенциала использовали потенциал-зависимый краситель – этиловый эфир тетраметилродамина (1 мкМ TMRM lab 543 нм / λ_{em} 573 нм). Ультраструктуру клеток паренхимы центрального цилиндра в зоне растяжения корня анализировали с помощью электронного микроскопа Jem 1200EX (Jeol, Japan) [5]. Опыты проводили не менее чем в 3 биологических и аналитических повторностях.

Результаты и обсуждение

При одновременном ингибировании работы I и III комплексов ЭТЦ ротеноном и антимицином А наблюдали двухфазное изменение интенсивности дыхания. Первоначальное подавление дыхания на 40-50 % сменялось стимуляцией, которая к 5 ч составляла 50-60 % от контрольных значений. Природа этой стимуляции и возможные механизмы изменения метаболических путей, связанные с восстановлением энергообеспечения клеток, подробно рассмотрены ранее в статье [3]. Показано, что определенный вклад в восстановление интенсивности поглощения кислорода вносит работа терминальных участков ЭТЦ, H⁺-АТФаз и редокс-систем плазмалеммы. Мы предположили, что возрастание интенсивности потребления кислорода сопровождается усилением продукции активных форм кислорода (АФК). Для клеток животных и дрожжей показано значительное усиление генерации АФК при блокировании переноса электронов по ЭТЦ, особенно на участках I и III [6]. Интересно, что при многочасовой инкубации корней в растворе ингибиторов не происходило значительного увеличения образования H₂O₂ и ПОЛ. Эти данные были подтверждены детекцией АФК с помощью флуоресцентного красителя DCFDA. Окраска клеток потенциал-зависимым красителем TMRM показала диссипацию мембранного потенциала митохондрии по сравнению с контролем на протяжении всего эксперимента (1-5 ч) (рис. 1А).

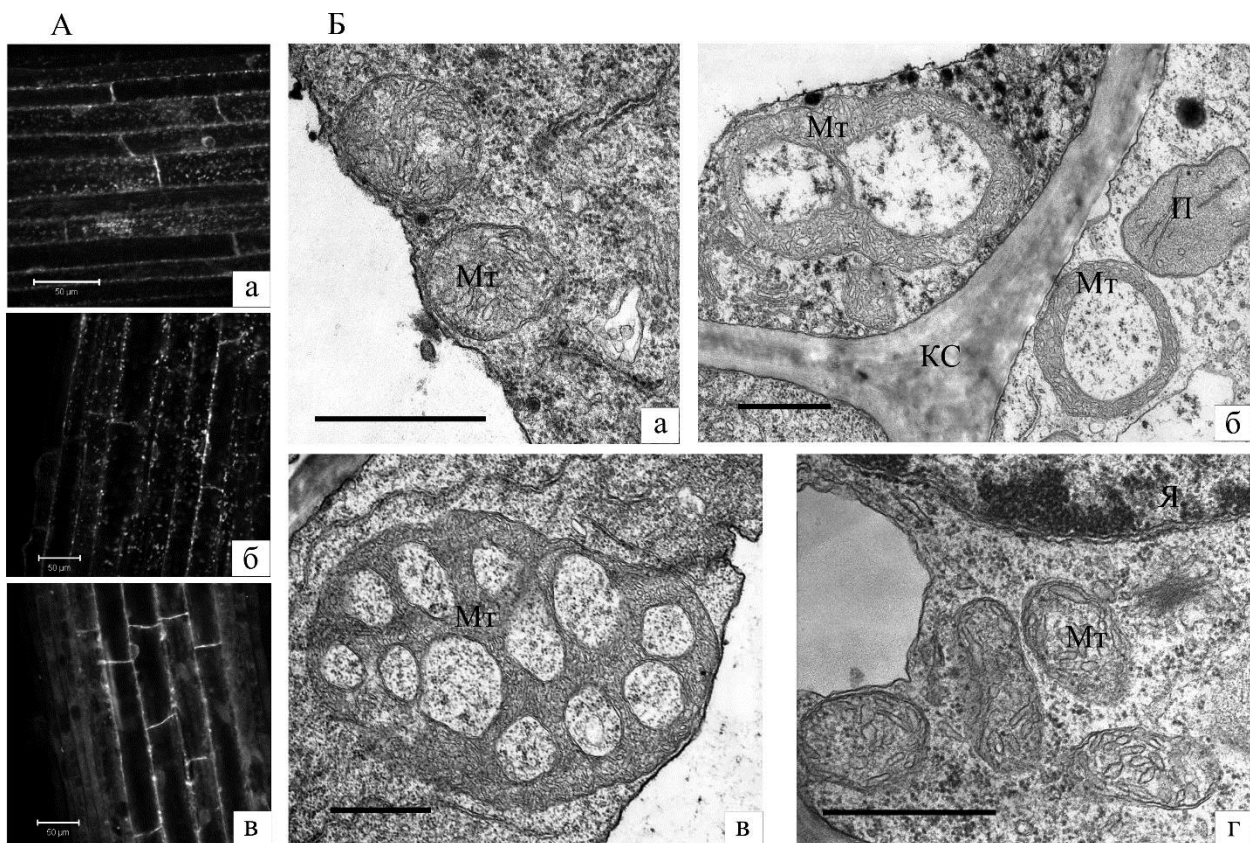


Рисунок 1 - Влияние ротенона и анатимицина А на мембранный потенциал (А) и ультраструктуры митохондрий (Б) в клетках корней пшеницы. (А) а – митохондрии в исходных клетках, б - 1 ч инкубации CaCl_2 , в – ротенон + антимитин А 1 ч инкубации; масштабный отрезок 50 мкм. (Б) а- ортодоксальные митохондрии, контроль 1 ч, б–г - митохондрии при действии ингибиторов 1, 3, 5 ч соответственно. Масштабный отрезок 1 мкм. КС – клеточная стенка, Мт – митохондрия, П - пластида, Я – ядро

Figure 1 - The influence of rotenone and antimycin A on the membrane potential (A) and ultrastructure of mitochondria (B) in wheat root cells. а - initial cell mitochondria, б –incubation in CaCl_2 1h, в - incubation in rotenone + antimycin A 1 h; bars μm 50. (Б) а- orthodox mitochondria, control 1 h, б - г - the influence of inhibitors on mitochondria 1, 3, 5 h, respectively; bars 1 μm . КС - cell wall, Мт - mitochondria, П – plastid, Я - nucleus

Ультраструктура митохондрий претерпевала значительные перестройки. В контроле митохондрии имели ортодоксальный вид, округлую форму и линейные размеры 0,5–1 мкм в течение всего эксперимента (рис. 1Б, а). Действие ингибиторов (3 ч) вызывало образование гигантских митохондрий необычной перфорированной формы, при этом значительно увеличивались их линейные размеры. Возрастала площадь соприкосновения органелл с цитоплазмой за счет образования инвагинаций и полостей (рис. 1Б, б, в). Митохондрии такого вида можно описать как митохондриальную сеть, наличие которой характерно для многих клеток животных. Образование гигантских митохондрий показано в условиях длительного анаэробноза в клетках корня риса [7] и в клетках культуры табака [8]. Через 5 ч инкубации корней с ингибиторами митохондрии приобретали обычную форму и небольшие размеры, что говорит о временной динамике выявленных преобразований органелл (рис. 1Б, г). В литературе существуют противоречивые данные о влиянии митохондриальных ядов на пространственную организацию митохондрий. Образование мегамитохондрий показано в клетках харовых водорослей на фоне снижения фотосинтетической и цитохромной активности при действии митохондриальных ядов, таких как антимитин А и цианид [9], тогда как в клетках культуры табака цианид не оказывал эффекта на размер и форму митохондрий [8]. Таким образом, нарушения функционирования митохондрий

альной ЭТЦ влияют не только на интенсивность дыхания клетки и трансмембранный митохондриальный потенциал, но и индуцируют динамические преобразования митохондрий.

Заключение

Впервые обнаружен факт образования мегамитохондрий/митохондриальной сети в клетках корней пшеницы при блокировании работы I и III комплексов ЭТЦ. Можно полагать, что, наряду с изменением функциональной активности митохондрий (снижение уровня дыхания, АТФ, $\Delta\psi_m$), изменение их морфологии является одним из возможных путей адаптации к стрессовым воздействиям.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ (№№ 13-04-00865, 14-04-00205).

Литература

1. Amirsadeghi S., Robson Ch.A., Vanlerberghe G.C. The role of the mitochondrion in plant responses to biotic stress // *Physiologia Plantarum* 2007. V. 129. P. 253–266.
2. Cheng W-Ch., Leach K. M., Hardwick J. M. Mitochondrial death pathways in yeast and mammalian cells // *Biochim Biophys Acta*. 2008. V. 1783 (7). P. 1272–1279.
3. Рахматуллина Д.Ф., Гордон Л.Х., Огородникова Т.И. Дыхание клеток корней пшеницы в условиях одновременного ингибирования I и III участков электрон-транспортной цепи митохондрий // *Цитология*. 2005. Т.47. №3. С.230-236.
4. Дмитриева С.А., Пономарева А.А., Рябовол В.В., Минибаева Ф.В. Эффекты окислительного стресса на ультраструктуру и функциональную активность растительных митохондрий *in vivo* // *Биологические мембраны*. 2012. Т. 29. № 4. с. 267–275.
5. Пономарева А.А., Польшгалова О.О. Изменение формы митохондрий в клетках корней пшеницы при действии митохондриальных ядов // *Физиология растений*. 2012. Т. 59. № 3. С. 466–471.
6. Andreyev Yu., Kushnareva Yu.E., A.A. Starkov. Mitochondrial metabolism of reactive oxygen species // *Biochemistry (Moscow)*. 2005. V. 70. No. 2. P. 200-214.
7. Vartapetian B.B., Andreeva I.N., Kozlova G.I., Agapova L.P. Mitochondrial ultrastructure in roots of mesophyte and hydrophyte at anoxia and after glucose feeding // *Protoplasma*. 1977. V. 91. P. 243-256.
8. Van Gestel K., Verbelen J-P. Giant mitochondria are a response to low oxygen pressure in cells of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) // *Journal of Experimental Botany*. 2002. V.53. P. 1215-1218.
9. Foissner I. Inhibitor studies on formation of giant mitochondria in *Nitella flexilis* // *Phyton (Austria)*. 1983. V. 23. P. 19-29.

DYNAMIC TRANSFORMATIONS OF MITOCHONDRIA INDUCED BY MITOCHONDRIAL POISONS

Ponomareva A.A., Rakhmatullina D.F., Gazizova N.I., Minibayeva F.V.

electron-transport chain, rotenone, antimycin A, mitochondrial network

Inhibition of complexes I and III of the ETC induced the dissipation of the mitochondrial transmembrane potential, the changes in the rate of respiration and morphological transformation of mitochondria with the formation of megamitochondria.

АНАЛИЗ ТРАНСКРИПТОМА МОРСКОЙ ЗЕЛЕННОЙ МИКРОВОДОРОСЛИ *DUNALIELLA TERTIOLECTA*: ОБНАРУЖЕНИЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ, КОДИРУЮЩИХ АТФазы Р-типа

Попова Л.Г.¹, Беляев Д.В.¹, Шувалов А.В.¹, Юрченко А.А.², Маталин Д.А.¹, Балнокин Ю.В.^{1,3}

¹ ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая 35,
г. Москва, 127276, Россия, E-mail: lora_gp@mail.ru

² ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет», Университетская наб.,
7-9, г. С.-Петербург, 199034, Россия

³ ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»,
Ленинские горы, д. 1, стр. 12, г. Москва, 119991, Россия

биоинформатика, транскриптом, морские микроводоросли, АТФазы Р-типа, Dunaliella

Введение

Транскриптом – это набор всех молекул РНК (включая мРНК, тРНК, рРНК, другие некодирующие РНК) в данном организме или в группе клеток определенного типа. Транскриптом клетки динамичен и, в отличие от генома, может меняться в зависимости от внешних условий. Таким образом, транскриптом отражает гены, которые активно экспрессируются в каждый данный момент времени. Существуют два основных метода реконструирования полных нуклеотидных последовательностей транскриптома. Один подход основан на картировании полученных последовательностей на основании референсного генома, причем этим геномом может быть как геном организма, транскриптом которого изучается, так и геном близкородственного вида. Другой подход – это компьютерная сборка транскриптома *de novo*, которая осуществляется с применением специализированного программного обеспечения. С помощью этого подхода непосредственно из прочтений коротких секвенированных нуклеотидных последовательностей получают полноразмерные транскрипты, кодирующие белки. Последний подход мы использовали в представленной работе для анализа аннотированного в базах NCBI транскриптома флагеллярной морской микроводоросли *Dunaliella tertiolecta* (отд. *Chlorophyta*) [1]. Целью нашей работы было обнаружение последовательностей, кодирующих АТФазы Р-типа у этого организма. АТФазы Р-типа – это интегральные мембранные белки. Они играют важную роль в энергизации биологических мембран и в ионном гомеостатировании клеточных компартментов, используя энергию гидролиза АТФ для переноса малых катионов (Na⁺, K⁺, Ca²⁺, H⁺, ионов тяжелых металлов) и фосфолипидов через мембраны. АТФазы Р-типа обнаруживаются как у эукариот, так и у прокариот.

У галотолерантных/морских микроводорослей рода *Dunaliella*, обитающих в средах с высоким содержанием NaCl (морская вода, соленые озера), ионное гомеостатирование цитоплазмы обеспечивается функционирующими в плазматической мембране этих организмов АТФазами Р-типа. В частности, в плазматической мембране морской микроводоросли *Dunaliella maritima* функционально идентифицированы две АТФазы Р-типа, H⁺-АТФаза и Na⁺-АТФаза [2, 3]. Последняя, как специализированный Na⁺-транспортирующий механизм, является важной детерминантой солеустойчивости данного организма, выводя избыток ионов Na⁺ из цитоплазмы в наружную среду против градиента электрохимического потенциала этого иона. Ген Na⁺-АТФазы *D. maritima* пока не найден, однако найдены гены Na⁺-транспортирующих АТФаз у ряда других организмов [4, 5]. Поиск методами биоинформатики гипотетических АТФаз Р-типа в транскриптоме водоросли близкого вида *Dunaliella tertiolecta* и сравнение их с известными Na⁺-АТФазами, существование которых доказано на функциональном уровне, возможно, позволит обнаружить последовательность, кодирующую Na⁺-АТФазу *D. tertiolecta*.

Материалы и методы

Транскриптом микроводоросли *Dunaliella tertiolecta* аннотирован в базе данных Sequence Read Archive (SRA, # SRX 047443). Риды были отфильтрованы по качеству и длине в програм-

ме FastQC, а затем собраны в контиги длиной 201-14338 нуклеотидов в программе Trinity. Поиск последовательностей, кодирующих АТФазы Р-типа, в файле с контигами осуществлялся с помощью программы tblastx.

Результаты и обсуждение

По сравнению с АТФазами других семейств (АТФазами F-, V- и А-типов), АТФазы Р-типа имеют простую структуру. Как правило, такие ферменты состоят из одной полипептидной цепи с молекулярной массой 90-140 кДа [6]. Первичные структуры АТФаз Р-типа, в целом, демонстрируют не очень большое сходство. Однако в каждом ферменте, принадлежащем этому семейству, могут быть выделены 8 областей в аминокислотной последовательности, которые имеют высокую степень гомологии среди всех АТФаз Р-типа, а внутри этих областей есть, в свою очередь, высоко консервативные участки [7]. Наиболее консервативной последовательностью, которая практически в неизменном виде присутствует у всех АТФаз Р-типа, является последовательность DKTGTLT, аспартат которой фосфорилируется в ходе каталитического цикла (образование в ходе каталитического цикла аспартил-фосфатного интермедиата является важным отличительным свойством АТФаз Р-типа). Еще один характерный для АТФаз Р-типа консервативный мотив – TGDGVND. Этот мотив отвечает за координацию ионов Mg^{2+} , который является необходимым кофактором АТФазной реакции. На основе этих высококонсервативных аминокислотных последовательностей были написаны нуклеотидные последовательности-праймеры. Последние были использованы для поиска гомологичных последовательностей в собранном транскриптоме *D. tertiolecta*.

Был обнаружен ряд нуклеотидных последовательностей, имеющих в своем составе участки, гомологичные примененным праймерам. Сравнение найденных нуклеотидных последовательностей с последовательностями, аннотированными в базах NCBI, показало, что данные последовательности действительно кодируют гипотетические АТФазы, относящиеся к семейству АТФаз Р-типа, и могут быть охарактеризованы как катион-транспортирующие АТФазы (без уточнения специфичности), Ca^{2+} - и Mg^{2+} -транспортирующие АТФазы или АТФазы, переносящие тяжелые металлы. Из всех найденных в исследуемом транскриптом гипотетических АТФаз две обнаружили большое сходство с АТФазами, функционирующими в плазматической мембране микроводорослей, относящихся к тому же роду *Dunaliella*. Одна из найденных гипотетических АТФаз, размером 923 а.о., проявила высокую степень сходства (93% идентичных аминокислотных остатков) с АТФазой Р-типа из плазматической мембраны галотолерантной микроводоросли *D. salina* (GenBank: ABB88698.1), а другая, размером 1131 а.о., - с АТФазой плазматической мембраны микроводоросли *D. bioculata* (GenBank: CAA52107.1) (97% идентичных аминокислотных остатков). Сходство обнаруженных в транскриптоме *D. tertiolecta* двух АТФаз между собой невелико (40% идентичных аминокислотных остатков), т.е. они не являются изоформами одного и того же фермента. Известно, что АТФаза микроводоросли *D. bioculata* является H^{+} -транспортирующей АТФазой, поскольку она охарактеризована на функциональном уровне [8]. Функция АТФазы морской микроводоросли *D. salina* не доказана. Можно предположить, что гипотетическая АТФаза *D. tertiolecta* размером 1131 а.о., которая демонстрирует идентичность с ферментом *D. bioculata*, является H^{+} -АТФазой. Другая гипотетическая АТФаза, размером 923 а.о., может быть Na^{+} -транспортирующей АТФазой, поскольку, как было сказано выше, в плазматической мембране родственного вида *D. maritima* функционируют как H^{+} -АТФаза, так и Na^{+} -АТФаза. Очевидно, что это предположение должно быть подтверждено дальнейшими исследованиями, основанными на идентификации и клонировании гена предполагаемой Na^{+} -транспортирующей АТФазы. Простое сравнение с помощью программ поиска BLAST транслированной аминокислотной последовательности этого фермента с другими известными Na^{+} -транспортирующими АТФазами из разных организмов (а также сравнение с H^{+} -АТФазами) не дает ясного ответа на вопрос о его ионной специфичности, поскольку сходство аминокислотной последовательности размером 923 а.о. как с Na^{+} - АТФазами, так и с H^{+} -АТФазами, составляет не более 40% идентичных аминокислотных остатков в обоих случаях.

Исследование поддержано грантом РФФИ № 13-04-01098.

Литература

1. H.Ristani-Yazdi, B.Z.Haznedaroglu, K.Bibby, J.Peccia. Transcriptome sequencing and annotation of the microalga *Dunaliella tertiolecta*: Pathway description and gene discovery for production of next-generation biofuels. // BMC Genomics, 2011. V.12:148.
2. Попова Л.Г., Шумкова Г.А., Андреев И.М., Балнокин Ю.В. Na⁺-зависимая электрогенная АТФаза плазматической мембраны галотолерантной микроводоросли *Dunaliella maritima*. // Докл. Акад. Наук. 2000. Т. 375: 544 – 548.
3. Popova L.G., Shumkova G.A., Andreev I.M., Balnokin Y.V. Functional identification of electrogenic Na⁺-translocating ATPase in the plasma membrane of the halotolerant microalga *Dunaliella maritima* // FEBS Letters. 2005. Vol. 579: 5002-5006.
4. Garciadeblas B., Benito B., Popova L., Balnokin Y., Rodriguez-Navarro A. Cloning of the ENA1 ATPase of *Tetraselmis viridis* // GenBank, Mar 2010, # FN691482
5. Uji T., Hirata R., Mikami K., Misuta H., Saga N. Molecular characterization and expression analysis of sodium pump genes in the marine red alga *Porphyra yezoensis*. // Mol. Biol. Rep. 2012. V. 39: 7973 – 7980.
6. Palmgren M.G. and Axelsen K.B. Evolution of P-type ATPases. // Biochim. Biophys. Acta, 1998. V.1365: 37-45.
7. Thever M.D., Milton H.S.Jr. Bioinformatic characterization of P-type ATPases encoded within the fully sequenced genomes of 26 eukaryotes. // J. Membrane Biol., 2009. V.229: 115-130.

ANALYSIS OF MARINE GREEN MICROALGA DUNALIELLA TERTIOLECTA TRANSCRIPTOME: THE NUCLEOTIDE SEQUENCES FOR P-TYPE ATPASES

Popova L.G., Belyaev D.V., Shuvalov A.V., Yurchenko A.A., Matalin D.A., Balnokin Y.V.

bioinformatics, transcriptome, marine microalgae, P-type ATPases, Dunaliella

Marine green microalga *Dunaliella tertiolecta* transcriptome annotated in NCBI was analyzed with the aim to ascertain p-type ATPases encoded within the alga genome. A number of nucleotide sequences encoding presumably the p-type ATPases were revealed. Ion specificity of the putative p-type ATPases is discussed with emphasis to Na⁺. The p-type Na⁺-transporting ATPase is assumed to function in the plasma membrane of *D.tertiolecta*.

УДК: 577.121, 57.04

ДИНАМИКА МЕТАБОЛОМА *CHLAMYDOMONAS REINHARDTII* В ХОДЕ РАЗВИТИЯ АВТОТРОФНОЙ КУЛЬТУРЫ

Пузанский Р.К., Шаварда А.Л., Шишова М.Ф.

ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет», Университетская наб.,
7-9, г. С.-Петербург, 199034, Россия, E-mail: puzansky@yandex.ru

Chlamydomonas, метаболомика, PCA, OPLS

Введение

Развитие культуры микроводорослей является прекрасной моделью для раскрытия механизмов фундаментальных биологических явлений, таких как регуляция пролиферации, метаболическая пластичность, изменение экспрессии генов и формирование адаптаций. Развитие клеточных культур можно подразделить на три этапа. Первый - лаг-фаза, в течение которой происходит адаптация к изменившимся условиям среды и подготовка к экспоненциальному росту (Rolfe et al., 2012). Фаза экспоненциального роста, в ходе которой клетки активно делятся и происходит накопление биомассы, сопровождается драматическими изменениями концентрации многих метаболитов. Во время стационарной фазы- наблюдается остановка пролиферации вследствие исчерпания ресурсов и накопления продуктов метаболизма. Тем не менее, целый ряд физиологических процессов принимает участие в поддержании жизнеспособности клеток в новых неблагоприятных условиях (Berlaa and Pakrasi, 2012). Таким образом, развитие культуры клеток представляет собой сложный многоступенчатый процесс, сопровождающийся значительными метаболическими перестройками, механизмы реализации которых остаются во многом не расшифрованными.

Зеленая водоросль *Chlamydomonas reinhardtii* используется как модельный одноклеточный фотосинтетический организм в широком спектре физиологических, генетических и биохимических исследований. Разработаны методы генетической трансформации хламидомонады, созданы ресурсные центры, содержащие данные о штаммах и протоколы методик, например www.Chlamy.org. В последние годы, благодаря сочетанию новейших физико-химических аналитических методов, стало возможным качественное и количественное описание совокупности содержащихся в объекте метаболитов (метаболомов). Такой подход получил название метаболомика и нашел применение при решении разнообразных биологических задач (Fiehn, 2002). Использование методов мультивариантной статистики позволяет сравнивать метаболомы, моделировать влияние факторов на метаболитные профили и идентифицировать биохимические маркеры состояния системы (Vylesjo et al., 2006).

Исследование сфокусировано на сравнительном анализе метаболома *Ch. reinhardtii* и активности фотосинтеза и дыхания на разных стадиях развития автотрофной культуры.

Материалы и методы

Характеристика культуры. Культура *Chl. reinhardtii* штамм cc-124 поддерживалась на жидкой среде ТМ, при постоянном освещении с интенсивностью 3000 люкс. Клеточную плотность определяли подсчетом числа клеток в камере Горяева. Интенсивность фотосинтеза определяли по выделению кислорода при освещении. Интенсивность дыхания - по потреблению кислорода в темноте. Концентрацию кислорода детектировали полярографическим методом с использованием электрода Кларка.

Метаболомный анализ. Культуру фиксировали охлаждённым в жидком азоте 70% раствором метанола. Метаболиты экстрагировали смесью, включающей метанол, хлороформ и воду в соотношении 10:3:1 (Bölling, Fiehn, 2005). Силилирования проводили смесью 98% BSTFA и 2% MSTFA. Для анализа использовали газовый хроматограф Agilent 5860. Разделение проводили на капиллярной колонке J&W DB-5HT. Регистрацию проводили с помощью масс-селективного детектора Agilent 5975C. Идентификация метаболитов осуществляли по масс-спектрам и индексам удерживания с применением программы AMDIS. Количественную оценку проводили по площадям пиков полного ионного тока методом внутреннего стандарта с помощью программы UniChrom. Статистическая обработка проводилась с использованием программ SPSS 20.0. и SIMCA-P + 13,0.

Результаты и обсуждение

Для раскрытия метаболических изменений, сопровождающих развитие клеточных культур *Ch. reinhardtii*, целесообразно оценить интенсивность протекания таких процессов как фотосинтез и дыхание, т.к. именно эти процессы обеспечивают клетку энергией и веществом. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что максимальная интенсивность дыхания и фотосинтеза в расчёте на клетку зарегистрированы в середине экспоненциальной фазы при значительном увеличении клеточной плотности (рис. 1).

Последующий метаболомный анализ позволил выявить на одной хроматограмме до 400 пиков, соответствующих отдельным химическим соединениям. При помощи доступных баз масс-спектрометрических данных нам удалось идентифицировать около 100 из них, в том числе

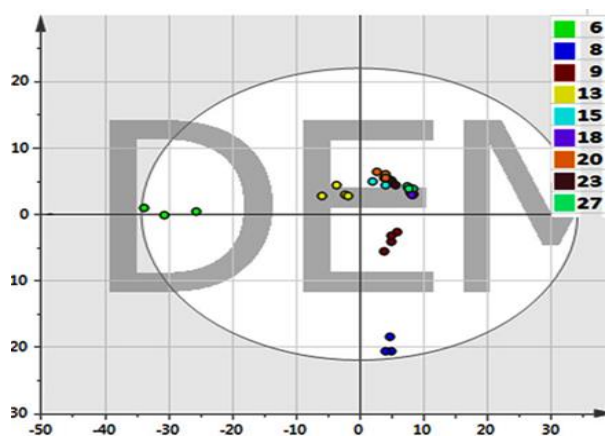


Рисунок 2 - График матрицы счетов, время развития культуры (сут.) обозначено различными цветами

Figure 2 - Graph of score matrix, time of development (days) of culture is indicated by different colors.

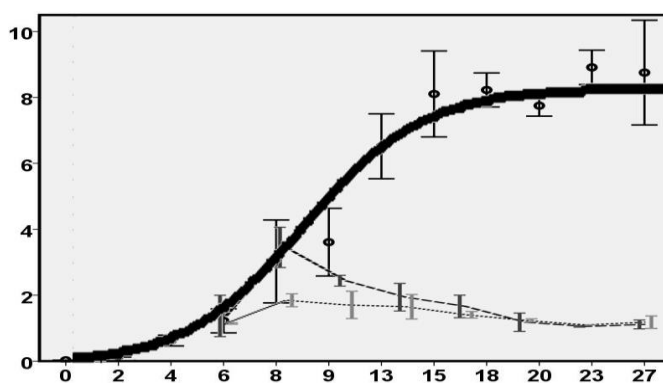


Рисунок 1 - Динамика клеточной (млн кл) плотности аппроксимированная уравнением $8,2/(1+10^{(1,71-0,174*x)})$ – сплошная линия; пунктир: длинный - клеточное дыхание, короткий – фотосинтез. Абсцисс - время, сут.. Интервалы – ст. откл.

Figure 1 - Dynamics of cell density approximated by equation $8,2/(1+10^{(1,71-0,174*x)})$ - solid line, the intensity of respiration - long dashed, photosynthesis - short dashed. Abscissa is time, days. Bars – st. dev.

карбоновые и жирные кислоты, сахара, аминокислоты, амиды и амины, спирты, терпены, фенольные соединения и др. Чтобы выявить структуру полученных данных мы провели анализ методом главных компонент (РСА). Полученная модель содержит 4 главные компоненты и объясняет 72% дисперсии. График матриц счетов, в пространстве первой и второй главных компонент, представленный на рисунке 2, показывает, что метаболиты клеток группируются согласно времени развития культуры. Это позволяет сделать вывод о существенной связи развития культуры и метаболома.

Для выяснения доли варибельности содержания метаболитов, связанной с развитием культуры, мы провели OPLS моделирование. Модель содержит одну предиктивную и 3 ортогональные компоненты и объясняет 72% вариации концентрации метаболитов. Предиктивная компонента, отражающая влияние времени развития культуры,

объясняет 18,9% дисперсии. Большая часть метаболитов обладает отрицательными факторными нагрузками, что соответствует снижению их содержания в клетках в процессе роста культуры.

Невысокая доля объясненной дисперсии объясняется тем, что метод OPLS основан на выявлении линейных зависимостей между предиктивной компонентой и концентрациями метаболитов и, следовательно, он дает хорошие результаты в случае динамики параметров близкой к линейной. Однако, согласно нашим данным, концентрации большинства метаболитов изменяются нелинейно. В связи с этим нами было проведено попарное сравнение метаболомов в 3х временных точках: начало и середина экспоненциального роста (модель 1) и середина экспоненциального роста и стационарная фаза (модель 2). Обе построенные OPLS модели включают помимо предиктивной одну ортогональную компоненту и объясняют около 73% дисперсии. При этом, в обоих случаях доля дисперсии концентрации метаболитов объясняемая предиктивной компонентой составляет приблизительно 61%, что свидетельствует о высоком влиянии фазы развития культуры на клеточный метаболом. Для модели 1 характерны отрицательные факторные нагрузки приблизительно для двух третей метаболитов, в том числе для большей части сахаров, ряда органических и жирных кислот; аминокислот и др. Положительными нагрузками обладают гексозы и олигосахариды, глицерин, глицерин-3-фосфат, аланин, этаноламин, путресцин, гидрохинон, а-токоферол, неофитадиен, пирагаллол и др. Модель 2 отличается меньшим числом метаболитов, концентрации которых обладают положительными факторными нагрузками. Среди них небольшое количество моносахаридов, неофитадиен, глиоксилат, глицин, валин и др.

Выводы

Культура *Ch. reinhardtii* демонстрирует нелинейный рост биомассы подчиняющийся логистической функции. Интенсивность дыхания, и фотосинтез в расчёте на клетку также изменяется нелинейно: растёт вначале фазы роста и снижается к началу стационарной фазы. Метаболиты клеток определяются временем развития культуры (доля дисперсии 61%).

Литература

1. Rolfe M.D., Rice C.J., Lucchini S., Pin C., Thompson A., Cameron A.D., Alston M., Stringer M.F., Betts R.P., Baranyi J., Peck M.W., Hinton J.C. Lag phase is a distinct growth phase that prepares bacteria for exponential growth and involves transient metal accumulation. // J Bacteriol. 2012 Feb;194(3), 686-701.
2. Berla V.M., Pakrasi H.B. Upregulation of plasmid genes during stationary phase in *Synechocystis* sp. strain PCC 6803, a cyanobacterium. // Appl Environ Microbiol. 2012 Aug;78(15), 5448-5451.
3. Fiehn O. Metabolomics--the link between genotypes and phenotypes. // Plant Mol Biol. 2002 Jan;48(1-2), 155-171.
4. Bylesjö M., Rantalainen M., Cloarec O., Nicholson J. K., Holmes E., Trygg J. OPLS discriminant analysis: combining the strengths of PLS-DA and SIMCA classification // Journal of Chemometrics 2006, 20, 341–351.
5. Boelling C., Fiehn O. Metabolite profiling of *Chlamydomonas reinhardtii* under nutrient deprivation // Plant Physiol. 2005, 139, 1995-2005.

THE DYNAMICS OF CHLAMYDOMONAS REINCHARDTII METABOLOME DURING AUTOTROPHIC CULTURING

Puzanskiy R.K., Shavarda A.L., Shishova M.F.

Chlamydomonas, metabolomics, PCA, OPLS

Ch. reinhardtii culture growth can be approximated by logistic equation. The maximum rate of respiration and photosynthesis is registered at the mid-exponential phase. GC-MS metabolomics study allows detection of 400 metabolites and identification of 100 substances. PCA analysis of the data shows a connection of the metabolite and time of culturing. OPLS modeling shows that the dispersion in metabolite concentrations is strongly related to the development of culture.

**ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ОТВЕТЫ *SOLANUM TUBEROSUM*
НА ДЕСТРУКЦИЮ ТУБУЛИНОВОГО ЦИТОСКЕЛЕТА**

Пузина Т.И., Власова Н.С., Макеева И.Ю.

ФГБОУ ВПО «Орловский государственный университет», ул. Комсомольская, 95,
г. Орел, 302016, Россия, E-mail: TИPuzina@gmail.com*микротрубочки, колхицин, водный обмен, дыхание, антиоксидант селен*

Исследование физиологической роли элементов цитоскелета в растительной клетке остается важным направлением в современной физиологии растений. Хорошо известны такие функции цитоскелета как каркасная, двигательная, сигнальная, а также участие в процессе полярности. В меньшей степени изучено участие элементов цитоскелета в регуляции хода и направленности физиологических процессов. Исследования по влиянию цитоскелета на водный обмен часто отрывочны, проведены в основном на корнях и при кратковременном действии деструкторов тубулинового и актинового цитоскелета [1]. Малочисленны данные по влиянию целостности цитоскелета на процесс дыхания [2].

Целью нашей работы было исследование влияния антимиотрубочкового агента колхицина на показатели водообмена и интенсивность процесса дыхания у *Solanum tuberosum*. Одновременно уделялось внимание изучению действия антиоксиданта селена в условиях деструкции микротрубочек.

Объектом исследования служили растения картофеля сорта Удача, выращенные в почвенной культуре в условиях вегетационного домика на агробиостанции. Варианты опыта включали: опрыскивание растений через 25 сут. после появления всходов 1 мМ раствором колхицина, а также совместными растворами 1 мМ колхицина + 5.8·10⁻³ мМ селенита натрия (содержащем 2.6·10⁻³ мМ селена). Контрольные растения опрыскивали водой. Физиолого-биохимические показатели определяли в листьях срединной формации через 10 сут. после обработки растений. Водоудерживающую способность листьев характеризовали по величине водоотдачи. Оводненность измеряли путем высушивания в термостате при 105°С. Об интенсивности дыхания судили по количеству выделяющегося СО₂ в приборах для наблюдения газообмена («Физприбор», Россия). Содержание общего белка и активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) определяли на мультикюветном спектрофотометре Clima MC-15 (Испания) реактивами фирмы BioSistem (Испания), используя руководство к применению реактивов данной фирмы: содержание белка определяли по его реакции с Cu²⁺ в щелочной среде при λ 545 нм с помощью биуретового реактива; об активности ЛДГ судили по скорости уменьшения оптической плотности НАДН, измеряемой при λ 340 нм. Биологическая повторность опытов – 5-кратная, аналитическая – 7-кратная.

Деструкция микротрубочек колхицином не повлияла на оводненность листьев (табл.1). Однако, через 7 сут. последствие колхицин в значительной степени (в 2 раза) повысил водоудерживающую способность листьев – важнейший интегральный показатель водообмена у растений. В исследованиях [4], проведенных на пшенице, показано, что действие оризалина – другого деполимеризатора тубулинового цитоскелета зависело от времени экспозиции. Кратковременная экспозиция (3 часа) уменьшала водоудерживающую способность, а более длительная (до 3-х сут.) – увеличивала. По мнению [3] последнее связано с закупоркой водных пор плазматической мембраны полимеризованным актиновым цитоскелетом в условиях стресса. Наши данные показывают, что уменьшение водоотдачи в условиях деструкции микротрубочек может быть связано со значительным увеличением содержания общего белка (почти в три раза). Как известно, водоудерживающая способность определяется, прежде всего, связыванием воды белком. Антиоксидант селен стабилизировал действие колхицина как на водоудерживающую способность листьев, так и содержание белка.

Таблица 1 - Влияние деструкции микротрубочек на показатели водообмена в листьях и содержание белка

Table 1 - Effect of degradation of microtubules on parameters of water exchange in leaves and protein content

Вариант	Оводненность, %	Водоудерживающая способность, % потери воды	Содержание белка, мг/г сырой массы
Контроль	88.7	4.40 ± 0.22	2.50 ± 0.08
Колхицин	88.3	2.21 ± 0.10	6.85 ± 0.21
Колхицин+селенит натрия	88.1	4.41 ± 0.20	2.15 ± 0.06

Нарушение целостности тубулинового цитоскелета привело к снижению интенсивности процесса дыхания на 27% против контроля (рис.а). В литературе имеются сведения, что цитоскелет влияет на протекание реакций гликолиза – анаэробной фазы дыхания [5]. Определение активности лактатдегидрогеназы (рис.б), восстанавливающей пируват до молочной кислоты, показало значительную активизацию ее работы (в 1.8 раза по сравнению с контролем). Это может указывать на нарушение последнего этапа гликолиза и, как следствие, активизацию процесса брожения в условиях распада микротрубочек. Селенит-йон в условиях деструкции микротрубочек уменьшал активность ЛДГ до контрольных показателей.

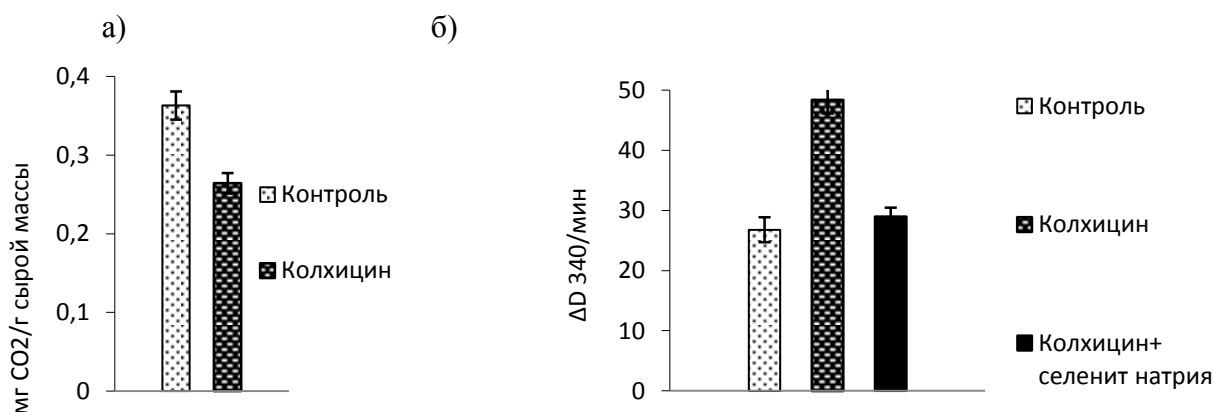


Рисунок 1 - Влияние деструкции микротрубочек на интенсивность дыхания листьев и активность лактатдегидрогеназы

а) интенсивность дыхания, б) активность лактатдегидрогеназы

Figure 1 - Effect of destruction of microtubules on the respiration rate of leaves and lactate dehydrogenase activity

а) the intensity of respiration, б) lactate dehydrogenase activity

Таким образом, нарушение целостности тубулинового цитоскелета приводит к уменьшению водоотдачи листьев, сдвигу анаэробной фазы дыхания в сторону брожения. Антиоксидант селен стабилизирует изученные процессы.

Литература

1. Веспер М.В., Бочкарева М.А., Хохлова Л.П. Цитоскелет и водный обмен растений // Ученые записки Казанского госуниверситета. Серия биологические науки. 2008. Т.150, Кн.2. С. 22-42.

2. Абдрахимова Й.Р., Абдрахимов Ф.А., Хохлова Л.П. Влияние оризалина на ультраструктурную организацию и дыхание корней разных сортов озимой пшеницы на фоне холодого закаливания // Физиология растений. 2006. Т. 53. № 2. С. 196-206.

3. Хохлова Л.П., Олиневич О.В., Макарова М.В. Морфофизиологические ответы растений на действие антимитотического препарата оризалина // Доклады РАН. 2003. Т.390. № 1. С. 122 – 126.
4. Collings D.A., Wasteneys G.O., Williamson R.E. Actin-microtubule interactions in the alga *Nitella*: analysis of the mechanism by which microtubule depolymerization potentiates cytochalasin's effect on streaming // *Protoplazma*. 1996. V.191. № 3-4. P. 178-190.
5. Masters C. Interactions between Glycolytic Enzymes and Components of the Cytomatrix // *J. Cell Biol.* 1984. V. 99. P. 222-225.

**PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL ANSWERS OF *SOLANUM TUBEROSUM*
FOR DESTRUCTION OF TUBULIN CYTOSKELETON**

Puzina T.I., Vlasova N.S., Makeeva I.Yu.

microtubules, colchicine, water metabolism, respiration, antioxidant selenium

Investigated the dependence of the water-holding capacity and the breathing process from integrity of tubulin cytoskeleton in *Solanum tuberosum*. Showed a decrease of water loss leaves influenced destructor microtubule colchicine in conditions of increase the protein content, decreased respiration rate under the revitalization of lactate dehydrogenase. Shows stabilization of processes of under the influence of the antioxidant selenium.

НОВОЕ СЕМЕЙСТВО ХАРПИНО-ПОДОБНЫХ ЗАЩИТНЫХ ПЕПТИДОВ СЕМЯН ЕЖОВНИКА (*ECHINOCHLOA CRUSGALLI* L.): СТРУКТУРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ОСОБЕННОСТИ БИОСИНТЕЗА

Рогожин Е.А., Рязанцев Д.Ю., Димитриева Т.В., Завриев С.К.

ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, ул. Миклухо-Маклая, 16/10, г. Москва, 117997, Россия,
E-mail: rea21@list.ru

харпино-подобные пептиды, иммунитет растений, Echinochloa crusgalli, семена, стрессовые факторы окружающей среды

Введение

Защитные пептиды являются одними из основных соединений, которые участвуют в иммунитете растений к стрессовым факторам окружающей среды. К таким молекулам относятся - ингибиторы протеаз и амилаз насекомых, пептиды, обладающие сигнальным действием, а также антимикробные пептиды (АМП) [1]. Ингибиторы гидролаз представляют собой обширную группу полипептидов растений, объединенных в несколько семейств на основании их структурных и функциональных особенностей [2]. АМП растений представляют собой короткие цистин-богатые молекулы, обладающие, как правило, суммарным положительным зарядом при физиологически значимых значениях рН, и амфифильностью структуры. Подавляющее большинство растительных АМП объединяют в несколько семейств на основании их сходств по первичным и пространственным структурам. К основным семействам АМП растений относятся: тионины, дефензины, липид-переносящие белки, гевеино- и ноттино-подобные пептиды, снакины и циклотиды. Данные пептиды обладают антимикробной активностью против ряда фитопатогенных микроорганизмов (грибов, оомицетов, бактерий) в микромолярном диапазоне концентраций в тестах *in vitro*. В последнее время активно исследуется новое семейство харпино-подобных защитных пептидов растений (α -харпининов), представители которого ранее были выделены и охарактеризованы. Для выделенных пептидов было показано наличие разнообразного спектра биологических активностей: антимикробной, рибосоминактивирующей, ингибирования трипсина. Для всех представителей данного семейства характерно наличие 4 остатков цистеина, образующих две внутримолекулярные дисульфидные связи, в строго консервативных положениях. Пространственные структуры харпино-подобных пептидов представляют собой две антипараллельные α -спирали, соединенные β -шпилькой.

Материалы и методы

Семена ежовника (*Echinochloa crusgalli* (L.) Beauv.) были собраны в Краснодарском крае 2004 году. В данной работе использовались следующие культуры фитопатогенных грибов - *Fusarium graminearum*, *Aspergillus niger*, *F. oxysporum* и *Bipolaris sorokiniana*. Выделение пептидов из семян ежовника проводили по методике, описанной в [3]. Семена измельчали до состояния муки, затем экстрагировали 10% уксусной кислотой в соотношении 1:10 (вес/объем) в течение 1 ч при комнатной температуре и интенсивном перемешивании. После центрифугирования отбирали супернатант, фильтровали через бумажный фильтр и упаривали. После этого к полученному раствору добавляли 7 объемов ацетона. Высаживание белков и пептидов проводили в течение ночи при 4 °С. Затем ацетон сливали, осадок высушивали на воздухе. Высушенный осадок перерастворяли в 0,1 % 0,1 % трифторуксусной кислоте (ТФУ) и обессоливали методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ-ВЭЖХ). Полученную обогащенную фракцию подупаривали и лифилизовали. Лиофилизованный тотальный экстракт растворяли в 10 мм трисНСl, рН 7.2 и разделяли методом аффинной хроматографии в ступенчатом градиенте NaCl (50, 100 и 500 мМ). Собранные фракции обессоливали методом ОФ-ВЭЖХ, затем подупаривали и лиофилизовали. Дальнейшее фракционирование проводили

по молекулярным массам путем гель-фильтрации. Заключительный этап выделения пептидов осуществляли ОФ-ВЭЖХ в линейном градиенте ацетонитрила в 0,1 % ТФУ.

Молекулярные массы пептидов измеряли на MALDI-времяпролетном масс-спектрометре Ultraflex («Bruker Daltonics», Германия), оснащенном УФ-лазером (337 нм) в режиме положительных ионов. Определение аминокислотной последовательности пептидов проводили методом ступенчатой деградации по Эдману на автоматическом секвенаторе белков и пептидов модели секвенаторе Procise 492 с идентификацией производных аминокислот на ФТГ-анализаторе модели 120A ("Applied Biosystems", США).

При тестировании антифунгальной активности эффект ингибирования определили визуально с использованием оптического микроскопа при 180-кратном увеличении по 10 полям зрения. В каждом поле зрения определяли: количество проросших спор относительно их общего числа. На основе полученных данных рассчитывали значения ингибирующей концентрации, вызывающей 50% эффект (ИК50). Выделение геномной ДНК из листьев ежевника проводили модифицированным методом СТАВ. Выделение тотальной РНК из корней, стеблей и листьев растений проводили с использованием реагента TRIZOL ("Invitrogen", США). Для выделения РНК из созревающих семян ежевника использовали набор RNeasy Plant Mini Kit ("Qiagen", США). Реакцию обратной транскрипции проводили с использованием набора RevertAid Premium First Strand cDNA Synthesis Kit ("Fermentas", Литва). Быструю амплификацию 3' концов мРНК (3' RACE) проводили с использованием набора реагентов КАРА 2G Robust ("Кара Biosystems", США). Полимеразную цепную реакцию проводили с использованием набора КАРА 2G Robust ("Кара Biosystems", США). Для амплификации использовали прямую и инвертированную гнездовую ПЦР. Для инвертированной ПЦР предварительно проводили рестрикцию геномной ДНК соответствующим ферментом по протоколу производителя, затем ДНК переосаждали и проводили реакцию лигирования. Выделение ПЦР-продуктов из агарозного геля проводили с использованием набора QIAEXII Gel Extraction Kit ("Qiagen", США), клонирование в вектор pTZ57 проводили с использованием набора Insta Clone PCR Cloning kit ("Fermentas", Литва) по протоколу производителя. Выделение плазмидной ДНК проводили с использованием набора GeneJet plasmid Miniprep Kit ("Fermentas", Литва).

Результаты и обсуждение

Белки и пептиды выделяли из измельченных семян ежевника кислотной экстракции с последующим высаживанием ацетоном и фракционированием различными методами жидкостной хроматографии. Первая стадия хроматографического разделения обессоленного тотального экстракта семян ежевника заключалась в его разделении методом аффинной хроматографии. После выхода с колонки всех несвязавшихся компонентов десорбцию белков и пептидов осуществляли ступенчатым градиентом повышения концентрации NaCl. В результате было собрано 2 фракции, элюировавшиеся 100 и 500 мМ NaCl соответственно. Далее 500 мМ фракция была разделена по молекулярным массам методом гель-хроматографии. В итоге было получено 4 фракции; масс-спектрометрический анализ показал преимущественное наличие компонентов с молекулярными массами в пептидном диапазоне во фракции 4, которая была рехроматографирована методом ОФ-ВЭЖХ с получением гомогенных компонентов. В результате масс-спектрометрического анализа выделенных компонентов в сочетании с определением числа дисульфидных мостов во фракции 4 после гель-хроматографии было обнаружено 3 полипептида, содержащих в своей структуре 4 остатка цистеина, названные EcAMP1, EcAMP2 и EcAMP3. Для структур пептидов показано наличие специфического расположения остатков цистеина в молекуле типа $X_nC1XXXC2X_nC3XXXC4X_n$ (X – любой а. о., n- любое число а. о.), который характерен для представителей семейства харпино-подобных защитных пептидов растений.

Тестирование антифунгальной активности пептидов EcAMP1-3 проводили на 4 видах фитопатогенных грибов. Диапазон тестируемых концентраций составил 1,0-32,0 мкМ. Показано, что пептид EcAMP2 не ингибировал прорастание конидий и рост мицелия ни одного из тестируемых видов грибов при концентрации менее 32 мкМ. В то же время EcAMP3 показал выраженный эффект ингибирования роста мицелия всех 4 видов грибов в диапазоне концентраций 5,5-22,4 мкМ. При этом данный пептид не оказал влияния на блокировку прорастания конидий.

Кроме того, не было отмечено наличие каких-либо морфологических изменений указанных видов грибов после инкубирования с EcAMP3.

Методами прямой и инвертированной ПЦР получены 33 клон фрагментов генов, кодирующих белок-предшественник АМП из ежовника: серия клонов С2-7, покрывающая 78% последовательности гена, серии С1-2, С2-6 и С1-30, 65 и 27%, соответственно. Полученные последовательности в каждой серии были идентичны на 97-100%. Полученные из ежовника гены гомологичны последовательностям нуклеотидов в GenBank NCBI: из кукурузы (95% идентичных оснований), сорго (98%) и риса (88%). Функциональность данных генов подтверждается их высокой гомологией (80-91% по базе данных NCBI) с EST последовательностями из проса и кукурузы. Транскрипты данных генов в листьях, корнях и стеблях растений ежовника на разных стадиях онтогенеза не обнаружены. Следует отметить, что нам также не удалось обнаружить транскрипты, кодирующие харпино-подобные пептиды ежовника, из семян.

По установленным фрагментам гена была предсказана N-концевая аминокислотная последовательность предшественника пептидов EcAMP1-EcAMP3 протяженностью около 360 а. к. о., которая включает семь цистеиновых мотивов, характерных для харпино-подобных пептидов. С помощью программы MEMSTAT для полученной последовательности предсказано наличие сигнального пептида, обеспечивающего транспорт предшественника в эндоплазматический ретикулум, а также небольшого гидрофобного участка. Таким образом, на основе множественного выравнивания была восстановлена полноразмерная структура гена, кодирующего предшественник харпино-подобных АМП семян ежовника.

Литература

1. Bahyrycz A, Konopińska D. Plant signalling peptides: some recent developments // J. Pept. Sci, 2007, V. 13 (12), P. 787-797.
2. Mosolov V.V., Valueva T.A. Proteinase inhibitors and their function in plants: a review // Prikl. Biokhim. Mikrobiol., 2005, V. 41 (3), P. 261-282.
3. Odintsova T.I., Rogozhin E.A., Baranov Yu.V., Musolyamov A.Kh., Yalpani N., Egorov Ts.A., Grishin E.V. Seed defensins of barnyard grass *Echinochloa crusgalli* (L.) Beauv. // Biochimie, 2008, V. 90 (11-12), P. 1667-1673.

A NOVEL FAMILY OF HAIRPIN-LIKE DEFENSE PEPTIDES FROM BARNYARD GRASS (*ECHINOCHLOA CRUSGALLI* L.) SEEDS: STRUCTURAL CHARACTERISATION AND FEATURES OF BIOSYNTHESIS

Rogozhin E.A., Ryazantsev D.Yu., Dimitrieva T.V., Zavriev S.K.

hairpin-like peptides, plant immunity, Echinochloa crusgalli, seeds, environmental stress factors.

Novel plant hairpin-like defense polypeptides named EcAMP1, EcAMP2 and EcAMP3 were isolated from latent barnyard grass (*Echinochloa crusgalli* L.) seeds. These peptides display strong antifungal activity *in vitro*. The gene family encoding EcAMPs precursor protein was also characterized; the genes and pseudogenes of this family show 97-100% homology. Obtained results can explain the nature of the complex resistance of barnyard grass to a variety of pathogenic microorganisms.

ОСОБЕННОСТИ ВОДНОГО РЕЖИМА *BETULA PENDULA* ROTH С НОРМАЛЬНОЙ И АНОМАЛЬНОЙ ДРЕВЕСИНОЙ СТВОЛА В СУТОЧНОЙ И СЕЗОННОЙ ДИНАМИКЕ

Сазонова Т.А., Тихова Г.П., Придача В.Б.

ФГБУН Институт леса КарНЦ РАН, ул. Пушкинская, 11, г. Петрозаводск, 185910, Россия,
E-mail: alt86@rambler.ru*Betula pendula* var. *pendula*, *Betula pendula* var. *carelica*, показатели водного режима, суточная, сезонная динамика**Введение**

Одним из важных процессов жизнедеятельности растительного организма является его водный обмен. Исследованиям по экофизиологии водного режима различных видов растений уделяется большое внимание. Наряду с этим недостаточно изученными являются механизмы регуляции водного обмена на уровне целого растения при изменяющихся факторах внешней среды. Одним из путей его изучения являются исследования взаимосвязей между показателями водного режима у различных видов растений в широком диапазоне внешних условий [1]. Особый интерес в этом плане представляют растения березы повислой, особенностью которой является способность образовывать две формы: обычной березы повислой (*Betula pendula* Roth) и карельской березы (*Betula pendula* var. *carelica*). Для карельской березы отмечают аномальное строение проводящих тканей осевых органов, что проявляется в свилеватости структурных элементов древесины, значительном уменьшении числа сосудов, увеличении количества клеток запасающей паренхимы [2]. Вопрос о роли воздействия факторов среды на формирование узорчатой древесины карельской березы широко обсуждается в литературе [2, 3, 4, 5 и др.]. В этом контексте изменения структурной организации тканей ствола, вероятно, должны влиять на обменные процессы, в частности, водный режим деревьев. Данное предположение требует дополнительных исследований комплекса параметров водообмена деревьев березы повислой с разной степенью выраженности признака узорчатости древесины.

Материалы и методы

Исследования проводили на экспериментальных участках Института леса Карельского научного центра РАН на территории Агробиологической станции в окрестностях г. Петрозаводска (южная Карелия, N 61045', E 34020'). Объектами исследования служили 3-7-летние саженцы обычной березы повислой (*Betula pendula* var. *pendula*) с прямослойной древесиной и карельской березы (*Betula pendula* var. *carelica*) с узорчатой древесиной, произрастающие в одинаковых почвенно-климатических условиях. Полевые исследования суточной динамики показателей водного обмена проводили с июня по сентябрь в соответствии с фенологическим развитием деревьев рода *Betula*. Интенсивность транспирации (E) листьев определяли с помощью портативной газометрической системы LI-COR 6400XTP (LI-COR Inc., США). В работе использовали стандартную листовую камеру и камеру с источником света LI-COR 6400-02B LED (LI-COR Inc., США). Метеорологические параметры регистрировали с помощью системы LI-COR 6400XT (LI-COR Inc., США). Водный потенциал облиственных побегов (WP) определяли с помощью камеры давления Plant Moisture Vessel SKPM 1400 (Skye Instruments Ltd., Великобритания). Содержание воды в свежей навеске листьев (WC_f), дефицит водного насыщения (WSD) и насыщающее содержание воды (WC_s) в листе рассчитывали по формулам $WC_f = W_f - W_d / W_d$ (гводы г-1 сух.массы), $WSD = w_s - w_f / w_s - w_d$ (%), $WC_s = W_s - W_f / W_d$ (гводы г-1 сух.массы), где w_f и w_d – свежая и сухая масса листьев, w_s – масса листьев при насыщении. Статистическую обработку результатов измерений проводили методами дисперсионного анализа, косинор-анализа и корреляционного анализа. Уровень значимости для принятия гипотезы о статистически достоверном отличии от нуля полученных значений коэффициентов корреляции был принят 0.05.

Результаты и обсуждение

В результате дисперсионного и косинор-анализа были выделены суточная и сезонная компоненты исследованных показателей водного режима. Они носили сходный характер у растений карельской березы и обычной березы повислой. Сопоставление двух форм березы по WSD и WCs показало увеличение различий по этим показателям с усилением водного дефицита в растениях. Отмеченная особенность наблюдалась как в суточной, так и сезонной динамике: в послеполуденные часы и в конце вегетационного периода значения WSD и WCs были ниже в листьях карельской березы по сравнению с березой повислой. Этот факт, вероятно, можно объяснить наличием у растений карельской березы дополнительного «источника воды» в паренхиме коры. Анализ интенсивности E листа в сезонной динамике выявил более высокие среднесуточные значения для березы повислой по сравнению с карельской березой, что свидетельствует о более экономном расходовании влаги карельской березой по сравнению с березой повислой, обусловленном внутривидовыми особенностями структуры как ассимиляционного аппарата, так и проводящих тканей ствола дерева. Сравнение двух форм березы по WP облиственных побегов не выявило значимых различий, но показало устойчивую тенденцию их более низких величин у побегов карельской березы, что, вероятно, может быть связано с большим вкладом осмотической составляющей в общий водный потенциал по сравнению с обычной березой повислой. При этом показано увеличение степени различий показателей водного обмена исследуемых форм берез с усилением выраженности узорчатой текстуры древесины ствола в онтогенезе.

Дальнейший анализ результатов, связанный с расчетом кросскорреляционных матриц между полученными в ходе косинор-анализа амплитудами центрированных суточных колебаний и среднесуточными значениями показателей водного режима двух форм березы, также позволил выявить некоторые внутривидовые различия. Так, для растений карельской березы были получены высокие по модулю коэффициенты корреляции между среднесуточным значением водного потенциала (Mean_WP) и среднесуточными значениями содержания воды в листе (Mean_WCF), насыщающего содержания воды (Mean_WCS) и водного дефицита (Mean_WSD), которые составили 0.74, -0.58 и -0.70 соответственно. Также была выявлена взаимозависимость амплитуды центрированного суточного ритма водного потенциала (A_WP) со среднесуточными значениями Mean_WCF, Mean_WCS и Mean_WSD, с коэффициентами корреляции -0.70, 0.60 и 0.70 соответственно. Для растений обычной березы повислой также были получены высокие по модулю коэффициенты корреляции, однако структура парных линейных связей между показателями была несколько иной. Была выявлена взаимосвязь Mean_WP с Mean_WCF и Mean_WSD, а также A_WP с Mean_WCS и Mean_WSD, с коэффициентами корреляции, соответственно, 0.79, -0.60 и 0.57, 0.56. Однако следует отметить, что коэффициенты корреляции, рассчитанные между одинаковыми параметрами растений карельской березы и березы повислой статистически значимо отличные от нуля, находятся в пределах статистической ошибки, т.е. их различие между формами березы статистически незначимо.

При этом была установлена особая роль WP облиственных побегов в регуляции водного обмена у двух форм растений березы. Так, WP побегов карельской березы является центральным звеном, которое раздельно управляет изменениями двух компонентов всех показателей водного режима: среднесуточным уровнем и амплитудой суточного ритма. Каждый тренд распадается на две автономные составляющие, которые не имеют между собой статистически значимых линейных связей ни внутри одного показателя, ни с каким-либо компонентом другого. В этой связи, WP облиственных побегов можно считать определяющим и доминирующим показателем водного режима карельской березы. Напротив, при анализе WP побегов обычной березы повислой выявлены множественные взаимозависимости между различными показателями, помимо WP побегов, и их трендовыми компонентами (среднесуточные значения и амплитуды суточных ритмов), которые определяют сложную сеть взаимных влияний и не позволяют установить доминирующую роль WP побегов в формировании водного режима растения. Для объяснения полученного результата необходима информация о вкладе каждой составляющей в об-

щий водный потенциал. В частности нужны данные об осмотическом потенциале, что является предметом наших дальнейших исследований.

Заключение

Таким образом, сравнительный анализ показателей водного обмена двух форм *Betula pendula* во временной динамике (сезонной и суточной) выявил однонаправленность изменений исследуемых показателей при разной их вариабельности. При этом была показана разная значимость WP облиственных побегов в регуляции водного обмена карельской березы и обычной березы повислой.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 13-04-00827-а).

Литература

1. Шереметьев С.Н. Травы на градиенте влажности почвы (водный обмен и структурно-функциональная организация). М., 2005. 271 с.
2. Новицкая Л.Л. Карельская береза: механизмы роста и развития структурных аномалий. Петрозаводск, 2008. 144 с.
3. Ермаков В.И. Механизмы адаптации березы к условиям Севера. Л., 1986. 144 с.
4. Евдокимов А.П. Биология и культура карельской березы. Л., 1989. 226 с.
5. Ветчинникова Л.В. Береза: вопросы изменчивости (морфофизиологические и биохимические аспекты). М., 2004. 183 с.

FEATURES OF THE WATER REGIME IN BETULA PENDULA ROTH AT NORMAL AND ABNORMAL DEVELOPMENT OF TRUNK TISSUES IN DAILY AND SEASONAL DYNAMICS

Sazonova T.A., Tikhova G.P., Pridacha V.B.

Betula pendula var. pendula, Betula pendula var. carelica, parameters of the water regime, daily and seasonal dynamics

Parameters of the water regime were investigated in common silver birch (*Betula pendula var. pendula*) and curly (Karelian) birch (*Betula pendula var. carelica*) at normal and abnormal development of trunk tissues in the middle taiga subzone. Daily and seasonal patterns of the water regime variables were found to be similar in the two birch forms. The sensitivity of the parameters to intraspecific features of the water regime of the birch plants differed. Probable causes of the distinctions are discussed.

УДК: 635.64:631.527.8(476)

ДИАГНОСТИКА УСТОЙЧИВОСТИ ВНУТРИВИДОВЫХ ГИБРИДОВ ТОМАТА ПО ПРИЗНАКАМ МУЖСКОГО ГАМЕТОФИТА

Салтанович Т.И.

Институт генетики, физиологии и защиты растений НАН Молдовы, ул. Пэдурий, 20,
г. Кишинев, MD-2002, Молдова, E-mail: tatianasalt@mail.ru

томаты, пыльца, мужской гаметофит, устойчивость, осмотический стресс, повышенная температура, водный дефицит, оценка, селекция

Введение

Успешная реализация современных селекционных программ в значительной степени определяется качеством исходного материала и эффективностью методов его оценки и отбора. При этом селекция на устойчивость к неблагоприятным условиям среды требует постоянной работы над поиском новых устойчивых генотипов, и закрепления генов устойчивости в генотипе сорта или гибрида. Существует мнение, что одной из сложнейших проблем при изучении устойчивости растений является совокупное действие стрессоров [2]. В связи с этим важно изучить комплексную реакцию растений на одновременное действие нескольких факторов, что особенно актуально для селекционной практики и понимания механизмов регуляции продуктивности растений. В таких неблагоприятных условиях возможность предварительной оценки жизнеспособности пыльцы представляет значительный интерес в плане характеристики чувствительности к тому или иному фактору самой репродуктивной системы растения [4]. На гаметофитном уровне возникают новые дополнительные возможности, позволяющие выделять и отбирать перспективные генотипы с дифференцированными реакциями на одинаковые условия внешней среды. В литературе имеется информация, подтверждающая результативность диагностики устойчивости и отбора выделенных генотипов в мужском гаметофитном поколении, а также о возможности практического использования полученных результатов в селекционных программах. В этих работах представлены результаты исследований по пыльцевой селекции на различных культурах, базирующиеся на идентичности реакций гаметофита и спорофита при действии внешних факторов, таких, как температура, засоление, засуха, тяжелые металлы, гербициды и др. [1, 3, 5, 8, 6]. Все эти сведения подтверждают возможность экспериментального использования варибельности признаков мужского гаметофита в селекционных программах. В тоже время сведений о реакции мужского гаметофита на совместное действие факторов в литературе недостаточно. В связи с этим цель проведенных исследований состояла в изучении совместного влияния повышенной температуры и недостатка влаги на характеристики мужского гаметофита для диагностики засухоустойчивости внутривидовых гибридов томата.

Материалы и методы

Для проведения экспериментов нами использован набор внутривидовых гибридных комбинаций F3 томата. Растения выращивали в полевых условиях по общепринятой методике до стадии цветения, собирали полностью раскрытые цветки и выделяли пыльцу, которую помещали в термостаты с температурными режимами 26 (контроль) и 40⁰С (опыт) на 2 и 4 часа; затем проводили посев пыльцы на 2 варианта искусственных питательных сред: контрольный и опытный, который имитировал условия засухи и содержал селективную концентрацию сахарозы. Анализировали препараты под микроскопом, определяли по каждому генотипу в контроле и опыте жизнеспособность пыльцы по соотношению проросших ко всем подсчитанным пыльцевым зернам в процентах, а также измеряли длину пыльцевых трубок (ПТ). На основании полученных результатов вычисляли а) устойчивость пыльцы, как соотношение показателей жизнеспособности в опыте к контролю в процентах; б) устойчивость ПТ, как соотношение средней длины ПТ в опыте к контролю в процентах. Параллельно в полевых условиях проводили фенологические наблюдения и регистрировали значения некоторых элементов продуктивности. Статистическую обработку полученных результатов проводили методами многофакторного дис-

персионного и корреляционного анализов с использованием пакетов программ STATGRAF v.5.1. и Excel 2010.

Результаты и обсуждение

Известно, фенотипическое проявление генов устойчивости обнаруживается исключительно в стрессовых ситуациях. Следовательно, с помощью искусственного моделирования стрессов возможно проявление активности этих генов. Изучена реакция мужского гаметофита внутривидовых гибридных комбинаций F3 томата в условиях созданной системы комплексных селективных фонов, сочетающих действие повышенной температуры и недостатка влаги. Установлено, что стрессовое воздействие на пыльцу приводит к изменчивости значений анализируемых показателей в сторону их уменьшения на 16-20% в зависимости от генотипа. При этом доля жизнеспособной пыльцы в составе изучаемой популяции была достоверно зависима от действия 4 источников изменчивости: генотип, температура, экспозиция, недостаток влаги, а также комплекса их различных взаимодействий. Основной вклад (50,4...61%) в вариабельности жизнеспособности и устойчивости гаметофита принадлежит температурному фактору, доля влияния водного дефицита была значительно ниже и составляла (7,3%).

Таблица 1 - Основные источники изменчивости признаков мужского гаметофита
Table 1 - The main sources of variability of characteristic of male gametophyte

Признаки	Источники изменчивости (%)			
	генотип	температура	недостаток влаги	взаимодействие факторов
Жизнеспособность пыльцы	1,0	50,4	39,6	9,0
Устойчивость пыльцы	2,8	61,1	7,3	28,7
Длина пыльцевых трубок	0,7	20,5	70,4	9,0

Сила совместного действия температуры и водного дефицита была на уровне 68% - т.е. это главные компоненты спектра вариабельности и признаков гаметофита. Таким образом, генетическая разнокачественность пыльцевых зерен по способности к прорастанию в растворах осмотика служит показателем их реакции на совместное действие повышенной температуры и недостатка влаги. Водный дефицит стабильно в течение 3-х лет был решающим фактором (70%) изменчивости длины и устойчивости ПТ. Примерно 36,4% изученных генотипов обнаружили уровень термоустойчивости (57,3...76,1%); по среднему значению признаков и их дисперсии выделились гибриды F3 NotaxNistru; SolearisxNistru și Rio GrandexNistru, у которых доля влияния температурного фактора в общей изменчивости не превышала 25,2%. Более 60% гибридов были устойчивыми к водному дефициту, вклад которого варьировал от 1, 5 до 36,8%. Устойчивостью к этому фактору характеризовались гибридные комбинации F3 SolearisxNota; NotaxSolearis; Rio GrandexNistru. Следует выделить гибрид F3 Rio GrandexNistru, мужской гаметофит которого был в равной степени термоустойчив (45,3%) и устойчив к недостатку влаги (46,7%). По результатам анализа в полевых условиях таких элементов продуктивности как число кистей и плодов на растении, а также процент завязываемости плодов выделены гибриды SolearisxBuran, Rio GrandexBuran și Rio GrandexNistru. В составе этих популяций 47,1-60,0% растений обнаружили значения этих признаков выше, чем средний показатель по популяции. Проведенный корреляционный анализ выявил достоверные положительные соотношения между жизнеспособностью пыльцы и ее устойчивостью в условиях засухи ($r=0,76^{***}$); устойчивостью пыльцы и длиной ПТ на температурном фоне ($r=0,64^{**}$) и длиной ПТ и их устойчивостью при засухе ($r=0,92^{***}$). Такие результаты, по нашему мнению, показывают, что эти показатели могут контролировать общие или взаимосвязанные генетические системы.

Следовательно, на основе полученных результатов показано, что проведенная оценка позволили изучить и выявить гибриды с различным уровнем жизнеспособности и устойчивости мужского гаметофита в условиях повышенной температуры и недостатка влаги.

Способность генотипов реализовать высокие значения показателей гаметофита в условиях стресса может служить показателем устойчивости генотипов к совместному действию повышенной температуры и недостатка влаги.

Литература

1. Бухарова А., Бухаров А. Элементы гаметной и зиготной селекции в практике работ по отдаленной гибридизации томата и перца. //Материалы научно-практической конференции «Перспективы развития садоводства и овощеводства на Южном Урале», г. Уфа .2005. с.101-104.
2. Кошкин Е. И. Физиология устойчивости сельскохозяйственных культур. М. : Дрофа, 2010. 638 с.
3. Пинчук Е.В. Исходный материал для селекции томата с комплексной устойчивостью к абиотическим и биотическим стрессам Нечерноземной зоны. Автореферат диссертации на соискание ученой степени канд.биол.наук. 2006. М. 24 стр.
4. Цаценко Л.В. Пыльцевой анализ в селекции растений. Научный журнал Куб.ГАУ, №77(03). 2012.с.1-11.
5. Юрлова Е.В. Оценка томатов на устойчивость к нерегулируемым абиотическим факторам. Сиб. Вестник с-х. наук. 2006. №2. С.27-36.
6. Georgios C. Koubouris, Ioannis T. Metzidakis and Miltiadis D. Vasilakakis Impact of temperature on olive (*Olea europaea* L.) pollen performance in relation to relative humidity and genotype. Environmental and Experimental Botany Volume 67, Issue 1, November 2009, P. 209-214
7. Humaira G., Rafik Ahmad Влияние солености на жизнеспособности пыльцы РАЗЛИЧНЫХ Effect of salinity on pollen viability of different *Brassica napus* L. cv. в зеркале canola (*Brassica napus*) cultivars as reflected Формирование плодов и семян by the formation of fruits and seeds HUMAIRA Гюль и Рафик Ахмад Pak. J. Bot., 38 (2): 237-247, 2006. J. Bot ., 38(2): 237-247, 2006.

DIAGNOSIS OF STABILITY OF THE TOMATOES INTRASPECIFIC HYBRIDS BY FEATURED OF MALE GAMETOPHYTE

Saltanovici T.I.

tomato, pollen, male gametophyte, resistance, osmotic stress, high temperatures, estimation, , genotype, selection

Influence of the abiotic factors on the variability of the male gametophyte traits of the intraspecific hybrids F3 has been studied. As a result, the main factors and the patterns of the traits variability were detected. It was shown that the temperature and the osmotic stress have the main role in variability of the analyzed parameters. The studied tomato genotypes differ by their reaction on the stress action.

СКРИНИНГ СОЛЕУСТОЙЧИВЫХ ОБРАЗЦОВ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ НА СТАДИИ ПРОРОСТКОВ В ЛАБОРАТОРНЫХ И ПОЛЕВЫХ УСЛОВИЯХ

Седловский А.И.¹, Тюпина Л.Н.¹, Кохметова А.М.¹, Булатова К.М.², Алшоразова И.П.³,
Тэженова А.И.¹, Маденова А.К.¹

¹Институт биологии и биотехнологии МОН РК, Алматы, Казахстан, E-mail: gen_sai@mail.ru

²Казахский научно-исследовательский Институт земледелия, им. В.Р.Вильмса,
пос. Алмалыбак, Казахстан

³Красноводопадская сельскохозяйственная опытная станция, Казахстан

пшеница, селекция, солеустойчивость, экологическое испытание

Введение

Большая часть территории Казахстана относится к зоне рискованного земледелия. По данным Агентства Республики Казахстан по управлению земельными ресурсами засоленные и солонцовые земли составляют 94,9 млн. га – 42,1% (<http://www.eco.gov.kz>). В Приаралье, Прикаспии и Прибалхашье наблюдается интенсивное засоление, что приводит к увеличению площади солончаковых пустынь в бессточных бассейнах и вторичному засолению орошаемых земель. В связи с этим перед агропромышленным комплексом страны стоит задача повышения урожайности зерновых культур и введения в культурное земледелие солеустойчивых форм пшеницы как главной продовольственной культуры. Создание солеустойчивых сортов пшеницы с использованием достижений современной биологической науки имеет большое значение для развития сельского хозяйства на засоленных почвах [1, 2]. Необходимы критерии и методы ранней диагностики и отбора солеустойчивых генотипов. Известно, что все ростовые стадии развития растений чувствительны к засолению, у большинства видов растений наиболее чувствительна стадия проростков, позволяющая оценивать большое количество образцов, выделить наиболее устойчивые к засолению и рекомендовать их для использования в селекции [3, 4, 5]. Засоление почвы проявляется в задерживании набухания семян и роста корневой системы у проростков вследствие накопления солей в клетках, что замедляет синтез белков [6]. Почвенное засоление отрицательно влияет на развитие зародыша. Исследование показали, что при содержании хлора в почве 0,01 % энергия прорастания семян снижается на 5-10%, при 0.02-0.04% на 40-50%, выше 0.1% - семена вообще не прорастают [7].

Кроме того первостепенную роль в повышении устойчивости растений к последовательному воздействию факторов стресса ряд ученых отводит повышению содержания пролина и активности пероксидазы, что способствует повышению адаптации растительной клетки к абиотическим стрессам в том числе к засолению [8, 9].

Материалы и методы

Скрининг солеустойчивых образцов озимой пшеницы проведен на перспективных образцах озимой пшеницы, находящихся на заключительных этапах селекционного процесса в селекционных питомниках КП, ПСИ, КСИ и коллекции образцов ICARDA.

В своей работе мы использовали разработки ВИРа по оценке солеустойчивости образцов – метод оценки энергии прорастания и определения процента всхожести семян при солевом стрессе на растворах солей NaCl и Na₂SO₄ [10]. Содержание пролина и активность пероксидазы проводили на десятидневных проростках выращенных на 0,8% растворе соли NaCl, а контроль на отстоянной воде.

Оценку всхожести семян и оценку перспективных образцов проводили в полевых условиях на участках с повышенным содержанием соли в условиях Кызылорды и в условиях Макта-Аральского района Южно-Казахстанской области.

Результаты и их обсуждение

В результате проведенных исследований отмечена зависимость энергии прорастания и всхожести семян от концентрации солей, что свидетельствует о степени солеустойчивости пер-

спективных образцов. На растворах соли наклевание семян начинается позже, чем на контроле и отстает, тем сильнее, чем выше концентрация раствора. Наибольшее подавление ростовых процессов отмечено на хлоридном типе засоления. У некоторых образцов прорастание наблюдается лишь у части семян, по-видимому, у более солеустойчивых генотипов. Остальные семена остаются в наклюнувшемся состоянии, что объясняется внутрисортовой неоднородностью растений по уровню солеустойчивости и появляется возможность отобрать более устойчивые генотипы. При увеличении концентрации раствора до 2% наблюдается резкое снижение энергии прорастания, однако у солеустойчивых образцов процент проросших зерен превысил 80%.

Изучение содержания свободного пролина и активности пероксидазы в вегетативных органах у десятидневных проростков у контрастных по солеустойчивости генотипов озимой пшеницы позволило дифференцировать испытываемые образцы по уровню устойчивости к засолению так как основная их роль заключается в защите растительных клеток от воздействия стресса путем поддержания осмотического баланса, стабилизируя структуру ключевых белков и защиту структуры и функции макромолекул тем самым осуществляя «помощь» растениям при адаптации к стрессу.

В результате определения содержания свободного пролина в вегетативных органах у контрастных по солеустойчивости генотипов озимой пшеницы выделено 8 образцов: 179 – Navruz, 30 – 10AYTIR-56, 342 – Navruz-2, 265 – 10AYTIR-60, 6966H1, 283 – 10UZMLY23, 392 – Алмалы х ГФ70/2, 412 – Наз х Обрий. Наибольшей активностью пероксидазы у озимой пшеницы обладали 9 образцов: 185 – Muskvich, 63 – 10AYTIR-46, 264 – 169/2004, 265 – 10AYTIR-60, 6868H2, 6966H1, 368 – Алмалы х Обрий-2, 412 – Наз х Обрий-1, 278 – Алмалы х Красноводопадская-25.

В лабораторных условиях определение солеустойчивых образцов с использованием энергии прорастания, всхожести, определение свободного пролина и активности пероксидазы, определение всхожести в условиях повышенного содержания солей на полевых участках в Кызылорде выделены образцы: 179 – Navruz, 30 – 10AYTIR-56, 342 – Navruz-2, 6966H1, 412 – Наз х Обрий, 392 – Алмалы х ГФ70/2.

Заключение

В результате проведенных исследований установлено, что в условиях солевого стресса имеют место межсортовые и внутрисортовые различия. Экспериментально показано, что отбор перспективных солеустойчивых образцов с использованием лабораторных методов определения энергии прорастания, всхожести, определение содержания свободного пролина и активности пероксидазы, их оценка на засоленных почвах в полевых условиях позволяют достигать в течение короткого времени положительных результатов и создавать солеустойчивые образцы и сорта пшеницы.

Литература

1. Cramer G.R., Quarrie S.A. Abscisic acid is correlated with the leaf growth limitation of four genotypes differing in their response to salinity // *Functional Biology*. – 2002. – Vol. 29. – P. 111-115.
2. Sharma Ram C, Ogbonnaya F.C., Ziyadullaev Z., Djumaniyazova Y., Sidikov S., Alshoroz A., Khalikulov Z., Yuldashev T., Keser M., Morgunov A., Baum M. Improved winter and fakcultative wheat germplasm for medium saline soils in Central // *The 12th international wheat Genetics Symposium*. Pacifico Yokohama, Japan. September 8-14. – 2013. – S. 106.
3. Удовенко Г.В., Синельникова В.Н., Давыдова Г.В. Оценка засухоустойчивости полевых культур. // В кн.: *Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям (методическое руководство)*. – Л., – 1988. – С. 10-46.
4. Munns R., Husain S., Rivelli AR., James RA., Condon AG., Lindsay MP, Lagudah ES., Schachtman DP., Hare RA. Avenues for increasing salt tolerance of crops, and the role of physiologically based selection traits // *Plant Soil*. – 2002. – Vol. 247. – P. 93-105.
5. Терлецкая Н.В. Неспецифические реакции зерновых злаков на абиотические стрессы *in vivo* и *in vitro*. – Алматы, 2012. – 206 с.
6. Варасова Н.Н., Шустова А.П. Физиология растений. – Л. – «Колос». – 1969. – С. 224.

7. Арипов Н., Кушиев Х.Х., Кулиев Т.Х., Парода Р., Джумаханов Б. Полевая всхожесть семян озимых сортов пшеницы в условиях почвенного засоления/Тезисы стендовых докладов.2-я Центрально-Азиатская конференция по зерновым культурам. – 2006. – Кыргызская Республика. – С. 11-12.

8. Шевякова Н.И., Стеценко Л.А., Мещеряков А.Б., Кузнецов В.В. Изменение активности пероксидазной системы в процессе стресс-индуцированного формирования САМ // Физиология растений. Т.49. №5. – 2002. – С.670-677

9. Бояркин А.Н. Быстрый метод определения активности пероксидазы // Биохимия. – 1951. – Т. 16. – С. 352-357.

10. Удовенко Г.В. Солеустойчивость растений. – Л., – 1977.

SCREENING OF SALT RESISTANT SAMPLES OF WINTER WHEAT AT STAGE OF SPROUTS IN LABORATORY AND FIELD CONDITIONS

Sedlovsky A.I., Tyupina L.N., Kokhmetova A.M., Bylatova K.M., Alchorazova I.P., Tazhenova A.I., Madenova A.K.

wheat, breeding, salt resistance, ecological test

Experimentally shown that the selection of advanced salt-tolerant samples using laboratory methods for determining the energy of germination, germination, determination content of free proline, activity of peroxidase and evaluation on saline soils under field conditions allow achieve in a short time to obtain positive results and salt-resistant varieties of wheat.

ИНТЕНСИВНОСТЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА И РАБОТА АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ У ТЕПЛОЛЮБИВЫХ И ХОЛОДОУСТОЙЧИВЫХ РАСТЕНИЙ

Селиванов А.А., Антипина О.В., Попов В.Н., Мошков И.Е.

ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая 35,
г. Москва, 127276, Россия, E-mail: aselivanov123@yandex.ru

Nicotiana tabacum, *Arabidopsis thaliana*, адаптация, окислительный стресс

Введение

Одним из основных абиотических факторов окружающей среды, оказывающих разрушительное воздействие на растительный организм, является гипотермия. Воздействие пониженных температур влияет на продуктивность сельскохозяйственных культур не только в средних широтах, но даже в субтропических и тропических районах, поэтому изучение физиологических механизмов, с помощью которых растения могут переносить охлаждение, остается неизменно актуальным.

Пониженная температура вызывает серьезные изменения в жизнедеятельности растительной клетки, приводящие сначала к её повреждению, а затем, возможно, и к гибели. Однако, процесс адаптации (закаливания), т.е. воздействия на растительный организм низких положительных температур, не приводящих к гибели объекта, позволяет повысить устойчивость растений к гипотермии. При действии пониженных температур на растения можно выделить несколько повреждающих факторов, существенных для групп растений, различающихся по устойчивости к гипотермии – образование межклеточного льда и обезвоживание, изменение текучести клеточных мембран, окислительный стресс [1]. В данной работе центром внимания является развитие окислительного стресса, вызванного образованием активных форм кислорода (АФК) – основной причины гибели теплолюбивых растений [2]. Известно, что начальным звеном в образовании различных видов АФК служит супероксидный анион-радикал ($O_2^{\bullet-}$), а одним из ключевых ферментов антиоксидантной защиты является супероксид дисмутаза (СОД), нейтрализующая его с образованием перекиси водорода, которая, в свою очередь, разлагается при участии каталазы и различных видов пероксидаз.

Целью нашей работы является изучение особенностей образования АФК, в частности супероксидного анион-радикала и работы СОД при формировании устойчивости к гипотермии у видов растений, различающихся по отношению к низким температурам. В качестве модельных объектов мы использовали теплолюбивый вид *Nicotiana tabacum* L. и известное холодоустойчивое растение *Arabidopsis thaliana* Heynh. (L.).

Материалы и методы

Объекты исследования культивировали в камерах фитотрона ИФР РАН при температуре 22°C. Использовали растения табака, выращенные на минеральном субстрате (перлите) в течение 6 недель и растения арабидопсиса, выращенные в почве в течение 6-7 недель до фазы сформированной розетки листьев. Закаливание проводили 6 сут. при 8°C для *N. tabacum* и 5 сут. при 2°C для *A. thaliana*. Контрольные растения не подвергались холодовой экспозиции. Продолжительность и температура закаливания были подобраны в предварительных экспериментах, об эффективности адаптации судили по повышению устойчивости объектов к прямому промораживанию и данным по выходу электролитов из тканей растений.

Скорость генерации супероксид-аниона определяли методом, основанным на способности этого радикала восстанавливать адреналин в адренохром [3]. Активность СОД определяли при помощи метода, основанного на способности фермента конкурировать с нитросиним тетразолием за супероксидные радикалы [4].

Результаты и обсуждение

Согласно полученным данным, закаливание сопровождалось снижением скорости генерации супероксид-аниона в надземной части как растений табака с $0,9 A480 \times 10^{-3}$ до $0,5 A480 \times 10^{-3}$, так и растений арабидопсиса с $4,5 A480 \times 10^{-3}$ до $3,1 A480 \times 10^{-3}$. Причем изменение скорости генерации в рас-

тениях табака происходило более интенсивно, скорость генерации снижалась на 43%, тогда как в растениях арабидопсиса снижение составляло 32%. Возможно, это связано с тем, что арабидопсис, – представитель холодоустойчивых растений – обладает конститутивной устойчивостью к гипотермии.

Установлено, что во время холодовой экспозиции изменения активности СОД у растений табака и арабидопсиса имели разнонаправленный характер. Так, уровень активности СОД возрастал у табака к концу периода адаптации почти на 40%, а растений арабидопсиса, напротив, наблюдается явная тенденция к снижению уровня активности этого фермента практически на 43%.

Образование кислородных радикалов, а также некоторых других форм АФК можно представить как последовательные этапы одноэлектронного восстановления молекулярного кислорода до воды. Известно, что супероксидный радикал является первичным продуктом восстановления кислорода [5]. СОД снижает генерацию ($O_2^{\bullet-}$), играя тем самым ключевую роль в антиоксидантной защите при действии различных стрессоров, в том числе и при низких температурах. На примере теплолюбивого растения табака нами показано, что в растениях за время закаливания происходит снижение скорости генерации ($O_2^{\bullet-}$) и повышение активности СОД. Активация АОС, которая начинается с увеличения активности СОД, является одной из частей многокомпонентной системы адаптации этих растений к низким температурам. Теплолюбивые растения сильно повреждаются при развитии в них окислительных процессов, вплоть до их гибели. Поэтому значительное повышение активности СОД в растениях табака говорит о важной роли этого фермента в защите теплолюбивых растений от окислительного стресса при гипотермии [6]. В растениях арабидопсиса снижение скорости генерации супероксидного радикала сопровождается снижением активности фермента СОД. Это может свидетельствовать о том, что холодоустойчивые растения не испытывают окислительного стресса при гипотермии и формирование устойчивости к низким температурам реализуют не за счет активации АОС, а за счет других механизмов защиты, которые нуждаются в дополнительных исследованиях.

Литература

1. Трунова Т.И. Растение и низкотемпературный стресс. 64-е Тимирязевское чтение. М.: Наука. 2007. 54 с.
2. Полесская О.Г. Растительная клетка и активные формы кислорода. М.2007. 140 с.
3. Часов А.В., Гордон Л.Х., Колесников О.П., Минибаева Ф.В. Пероксидаза клеточной поверхности – генератор супероксид-аниона в корневых клетках пшеницы при раневом стрессе // Цитология. 2002. 44 (7). 691-696.
4. Kumar C.N., Knowles N. Changes in lipid peroxidation and lipolytic and free-radical scavenging enzyme during aging and sprouting of potato (*Solanum tuberosum* L.) // Seed-Tuber. Plant Physiol. 1993. 102. 115-124.
5. Kawano T. Role of reactive oxygen species-generating peroxidase reactions in plant defense and growth induction. // Plant cell Rep. 2003. 21, 829-837.
6. В.Н.Попов, О.В.Антипина Роль супероксиддисмутазы в устойчивости растений табака к гипотермии. // Материалы IX Международной научно-методической конференции. Интродукция нетрадиционных и редких растений. 2010, 156-160.

OXIDATIVE STRESS INTENSION AND ANTIOXIDANT-SYSTEM WORK OF HEAT-LOVING AND COLD-RESISTANT PLANTS

Selivanov A.A., Antipina O.V., Popov V.N., Moshkov I.E.

Nicotiana tabacum, *Arabidopsis thaliana*, adaptation, oxidative stress

We studied oxidative stress generation in *Nicotiana tabacum* and *Arabidopsis thaliana* plants in the course of cold adaptation. Data obtained suggested that superoxide-anion generation rate decreased during adaptation. Activity level of superoxide dismutase showed the contrary trend; i.e. we observed increase in SOD activity level in *A. thaliana* but decrease in the enzyme activity in *N. tabacum*. This shows that the plants used in the present study differ in adaptation mechanisms to hypothermia.

ВОДНАЯ ПРОНИЦАЕМОСТЬ МЕМБРАН КЛЕТОК СТЕБЛЯ В УСЛОВИЯХ ИЗМЕНЕНИЯ ДАВЛЕНИЯ В СОСУДАХ КСИЛЕМЫ

Сибгатуллин Т.А.

ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, ул. Лобачевского 2/31,
а/я 30, г. Казань, 420111, Россия, E-mail: timsdance@mail.ru

транспорт воды в растениях, газовая эмболия, проницаемость биологических мембран, аквапорины

Введение

В соответствии с теорией когезии-натяжения вода транспортируется от корней к листьям по ксилеме как непрерывный столб жидкости под действием отрицательного давления (натяжения). В таких условиях вода находится в жидкой фазе при давлении ниже, чем давление насыщенных паров воды, то есть в метастабильном состоянии [1]. В таком состоянии увеличение отрицательности давления в проводящей системе (например, при засухе) может привести к кавитации [2]. Сосуд заполняется парами воды. В дальнейшем, такой сосуд может заполняться воздухом в результате проникновения растворенных газов из окружающей сосуд жидкости. В результате возникает газовая эмболия, которая приводит к уменьшению интенсивности транспорта воды в растении.

Известно, что растения способны заполнять сосуды, подвергшиеся эмболии, при отсутствии корневого давления и продолжая поддерживать значительное отрицательное давление в окружающих сосудах, не затронутых эмболией [3, 4]. Считается, что для этого сосуд, подвергшийся эмболии, должен быть гидравлически изолирован на время заполнения от остальной проводящей системы (модель локального заполнения). Но сам механизм локального заполнения на данный момент не выяснен и активно обсуждается в литературе. Предполагается, что ключевую роль в этом процессе могут играть клетки ксилемной паренхимы.

Многообразие методов ЯМР, имеющих для неинвазивного исследования процессов переноса воды [5, 6], позволяет предложить новые оригинальные подходы к решению задачи о выявлении механизмов локального заполнения сосудов растений при газовой эмболии. В связи с этим представляет интерес исследовать изменение проницаемости мембран клеток ксилемной паренхимы в условиях, повторяющих газовую эмболию (например, «отключение» транспирации при отсутствии корневого давления).

Материалы и методы

Исследования проводились на сегменте стебля взрослого растения томата. Нижний торец сегмента сразу после срезания изолировался садовым варом. Верхний торец с помощью силиконового переходника и вакуумного шланга подсоединялся к вакуумной камере. При этом силиконовый переходник был на 0,5 см наполнен водой для предотвращения подсыхания стебля. Из вакуумной камеры воздух откачивался вакуумным насосом. Таким образом, на концах сегмента стебля создавалась разность давления в диапазоне до 1 атм. Давление в камере регистрировалось манометром.

Скорость трансмембранного переноса воды в клетках стебля регистрировалась на основе ЯМР-релаксометрии. Измерялось время поперечной релаксации намагниченности протонов воды T_2 с импульсной последовательностью Карра-Парсела-Мейбума-Гилла (КПМГ).

В вакуолизованных растительных клетках время продольной релаксации протонов воды в вакуоли определяется скоростью обмена с другими компартментами, характеризующимися более короткими временами релаксации, и вероятностью потерять намагниченность при выходе из вакуоли. Скорость обмена определяется размерами вакуоли и проницаемостью мембраны.

Таким образом, наблюдаемое время релаксации намагниченности воды в вакуоли T_2^{app} можно записать [7]

$$\frac{1}{T_2^{app}} = H(3/R) + \frac{1}{T_2^{bulk}}, \quad (1)$$

где, T_2^{bulk} – время продольной релаксации протонов чистой воды; H – мощность стока намагниченности в соседние компартменты клетки, которая пропорциональна проницаемости мембраны P ($H \propto P$); R – радиус вакуоли. В результате, чем меньше время релаксации T_2^{app} относительно T_2^{bulk} при постоянном размере клетки, тем больше проницаемость мембран растительной клетки.

Интенсивность суммарного межклеточного радиального переноса воды регистрировалась на основе ЯМР-диффузометрии с использованием импульсной последовательности стимулированное эхо при временах диффузии 0,3 и 1,0 с. Измерения проводились на низкопольном ЯМР-спектрометре «Spin Track» 19 МГц (Resonance Systems, Йошкар-Ола, Россия) с блоком импульсного градиента магнитного поля.

Результаты и обсуждение

Затухание намагниченности протонов воды в клетках стебля томата описывалось тремя компонентами, из которых компонента с наибольшим временем релаксации соответствует воде в вакуолях крупных клеток и частично воде в крупных сосудах. При создании на верхнем торце стебля отрицательного давления (-0,8 атм) наблюдается увеличение времен продольной релаксации намагниченности протонов воды крупных клеток (рис.1).

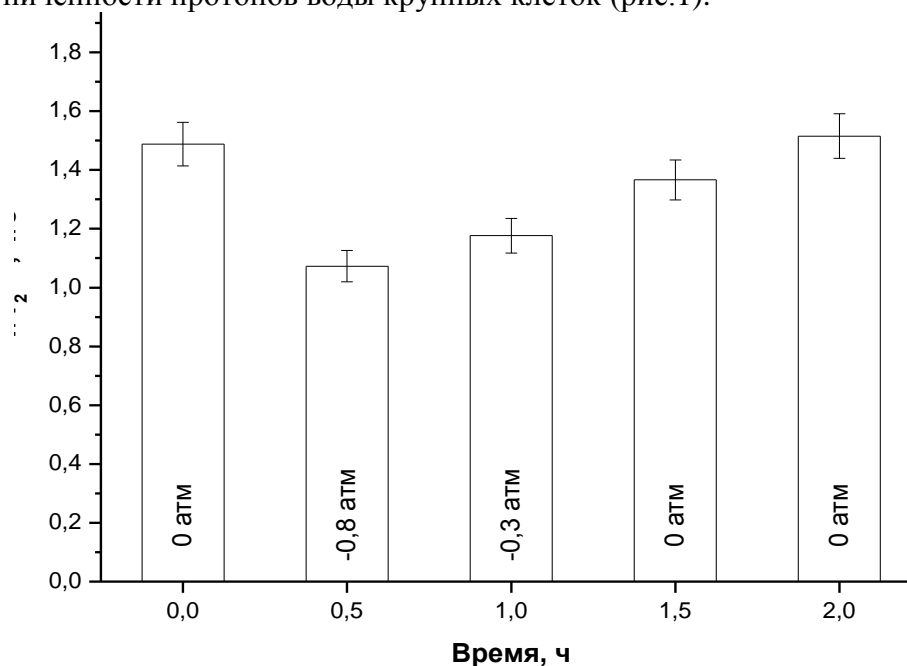


Рисунок 1 - Скорость поперечной релаксации намагниченности протонов воды при изменении разницы давлений между верхним и нижним торцами сегмента стебля томата

Figure 1 - Transverse relaxation rate of water protons magnetization at various pressure differences between the upper and lower edges of segment of tomato stem

Учитывая Ур. 1, эти изменения соответствуют уменьшению проницаемости мембран клеток ксилемной паренхимы. При плавном повышении давления в сегменте стебля происходит уменьшение времен релаксации (соответственно, увеличение проницаемости мембран). При снятии внешнего давления (нулевая разность давлений на торцах сегмента стебля) время релаксации возвращается к своему исходному значению.

Одновременно с этим по данным ЯМР-диффузометрии в пределах погрешности эксперимента не было обнаружено существенного изменения суммарного радиального переноса воды в клетках стебля.

Заключение

Обнаружено увеличение скорости трансмембранного переноса воды в клетках стебля при повышении давления в сосудах ксилемы. Таким образом, мембраны клеток ксилемной паренхимы могут контролировать и активно регулировать скорость заполнения эмболизированных сосудов в стебле растения.

Работа поддержана грантом РФФИ № 14-04-31606.

Литература

1. Steudle E. The cohesion-tension mechanism and the acquisition of water by plant roots // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 2001. – Vol. 52. – P. 847-875.
2. Sperry J.S., Sullivan J.E.M. Xylem embolism in response to freeze-thaw cycles and water stress in ringporous, diffuse-porous, and conifer species // *Plant Physiol.* – 1992. – Vol. 100. – P. 605-613.
3. Stiller V., Sperry J.S., Lafitte H.R. Embolized conduits of rice (*Oryza sativa* L., Poaceae) re-fill despite negative xylem pressure // *Am. J. Bot.* – 2005. – Vol. 92. – P. 1970-1974.
4. Nardini A., Ramani M., Gortan E., Salleo S., Vein recovery from embolism occurs under negative pressure in leaves of sunflower (*Helianthus annuus*) // *Physiol. Plant.* – 2008. – Vol. 133. – P. 755-764.
5. Van As H. Intact plant MRI for the study of cell water relations, membrane permeability, cell-tocell and long distance water transport // *J. Exp. Bot.* – 2007. – Vol. 58. – P. 743-756.
6. Van As H, van Duynhoven J. MRI of plants and foods // *J. Magn. Reson.* – 2013. – Vol. 229. – P. 25-34.
7. van der Weerd L., Claessens M.M.A.E., Efde C., Van As H. Nuclear Magnetic Resonance imaging of membrane permeability changes in plants during osmotic stress // *Plant Cell Environ.* – 2002. – Vol. 25. – P. 1538-1549.

WATER PERMEABILITY OF MEMBRANES OF XYLEM PARENCHYMA CELLS AT CONDITIONS OF PRESSURE CHANGES IN XYLEM VESSELS

Sibgatullin T.A.

water transport in plants, gas embolism, permeability of biological membranes, aquaporins

On the bases of NMR-relaxometry the dependence of water permeability of xylem parenchyma cells membranes on the value of the negative pressure in the vessels of tomato stem was observed. The observed increase of permeability at lowering the negativity of pressure in the vessels can facilitate the refilling of the vessels gas embolism.

**СОДЕРЖАНИЕ И СОСТАВ НЕЙТРАЛЬНЫХ АЦИЛГЛИЦЕРИНОВ
ЖИРНЫХ КИСЛОТ В ПЛОДАХ БЕРЕСКЛЕТОВ**

Сидоров Р.А., Жуков А.В., Пчёлкин В.П., Верещагин А.Г., Цыдендамбаев В.Д.

ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая 35,
г. Москва, 127276, Россия, E-mail: vdt@ippras.ru*Euonymus* sp., плоды, семена, ариллусы, жирные кислоты, биосинтез

Род Бересклет (*Euonymus* L.) составляют кустарниковые или древесные растения. Этот род, самый многочисленный в сем. Celastraceae, распространён главным образом в Северном полушарии Земли [1]. В него включают до 220 видов [2], которые подразделяют на два подрода – *Euonymus* и *Kalonymus* – и ряд секций. Наибольшее число видов *Euonymus* встречается в Азии (115 видов, ~88,5%). В плодах бересклетов уже давно было найдено непищевое жирное масло [1], накапливающееся не только в семенах, но и в присемянниках (ариллусах) плодов, т.е. виды рода *Euonymus* принадлежат к группе растений с сочными маслячными внесеменными частями плода [3], которые накапливают масло не только в высыхающих при созревании семенах, но и в водонасыщенных внесеменных частях плода (мезокарпе, гипантии, присемяннике и т.д.), обладающих только материнским генотипом. При этом оказалось, что данные части плода резко различаются между собой по составу жирного масла.

В семенах изученных ранее видов бересклетов резервные нейтральные ацилглицерины (НАГ) жирных кислот (ЖК) масла лишь на 2–15% состояли из 1,2,3-триацил-*sn*-глицеринов (ТАГ) обычного состава, свойственных почти всем органам запаса растений, в том числе – и маслячным плодам, а на 80–98% – из необычных, оптически активных 3-ацетил-1,2-диацил-*sn*-глицеринов (ацДАГ). В НАГ ариллусов содержались преимущественно ТАГ, наряду с которыми в небольшом количестве присутствовали и ацДАГ [3, 5, 6]. Сейчас ацДАГ рассматривают как перспективное сырьё для биодизельного топлива, ибо по вязкости они на 30% уступают обычным ТАГ [5]; ацДАГ могут служить альтернативой пищевым жирам в диетическом питании, так как их калорийность значительно ниже, чем у ТАГ обычного состава. Начаты исследования известных под маркой SALATRIM® синтетических ацДАГ, где две оксигруппы глицерина этерифицированы высшими ЖК, а одна – остатком C2-C4-ЖК [7]. АцДАГ из семян растений являются природным аналогом препарата SALATRIM®, но в настоящее время информация о ЖК-составе растительных ацДАГ и об их количественном содержании в разных частях плода практически отсутствует. К настоящему времени изучен ЖК-состав резервных ТАГ и ацДАГ семян и ариллусов всего лишь нескольких видов бересклетов [3, 8]. Между тем известно, что многочисленные представители различных систематических подразделений этого рода резко отличаются друг от друга по морфологии и окраске своих плодов и семян [1, 9]. Поэтому представляло интерес установить особенности этого состава, а также абсолютное содержание этих классов НАГ в семенах и присемянниках зрелых плодов наиболее распространённых в средней полосе РФ видов бересклетов.

Материалы и методы

Зрелые плоды бересклетов (*E. bungeanus*, *E. europaeus*, *E. hamiltonianus*, *E. phellomanus*, *E. semiexsertus*, *E. sieboldianus*, *E. alatus*, *E. sacrosanctus*, *E. pauciflorus*, *E. verrucosus*, *E. latifolius*, *E. macropterus*, *E. maximoviczianus* и *E. sachalinensis*), принадлежащих к четырем секциям двух подродов рода *Euonymus* L., собирали в 2010–2011 гг. в дендрарии Главного ботанического сада имени Н.В. Цицина РАН [3]. Для выделения суммы липидов зрелые плоды, разделяли на семена и ариллусы, быстро взвешивали и фиксировали в кипящей воде в течение 1 мин. Выделенные семена промывали очищенным хлороформом и хранили при –20°C. Ариллусы объединяли с промывной жидкостью и растирали с водой; сумму липидов экстрагировали из гомогената очищенным хлороформом. Растворитель отгоняли, остаток растворяли в бензоле и хранили при –20°C. Сырые семена обрабатывали аналогично. После отгонки бензола липиды растворяли в н-

гексане и отдельные классы НАГ выделяли с помощью хроматографии на колонке с нейтральной окисью алюминия и препаративной ТСХ на силикагеле [8]. Массу этерифицированных ЖК в каждом классе НАГ устанавливали путем количественной ГЖХ метиловых эфиров ЖК с использованием метода внутреннего стандарта [10]. Состав ЖК в препаратах ТАГ и в sn-1,2-положениях ацДАГ определяли методом ГЖХ-МС [8]; абсолютное содержание этих классов НАГ в семенах и ариллусах и индекс ненасыщенности (ИН) смесей ЖК вычисляли как описано ранее [4].

Результаты и обсуждение

Полученные данные позволяют заключить, что семена превосходили ариллусы по абсолютному и относительному содержанию сухой массы в среднем в ~3 и ~2 раза, соответственно. Отдельные виды бересклетов, как правило, значительно различались между собой по величине этих параметров; в то же время, все эти виды были сходны друг с другом по концентрации сухой массы в семенах. Уровень НАГ в присемянниках в % на сухую массу был в среднем вдвое выше, чем в семенах (23.6 и 11.3 %). Однако в расчёте на одну часть плода соотношение между этими частями было обратным – 2.6 и 3.3 мг, соответственно. При использовании обоих этих методов расчёта доля ТАГ в семенах составила 4–5%, а в ариллусах – ~98% от суммы НАГ. По данным работы [6], концентрация ТАГ и ацДАГ в семенах *E. alatus* была равна 3.3 и 91.7% от суммы липидов, а в присемянниках – 91.2 и 0.5%, соответственно. Таким образом, в плодах бересклета обычный состав НАГ – преимущественное содержание ТАГ – наблюдался в присемянниках, обладающих только материнским генотипом, тогда как в семенах, включающих гены обоих родителей, присутствовали почти исключительно ацДАГ, сравнительно мало распространённые в растениях. В наших опытах ТАГ в том или ином количестве присутствовали в обеих частях плода у всех исследованных видов. В то же время, ацДАГ всегда обнаруживались только в семенах, тогда как в ариллусах их содержание было крайне незначительным, а у четырёх видов, принадлежащих к подроду *Euonymus*, они почти или полностью отсутствовали. Возможно, что эти отличия были связаны с пониженной активностью биосинтеза ацДАГ в ариллусах. Следует отметить и другие различия между отдельными видами по их способности к образованию НАГ: сильно уменьшенный уровень ТАГ в семенах *E. sachalinensis* и ариллусах *E. verrucosus*, а также повышенное абсолютное содержание ацДАГ в семенах *E. latifolius*.

В НАГ плодов мы обнаружили 14 видов ЖК, среди которых всегда преобладали линолевая, олеиновая, пальмитиновая и α -линоленовая кислоты. Для установления наиболее общих закономерностей количественного распределения главных ЖК в НАГ семян и ариллусов мы вычислили средние арифметические величины их концентраций в сумме НАГ, сумме ТАГ и сумме ацДАГ для всех 14 видов бересклета. Оказалось, что в НАГ семян олеиновая кислота значительно превосходила по содержанию линолевою, а в НАГ ариллусов между уровнями этих ЖК наблюдалось обратное соотношение. В результате, НАГ семян характеризовались более низкими величинами ИН. ТАГ семян и ариллусов незначительно различались между собой по ИН (1.074 и 1.051, соотв.), несмотря на существование резких отличий между этими органами по количественному содержанию ТАГ (см. выше). Кроме того, для НАГ семян, по сравнению с НАГ ариллусов, были в целом свойственны более высокие концентрации стеариновой и линоленовой кислот и более низкие концентрации пальмитата.

Во всех пробах НАГ, за исключением НАГ семян *E. hamiltonianus*, ТАГ, в той или иной степени, уступали ацДАГ по величине ИН (0,912-1,186 и 0,951-1,320, соотв.). По-видимому, это различие вызывалось, прежде всего, тем, что молекула ТАГ содержит два положения остатка глицерина (sn-1 и sn-3), включающие преимущественно более насыщенные высшие ЖК, тогда как в ацДАГ имеется только одно такое положение (sn-1) [5, 6]. Обнаруженное различие было гораздо сильнее выражено в ариллусах, где средние величины ИН в ТАГ и ацДАГ составляли 1.051 и 1.357, чем в семенах (1.074 и 1.180, соответственно); в данном случае оно было связано с тем, что у ариллусов уровень линолеата в ацДАГ был намного выше, чем в ацДАГ семян. В обеих этих частях плода ТАГ очень часто заметно превосходили ацДАГ по содержанию насыщенных ЖК и уступали им по уровню ненасыщенных. При исследовании распределения олеиновой и линолевой кислот в НАГ ариллусов было обнаружено, что сумма видов секций

Euonymus и *Melanocarya* намного уступала по уровню олеата в сумме НАГ (13,7%) сумме видов секций *Pseudovuenotus* и *Kalonymus* (34,5%) при средней величине для всей совокупности 14 видов, равной 21.5%. Для линолеата значения этих концентраций составили 47,6, 26,3 и 39,6%, соответственно. Таким образом, отдельные секции рода *Euonymus* L. могли резко различаться между собой по содержанию индивидуальных видов ненасыщенных ЖК. Виды секции *Euonymus* резко отличались от всех остальных исследованных видов увеличенной концентрацией в их НАГ необычных Δ^9 -гексадеценовой и цис-вакценовой кислот. В семенах этот признак состава проявлялся главным образом в ТАГ, а в ариллусах, где он выражался более интенсивно, наблюдался как в ТАГ, так и в ацДАГ, причем цис-вакценовая кислота обычно превосходила по содержанию Δ^9 -гексадеценовую.

Литература

1. Blakelock R.A. 1951. A Synopsis of the Genus *Euonymus* L. Kew Bull. 2, P.210–290.
2. Zhu J.-X., Qin J.-J., Chang R.-J., Zeng Q., Cheng X.-R., Zhang F., Jin H.-Z., Zhang W.-D. Chemical Constituents of Plants from the Genus *Euonymus*//Chemistry&Biodiversity. 2012. V.9. P.1055–1076.
3. Сидоров Р.А., Трусов Н.А., Цыдендамбаев В.Д. Анатомическое строение семян и при-семянников бересклета Максимовича (*Euonymus maximowiczianus*) и состав их жирных масел//Древесные растения: фундаментальные и прикладные исследования, 2011: 1. Сборник ГБС РАН. С.108–114.
4. Бережная Г.А., Озерина О.В., Елисеев И.П., Цыдендамбаев В.Д., Верещагин А.Г. Динамика абсолютного содержания и жирнокислотного состава ацилсодержащих липидов в созревающих плодах облепихи//Физиология растений. 1992. Т.39. С.1187–1196.
5. Kleiman R., Miller R.W., Earle F.R., Wolff I.A. (S)-1,2-Diacyl-3-Acetins: Optically Active Triglycerides from *Euonymus verrucosus* Seed Oil//Lipids. 1967. V.2. P.473–478.
6. Durrett T.P., McCloskey D.D., Tumaney A.W., Elzinga D.A., Ohlrogge J., Pollard M. A Distinct DGAT with sn-3 Acetyltransferase Activity That Synthesizes Unusual, Reduced-Viscosity Oils in *Euonymus* and Transgenic Seeds//Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2010. V.107. P.9464–9469.
7. Smith R.E., Finley J.W., Leveille G.A. Overview of SALATRIM, a Family of Low-Calorie Fats//J. Agric. Food Chem. 1994. V.42. P.432–434.
8. Сидоров Р.А., Жуков А.В., Верещагин А.Г., Цыдендамбаев В.Д. Низшие алкиловые эфиры жирных кислот из плодов бересклета//Физиология растений. 2012. Т.59. С.362–368.
9. Леонова Т.Г. 1974. Бересклеты СССР и сопредельных стран. Ленинград. Наука. 132 с.
10. Озерина О.В., Цыдендамбаев В.Д. Влияние предпосевного γ -облучения семян облепихи на содержание и жирнокислотный состав суммарных липидов в семенах первого поколения растений//Физиология растений. 2011. Т.58. С.302–307.

CONTENT AND FATTY ACID COMPOSITION OF NEUTRAL ACYLGLYCEROLS IN EUONYMUS FRUITS

Sidorov R.A., Zhukov A.V., Pchelkin V.P., Vereshchagin A.G., Tsydendambaev V.D.

Euonymus species, fruits. Seeds, arils, fatty acids, biosynthesis

The content and fatty acid composition of neutral acylglycerols (NAGs), a mixture of 1,2,3-triacyl-sn-glycerols and 3-acetyl-1,2-diacyl-sn-glycerols, were determined in the seeds and arils of fruits of 14 *Euonymus* L. species. NAGs of separate taxonomic units differed from each other in the concentration of hexa- and octadecenoic fatty acid positional isomers. The proportions of 1,2,3-triacyl-sn-glycerols in the NAGs of seeds and arils were 4–5% and ~98%, respectively.

ВЛИЯНИЕ ВЫСОКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ И НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ПЕРЕМЕННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В ХЛОРОПЛАСТАХ ГОРОХА

Синицына Ю.В., Корнилова Ю.Ю., Середнева Я.В., Веселов А.П.

ФГБОУ ВПО «Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского – национальный исследовательский университет», Гагарина пр-т, 23, г. Нижний Новгород, 603950, Россия, E-mail: seredneva.yana@mail.ru

низкоинтенсивное переменное магнитное поле, фотосистемы, флуоресценция хлорофилла, коэффициенты фотохимического тушения

Введение

Переменные магнитные поля – неотъемлемая часть антропогенной среды. Механизм действия постоянных и переменных низкочастотных полей часто связывают с изменениями, происходящими в мембранном аппарате клетки под их влиянием. Имеются сообщения, что обработка слабым магнитным полем (МП) может иметь корректирующее послестрессовое воздействие, заключающееся в восстановлении им физиологических процессов, нарушенных стрессовыми факторами [1]. Целью работы было исследование изменений в фотосинтетических процессах при воздействии на растения переменного магнитного поля и гипертермии.

Материалы и методы

Объектом исследования служили двухнедельные растения гороха *Pisum sativum* L., сорта «Альбумен», выращенные в климатической камере КВМ-240, при температуре +23°C и 16 – часовом световом периоде. Для генерации импульсного магнитного поля (ИМП) использовалась магнитотерапевтическая установка VL-2 (поле создавалось пачками из 20 импульсов длительностью 227 мкс с амплитудой 1,5 мТл, следующих с частотой 15 Гц). Длительность обработки 30 мин. Контролем служили растения, выдержанные в условиях нормального геомагнитного поля.

Определение фотосинтетической активности проводили на целых растениях методом индукции флуоресценции хлорофилла (ИФХ) фотосистемы II и оценки поглощения света фотосистемой I с использованием импульсного флуориметра Dual-PAM-100 («HainzWalz», Германия). Лист помещали в измерительную головку для темновой адаптации в течение 10 мин, затем включали измерительный и актиничный свет, после чего - вспышки насыщающего света с частотой 10мс. Определяли квантовые выходы фотосистемы I (Y I) и фотосистемы II (Y II), а также рассчитывали для фотосистемы II (ФСII) – коэффициенты фотохимического qP и нефотохимического qN, NPQ тушения; для фотосистемы I (ФСI) – нефотохимическую диссипацию энергии, обусловленную ограниченностью донорной Y(ND) или акцепторной Y(NA) стороны. Скорость реакции Хилла выявляли по скорости восстановления феррицианида калия, хлоропласты выделяли методом дифференциального центрифугирования [2].

Результаты и обсуждение

Показано, что растения обработанные высокой температурой 42°C в течении 30 мин. характеризовались такими же коэффициентами фотохимического тушения qP и нефотохимического тушения qN, NPQ , как и в контроле. При этом происходило некоторое снижение величины qN . Таким образом, тепловое воздействие данной продолжительности мало влияло на электронный поток, но при этом снижало долю тепловой диссипации энергии в комплексах ФСII [1,5]. Магнитное поле вызывает более выраженные изменения, а именно, снижение показателя qP и повышение коэффициентов qN и NPQ . Можно предположить, что магнитное поле снижало эффективность перемещения электронов по ЭТЦ, что отражалось в увеличении доли теплового рассеивания энергии и повышении времени жизни восстановленного QA [2,3].

Состояние теплового шока мало изменяло работу ФСII, но несколько повышало эффективность работы ФСI. Увеличение показателя Y(ND) – нефотохимической диссипации энергии,

обусловленной ограниченностью донорной стороны ФСІ указывало на некоторое ограничение на ее донорной стороне. Снижение показателя $Y(NA)$ нефотохимической диссипации энергии, обусловленной ограниченностью акцепторной стороны, говорило об активации работы ферредоксин-НАДФН-редуктазы [4]. Схожие изменения наблюдались при воздействии магнитного поля, но носили более выраженный характер.

В целом, гипертермия 42°C в течении 30 мин. не вызывала больших изменений электронного потока в хлоропластах гороха. Изменения квантовых выходов Y_I и Y_{II} позволяют предположить о наличии замедлений в работе пула пластохинонов, которые более выраженные при обработке растения магнитным полем, чем гипертермией [2]. Магнитное поле замедляло работу Q цикла, вследствие чего и происходило снижение qP и рост показателей $qNiY(ND)$.

Высокое сходство ответов на воздействие острой гипертермии и магнитного поля может говорить о наличии единого звена в механизмах клеточного ответа на эти воздействия, следовательно можно предположить защитный эффект предварительной обработки магнитным полем растений перед воздействием острой гипертермии. В связи с чем проводили исследования интенсивности фотохимических процессов на примере реакции Хилла с увеличением количества экспериментальных групп. 1) воздействие магнитного поля (МП; 30 мин), 2) воздействие гипертермии ($t=+42^{\circ}\text{C}$, 30 мин), 3) последовательная обработка гипертермией (30 мин) и МП (30 мин), 4) последовательная обработка МП (30 мин) и гипертермией (30 мин), 5) контроль - растения, находившиеся в условиях нормального геомагнитного поля и нормальной температуры (интактные).

Магнитное поле не вызывало существенных изменений скорости реакции Хилла у растений, выращенных в условиях нормальной температуры. Острая гипертермия приводила к снижению скорости реакции Хилла. Корректирующего эффекта МП у растений после действия гипертермии не обнаружено: скорость реакции Хилла оставалась пониженной. Предварительная обработка растений магнитным полем перед воздействием гипертермии давала некоторую тенденцию к повышению скорости реакции Хилла, но полного ее возвращения к норме не происходило. Можно предположить, что переменное магнитное поле не влияло на работу водоокисляющего комплекса, в то время, как гипертермия ингибировала его.

В целом, исследованное слабое переменное магнитное поле и краткосрочная гипертермия вызывали схожие возмущения в работе фотосистем и электронного потока, что позволяет предположить общность в механизмах реализации их эффектов в клетках растений. Вероятно, с этим связано небольшое защитное действие на скорость реакции Хилла, обнаруженное в случае предварительной обработки растений переменным магнитным полем перед последующей гипертермией.

Работа поддержана проектом № 2575 Задания № 2014/134 на выполнение государственных работ в сфере деятельности в рамках базовой части государственного задания.

Литература

1. Yao Yinan, Li Yuan, Yang Yongqing, Li Chunyang. Effect of seed pretreatment by magnetic field on the sensitivity of cucumber (*Cucumis sativus*) seedlings to ultraviolet-B radiation // *Environmental and Experimental Botany*, 2005. Vol. 54. P. 286–294
2. Большой практикум по фотосинтезу: учеб пособие для студ. вузов /В.Ф. Гавриленко, Т.В. Жигалова, под ред. И.П. Ермакова. – М. Издательский центр «Академия», 2003. 160 с.
3. Bilger W., Schreiber U. Energy-dependent quenching of dark-level chlorophyll fluorescence in intact leaves // *Photosynth. Res.* 1986.-Vol.10.-P.303-308.
4. Dietz K.-J., Schreiber U., Heber U. The relationship between the redoxstate of QA and photosynthesis in leaves at various carbon dioxide, oxygen and light regimes // *Planta.*-1985.-Vol.166.-P.219-226.
5. Schreiber U., Schliwa U., Bilger, W. Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer // *Photosynth. Res.*-1986.-Vol.10, №1-2.- P.51-62.

6. Schreiber U., Klughammer C. Nonphotochemical fluorescence quenching and quantum yields in PS I and PS II: Analysis of heat-induced limitations using Maxi-Imaging-PAM and Dual-PAM-100 // Application Notes. 2008. V. 1. P. 15-18.

7. Корнеев Д.Ю. Информационные возможности метода индукции флуоресценции хлорофилла. Киев: Альтерпресс, 2002. 188с.

EFFECT OF HIGH TEMPERATURE AND LOW FREQUENCY MAGNETIC FIELD ON PHOTOSYNTHETIC PROCESSES ON PEAS CHLOROPLASTS

Sinitsyna Yu.V., Kornilova Yu.Yu., Seredneva Ya.V., Veselov A.P.

low frequency magnetic field, photosystems, chlorophyll fluorescence, photochemical quenching coefficients

High temperature 42°C and low frequency magnetic field 1,5 mTl, 15 Hz induced similar effects in photosynthetic electron flow. Effective PSII and PSI quantum yield changes indicated plastoquinone Q-cycle deceleration and nonphotochemical quenching acceleration. Effects generated by magnetic field were much more powerful.

**РАЗЛИЧИЯ ИЗОФЕРМЕНТНОГО СОСТАВА СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ
В КЛЕТКАХ ЛИСТЬЕВ КАРТОФЕЛЯ ПРИ ГИПОТЕРМИИ**

Синькевич М.С.

ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая 35,
г. Москва, 127276, Россия, E-mail: sinkevich_m@mail.ru*окислительный стресс, картофель, СОД, гипотермия*

Считается, что одной из главных причин повреждения клеток холодостойких растений при гипотермии является развитие окислительного стресса вследствие повышенного образования АФК [1]. Одним из важнейших элементов защиты от окислительного стресса является такой антиоксидантный фермент, как супероксиддисмутаза (СОД), нейтрализующая начальное звено в образовании различных видов АФК – супероксидный анион-радикал (O_2^-). Обычно растительные клетки содержат несколько типов СОД, различающихся между собой строением активного центра и содержащих в качестве коферментов ионы металлов [2].

Ранее было показано, что среди известных типов СОД, наибольшую активность развивают Fe-содержащие, и, в несколько меньшей степени, Cu/Zn-содержащие изоформы [3]. При этом существует различие в способности изоформ сохранять свою активность во время стресса, так, например, Cu/Zn-СОД может ингибироваться перекисью водорода [4], что может отразиться на общей устойчивости растений. В связи с этим представляло интерес сравнение изоферментного состава и активности различных типов СОД у двух сортов картофеля, различающихся по устойчивости к холоду, – более устойчивого российского сорта Десница и менее устойчивого голландского сорта Дезире.

Объектом исследования служили растения картофеля (*Solanum tuberosum* L., сортов Десница и Дезире), выращенные в камере фитотрона ИФР РАН при температуре 22°C в гидропонической культуре на нейтральной минеральной среде. В качестве тестового режима было выбрано воздействие температуры 5°C при 16-часовом освещении в течение 5 сут.. Контролем служили экзemplяры, не подвергавшиеся воздействию гипотермии. Относительная устойчивость двух сортов была предварительно определена несколькими различными методами. Предварительно очищенный центрифугированием и фильтрацией через колонки PD-10 экстракт белка из листьев растений наносили на полиакриламидный гель и проводили нативный электрофорез по Орнштейну и Дэвису, с последующим окрашиванием всего геля на активность СОД нитросиним тетразолием. По ингибированию окрашивания в зоне белковых полос судили об изменении уровня активности соответствующего типа СОД в процессе охлаждения.

На основании ингибирования активности различных изоформ в геле была обнаружена одна изоформа Mn-содержащего типа СОД, не ингибируемая H_2O_2 , а также три изоформы Fe-содержащего типа СОД, не ингибируемые NaCN. Кроме них в листьях присутствовали четыре изоформы Cu/Zn-типа, активность которых подавлялась обоими ингибиторами. В составе изоформ между двумя изученными видами наблюдалось существенное различие – у растений сорта Десница присутствовало 4 изоформы Fe-СОД и 2 изоформы Cu/Zn-СОД, тогда как у растений сорта Дезире – по 3 и 4 изоформы тех же типов, соответственно. Как уже упоминалось, Cu/Zn-изоформы обладают повышенной, по сравнению с другими типами СОД, чувствительностью к стрессу и могут ингибироваться [4], притом, что потребность в антиоксидантной защите сохраняется. Таким образом, мы можем предполагать, что различия в устойчивости к индуцированному холодом окислительному стрессу у растений картофеля разных сортов связаны с преобладанием в изоферментном составе СОД более надежных форм у более устойчивого сорта Десница.

Литература

1. Miller G., Shulaev V., Mittler R. Reactive oxygen signaling and abiotic stress // *Physiol. Plant.* 2008. V. 133. P. 481–489.

2. Alscher R.G., Erturk N., Heath L.S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants // *J. Exp. Biol.* 2002. V. 531. P. 1331–1341.
3. Нарайкина Н.В., Синькевич М.С., Демин 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. 1-8.
4. Choi S.M., Jeong S.W., Jeong W.J., Kwon S.Y., Chow W.S., Park Y.I. Chloroplast Cu/Zn-superoxide dismutase is a highly sensitive site in cucumber leaves chilled in the light // *Planta*. 2002, v. 216, p. 315-324.

ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ СОРТОВ ЯЧМЕНЯ К ДЕЙСТВИЮ УФ-В РАДИАЦИИ В РЕГУЛИРУЕМЫХ УСЛОВИЯХ.

Синявина Н.Г.¹, Канаш Е.В.¹, Макарова Г.А.¹, Мирская Г.В.¹,
Кочетов А.А.¹, Осипов Ю.А.¹, Лоскутов И.Г.²

¹ ГНУ Агрофизический научно-исследовательский институт РАСХН,
Гражданский проспект, 14, г. С.-Петербург, 195220, Россия

² ГНУ Всероссийский НИИ Растениеводства им.Н.И.Вавилова, С.-Петербург, Большая Морская,
42-44, 190000, Россия, E-mail: sinad@inbox.ru

яровой ячмень, сорта, УФ-В радиация, регулируемые условия, урожай зерна, спектры отражения листьев.

Введение

Важность исследований по действию УФ-В радиации на растения, особенно сельскохозяйственные, связана с приспособлением новых сортов и видов к коротковолновому диапазону естественного освещения. Среди глобальных экологических факторов, действующих на наземные экосистемы и, соответственно, на агроценозы, особое место занимает ультрафиолетовое излучение, интенсивность которого может повышаться при снижении концентрации стратосферного озона. Уровни УФ-В (280–320 нм), варьирующиеся и достигающие максимальных значений весной и летом, могут негативным образом влиять на урожай и качество продукции сельскохозяйственных культур, в том числе в Северных регионах России.

Эффекты действия УФ-В радиации зависят от фазы онтогенеза растений: наибольшая чувствительность отмечается при переходе от вегетативной к репродуктивной стадии развития. При этом воздействие ультрафиолетовой радиации на растения охватывает все уровни биоорганизации, а также сигнальную, регуляторную и энергетическую функции. Кроме того, УФ-В модифицирует воздействие других экологических факторов, действуя часто аддитивно [1].

Чувствительность высших растений к ультрафиолетовому излучению существенно зависит также от гено- и экотипа. Так, из 300 исследуемых генотипов растений около 66% оказались чувствительными, 25% – среднечувствительными и только 9% – нечувствительными к УФ-В радиации [2]. Указанное обстоятельство свидетельствует о необходимости изучения сортового потенциала различных сельскохозяйственных культур для скрининга коллекций и выделения сортов и видов, в малой степени чувствительных к УФ-В излучению, с целью повышения устойчивости и стабильности растениеводства.

Цель настоящей работы – оценка сортов ярового ячменя по реакции на действие УФ-В радиации; поиск методов и критериев для оценки устойчивости растений; в последующем - изучение механизмов устойчивости и возможности их передачи потомкам в процессе селекции.

Материалы и методы

В качестве объекта исследований использовали 10 сортов ярового ячменя различного эколого-географического происхождения из коллекции ГНУ ВИР РАСХН (г. С.-Петербург). Растения выращивали в вегетационно-облучательной установке с лампами ДНаТ-400 в сосудах, наполненных субстратом на основе верхового торфа с минеральными добавками. Температуру воздуха поддерживали на уровне 22±3 °С, освещенность - 45± 5 Вт/м² в области ФАР. В качестве источника УФ-В излучения использовали лампы ЛЭ-30. Облучение проводили в течение 10 сут., когда растения находились в фазе кущения – выхода в трубку; доза УФ-В радиации составляла 3 кДж/м² в сут.; затем лампы ЛЭ-30 отключали. Контролем служили растения, вегетирующие в отсутствие ультрафиолета и отделенные от опытных растений светоотражающей пленкой, не пропускающей УФ-В лучи. В контрольном и облучаемом вариантах выращивали по 8 растений каждого сорта.

В течение вегетационного периода осуществляли наблюдение за состоянием и развитием растений; через 3 сут. после начала облучения измеряли спектральные характеристики отра-

женной от поверхности листьев радиации (3,4). После окончания вегетации учитывали продуктивность растений и элементы структуры урожая.

Результаты и обсуждение

Исследования показали, что сорта ячменя из изучаемой коллекции в значительной степени отличались между собой по реакции на действие УФ-В излучения. Растения пяти сортов (неустойчивые) оказались очень чувствительными и полностью погибли в течение 15-20 сут. от начала облучения. Растения четырех других сортов (среднеустойчивые) получили довольно сильные ожоги, но продолжали вегетировать, при этом значительно отставая по продуктивности и скорости роста от контрольных растений (на 75-80% и 10% соответственно). Ячмень канадского сорта Turpeг (устойчивый) в наименьшей степени пострадал от действия УФ-В излучения, однако и у него потеря в урожае зерна составила около 50%.

Из числа изучаемых параметров под воздействием ультрафиолета значительно снизилось количество продуктивных стеблей и особенно зерен у всех изучаемых сортов, а также уменьшилась высота растений. Аналогичные данные были получены нами ранее для пшеницы, вегетирующей в присутствии УФ-В радиации (5,6).

Анализ спектров отражения от листьев растений свидетельствует о том, что уже после 3 сут. облучения, когда еще только начинают проявляться видимые признаки окислительного стресса, наблюдается значительная дифференциация между сортами по реакции на действие УФ-В радиации. Полученные данные свидетельствуют о выраженной зависимости между устойчивостью сорта (под устойчивостью мы понимаем способность растений вегетировать и давать урожай в присутствии стрессора), определенной в вегетационном эксперименте, и индексом отражения хлорофилла ChlRI: так, для устойчивого сорта Turpeг не выявлено достоверных отличий между контрольными и облученными растениями, в то время как у среднеустойчивых сортов данный показатель снижается на 20-30%, а у неустойчивых – на 35-70%. Наряду с этим отмечено существенное (на 10-25%) увеличение индексов R515, R526, R545, связанных с содержанием пигментов – ксантофиллов, у среднеустойчивых и на 37-85% у неустойчивых сортов.

Для всех изучаемых сортов было выявлен рост индекса отражения ARI, связанного с содержанием антоцианов в тканях листа, при этом наибольшее увеличение указанного параметра наблюдалось для устойчивого сорта Turpeг. У 7 из 10 сортов отмечалось также значительное повышение индекса FRI, указывающее на увеличение содержания в растениях флавоноидов.

Заключение

Анализ полученных данных свидетельствует о том, что при облучении УФ-В радиацией в условиях РАЭС реакция растений ячменя была сходной с наблюдаемой в природных условиях: уже на начальных этапах облучения в ответ на действие стресса накапливались флавоноиды и каротиноиды, снижалось содержание хлорофилла в листьях, при этом степень проявления наблюдаемых изменений зависела от степени устойчивости сорта. Показано что растения отвечали на УФ-В облучение снижением продуктивности, уменьшением линейных размеров, чувствительные сорта повреждались настолько, что не могли адаптироваться и погибали. Выявлена корреляция между устойчивостью растений и изменениями ряда индексов отражения. Предполагается, что применение метода спектроскопии позволит значительно ускорить процесс отбора устойчивых сортов.

Литература

1. Манин К.В., Козьмин Г.В. Методические аспекты оценки агроэкологических последствий истощения озона стратосферы //Вестник Российской Академии Естественных Наук Сер. Экология. 2011 г. №2. С.49-53.
2. Кравец Е.А., Гродзинский Д.М., Гуца Н.И. Влияние УФ-В облучения на репродуктивную функцию растений *Hordeum vulgares* L. // Цитология и генетика 2008. Т. 42. № 5. С. 9–15.
- 3.Канаш Е.В., Осипов Ю.А. Диагностика физиологического состояния и устойчивости растений к действию стрессовых факторов среды (на примере УФ-В радиации). Метод. рекомендации. 2008. СПб: РАСХН/ ГНУ АФИ РАСХН. 35 с.

4. Канаш Е.В., Карманов И.В., Осипов Ю.А., Карманова О.И. Методические рекомендации по мониторингу и оперативной диагностике физиологического состояния вегетирующих растений. Инструментальный мониторинг водного обмена. Диагностика физиологического состояния растений по оптическим характеристикам листьев. СПб, 2010. 34 с.

5. Синявина Н.Г., Макарова Г.А., Канаш Е.В. Оценка физиолого-генетическими методами в регулируемой агроэкосистеме устойчивости пшеницы к действию УФ-В радиации // В сборнике: Фундаментальные и прикладные проблемы ботаники в начале XXI века. Материалы всероссийской конференции. Часть 6: Экологическая физиология и биохимия растений. Интродукция растений. Петрозаводск. 2008. С. 111-113.

6. Синявина Н.Г., Макарова Г.Г., Канаш Е.В., Осипов Ю.А. Физиолого-генетические аспекты устойчивости пшеницы и ячменя к действию УФ-В радиации В сборнике: Продукционный процесс растений: теория и практика эффективного и ресурсосберегающего управления // Труды Всероссийской конференции с международным участием, посвященные памяти академика РАСХН Ермакова Е.И. 2009. С. 311-312.

EVALUATION OF BARLEY CULTIVARS RESISTANCE TO UV-B RADIATION UNDER CONTROLLED ENVIRONMENT CONDITIONS

Sinyavina N.G., Kanash E.V., Makarova G.A., Mirskaya G.V., Kotchetov A.A.,
Osipov Y.A., Loskutov I.G.

Spring barley, cultivars, UV-B radiation, controlled conditions, grain yield, leaf reflectance spectra

Response of 10 barley cultivars to UV-B radiation was evaluated in controlled conditions. Significant differences in resistance to ultraviolet radiation effects were found between the cultivars. Prospects of spectroscopy method to assess the resistance of barley cultivars in the early stages of UV-B stress have been shown. It is assumed that the application of spectroscopy methods will significantly accelerate the process of resistant cultivars selection.

ВЛИЯНИЕ МЕДИ НА СУММАРНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ПОЛИФЕНОЛОВ В НЕКОТОРЫХ РАСТЕНИЯХ СЕМЕЙСТВА БОБОВЫЕ

Скрыпник Л.Н., Чупахина Г.Н., Масленников П.В., Федураев П.В.

ФГАОУ ВПО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта»,
ул. А. Невского, 14, г. Калининград, 236041, Россия, E-mail: LSkrypnik@kantiana.ru

полифенолы, медь, окислительный стресс, адаптация

Введение

Важным фактором, определяющим рост и развитие растений, является минеральное питание. Медь – эссенциальный микроэлемент, недостаток которого приводит к нарушению роста растений, резкому снижению урожая и даже к гибели растений. Однако, избыточные количества меди также негативны для растений. В этом случае медь выступает как тяжелый металл [1]. Известно, что действие на растения неблагоприятных факторов провоцирует образование в клетках большого количества активных форм кислорода и вызывает развитие в растениях окислительного стресса [2-4]. Система защиты растений от избыточного образования свободных радикалов состоит из антиоксидантных ферментов, таких, например, как супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза, и низкомолекулярных соединений, например, аскорбиновой кислоты, глутатиона, каротиноидов, α -токоферола и др. [5]. Так же у растений роль антиоксидантов могут выполнять полифенолы – флавоноиды, галловая кислота, катехины, лигнины и дубильные вещества [6]. При этом содержание полифенолов может, с одной стороны, являться индикатором загрязнения окружающей среды, а с другой, свидетельствовать об адаптационной потенциале растений к неблагоприятным экологическим факторам [7].

В связи с этим целью данной работы было исследовать влияние меди на уровень полифенолов в листьях некоторых травянистых растений семейства Бобовые (Fabaceae Lindl.).

Материалы и методы

В качестве объекта использовали листья 20-дневных растений клевера гибридного и вики посевной, выращенные в контролируемых условиях в климатической камере Binder KBWF-720 (Binder, Германия). Исследуемые растения выращивались на почве с различной концентрацией меди. В качестве контроля использовали растения, выращенные на почве, взятой в окрестностях г. Светлогорска с фоновым содержанием меди (33 мг/кг) [8]. Для исследования влияния меди также были подготовлены почвы с более высоким содержанием данного металла. Для этого в почву, отобранной в окрестностях города Светлогорска, вносили медь в форме CuCl_2 в различных концентрациях, так чтобы получить почвы со следующим содержанием меди: 40, 50, 60, 70 мг/кг. Почву высушивали. Семена предварительно проращивали в течение 3-4 дней на фильтровальной бумаге, увлажненной дистиллированной водой. Затем проростки (10 штук на контейнер) пересажали в подготовленную увлажненную почву и поливали дистиллированной водой через каждые два дня.

В листьях определяли суммарное содержание полифенолов [9]. Полученное содержание полифенолов пересчитывали на г сухого веса.

Результаты и обсуждение

В ходе исследования проводилось изучение зависимости накопления полифенолов от содержания меди в почве. Суммарное содержание полифенолов определялось в листьях растений клевера гибридного и вики посевной, выращенные в контролируемых условиях на почве с различными концентрациями меди (40, 50, 60, 70 мг/кг). Результаты представлены на рис. 1.

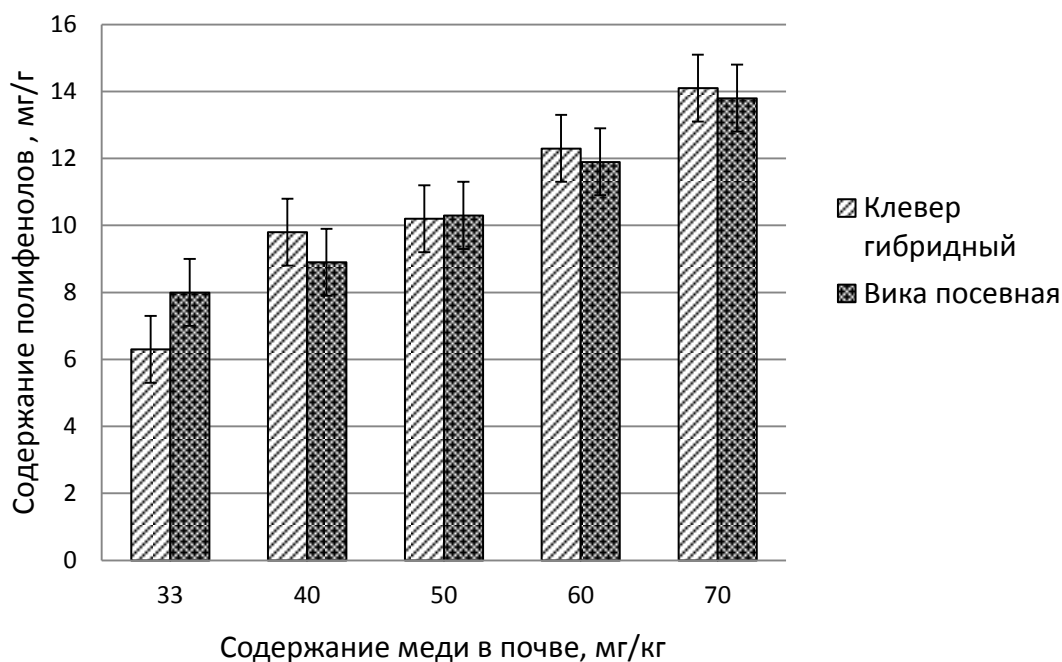


Рисунок 1 - Содержание полифенолов в листьях клевера гибридного и вики посевной в зависимости от содержания меди в почве

Figure 1 - The polyphenol content in the leaves of clover and common vetch depending on the copper content in the soil

Как видно из представленных на рисунке данных при увеличении содержания меди в почве, уровень полифенолов в листьях исследованных растений также увеличивался. Так минимальное содержание полифенолов в листьях клевера гибридного (6,24 мкг/г) выявлено при концентрации меди 33 мг/кг, а максимальное (13,55 мкг/г) при концентрации меди 70 мг/кг. Минимальное содержание полифенолов в растениях вики посевной (7,67 мкг/г) также было при концентрации меди 33 мг/кг, а максимальное (12,82 мкг/г) - при концентрации меди 70 мг/кг.

Известно, что медь является металлом с переходной валентностью, а значит, способствует образованию активных форм кислорода и свободных радикалов, и вызывает окислительный стресс в клетках растений. Обработка почвы медью усиливала окислительный стресс, который в свою очередь вызывал активацию ферментов антиоксидантной защиты – увеличение содержания полифенолов.

Заключение

В листьях растений клевера гибридного и вики посевной, выращенных в лабораторных условиях, при увеличении содержания меди в почве уровень полифенолов повышался на 30 % (с 6,24 мг/г до 13,55 мг/г) и 40 % (с 7,67 мг/г до 12,82 мг/г) по сравнению с контролем соответственно. Накопление полифенолов, выступающих как антиоксиданты, свидетельствует об изменении интенсивности окислительных процессов в клетке и может рассматриваться как адаптационный защитный механизм, позволяющий за счет увеличения уровня антиоксидантов повысить устойчивость растительных организмов к действию неблагоприятных факторов, в частности высоких концентраций меди.

Литература

1. Деви С.Р., Прасад М.Н.В. Антиокислительная активность растений *Brassica juncea*, подвергнутых действию высоких концентраций меди// Физиология растений. 2005. №52 (2). С. 233-237.

2. Полесская О.Г. Растительная клетка и активные формы кислорода. М.: Книжный Дом Университет, - 2007. – С.140.

3. Скрыпник Л.Н., Чупахина Г.Н. Влияние селена и цинка на устойчивость растений китайской капусты к окислительному стрессу // Вестник РГУ им. И. Канта. Вып.7. Сер. Естественные науки. 2007. с. 73-79.
4. Arora A., Sairam R.K., Srivastava G.C. Oxidative stress and antioxidative system in plants // Current Science. Vol. 82. 2002. P. 1227-1238.
5. Чупахина Г.Н., Масленников П.В., Скрыпник Л.Н. Природные антиоксиданты (экологический аспект): монография. – Калининград: Изд-во БФУ им. И. Канта, 2011. – 111с.
6. Федурев П.В., Чупахина Г.Н., Скрыпник Л.Н. Влияние дефицита макроэлементов на синтез полифенолов в проростках тимофеевки луговой (*Phleum pratense* L.) // Всероссийский симпозиум «Растение и стресс» (Plants under Environmental Stress): Тезисы докладов. Москва, 9-12 ноября 2010 г. – Москва, 2010. – С. 370-371.
7. Чупахина Г.Н., Масленников П.В., Скрыпник Л.Н., Бессережнова М.И. Реакция пигментной и антиоксидантной систем растений на загрязнение окружающей среды г. Калининграда выбросами автотранспорта // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2012. № 2 (18). С. 171–185.
8. Станченко Л. Ю. Типология и эколого-геохимическая оценка урбоэкосистем Калининградской области. - Калининград: Рос. гос. ун-т им. И. Канта. — 2009. - 119 с.
9. Масленников П.В., Чупахина Г.Н., Скрыпник Л.Н. Содержание фенольных соединений в лекарственных растениях ботанического сада // Известия РАН. Серия биологическая. 2013. № 5. С. 551.

EFFECT OF COPPER ON THE TOTAL POLYPHENOLS CONTENT IN SOME LEGUMES PLANT

Skrypnik L.N., Choupakhina G.N., Maslennikov P.V., Feduraev P.V.

polyphenols, copper, oxidative stress, adaptation

The effect of copper on the polyphenols content in clover and common vetch levels was studied in the model experiment. It was established high copper content in the soil increased levels of polyphenols up to 30% (from 6.24 mg/g to 13.55 mg/g) and 40% (from 7.67 mg/g to 12.82 mg/g) compared with the control in in clover and common vetch levels respectively.

**ПОСТУПЛЕНИЕ КАДМИЯ В РАСТЕНИЯ TRITICUM AESTIVUM,
ИНОКУЛИРОВАННЫЕ ЭНДОФИТНЫМИ БАКТЕРИЯМИ *BACILLUS SUBTILIS***

Смирнова Ю.В.¹, Курамшина З.М.¹, Хайруллин Р.М.²

¹Стерлитамакский филиал ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный университет»,
пр. Ленина, 49, г. Стерлитамак, Россия, E-mail: kuramshina_zilya@mail.ru

²ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, пр. Октября, 71, г. Уфа, 450054, Россия

Triticum aestivum, *Bacillus subtilis*, кадмий, содержание металла в побегах

Введение

Загрязнение естественных и сельскохозяйственных экосистем тяжелыми металлами (ТМ) в настоящее время обусловлено выбросами промышленных предприятий, а также ненормированным применением минеральных удобрений, средств химической защиты растений. Проникая в растения, ТМ накапливаются в вегетативных и генеративных органах, снижают урожайность и качество продукции. Кадмий – один из наиболее опасных металлов, поскольку обладает высоким кумулятивным эффектом, не подвергается деградации растениями и микроорганизмами и ведет к физиологическим и биохимическим нарушениям [1, 2].

В связи с возрастающим загрязнением окружающей среды ионами кадмия большое внимание уделяется поиску методов снижения фитотоксичности металла. Результаты некоторых исследований [3, 4, 5] свидетельствуют о том, что некоторые микроорганизмы, например, ассоциативные ризосферные бактерии, микоризные грибы, могут играть существенную роль в устойчивости растений к стрессу, вызванному токсичностью ТМ, и влиять на поступление металла в растения. В сельскохозяйственной практике для защиты растений от болезней, вызываемых фитопатогенными грибами, широко применяется препарат «Фитоспорин-М», основой которого является эндофитный штамм *Bacillus subtilis* 26Д. Бактерии *B. subtilis* продуцируют множество биологически активных веществ, очень стойких к различным физико-химическим факторам, они способны приспосабливаться к изменениям окружающей среды [6]. Имеются сведения [7] о протекторном действии *B. subtilis* по отношению к растениям при различных стрессах. Однако мало работ посвящено изучению влияния эндофитных бактерий на рост растений в условиях воздействия тяжелых металлов и поступление ионов металла в проростки.

Целью работы явилось изучение влияния предварительной инокуляции семян клетками *Bacillus subtilis* штамма 26Д на рост пшеницы в условиях воздействия ионов кадмия и поступление металла в растения.

Материалы и методы

Эксперименты проводили в лабораторных условиях. Объектом исследования служила пшеница (*Triticum aestivum* L., сорт Омская 35). Семена перед посадкой промывали в мыльной воде, стерилизовали 96%-ым этанолом, ополаскивали в дистиллированной воде, подсушивали. В экспериментах использовали бактерии *B. subtilis* штамм 26Д. Обработку семян бактериями проводили в ламинар-боксе. Клетки бактерий 20-часовой культуры, растущей на мясопептонном агаре (37 °С), отмывали 0,001 М раствором KCl. Суспензию клеток доводили до необходимой концентрации по оптической плотности. 1 г семян пшеницы обрабатывался 20 мкл суспензии бактерий концентрации 10⁶ кл/мл. Обработанные семена выдерживали в течение часа, затем использовали в экспериментах. Контрольные семена обрабатывали дистиллированной водой.

Инокулированные и контрольные семена выращивали в пластиковых вегетационных сосудах (15×15 см). В каждый сосуд помещали по 1 кг почвы (чернозем выщелоченный). Металл вносили в виде раствора соли Cd(NO₃)₂•4H₂O, однократно после посадки семян, в концентрации ионов кадмия 1, 10 и 200 мг/кг почвы. Контрольные растения поливали дистиллированной водой. Растения выращивали при температуре 18-20 °С при равномерном освещении. Измерение сырой массы побегов и отбор проб проводили на 30 сут. от начала эксперимента. Сухие по-

беги озоляли в смеси азотной и хлорной кислот (5:1 по объему). Кадмий в побегах определяли методом атомно-адсорбционной спектрофотометрии на приборе Spectra AA 200 (Австралия). Содержание кадмия в почве определяли с помощью ионселективного электрода Эллис-Cd на АНИОН 4100 (Россия). Экстракцию подвижных форм кадмия проводили 1М соляной кислотой (в соотношении 1:10). Все эксперименты проводили в трех биологических повторностях.

Результаты и обсуждение

В результате проведенных экспериментов было выявлено, что ионы кадмия в почве во всех исследованных концентрациях оказывали слабое стимулирующее действие на рост побегов пшеницы. Растения, обработанные бактериями, как в присутствии кадмия, так и без металла росли лучше необработанных. Так, при концентрации 10 мг/кг масса побегов у обработанных бактериями *B. subtilis* 26Д была больше на 31%, а при концентрации 200 мг/кг на 36%, соответственно (табл. 1). Известно, что бактерии *B. subtilis* штамма 26Д являются эндофитными микроорганизмами, живущими в растительных тканях без нанесения растению существенного вреда или получения выгоды. Стимуляция роста растений может обуславливаться повышением в растительных тканях уровня индолилуксусной кислоты, а также проявлением клетками бактерий цитокинин-подобной активности [8].

Для объяснения возможного механизма повышения устойчивости растений к действию ионов кадмия при использовании клеток *B. subtilis*, было проведено определение содержания металла в побегах пшеницы и в почве после извлечения растений. Наши эксперименты показали, что при выращивании пшеницы, семена которой были инокулированы бактериями, в почве, загрязненной кадмием, металл оставался в почве и не проникал в растения. Так, при внесении кадмия в почву в концентрации 10 мг/кг, содержание кадмия в побегах обработанных *B. subtilis* 26Д растений было ниже на 50%, чем у необработанных, а при 500 мг/кг – на 36%. В почве после извлечения растений, содержание металла было выше в вариантах, где росли неинокулированные бактериями растения (табл. 1).

Уменьшение выноса ТМ из почвы растениями может происходить, вероятно, из-за аккумуляции металлов микроорганизмами, сорбции ионов на клеточной стенке, образования нерастворимых соединений [9].

Таблица - Биомасса и содержание кадмия

Table - Biomass and cadmium content

Вариант		Масса побегов, г	Концентрация, мг/кг	
			в побегах	в почве
0	Не обработ.	0,10±0,01	0,59±0,03	3,04±0,13
	<i>B. subtilis</i> 26 Д	0,12±0,01	0,49±0,02	4,17±0,20
Cd 1 мг/кг	Не обработ.	0,16±0,01	0,18±0,01	5,54±0,19
	<i>B. subtilis</i> 26 Д	0,18±0,01	0,18±0,01	5,33±0,25
Cd 10 мг/кг	Не обработ.	0,13±0,01	2,83±0,10	31,21±0,52
	<i>B. subtilis</i> 26 Д	0,17±0,01	1,44±0,11	55,44±0,31
Cd 200 мг/кг	Не обработ.	0,11±0,01	3,18±0,09	122,47±1,11
	<i>B. subtilis</i> 26 Д	0,15±0,01	2,04±0,05	190,73±1,08

Заключение

Таким образом, в наших экспериментах было показано, что инокуляция растений клетками *B. subtilis* снижала токсический эффект кадмия, что проявлялось в показателях лучшего роста при высоких концентрациях металла.

Повышение устойчивости растений, обработанных бактериями *B. subtilis*, при воздействии ионов кадмия можно объяснить снижением проникновения ионов кадмия в надземную часть растений.

Результаты работы представляют значительный интерес при разработке методик выращивания сельскохозяйственных культур на почвах, загрязненных солями ТМ.

Литература

1. Квеситадзе Г.И. Метаболизм антропогенных токсикантов в высших растениях / Г.И. Квеситадзе, Г.А. Хатисашвили, З.Г. Евстигнеева. – М.: Наука, 2005. – 199 с.
2. Серегин И.В. Физиологические аспекты токсического действия кадмия и свинца на высшие растения / И.В. Серегин, В.Б. Иванов // Физиология растений. – 2001. – Т.48. – С. 606-630.
3. Белимов А.А. Использование ассоциативных бактерий для инокуляции ячменя в условиях загрязнения почвы свинцом и кадмием / А.А. Белимов, А.М. Кунакова, В.И. Сафронова, В.В. Степанок, Л.Ю. Юдкин, Ю.В. Алексеев, А.П. Кожемяков // Микробиология. – 2004. – Т. 73. – №1. – С. 118 – 125.
4. Сиунова Т.В. Влияние ризосферных бактерий на аккумуляцию никеля растениями ячменя / Т.В. Сиунова, В.В. Кочетков, А.М. Боронин // Агрехимия. – 2006. – №10. – С. 80 – 84.
5. Gonzalez-Chavez C. Arbuscular mycorrhizal fungi confer enhanced arsenate resistance on *Holcus lanatus*. / C. Gonzalez-Chavez, P.J. Harris, J. Dodd, A.A. Meharg // New Phytologist. – 2002. – V. 155. – P. 163-171.
6. Хайруллин Р.М. Повышение устойчивости пшеницы к абиотическим стрессам эндофитным штаммом *Bacillus subtilis* / Р.М.Хайруллин, В.Д. Недорезков, И.Г. Мубинов, Р.Ш. Захарова // Вестник ОГУ. – 2007. – №2. – С. 129 – 134.
7. Архипова Т.Н. Сравнение действия штаммов бактерий, различающихся по способности синтезировать цитокинины, на рост и содержание цитокининов в растениях пшеницы / Т.Н. Архипова, С.Ю. Веселов, А.И. Мелентьев, Е.В. Мартыненко, Г.Р. Кудоярова // Физиология растений. – 2006. – Т. 53. – № 4. – С. 567 – 574.
8. Мелентьев А.И. Аэробные спорообразующие бактерии *Bacillus Cohn* в агроэкосистемах / А.И. Мелентьев. – М.: Наука. – 2007. – 147 с.
9. Титов А.Ф. Устойчивость растений к тяжелым металлам / А.Ф. Титов, В.В. Таланова, Н.М. Казнина, Г.Ф. Лайдинен. – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2007. – 172 с.

CADMIUM ACCUMULATION IN TRITICUM AESTIVUM, INOCULATED BY ENDOPHYTIC BACTERIA *BACILLUS SUBTILIS*

Smirnova Y.V.¹, Kuramshina Z.M.¹, Khairullin P.M.²

Triticum aestivum, *Bacillus subtilis*, cadmium, metal level in shoots

The effect of seed inoculation by cells bacteria *Bacillus subtilis* strain 26 D on the accumulation of cadmium ions in the shoots of *Triticum aestivum*, grown on the soil contaminated by cadmium, was investigated. It has been revealed that inoculation of plant cells *B. subtilis* reduced the toxic effects of cadmium, which was manifested in terms of better growth and reduction of metal penetration in the plant.

МЕТАБОЛОМНЫЙ АНАЛИЗ БИОХИМИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ, ВОЗНИКАЮЩИХ ПРИ УСКОРЕННОМ СТАРЕНИИ В СЕМЕНАХ *BRASSICACEAE* С РАЗНЫМ СОДЕРЖАНИЕМ ОСТАТОЧНЫХ ХЛОРОФИЛЛОВСмоликова Г.Н.¹, Шаварда А.Л.^{1,2}, Чанцева В.В.³, Юрченко В.С.³, Медведев С.С.¹¹ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет», Университетская наб., 7-9, г. С.-Петербург, 199034, Россия, E-mail: galina.smolikova@gmail.com²ФГБУН Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, ул. Проф. Попова, 2, г. С.-Петербург, 197376, Россия³Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, набережная реки Мойки, 48, г. С.-Петербург, 191186, Россия

семена, Brassica oleracea L., Brassica napus L., устойчивость, ускоренное старение, семенные оболочки, хлорофиллы, конфокальная микроскопия, метаболом, метаболомный анализ, газовая хроматография, масс-спектрометрия

Независимо от того, в каких условиях хранятся семена – оптимальных или неблагоприятных, с течением времени они стареют. Старение семян рассматривают как накопление структурных и метаболических повреждений, приводящих к нарушению функций и снижению устойчивости к неблагоприятным внешним условиям вплоть до потери жизнеспособности [1]. В основе повреждений, приводящих к старению семян, лежат процессы неферментативного гликозилирования белков, генерация активных форм кислорода и свободных радикалов, перекисное окисление липидов [1, 2, 3, 4]. Существует два основных абиотических фактора, которые влияют на скорость старения у семян – это влажность тканей и температура воздуха [5]. Представляет интерес изучить, как влияет на этот процесс присутствие в семенах остаточных хлорофиллов.

Известно, что зиготы растений содержат амилопласты, которые в процессе эмбриогенеза дифференцируются в фотосинтетически активные фотогетеротрофные хлоропласты [6]. Этот процесс сопровождается синтезом хлорофиллов. Фотосинтез в созревающих семенах имеет важное значение как источник НАДФН и АТФ, которые используются для конверсии поступающей из материнского растения сахарозы в крахмал и жирные кислоты. На последних этапах созревания происходит обезвоживание семян, при этом в хлоропластах накапливаются запасные питательные вещества, а процесс фотосинтеза прекращается. Этот процесс сопровождается деградацией хлорофиллов, который превращается в феофитин. Однако у семян многих видов высших растений полной деградации хлорофиллов в семенах не происходит (т.н. хлороэмбриофиты).

Целью работы являлся метаболомный анализ биохимических изменений, возникающих в процессе ускоренного старения в физиологически зрелых семенах крестоцветных с разным содержанием остаточных хлорофиллов. Метаболом представляет собой совокупность низкомолекулярных метаболитов в организме на определенном этапе онтогенеза и является наиболее информативной характеристикой биохимического статуса организма [7]. Сравнительный анализ метаболомов позволяет изучать изменения содержания низкомолекулярных метаболитов в клетках, тканях или органах на определенном этапе онтогенеза в зависимости от внешних условий и выявлять компоненты, которые вносят наиболее существенный вклад в их сходство или различие [8].

Материалы и методы

Объектами исследования являлись семена капусты белокочанной (*Brassica oleracea L.*) сорта Русиновка и рапса (*Brassica napus L.*) сорта Юбилейный. Семена капусты были получены в Институте овощеводства Республики Беларусь (урожай 2008). Семена рапса были получены в лаборатории масличных культур ВИРа РАН (репродукция Тамбовская обл., 2012).

Ускоренное старение. Семена выдерживали в течение недели при 22оС в эксикаторе над насыщенным раствором КСl, создающим 86%-ную отн.влажность воздуха. При этом влагосодержание семян повышалось с 6 до 14%. Далее семена герметично запаковывали в пакеты с алюминиевой основой и помещали в термостат при 40оС на несколько сут..

Газовая хроматография, сопряженная с масс-спектрометрией. Анализ проводили на газовом хроматографе Agilent 6850 с масс-селективным детектором Agilent 5975 VL. Обработку полученных данных проводили с помощью специального программного обеспечения для деconvалюции сигнала полного ионного тока детектора AMDIS (<http://chemdata.nist.gov/>) и хроматографического процессора UNICHROM (www.unichrom.com/). Вещества идентифицировали с использованием баз данных NIST/EPA/NIH 11 Mass Spectral Library (<http://www.nist.gov/srd>) и пользовательской библиотеки AMDIS, созданной на кафедре физиологии и биохимии растений СПбГУ. Были идентифицированы ряд аминокислот, органических и жирных кислот, токоферолы и фитостеролы. Неидентифицированные метаболиты размечали по индексу удерживания (в эту группу вошли сахара и их производные). Количественную интерпретацию проводили с использованием внутреннего стандарта (nC23) без учета коэффициентов чувствительности.

Анализ масс-спектрометрических данных. Матрица для анализа включала 16 наблюдений (образцов), каждое из которых содержало около 200 параметров (концентраций веществ). Статистический анализ проводили при помощи программы MULTIBASE (www.numericaldynamics.com) путем построения регрессионной модели данных по методу частично наименьших квадратов (partial least squares regressions) с последующим дискриминантным анализом (PLS-DA) [7].

Конфокальная микроскопия. Срезы семян толщиной 50 мкм исследовали на конфокальном микроскопе Carl Zeiss LSM 780 (ЦКП БИН РАН, СПб). Срезы облучали лазером 488 и 633 нм и регистрировали автофлуоресценцию при 669-712 нм.

Результаты и обсуждение

Для изучения повреждений, возникающих в семенах при неблагоприятных условиях хранения, физиологически-зрелые семена капусты и рапса предварительно сортировали по цвету на фракции со светло-коричневыми и темно-коричневыми оболочками. Известно, что коричневый цвет семенам крестоцветных придают флавоноиды, которые содержатся в пигментированном слое семенной оболочки [9]. Неокисленные флавоноиды имеют красно-коричневый цвет, по мере созревания семян флавоноиды окисляются и оболочки становятся темными. Установлено, что цвет семенной оболочки коррелирует с содержанием хлорофиллов в семенах – чем темнее, тем меньше хлорофиллов [10]. Т.е., визуальная сортировка семян крестоцветных по цвету семенных оболочек позволяет получить фракции с разным содержанием хлорофиллов. Нами выявлено, что семена с более высоким содержанием Хл характеризовались более высокой чувствительностью к абиотическим стрессорам, которую оценивали методом ускоренного старения [10]. Снижение устойчивости семян с повышенным содержанием остаточных хлорофиллов, в первую очередь, связано с нарушением целостности семенных покровов и клеточных мембран [11]. Предполагаем, что присутствующие в семенах Хл усиливают окислительный стресс в условиях ускоренного старения.

С использованием метода конфокальной микроскопии нами изучена локализация хлорофиллов в физиологически зрелых семенах капусты. Флуоресценция хлорофиллов наблюдалась в клетках семядолей, гипокотилей и в алейроновом слое, который состоял из одного слоя клеток, плотно примыкающих к семенной оболочке. В алейроновых клетках хлорофиллы содержались в липидных глобулах с диаметром 1-2 мкм.

Представляло интерес провести метаболомный анализ семян с разным содержанием хлорофиллов. В результате дискриминантного анализа данных (PLS-DA) была построена многомерная модель метаболомных профилей исследуемых объектов, где каждая точка характеризовала конкретный метаболом как взвешенную совокупность концентраций метаболитов исследуемого объекта. Объектами выступали целые семена, а также отдельно семядоли, зародышевые корешки и семенные оболочки. На основании регрессионной модели (PLS-R) была произведена оценка корреляции состояния метаболома со всхожестью семян и рассчитан их коэффициент детерминации (R^2), который составлял не менее 0,9, что свидетельствует о высокой точности проведенного анализа.

Метаболомный анализ показал, что профили семян с разным содержанием хлорофиллов достоверно не различались, что свидетельствует о сходстве их биохимического состава. При

этом наблюдались достоверные различия между контрольными семенами и семенами, подвергавшимися ускоренному старению. Инкубация семян при повышенной влажности и температуре воздуха вызывала метаболические изменения в клетках, что приводило к изменению структуры метаболитов и отражалось в статистических моделях как увеличение расстояния между объектами. Анализ коэффициентов значимости исследованных параметров показал, что наиболее существенный вклад в различия между объектами вносили сахара и аминокислоты. Полученные модели и принципы их построения будут подробно обсуждаться в докладе.

Работа поддержана грантом РФФИ № 14-04-01-624 и грантом СПбГУ № 1.38.233.2014.

Литература

1. McDonald, M.B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment / M.B. McDonald // *Seed Science and Technology*. – 1999. – Vol. 27. № 1. – P. 177-237.
2. Смоликова, Г.Н. Применение метода ускоренного старения для оценки устойчивости семян к стрессовым воздействиям / Г.Н. Смоликова // *Вестник С.-Петерб. ун-та. Серия 3*. – 2014. – Вып.1 (в печати).
3. Bailly, C. Active oxygen species and antioxidants in seed biology / C. Bailly // *Seed Science Research*. – 2004. – Vol. 14. – P.93–107.
4. Веселовский, В.А. Перекисное окисление липидов, гидролиз углеводов и реакция Амандори – Майларда на ранних этапах старения сухих семян / В.А. Веселовский, Т.В. Веселова // *Физиология растений*. – 2012. – Т. 59, № 6. – С. 763–770.
5. Walters, C. Understanding the Mechanisms and Kinetics of Seed Aging / C. Walters // *Seed Science Research*. – 1998. – Vol. 8. – P. 223-244.
6. Puthur, J.T. Chloroembryos: A unique photosynthesis system / J.T. Puthur, A.M. Shackira, P.P. Saradhi, D. Bartels // *Journal of Plant Physiology*. – 2013 – Vol. 170, № 13. – P. 1131–1138.
7. Лохов, П.Г. Масс-спектрометрические методы в метаболомике / П.Г. Лохов, А.И. Арчаков // *Биомедицинская химия*. – 2008 – Т. 54, № 5. – С. 497–511.
8. Shulaev, V. Metabolomics for plant stress response / V. Shulaev, D. Cortes, G. Miller, R. Mittler // *Physiologia Plantarum*. – 2008. – Vol. 132, № 2. – P. 199–208.
9. Auger, B. A detailed survey of seed coat flavonoids in developing seeds of *Brassica napus* L. / B. Auger, N. Marnet, V. Gautier, A. Maia-Grondard, F. Leprince, M. Renard, S. Guyot, N. Nesi, J.-M. Routaboul // *J. of agricultural and food chemistry*. – 2010. – Vol. 58, № 10. – P. 6246–6256.
10. Смоликова, Г.Н. Роль хлорофиллов и каротиноидов в устойчивости семян к абиотическим стрессорам / Г.Н. Смоликова, Н.А. Ламан, О.В. Борискевич // *Физиология растений*. – 2011. – Т. 58, № 6. – С. 817-825.
11. Смоликова, Г.Н. Влияние брассиностероидов на устойчивость семян *Brassica oleracea* L. к ускоренному старению / Г.Н. Смоликова, Ю.В. Задворнова, Н.А. Ламан., С.С. Медведев // *Вестник С.-Петерб. ун-та. Серия 3*. – 2013. – Вып. 4. – С. 74-84.

METABOLOMIC ANALYSIS OF BIOCHEMICAL CHANGES THAT OCCUR DURING ACCELERATED AGING IN BRASSICACEAE SEEDS WITH DIFFERENT CONTENT OF RESIDUAL CHLOROPHYLLS

Smolikova G.N. , Shavarda A.L. , Chantseva V.V. , Yurchenko V.S. , Medvedev S.S.

seeds, Brassica oleracea L., Brassica napus L., tolerance, accelerated aging, seed coat, chlorophylls, confocal microscopy, metabolome, metabolomic analysis, gas chromatography, mass spectrometry

Metabolomics could contribute significantly to the study of stress biology in plants by identifying the different low molecular weight compounds. In this report, we discuss the application of metabolomics to the area of seed response to accelerated aging. The contribution of chlorophylls in stress tolerance of chloroembryos is also discussed.

УДК 591.1; 57.047;

УЧАСТИЕ ПОЛИСАХАРИД-СВЯЗЫВАЮЩЕЙ ПЕРОКСИДАЗЫ КАРТОФЕЛЯ В ЛИГНИФИКАЦИИ КЛЕТОЧНЫХ СТЕНОК ПРИ ПАТОГЕНЕЗЕ

Сорокань А.В.¹, Кулуев Б.Р.¹, Бурханова Г.Ф.¹, Николаев И.В.², Максимов И.В.¹

¹ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, пр. Октября, 71, г. Уфа, 450054, Россия

²ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный университет им. Акмуллы», г. Уфа, Россия,

E-mail: fourtyanns@googlemail.com

пероксидазы, лигнин, Solanum tuberosum, Agrobacterium tumefaciens, Phytophthora infestans

Введение

Клеточные стенки растений и грибов обладают сложной полисахаридной структурой, которая, не смотря на более чем двухвековую историю изучения клетки, представляет собой «камень преткновения» для исследователей. Ригидность и водонепроницаемость клеточных стенок определяется лигнином – полимером фенольной природы. Отложение лигнина в местах проникновения патогенов в растительные ткани имеет очень важное значение, так как создает механический барьер для их распространения. Известно, что для полимеризации монолигнолов в молекулу лигнина необходимо присутствие пероксидаз и перекиси водорода. Однако, не известно, какие именно изопероксидаз участвуют в этом, и какими генами они кодируются. Известно, что добавление хитина – основного компонента клеточной стенки грибов, к реакционной смеси, содержащей пероксидазу, перекись водорода и евгенол, увеличивает выход лигнина [1]. Основываясь на этих наблюдениях, было ранее выдвинуто предположение, что хитин может рассматриваться как матрица для формирования лигнинового слоя [2]. Ранее в нашей лаборатории было показано, что элюируемая с хитина 1 М NaCl фракция белков обладает пероксидазной активностью и она не теряется при связывании с биополимером. Для проверки гипотезы о каталитической роли пероксидаз, обладающих сродством к полисахаридам, в синтезе лигнина, мы поставили целью работы определение гена картофеля, кодирующего пероксидазу с полисахарид-специфичным доменом и получение растений с подавленной экспрессией этого гена.

Материалы и методы

Был проведен биоинформационный анализ, включавший моделирование белковых структур по гомологии. Аминокислотную последовательность целевого белка получали из базы данных «Universal Protein Resource» (индекс записи: P12437). Информацию о кристаллизованных белковых структурах получали из базы данных «Protein Database» (БД PDB). Моделирование структуры белка POXA *Solanum tuberosum* проводили при помощи программы «CPHmodels-3.2 Server». В качестве шаблона для моделирования была использована кристаллизованная структура А-цепи пероксидазы арахиса (индекс записи в БД PDB: 1SCH). Для визуализации пространственной структуры целевого белка использовали программу «Discovery Studio 3.5 Visualizer».

Тотальную РНК выделяли с помощью препарата «Тризол» (Sigma, США). Синтез кДНК проводили с использованием праймеров и фермента М-MLV обратной транскриптазы (Fermentas, США). Одноцепочечную кДНК использовали в реакции амплификации с праймерами к гену M21334 картофеля.

Свободно-растворимую фракцию белков картофеля подвергали колоночной хроматографии на колонках с очищенным хитином. После нанесения супернатанта сорбент промывали фосфатным буфером от не связавшихся белков и элюировали связавшиеся 0.5 - 1 М NaCl. Аликвоты, полученные до и после хроматографии, подвергали изоэлектрофокусированию (ИЭФ) с использованием 7%-ного ПААГ и 2,5% амфолитов pH 3.0-10.0 ("BioRad", США). ПААГ проявляли на пероксидазную активность в растворе 0.01% 3,3 - диаминобензидина (ДАБ) и 0.016% H₂O₂ в 0.1 М фосфатном буфере (ФБ)..

Агробактериальную трансформацию растений картофеля сорта Невский, устойчивого к фитофторозу, проводили с использованием *Agrobacterium tumefaciens*, несущих плазмиду

pCambia 1305.1 с вектором, модифицированным антисенс-конструкцией фрагмента гена M21334. Экспланты после трансформации помещали на среды, содержащие 100 мкг/л гигромицина и 700 мг/л Аугментина, 1,5 мг/л транс-зеатина, 0,5 мг/л ИУК и 0.1 мг/л феруловой кислоты. Об успешности трансформации судили по транскрипционной активности внедренного фрагмента и отсутствию активности изопероксидазы на геле после ИЭФ белков. 30-ти суточные растения дикого типа и трансформированные растения инфицировали спорами *Phytophthora infestans* (штамм M1) путем нанесения 5 мкл суспензии спор (105 спор/мл) на каждый лист. Локальное накопление лигнина определяли по автофлуоресценции на микроскопе Axio Imager M1 (“CarlZeiss”, Германия).

Результаты и обсуждение

На первом этапе работы было показано, что в картофеле изопероксидазы с pI ~ 3.5, ~ 3.7 и катионные с pI ~ 8,8 и ~ 9.3 способны обратимо и без потери ферментативной активности связываться с хитином. Полученные на этом этапе результаты позволили заключить, что взаимодействие пероксидаз с хитином не носит классического ионообменного характера, а следовательно, в их белковой структуре содержатся специфичные к полисахаридам домены.

Такой домен действительно был обнаружен у некоторых изоформ пероксидаз, в том числе анионных у *Arabidopsis thaliana* и *Cucurbita pepo*, характеризующиеся сродством к пектинам [3]. В прогнозируемом белковом продукте, кодируемом геном M21334 картофеля (*Solanum tuberosum* L.) [4] выявлен подобный домен, отвечающий, по нашему мнению, за сродство пероксидазы к полисахаридам (табл. 1).

Таблица 1 - Сравнительный анализ аминокислотных последовательностей пероксидаз растений, кодирующих полисахарид-специфичный домен

Table 1 - Comparative analysis of the amino acid sequences of plant peroxidases encoding polysaccharide-specific domain

Вид растения	Шифр гена в NCBI	Аминокислотная последовательность полисахарид-специфичного домена
<i>Arabidopsis thaliana</i>	NM101322	251 nnyyKnlmqKKqllvtdq 267
<i>Triticum aestivum</i>	TC151917	243 fdKqyyhnlInKKglltsdq 269
<i>Solanum tuberosum</i>	M21334	210 fdnlvtqiqKfndKnftlre 230

Нами построена 3D-модель структуры белка РОРА, кодируемого геном M21334 (рис 1а). Его идентичность структуре-шаблону (1SCH) составила 50,2%, что является достаточным для моделирования по гомологии. Модель пространственной белковой структуры, полученная в ходе моделирования по гомологии, включала в себя 83-363 аминокислотные остатки целевого белка РОРА. Анализ показал, что белок является секретлируемой анионной пероксидазой, целевой домен расположен на внешнем, гидрофильном и гликозилированном участке цепи. Сходное расположение относительно активного центра и сайтов связывания ионов кальция обнаруживали полисахарид-специфичные домены пероксидаз в других исследованиях [3].

С использованием программы ProtCalc 1.1 было рассчитано, что данная пероксидаза является анионной, что совпадает с данными [4]. Для выяснения ее функций мы провели работу по получению растений картофеля с подавленным синтезом белка кодируемого этим геном. Обнаружено, то что в полученной линии растений активность анионной изопероксидазы с изоэлектрической точкой ~3.5 была подавлена, а растения этой линии проявляли высокую восприимчивость к фитофторозу. Из рис. 1б видно, что в растениях дикого типа устойчивого к фитофторозу сорта Невский в местах нанесения спор патогена наблюдается заметная автофлуоресценция лигнина, в то время как в трансформированных растениях этого практически не происходит.

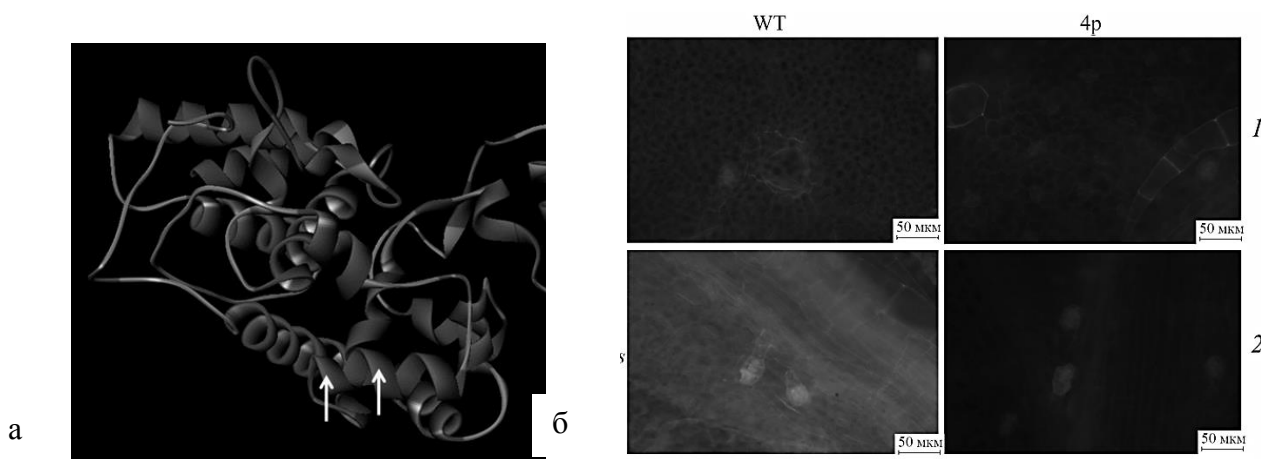


Рисунок 1 - (а) 3D-структура молекулы пероксидазы ПОРА, кодируемой геном M21334. Стрелками показан полисахарид-специфичный домен. (б) накопление лигнина в здоровых (1) и инфицированных *P. infestans* (2) листьях растений картофеля дикого типа (WT) и растений с подавленной экспрессией гена M21334 (4p)

Figure 1 - (a) 3D-structure of peroxidase POXA, encoded by M21334 gene. Arrows indicate the polysaccharide-specific domain. (b) accumulation of lignin in health (1) and infected by *P. infestans* (2) leaves of potato plants of wild-type (WT) and plants with suppressed gene M21334 (4p)

Таким образом, путем искусственного РНК-сайленсинга гена, кодирующего изопроксидазу с $rI \sim 3.5$, нами показано, что эта изоформа содержит полисахарид-специфичный домен и участвует в локальном синтезе лигнина зоны инфицирования. Вероятно, свойство обратимо связываться с полисахаридами необходимо для осуществления направленного синтеза лигнина в определенном месте внедрения патогена.

Работа выполнена при поддержке ФЦП № П339 “Научные и научно-педагогические кадры инновационной России” и гранта РФФИ-Поволжье 14-04-97079р, на оборудовании ЦКП «Биомика» (Отделение РЦКП «Агидель») и УНУ «КОДИНК».

Литература

1. Siegel S.M. // J. Amer. Chem. Soc. 1957. 79. 1628-1632.
2. Maksimov I. V.; Cherepanova E. A.; Yarullina L. G. & Akhmetova I. E. // Applied Biochem. & Mikrobiol. 2010. 41. 616-620.
3. Carpin, S., Crevecœur, M. de Meyer, P. Simon, H. Greppin, and C. Penel // Plant Cell. 2001. 13. P. 511-520.
4. Roberts E., Kutchan T., Kolattukudy P.E. // Plant Molecular Biology. 1988. 11. 15-26.

PARTICIPATION OF POLYSACCHARIDE-BINDING POTATO PEROXIDASE IN CELL WALLS LIGNIFICATION DURING PATHOGENESIS

Sorokan A.V., Kuluev B.R., Burkhanova G.F., Nikolaev I.V., Maksimov I.V.

peroxidase, lignin, Solanum tuberosum, Agrobacterium tumefaciens, Phytophthora infestans.

Analysis of peroxidases with polysaccharide-specific domains was carried out. Potato M21334 gene encoding peroxidase with the similar domain was selected for *Agrobacterium*-mediated plant transformation. Silenced plants were defective in lignin deposition in *Phytophthora infestans* infected sites and high-susceptible to the late blight.

ДИНАМИКА СНИЖЕНИЯ ФОТОХИМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ФОТОСИСТЕМЫ II В ЗИМНЕ-ЗЕЛЕННЫХ ПОБЕГАХ *EPHEDRA MONOSPERMA* ПРИ ФОРМИРОВАНИИ МОРОЗОУСТОЙЧИВОГО СОСТОЯНИЯ РАСТЕНИЙСофронова В.Е.¹, Антал Т.К.², Дымова О.В.³, Головки Т.К.³¹ФГБУН Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, пр. Ленина 41, г. Якутск, 678980, Россия, E-mail: vse07_53@mail.ru²ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Ленинские горы, д. 1, стр. 12, г. Москва, Россия, 119991³ФГБУН Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, ул. Коммунистическая, 28, г. Сыктывкар, 167982, Россия*Ephedra monosperma*, адаптация к низким температурам, пигменты, виолаксантиновый цикл, тушение флуоресценции Хл

В холодные периоды года, когда вечнозеленые растения не могут реализовать поглощенную пигментами световую энергию в фотохимических реакциях, избыточное освещение способствует образованию триплетных состояний хлорофилла (Хл) и АФК. Снижение фотохимической активности и увеличение тушения избыточной абсорбированной энергии в ФСII является эффективным способом предотвращения повреждения фотосинтетического аппарата [1-3].

Целью работы было изучение закономерностей снижения потенциальной фотохимической активности ФСII (FV/FM) в ассимилирующих побегах эфедры односемянной при переходе в морозоустойчивое состояние в естественных условиях.

Ephedra monosperma ex С.А. Meyer (сем. Ephedraceae Dumort) – вечнозеленый длиннокорневищный кустарничек высотой до 25-30 см. В опытах использовали побеги текущего года жизни растений, произрастающих на территории Ботанического сада Института биологических проблем криолитозоны СО РАН (62°15' с.ш., 129°37' в.д.). Опыты проводили в осенне-зимний период 2011–2012 гг.

Температуру воздуха и освещенность на опытном участке регистрировали с помощью термографа DS 1922L iBitton (“Dallas Semiconductor”, США), сенсора LI-190 (LI-COR, USA). Показатели индуцированной флуоресценции Хл а ФСII измеряли с помощью полевого многолучевого флуориметра PAM-2500 («Walz», Германия). Минимальную и максимальную флуоресценцию (FO и FM) определяли *in vivo* за 1 ч до восхода солнца, максимальный квантовый выход фотохимического преобразования энергии в ФС II рассчитывали как: $FV/FM = (FM - FO)/FM$. Абсолютные значения величин сигнала флуоресценции FO и FM с учетом содержания хлорофилла нормировали к значению сигнала FO от 10 августа 2011 г., приравненному к единице. С июля по сентябрь определения проводили в полевых условиях, после снижения температуры до отрицательных величин (октябрь-январь) срезанные побеги переносили в лабораторию и сразу же использовали для измерений.

Содержание Хл и каротиноидов (Кар) определяли спектрофотометрически в ацетоновых экстрактах зафиксированного в жидком азоте растительного материала. Для анализа индивидуальных Кар методом ВЭЖХ фиксированный в жидком азоте растительный материал предварительно высушивали на лиофилизаторе (“VirTis”, США). Полученные данные обрабатывали методом однофакторного дисперсионного анализа с уровнем значимости 0.05 в среде Microsoft Excel 2003.

Согласно нашим наблюдениям, средняя температура воздуха в середине августа составляла 16-18°C, в январе снижалась до -39...-45°C. Средняя ночная температура была на 3-5°C ниже. Начало заморозков отмечали в середине третьей декады сентября. Устойчивый переход ночной температуры через 0°C произошел в начале октября. Наступление среднесуточных отрицательных температур -3...-23°C наблюдали во второй половине октября. Снежный покров установился в конце октября. К середине ноября его толщина составила 20-25 см, в декабре-январе – 40-45 см. Основная масса побегов *E. monosperma* оказалась под снегом в начале ноября. Темпе-

ратура в толще снежного покрова на уровне побегов в декабре-январе была на 18-22°C выше температуры воздуха.

В летний период показатель FV/FM имел величину 0.82 отн. ед. Снижения FV/FM отмечали с начала сентября. В конце октября величина FV/FM составила около 0.35, в ноябре – январе, когда растения находились под снежным покровом при температуре -11...-22°C, величина FV/FM равнялась 0.32-0.33. Наибольшие сезонные изменения FV/FM происходили при снижении температуры от +8.0 до -10°C и не зависели от естественных колебаний интенсивности солнечной радиации.

В сезонной динамике FV/FM можно выделить три последовательные фазы, ассоциирующиеся с адаптивными изменениями комплексов ФСII. Первая фаза протекала в сентябре при понижении среднесуточной температуры до 2-8°C. Величина FV/FM снизилась на 13 % по отношению к летним значениям. В сентябре снижение FV/FM было обусловлено, главным образом, уменьшением FM и слабо выраженным, но достоверным увеличением FO. Снижение FM обычно связывают с тушением энергии в центрах ФСII в результате фотоингибирования РЦ – деградации D1 белка или KBK, образованием P680+, который тушит флуоресценцию [4]. Транзиторное повышение эмиссии FO связывают как с увеличением числа инактивированных РЦ ФСII в результате восстановления QA, так и с отсоединением ССКII от ФСII [5, 6]. Вклад механизма тушения энергии в антенных комплексах ФСII на первом этапе снижения FV/FM, по-видимому, незначителен, так как уровень FO не снижался, а долевое содержание зеаксантина (Зеа) при среднесуточных температурах +7..8°C было низким, около 3%.

Вторую фазу (фазу быстрого снижения FV/FM), отмечали с конца сентября до начала третьей декады октября при постепенном снижении среднесуточных температур воздуха от околонулевых до -8...-10°C. В этот период наблюдали одновременное снижение FO и FM. Данному этапу предшествовало увеличение содержания Зеа и Ант при околонулевых температурах до 24 и 4% соответственно. При восстановлении фотохимической активности ФСII зимних побегов *E. tomentosum* в комнатных условиях наблюдали обратный процесс уменьшения содержания Зеа, что сопровождалось увеличением FO. Очевидно, роль Зеа в тушении избыточной энергии в антенном комплексе ФСII становится существенной при снижении температуры до околонулевых значений и ниже. Накопление Зеа, PsbS, E1p1 -белков, а также повышенное фосфорилирование ССКII являются характерными признаками адаптации к низким температурам у многих морозоустойчивых растений [1]. Предположительно, эти белки и пигменты участвуют в формировании специализированных центров диссипации энергии в антенных комплексах и стабилизации агрегированных тримеров ССКII [2].

Третья фаза характеризуется постоянно низкими значениями FV/FM и наблюдается при дальнейшем снижении среднесуточной температуры до -15...-23°C. Уход растений под снежный покров в начале ноября исключает прямое воздействие солнечной инсоляции и существенно смягчает воздействие низких температур. Тем не менее, даже под снежным покровом значения FM и FO в ноябре-январе снижались (на 19 и 15%) относительно начала третьей декады октября, когда температура составляла -7...-10°C. По-видимому, при понижении температуры до -15...-23°C происходит дальнейшая разборка РЦ и замедление конформационных движений пигмент-белковых макромолекулярных структур в липидной фазе, способствующих созданию выгодных конфигураций для фотоингибиторного тушения. Конститутивное тушение энергии в антенных комплексах, а также эффективная передача энергии с ССК в РЦ ФСII обусловлены изменениями конформации белковых матриц, с которыми связаны молекулы пигментов [2].

Таким образом, нами установлено наличие трех последовательных этапов снижения фотохимической активности ФСII (FV/FM) и выявлены их температурные диапазоны при переходе растений *E. tomentosum* в морозоустойчивое состояние. Обосновано предположение о связи динамики FV/FM с запуском и функционированием конкретных механизмов тушения избыточно поглощенной световой энергии.

Литература

1. Zarter P., Adams W., Ebbert V., Cuthbertson D., Adamska I., Demmig-Adams B. Winter down-regulation of intrinsic photosynthetic capacity coupled with up-regulation of Elip-like proteins and persistent energy dissipation in a Subalpine forest // *New Phytol.* 2006. V. 172. P. 271 – 282.
2. Horton P., Wentworth M., Ruban A. Control of the Light Harvesting Function of Chloroplast Membranes: The LHCII_Aggregation Model for Non_Photochemical Quenching // *FEBS Lett.* 2005. V. 579. P. 4201–4206
3. 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.
4. Рубин А.Б. Биофизика Т. 2. М.: Изд-во МГУ, 2004. 468с.
5. Öquist G., Huner N.P.A. Photosynthesis of Overwintering Evergreen Plants // *Annual Reviews of Plant Biology.* 2003. V. 54. P. 329–355.
6. Yamane Y., Shikanai T., Kashino Y., Koike H., Satoh K. Reduction of QA in the dark: Another cause of fluorescence Fo increases by high temperatures in higher plants // *Photosynth. Res.* 2000. V. 63. P. 23-34.

DOWN REGULATION OF PS II PHOTOCHEMICAL EFFICIENCY IN THE PHOTOSYNTHETIC SHOOTS OF THE EVERGREEN PLANT *EPHEDRA MONOSPERMA* DURING FORMATION OF COLD RESISTANCE

Sofronova V.E., Antal T.K., Dymova O.V., Golovko T.K.

Ephedra monosperma, cold resistance, pigments, xanthophyll cycle, chlorophyll fluorescence quenching

The long-term response of FV/FM to temperature decreasing during autumn - winter period was studied. The three phases on the FV/FM curve were revealed which associated with temperature dropping and formation of cold resistance. The mechanisms of non-photochemical quenching chlorophyll fluorescence in PSII of *Ephedra monosperma* are considered.

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ИНДЕКСЫ УСТОЙЧИВОСТИ И АДАПТАЦИИ К ЗАСУХЕ КУКУРУЗЫ

Спанкулова З.Б.¹, Оразбаева У.М.¹, Ли Т.Е.¹, Омарова А.Ш.²

¹Институт биологии и биотехнологии растений, Алматы, 050040, Казахстан,

²Казахский научно-исследовательский институт земледелия и растениеводства, Алмалыбак, Казахстан, E-mail: tamaralee05@gmail.com

индексы засухоустойчивости, пролин, RWC, антиоксидантные ферменты, ПОД, СОД, индекс хозяйственного урожая

Введение

В свете нынешних экологических прогнозов, которые указывают на глобальное потепление климата и последующее возникновение засухи в вододефицитных регионах, которые представляют одну треть окультуренных земель в мире, возникает потребность в создании сельскохозяйственных культур, устойчивых к экстремальным условиям внешней среды, поражению болезнями и вредителями, дающих высокие урожаи зерна и зеленой массы. Кукуруза - одна из самых ценных сельскохозяйственных культур в мире по своим кормовым и продуктивным качествам.

Целью настоящего исследования являлась разработка физиолого-биохимических индексов засухоустойчивости для скрининга стратегически важной сельскохозяйственной культуры кукурузы на ранних этапах онтогенеза.

В качестве параметров, характеризующих физиологическое состояние растений в условиях стресса засухи, использовали относительное содержание воды (RWC) в листьях, содержание пролина и активность ферментов-антиоксидантов перекисного окисления липидов – пероксидазы (POD) и супероксиддисмутазы (SOD)

Материалы и методы

Объектами исследования являлись предположительно засухоустойчивые сортообразцы кукурузы из мировой коллекции: раннеспелые ИКВ-6 – Украина, Россия; ИК65-1 – Украина; стандарт 05438 – Казахстан, с периодом вегетации 100-110 дней.

Моделирование стресса засухи для кукурузы было проведено путем прекращения полива в фазу наибольшей потребности растений в воде – в фазу 3-5 листьев, когда происходит дифференциация зачаточного стебля и в фазу 15-20 дней до вымета метелки, когда идет закладка генеративных органов кукурузы. Образцы растений были отобраны на физиолого-биохимические анализы при появлении первых признаков увядания на 10 день развития стресса засухи.

RWC определяли в соответствии с Schonfeld [1], содержание пролина в образцах определяли по методу Bates [2]; активность POD определяли согласно методу Лебедева [3]; активность SOD определяли по методу Beauchamp [4]; содержание белка анализировали по методу Лоури [5].

Результаты и обсуждение

Определение RWC в листьях 2х верхних ярусов кукурузы в фазах 3-5 листьев и 20 дней до вымета метелки показало понижение искомого индекса примерно на 10-30% у всех испытуемых сортов (рис. 1 А,Б).

Биохимическое определение содержания пролина показало: в стрессированных растениях кукурузы в фазе 3-5 листьев наблюдалось повышение продуцирования пролина в 10 раз для ИКВ-6 и ИК65-1 (рис. 2, А), тогда как в фазе до вымета метелки было замечено повышение содержания пролина лишь в 2 раза для ИКВ-6 (рис. 2, Б).

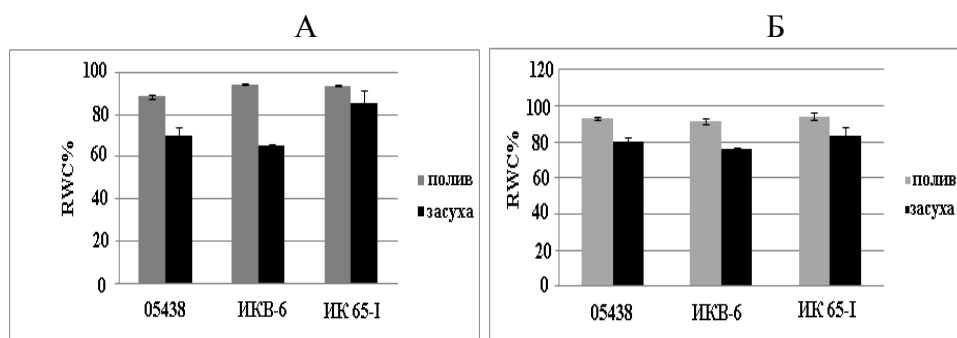


Рисунок 1 - RWC в листьях 2х верхних ярусов кукурузы на поливе и при засухе: А – фаза 3-5 листьев; Б – фаза 20 дней до вымета метелки

Figure 1 - RWC in maize leaves under irrigation and drought : A - 3-5 leaves stage, B - 20 days before panicle throwing stage

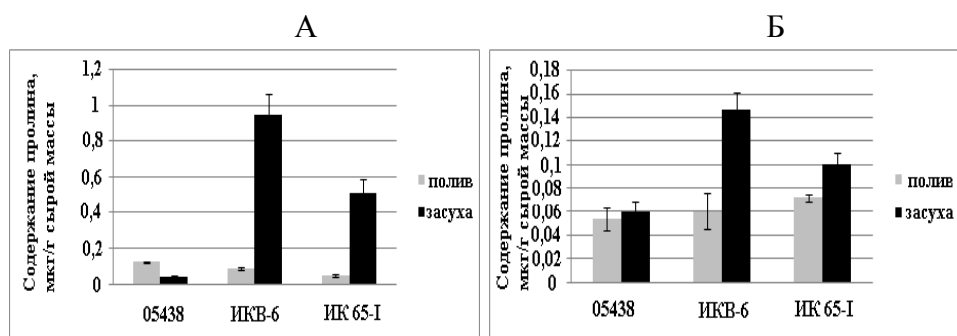


Рисунок 2 - Содержание пролина в листьях 2х верхних ярусов кукурузы на поливе и при засухе: А – фаза 3-5 листьев; Б – фаза 20 дней до вымета метелки

Figure 2 - The content of proline in maize leaves under irrigation and drought: A – 3-5 leaves stage, B – 20 days before panicle throwing stage

При определении ферментативной активности СОД в листьях кукурузы в фазе 3-5 листьев наблюдалось повышение активности на 25-40% для сортов ИК65-1 и ИКВ-6 (рис. 3, А). А в фазе до вымета метелки, наоборот, наблюдалось понижение активности СОД на 50% у сорта 05438 и в 4 раза у сорта ИКВ-6 (рис. 3, Б).

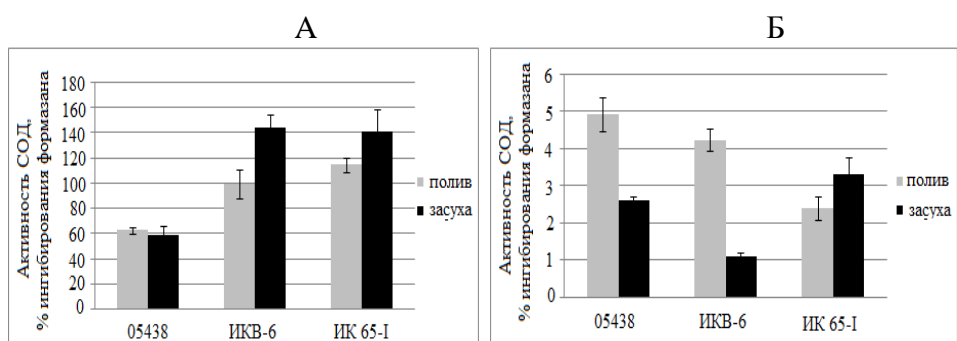


Рисунок 3 - Активность СОД в листьях 2х верхних ярусов кукурузы на поливе и при засухе: А – фаза 3-5 листьев; Б – фаза 20 дней до вымета метелки

Figure 3 - SOD activity in maize leaves under irrigation and drought : A – 3-5 leaves stage, B - 20 days before throwing panicle stage

Активность ПОД у кукурузы в фазе 3-5 листьев понижалась в условиях засухи для испытанных сортов (рис. 4, А), в то время как в фазе 20 дней до вымета метелки активность ПОД заметно повышалась, особенно у сорта ИК65-1 – на 40% (рис. 4, Б).

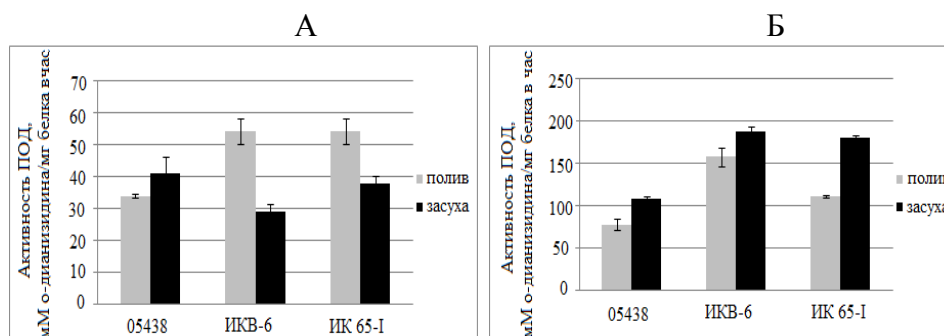


Рисунок 4 - Активность ПОД в листьях 2х верхних ярусов кукурузы на поливе и при засухе: А – фаза 3-5 листьев; Б – фаза 20 дней до вымета метелки

Figure 4 - POD activity in maize leaves under irrigation and drought: A - 3-5 leaves stage, B - 20 days before throwing panicle stage

Выводы

Таким образом, по результатам изучения физиолого-биохимических признаков засухоустойчивости и адаптации кукурузы обнаружена отчетливая коррелятивная связь между RWC, содержанием пролина, активностью ферментов-антиоксидантов СОД, ПОД и индексом хозяйственного урожая – «массе зерна с 1 растения» у сортообразцов кукурузы 05438 (Казахстан) и ИК65-I (Украина, Россия).

Литература

1. Schonfeld M.A., Johnson B.F., Mornhiweg D.W. Water relations in winter wheat as drought resistance indicator // Crop Sci. – 1988. - Vol.28. - P.526-531.
2. 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.
3. Лебедева О.В., Угарова Н.Н., Березин И.В. Кинетическое изучение реакции окисления о-дианизидина H₂O₂ в присутствии пероксидазы хрена / Биохимия. - 1977. - Т.42.- 1372-1379с.
4. Beauchamp C., Fridovich J. Superoxide Dismutase: Improved Assays and an Assay Applicable to Acrylamide Gels // Anal. Biochem. -1971.- V. 44. -P. 276-287.
5. Oliver H. Lowry, Nira J. Rosebrough, A.Lewis Farr and Rose J. Randall Protein measurement with the folin phenol reagent // J. Biol. Chem. -1951. –V.193. – P. 265-275.

PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL INDICES OF MAIZE DROUGHT TOLERANCE AND ADAPTATION

Spankulova Z.B., Orazbayeva U.M., Li T.E., Omarova A.Sh.

drought tolerance indices, proline, rwc, antioxidant enzymes, sod, pod

Under the condition of abiotic stress physiological and biochemical responses of plants may be tested on many parameters: the activity of antioxidant enzymes - peroxidase (POD) and superoxide dismutase (SOD), accumulation of proline in response to drought, the definition of relative water content (RWC). The study of these indices can reveal potential adaptation mechanisms of drought tolerance for plants.

In drought-tolerant plants dehydration of leaves under stress occurred less dramatic than in susceptible genotypes of maize *Zea mays*, and proline content was essentially increased. Noticeable changes in antioxidant enzymes activity were detected for maize at the 3-5 leaves and 20 days before throwing panicle vegetation stages, more sensitive to lack of water in response to drought.

ВЛИЯНИЕ АБК И ФЛУРИДОНА НА УРОВЕНЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА И СОДЕРЖАНИЕ ДИАМИНОВ В *MESEMBRYANTHEMUM CRYSTALLINUM* ПРИ ЗАСОЛЕНИИ

Стеценко Л.А.

ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая 35,
г. Москва, 127276, Россия, E-mail: larstet@mail.ru

Mesembryanthemum crystallinum L., солевой стресс, АБК, флуридон, МДА, пролин, диаминооксидаза, путресцин, кадаверин.

Работа посвящена изучению регуляции защитных реакций растений при засолении, в частности выяснению взаимосвязи между фитогормонами и полиаминами (ПА) – важнейшими регуляторами физиологических процессов в нормальных условиях и при действии стрессорных факторов [1]. Исследования взаимосвязи ПА и фитогормонов у растений в стрессорных условиях немногочисленны, однако они показывают, что фитогормоны (ИУК, цитокинины, АВА) регулирует метаболизм ПА на транскрипционном уровне в ответ на стресс [1-3]. Объектом данного исследования был выбран факультативный галофит хрустальная травка (*Mesembryanthemum crystallinum* L.), способный повышать эндогенный уровень АБК при стрессе и отличающийся, тем, что содержит в растительных тканях полный спектр ПА, включая редкий для высших растений диамин кадаверин [4].

В ряде работ для выяснения роли АБК при стрессе изучали ответ растений на действие экзогенного гормона. Установлено, что обработка АБК листьев арабидопсиса, проростков риса или корней фасоли [3] повышала устойчивость растений к солевому стрессу. Представляло интерес оценить ответ растений на солевой стресс в условиях, когда имеется избыточное содержание АБК (действие экзогенной АБК) и в условиях дефицита АБК. С этой целью использовали препарат флуридон, который является гербицидом, поглощается главным образом корнями растений и ингибирует биосинтез хлорофилла, АБК и каротиноидов (на этапе фитиновой десатуразы) [5].

Семена *M. crystallinum* проращивали во влажном перлите, проростки в возрасте 2-х недель рассаживали по одному в сосуды с питательной средой Джонсона модифицированной по Winter K. [6] и выращивали в условиях водной культуры в фитотроне при 12-часовом фотопериоде с освещенностью 200-210 мкЕ/м²*сек, температуре воздуха 23±1оС/15±1оС (день/ночь) и относительной влажности воздуха 55% и 70% днем и ночью соответственно. Питательную среду в сосудах меняли каждые 5 - 6 сут..

Растения, достигшие возраста 6 недель (ювенильная фаза, до образования боковых побегов), разделили на 3 группы по 20 растений в каждой: а) контроль на стандартной питательной среде; б) питательная среда, содержащая 1 мкМ АБК; в) питательная среда, содержащая 5 мг/л флуридона (Sigma-Aldrich, USA). Через 24чполовину растений из каждой группы подвергли засолению путем однократного добавления в питательную среду NaCl до концентрации 300 мМ.

Физиологические параметры каждой группы растений оценивали спустя 3 сут и 6 сут выращивания в указанных выше условиях засоления, одновременно фиксировали образцы листьев и корней в жидком азоте, которые хранили при температуре –70°С до проведения биохимических анализов.

Содержание малонового диальдегида (МДА) как показателя перекисного окисления липидов определяли по методу Heath R.L. и Parker L. [7].

Содержание пролина определяли по методу Bates L.S. с соавт. [8].

Свободные ПА определяли методом ВЭЖХ в виде бензоильных производных на жидкостном хроматографе высокого давления HP 1090 ("Hewlett-Packard", США) [9].

Активность диамина оксидазы определяли методом Sona A. с соавт. [10].

Обработку данных проводили методами параметрической статистики в среде Microsoft Excel 2007 и выражали в виде средних из трех повторов \pm стандартная ошибка.

В предварительных опытах было показано, что в растениях, обработанных экзогенной АБК, её содержание повышалось по сравнению с контрольными растениями, и снижалось в растениях, обработанных флуридоном (данные не приведены). В результате выращивания растений в условиях засоления (6 сут, 300 мМ NaCl) наилучшие показатели прироста биомассы и фотосинтетической деятельности были получены для группы растений, обработанных 1 мкМ АБК. По сравнению с растениями, которые выращивались на среде 300 мМ NaCl, растения, обработанные АБК, увеличили прирост надземной массы на 50%, при этом в листьях было отмечено понижение уровней пролина в среднем в 2,4 раза, а перекисного окисления липидов, оцениваемого величиной МДА, в 2,5 - 3 раза. У растений, обработанных флуридоном, наблюдали обесцвечивание молодых верхушечных листьев, что свидетельствовало о нарушении функций фотосинтетического аппарата. Растения, выращиваемые на среде, содержащей NaCl и флуридон, имели наименьший прирост биомассы, а показатели окислительного стресса (по уровням свободного пролина и МДА) превышали соответствующие значения для растений, выращенных на среде 300 мМ NaCl.

В отсутствие засоления в растениях, обработанных АБК и флуридоном, содержание диаминов путресцина (Пут) и кадаверина (Кад) незначительно отличалось от контрольных вариантов. Присутствие 300 мМ NaCl в среде способствовало снижению содержания Пут в листьях, особенно в растениях обработанных АБК (в среднем в 10 раз по сравнению с контролем). Падение уровня Пут в стрессовых условиях объясняется вовлечением Пут в синтез защитных ПА - спермидина и спермина [1]. Напротив содержание диамина Кад в листьях при засолении повысилось по сравнению с контрольными значениями (в 2 - 3 раза), что указывает на отличия в функции этих диаминов. Кад является продуктом другого метаболического пути, идущего от аспартата, и образуется при декарбоксилировании лизина [1]. Показано, чем выше окислительный стресс в растениях, тем больше Кад транспортируется из корней в листья [4].

Определение активности диамин оксидазы (ДАО) во всех группах растений показало, что активность этого фермента в корнях значительно выше (до 0,6 мкмоль пероксида/мг белка*мин), чем в листьях (0,04 - 0,06 мкмоль пероксида/мг белка*мин). На фоне засоления активность ДАО в корнях возрастает практически в 2 раза. Усиление активности ДАО может свидетельствовать о её возможной роли в индукции защитного ответа у растений. Высокая активность ДАО в корнях согласуется с уменьшением содержания Пут в листьях. Относительно Кад можно предположить, что повышение содержания этого диамина в листьях при солевом стрессе вызвано его транспортом из корней в листья и стресс-индуцированным синтезом *de novo* [4]. В условиях эксперимента не наблюдали ингибирование активности ДАО в растениях обработанных АБК и флуридоном.

В результате полученных данных установлено, что предобработка растений 1 мкМ АБК в условиях засоления значительно улучшила их физиологическое состояние, которое проявилось в повышении прироста биомассы, снижении показателей окислительного стресса, в отличие от растений, испытывавших дефицит гормона АБК в результате действия флуридона. Показано, что экзогенная АБК влияет на количественное содержание Пут и Кад в листьях хрустальной травки при солевом стрессе, что свидетельствует о регулирующей роли АБК на метаболизм биологически активных диаминов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 10-04-90417-Укр_а.

Литература

1. Kusnetsov V.I., Shevyakova N.I. Polyamines and Stress Tolerance of Plants. Invited Review // Plant Stress. 2007. V. 1. P. 50-71.
2. Alcazar R., Cuevas J. C., Patron M., Altabella T., Tiburcio A.F. Abscisic Acid Modulates Polyamine Metabolism Under Water Stress in *Arabidopsis thaliana* // Physiologia Plantarum. 2006. V. 128. P. 448-455.
3. Khadri M., Tejera N.A., and Lluch C. Alleviation of salt stress in common bean (*Phaseolus vulgaris*) by exogenous abscisic acid supply // J. Plant Growth Regul. 2006. V. 25. P. 110-119.

4. Shevyakova N.I., Stetsenko L.S., Kuznetsov V.I.V. Exogenous cadaverine induces oxidative burst and reduces cadaverine conjugate content in the common ice plant // *Journal of Plant Physiology*. 2009. V. 166. P. 40-51.
5. Š. Klíčová, J. Šebánek, M. Hudeová, H. Vítková, H. Vlašínová The effect of fluridone and flurochloridone on the incidence of albinism in pea (*Pisum sativum*) and on the abscission of leaves of privet (*Ligustrum vulgare*) // *Rostlinna výroba*. 2002. V. 48 (6). P. 255–260.
6. Winter K., Holtum J.A.M. Environment or Development? Lifetime Net CO₂ Exchange and Control of the Expression of Crassulacean Acid Metabolism in *Mesembryanthemum crystallinum* // *Plant Physiol*. 2007. V. 143. P. 98–107.
7. Heath R.L., Packer L. Photoperoxidation in Isolated Chloroplasts. Kinetics and Stoichiometry of Fatty Acid Peroxidation // *Arch. Biochem. Biophys.* 1968. V. 125. P. 189–198.
8. 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.
9. Ракитин В.Ю., Прудникова О.Н., Стеценко Л.А., Шевякова Н.И. Определение свободных и связанных полиаминов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. В сб.: Молекулярно-генетические методы в современной биологии растений под ред. Вл.В. Кузнецова и др. – М.: БИНОМ. 2011. С. 337-347.
10. Cona A, Cenci F, Cervelli M, Federico R, Mariottini P, Moreno S, Angelini R. Polyamine oxidase, a hydrogen peroxide-producing enzyme, is up-regulated by light and down-regulated by auxin in the outer tissues of the maize mesocotyl // *Plant Physiol*. 2003. V. 131(2). P. 803-13.

EFFECT OF ABA AND FLURIDONE TREATMENT ON THE LEVEL OXIDATIVE STRESS AND DIAMINE CONTENT OF *MESEMBRYANTHEMUM CRYSTALLINUM* UNDER SALINITY

Stetsenko L.A.

Mesembryanthemum crystallinum L., salt stress, ABA, fluridone, MDA, proline, diamine oxidase, putrescine, cadaverine

Studied the regulation of defense reactions of plants under salinity, in particular the relationship between plant hormones and polyamines. Found that pretreatment plants 1 μM ABA in saline conditions improves the physiological state of plant *Mesembryanthemum crystallinum*. Confirmed the regulatory role of ABA on the metabolic rate of biologically active diamine putrescine and cadaverine.

ПРОЯВЛЕНИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ПРИКАМБИАЛЬНОЙ ЗОНЕ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ ИЗ НАСАЖДЕНИЙ, ПРОЙДЕННЫХ НИЗОВЫМИ ПОЖАРАМИ РАЗЛИЧНОЙ СИЛЫ

Судачкова Н.Е., Милюткина И.Л., Романова Л.И., Косов И.В., Собачкин Д.С.

ФГБУН Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН, Академгородок, 50/28, г. Красноярск, 660036, Россия, E-mail: biochem@ksc.krasn.ru

*сосна обыкновенная,, окислительный стресс, антиоксидантная защита, низовые пожары***Введение**

В условиях Сибири лесные биоценозы подвержены действию постоянно и периодически действующих негативных экологических факторов. Из периодически действующих факторов наиболее актуально влияние пожаров, вызывающих стрессовые реакции деревьев. В качестве маркеров повреждений растений могут выступать показатели окислительного стресса, возникающего в ответ на тепловой шок. Наиболее чутко на стрессовые условия реагирует прирост по диаметру вследствие снижения интенсивности процесса ксилогенеза, обусловленного деятельностью камбия. Сопоставление интенсивности развития окислительного стресса и активности антиоксидантной системы в прикамбиальной зоне деревьев позволит прогнозировать степень устойчивости деревьев к тепловому повреждению.

Объекты и методы

Объектом исследования служили естественные насаждения сосны обыкновенной (*Pinus silvestris* L.) зеленомошно-разнотравной группы типов леса 2-3 класса возраста, в Сухобузимском районе Красноярского края на дерново-подзолистых почвах. Для проведения исследования выбраны опытные и соответствующие им контрольные участки, на которых заложены 4 постоянных пробных площади (п.п.) размером до 0,4 га. На каждой пробной площади проводилось контролируемое выжигание, имитирующее низовые пожары слабой и средней силы последовательно на разных этапах вегетационного периода: 1 п.п. - 1 июня, 2 п.п. - 2 июля, 3 п.п. - 31 июля и 4 п.п. - 17 сентября. Интенсивность теплового воздействия в камбиальной зоне ствола фиксировались термомпарами, установленными в камбиальную зону ствола. После пожара отбирались образцы хвои и прикамбиальной зоны ствола для анатомического и биохимического анализов. Для биохимических анализов использовали хвою из верхней и нижней части кроны и соскоб прикамбиальной зоны, включающий клетки камбия и недифференцированные клетки флоэмы и ксилемы со стволов 5ти доминирующих и 5-8 угнетенных деревьев с опытных и контрольных участков. Для определения концентраций веществ и активности ферментов использовались спектрофотометрические методы. Содержание хлорофиллов а и б и каротиноидов в хвое определяли в этанольных экстрактах [1]. В прикамбиальной зоне проводилось определение содержания пероксида водорода [2], малонового диальдегида (МДА) [3], активности ферментов, обеспечивающих антиоксидантную защиту: супероксиддисмутазы (СОД) [4], гваяколовой пероксидазы [5], каталазы [6], глутатионредуктазы [7]. Содержание белка определяли по Лоури. Результаты рассчитывали на единицу абсолютно сухого вещества или белка.

Результаты и обсуждение

Древостои на пробных площадях были одного класса возраста, близкими по средней высоте, диаметру и протяженности кроны.

В зависимости от температуры и влажности, скорости ветра и состояния горючего материала низовые пожары на пробных площадях существенно отличались высотой пламени и скоростью продвижения кромки пожара. Для п.п. 1 эти показатели составляли 0,5-1 м и 0,44 м/мин, для п.п.2 соответственно 0,2 – 0,3 м и 0,46 м/мин, для п.п.3 - 0,3 – 0,4 м и 0,19 м/мин, для п.п.4 – 0,2 м и 0,33 м/мин. Таким образом, на 1п.п. пожар достигал средней силы, на остальных площадях пожар был слабой силы. Низовые пожары в первую очередь представляют опасность для деревьев с тонкой корой. К этой категории относятся угнетенные экземпляры, испытывающие

конкуренцию со стороны доминирующих деревьев, что привело к уменьшению толщины коры в два раза. Для анализов отбирался материал как с угнетенных, так и с доминирующих деревьев.

Различия в толщине коры обусловили различия температуры в прикамбиальной зоне деревьев. Так на п.п.1 температура прикамбиальной зоны поднялась во время прохождения низового пожара с исходных 17°C до 95°C у угнетенных деревьев и с 17 °C до 37°C у доминирующих, на п.п.2 соответственно с 24 °C до 53°C и с 21°C до 37°C, на п.п.3 с 27°C до 43 °C и с 25°C до 37°C, на п.п.4 с 21 °C до 45 °C , и с 15°C до 30 °C. Поскольку интенсивность низовых пожаров в течение вегетационного периода была различной, различалась и температура конвективного потока в нижней части кроны: на 1п.п. она составляла 51 °C, на 2 п.п. 27 °C, на 3п.п.31 °C, на 4 п.п.29 °C. Повышение температуры изменило концентрацию фотосинтетических пигментов: хлорофиллов а и б и каротиноидов. Существенные изменения содержания хлорофиллов и каротиноидов обнаружены только в хвое угнетенных деревьев на 1п.п. (где наблюдались максимальные значения температуры конвективного потока). Сумма хлорофиллов а и б составила для верхней и нижней частей кроны 51% и 37% от контроля, содержание каротиноидов - 43% и 27% соответственно, кроме того увеличилось отношение хлорофиллы:каротиноиды в опыте в верхней и нижней частях кроны (6,4 и 7,2) по сравнению с контролем (5,4 и 3,4). Поскольку каротиноиды участвуют в антиоксидантной защите тканей, такое резкое падение свидетельствует об истощительной стадии стресса.

Интенсивность окислительного стресса обычно оценивается по накоплению в тканях пероксида водорода – одной из сравнительно долгоживущих активных форм кислорода. Под влиянием низового пожара отмечено существенное повышение содержания пероксида водорода на 1,2,3 пп в прикамбиальной зоне доминирующих деревьев (830%, 139%,131% от контроля) и на 1 и 2пп - угнетенных деревьев (244% и 138%), что явно свидетельствует об усилении окислительного стресса. На 4пп для всего древостоя отмечается снижение этого показателя, что объясняется низкой температурой в камбиальной зоне (30°C). В целом, очевидно, что низовой пожар вызывает накопление пероксида водорода в камбиальной зоне, что свидетельствует об окислительном стрессе, причем проявления стресса сильнее выражены у подчиненной части древостоя.

Интенсивность перекисного окисления липидов оценивали по накоплению малонового диальдегида (МДА), образующегося в этом процессе. Достоверное повышение содержания МДА под действием пожара отмечено только на пп1 у угнетенных деревьев(163%) и на пп2 – у доминирующих (138%), в остальных случаях содержание МДА или достоверно не отличается или ниже контроля, что не позволяет сделать определенного вывода о диагностическом значении этого признака.

Интенсивность работы антиоксидантной системы прослеживалась по сравнительной динамике активности оксидоредуктаз. Как было показано нами ранее, среди исследованных оксидо-редуктаз хвои сосны обыкновенной, на стрессовые воздействия повышением активности реагирует пероксидаза [8]. На трех из четырех пробных площадях у доминирующих деревьев наблюдалось двух-пятикратное увеличение активности фермента. В прикамбиальной зоне угнетенных деревьев на пп1, где температура достигала 95°C, активность фермента отсутствовала, на пп3 и пп4 она снизилась почти вдвое и лишь на пп 2 она оказалась выше контрольных значений.

Характер изменений активности каталазы в ответ на гипертермию сходен с пероксидазой но уровень активности намного ниже.

Активность СОД у доминирующих деревьев снижена по сравнению с контролем на всех пробных площадях и составляет 22-78% от контроля, в прикамбиальной зоне угнетенных деревьев активность не отличается от контроля. Таким образом, на тепловой шок, вызванный пожаром, СОД снижает активность или не реагирует.

Важную роль в антиоксидантной защите растения выполняет глутатионредуктаза, обычно реагирующая повышением активности на окислительный стресс. В нашем опыте под влиянием теплового шока активность фермента снижалась вплоть до полного исчезновения.

Заключение

Таким образом, свидетельством проявления окислительного стресса в прикамбиальной зоне сосны в условиях пирогенного воздействия является накопление пероксида водорода. Основную роль в нейтрализации окислительного стресса выполняет пероксидаза, менее активна каталаза, СОД и глутатионредуктаза теряют защитную функцию в условиях теплового шока, вызванного низовым пожаром. Различия в реакции ферментов и оксидантов на тепловой шок у доминирующих и угнетенных деревьев показывает зависимость от интенсивности стрессового воздействия и взаимодействия различных стрессовых факторов. В целом низовые пожары слабой и средней силы не вызывают необратимых изменений в редокс-статусе прикамбиальной зоны доминирующих деревьев вследствие сохранения функций антиоксидантной системы, тогда как для подчиненной части древостоя существует реальная угроза повреждения клеток активными формами кислорода.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 12-04-00334

Литература

1. Шлык А. А. Определение хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев // Биохимические методы в физиологии растений. М. 1971. С. 154-170.
2. Velikova V., Jordanov I., Edreva A. Oxidative stress and some antioxidant system in acid-rain treated bean plants: Protective role of exogenous polyamines // Plant Sci. 2000. V.151, No 1, P.59-66.
3. Dipierro S., Leonardis S.D. The Ascorbate system and lipid peroxidation in stored potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers // J. Exp. Bot. 1997. V. 48. No 3, P. 779-783.
4. Kumar G. N. M., Knowles N. R. Changes in lipid peroxidation and lipolytic and free-radical scavenging enzyme activities during aging and sprouting of potato (*Solanum tuberosum*) seed-tubers // Plant Physiol. 1993. V.102. No 1. P.115-174.
5. Putter J. Peroxidases. Methods of enzymatic analysis. Weinheim -New York- San Francisco-London: Verlag Chemie. 1974. V 2. P. 685-690.
6. Aebi H. Catalase. Methods of enzymatic analysis. Weinheim-New York-San Francisco-London: Verlag Chemie. 1974. V. 2. P. 673-684.
7. Polle A., Chakrabarti K., Schürmann W., Renneberg H. Composition and properties of hydrogen peroxide decomposing systems in extracellular and total extracts from needles of Norway spruce (*Picea abies* L., Karst.) // Plant Physiol. 1990. V. 94, No1. P. 312-319.
8. Милютина И. Л., Судаchkova Н. Е., Романова Л. И. Активность антиоксидантной системы в хвойных древостоях разной густоты // Лесоведение. 2012. № 3. С.69-76. Volume:

OXIDATIVE STRESS MANIFESTATIONS IN CAMBIUM ZONE OF SCOTS PINE STANDS SUBJECTED TO GROUND FIRES OF VARYING STRENGTH

Sudachkova N.E., Milyutina I.L., Romanova L.I., Kosov I.V., Sobachkin D.S.

Pinus sylvestris, oxidative stress, antioxidant protection, ground fires

It is shown that ground fires low and moderate strength represent a danger to the subordinate part of the stand with a small diameter and thin bark. Oxidative stress in the cambium zone manifested in accumulation of hydrogen peroxide. A major role in neutralization of oxidative stress after ground fires belong to peroxidase.

АДАПТИВНЫЕ РЕАКЦИИ У ВИНОГРАДА РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА АБИОТИЧЕСКИЕ СТРЕССОРЫ ПЕРИОДА ВЕГЕТАЦИИ

Сундырева М.А.

ГНУ Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства, ул. 40-лет Победы, 39, г. Краснодар, 350901, Россия, E-mail: kubansad@kubannet.ru

виноград, эколого-географическое происхождение, адаптивность, абиотические стрессоры, засухоустойчивость, жаростойкость

Введение

Возделываемые сорта винограда представлены в основном видом *V. vinifera* L., межвидовыми гибридами *V. vinifera* L. и амурским виноградом *V. amurensis* Rupr. или сортами американского происхождения (гибриды прямые производители, *V. labrusca* L. и др.). Степень и характер адаптации к различным абиотическим стресс-факторам у этих сортов различна, что связано с особенностями их происхождения. За последние 10 лет на юге России повторяемость экстремально холодных зим ($t^{\circ}\text{C} \leq -22^{\circ}\text{C}$) составляет 40 %, а засух (ГТК по Селянинову Г.Т. за вегетацию ниже 0,5) – 30%. В таких условиях отмечаются потери урожая и гибель виноградников [1]. Существует необходимость установления специфических особенностей ответа растений на внешние воздействия с целью управления адаптивным и продукционным потенциалом растений.

Материалы и методы

Объектами исследований являлись 10 столовых сортов винограда различного происхождения: сорта *V. vinifera* L. западноевропейской (Мадлен Анжевин), бассейна Черного моря (Чауш белый, Яй изюм розовый, Пухляковский), восточной (Нимранг, Чарас мускатный) эколого-географических групп, межвидового евро-амурского (Восторг, Краса Севера) и евро-американского (Эллада, Кутузовский) происхождения, 1996 года посадки, по схеме 3,5 x 2 м, форма кустов – двусторонний высокоштамбовый кордон Казенава, подвой Кобер 5ББ. Содержание связанной и свободной воды в листьях определяли весовым методом по М.Д. Кушниренко [2], проницаемость мембран — кондуктометрическим методом на приборе Агат 2М по методике Н.Н. Кожушко [3], аминокислот, фенолкарбоновых кислот, ионов Ca^{2+} — методом капиллярного электрофореза на приборе Капель 104Т, [4], содержание углеводов – по Воробьеву [5], белков – по Гавриленко [6].

Результаты и обсуждение

Соотношение связанной и свободной воды, характеризующее устойчивость растений к потере воды, зависело от условий увлажнения и температуры. Однако, не удалось выявить четкой зависимости этого показателя от погодных условий по группам происхождения винограда.

Содержание связанной воды в листьях винограда зависело в большей степени от содержания аминокислоты пролина в листьях, однако у сортов Яй изюм розовый (группа бассейна Черного моря), Нимранг (восточная группа) и межвидового происхождения отмечается зависимость количества связанной воды в листьях от содержания сахарозы (табл.1).

У сортов межвидового происхождения Краса Севера и Эллада коэффициент корреляции между содержанием связанной воды и содержанием пролина был ниже, чем у остальных сортов. Эти сорта отличались средними и низкими показателями соотношения связанной и свободной форм воды. Можно предположить, что во время засухи недостаточно устойчивые сорта «не успевают» синтезировать достаточно осмолитов, и связывание воды в вегетативных органах осуществляется за счет сахарозы.

Устойчивость винограда к повышенным температурам определяли в модельном опыте при $+55^{\circ}\text{C}$ по коэффициенту повреждения мембран (КП, %) высокой температурой (рис.1).

Таблица 1 — Коэффициент корреляции содержания связанной формы воды в листьях винограда и содержанием пролина и сахарозы

Table 1 - The correlation coefficient of the bound form of water content in the leaves of the grape and the content of proline and sucrose

Сорт	К кор с сод-ем пролина	К кор с сод-ем сахарозы
Мадлен Анжевин	0,76	0,44
Чауш белый	0,81	0,28
Яй изюм розовый	0,96	0,62
Пухляковский	0,97	0,35
Нимранг	0,92	0,65
Чарас мускатный	0,42	0,40
Восторг	0,92	0,70
Краса Севера	0,63	0,56
Кутузовский	0,72	0,50
Эллада	0,70	0,37

В течение периода вегетации с июня по август происходит снижение коэффициента повреждения мембран. В августе этот показатель минимален. В этот период наиболее жаростойкими были листья сортов восточной эколого-географической группы *V. vinifera* L. (Нимранг, Чарас мускатный) и всех сортов межвидового происхождения (рис. 1).

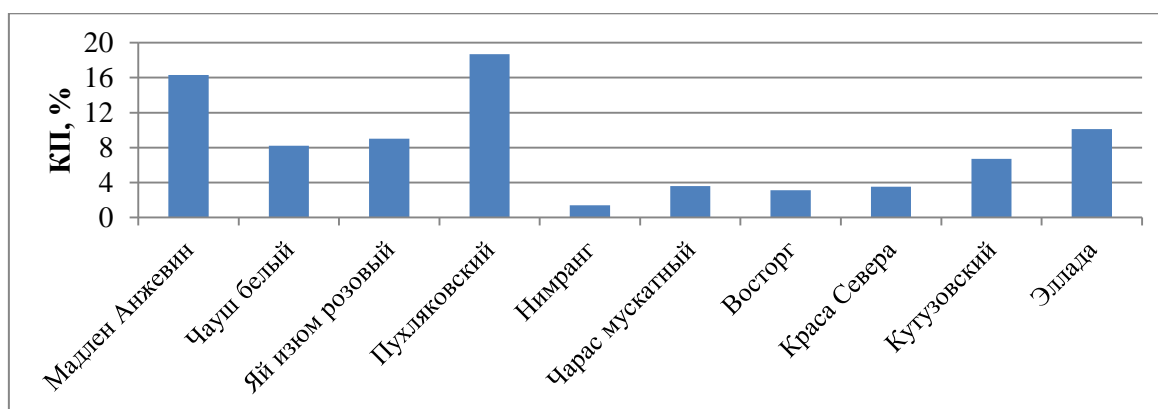


Рисунок 1 – Коэффициент повреждения мембран при высокой температуре, % (среднее за 3 года)

Figure 1 - the membrane damage coefficient at high temperature,% (average over 3 years)

Зависимость устойчивости листьев винограда к высокотемпературному воздействию от биохимических показателей представлена в таблице 2.

Выводы

Четкой зависимости устойчивости к обезвоживанию от погодных факторов у сортов различного эколого-географического и видового происхождения обнаружено не было. У изученных сортов винограда отмечается зависимость содержания связанной воды в листьях от содержания пролина. У отдельных сортов межвидового происхождения (Краса Севера, Эллада), обладающих невысокой устойчивостью, в связывании воды в листьях участвует сахароза. Можно предположить, что во время засухи недостаточно устойчивые сорта «не успевают» синтезировать достаточно осмолитов, и связывание воды в вегетативных органах осуществляется за счет сахарозы. Наибольшей жаростойкостью характеризуются сорта восточной эколого-географической группы (Нимранг, Чарас мускатный), межвидового происхождения (Восторг, Краса Севера, Кутузовский). Устойчивость к повреждению высокой температурой определяется накоплением Ca^{2+} , аскорбиновой и фенолкарбоновых кислот, увеличением содержания белка в листьях различных по происхождению сортов.

Таблица 2 — Зависимость КП от суммы фенолкарбоновых кислот и аскорбиновой кислоты, содержания ионов Ca²⁺, белка (К корреляции)

Table 2 - The dependence of coefficient of membrane damage of the amount of phenol carbonic acids and ascorbic acid content of Ca²⁺ ions, protein (K correlation)

Сорт	КП / Ca ²⁺	КП / Сумма фенолкарбоновых кислот и аскорбиновой кислоты	КП / Содержание белка
Мадлен Анжевин	-0,19	-0,63	0,07
Чауш белый	0,71	0,52	-0,22
Яй изюм розовый	-0,89	0,99	-0,1
Пухляковский	0,74	0,79	-0,06
Нимранг	-0,79	-0,32	-0,93
Чарас мускатный	0,17	0,21	-0,68
Восторг	-0,78	-0,58	-0,49
Краса Севера	0,95	0,15	-0,08
Кутузовский	-0,87	-0,04	-0,25
Эллада	-0,44	0,18	0,34

Литература

1. Петров, В.С. Селекционно-технологические методы повышения стрессоустойчивости винограда / В.С. Петров, И.А. Ильина, Т.А. Нудьга, М.А. Сундырева // Методы и способы повышения стрессоустойчивости плодовых культур и винограда. - Краснодар, 2009. – С. 144-156.

2. Кушниренко М.Д., Печерская С.Н. Физиология водообмена и засухоустойчивости растений — Кишинев.: Штиинца. – 1991. – 306 с.

3. Кожушко Н.Н. Выход электролитов как критерий оценки засухоустойчивости и особенности его использования для зерновых / Методы оценки устойчивости растений к неблагоприятным условиям среды. - Л.-д: Колос, 1976.— С. 32-43.

4. Методическое и аналитическое обеспечение исследований по садоводству. – Краснодар: ГНУ СКЗНИИСиВ. – 2010. – 300 с.

5. Воробьев Н.В. Определение содержания сахарозы, фруктозы и глюкозы в растительных тканях с помощью антронного реактива // Бюллетень НТИ ВНИИ РИСА. — Краснодар, 1985. — Вып 33. – С. 11-13

6. Гавриленко, В.Ф. Большой практикум по физиологии растений / В.Ф. Гавриленко, М.Е. Ладыгина, Л.М. Хандобина — М: Высшая школа, 1975. – 392 с.

ADAPTIVE RESPONSES OF GRAPES OF DIFFERENT ORIGIN ON ABIOTIC STRESSORS OF THE GROWING SEASON

Sundyreva M.A.

grapes, ecological and geographical origin, adaptability, abiotic stressors, drought resistance, heat resistance

Features of adaptive responses of grapes of different origins to abiotic stressors of the growing season are presented in the article. Clear dependence of resistance to dehydration from weather in different origin varieties was not found. Content of bound water in the leaves was dependent on the content of proline. Sorts the eastern group (Nimrang, Charas muscatny), interspecific origin (Vostorg, Krasa Severa Kutuzovskiy) have the highest heat resistance. Resistance to heat damage determined by the accumulation Ca²⁺, ascorbic acid and phenol carbonic acids, increase the protein content in the leaves.

АНАЛИЗ РОЛИ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ СИГНАЛОВ В ИЗМЕНЕНИИ УСТОЙЧИВОСТИ ФОТОСИНТЕЗА ПРИ ВЫСОКОТЕМПЕРАТУРНОМ ПРОГРЕВЕ ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM L.*)

Сурова Л.М., Шерстнева О.Н., Гаспирович В.В., Воденеев В.А., Сухов В.С.

ФГБОУ ВПО «Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского – национальный исследовательский университет», Гагарина пр., 23, г. Нижний Новгород, 603950, Россия, E-mail: lyubovsurova@mail.ru

высшие растения, переменный потенциал, нагревание, фотосинтез, транспирация

Введение

В естественных условиях растения подвержены действию высокотемпературного стресса, адаптация к которому является важным механизмом для выживания растения. Известно, что электрические сигналы (ЭС), представленные у растений потенциалом действия и переменным потенциалом (ВП), могут влиять на функциональное состояние (в том числе и на фотосинтез и дыхание) и играть определённую роль в повышении устойчивости растения к действию неблагоприятных факторов растения [1], однако эта роль остаётся слабо изученной. Особенно интересно влияние ЭС на устойчивость фотосинтетического аппарата к действию высоких температур, поэтому изучение влияния на адаптивные процессы в растениях остаётся весьма актуальной научной задачей.

Материалы и методы

Исследования проводили на двухнедельных проростках гороха *Pisum sativum L.* (сорт Альбумен). Проростки выращивали в климатической камере KBW-240 при освещении люминесцентными лампами (6900 люкс, 16-часовой световой период) и температуре +27 °С. В качестве субстрата использовали керамзит, питательным раствором служила 50% среда Хогланда-Арнона.

Регистрация электрических сигналов осуществляли с использованием стандартной электрофизиологической установки для внеклеточного отведения, состоящей из двух пар Ag/AgCl-макроэлектродов ЭВЛ-1МЗ, высокоомного усилителя ИПЛ-113 и ПК. Электроды приводили в контакт с поверхностью растения через каплю электропроводящего геля. Первый измерительный электрод контактировал с центром листа, второй – со стеблем у основания черешка этого же листа. Электроды сравнения контактировали с раствором, омывающим корни. В качестве раздражителя использовали ожог одного из листьев открытым пламенем (2-3 сек).

Анализ параметров фотосинтеза осуществляли с помощью РАМ-флуориметра Dual-РАМ-100 и инфракрасного газоанализатора GFS-3000 (Heinz Walz GmbH, Germany). Локальный прогрев листа осуществляли с помощью измерительной головки Cuvette 3010-Dual.

Результаты и обсуждение

Ожог листа вызывал индукцию и распространение ВП разнообразной формы, с длительностью ~ десятки минут, который в большинстве случаев проходил в соседние листья, амплитуда реакции при этом составляла 44 ± 6 мВ в нестимулированной пластинке листа и 66 ± 3 мВ в стебле. При этом существенно уменьшились квантовые выходы фотосистем I и II ($\gamma(\text{PSI})$, $\gamma(\text{PSII})$). Динамика ответов фотосинтеза имела многофазный характер - быстрые изменения развивались в течение 10 мин, более медленные от 30 мин. Потенциальными механизмами индукции быстрой инактивации фотосинтеза могут являться вход протонов у высших растений [2,3] и приток ионов кальция в хлоропласты водорослей [4,5]. Долговременная инактивация фотосинтеза может быть связана с повышением содержания жасмоновой и абсцизовой кислот [6,7]. В нескольких случаях, ВП распространялся по стеблю, но электрическая реакция в листовой пластинке была небольшой (<15 мВ) и ответа фотосинтеза и транспирации не наблюдалось. Этот результат подтверждает участие ВП в индукции фотосинтетических ответов.

Можно предполагать, что вызванный ЭС фотосинтетический ответ может изменять реакцию фотосинтетического аппарата на прямое действие стресс-фактора, в частности, прогрева.

Анализ влияния ВП на фотосистемы I и II показал, что при прогреве в диапазоне 43 °С до примерно 44-45 °С конечные значения $\gamma(\text{PSI})$ и $\gamma(\text{PSII})$ существенно не различались между опытными (с генерацией ВП) и контрольными (без ВП) листьями, однако конечный $\gamma(\text{PSI})$ после распространения ВП был значительно выше чем в контроле после нагрева листа до приблизительно 47 °С. Таким образом, положительное влияние ВП на фотосистему I было показано при температуре листа 45-47 °С или выше. Предполагается, что защита фотосистемы I при ВП от стрессоров высокой интенсивности, может быть более эффективной для выживания растений, чем защита фотосистемы II. В последующих экспериментах мы использовали температуру листа 46 °С.

Нагрев листа (около 46 °С) опытных растений показал существенное снижение конечных значений $\gamma(\text{PSI})$ и $\gamma(\text{PSII})$ и полное их подавление в контроле без индукции ВП. Значительная доля фотосистемы I и фотосистемы II была повреждена при нагревании. Меньшее повреждение фотосистемы I, чем фотосистемы II опосредовано также сильной чувствительностью фотосистемы II к нагреву в диапазоне 40-50 °С у гороха [8]. Неповрежденная доля фотосистемы II была схожа с таковым значением для тыквы после нагрева до 45 °С [9].

Распространение ВП в лист увеличивало конечный $\gamma(\text{PSI})$ и долю неповрежденной фотосистемы I, но доля неповрежденной фотосистемы II, и скорость ассимиляции CO_2 в опытных растениях существенно не отличалась от контрольных. Коэффициенты корреляции между относительной величиной индуцированного ВП снижения ассимиляции и параметров фотосинтеза после нагревания были высокими и значимыми для конечного значения $\gamma(\text{PSI})$ и неповрежденной доли фотосистемы I, и низкими для $\gamma(\text{PSII})$ и неповрежденной доли фотосистемы II.

Ингибирование темновой стадии фотосинтеза считается одним из первых этапов развития вызванного электрическими сигналами ответа фотосинтеза у высших растений [10,11]. Индуцированный ВП ответ фотосинтеза при низкой внешней концентрации CO_2 (~ 15 ppm) существенно меньше, чем в контрольных условиях. Снижение же активности темновой стадии фотосинтеза при малых концентрациях CO_2 было схоже с ВП-индуцированными изменениями параметров световой стадии.

ВП не увеличивал устойчивость фотосистемы I к нагреванию при низкой внешней концентрации CO_2 . Кроме того, ВП снижал конечное значение $\gamma(\text{PSI})$ после нагрева, это показывает скорее негативное влияние ЭС на фотосистему I в таких условиях. Следует отметить, что устойчивость фотосистемы I в контроле при низкой внешней концентрации CO_2 была выше, чем в контроле при 360 ppm CO_2 .

Возможными механизмами, при которых ВП-индуцированная инактивация темновой стадии фотосинтеза влияет на устойчивость растения, могут являться: (1) рост энергизации растения посредством увеличения соотношения АТФ:АДФ в строме хлоропласта [10,11], известно, что АТФ может увеличить устойчивость фотосинтетического аппарата к стрессорам [12]; (2) производство активных форм кислорода [13], которые могут вызвать усиление экспрессии защитных генов [14].

Заключение

В целом, данное исследование показывает, что локальный ожог вызывает распространение ВП, который снижает активность фотосинтеза у гороха. Ответ фотосинтеза инициируется инактивацией темновой стадии. Эта ВП-индуцированная инактивация, вероятно, увеличивает устойчивость фотосистемы I при последующем нагреве. Эти изменения увеличивают вероятность выживания растений в стрессовых условиях окружающей среды, но эта гипотеза требует дальнейшего экспериментального исследования.

Работа поддержана грантом РФФИ № 14-04-01899 А.

Литература

1. Ретивин В.Г., Оприлов В.А., Федулina С.Б. Преадаптация тканей стебля *Cucurbita pepo* к повреждающему действию низких температур, индуцированная потенциалом действия // Физиол. растений. 1997. Т. 44, № 4. С. 499–510.

2. Grams T.E.E., Lautner S., Felle H.H., Matyssek R., Fromm J. Heat-induced electrical signals affect cytoplasmic and apoplastic pH as well as photosynthesis during propagation through the maize leaf // *Plant Cell Environ.* 2009. V. 32. P. 319–326.

3. Сухов В.С., Шерстнева О.Н., Сурова Л.М., Румянцев Е.А., Воденеев В.А. Влияние вари- абельного потенциала на фотосинтез проростков (*Cucurbita pepo* L.) // *Биофизика.* 2013. Т. 58. С. 468-473

4. Krupenina N.A., Bulychev A.A. Action potential in a plant cell lowers the light requirement for non-photochemical energy-dependent quenching of chlorophyll fluorescence // *Biochim Biophys Acta.* 2007. V. 1767. P. 781-788.

5. Krupenina N.A., Bulychev A.A., Roelfsema M.R.G., Schreiber U. Action potential in Chara cells intensifies spatial patterns of photosynthetic electron flow and non-photochemical quenching in parallel with inhibition of pH banding // *Photochem Photobiol Sci.* 2008. V. 7. P. 681–688.

6. Peña-Cortés H., Fisahn J., Willmitzer L. Signals involved in wound-induced proteinase inhibitor II gene expression in tomato and potato plants // *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995. V. 92 P. 4106-4113.

7. Hlaváčková V., Krchňák P., Nauš J., Novák O., Špundová M., Strnad M. Electrical and chem- ical signals involved in short-term systemic photosynthetic responses of tobacco plants to local burn- ing // *Planta.* 2006. V. 225. P. 235–244.

8. Oukarroum A., Goltsev V., Strasser R.J. Temperature effects on pea plants probed by simul- taneous measurements of the kinetics of prompt fluorescence, delayed fluorescence and modulated 820 nm reflection // *PLoS One.* 2013. V. 8. e59433.

9. Ретивин В.Г., Опритов В.А., Лобов С.А., Тараканов С.А., Худяков В.А. Модификация устойчивости фотосинтезирующих клеток к охлаждению и прогреву после раздражения корней раствором KCl // *Физиология растений.* 1999. Т. 46, № 5. С. 790–798.

10. Pavlovič A., Mancuso S. Electrical signaling and photosynthesis. Can they co-exist together? // *Plant Signaling and Behavior.* 2011. V. 6. P. 840 - 842.

11. Sukhov V., Orlova L., Mysyagin S., Sinitsina J., Vodeneev V. Analysis of the photosynthetic response induced by variation potential in geranium. *Planta.* V. 235. P. 703 - 712.

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

13. Kim K., Portis A.R.Jr. Oxygen-dependent H₂O₂ production by Rubisco // *FEBS Lett.* 2004. V. 571. P. 124-128

14. Foyer C.H., Noctor G. Redox regulation in photosynthetic organisms: signaling, acclimation, and practical implications // *Antioxid Redox Signal.* 2009. V. 11. P. 861 - 905.

ANALYSIS OF ROLE OF ELECTRICAL SIGNALS IN CHANGING OF PHOTOSYNTHETIC RESISTANCE TO HIGH-TEMPERATURE HEATING IN PEA (*PISUM SATIVUM* L.)

Surova L.M., Sherstneva O.N., Gaspirovich V.V., Vodeneev V.A., Sukhov V.S.

higher plants, variation potential, heating, photosynthesis, transpiration

In this study, the influence of VP on photosynthesis and resistance of the photosynthetic machinery to heating in leaves of pea. It was shown that localized burning induces VP propagation, which decreases photosynthesis in pea. Photosynthetic response is initiated by photosynthesis dark-stage inactivation. This process is likely to increase PSI resistance to heating. These changes would increase the probability of plant survival under stressful environmental conditions.

ПРОНИЦАЕМОСТЬ ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ КЛЕТОК КОРНЯ КУКУРУЗЫ ПОД ВНЕШНИМ ДАВЛЕНИЕМ

Суслов М.А., Анисимов А.В.

ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, ул. Лобачевского 2/31,
г. Казань, 420111, Россия, E-mail: makscom87@mail.ru

проницаемость плазмалеммы, давление, спин-эхо метод ЯМР

Исследования влияния внешнего давления на животные и растительные объекты имеют биологическое и медицинское значение. Применительно к растениям изучение влияния давления физиологического диапазона до 5 МПа, представляет интерес в задачах выяснения механизма движущих сил и регуляции массового переноса воды, в том числе при сезонных переключениях климата, передачи импульсами давления сигнальной информации по растению, влияния на метаболизм через модификацию структурной организации мембранной системы клеток.

Настоящая работа посвящена исследованию влияния внешнего давления до 2.5 МПа на диффузионную проницаемость плазмалеммы клеток корня кукурузы. В качестве объекта исследования использовалась всасывающая зона корня 7-дневных проростков кукурузы (*Z. Mays L.*) сорта Анюта. Контроль проницаемости проводился с помощью техники спинового эха ЯМР на частоте 19 МГц, через измерения времен спин-решеточной (продольной) T1 и спин-спиновой (поперечной) T2 релаксации [1]. Оценки проницаемости проводилась из анализа времени обмена воды между вне и внутриклеточным пространством, в рамках решения обратной задачи обмена [2]. Давление создавалось с помощью пневмосистемы [3]. В экспериментах при изохорическом подъеме давления с помощью газа (воздуха) учитывался факт повышения температуры газа в пневмосистеме. Для разделения времен релаксации внеклеточной и внутриклеточной воды, во внеклеточное пространство корня, давался парамагнитный допинг - комплекс Gd DPA в концентрации 0,025M.

На рис. 1 приведены типичные релаксационные затухания сигналов спинового эха от воды корня с парамагнитным допингом во внеклеточном пространстве в контроле (при атмосферном давлении) и при пошаговом подъеме давления до 2,5 МПа. Как следует из рис.1, с ростом давления крутизна релаксационных затуханий увеличивается, т.е. времена релаксации укорачиваются. Налицо двухкомпонентный спад поперечной намагниченности, где быстро спадающая компонента (начальный участок релаксационного спада) относится к внеклеточной воде, медленно спадающая - к внутриклеточной. Аналогично укорачиваются времена спин-решеточной релаксации T1 при пошаговом увеличении давления до 2.5 МПа: для внутриклеточной воды - T1a и для –внеклеточной воды - T1b. (таб. 1).

Таблица 1 - Времена спин-решеточной релаксации воды корней кукурузы T1 в контроле и под давлением

Table 1 - Spin-lattice relaxation times of maize root water in the norm (control) and under the pressure effect

	Контроль	1 МПа	2 МПа	2.5 МПа
T1a, мс	950	560	400	360
T1b, мс	95	80	67	65

При сбросе давления времена релаксации имеют тенденцию к восстановлению почти до уровня контроля. Учитывая, что наземные растения обладают значительным газонасыщенным пространством в виде воздухоносных межклетников, объяснением эффекта укорочения времён релаксации под давлением и восстановления к контролю после снятия давления может быть влияние парамагнетизма кислорода воздуха. Как известно, согласно закону Генри, раствори-

мость газов под давлением увеличивается. Растворение парамагнитного кислорода воздуха межклетников во внеклеточной воде под давлением «кислородный допинг», может вызвать укорочение времен релаксации воды.

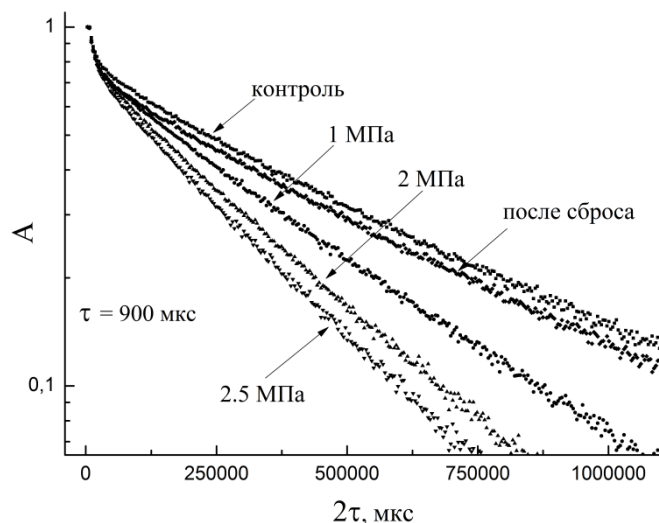


Рисунок 1 - Релаксационные затухания поперечной протонной намагниченности от воды корня кукурузы в норме (контроль) и под давлением

Figure 1 - Relaxation decays of transverse proton magnetization of maize root water in the norm (control) and under the pressure effect

На рис. 2 приведены релаксационные затухания поперечной намагниченности для образцов без парамагнитного допинга в норме – контроль под давлением 3 МПа, и для образца при тех же условиях измерения, но с предварительно введённым во внеклеточное пространство парамагнитным допингом Gd DPA.

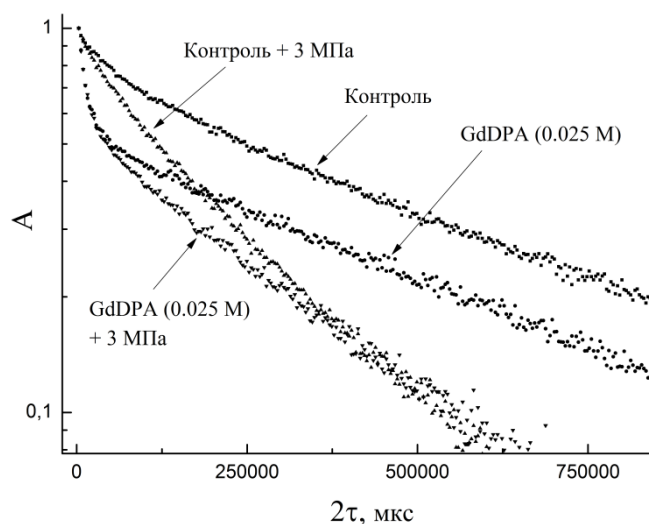


Рисунок 2 - Релаксационные затухания поперечной протонной намагниченности от воды корня кукурузы в норме (контроль) и под давлением в 3 МПа, в отсутствии и в присутствии парамагнитного допинга GdDPA 0,025M во внеклеточном пространстве

Figure 2 - Relaxation decays of transverse proton magnetization of maize root water in the norm (control) and under the pressure of 3MPa in the absence and presence of paramagnetic agent GdDPA (0.025M) in the intercellular space

Во всех вариантах под давлением регистрируется укорочение времен релаксации. В варианте с допингом резко выражено затухание от внеклеточной воды. Заметное различие в поведе-

нии релаксационных спадов от внеклеточной воды, где, казалось бы, эффект кислородного допинга должен проявиться в максимальной степени приводит к мысли, что на ускорение релаксации воды под давлением, вызванное эффектом кислородного допинга, дополнительно накладывается эффект увеличения скорости трансмембранного обмена воды между внеклеточным и внутриклеточным компартментами за счет увеличения проницаемости плазматической мембраны. Из процедуры решения обратной задачи обмена, значения проницаемости P для клеток корня оцениваются как $3.2 \cdot 10^{-6}$ м/с в контроле и $1.12 \cdot 10^{-5}$ м/с под давлением в 2,5 МПа. Полученная величина коэффициента проницаемости для варианта под давлением на порядок выше такового без давления, хотя, возможно отчасти, завышена, из-за использования в расчетах значений времен релаксации, искаженных (укороченных) влиянием кислородного допинга. Вероятной причиной роста проницаемости является повышение в клетке уровня кислорода и, соответственно, его активных форм. Например известно, что перекисное окисление липидов сопровождается ростом проницаемости мембран.

Литература

1. Вашман, А. А., Пронин, И. С. Ядерная магнитная релаксация и ее применение в химической физике. - М.: Наука, 1979. – 223 с.
2. Балла, И. Ю. Бакрадзе, Н. Г., Шариманов, Ю. Г. Выявление двух состояний воды в тканях растений методом протонной магнитной релаксации // Биофизика. -1985. – Т. 30. – С. 476-481.
3. Анисимов, А. В., Суслов, М. А., Зуйков, В. А. Оснастка к исследованиям массопереноса под влиянием статического и динамического давления непосредственно в датчике градиентного ЯМР // Датчики и системы. - 2012. - № 7. - С. 64–67.

PERMEABILITY OF PLANT CELL PLASMA MEMBRANE UNDER THE EFFECT OF EXTERNAL PRESSURE

Suslov M.A., Anisimov A.V.

plasmalemma permeability, pressure, spin-echo NMR method

The effect of applied pressure up to 2.5 MPa on water permeability of maize root cell plasmalemma was studied using a NMR spin-echo relaxation method. The increase in water molecule proton relaxation rate under pressure effect allowed the conclusion that both cell plasmalemma permeability increase, and acceleration of water proton relaxation result from paramagnetic properties of oxygen of the intercellular space air.

**СЕЗОННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЛИПИДНОГО СОСТАВА
КРУПНОЛИСТОВАТОГО ЛИШАЙНИКА *LOBARIA PULMONARIA***Табаленкова Г.Н.¹, Розенцвет О.А.², Коковкина Е.В.¹, Головкин Т.К.¹¹ ФГБУН Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, ул. Коммунистическая, 28, г. Сыктывкар, 167982, Россия, E-mail: tabalenkova@ib.komisc.ru² Институт экологии Волжского бассейна РАН, ул. Комзина, 10, г. Тольятти, 445003, Россия*Lobaria pulmonaria*, лишайник, липиды, жирные кислоты, сезонная динамика

Лишайники – устойчивая, саморегулирующаяся ассоциация гриба и водорослей [1]. Присутствие фотосинтезирующего компонента превращает грибной гетеротрофный организм в автотрофную ассоциацию. Физические контакты мико- и фотобионта обеспечивают обмен веществ между компонентами лишайниковой ассоциации. Фотобионты снабжают микобионт восстановленным углеродом и азотистыми веществами (в случае азотфиксирующей цианобактерии), поддерживая гетеротрофный метаболизм микобионта.

Существенную роль во взаимоотношениях между компонентами лишайниковой ассоциации играют липиды. Они входят в состав различных мембран, служат запасными и энергетическими соединениями. В литературе имеются сведения о составе липидов и жирных кислот в лишайниках [2, 3, 4]. Выявлено, что липидный состав может изменяться в зависимости от онтогенетического состояния [2] и под влиянием антропогенных факторов [5]. Меньше известно о сезонной вариабельности липидного и жирнокислотного состава. Изучения данного аспекта важно для понимания характера и направленности адаптивных реакций пойкилогидрических фотоавтотрофных организмов в разные сезоны года.

Целью работы было выявить состав липидов и жирных кислот в талломах крупнолистоватого лишайника *Lobaria pulmonaria* и изучить его изменения в годичном цикле.

Талломы *L. pulmonaria* отбирали в январе, апреле, июне, ноябре 2012-2013 гг., в осиннике чернично-костянично-вейниковом вблизи г. Сыктывкара. Отобранные образцы фиксировали жидким азотом и высушивали лиофильно.

Липиды экстрагировали смесью хлороформа и метанола [6]. Объединенные экстракты отмывали от нелипидных примесей, растворитель отгоняли на роторно-вакуумном испарителе и взвешивали. Разделение фосфолипидов (ФЛ) проводили методом двумерной тонкослойной хроматографии (ТСХ) на стеклянных пластинках 6 x 6 (см) с закрепленным слоем силикагеля. Количественное содержание определяли по содержанию неорганического фосфора [7]. Нейтральные липиды (НЛ) разделяли одномерной ТСХ с последовательным применением двух систем растворителей. Количество НЛ определяли на спектрофотометре «Specol» (Германия) по методу (Kabara, Chen, 1976). Гликолипиды (ГЛ) разделяли методом ТСХ на пластинках 10 x 10 (см). Количественное содержание определяли на денситометре «Sorbfil» (Россия). Жирные кислоты (ЖК) анализировали в виде их метиловых эфиров, получаемых кипячением в 5%-ом растворе HCl в метаноле в течение 1 ч. Полученные эфиры анализировали на газо-жидкостном хроматографе «Хроматэк. Кристалл 5000.1» (Россия) с использованием капиллярной колонки «Restek» (США) в изотермическом режиме. Уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по содержанию малонового диальдегида (МДА) после реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой.

Таллом *L. pulmonaria* гетеромерного типа толщиной 180-280 мкм. Четко очерченный слой фотобионта, 30-60 мкм толщиной, представлен в основном зеленой водорослью рода *Dictyochloropsis*. Кроме зеленой водоросли, в симбиозе участвуют цианопрокариоты – цианобактерии рода *Nostoc*.

Полученные результаты свидетельствуют о значительной сезонной изменчивости липидного состава талломов. Содержание общих липидов в течение года варьировало в пределах 7 - 13 мг/г сухой массы. Максимальное содержание было отмечено в зимний и ранне-весенний пе-

риод. Липиды *L. pulmonaria* представлены четырьмя классами: нейтральные липиды (НЛ) составляли 66 – 83%, фосфолипиды (ФЛ) 9 – 27%, на долю бетаиновых липиды (БЛ) приходилось 3 – 8%, гликолипидов (ГЛ) до 1% общего содержания липидов. Полученные данные позволяют выявить липидные компоненты, наиболее подверженные сезонным изменениям. Среди индивидуальных компонентов НЛ идентифицированы триацилглицерины, эфиры стеринов, свободные стеринны, свободные жирные кислоты, диацилглицериды. В летний период достоверно увеличилась доля диацилглицеринов (до 34%) и наблюдалось снижение (до 20%) содержания свободных жирных кислот. Доля свободных ЖК зимой составляла свыше 50%. Зимой также отмечено максимальное содержание в талломах стеринов (11%) и эфиров стеринов. Считается, что присутствие стеринов благоприятно для транспорта ассимилятов из водоросли к грибу [8].

Выявлены изменения в соотношении индивидуальных компонентов полярных липидов. В этой фракции обнаружены ФЛ (фосфатидилхолин, фосфатидилглицерол и фосфатидилинозит, фосфатидная кислота), а также бетаиновые липиды. Соотношение некоторых ФЛ значительно менялось в течение годового цикла. Так, доля фосфатидилглицерола в весенне-летний период составляла 3-6% от суммы ФЛ, а в ноябре его вклад в состав ФЛ не превышал 1%. Известно, что фосфатидилглицерол практически отсутствует у микобионта, в то время как у фотобиота он обнаружен в значительном количестве [2]. Следовательно, накопление фосфатидилглицерола в талломах лишайника весной может свидетельствовать об активизации метаболической активности водорослевого компонента. Основную долю ФЛ составлял фосфатидилхолин (до 75%), но его содержание изменялось незначительно. Одной из особенностей липидного метаболизма водорослевого компонента лишайников является способность к синтезу бетаиновых липидов, что объясняет значительное накопление БЛ (8.5%) в летний период.

Анализ жирнокислотного состава талломов *L. pulmonaria* выявил присутствие 20 ЖК. Основной вклад вносили C16:0, C17:0, C18:0, C18:1, C18:2, C18:3. Содержание отдельных ЖК сильно менялось в течение года. В летне - осенний период около 30% приходилось на насыщенные жирные кислоты (НЖК). В составе НЖК доминировала пальмитиновая кислота. Зимой и рано весной заметно увеличивалось относительное содержание ненасыщенных ЖК (ННЖК). Среди них доминировали линолевая и линоленовая кислоты, которые в сумме составляли 80% всех ННЖК.

Параллельно с изучением сезонной динамики липидов мы оценивали уровень липопероксидации. Известно, что этот процесс в большей мере затрагивает ННЖК. Как и следовало ожидать, низкая активность ПОЛ наблюдалась зимой (3.3 нмоль МДА/г сырой массы). Летом этот показатель увеличивался в 20 раз. Такая же закономерность прослеживалась, Если активность ПОЛ относили не к сырой массе, а к сумме липидов в талломе. Очевидно, что активность ПОЛ увеличивалась с активацией процессов жизнедеятельности, в первую очередь усилением дыхания и фотосинтеза – основных источников образования АФК. По мнению некоторых авторов [1], образование в результате ПОЛ гидрофильных продуктов окисления может влиять на структуру липидного бислоя мембран в гидрофобных участках и создавать условия для диффузии веществ между компонентами симбиотической ассоциации.

Таким образом, нами выявлены закономерности сезонных изменений липидного и жирнокислотного состава талломов лишайника *L. pulmonaria*. Полученные результаты свидетельствуют о том, что они носят адаптивный характер.

Литература

1. Вайнштейн Е.А. Регуляторные механизмы лишайникового симбиоза / Е.А. Вайнштейн // Успехи современной биологии. - 1990. - Т.109. - Вып.2. - С. 311-320
2. Бычек-Гущина И.А. Липиды и жирные кислоты лишайника *Umbilicaria virginis* Schaer. На различных стадиях онтогенеза / И.А. Бычек-Гущина // Биохимия. - 1996. -Т.61. - Вып 5. - С. 821-825.
3. Бычек-Гущина И.А. Изучение биохимических аспектов лишайникового симбиоза. I Липиды и жирные кислоты культивируемых симбиотов лишайников / И.А. Бычек-Гущина // Биохимия. - 1997. -Т.62. -Вып 5. -С. 574-580.

4. Dembitsky V.M. Identification of fatty acids from Cladonia lichens / V.M, Dembitsky, T, Re-zanka , I.A, Byчек, M.V. Shustov // *Phytochemistry*. - 1991. - V. 30. – P.4015-4018.
5. Бычек-Гущина И.А. Влияние сернистого ангидрида на липидный и жирнокислотный состав лишайников / И.А. Бычек-Гущина, Е.Р. Котлова, X. Хейниепер // *Биохимия*. - 1999. - Т.64. - Вып 1. - С. 76 -82.
6. Кейтс М. Техника липидологии. Выделение, анализ, и идентификация липидов. / М. Кейтс . – М. – Мир. - 1975. - 322 с.
7. Vaskovsky V.T. Modified Jungnickels Reagent for Detecting Phospholipids and Other Phosphorus Compounds on Thin-layer Chromatograms / V.T. Vaskovsky, N.A. Latyshev // *J. Chromatogr.* - 1975. - V. 115. - P. 246-249.
8. Lenton J.R. Sterols of Xanthoria parietina: Evidence for two sterol 'pools' and the identification of a novel C,8 triene, ergosta-5,8,22-trien-3 β -o / J.R. Lenton, Goad L.J., T. Goodwin // *Phytochemistry*. - 1973. - V.12.- P. 1135-1140.
9. Kruse, O. The Role of Phosphatidylglycerol as a Functional Effector and Membrane Anchor of the D1-Core Peptide from Photosystem II-Particles of the Cyanobacterium *Oscillatoria chalybea*. / O. Kruse, G.H. Schmid // *Z. Naturforsch.* – 1995. – 50. – P. 380-390.

**SEASONAL VARIABILITY OF LIPIDS COMPOSITION
OF *LOBARIA PULMONARIA* THALLUS**

Tabalenkova G.N., Rozentsvet O.A., Kokovkina E.V., Golovko T.K.

Lobaria pulmonaria, lichen, lipids, fatty acids, seasonal dynamic

Lipids' and fatty acids' composition in the thallus of *Lobaria pulmonaria* lichen were studied during the year round. Significant seasonal variations in content and composition of neutral lipids, phospholipids, betaine lipids and fatty acids were observed.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ЗАСУХО-И СОЛЕУСТОЙЧИВОСТИ МЕЖВИДОВЫХ ГИБРИДОВ ПШЕНИЦЫ

Терлецкая Н.В., Хайленко Н.А., Искакова А.Б.

Республиканское государственное предприятие «Институт биологии и биотехнологии растений» Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан, ул. Тимирязева, 45, г. Алматы, 050040, Республика Казахстан. E-mail: teni02@mail.ru

пшеница, межвидовые гибриды, засухоустойчивость, солеустойчивость

Введение

На фоне многочисленных абиотических стрессов, важнейшими из которых можно считать обезвоживание и засоление почв, усугубляющиеся в условиях глобального изменения климата, одним из естественных и рентабельных способов увеличения урожайности пшеницы является обогащение ее генетического разнообразия.

Значимость дикорастущих представителей *Triticeae* Dum обусловлена рядом причин, в основе которых лежат определенные генетические и физиологические признаки растений этой группы, имеющей большие генетические вариации и обладающей огромным потенциалом стрессоустойчивости, идентифицированным и проверенным эволюционно. [1]. Примером их удачного использования могут служить пшенично-пырейные, пшенично-ржаные и т.д. гибриды, на основе которых в различных странах уже получены фуражные и зерновые сорта яровой и озимой пшеницы [2]. В Казахстане отечественных сортов пшеницы, полученных путем межвидовых скрещиваний, пока нет, поэтому исследования в данном направлении безусловно актуальны и перспективны.

Материалы и методы

Материалом для исследований служили: виды пшениц *Triticum turgidum* L. (AuAuBB), *Triticum macha* Dek.et.Men. (AuAuBBDD), *Triticum compactum* Host. (AuAuBBDD); сорта *T. aestivum* L. (AuAuBBDD) – Саратовская-29, Мироновская-808, Ленинградка; а также межвидовые гибриды разных поколений разных типов по морфологическим признакам расщепления.

При лабораторной оценке солеустойчивости 10-дневных проростков пшеницы в условиях искусственной засухи и засоления за основу была взята методика Г.В. Удовенко [3]. Стрессовые условия создавали, помещая корни 7-и дневных проростков на 72 ч в растворы 1,68% NaCl (солевой стресс) или 17,6% сахарозы (искусственная засуха), наглядно дифференцирующие образцы по росту и накоплению биомассы, снижение которых у менее устойчивых сортов доходило до 50%. Контролем служили проростки, выращиваемые на воде. Общая оводненность и водоудерживающая способность флаг-листьев оценивались в одной серии опытов по методике Н.Н. Кожушко [4]. Статистическую обработку данных проводили по методике Н.Л. Удольской [5].

Результаты и обсуждение

Если засуха может застигнуть растение на любом этапе онтогенеза, то почвенное засоление влияет на растительный организм с самого начала его жизнедеятельности. Поэтому способность растений на начальных этапах своего развития эффективно использовать влагу при ее недостатке – один из важнейших биологических признаков. Проведена лабораторная оценка засухо- и солеустойчивости межвидовых гибридов F₂ – F_n пшеницы и их родительских форм (табл. 1).

Выявлено, что стрессоустойчивость изучаемых гибридов на стадии 10-дневных проростков у изучаемых гибридов по отношению к контролю (рост на воде) в целом была не ниже, чем у родительских форм, кроме *T. turgidum* x Ленинградка F₄ BC₁ (2 тип), в отличие от которого, засухоустойчивость гибрида *T. turgidum* x Ленинградка F₄ BC₁ (1 тип) была достаточно высокой, Гибриды *T.turgidum* x Саратовская-29 F₂ характеризовались высокой засухоустойчивостью, при этом 2 тип этого гибрида отличался еще и достаточно высокой солеустойчивостью.

Гибрид *T. compactum* L. x Ленинградка F4 BC2 (1 тип) также характеризовался повышенной солеустойчивостью.

Таблица 1 – Параметры засухо- и солеустойчивости проростков сортов, видов и гибридов пшеницы

Table 1 – Drought and salt tolerance in seedlings of varieties, species and hybrids of wheat

Вид, сорт, гибрид	Длина листа, % к контролю		Длина корня, % к контролю		Число корешков, % к контролю	
	засуха	засоление	засуха	засоление	засуха	засоление
Саратовская-29	66,5	74,5	45,5	79,8	89,8	95,0
Ленинградка	90,1	74,3	76,4	-	84,0	98,4
<i>T. turgidum</i> L.	80,4	68,4	125,4	104,2	79,6	91,4
<i>T. compactum</i> L.,	68,1	71,7	50,2	79,4	110,7	91,2
<i>T. turgidum</i> x Саратовская-29 F2 (1 тип)	64,4	67,2	84,1	55,0	94,1	114,7
<i>T. turgidum</i> x Саратовская-29 F2 (2 тип)	67,2	68,1	87,3	76,2	100,9	100,3
<i>T. turgidum</i> x Ленинградка F4 BC1 (1 тип)	67,3	71,3	121,8	71,2	67,9	105,2
<i>T. turgidum</i> x Ленинградка F4 BC1 (2 тип)	66,9	66,5	43,0	59,7	94,0	80,1
<i>T. compactum</i> x Ленинградка F4 BC2 (1 тип)	75,3	83,3	62,0	131,7	96,1	85,0
<i>T. compactum</i> x Ленинградка F4 BC2 (2 тип)	69,2	66,6	58,5	74,7	94,2	98,6

Проведены эксперименты по определению общей оводненности (ОВ) и водоудерживающей способности (ВУС) изучаемых сортов, видов и гибридов пшеницы в полевых условиях (табл. 2).

Таблица 2 – Влияние обезвоживания на показатели водного режима флагового листа сортов, видов и гибридов пшеницы

Table 2 – Effect of dehydration on the performance of the water regime flag leaf varieties, species and hybrids of wheat

Вид, сорт, гибрид	Оводненность флагового листа, % от сухого вещества	ВУС, % от общего содержания воды
Саратовская-29	68,13	59,49
Ленинградка	73,80	48,37
<i>T. turgidum</i> L.	75,30	41,97
<i>T. compactum</i> L.,	65,27	47,19
<i>T. turgidum</i> x Саратовская-29 F2 (1 тип)	73,20	77,88
<i>T. turgidum</i> x Саратовская-29 F2 (2 тип)	67,60	55,13
<i>T. turgidum</i> x Ленинградка F4 BC1 (1 тип)	74,20	42,86
<i>T. turgidum</i> x Ленинградка F4 BC1 (2 тип)	69,67	48,33
<i>T. compactum</i> L. x Ленинградка F4 BC2 (1 тип)	77,94	70,05
<i>T. compactum</i> L. x Ленинградка F4 BC2 (2 тип)	69,20	62,86

Из представленных данных следует, что ОВ изучаемых форм была достаточно высокой, наибольшей – у вида *T. turgidum* L. (75,3%), сорта Ленинградка (73,8%) и гибридов *T. turgidum* x Саратовская-29 F2 (1 тип) (73,2%), *T. turgidum* x Ленинградка F4 BC1 (1 тип) (74,2%) и *T. compactum* L. x Ленинградка F4 BC2 (1 тип) (77,94%).

Однако, при завядании потеря воды флаговыми листьями изучаемых образцов была различной. Наибольшей ВУС листьев в данном эксперименте характеризовались гибриды *T. turgidum* x Саратовская-29 F2 (1 тип) – 77,8%, *T. compactum* L. x Ленинградка F4 BC2 (1 тип) – 70,05% и *T. compactum* L. x Ленинградка F4 BC2 (2 тип) – 62,86%.

Согласно данным о том, что образец, имеющий большую ВУС в условиях засухи при одинаковой или более высокой ОВ листьев, считается более засухоустойчивым [4], выделенные в эксперименте гибридные формы следует отнести к категории наиболее засухоустойчивых во второй половине онтогенеза.

При этом анализ морфофизиологических признаков продуктивности изучаемых форм показал, что гибридные формы *T. turgidum* × Ленинградка (1 тип) и *T. compactum* × Ленинградка (2 тип) выделились по высоте растений – от 143,5±4,3 до 148,6±1,0 см соответственно и по показателю продуктивной кустистости – 4,8±0,5 и 4,8±0,6 колосьев на 1 растение соответственно. Длина колоса была максимальной у *T. compactum* × Ленинградка (2 тип) – 10,2±0,5 см. А озерненность колоса у *T. turgidum* × Ленинградка (1 тип) – 64,5±3,8 зерен в колосе.

Так как при этом гибрид *T. turgidum* x Ленинградка F4 BC1 (1 тип) и Т проявил себя как засухоустойчивый и на стадии проростков и по показателям водного режима в стадии колошения, а гибриды *T. compactum* L. x Ленинградка характеризовались высокой оводненностью и водоудерживающей способностью флагового листа при обезвоживании, на них следует обратить особое внимание в дальнейшей работе.

Заключение

Таким образом результаты экспериментов показали результативность межвидовой гибридизации для создания нового исходного селекционного материала, позволив выявить стрессоустойчивые и продуктивные межвидовые гибриды, перспективные для дальнейших селекционно-генетических исследований.

Литература

1. Farooq S. *Triticeae: The Ultimate Source of Abiotic Stress Tolerance Improvement in Wheat//Salinity and Water Stress (Tasks for Vegetation Science)*. – 2009. – V. 44 (I). – P. 65-71.
2. Авакян А. Э. Использование диких пшениц в селекции на адаптивность и устойчивость. – Материалы IX межд. симпозиума «Нетрадиционное растениеводство, эниология, экология и здоровье». – Алушта, 2000. – С. 294-295.
3. Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям: Методич. руководство / Под ред. Г.В. Удовенко. Л.: ВИР, 1988. - 268 с.
4. Изучение засухоустойчивости мирового генофонда яровой пшеницы для селекционных целей (Методическое руководство) / Составитель Кожушко Н. Н. – Л.: ВИР. – 1991. – 90с.
5. Удольская Н.Л. Введение в биометрию. – Алма-Ата, 1976. – 85 с.

PHYSIOLOGICAL PARAMETERS OF DROUGHT- AND SALT TOLERANCE IN INTERSPECIFIC HYBRIDS OF WHEAT

Terletsкая N.V., Khailenko N.A., Iskakova A.B.

wheat, interspecific hybrids, drought tolerance, salt tolerance

The laboratory assessment of drought and salt tolerance in seedlings of varieties, species and interspecific hybrids F2-Fn wheat and their parental forms. Done experiments to determine the total water content and water-holding capacity of flag-leaf studied varieties, species and hybrids of wheat in the field. Identified stress-tolerant hybrid forms *T. turgidum* x Ленинградка F4 BC1 (type 1) and *T. compactum* L. x Ленинградка. They will be given special attention in the future work.

**НАКОПЛЕНИЕ ЦИТОКИНИНОВ В ПОБЕГАХ И КОРНЯХ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ
ПРИ ОБРАБОТКЕ ИХ ЛИСТЬЕВ ЭКЗОГЕННЫМИ
ЗЕАТИНОМ И ИЗОПЕНТЕНИЛАДЕНИНОМ**

Тимергалина Л.Н.¹, Кудоярова Г.Р.¹, Веселов С.Ю.², Медведев С.С.³

¹ ФГБУН Институт биологии УНЦ РАН, пр. Октября, 69, г. Уфа, 450054, Россия,

E-mail: l.n.timergalina@anrb.ru

² ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный университет», ул. З. Валиди, 32, г. Уфа, 450076,

Россия, E-mail: respectableman@yandex.ru

³ ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет», Университетская наб.,

7-9, г. С.-Петербург, 199034, Россия, E-mail: ssmmedvedev@mail.ru

*цитокинины, зеатин, изопентениладенин, флоэмный транспорт, метаболизм, пшеница *Triticum durum**

Введение

Известно, что фитогормоны цитокинины, синтезируемые в одних органах, транспортируются в другие органы, где они осуществляют свою регуляторную функцию [1]. В контексте представлений о функционировании цитокининов в качестве сигналов, передаваемых из органа в орган, представляют интерес данные о том, что по флоэме двудольных растений, в основном, транспортируется изопентениладенин (ИП) [2]. Производные этой формы цитокининов первыми образуются в растениях в результате присоединения к аденину изопреноидного радикала. Гидроксилирование ИП превращает его в зеатин, который считался основной активной формой цитокининов до того, как было обнаружено, что обе формы цитокининов способны взаимодействовать с рецепторами цитокининов [3]. Представляло интерес выяснить, в какой форме цитокинины транспортируются из побега в корень однодольных растений. С этой целью было изучено накопление цитокининов в побегах, корнях и диффузате побегов растений пшеницы, в которые через листья вводили или зеатин, или изопентениладенин.

Материалы и методы

Исследования проводили на 7-ми суточных растениях твердой пшеницы (*Triticum durum* desf., сорта Безенчукская 139) в лабораторных условиях. Для обработки растений зеатином (З) и изопентениладенином (ИП) побеги погружали в емкость с раствором соответствующего гормона в концентрации 50 мг/л с Твином 20 (0,05%). Контролем служили растения в аналогичных сосудах, погруженные в среду с Твином 20, но без гормона. Время предобработки составило 30 минут, экспозиции после обработки - 20 минут. Фиксацию на гормоны растительного материала производили после предварительной отмывки растений в 0,05 % растворе Твина 20, затем в водопроводной воде.

Для оценки транспорта гормонов из побега в корень (диффузата побега) изолированные побеги помещали в 20 мМ раствор ЭДТА (этилендиаминотетрауксусной кислоты) с рН = 7 для предотвращения закупорки флоэмных сосудов и выдерживали в темноте при 24 оС [4]. Чтобы исключить смешивание флоэмного сока с ксилемным, через 15 мин.раствор ЭДТА заменяли на свежий и пробирки вновь помещали в темноту на 3 часа.

Определение содержания цитокининов (З, зеатинрибозид (ЗР), ИП и изопентениладенин (ИПА)) проводили с помощью иммуноферментного анализа, используя тест-системы для определения ЗР и ИПА с соответствующими стандартами [4]. Кросс-реактивность ИПА в тест-системе для определения производных З не более 1 %, в то время как кросс-реактивность З в тест-системе для определения производных ИПА- не более 2% [5].

Результаты и обсуждение

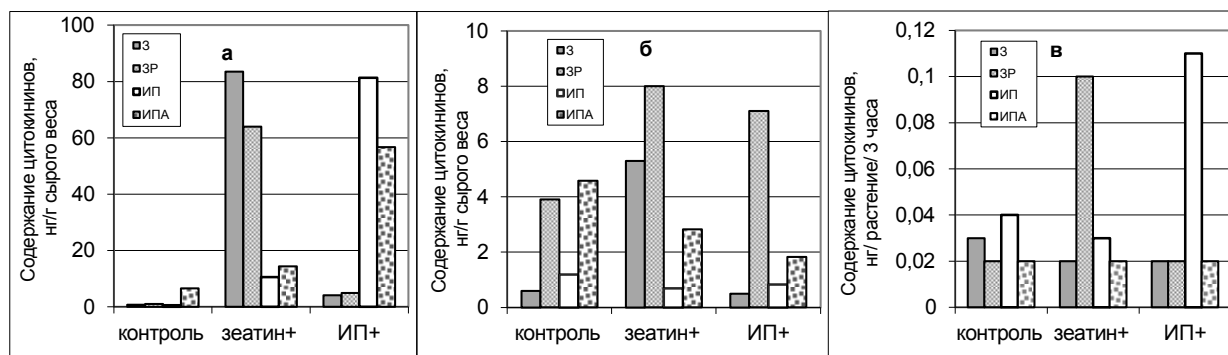


Рисунок 1 - Содержание цитокининов (З и ЗР- зеатин и его рибозид, ИП и ИПА – изопентениладенин и изопентениладенозин, соответственно) в побегах (а), корнях (б) и диффузате побега (в) растений пшеницы, листья которых были обработаны зеатином (зеатин+) и ИП (ИП+)

Figure 1 - Cytokinins content (З and ЗР – zeatin and its riboside, ИП and ИПА – isopentenyladenine and isopentenyladenosine, correspondingly) in shoots (а), roots (б) and shoot diffusate (в) of wheat plants with leaves treated by zeatin (зеатин +) and ИП (ИП+)

Погружение листьев растений пшеницы в раствор цитокининов с детергентом (для облегчения проникновения гормонов через кутикулу) приводило к резкому (на порядок и более) увеличению уровня цитокининов в побегах (рис. 1а). При этом преимущественно увеличивался уровень производных той формы цитокинина, которым растения обрабатывали. Вместе с тем, наряду с содержанием свободного азотистого основания, которое вводили в лист, в нем в той же степени увеличивалось содержание его рибозида, что указывает на поглощение гормона клетками и его быструю метаболизацию. Наряду с резким возрастанием содержания той формы цитокининов, которая вводилась в растение, в побеге увеличивался (хотя и в значительно меньшей степени) уровень другого гормона (у растений, обработанных зеатином, в побегах накапливались ИП и ИПА, а у обработанных ИП растений – зеатин и его рибозид). Накопление зеатина легко объяснить гидроксильрованием ИП. Обратный эффект может быть связан с ингибированием фермента, катализирующего превращение ИП в зеатин, под влиянием избытка продукта катализируемой им реакции.

Введение цитокининов в листья растений сопровождалось повышением их уровня в корнях (рис. 1б). Обращает на себя внимание тот факт, что при обработке листьев как зеатином, так и ИП, в корнях возрастал только уровень производных зеатина (свободной и рибозилированной формы в случае обработки листьев зеатином и рибозида зеатина – при введении в лист ИП).

Представляет интерес то, что уровень накопления цитокининов в корнях при обработке ими листьев растений был на порядок ниже, чем в самом обработанном побеге. Также низким был уровень цитокининов в диффузате. Последний эффект можно объяснить тем, что движущей силой флоэмного потока является градиент осмотического потенциала вдоль сосудов флоэмы [6], а при отделении побега была нарушена целостность флоэмы и, соответственно, - скорость флоэмного транспорта (хотя состав флоэмного диффузата должен был остаться прежним). Тем не менее, низкий уровень накопления цитокининов в корнях интактных растений указывает на существование некоего механизма, предотвращающего отток экзогенных цитокининов из листа в корень. При введении цитокининов через корень растений пшеницы было показано, что предотвращение их оттока в побег объясняется их активным поглощением клетками центрального цилиндра [7]. Для того, чтобы выявить возможную роль вторично активного транспорта цитокининов в регуляции их оттока из листьев в корни, мы обработали листья контрольных растений протонофором карбонил цианид хлорофенилгидразоном (КХХГ). В результате этого воздействия в диффузате в 3 раза возросло содержание ИПА и в 2 раза – ИП. Полу-

ченные результаты указывают на то, что в ограничении оттока цитокининов из побега в корень важную роль может играть процесс активного поглощения цитокининов клетками листа

Таким образом, оценка содержания цитокининов в побегах, корнях и диффузате побега растений пшеницы, в которые через листья вводили зеатин и изопентениладенин, свидетельствует о том, что у пшеницы транспортными формами цитокининов при их движении из побега в корень может служить как ИПА, так и рибозид зеатина. Однако распределение цитокининов из побега в корень зависит от их активного поглощения клетками листа.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант № 13-04-00666.

Литература

1. Takei, K., H. Sakakibara, M. Taniguchi, and T. Sugiyama. Nitrogen-dependent accumulation of cytokinins in root and the translocation to leaf: Implication of cytokinin species that induces gene expression of maize response regulator // *Plant Cell Physiol.* – 2001. – V. 42. – P. 85–93.

2. Hirose N., Takei K., Kuroha T., Kamada-Nobusada T., Hayashi H., Sakakibara H. Regulation of cytokinin biosynthesis, compartmentalization, and translocation // *Journal of Experimental Botany.* - 2008. – V. 59. – P. 75–83.

3. Романов Г.А. Как цитокинины действуют на клетку // *Физиология растений.* - 2009. - Т. 56. - С. 295-319.

4. Jiang F., Timergalina L., Kudoyarova G., Jeschke W.D., Hartung W.. Growth and development of the facultative root hemiparasite *Rhinanthus minor* after removal of its host // *Functional Plant Biology.* – 2007. - Vol. 34.– P. 237 – 245.

5. Веселов С.Ю. Использование антител для количественного определения, очистки и локализации регуляторов роста растений. - Уфа: Изд-во БашГУ, - 1998. - 138 с.

6. Tyree M.T., Christy A.L., Ferrier J.M. A simpler iterative steady state solution of Munch pressure-flow systems applied to long and short translocation paths. // *Plant Physiology.* - 1974. – V. 54. – P. 589–600.

7. Коробова А.В., Гарипова М.И., Кудоярова Г.Р., Медведев С.С., Веселов С.Ю. Зависимость накопления цитокининов в корнях и их оттока в побег у растений пшеницы от вторично активного транспорта // *Вестник Башкирского университета.* 2013. - Т. 18. - № 4. - С. 1053-1056.

ACCUMULATION OF CYTOKININS IN SHOOTS AND ROOTS OF WHEAT PLANTS WITH LEAVES TREATED BY EXOGENOUS ZEATIN AND ISOPENTENYLADENINE

Timergalina L.N., Veselov S.Yu., Medvedev S.S.

Cytokinins, zeatin, isopenthenyladenine, phloem transport, metabolism, wheat Triticum durum

The estimation of cytokinins content in shoots, roots and shoot diffusate of wheat plants with leaves treated by exogenous zeatin and isopenthenyladenine shows that both IPA and ZR can be a transport form from shoot to root in wheat. However distribution of cytokinins from shoots to root depends on active uptake of cytokinins on leaf cells.

**СОЗДАНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЗАМКНУТОЙ ИСКУССТВЕННОЙ
БИОСИСТЕМЫ ДЛЯ ЭКОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Тихомиров А.А., Шихов В.Н., Ушакова С.А., Дегерменджи А.Г.

ФГБУН Институт биофизики СО РАН, Академгородок 50/50, 660036, г. Красноярск,
Россия, E-mail: ubflab@ibp.ru*искусственные биосистемы, замкнутость круговорота, антропогенная нагрузка, устойчивость экосистем, моделирование биосферных процессов***Введение**

Широко известно, что на сегодняшний день наблюдаются существенные изменения параметров биосферы и климата Земли. Оценка темпов, масштабов и степени необратимости этих изменений представляет собой, без сомнения, одну из актуальнейших задач, стоящих перед современной наукой. Биосфера является уникальным и в некотором плане довольно «хрупким» объектом из-за чего принципиально невозможно проведение каких-либо целенаправленных экспериментов с ней. Однако выявление ключевых факторов глобальных изменений даст возможность предпринять осмысленные усилия по предотвращению все более явно проявляющихся негативных тенденций в развитии биосферы Земли.

В связи с этим возникает необходимость создания упрощенных биосфероподобных искусственных экосистем с высокой степенью замкнутости круговорота веществ, относительно небольшой обменной массой и обладающих необходимой репрезентативностью по отношению к природным биотам. Такие экспериментальные мини экосистемы (МЭС) могут быть эффективным инструментом для моделирования биосферных процессов, в том числе исследования их устойчивости к антропогенным факторам воздействия [1]. В этом плане, насколько нам известно, попыток создания искусственных замкнутых экосистем пока не предпринималось.

Целью настоящей работы является создание МЭС, отвечающей необходимым требованиям репрезентативности по отношению к некоторым простейшим земным природным биотам и способной к длительному функционированию (год и более) в режиме самоподдержания внутреннего массообмена, что позволит перейти к экспериментальным оценкам пределов устойчивости (эластичности) этой системы.

Материалы и методы

Для этих целей в Институте биофизики СО РАН была создана и успешно функционирует в настоящее время экспериментальная установка полностью закрытого типа. Ее основу составляет вегетационная камера из нержавеющей стали объемом 281л с прозрачным люком из оргстекла. 20% от объема камеры занимает почвоподобный субстрат. Освещение производится через прозрачный потолок лампой ДРИ-2000. Уровень освещенности на уровне ценоза растений составляет 100 Вт/м² ФАР. Температура в камере поддерживается на уровне 21-22°C за счет функционирования системы водяного теплоотвода и автоматически регулируемого термонагревателя. Относительная влажность воздуха внутри камеры составляет около 80±5%. Орошение почвы происходит за счет естественной конденсации влаги на охлаждаемых стенках камеры и системе трубопровода на поверхности почвы, а также благодаря работе холодильной системы удаления влаги из воздушной среды, поступающей на газоанализатор. Газовый состав атмосферы непрерывно контролируется трехкомпонентным газоанализатором ГАММА-100 («Аналит-прибор», Смоленск) по содержанию метана, углекислого газа и кислорода. Данные регистрируются при помощи персонального компьютера.

В качестве фототрофного звена для такой МЭС были выбраны растения звездчатки средней (*Stellaria media*). Данный вид удовлетворяет большинству требований, предъявляемых к растениям в этой системе – это низкорослые, быстровегетирующие, самоопыляющиеся растения с компактной корневой системой, их семена не имеют периода покоя, а отмершая биомасса легко полегает на почву практически без постороннего вмешательства и быстро разлагается.

Результаты и обсуждение

В настоящее время достигнут режим самоподдержания и смены поколений фототрофного звена в МЭС (рис. 1). Активная вегетация одного поколения длится обычно на протяжении 2-х месяцев. При этом постоянно присутствуют цветущие побеги и нарастает количество побегов, образовавших семена. Затем еще около месяца происходит отмирание сформированной биомассы и продолжается самосев семян, одновременно с чем на освобождающихся участках появляются всходы нового поколения. В ходе смены таких генераций наблюдается колебательная динамика концентрации углекислого газа в системе от 0,009% в фазе преобладания в ценозе активно вегетирующих растений, до 0,12% в период массового отмирания отживших растений. Концентрация кислорода колеблется в пределах от 19,2 до 19,9% (рис. 2). Метан в атмосфере МЭС присутствует на постоянном уровне, равном величине погрешности измерений. МЭС полностью замкнута по массообмену.

Заключение

Таким образом, успешно создана действующая лабораторная МЭС, которая в дальнейшем позволит проводить экспериментальные оценки устойчивости природных экосистем к изменению глобальных параметров среды, в том числе вызванных антропогенным воздействием на биосферу Земли.



Рисунок 1 - Основные этапы онтогенеза растительного звена МЭС. Вверху слева: фаза возникновения и роста молодых побегов; вверху справа – фаза активной вегетации зрелых растений; внизу слева – фаза отмирания старой биомассы; внизу справа – фаза возникновения всходов нового поколения растений

Figure 1 - The main stages of MES vegetable part ontogeny. Top left – phase of young plants arise and grow; top right – phase of mature plants active vegetation; bottom left – phase of old biomass ageing; bottom right – phase of new generation seedlings arising

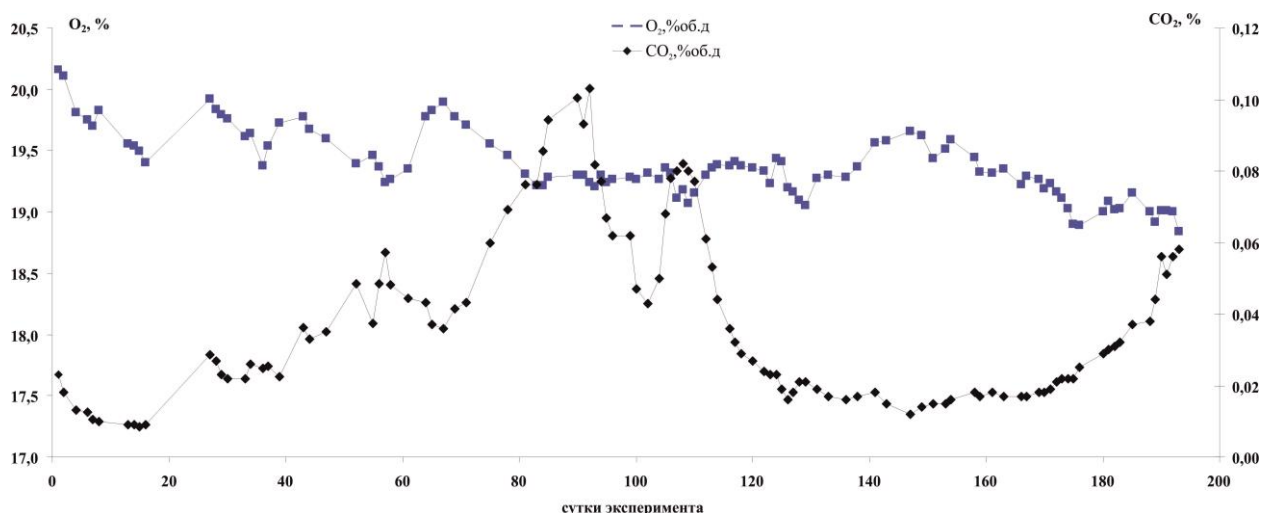


Рисунок 2 - Динамика содержания кислорода и углекислого газа в атмосфере МЭС за период прохождения двух вегетаций растительного звена

Figure 2 - Oxygen and carbon dioxide concentration dynamics in the air of MES during the two vegetations of plants

Литература

1. Global Climatology and Ecodynamics: Anthropogenic Changes to Planet Earth. Springer Praxis Books / Environmental Sciences. Hardcover, 2008, p.241-300.

CREATION OF EXPERIMENTAL CLOSED ARTIFICIAL BIOSYSTEM FOR ECOPHYSIOLOGICAL INVESTIGATIONS

Tikhomirov A.A., Shikhov V.N., Ushakova S.A. Degermendzy A.G.

Artificial biosystems, closure of recycling, anthropogenic load, stability of ecosystems, modeling of biospheric processes

Closed artificial miniecosystem with higher plants (*Stellaria media*) was created. System's testing during several months showed stability of the main environmental parameters (temperature, air humidity, gas exchange, water exchange) as well as generations rotation of *Stellaria media* without productivity decrease.

УДК: 581.1

ИЗМЕНЕНИЕ СТЕХИОМЕТРИИ МАЛОЙ АНТЕННЫ И РЕАКЦИОННЫХ ЦЕНТРОВ ФОТОСИСТЕМЫ 2 КАК УНИКАЛЬНЫЙ МЕХАНИЗМ ПОВЫШЕНИЯ УРОЖАЙНОСТИ И УСТОЙЧИВОСТИ ЯЧМЕНЯ К СВЕТОВОМУ И ВОДНОМУ СТРЕССАМ

Тютерева Е.В., Иванова А.Н., Войцеховская О.В.

ФГБУН Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, ул. Проф. Попова, 2, г. С.-Петербург, 197376, Россия, E-mail: ovoitse@yandex.ru, tuterlena@mail.ru

*ячмень *Hordeum vulgare* L., фотосинтез, тилакоидные мембраны, урожайность, абсцизовая кислота, световой стресс, фотозащита, малая антенна*

Введение

Большинство районов РФ относятся к зонам рискованного земледелия, где одной из главных проблем сельского хозяйства является восстановление плодородия бедных и истощённых почв. В этих условиях создание новых высокоурожайных форм и сортов культурных растений является приоритетным направлением биологии и современной альтернативой применения высоких доз удобрений.

Ячмень является одной из важнейших зернофуражных культур мира. По валовому сбору и посевным площадям среди зерновых культур он имеет большой удельный вес как в нашей стране, так и в мировом земледелии. В РФ объем производства ячменя обеспечивает около четверти валового урожая зерновых. Высокая урожайность ячменя определяется множеством онтогенетических и климатических факторов, что затрудняет получение высокопродуктивных сортов методами традиционной селекции. В связи с этим по-прежнему актуально детальное изучение физиолого-биохимических и молекулярно-генетических детерминант, определяющих высокую эффективность продукционного процесса ячменя. Водный стресс, световой стресс, а также их сочетание, воздействующие на растения ячменя в критические периоды онтогенеза, нередко снижают урожайность на 20-50% по сравнению с благоприятными сезонами. Таким образом, получение сортов ячменя, обладающих высокой устойчивостью к световому и водному стрессам, является актуальной задачей.

За урожайность, устойчивость к световому стрессу и засухоустойчивость с точки зрения физиологии растений «отвечают», соответственно, фотосинтетическая функция хлоропластов, фотозащита фотосинтетического аппарата, и гормональная регуляция с участием абсцизовой кислоты (АБК). Эффективность фотосинтетического аппарата, а также уровень его фотозащиты определяются стабильностью, составом и типом пространственной организации пигмент-белковых комплексов (ПБК) в тилакоидной мембране хлоропластов высших растений (Ruban et al., 2003 и др.). Одним из ведущих факторов стабильности ПБК фотосинтетических мембран является хлорофилл b - продукт ферментативной реакции, катализируемой ферментом хлорофиллид-а-оксигеназой CAO (Tanaka, Tanaka, 2011). Сверхэкспрессия CAO приводит к сверхпродукции хлорофилла b, инкорпорированию хлорофилла b в коровую антенну ФС 1 и 2, к максимальному увеличению размеров и необычайно высокой стабильности светособирающей антенны (Sakuraba et al. 2010). Напротив, недостаток или полное отсутствие хлорофилла b у ряда мутантов ячменя дестабилизирует светособирающую антенну, в первую очередь ССК2, за счет протеолитической дегградации белков Lhcb1-2. Такие растения отличаются низким уровнем фотосинтеза (Bossmann et al., 1999 и др.).

В настоящее время интенсивно ведутся исследования, направленные на выяснение роли отдельных хлорофиллов и ксантофиллов в составе так называемой малой, или коровой, антенны (белки Lhcb4, Lhcb5, Lhcb6) в защите фотосинтетического аппарата от фотодеструкции, при этом все очевиднее становится ведущая роль малой антенны в этом процессе (Ballotari et al., 2013 и др.). Недавние исследования выявили неожиданный аспект, связанный с функциями белков малой антенны в растениях: оказалось, что уровень белков малой антенны связан с из-

менениями в АБК-сигналинге и АБК-чувствительности (Xu et al., 2012). Это может быть связано с тем, что биохимическими предшественниками АБК являются ксантофиллы виолаксантин и неоксантин, которые с высокой вероятностью синтезируются белками, ассоциированными с малой антенной. Как указано выше, для мутантов ячменя, дефектных по биосинтезу хлорофилла b, характерно наличие только малой светособирающей антенны ФС2.

Мы исследовали мутант ячменя *chlorina 3613*, который в результате делеции в единственной копии гена, кодирующего САО, образует фермент с неполным каталитическим С-доменом, неспособный к синтезу хлорофилла b (Mueller et al., 2012). В фотосинтетическом аппарате *chlorina 3613* отсутствует периферическая антенна ФС2 (ССК2), а содержание хлорофилла a, каротиноидов и белков малой антенны Lhcb4, Lhcb5 и Lhcb6 снижено. Вследствие этого мутант формирует светочувствительный фенотип с низким уровнем фотосинтеза и продуктивности (Leverenz et al., 1992). Мы впервые показали, что ключевыми факторами снижения фотосинтеза и продуктивности у этого мутанта выступают низкий уровень фотозащиты и нарушения устьичного контроля. Путем подбора условий выращивания нами впервые был получен светоустойчивый высокопродуктивный фенотип с высоким уровнем фотосинтеза и продуктивности (на уровне родительского сорта или выше). У этого фенотипа изучали структуру фотосинтетического аппарата, чувствительность к АБК и уровень фотозащиты.

Материалы и методы

Мутант ячменя *chlorina 3613*, несущий делецию в гене HvСАО (Mueller et al., 2012) и родительский сорт этого мутанта *Donaria* (дикий тип) выращивали в открытом грунте. Использовали следующие методы: ТЭМ (Hitachi-600, Япония) для анализа ультраструктуры хлоропластов; ВЭЖХ (Agilent 1200 series, США) для изучения пигментного состава ПБК; окраска с помощью singlet oxygen sensor green (Life Technologies, США), нитротетразолиевого синего и диаминобензидина для оценки продукции АФК (синглетный кислород, супероксид-радикал, перекись водорода, соответственно); световая микроскопия (Olympus Optical Co, BX51, Япония) и весовой метод для оценки устьичной чувствительности к АБК и засухоустойчивости; нативный и денатурирующий электрофорез, иммуноблоттинг (антитела к белкам Lhcb1-6, Lhca1-4, PsbA, PsaA, Agrisera, Швеция) для исследования белкового состава ПБК; измерение скорости фотосинтетической фиксации CO₂ инфракрасным газоанализатором (LCA-4, ADC, Великобритания); измерение флуоресценции хлорофилла (Mini-PAM, Walz, Германия).

Результаты и обсуждение

У светоустойчивого высокопродуктивного фенотипа мутанта *chlorina 3613* по сравнению с исходным фенотипом мутанта наблюдали: (1) исчезновение деградации гран; (2) снижение продукции синглетного кислорода до уровня дикого типа; (3) возникновение тушения флуоресценции хлорофилла (NPQ), которое не ингибировалось дитиотреитолом (ДТТ) и таким образом не зависело от зеаксантина; (4) двухкратное накопление димеров и мономеров реакционных центров ФС2 по сравнению с низкопродуктивным фенотипом и диким типом; (5) накопление белков малой антенны (Lhcb4-6); (6) восстановление устойчивости к водному стрессу; (7) восстановление феноритмики онтогенеза; (8) повышение фотосинтетической продуктивности и урожайности до уровня параметров родительского сорта *Donaria*, или выше.

Заключение и перспективы

Представляет интерес: (1) дальнейшее изучение уникальной пространственной организации суперкомплексов фотосинтетического аппарата тилакоидных мембран хлоропластов светоустойчивого высокопродуктивного фенотипа мутанта ячменя *chlorina 3613*, (2) исследование регуляторных процессов, запускающих формирование этого фенотипа, а также (3) возможность использовать направленные изменения стехиометрии малой антенны и РЦ ФС2 в тилакоидных мембранах хлоропластов для повышения устойчивости к водному и световому стрессам, продуктивности фотосинтеза и урожайности у сортов ячменя дикого типа. Анализ результатов микрочипирования транскриптомов высокопродуктивного и низкопродуктивного фенотипов *chlorina 3613* на матрицах Affymetrix GenChip®Barley Genome Array позволит выявить дифференциально экспрессирующиеся гены, определяющие формирование высокопродуктивного фенотипа. Получение стабильных агробактериальных трансформантов *Arabidopsis thaliana* с изме-

ненной стехиометрией малой антенны и РЦ ФС2, а также аналогичных трансформантов ячменя, позволит проверить гипотезу о росте фотосинтетической продуктивности и стрессоустойчивости таких растений. Результаты позволят заложить основы создания сортов ячменя, обладающих необычно высокой урожайностью и устойчивостью к световому и водному стрессам.

Благодарности

Исследования поддержаны федеральной целевой программой Минобрнауки РФ «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы (Соглашения №8716 и №8133), а также РФФИ (грант №12-04-32078).

Литература

1. Ballottari M, Mozzo M, Girardon J, Hienerwadel R, Bassi R. Chlorophyll triplet quenching and photoprotection in the higher plant monomeric antenna protein Lhcb5. *J Phys Chem B*. 2013. 117 (38): 11337–11348.
2. Bossmann B, Grimme LH, Knoetzel J. Protease-stable integration of Lhcb1 into thylakoid membranes is dependent on chlorophyll b in allelic chlorina-f2 mutants of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Planta*. 1999. 207: 551-558.
3. Leverenz JW, Öquist G and Winglase G. Photosynthesis and photoinhibition in leaves of chlorophyll b-less barley in relation to absorbed light. *Physiol. Plant*. 1992. 85(3): 495-502.
4. Mueller AH, Dockter C, Gough SP, Lundqvist U, von Wettstein D, Hansson M. Characterization of mutations in barley fch2 encoding chlorophyllide a oxygenase. *Plant Cell Physiol*. 2012. 53(7): 1232-46.
5. Ruban AV, Wentworth M, Yakushevskaya AE, Andersson J, Lee PJ, Keegstra W, Dekker JP, Boekema EJ, Jansson S and Horton P. Plants lacking the main light harvesting complex retain photosystem II macro-organization. *Nature*. 2003. 421: 648 – 652.
6. Sakuraba Y, Balazadeh S, Tanaka R, Mueller-Roeber B, Tanaka A. Overproduction of chl b retards senescence through transcriptional reprogramming in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol*. 2010. 53(3): 505-17.
7. Tanaka R, Tanaka A. Chlorophyll cycle regulates the construction and destruction of the light-harvesting complexes. *Biochim Biophys Acta*. 2011 1807(8): 968-76.
8. Xu Y-H, Liu R, Yan L, Liu Z-Q, Jiang S-C, Shen Y-Y, Wang X-F and Zhang D-P. Light-harvesting chlorophyll a/b-binding proteins are required for stomatal response to abscisic acid in *Arabidopsis*. *Journal of Experimental Botany*. 2012. 63(3): 1095–1106.

CHANGES IN THE MINOR ANTENNA AND IN THE PS2 REACTION CENTRES AS BASIS TO RISE PHOTOSYNTHESIS AND TOLERANCE TO LIGHT AND DROUGHT STRESS IN BARLEY

Tjutereva E.V., Ivanova A.N., Voitsekhovskaja O.V.

barley (Hordeum vulgare L.), photosynthesis, thylakoid membranes, crop yield, abscisic acid, light stress, photoprotection, minor antenna

We developed a unique model system, the barley mutant chlorina 3613 (clo-f23613) impaired in chlorophyllid-a-oxygenase whose productivity can be enhanced severalfold by using an original cultivation system. We revealed the key structural features and biochemical processes which allowed the mutant plants to build up an efficient protection from light and drought stresses (known to be the main factors lowering crop productivity), and reach a productivity level comparable to, or higher than, that of non-mutant barley varieties.

РОЛЬ ГОРМОНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ В ФОРМИРОВАНИИ РОСТОВОГО ОТВЕТА ПРИ РАЗЛИЧНОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ЭЛЕМЕНТОВ МИНЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ

Фархутдинов Р.Г.

ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный университет», ул. 3. Валиди, 32, г. Уфа, 450076, Россия, E-mail: frg2@mail.ru

минеральное питание, фитогормоны, рост, ячмень

Введение

Минеральное питание - одна из наиболее важных составных частей обмена веществ в растительном организме. Поэтому неудивительно постоянное пристальное, внимание исследователей к данному процессу и разносторонний характер его изучения. Однако некоторые аспекты минерального питания до настоящего времени остаются недостаточно изученными. К таким аспектам относится проблема гормональной регуляции минерального питания. Сложный характер реакции растений на изменение условия минерального питания сочетается с четкой согласованностью процессов, протекающих в разных органах, что делает возможным предположение об участии в процессе адаптации регулирующего, интегрирующего механизма. Целью настоящей работы являлось изучение функциональной роли фитогормонов в процессах адаптации растений к условиям минерального питания, а также поиск конкретных механизмов гормональной регуляции в системе минерального питания.

Материалы и методы

Исследования проводились на 14 суточных растениях ячменя (*Hordeum vulgare* L.) в лабораторных условиях в водной культуре на питательной смеси Хогланда-Арнона-1 (Х-А). Изучение влияния градиента минерального питания на фитогормональный статус и ростовые показатели проростков ячменя проводили на водных растворах следующих концентраций питательной среды: 1%, 10%, 100%, 500%, 1000% Х-А. Экстракцию и иммуноферментный анализ фитогормонов (ИУК, АБК) проводили по модифицированной схеме с уменьшением объема [1]. Определение цитокининов проводили по методике, описанной ранее [2].

Результаты и обсуждение

Через 7 сут. после размещения растений на среде с различными концентрациями элементов минерального питания (ЭМП) проростки различались по длине корней и побегов. При дефиците (1% концентрация питательной среды) и на избытке (500 - 1000 % концентрация питательной среды) ЭМП наблюдалось подавление роста надземной части. Максимальный рост корней в длину происходил при дефиците питания. Степень активации роста корней на фоне дефицита питания по сравнению с условным оптимумом питания (100% среда Х-А) составила 60 %. Показатель корневого индекса при дефиците питания (отношение массы корней к массе надземной части) составил 1,22. Снижение длины надземной части по сравнению с оптимумом питания составило на дефиците ЭМП – 20%, а на избытке (500 – 1000 %) соответственно – 12 и 44 %. Кроме того на средах с избытком ЭМП наблюдалось снижение роста корней в длину. В процентном выражении это выглядело следующим образом, на 500 % концентрации – на 20 %, при 1000 % – на 34%. Таким образом дефицит минерального питания приводил к торможению роста побега и относительной активации роста корней, что является хорошо известной реакцией растений на недостаток минеральных веществ в среде [3,4].

Было интересным проанализировать, связаны ли указанные различия с гормональной отзывчивостью. В литературе активно обсуждается участие гормонов в регуляции ростового ответа на дефицит минерального питания [5,6].

При анализе эндогенного содержания фитогормонов был обнаружен различный гормональный статус на 7 сут. пребывания на различных уровнях ЭМП. Так было установлено синхронное накопление содержания цитокининов в надземной части и корнях проростков по мере увеличения концентрации ЭМП в питательном растворе. Причем накопление цитокининов шло

по мере снижения длины корневой системы. Вероятно, это связано с участием цитокининов в торможении роста корневой системы [7]. (Веселов и др., 2007). Принимая во внимание роль цитокининов в адаптации к минеральному питанию [8], в нашем случае удалось показать, что гормоны цитокининовой природы могут играть определенную роль в адаптационном ответе ячменя на изменение уровня минерального питания.

Определение содержания АБК показало следующую картину - как дефицит, так и избыток ЭМП, вызвал накопление гормона в корнях, однако уровень АБК на дефиците питания по сравнению со 100% средой был выше на 260 %, в то время как на 500% среде Х-А – на 184 %. В надземной части растения было установлено, что по мере возрастания концентрации ЭМП в среде, соответственно увеличивалось содержание АБК в них. Известно, что АБК накапливается в растениях при действии неблагоприятных факторов (например, засолении), а уровень ее накопления пропорционален степени повреждения [7]. В нашем случае мотивация накопления могла быть связана с одной стороны с дефицитом ЭМП [8], а в других условиях стимулом служил избыток солей [9].

Ситуация с содержанием ИУК выглядела следующим образом – максимальный уровень содержания в побегах и корнях на дефиците ЭМП и минимальная концентрация в тканях на засолении. Поскольку известно, что ауксины необходимы для роста корней в длину [7], то параллельное снижение длины корней и уровня содержания ИУК, можно рассматривать как свидетельство участия ауксинов в ростовом ответе на изменение содержания ЭМП в среде.

Заключение

Обнаруженные корреляции между морфологическим ответом и гормональной реакцией растений на изменение уровня минерального питания свидетельствуют о перспективности оценки концентрации фитогормонов как диагностического показателя, который может быть использован для подбора оптимального фона минерального питания.

Работа выполнена в рамках госзадания Минобрнауки России № 01201456413

Литература

1. Veselov, S.U., Modified Solvent Partitioning Scheme Providing Increased Specificity and Rapidity of Immunoassay for IAA / S.U. Veselov [et al.] // *Physiol. Plantarum*. - 1992. - Vol. 86. - P. 93-96.
2. Farkhutdinov, R.G. Influence of temperature increase on evapotranspiration rate and cytokinins content in wheat seedlings / Farkhutdinov R.G. [et al.] // *Biologia Plantarum*. - 1997, Vol. 39, - N 2.- P. 289-291.
3. Kuiper D., Effects of internal and external cytokinin concentrations on root growth and shoot to root ratio of *Plantago major ssp pleiosperma* at different nutrient conditions / D. Kuiper, J. Schuit, P.J.C. Kuiper // *Plant and Soil*. – 1988. - Vol 11. - P. 231-236
4. Рахманкулова З.Ф., Рост и дыхание растений разных адаптивных групп при дефиците элементов минерального питания /З.Ф. Рахманкулова, Г.Ф. Рамазанова, И.Ю. Усманов // *Физиология растений*. – 2001. – Т.48. – С.75-80.
5. Palmer S.J., Control of leaf expansion in sunflower (*Helianthus annuus* L.) by nitrogen nutrition / S.J. Palmer. [et al.] // *J. of Experimental Botany*. 1996. – V.47. - P.359-368.
6. Yong J.W.H., Effects of elevated CO₂ and nitrogen nutrition on cytokinins in the xylem sap and leaves of cotton / J.W.H. Yong, [et al.] // *Plant Physiology*. 2000. - V.124. - P. 767-779.
7. Веселов Д.С., Гормоны растений. Регуляция концентрации, связь с ростом и водным обменом. / Веселов Д.С., Веселов С.Ю., Высоцкая Л.Б., Кудоярова Г.Р., Фархутдинов Р.Г. // М.: Наука. -2007. - 160 с.
8. Черкозьянова А.В., Гормональная регуляция соотношения побег/корень не связана с водным обменом при дефиците минерального питания у растений пшеницы / А.В.Черкозьянова, [и др.] // *Физиология растений* - 2005. - Т.52 -№5. -С.708-711.
9. Kefu Z., Abscisic-acid levels in NaCl-treated barley, cotton and saltbush. / Z. Kefu, R. Munns, R. W. King // *Aust. J. Plant Physiol*. 1991 – V. 18. – P. 17–24

ROLE IN THE FORMATION OF HORMONE GROWTH RESPONSE AT DIFFERENT CONCENTRATIONS OF MINERAL NUTRIENTS

Farkhutdinov R.G.

mineral nutrition, plant hormones, growth, barley

Comparison of hormone and growth responses of barley plants at different levels of mineral nutrition can, in some cases, be expected to participate in the regulation of growth hormone adaptation to the conditions of mineral nutrition. The development of the root system depends on the rate of growth of the roots of responsiveness to changing levels of mineral nutrition, which in turn correlates with the variability of the concentration of endogenous phytohormones.

ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЕ ПИГМЕНТЫ ПРОРОСТКОВ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM AESTIVUM* L.) В УСЛОВИЯХ БИОТИЧЕСКОГО СТРЕССА

Фомаиди С.В., Панюта О.А., Белава В.Н., Таран Н.Ю.

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, ул. Владимирская, 64/13,
г. Киев, 01601, Украина, E-mail: fomaidis.v@mail.ru*фотосинтетические пигменты, озимая пшеница, церкоспореллез***Введение**

Пшеница, одна из главных продовольственных культур многих стран мира, поражается многочисленными болезнями, в том числе и корневыми гнилями, среди которых доминируют церкоспореллёзная (церкоспореллёз), офиоболлёзная, гельминтоспориозная, питиозная и фузариозная. Наиболее опасная из этих болезней – церкоспореллёз, или глазковая пятнистость. В годы эпифитотий потери урожая от церкоспореллёза составляют 40-50%, иногда – 90-100%. Возбудитель болезни – гриб *Pseudocercospora herpotrichoides* (Fron) Deighton, согласно международному каталогу Index Fungorum телеоморфа – *Oculimacula yallundae* (Wallwork & Spooner) Crous & W. Gams (2003) [1]. Инфицирование фитопатогенами вызывает стрессовое состояние растительного организма, в результате которого, как правило, запускается каскад метаболических изменений. Одним из первых на воздействие как биотических, так и абиотических стрессоров реагирует фотосинтетический аппарат, самым важным компонентом которого являются фотосинтетически активные пигменты, функционирование, содержание и состояние которых определяют весь комплекс обменных процессов растительных организмов. Фотосинтетические пигменты, и в первую очередь хлорофилл, являются очень чувствительным индикатором состояния растений в неблагоприятных условиях. Считается, что изменение их содержания является показателем общего физиологического состояния растительного организма.

Поэтому целью нашей работы было сравнительное изучение содержания фотосинтетических пигментов в проростках озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), инфицированных возбудителем церкоспореллёза.

Материалы и методы

В опытах использовали проростки озимой пшеницы восприимчивого к церкоспореллезу сорта Мироновская 808 (выведен в Мироновском институте пшеницы им. В.М. Ремесла НААН Украины) и относительно устойчивого сорта Roazon (выведен в Национальном институте агрономических исследований Франции – INRA), выращенные на кварцевом песке (фракция №4 0,8-1,6 мм). Использовали питательную среду Хогленда-Арнона [2]. 7-дневные проростки инфицировали суспензией конидий высоковирулентного штамма 543 7/1 *P. herpotrichoides* [3], любезно предоставленного лабораторией иммунитета сельскохозяйственных растений к болезням Института защиты растений НААН Украины. Проростки контрольного варианта обрабатывали дистиллированной водой. Гриб выращивали на жидкой картофельно-глюкозной питательной среде, содержащей 80 мг/л гентамицин сульфата. Содержание фотосинтетических пигментов определяли спектрофотометрически (UV Spectrophotometer UV-1800 Shimadzu, Япония) в спиртовом экстракте по величине оптической плотности. Концентрацию пигментов рассчитывали по стандартным формулам [4]. Анализ фотосинтетических пигментов проводили в момент инфицирования и через 24, 48, 72, 96, 120 ч после инокуляции возбудителем церкоспореллёза.

Измерения проводили в четырех биологических повторностях. На рисунках приведены средние арифметические значения из независимых опытов. Данные обработаны статистически с использованием пакета программ Microsoft office for Windows 7.0. В статье обсуждаются величины, достоверно различающиеся при $P \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Процесс фотосинтеза имеет важнейшее значение в жизни растительного организма. Адаптационные возможности ассимиляционного аппарата растений включают как активацию уже имеющихся приспособительных процессов, так и запуск новых защитных механизмов. Одни из них активируются как ответная реакция на любой стресс, другие могут быть следствием специфической реакции на тот или иной стресс. Особый интерес в этой ситуации представляет роль фотосинтетических пигментов – компонентов фотосинтетических структур – хлорофилла а, хлорофилла b и каротиноидов. Высокая концентрация хлорофиллов характерна для здоровых растений, поскольку обеспечивает эффективность фотосинтеза, а повышение концентрации каротиноидов наблюдают у растений в условиях абиотического стресса [5].

Исследование содержания пигментов проростков пшеницы двух сортов (отличающихся по устойчивости к патогену), инфицированных возбудителем церкоспореллеза, показало, что в течение 120 часов зарегистрировано снижение общего количества фотосинтетических пигментов на 10,0-66,7 % по сравнению с контролем у проростков относительно устойчивого сорта Roazon и на 5,1-59,3 % – у проростков восприимчивого сорта Мироновская 808 (рис.1).

Изучение динамики образования пигментов в инфицированных проростках сорта Roazon показало снижение этого показателя до 96 ч экспозиции, а затем – некоторое возрастание (зарегистрировано на 120 ч эксперимента). В инфицированных проростках сорта Мироновская 808 снижение общего содержания пигментов происходило до 48 часа, а с 72 часов отмечено возрастание этого показателя и к 120 часам общее количество пигментов было равно таковому в неинфицированном контроле.

Таким образом, в инфицированных проростках обоих сортов (противоположных по устойчивости к патогену) в течение 120 часов после инокуляции происходит сначала резкое падение содержания фотосинтетических пигментов с последующим восстановлением, но у относительно устойчивого сорта Roazon этот процесс начинается через 96 часов, а у восприимчивого сорта Мироновская 808 – уже через 48 часов.

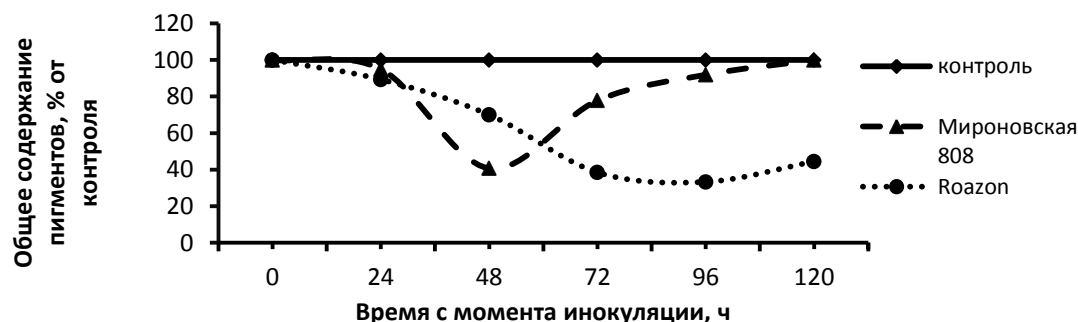


Рисунок 1 - Общее содержание фотосинтетических пигментов в проростках пшеницы, инфицированных *P. herpotrichoides*

Figure 1 - The total content of photosynthetic pigments in wheat seedlings, which were infected by *P. herpotrichoides*

Сравнение динамики содержания фотосинтетических пигментов в инфицированных проростках пшеницы сортов Roazon и Мироновская 808 показало, что содержание хлорофилла а в проростках относительно устойчивого сорта постепенно уменьшалось на протяжении 96 часов, а хлорофилла b – на протяжении 72 часов, с последующим возрастанием (рис.2). Содержание каротиноидов в течение 48 часов было на уровне контроля, после чего отмечено снижение до окончания эксперимента. В инфицированных проростках восприимчивого сорта Мироновская 808 содержание хлорофилла а уменьшалось в течение 48 часов, после чего возрастало, но было меньше контрольного, содержание хлорофилла b изменялось аналогично, но к окончанию эксперимента резко возрастало и достигало 166,7 % от контроля. Характер динамики содержания каротиноидов у проростков восприимчивого сорта был аналогичным этому показателю у относительно устойчивого сорта, но амплитуда отклонений была в 2 раза меньше.

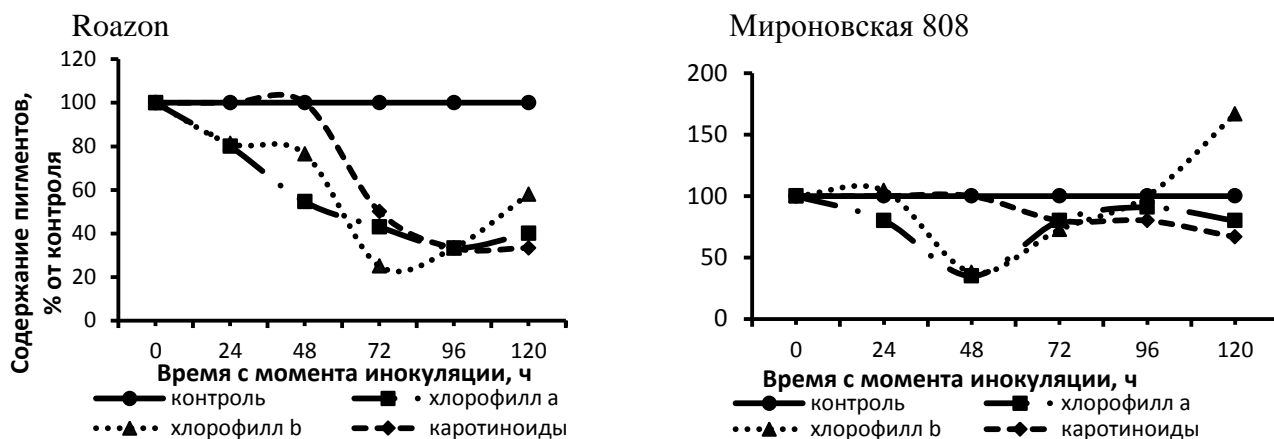


Рисунок 2 - Содержание фотосинтетических пигментов в проростках пшеницы, инфицированных *P. herpotrichoides*

Figure 2 - Photosynthetic pigments content in wheat seedlings, which were infected by *P. herpotrichoides*.

Снижение содержания всех фотосинтетических пигментов при инфицировании в проростках пшеницы с разной устойчивостью к патогену свидетельствует о кардинальных нарушениях метаболических процессов, которые, как показывают полученные результаты, у проростков относительно устойчивого сорта происходят позже, чем у проростков восприимчивого сорта. По нашему мнению, такая задержка обеспечивается анатомическими и биохимическими механизмами врожденного иммунитета, что подтверждают результаты наших более ранних исследований [6, 7].

Литература

1. Index Fungorum. [Электронный ресурс] : CABI Bioscience Databases. – Режим доступа: <http://www.indexfungorum.org/Names/SynSpecies.asp?RecordID=487428>. – Species Fungorum.
2. Гродзинский А. М. Краткий справочник по физиологии растений: справочник / А. М. Гродзинский, Д. М. Гродзинский. – К.: Наукова думка, 1973. – 591 с.
3. Белава В.Н., Панюта О.О., Таран Н.Ю. Модельна система інфікування та оцінки рівня стійкості озимої пшениці (*Triticum aestivum* L.) проти збудника церкоспорельозу (*Pseudocercospora herpotrichoides* (Fron) Deighton) // Карантин і захист рослин. – 2008. – № 7. – С. 25 – 28.
4. Гавриленко В.Ф., Ладыгина М.Е., Хандобина Л.М. Большой практикум по физиологии растений. Фотосинтез. Дыхание. Учеб.пособие. – М: «Высшая школа» – 1975. – 392 с.
5. Кочубей С.М. Организация фотосинтетического аппарата высших растений. – К.: «Альтерпресс» – 2001. – 204 с.
6. Belava V., Panyuta O., Taran N. Biochemical markers of wheat eyespot resistance // Zemdirbyste-Agriculture. – 2008. – V. 95, № 3. – P. 298 – 303.
7. Белава В.Н., Зеленый С.Б., Панюта О.А., Таран Н.Ю., Погребной П.В. Экспрессия генов лектина и дефенсина разных генотипов пшеницы при инфицировании *Pseudocercospora herpotrichoides* // Biopolymers & Cell. – 2010. – № 1. – С. 45 – 50.

PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS OF WINTER WHEAT SEEDLINGS (*TRITICUM AESTIVUM* L.) UNDER BIOTIC STRESS

Fomaidi S.V., Panyuta O.O., Belava V.N., Taran N.Yu.

photosynthetic pigments, winter wheat, eyespot

Photosynthetic pigments of winter wheat seedlings under biotic stress were investigated. Infection with eyespot causal agent resulted in a decrease of chlorophylls and carotenoid content.

**ВЕКТОРНЫЕ СИСТЕМЫ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РОЛИ
ДЕСАТУРАЗ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИХ ЛОКАЛИЗАЦИИ
В РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКЕ**Хаджиев Т.А.², Тюрин А.А.^{1,2}, Никифорова Х.Р.¹, Чертова Н.В.², Голденкова-Павлова И.В.¹¹ ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая 35,
г. Москва, 127276, Россия, Россия, E-mail: irengold58@gmail.com² ФГБОУ ВПО «Российский государственный аграрный университет – Московская
сельскохозяйственная академия им. К.А. Тимирязева», Тимирязевская ул., 49,
г. Москва, 127550, Россия, E-mail: alexjofar@gmail.com*десатуразы, функции, локализация, растения***Введение**

Модуляция ненасыщенности жирных кислот – это механизм, который определяет изменения в текучести мембран. Текучесть мембран может непосредственно регулировать активность мембран-связанных белков, таких как различные транслокаторы, ионные каналы, киназы и сенсорные белки. В настоящее время известно, что живые организмы обычно способны синтезировать насыщенные жирные кислоты (ЖК), которые затем подвергаются различным модификациям, ключевыми из которых является введение двойных (C=C) связей в цепях ЖК, что и влияет на физические свойства мембран (текучесть) [1, 2]. В процесс введение двойных связей между атомами углерода в цепи ЖК мембранных липидов вовлечены специфические ферменты – десатуразы [1]. Гены Δ9-десатураз отвечают за образование первой двойной связи [1, 2]. Несмотря на то, что гены, кодирующие ацил-липидные Δ9-десатуразу, идентифицированы, свойства их белковых продуктов интенсивно исследуются, и во многих случаях определены дифференциальные изменения в уровне экспрессии этих генов в зависимости от стадии развития, а также при действии различных стрессовых факторов, многое еще остается загадкой. Так, в геноме *Arabidopsis thaliana* идентифицировано восемь генов, которые кодируют Δ9-десатуразу: и один локус At3g15870, который по предсказанию кодирует фермент с такой активностью [1, 2]. Однако, анализ курируемой базы данных *Arabidopsis* eFP Browser показал, что внутриклеточная локализация этих ферментов определена исключительно за счет предсказания при использовании биоинформатических алгоритмов. При этом, согласно предсказанию, один и тот же белок локализован в различных компартментах растительной клетки. Следует подчеркнуть, что экспериментальные данные, подтверждающие ту или иную локализацию Δ9-десатураз в растительной клетке, отсутствуют. При этом необходимо отметить, что клеточная локализация белков у живых организмов, в том числе и растений, тесно взаимосвязано с их функциями [3]. Таким образом, экспериментальные данные о взаимосвязи локализации белка и его функциональной эффективностью, окажет неоценимую помощь в понимании регуляции ключевых биологических процессов на клеточном уровне. В частности, изучение этой научной задачи для ацил-липидных Δ9-десатураз сделает возможным решение интригующей задачи, а именно, задачу чувствительности температуры и текучести на уровне генов [1]. Решение этой фундаментальной задачи необходимо для создания полной картины молекулярно-генетических механизмов, контролирующей динамику мембран, у растений и применения полученных знаний для биотехнологического использования. Для решения вышеизложенной задачи необходимо создание новых экспериментальных моделей трансгенных растений.

Материалы и методы

Для молекулярного клонирования применяли стандартные процедуры и протоколы ПЦР. В работе использованы растения табака *Nicotiana benthamiana*, выращенные при температуре 25°C в условиях 16-часового светового дня и освещенности 1000-2000 лк, штамм *E. coli* XL1-Blue (“Stratagene”, США) и штамм агробактерий GV3101. Для трансформации клеток бактерий использовали стандартные методики. Бактериальные клетки для агроинфильтрация растений

табака *N. benthamiana* предварительно ресуспендировали в буфере, и инфильтрировали в нижнюю часть листа шестинедельных растений *N. benthamiana* с помощью шприца без иглы. Результат оценивали на четвертые сут. после агроинфильтрации.

Результаты и обсуждение

На основе анализа литературных источников выдвинута гипотеза: функциональная эффективность ацил-липидной дельта-9-десатуразы зависит от её локализации в растительной клетке.

В качестве целевого гена выбран ген *desC* цианобактерий *Synechococcus vulcanus*, который кодирует ацил-липидную дельта-9-десатуразу – функциональный гомолог растительных дельта-9-десатураз. Первоначально, сконструирован гибридный ген, в котором последовательность гена *desC* имеет транскрипционно-трансляционное слияние с последовательностью гена *egfp*, кодирующего зеленый флуоресцентный белок. Гибридный ген обозначен нами *desC-egfp*.

Далее методами молекулярного клонирования сконструировано две серии экспрессионных векторов для компартмент-специфичной локализации дельта-9-десатуразы, в которых последовательности нативного *desC* гена (первая серия векторов) или гибридного *desC-egfp* гена (вторая серия векторов) слиты с последовательностями, кодирующие разные сигнальные пептиды (рис. 1).

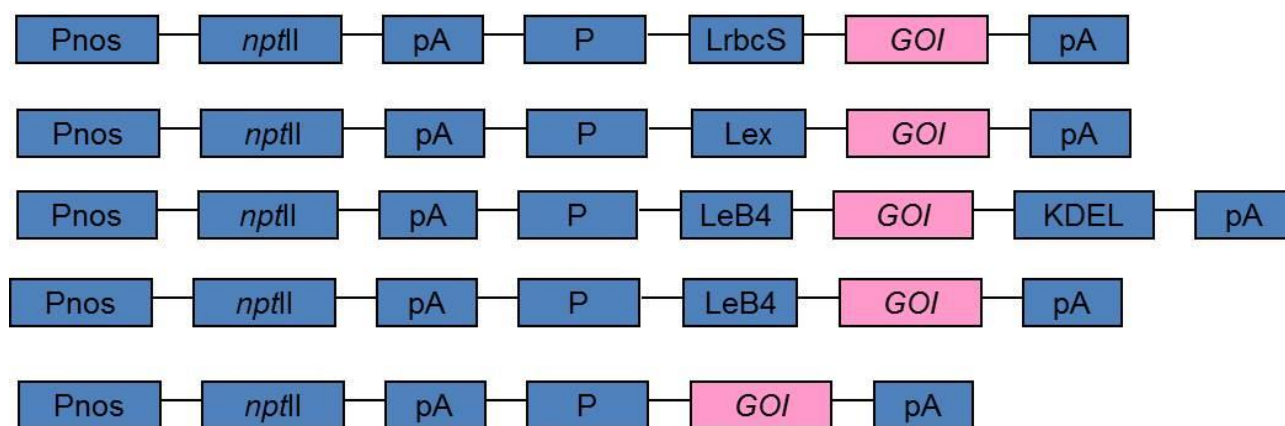


Рисунок 1 - Схемы Т-ДНК области экспрессионных векторов для компартмент-специфичной локализации дельта-9-десатуразы в растительных клетках. Pnos и P – промоторы гена селективного маркера и целевого гена, соответственно; nptII – ген селективного маркера; pA – сигнал полиаденилирования; LrbcS, Lex, LeB4 – лидерные последовательности РБФК, экстенсина и гена LeB4, соответственно; GOI – нативный *desC* или гибридный *desC-egfp* гены.

Figure 1 - (T-DNA of expression vectors for compartment-specific location of delta-9-desaturase in plant cell. Pnos и P – promotes for selective and target gene, respectively; nptII – selective gene; pA – polyadenilation signal; LrbcS, Lex, LeB4 – leader sequences of RBCS, extensin and LeB4 gene, respectively; GOI – native *desC* gene or hybrid *desC-egfp* gene)

А именно, для обеспечения локализации целевого белка в хлоропластах использовали лидерную последовательность малой субъединицы рибулозо-бисфосфат-карбоксилазы (РБФК) гороха; для обеспечения локализации целевого белка в апопласте – лидерную последовательность экстенсина моркови; для обеспечения локализации целевого белка в эндоплазматическом ретикулуме использовали лидерную последовательность гена LeB4 гороха как с сигналом удержания (KDEL) в нём, так и без такового. Помимо этого сконструированы вектора, в которых последовательности нативного *desC* гена (первая серия векторов) или гибридного *desC-egfp* гена (вторая серия векторов) не имеют слияния с лидерными последовательностями для локализации целевого белка в цитоплазме.

Для оценки эффективности сконструированных экспрессионных векторов проведена транзиентная экспрессия на растениях табака *Nicotiana benthamiana*. Сравнительный анализ трансфицированных растений, продемонстрировал, что в растениях происходит образование

белковых продуктов гибридных генов, а сигнальные последовательности обеспечивают корректную локализацию целевого белка в соответствующих компартаментах растительных клеток.

Таким образом, полученные две серии векторных систем, несущих либо нативный desC ген, либо гибридный desC-egfp ген, позволят выяснить взаимосвязь между локализацией десадуразы и ее функциональной эффективностью на моделях трансгенных растений.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 14-04-01616_a.

Литература

1. Los D. A., Mironov K. S., Allakhverdiev S. I. Regulatory role of membrane fluidity in gene expression and physiological functions. *Photosynth Res.* 2013. V. 116. N 2-3. P. 489-509.

2. Smith M.A., Dauk M., Ramadan H., Yang H., Seamons L.E., Haslam R.P., Beaudoin F., Ramirez-Erosa I., Forseille L. Involvement of Arabidopsis acyl-coenzyme A desaturase-like 2 (At2g31360) in the biosynthesis of the very-long-chain monounsaturated fatty acid components of membrane lipids. *Plant Physiol.* 2013. V. 16. P. 81–96.

3. Wu Z.C., Xiao X. and Chou K.C. iLoc-Plant: a multi-label classifier for predicting the subcellular localization of plant proteins with both single and multiple sites. *Mol. Biosyst.* – 2011. V. 7. P. 3287–3297.

VECTOR SYSTEMS FOR STUDING OF FUNCTIONAL ROLE OF DESATURASES DEPENDING ON THEIR LOCATION IN PLANT CELL

Khadzhiiev T.A., Tyurin A.A., Nikiforova Ch.R., Chertova N.V., Goldenkova-Pavlova I.V.

desaturases, function, location, plant

Two types of expression vector for compartment-specific location of delta-9-desaturase in plant was constructed. These vectors are carried native desC gene or hybrid desC-egfp gene fusion with different leader sequences (for chloroplast, appoplast and endoplasmatic reticulum). Comparable analysis of transfected tobacco plants is demonstrated that hybrid protein are synthesized in plant as well as leader sequences are provided a target protein location in corresponding compartments of plant cells. It is allow to study the relationship between location desaturase and its functional activity on model transgenic plants.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ВОДЫ В КОРНЯХ РАСТЕНИЙ

Харчук О.А.

Институт генетики, физиологии и защиты растений НАН Республики Молдова,
ул. Лесная, 20, г. Кишинев, 2002, Республика Молдова, E-mail: kharchuk.biology@mail.ru

корни, содержание воды, соя, засоление

Введение

Водный статус листа тесно связан с ростом, фотосинтезом и другими физиологическими процессами, определяя реакцию растений на условия среды [1]. Оценка содержания воды широко используется для характеристики дефицитов оводненности в тканях листа [2]. Существующие методы определения содержания воды в растениях достаточно консервативны, но применяются в основном к листьям и практически не используются для корней, хотя действие на растения важных экологических факторов (засоление засуха) осуществляется через корни, в почве. Известен способ определения содержания воды в растениях, включающий взвешивание образца (определение свежего веса, FW) немедленно после отбора, высушивание при температуре от 60 до 105°C с последующим взвешиванием для определения сухого веса (DW), при этом содержание воды (WC) может выражаться на сухой вес или свежий вес [3]. Для листьев измерения содержания воды, выраженные на сырую или сухую массу ткани многими авторами заменены измерениями, основанными на максимальном количестве воды, которое может удержать ткань [2] и выраженными через относительное (Relative Water Content, RWC) содержание воды [4]. Для вычисления RWC, помимо FW и DW требуется определить дополнительно тургорный вес (TM) ткани. Существенным является отсутствие в мировой литературе работ по определению RWC корней растений. Более того, в мировой литературе практически отсутствуют сведения даже по абсолютному (а не только относительному) содержанию воды в корнях. Например, в монографии по водному режиму растений [1] приведена единственная ссылка на работу по определению содержания воды в корнях (Wilson et al., 1953), согласно которой содержание воды в корнях подсолнечника (71%) меньше, чем в листьях (81%).

Недостатком существующих методов определения содержания воды является отсутствие методики учета остатков почвы на нативных корнях растений (неудаляемых без отмычки водой, что искажает водный статус корней). Это особенно актуально для мочковатых корневых систем в достаточно влажной почве. Такую почву желательнее полностью удалить с нативных корней (для прямого использования существующей формулы расчета содержания воды в образцах), либо учесть вклад почвы при расчетах содержания воды в корнях. Удалению с корней черноземной почвы, особенно влажной, препятствует прочная связь почвенных агрегатов с корнями (что в естественных условиях и обеспечивает поступление воды из корней в растение). По-видимому, существенную роль в удерживании почвы корнями играют слоистые силикаты типа монтмориллонита, присутствие которого определяет отличие черноземов от сероземов. В специальных опытах с внесением весной в почву чистого монтмориллонита нами было показано, что за вегетационный сезон частицы монтмориллонита плотно соединяются с корнями (более того, траектория роста корней определяется местоположением в почве микрочастиц монтмориллонита) и осенью при отмычке корневой системы растений удерживаются на корнях прочнее остальных почвенных компонентов. При засухе частицы сухой почвы слабо удерживаются корнями и достаточно легко осыпаются при легком встряхивании.

Целью настоящей работы является разработать способ определения содержания воды в нативных корнях растений (прежде всего в почвенной культуре) на основе устранения вклада почвы, и, в результате, определить содержание воды собственно в нативных корнях растений.

Материалы и методы

В условиях открытого вегетационного комплекса в сосудах с черноземной почвой выращивали растения сои сорта Клавера на разных почвенных фонах: контроль (незасоленная

почва, влажность почвы 70% ПВ), засоление (0,15% бикарбоната натрия, влажность почвы 70% ПВ) и засуха (незасоленная почва, влажность почвы 35% ПВ). При отработке методики определения содержания воды одновременно отбирали пробы листьев и корней. Для определения FM листья брали всегда со средней части побегов (для минимизации возрастных эффектов), листовые пластинки отделяли от черешка у основания листовой пластинки острым лезвием для бритвы и немедленно взвешивали [2]. Как рекомендовано Clausen & Kozlowski (1965), FM определяли для каждого образца массой не менее 0,5 г [5]. Для определения DM образцы листьев сушили 24ч при 105°C [3]. Содержание воды (WC) выражали на сухой вес $WC = (FW-DW)/DW$, в гH₂O/г сухой массы (или на свежий вес, в % от FW). Для определения содержания воды в корнях извлекали из сосуда растения вместе с налипшей на корни почвой. Растения с корнями легко встряхивали (для удаления основной массы почвы, непосредственно не контактирующей с корнями), а осыпающуюся почву без корней собирали в отдельный тарированный бюкс (образец 1). Затем острым пинцетом срезали корни с неудаляющимися остатками почвы и клали их в другой тарированный бюкс (образец 2). Оба разных (отдельных) тарированных бюкса немедленно взвешивали для определения FW почвы и образца свежих корней с неудаляющимися остатками почвы. Высушивание основной массы почвы, непосредственно не контактирующей с корнями (образец 1) и корней вместе с остатками налипшей почвы (образец 2) проводили в тех же разных (отдельных) бюксах (преимущественно при температуре 105°C) до постоянного веса. После сушки (выведенные) бюксы закрывали. Бюкс с образцом 2 (сухие корни с сухой почвой) закрывали и интенсивно встряхивали (не менее 5 минут, преимущественно с частотой не менее 10 колебаний/сек, на электрическом встряхивателе WU-4). После прекращения встряхивания сухие корни (плотность сухих корней сои не более 0,5 г/см³) лежат на поверхности почвы (удельный вес почвы, как правило, более 1,0 г/см³). Высушенные корни и высушенную почву образца 2 взвешивают раздельно. При этом, в частности, получают DM корней и DM остатков почвы с корнями (образец 2). Раздельно взвешивали высушенную почву образца 1 и получали DM чистой почвы (без корней). Определяли WC нативной (чистой от корней) почвы по свежему (нативному) и сухому весу образца 1. По WC почвы образца 1 и DM образца 2 рассчитывали нативный FM почвы с корнями образца 2. Из нативного FM образца 2 (корни с налипшей почвой) вычитали нативный FM почвы образца 2 – полученная разность является нативным FM собственно только нативных корней образца 2. WC нативных корней (образца 2) вычисляют как разность нативного FM собственно только корней (образца 2) и DM этих корней (образца 2). Содержание воды (WC) выражали на сухой (преимущественно, гH₂O/г сухой массы корней) или на сырой (%) вес корней. Определения проводили в 3х-6ти кратной повторности.

Кроме того, после извлечения растений из сосудов и их легкого встряхивания определяли содержание воды в корнях без удаления остатков почвы с корнями непосредственно (вместе с остатками почвы), без учета вклада почвы в величину содержания воды «корней».

Результаты и обсуждение

Данные определений содержания воды двумя способами приведены в таблице. Как видно, максимальное количество воды в корнях получено способом, элиминирующим ошибку от адсорбированной корнями почвы. Особенно большие различия при определении содержания воды в корнях двумя способами отмечены при влажности почвы 70% ПВ. После учета почвы на корнях и при прямом определении с остатками почвы градиент содержания воды «лист минус корень» составил 1,17 и -0,26 в контроле, 0,09 и -0,27 при засолении и -0,31 и -0,51 г/г при засухе. Отношение содержания пролина в листьях к его содержанию в корнях составило 1,8 в контроле, 1,5 при засолении и 1,2 при засухе, что соответствует градиентам содержания воды при его определении в корнях с учетом сорбированной почвы. Основной причиной ошибки из-а остатков почвы на корнях (сухая масса абсорбированной почвы доходит до 50% сухого веса корней) вызвана тем, что содержание воды (на сухой вес почвы) даже при орошении примерно в 10 раз меньше содержания воды в органах растений. Остатки прочно связанных с корнями почвенных агрегатов существенно занижают содержа-

ние воды в корнях (что приводит к ошибочным выводам при сравнении оводненности корней и листьев). Таким образом, способ определения содержания воды в корнях с учетом сорбированной почвы является более правильным.

Таблица - Определенное разными способами содержание воды в листьях и корнях растений сои при различных почвенных условиях (2013 г., фаза наполнения семян)

Table - Water content in leaves and roots of soybean plants at different soil conditions according to different methods of determination (2013, phase of seeds filling)

Вариант (фон)	Содержание воды (гН ₂ О/г сухой массы) в органах растений	
	нативные органы (корни после вычета почвы)	с остатками почвы (корни)
	Корни	
Пресный, 70%(контроль)	3,15 ±0,17 (5)	1,76 ±0,06 (5)
Засоление, 70%	2,51 ±0,28 (5)	1,83 ±0,06 (5)
Пресный, засуха 35%	1,30 ±0,05 (5)	1,10 ±0,06 (2)
	Листья	
Пресный, 70%(контроль)	1,98 ±0,03 (6)	-
Засоление, 70%	2,10 ±0,04 (6)	
Пресный, засуха 35%	1,61 ±0,05 (6)	

Заключение

Проведены определения содержания воды в корнях двумя способами. Максимальное количество воды в корнях получено способом, элиминирующим ошибку от адсорбированной корнями почвы. Этот метод может применяться для определения содержания воды в корнях растений в почвенной культуре (преимущественно для черноземных почв и высокой влажности почвы).

Литература

1. Kramer, P. J., Boyer, J. S. Water relations of plants and soils. Academic Press, San Diego, 1995, 495 p.
2. Yamasaki S., Dillenberg L.R. Measurements of leaf relative water content in *Araucaria Angustifolia*. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 1999, 11 (2), 69-75.
3. Turner N.C. Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water status. *Plant and Soil*, 1981, 58:339-366.
4. Barrs H.D. Determination of water deficits in plant tissue. In: Kozlowski T.T. (Ed) *Water deficits and plant growth*. New York, Academic Press, 1968. v.1, p.235-368.
5. Clausen J.J. & Kozlowski T.T. Use of the relative turgidity technique for measurement of water stresses in gymnosperm leaves. *Canadian Journal of Botany*, 1965, 43:305-316.

DETERMINATION OF THE WATER CONTENT IN PLANTS ROOTS

Kharchuk O.A.

roots, water content, soybean, salinity

A method for determining of the water content in the roots of plants in soil culture (mainly for chernozem soils and for high soil moisture) is developed with taking into account the weight of absorbed soil.

ПЛОТНОСТЬ СТЕБЛЯ РАСТЕНИЙ СОИ УВЕЛИЧИВАЕТСЯ ПРИ ЗАСОЛЕНИИ

Харчук О.А., Кириллов А.Ф.

Институт генетики, физиологии и защиты растений НАН Молдовы, ул. Лесная, 20, г. Кишинев, 2002 Республика Молдова, E-mail: kharchuk.biology@mail.ru

стебель, засоление, соя

Введение

Засоление почв является одним из главных факторов ограничения продуктивности культурных растений. Около 6% сельскохозяйственных земель поражены засолением [1] и ожидается рост этой доли в следующие несколько десятилетий. Повышение продуктивности растений в засушливых регионах орошением лимитируется вторичным засолением почвы [2], что ставит под вопрос постоянство применения орошения [3]. В последние годы повышено внимание к роли стебля в регуляции водного статуса растений в связи с тем, что увеличение концентрации ионов в ксилемном соке оказывает влияние на гидравлические свойства стеблей [4, 5]. У томатов *Solanum lycopersicum* сорт Naomi при засолении концентрация натрия в ксилеме стебля увеличилась до 31 ± 8 мМ против $0,5 \pm 0,2$ в контроле, что сопровождалось уменьшением гидравлической проводимости листьев до $11,6 \pm 2,5$ ммоль/м² сек⁻¹ против $22,2 \pm 1,6$ в контроле [6]. Van Doorn W. G et al (2011) предложили гипотезу, согласно которой увеличение концентрации катионов в ксилемном соке влияет на водный ток в ксилеме растений за счет электростатического эффекта в проводящих сосудах [7].

Хотя в последние годы расширяются исследования роли стебля в регуляции водного статуса растений, остается неясным, какой из показателей более адекватен для реализации потенциала продуктивности и повышения эффективности использования водных (естественных и оросительных), а также почвенных и минеральных ресурсов. В настоящей работе поставлена задача изучить действие слабого засоления и засухи на некоторые биометрические параметры стеблей и корней растений сои в связи с их продуктивностью.

Материалы и методы

Растения сои сорта Клавера выращивали в вегетационных сосудах объемом 10 л (12 кг сухой черноземной почвы, 3 растения на сосуд). Засоленный фон создавали внесением в почву 0,15% бикарбоната натрия при набивке сосудов. Растения подвергали воздействию засоления, повторной засухи (в фазе цветения и в фазе наполнения семян), а также комплексному действию засоления и повторной засухи. После завершения вегетационного периода (через 150 дней после сева) удаляли не опавшие естественным способом листья, отмывали от почвы подземную часть растений (стебля с корнем) и определяли сухую массу стеблей и корней термостатно-весовым методом (высушиванием отмытых растений и их частей при 105°C до постоянного веса) в 9-12 кратной повторности по каждому из четырех вариантов опыта. Плотность (P) высушенных стеблей определяли на 5м междоузлии центрального побега (стебля) как отношение его массы (M) к объему (V): $P=M/V$.

Результаты и обсуждение

В таблице приведены данные по сухой массе корней и стеблей, а также по плотности стеблей по окончании вегетационного сезона для всех изученных факторов: незасоленная почва и засоленная почва без засухи, засуха (повторная), комплексное действие засоления и засухи. Действие слабого засоления выразилось в уменьшении сухой массы стеблей и корней растений сои: при влагообеспеченности 70% ПВ для стеблей в 1,4 раза, для корней в 1,9 раза, а на фоне действия повторной засухи - для стеблей в 1,6 раза, для корней в 2,1 раза. В результате действия засоления увеличилась плотность стеблей растений сои: в 1,15 раза при влажности почвы 70% ПВ и в 1,11 раза на фоне действия повторной засухи. Увеличение

Таблица 1 - Величина некоторых биометрических параметров стеблей и корней растений сои с. Клавера по окончании вегетационного сезона 2013 г. после отдельного и комплексного действия слабого засоления и засухи

Table 1 - Some biometric parameters of soybean plants (cv. Clavera) stems and roots after salinity and drought influence (2013)

Вариант	Сухая масса, г			Плотность стебля, г/см ³
	корни	стебель	сумма	
Без засоления, 70% ПВ (контроль)	2,38 ±0,51	4,43 ±0,24	6,81 ±0,65	0,367 ±0,017
Засоление 0,15% NaHCO ₃ , 70% ПВ	1,25 ±0,13	3,23 ±0,17	4,48 ±0,21	0,422 ±0,015
Без засоления, 35% ПВ	2,98 ±0,44	4,33 ±0,29	7,31 ±0,72	0,371 ±0,015
Засоление 0,15% NaHCO ₃ , 35% ПВ	1,45 ±0,20	2,79 ±0,29	4,24 ±0,43	0,412 ±0,021

плотности стеблей в результате засоления вызвано, по-видимому, повышенным содержанием солей в ксилеме стебля [6] и электростатическим ионным эффектом [7]. После действия недостатка влаги (повторные засухи 35% ПВ на незасоленном фоне и при засолении) не установлено достоверных изменений сухой массы стеблей и корней, а также плотности стеблей растений сои.

Учитывая литературные данные по роли стебля в регуляции водного статуса растений, актуальность повышения эффективности использования водных (естественных и оросительных), а также почвенных и минеральных ресурсов, целесообразным является проведение на разных культурах исследований по выявлению взаимосвязи между водным и минеральным статусом растений, плотностью стеблей и индексом урожая.

Заключение

Слабое засоление, независимо от уровня влагообеспеченности, привело к уменьшению сухой массы стеблей и корней растений сои. В результате действия засоления увеличилась сухая плотность стеблей растений сои. Недостаток влагообеспеченности (как на незасоленном фоне, так и при засолении) не оказал существенного влияния на сухую массу стеблей и корней, а также на сухую плотность стеблей растений сои.

Литература

1. Munns R., Tester M. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 2008, 59, 651–681.
2. Ghassemi F., Jakeman A.J., Nix H.A. Salinization of land and water resources. human causes, extent, management, and case studies. Sydney: University of New South Wales, 1995.
3. Flowers T.J., Yeo A.R. Breeding for salinity resistance in crop plants - where next? *Australian Journal of Plant Physiology*, 1995, 22, 875-884.
4. Zwieniecki M.A., Orians C.M., Melcher P.J., Holbrook N.M. Ionic control of the lateral exchange of water between vascular bundles in tomato. *Journal of Experimental Botany*, 2003, 54, 1399–1405.
5. Nardini A., Salleo S., Jansen S. More than just a vulnerable pipeline: xylem physiology in the light of ion-mediated regulation of plant water transport. *Journal of Experimental Botany*, 2011, 62, 4701–471.
6. Trifilò P., Lo Gullo M. A., Raimondo F., Salleo S. and A. Nardini. Effects of NaCl addition to the growing medium on plant hydraulics and water relations of tomato. *Functional Plant Biology*, 2013, 40, 459–465.
7. van Doorn W. G., Hiemstra T. and Fanourakis D. Hydrogel Regulation of Xylem Water Flow: An Alternative Hypothesis. *Plant Physiology*, December 2011, Vol. 157, pp. 1642–1649.

SOYBEAN PLANTS STEM DENSITY INCREASES UPON SALINITY

Kharchuk O.A., Kirilov A.F.

stem, salinity, soybean

The results of studying of soybean roots and stems dry weight and stem density upon drought and salinity are presented. Salinity leads to significant increase of the stem density.

ЛИСТОВАЯ ПОВЕРХНОСТЬ РАСТЕНИЙ СОИ ПРИ СЛАБОМ ЗАСОЛЕНИИ И НЕДОСТАТКЕ ВЛАГИ В СВЯЗИ С ПРОДУКТИВНОСТЬЮ

Харчук О.А., Кириллов А.Ф., Будак А.Б., Козьмик Р.А., Баштовая С.И., Кириллова Э.Н.

Институт генетики, физиологии и защиты растений НАН Молдовы, ул. Лесная, 20, г. Кишинев, 2002, Республика Молдова, E-mail: kharchuk.biology@mail.ru

соя, листовая поверхность, семенная продуктивность, засуха, засоление

Введение

Территория Молдовы характеризуется засухами и высокими температурами [1], а также высокой минерализацией подземных и поверхностных вод [2]. Повышенное содержание солей в почве, помимо самостоятельного отрицательного действия, усиливает действие других неблагоприятных факторов на растения [3]. Известно, что практически все процессы жизнедеятельности растений, в том числе процессы роста и накопления их массы, прямо или косвенно зависят от влагообеспеченности [4]. Отмечается, что урожайность сои зависит от листовой поверхности (ЛП) растений [5, 6], при этом в разных условиях для исследований динамики роста листьев применяются разные методы измерений. Setiyono T.D. et al. [6] применяли деструктивный способ определения площади листьев (S), располагая в полевом опыте большим количеством растений (300-700 растений/делянку). Применение деструктивного метода нежелательно в условиях вегетационного опыта (2-3 растения в сосуде). Определять S недеструктивно, непосредственно на растении (без отделения листьев от стебля), можно по линейным размерам листьев [5, 7]. Известный метод определения S тройчатых листьев растений сои по длине центральной листовой пластинки по формуле $S = 0,128L + 1,328 L \times L$, где L – длина средней листовой пластинки [5], не учитывает вариацию отношения длины к ширине листовой пластинки, которая является существенным фактором продуктивности растений [8]. Известен метод определения S, учитывающий разную форму листьев [7], при этом S листьев растений томатов определяют по формуле $S = 0.25 (L \times W) / (1 - 1.48 L \times W)$, где L и W – длина и ширина листа [7, 9].

В настоящей работе представлены данные исследований особенностей изменения ЛП (на основе недеструктивного определения с учетом формы листьев) в связи с семенной продуктивностью (СП) растений сои при слабом засолении и недостатке влаги.

Материалы и методы

В условиях открытого вегетационного комплекса было смоделировано воздействие на растения сои слабого засоления, а также недостатка влаги в фазы цветения и наполнения семян. Растения сои сорта Клавера выращивали в сосудах объемом 10 л (12 кг сухой черноземной почвы, 3 растения на сосуд) и подвергали действию засоления, повторной засухи и комплексному действию засоления и засухи. Засоленный фон создавали внесением в почву 0,15% бикарбоната натрия при набивке сосудов. Относительную тургоресцентность листьев (относительное содержание воды) определяли классическим методом [10, 11]. Для определения полной ЛП растений в учет брали все листья площадью больше 5 см² [12]. ЛП отдельных тройчатых листьев определяли по линейным размерам центральной листовой пластинки по формуле со степенной поправкой на форму листа $S = (0,128 * L + 1,328 * L * L) * 1,42 * \text{СТЕПЕНЬ}(L/W; -1,157)$, где L и W – длина и ширина средней листовой пластинки (см), с параллельным контролем площади отдельных листьев методов отпечатков [13]. Применявшаяся нами формула тождественна формуле Лещенко с соавт. [5] при поправке на форму листа, равной 1 (в этом случае $L/W = 1,35$). СП определяли как массу семян с одного растения, г [14].

Результаты и обсуждение

В вегетационном опыте при 70% ПВ влияние слабого засоления на относительную тургоресцентность листьев сои было несущественным, в то время как воздействие засухи и ком-

плексного действия засухи и засоления привело к значительному снижению величины данного показателя водного статуса растений: до 0,63-0,66 в срок 55 ДПС (фаза цветения) и до 0,54 в срок 90 ДПС (фаза наполнения семян) против 0,81-0,82 в контроле.

Снижение тургоресцентности листьев при недостатке влаги сопровождалось изменениями ЛП и СП растений (табл. 1 и 2). Реальный диапазон L/W центральной пластинки разных тройчатых листьев на растениях разных вариантов опыта составлял 1,1-3,5. Листья отличаются по форме генотипически и фенотипически, поэтому поправочные коэффициенты (линейные или степенные) могут незначительно отличаться в разных опытах.

Таблица 1. Влияние слабого засоления и засухи на ЛП растений сои с. Клавера.
Table 1. Soybean plants (cv. Clavera) leaf area upon drought and salinity

Варианты	ЛП, дм ² /растение					
	первый период засухи (фаза цветения)		второй период засухи (фаза наполнения семян)			
	до засухи (40 ДПС)	конец засухи (55 ДПС)	до засухи (78 ДПС)		конец засухи (93 ДПС)	
			на растении	опало	на растении	опало
Незасоленная почва, 70% ПВ (контроль)	4,1 ± 0,4	8,7 ± 0,7	12,8 ± 0,4	1,6 ± 0,5	12,5 ± 0,3	2,0 ± 0,4
Засоление 0,15% NaHCO ₃ , 70% ПВ	1,9 ± 0,1	4,7 ± 0,2	8,9 ± 0,7	0,3 ± 0,1	8,6 ± 0,8	0,8 ± 0,3
Незасоленная почва, 35% ПВ	4,1 ± 0,4	6,7 ± 0,9	12,6 ± 1,6	2,5 ± 0,1	6,3 ± 0,3	9,1 ± 1,5
Засоление 0,15% NaHCO ₃ , 35% ПВ	1,9 ± 0,1	3,3 ± 0,1	5,9 ± 0,9	0,1 ± 0,1	4,9 ± 0,7	1,2 ± 0,1

Данные табл. 1 отражают особенности воздействия засоления и недостаточной влагообеспеченности на ЛП сои. Засоление существенно тормозит онтогенез, уменьшает ЛП уже в фазе цветения, еще до начала засухи. Во время первого (в фазе цветения) засушливого периода (35% ПВ) ЛП уменьшается по сравнению с вариантом влагообеспеченности 70% ПВ как на незасоленном фоне, так и при засолении. К началу второго засушливого периода (фаза наполнения семян) рост листьев в основном завершен, а отличия растений незасоленных и засоленных фонов выражаются в разной степени опадения листьев: на пресном фоне опад значительно более интенсивен, особенно на фоне недостатка влаги. На засоленном фоне опадение листьев существенно менее интенсивно.

Таблица 2 - Влияние слабого засоления и засухи на СП растений сои с. Клавера
Table 2 - Soybean plants (cv. Clavera) seed yield upon drought and salinity

Варианты	СП, г/растение*
Незасоленная почва, 70% ПВ (контроль)	7,46 ± 0,36
Засоление 0,15% NaHCO ₃ , 70% ПВ	7,55 ± 0,38
Незасоленная почва, 35% ПВ	4,45 ± 0,24
Засоление 0,15% NaHCO ₃ , 35% ПВ	4,49 ± 0,61

*содержание воды в семенах 14%.

Заключение

При недостатке влаги относительная тургоресцентность листьев уменьшается до критических значений (~0,6), а ЛП уменьшается по сравнению с влагообеспеченным контролем уже во время первого (фаза цветения) засушливого периода (35% ПВ) как на незасоленном фоне, так и при засолении. К фазе наполнения семян листья растений всех вариантов опыта в основном завершили рост, а действие второй засухи выражается в ускорении опадения листьев и в значительном уменьшении СП растений. Слабое засоление, в зависимости от уров-

ня влагообеспеченности, приводит к значительному уменьшению ЛП растений уже в начале вегетации, еще до первой засухи, а в период второй засухи (фаза наполнения семян) замедляет опадение листьев.

Авторы выражают благодарность ведущему научному сотруднику Института математики и информатики АН РМ, кандидату физико-математических наук Кузнецову Е.А. за консультации при вычислениях площадей листьев.

Литература

1. Constantiniu T.. Distribuirea în timp a precipitațiilor diurne în Republica Moldova. Seceta și căile fiziologo-biochimice de atenuare a consecințelor ei asupra plantelor de cultură (Materialele Simposionului al II-lea), Chișinău, Moldova 23 iunie 1999, 1999, p. 4-14.
2. Почвы Молдавии (ред. А.Ф.Урсу и др.), 1984, изд-во «Штиинца», т.1, 352 стр.
3. Харчук О.А., Кириллов А.Ф., Болотин О.А., Бригидина Т.Ю., Клейман Э.И., Беззубов И.Н., Баштовая С.И., Козьмик Р.А., Тома С.И. Слабое засоление как фактор усиления теплового стресса. В: Известия Академии Наук Молдовы. Науки о жизни. 2008, № 1 (304), с. 67-75.
4. Kramer, P. J., Boyer, J. S. Water relations of plants and soils. Academic Press, San Diego, 1995, 495 стр.
5. Лещенко А.К., Сичкарь В.И., Михайлов В.Г., Марьюшкин В.Ф. Соя (генетика, селекция, семеноводство). Киев, «Наукова думка», 1987, 256 стр.
6. Setiyono T.D., Weiss A., Specht J.E., Cassman K.G., Dobermann A., 2008. Leaf area index simulation in soybean grown under near-optimal conditions. Agronomy and Horticulture Department Agronomy (Faculty Publications University of Nebraska – Lincoln, USA), pp.1-11.
7. Van der Varst P.D.I., Postel J.D.G. Bepaling bladoppervlak van tomatenplanten. Report IGT, Wageningen., 1972.
8. Будак А.Б., Харчук О.А. Форма листьев как фактор продуктивности фенотипов сои. В: Современная физиология растений: от молекул до экосистем: Материалы докладов Международной конференции (в трех частях). Часть 3. Сыктывкар, 2007, стр. 304-306
9. Lei S., Yunzhou Q., Fengchao J., Changhai S., Chao Y., Yuxin L., Mengyu L., Baodi D. Physiological mechanism contributing to efficient use of water in field tomato under different irrigation. Plant Soil Environ., 2009, 55 (3): 128–133
10. Weatherly P.E. Studies in the water relations of the cotton plant. 1. The field measurement of water deficits in leaves. New Phytologist, 1950, 49 (1), 81-97
11. Кушниренко М.Д., Гончарова Э.А., Бондарь Е.М. Методы изучения водного обмена и засухоустойчивости плодовых растений. Кишинев, РИО АН МССР, 1970, 79 стр.
12. Chiera J., Thomas J. and T. Rufty. Leaf initiation and development in soybean under phosphorus stress. Journal of Experimental Botany 2002, Volume 53, Issue 368, pp. 473-481.
13. Гродзинский А.М., Гродзинский Д.М. Краткий справочник по физиологии растений. Киев, «Наукова думка», 1973, 590 стр.
14. Широкий унифицированный классификатор СЭВ и Международный классификатор СЭВ рода *Glycine* L., Ленинград, ВИР им. Н.И.Вавилова, 1981, 42 стр.

SOYBEAN PLANTS LEAF AREA AND SEED YIELD UPON DROUGHT AND SALINITY

Kharchuk O.A., Kirilov A.F., Budak A.B., Cozmic R.A., Bashtovaia S.A., Kirilova E.N.

soybean, leaf area, productivity, drought, salinity

The results of studying of soybean leaf area and seed production upon drought and salinity are presented. Salinity, depending on the level of moisture, leads to a significant reduction of the plant leaf surface. Plant seed production is significantly reduced upon drought.

ФИТОЭКДИСТЕРОИДЫ В ИНДУЦИРОВАННИИ РЕАКЦИИ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ К БОЛЕЗНЯМ

Хасанова Д.В., Ямалеев А.М., Ямалеева А.А.

ГНУ Башкирский НИИ сельского хозяйства, ул. Р.Зорге, 19, г. Уфа, 450059, Россия, E-mail:
dikhas@mail.ru

экдистерон 20E, фитопатоген, пшеница, фунгицид, биологическая эффективность

Введение

В системе защиты растений перспективным направлением рассматриваются прогрессивные технологии создания и использования менее опасных препаратов с не биоцидной активностью [1]. Результаты исследований по иммунитету растений к фитопатогенам позволяют определить направления работ по поиску веществ с защитными свойствами не биоцидной природы [7]. В последние годы предложено встраивать гены с видоизмененными рецепторами экдистероидов (20E) в трансгенные растения, чтобы через кратковременное внешнее воздействие химического лиганда, агониста фитоэкдистероидов, управлять устойчивостью культурных растений к вредителям [6].

В структуре биомассы экдистерон (20E) содержащих растений основная доля его сосредоточена в вегетативных побегах. Рост обработанных семян оказывает решающее влияние на распределение экдистероидов по органам защищаемых растений, то есть 20E перераспределяется в пределах целого растения по органам. Однако есть еще достаточно много неясных моментов по физиологическим функциям экдистероидов. Исходя из потенциальной гормональной активности фитоэкдистероидов, необходимо изучить биологическую эффективность к инфекционным грибным заболеваниям с целью дальнейшего практического применения их для защиты растений.

Материалы и методы

Фитопатологические исследования были проведены в полевом и лабораторном вариантах, согласно методическим рекомендациям [2]. Опыты закладывали по схеме – протравливание семян и обработка вегетирующих растений экдистероидами, выделенными из левзея сафлоровидной. Для этого из надземной части *Rhaponticum carthamoides* L. выжимали сок с последующей фильтрацией и фильтрат концентрировали до 0,25 первоначального объема. К полученному концентрату добавляли равное по объему количество этилацетата, отделяли раствор малополярных примесей в этилацетате, охлаждали и фильтровали выпавшие кристаллы экдистерона [5]. Аффинную хроматографию лектинов и реакцию гемагглютинации проводили по Луцику [3]. Количественное содержание аскорбиновой кислоты, белка и активность пероксидазы определяли по методическим указаниям [4]. Для изучения оптических характеристик листьев применяли метод лазерной спектрофотометрии. Уровень абсорбции позволяет определять также количество хлорофилла в мг/дм² площади листа [8]. Результаты обрабатывали с помощью методов вариационной статистики, реализованных на базе пакета программ Microsoft Office 2000.

Результаты исследований

Фунгицидные свойства фитоадаптогенов полифункциональны и заключаются в усилении физиологических защитных функций растительного организма в норме и патологии [9]. Фитоэкдистероиды усиливают адаптацию растений к стрессовым факторам, связанных с напряжением физиологических функций к болезням. Физиологическое действие их в растительном организме имеет комбинированный характер и складывается из их догеномного (фунгицидного) и геномного влияния на синтетические процессы в клетках. Механизмы индуцирования устойчивости, рассматриваемые на молекулярном уровне, протекают с участием многих соединений.

Как видно из табл. 1, предпосевная обработка семян экдистероидом 20E в концентрации 0,01% заметно повышала силу роста. В то же время 20E в концентрации 0,02% на силу роста дей-

ствовал слабее, чем при предыдущей концентрации. Таким образом, экдистероид 20E в более низких концентрациях обладает более выраженным ростостимулирующим действием, чем иммуномоделирующим. Синтетические модификации 20E, а именно их производные ЛОС-1 и ЛОС-2 характеризуются тем, что они обладают значительным ростстимулирующим эффектом. Данные соединения были получены в ИНК РАН (5) и отличаются от исходного 20E боковыми радикалами.

Таблица 1 - Влияние предпосевной обработки на урожайность и морфологические показатели пшеницы

Table 1 - Effect of pre-sowing treatment on yield and morphological parameters of wheat

Препарат	Урожайность, ц/га	Длина растений, см	Кэфф-ты силы роста	Содержание белка, %
1.Экдистерон (0,02%)	18,8	66,6 ± 1,2	1,64 ± 0,04	14,4±0,2
2. Экдистерон (0,01%)	17,3	69,3 ± 1,1	1,85 ± 0,06	14,7±0,3
3. Микромак (2 л/т)	16,9	67,9 ± 1,3	1,59 ± 0,05	14,1±0,7
4. ЛОС-1 (0,01%)	17,2	73,6 ± 1,0	2,07 ± 0,07	14,2±0,4
5. ЛОС-2 (0,01%)	18,0	75,2 ± 1,4	1,40 ± 0,05	14,9±0,9
6. Контроль НСР05	15,4	65,4 ± 1,3	1,66 ± 0,07	13,6±0,5

Как видно из приведенных данных, выраженная ростостимулирующая активность выявляется у 20E и у продуктов его химической модификации. Иммуностимулирующий показатель определялся в двух возрастных группах – в фазе двух листьев и в фазе кущение-трубкования. Наибольшая активность 20E проявилась в фазе двух листьев, причем несколько лучше при использовании в концентрации 0,02%. Результаты исследования свидетельствуют об довольно высокой фунгицидной активности экдистероида 20E (рис. 1).

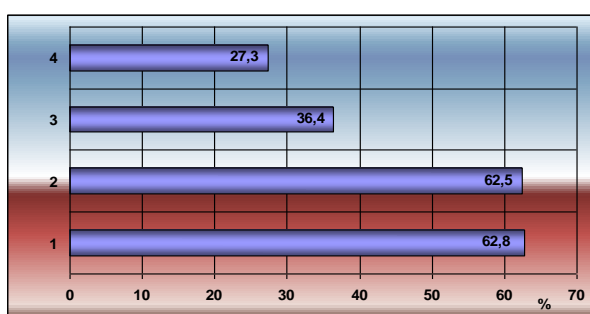


Рисунок 1 - Биологическая эффективность 20E на яровой пшенице сорта Башкирская 26 к корневым гнилям. Обозначения: 1,2- фаза 2-х листьев; 3,4- фаза кущение -трубкования; 1,3 - обработка 20E в концентрации 0,02%; 2,4 - обработка 20E в концентрации 0,01%

Figure 1 - Biological efficiency 20E spring wheat varieties Bashkir 26 to root rot. Legend: 1.2 - Phase 2 leaves; 3.4 - tillering-booting phase, 1.3-20E treatment at a concentration of 0.02%, 2.4 - 20E treatment at a concentration of 0.01%

Таким образом, результаты исследования позволили выявить высокую биологическую эффективность (60%) экдистероидных соединений, проявившуюся в существенном подавлении развития возбудителей корневых гнилей. Это говорит о том, что одной из важных составляющих биологической активности фитоэкдистероидов является антимикробная активность и представляет большой интерес использование антигрибной активности 20E и его производных при разработке экдистероидсодержащих препаратов в биологизированной защите пшеницы от корневых гнилей.

Молекулярные механизмы обусловившие данный эффект несомненно носят гетерогенный характер и в нем однозначно участвуют множество факторов и полученные данные позволяют раскрыть некоторые из них. Так, было выяснено, что экдистероидные соединения довольно зна-

чительно повышают содержание аскорбиновой кислоты в растениях, что указывает их участие в защитных реакциях. Выявлено, что они действуют положительно на гемагглютинирующую активность лектинов ХБК, которые играют немаловажную роль в защитных реакциях растений к ржавчине. Проникая через плазматическую мембрану внутрь клетки, экидистероиды возможно выступают в качестве регуляторов транскрипции генов лектинов, образуя с соответствующими белками-рецепторами сложные комплексы, способные достигать участков хроматина в ядре. По мере развития ржавчинной инфекции, в листьях наблюдается продолжение повышения лектино-вой активности в ответ на постинфекционный процесс в организме.

Существуют изоформы экидистероидного рецептора, стабилизирующие пространственную структуру и участвующие в образовании белковых комплексов. Усиление активности молекулярных конструкций экидистероидных систем может быть достигнуто введением дополнительных областей трансактивации. Подходящие области активации подбираются из известных в природе источников, например, из участков активации факторов транскрипции вирусов, грибов, стрессовых белков растений (шоковые белки, лектины).

Выводы

Впервые выявлена биологическая эффективность фитозкидистероидов к фитопатогенам и показана целесообразность их применения в комплексной системе защиты пшеницы от грибных заболеваний. Синтетические модификации фитозкидистероида также обладают иммуностимулирующими свойствами и проявляют биологическую эффективность, формируя неспецифическую к грибам системную, продолжительную устойчивость.

Литература

1. Захаренко В.А. Новые технологии поиска, испытаний, создания и внесения средств защиты растений не биоцидной природы.
2. Комплексная защита зерновых культур от болезней, вредителей и сорняков в Республике Башкортостан. – Уфа: БНИИСХ, 2001. – 68 с.
3. Луцик М.Д., Панасюк Е.Н. Лектины. – Львов: Высш.шк., 1981. – 156 с.
4. Методические указания по специальности «Физиология растений» Эколого-физиологические приборные методы исследования интактных растений. – Уфа: РИО БашГУ, 2004. – 50 с.
5. Недопекин Д.В., Галяутдинов И.В., Одинокоев В.П. Способ получения концентрата экидистероидов и экидестерона из растительного сырья / Уфа: Гилем, 2000. – 123 с.
6. Орлова И.В., Семенюк Е.Г., Володина В.В., Носов А.М. и др. Разработка системы регенерации и генетической трансформации *Rhaponiticum carthomoides* – продуцента экидистероидов // Физиология растений. – 2000.- т.47, №3.- С. 402-407.
7. Тютюрев С.Л. Научные основы индуцированной болезнестойчивости растений / С.-Петербург, 2002.-328 с.
8. Lisker J.S. New physical methods and system for avtomatic determination of state of plant and seeds // Control of food and biological processes. Paris: Elsevier, 1994. P. 75-82.
9. Van Loon L.G. Pathogenesis-related proteins / Plant Molec.Biol., 1985.- n.1.- p.111-116.

FITOEHKDISTEROIDY IN THE INDUCTION OF RESISTANCE RESPONSES OF PLANTS TO DISEASE

Khasanova D.V., Yamaleev A.M., Yamaleeva A.A.

ecdysterone 20E, phytopathogenic, wheat, fungicide, biological efficiency

Biological efficiency phyto-ecdysterones to fungi illnesses of wheat is investigated and their role in induction reactions of stability by activation genome expression is proved; it is found out, that they provide stability of plants not only to straight lines by, but through influence on other protective systems, such as activity lectins, peroxidase system, a chlorophyll-protein complexes and on the mechanism of action are activators not only disease-resistant, but also efficiency of plants.

ВЛИЯНИЕ СВЕРХЭКСПРЕССИИ ГЕНА *VaCDPK20* НА УСТОЙЧИВОСТЬ КЛЕТОК *VITIS AMURENSIS* И *ARABIDOPSIS THALIANA* К АБИОТИЧЕСКИМ СТРЕССАМ

Христенко В.С.^{1,2}, Шумакова О.А.², Дубровина А.С.², Киселев К.В.²

¹ФГАОУ ВПО «Дальневосточный федеральный университет», ул. Октябрьская, 27, г. Владивосток, 690090, Россия, E-mail: rectorat@dvfu.ru

²ФГБУН Биолого-почвенный институт ДВО РАН, пр. Столетия Владивостоку, 159, г. Владивосток, 690022, Россия, E-mail: ibss@eastnet.febras.ru

кальций-зависимые протеинкиназы, CDPK20, Arabidopsis thaliana, абиотические стрессы

Введение

Воздействие на растение абиотических стрессовых факторов, таких как экстремальные температуры, засуха, высокая соленость почвы или затопление, приводит к многомиллионным потерям в сельском хозяйстве и является главным лимитирующим фактором этой отрасли экономики. Кальций-зависимые протеинкиназы (CDPK) являются важными сенсорами кальция в растительной клетке и играют важную роль в поддержании мембранного потенциала, регуляции углеводного и азотного обмена, устьичных движений и ответа клеток растений на абиотические и биотические стрессы (Медвелев, 2005). Изучение функций CDPK в регуляции ответа растений на абиотический стресс является актуальной задачей для исследований. Согласно ранее полученным нами данным, экспрессия гена Ca^{2+} -зависимой протеинкиназы из дикорастущего винограда *Vitis amurensis* (CDPK20) значительно увеличивалась при температурных стрессах (Dubrovina et al, 2013). Поэтому, целевым геном, используемым в нашей работе, является ген *VaCDPK20*. Одним из способов определения функции гена является получение трансгенных растений и культур клеток растений, сверхэкспрессирующих целевой ген. Целью нашей работы является получение трансгенных растений *Arabidopsis thaliana* и клеточных культур *Vitis amurensis*, сверхэкспрессирующих ген *VaCDPK20*. Для изучения функций белка *VaCDPK20* мы трансформировали растения *A. thaliana* и каллусы *V. amurensis* штаммом агробактерий *Agrobacterium tumefaciens*, содержащим бинарный вектор с геном *VaCDPK20* под контролем двойного промотора CAMV 35S. Получение таких растений и культур клеток необходимо для изучения функции гена *VaCDPK20* и изучения его роли в адаптации растений к абиотическим стрессам.

Материалы и методы

На первом этапе работы мы получили штамм агробактерий *A. tumefaciens* KA09, содержащий бинарный вектор (плазмиды pZp-RCS и PMP90), в состав которого входили целевой ген *VaCDPK20* под контролем двойного 35S промотора из вируса мозаики цветной капусты, селективный ген *nptII* (устойчивость к канамицину), а также гены *Vir*. Кроме того мы получили контрольный штамм *A. tumefaciens* KA0, содержащий бинарный вектор, в состав которого входили только селективный ген (устойчивость к канамицину) и гены *Vir*.

Трансгенные каллусные культуры клеток *V. amurensis* получали методом агробактериальной трансформации. Нами получено пять независимо трансформированных каллусных клеточных линий *V. amurensis*, сверхэкспрессирующих ген *VaCDPK20*, а также контрольная культура клеток, трансформированная контрольным штаммом KA-0.

Для анализа устойчивости клеточных линий к абиотическим стрессам каллусы выращивали в пробирках при температуре 22°C в течение 30 дней. Солевой стресс индуцировали, добавляя в питательные среды NaCl в концентрации 50 и 100 мМ. Тепловой стресс индуцировали, культивируя каллусные культуры при +32°C в течение 30 дней, а холодной стресс индуцировался при +16°C в течение 30 дней (в климатической камере).

Трансгенные растения *A. thaliana* получали методом цветочного погружения. Проверку трансгенности растений осуществляли с помощью ПЦР. Отбор независимых линий *A.*

thaliana, гомозиготных по введенному трансгену, осуществляли с помощью селекции растений на чашках Петри с канамицином и последующей высадкой растений в грунт. Для проверки трансгенности растений арабидопсиса и каллусов *V. amurensis* тестировали присутствие целевого гена в геноме. Для этого мы выделяли ДНК и проводили ПЦР, используя специфичные праймеры для амплификации участка гена VaCDPK20 длиной 600 п.н. Выделение ДНК осуществляли, используя метод Эхта (Echt et al., 1992). Для количественного анализа экспрессии гена VaCDPK20 использовали ПЦР в реальном времени (ПЦР РВ).

Для изучения устойчивости растений *A. thaliana* к абиотическим стрессам растения выращивали в горшках в климатических камерах при температуре +22оС, 16чдень/8чночь. Солевой стресс индуцировали с помощью однократного полива растений раствором NaCl в концентрации 350 мМ. Тепловой стресс проводился при + 45оС в течение 3,5ч (в термостате), а холодовой стресс проводили при -10оС (в морозильной камере) в течение 1,5 часов. Для имитации засухи растения не поливали в течение 4 недель. Эффект воздействия тестируемых абиотических стрессовых факторов определяли путем подсчета живых растений через 7 дней после воздействия стрессовых факторов.

Результаты и обсуждение

Известно, что некоторые CDPK арабидопсиса, риса, табака, а также других растений включены в сигнальные пути, регулирующие ответ растения на абиотический стресс. Показано, что AtCPK3 и AtCPK6 включены в регуляцию работы ионных каналов клеток, в частности в регуляцию работы ионных каналов при закрытии/открытии устьиц в ответ на засуху (Das and Pandey, 2010). Установлено, что некоторые CDPK фосфорилируют факторы транскрипции, которые в последствие активируют экспрессию различных защитных генов. Например, AtCDPK32, AtCDPK10 и AtCDPK30 фосфорилируют транскрипционный фактор ABF4 (Pandey et al, 2002).

Мы проанализировали эффект солевого, теплового и холодового стресса на рост пяти трансгенных клеточных линий *V. amurensis*. Сверхэкспрессия гена VaCDPK20 значительно увеличила устойчивость четырех проанализированных клеточных культур *V. amurensis* к холодовому стрессу. К тепловому стрессу наблюдалась устойчивость у двух клеточных линий из пяти полученных. Устойчивость проанализированных культур клеток к солевому стрессу либо не изменялась, либо была незначительно увеличена.

При выполнении настоящей работы нами было отобрано одна гомозиготная трансгенная линия КА0 и три независимо трансформированных гомозиготных трансгенных линий растений КА09. Полученные растения КА09 являются тремя независимыми линиями (три независимых событий трансформации агробактериями генома каждого из пяти растений). Наследование трансгена у арабидопсиса происходит в соответствии с законом Менделя (расщепление при моногибридном скрещивании дало 25% гомозиготных и нетрансгенных семян, 50% были гетерозиготны, и 25 % гомозиготны и трансгенны). В ходе эксперимента мы наблюдали высокую устойчивость полученных трех гомозиготных по введенному трансгену линий *A. thaliana* к засушливым условиям. Кроме того, мы наблюдали повышенную устойчивость к холодовому стрессу у трех линий КА09, однако необходимо отметить, что только для одной линии КА09 устойчивость к низким температурам была статистически достоверна. К солевому стрессу была устойчивость у одной трансгенной линии арабидопсиса. К воздействию высоких температур мы не наблюдали устойчивости у трех трансгенных линий КА09 *A. thaliana*, сверхэкспрессирующих ген VaCDPK20.

Заключение

Сверхэкспрессия гена VaCDPK20 придает устойчивость культурам клеток *V. amurensis* к холодовому стрессу, а растениям *A. thaliana* к засухе и холоду. Данные показывают, что ген VaCDPK20, возможно, участвует в регуляции ответа *V. amurensis* на холодовой стресс и засушливые условия.

Литература

1. Медведев С.С. Кальциевая сигнальная система растений // Физиология растений (2005) 52 (1): 1-24.
2. Das R, Pandey GK. Expressional analysis and role of calcium regulated kinases in abiotic stress signaling // Curr Genomics (2010) 11:2–13.
3. Dubrovina AS, Kiselev KV, Veselova MV, Isaeva GA, Fedoreyev SA, Zhuravlev YN. Enhanced resveratrol accumulation in rolB transgenic cultures of *Vitis amurensis* correlates with unusual changes in CDPK gene expression // J Plant Physiol (2009) 166:1194–206.
4. Dubrovina A.S., Kiselev K.V., Khristenko V.S. Expression of calcium-dependent protein kinase (CDPK) genes under abiotic stress conditions in wild-growing grapevine *Vitis amurensis* // J Plant Physiol (2013) 170:1491–1500
5. Echt CS, Erdahl LA, McCoy TJ Genetic segregation of random amplified polymorphic DNA in diploid cultivated alfalfa // Genome (1992) 35:84–87
6. Giulietti A., Overbergh L., Valckx D., Decallonne B., Bouillon R., Mathieu C. An overview of real-time quantitative PCR: applications to quantify cytokine gene expression // Methods (2001) 25: 386-401.
7. Kiselev K.V., Shumakova O.A., Manyakhin A.Y., Mazeika A. Influence of calcium influx induced by the calcium ionophore, A23187, on resveratrol content and the expression of CDPK and STS genes in the cell cultures of *Vitis amurensis* // Plant growth regul. (2012) DOI: 10.1007/s10725-012-9725.
8. Pandey, G.K.; Reddy, M.K.; Sopory, S.K.; Pareek, S.L.S. Calcium Homeostasis in Plants: Role of calcium binding proteins in abiotic stress tolerance // Indian J Biotech (2002) 1: 135-137.

THE EFFECT OF VaCPK20 OVEREXPRESSION ON PLANT ABIOTIC STRESS RESISTANCE

Khristenko V.S., Shumakova O.A., Kiselev K.V, DubrovinaA.S.

calcium-dependent protein kinases, CDPK20, Arabidopsis thaliana, abiotic stress

Previously we revealed that mRNA levels of VaCPK20 were considerably up-regulated under high and low temperature stress (Dubrovina et al., 2013). We obtained five transgenic cell lines of *V. amurensis* overexpressing the VaCPK20 gene and transformed *A. thaliana* with the VaCPK20 gene and empty vector to establish control plants in planta. The data suggest that VaCPK20 gene regulates the response of *V. amurensis* to cold stress and drought stress.

ВЛИЯНИЕ АБИОТИЧЕСКОГО СТРЕССА НА АКТИВНОСТЬ ГИДРОЛАЗ ПРОРОСТКОВ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР

Цветков В.О., Шпирная И.А., Кидрясова Р.Н., Богданова Ю.Г., Ибрагимов Р.И.

ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный университет», ул. 3. Валиди, 32, г. Уфа, 450076,
Россия, E-mail: i-shia@yandex.ru

устойчивость растений, гидролитические ферменты, тяжелые металлы, засоление, абиотический стресс

Введение

Адаптация растений к различным неблагоприятным внешним воздействиям связана с изменением в регуляции большого числа так называемых стрессозависимых генов. При этом происходит увеличение активности одних генов и подавление активности других. К числу генов, активность которых возрастает, принадлежат гены ферментов, таких как пероксидаза, каталаза и др., а также гены ферментов, гидролизующих белки и другие макромолекулы, например, амилазы и протеиназы [1].

В условиях стресса протеолитические ферменты не только осуществляют расщепление дефектных, денатурированных и утративших свое функциональное значение белков, но и участвуют в рециклизации азота, процессинге и активации синтезированных белков [2].

Амилазы широко распространены в растениях, они участвуют в формировании энергетического потенциала растительного организма. Физиологическая роль их состоит в мобилизации запасов полисахаридов в клетках (например, при прорастании семян). Этой группе ферментов посвящено множество работ [3, 4], однако вопрос об изменении их активности в условиях абиотического стресса остается открытым.

В связи с вышесказанным, целью данной работы было исследование изменения активности протеаз и амилаз в корнях и листьях пшеницы и ржи в условиях засоления и при воздействии тяжелых металлов.

Материалы и методы

Объектом исследования служили четырехсуточные проростки пшеницы сорта Омская и ржи Чулпан-7, выращенные в растворе соли при температуре воздуха 20–22°C, фотопериоде 14 ч. Семена стерилизовали в слабо-розовом растворе перманганата калия в течение 10 мин. и промывали дистиллированной водой. Проращивание семян проводили в рулонах фильтровальной бумаги, пропитанной 0,05 и 0,5M растворами NaCl, 0,1 и 1M PbSO₄ и CdSO₄. Контролем служили семена, пророщенные в дистиллированной воде.

Навески пшеницы и ржи растирали с кварцевым песком, экстрагировали четырехкратным объемом воды в течение 1 ч при 4 °C. Осадок отделяли центрифугированием, супернатант замораживали и использовали как источник ферментов.

Определение активности амилаз методом агарозных гелевых пластин. Суть метода заключается в иммобилизации ферментного субстрата в агарозный гель, инкубации геля с ферментным раствором и последующем определении активности амилаз по размеру гидролизованного участка окрашенного субстрата. В качестве субстрата применяли 1%-ный крахмал, иммобилизованный в агарозе. Пластины с амилазами выдерживали 10 ч при 37 °C и проявляли 3%-ным раствором Люголя. Пластины приобретали синюю окраску, участки с гидролизированным крахмалом не окрашивались. За 1 миллиединицу активности (МЕ) принимали количество фермента, которое гидролизовало субстрат на участке геля размером 1 мм².

Спектрофотометрическое определение активности протеиназ. Для определения активности сериновых протеиназ, гидролизующих N_α-бензоил-D,L-аргинин-п-нитроанилид (БАПНА), использовали метод В.Р. Эрлангера. Оптическую плотность определяли на спектрофотометре СФ-46 при длине волны 405 нм.

Результаты и обсуждение

Результаты экспериментов показали, что засоление в концентрации 0,05 М существенно не влияет на активность сериновых протеиназ в тканях корней исследованных растений, в стеблях проростков активность протеиназ также остается на прежнем уровне (табл.1).

Таблица 1 - Активность протеиназ, Е/мл раствора, при воздействии ионов кобальта и свинца и засолении

Table 1 - Activity of proteinases, E per ml, in influence of cobalt and lead ions and salinity

Концентрация	Ионы	Пшеница		Рожь	
		корни	листья	корни	листья
0 (контроль)		1,85±0,06	0,98±0,02	1,29±0,03	1,00±0,03
100 мкМ	Pb ²⁺	1,27±0,02	1,02±0,03	1,11±0,03	0,96±0,04
	Co ²⁺	3,50±0,11	3,11±0,16	4,67±0,18	4,52±0,17
1 мМ	Pb ²⁺	1,49±0,02	1,26±0,04	1,13±0,05	0,99±0,05
	Co ²⁺	4,28±0,13	2,31±0,07	5,56±0,06	3,12±0,14
0 (контроль)	NaCl	3,19 ± 0,16	3,78 ± 0,04	3,83 ± 0,12	4,04 ± 0,06
0,05М		3,76 ± 0,03	3,88 ± 0,12	3,66 ± 0,07	4,16 ± 0,15
0,5М		-	-	-	-

В литературе имеются данные об угнетающем действии засоления на активность нейтральных, кислых и щелочных протеиназ на ранних стадиях прорастания семян [5], однако в указанной работе изучено действие концентрации 0,1 М, при которой наблюдалось снижение активности протеиназ. В наших исследованиях использована существенно более низкая концентрация, влияния которой на протеолитическую активность не отмечено, и более высокая, при которой семена не прорастают.

Результаты исследования уровня активности сериновых протеиназ при действии ионов кобальта и свинца показывают (табл.1), что при внесении в среду кобальта в концентрациях 100 мкМ и 1 мМ активность сериновых протеиназ в корнях и листьях растений пшеницы и ржи повышается по сравнению с контрольным вариантом. Действие свинца противоположно, в его присутствии уровень активности протеиназ в корнях понижается, а в надземной части проростков незначительно увеличивается.

Различия в эффекте действия кобальта и свинца, возможно, связаны с тем, что кобальт – микроэлемент, необходимый участник метаболизма растений. Имеются данные об активации им ряда ферментов (рибонуклеозидтрифосфатредуктазы (КФ 1.4.3.8), метилтрансферазы (КФ 2.1.1.13), метилмалонил-СоА-мутаза (КФ 5.4.99.2). Присутствие металла в данных концентрациях в среде не является для растения стрессом, сопоставимым с влиянием токсичного элемента – свинца, наличие которого приводит к снижению активности ферментов.

Анализ активности амилаз показал, что в корнях и листьях ржи в условиях засоления происходит ее понижение; напротив в корнях и листьях пшеницы происходит существенное увеличение их активности (табл. 2). Возможно, повышение амилазной активности в тканях пшеницы способствует интенсификации процессов энергетического обмена, что может привести к синтезу новых соединений, выполняющих защитную функцию.

Активность амилаз при действии ионов свинца и кобальта изменяется аналогично активности протеиназ, описанной выше - значительно возрастает при действии кобальта в тканях проростков пшеницы и ржи, причем для побегов пшеницы эффект более выражен. Токсическое действие свинца проявляется, в частности, в снижении активности амилаз в корневой части проростков.

Таблица 2 - Активность амилаз, Е/мл раствора, при воздействии ионов кобальта и свинца и засолении

Table 2 - Activity of amylases, E per ml, in influence of cobalt and lead ions and salinity

Концентрация	Ионы	Пшеница		Рожь	
		корни	листья	корни	листья
0 (контроль)		10,05±0,30	3,54±0,11	12,02±0,36	6,13±0,18
100 мкМ	Pb ²⁺	8,83±0,26	5,65±0,17	9,43±0,28	6,38±0,19
	Co ²⁺	12,02±0,36	6,63±0,20	13,10±0,39	6,63±0,20
1 мМ	Pb ²⁺	9,43±0,28	8,83±0,26	10,05±0,30	8,60±0,26
	Co ²⁺	14,17±0,43	11,34±0,34	14,17±0,43	8,25±0,25
0 (контроль)	NaCl	3,54 ± 0,11	1,92 ± 0,06	10,05 ± 0,3	3,54 ± 0,11
0,05М		7,16 ± 0,21	2,84 ± 0,09	5,19 ± 0,16	3,18 ± 0,1
0,5М		-	-	-	-

Поскольку амилолитические ферменты участвуют в формировании энергетического потенциала растения, повышение активности этих ферментов может приводить к интенсификации энергетического обмена в клетке, что может сопровождаться синтезом новых соединений, снижение, напротив, к угнетению энергообеспечения клеток.

Таким образом, нами получены новые данные об участии гидролаз в реализации системной устойчивости растений, в частности, в условиях абиотического стресса.

Исследования выполнены в рамках государственного задания Минобрнауки РФ (Рег. № 01201456414).

Литература

1. Munné-Bosch S, Alegre L. Die and let live: leaf senescence contributes to plant survival under drought stress // *Functional Plant Biology*. 2004. V. 31. P. 203–216.
2. Callis J. Regulation of Protein Degradation // *Plant Cell*. 1995. V. 7(7). P. 845–857.
3. Иевлева Е.В., Ревина Т.А., Кудрявцева Н.Н., Софьин А.В., Валуева Т.А. Внеклеточные протеиназы фитопатогенного гриба *Fusarium culmorum* // *Прикладная биохимия и микробиология*. 2006. Т.42. №3. С. 338-344.
4. Конарев А.В. Системы ингибиторов гидролаз у злаков – организация, функции и эволюционная изменчивость // Автореф. дисс. докт. биол. наук. М., 1992.- 38 с.
5. Домаш В.И., Шарпио Т.П., Забрейко С.А., Сосновская Т.Ф. Протеолитические ферменты и ингибиторы трипсина высших растений в условиях стресса // *Биоорганическая химия*. 2008. Т. 1, № 3. С. 353-357.

EFFECT OF ABIOTIC STRESS ON ACTIVITY OF HYDROLASES IN SEEDLINGS OF AGRICULTURAL CROPS

Tsvetkov V.O., Shpirmaya I.A., Kidryasova R.N., Bogdanova Yu.G., Ibragimov R.I.

plant resistance, hydrolytic enzymes, heavy metals, salinity, abiotic stress

The results of evaluation of proteolytic and amylolytic enzymes activity in wheat and rye seedlings on different content of ions, including heavy metals, in media, are presented. It is shown, that at stress there are changes promoting an increasing of plants resistance.

**ИОННЫЙ СОСТАВ ЭЛЕКТРОЛИТОВ ПРИ ИСТЕЧЕНИИ ИЗ ТКАНЕЙ
ПОСЛЕ ЗАМОРАЖИВАНИЯ ЛИСТЬЕВ ЯЧМЕНЯ И КАРТОФЕЛЯ**Чернов В.Е.¹, Аксенов А.И.², Иванова М.А.², Пендинен Г.И.¹, Митилинеос А.Г.²¹ГНУ Всероссийский НИИ растениеводства им.Н.И. Вавилова, ул. Большая Морская, 42-44,
г. С.-Петербург, 190000, Россия, E-mail: vechernov@mail.ru²Аквафор Ltd, г. С.-Петербург, Россия*морозостойкость, истечение электролитов, состав ионов, ячмень, картофель***Введение**

Выход электролитов, или истечение электролитов, из тканей растений является естественным результатом стрессовых воздействий экстремальных по интенсивности. Эффект истечения электролитов из тканей растений часто используется для определения устойчивости растений к целому ряду повреждающих факторов. Наиболее эффективно этот метод оценки используется при определении относительной устойчивости растений к замораживанию [1]. Этим методом были определены температуры повреждения клеток луковичных чешуй у лука репчатого, *Allium cepa*, температуры повреждения листьев видов рода *Solanum*, холодостойкость образцов кукурузы [2, 3, 4]. Состав электролитов, выходящих из поврежденных клеток, изучен недостаточно. Известно, что из клеток при повреждении выходят одновалентные ионы K⁺, сахара [1]. При воздействии осмотического шока в составе электролитов обнаруживаются Лоури-положительные соединения, включая белки [5]. В наших экспериментах мы попытались более полно определить ионную составляющую электролитов истекающих из клеток поврежденных тканей листьев культурного ячменя и двух видов дикорастущего клубненосного картофеля при искусственном низкотемпературном воздействии.

Материалы и методы

Объектом исследования служили растения культурного ячменя *H.vulgare* сорта Roland K-26897, сорта Radical K-28821, в стадии кущения не прошедшие яровизацию, а также растения двух видов дикорастущего клубненосного картофеля разного геномного состава, *S.albicans* PI230494 (2n=6x=72, AAA'A'A''A'''), *S.stoloniferum* PI497998 (2n=4x, AABB) [5]. Растения ячменя и картофеля выращивали в условиях закрытого грунта: в теплице в вегетационных сосудах при естественной освещенности. Температура: днем - 22°C, ночью - 16°C. Для промораживания отбирали неповрежденные листья у растений ячменя и листья верхнего яруса у растений картофеля. Последовательное промораживание проводили в гликолевой бане от 0о до -6оС, с шагом в 1°C интенсивность истечения электролитов определяли по изменению электропроводности деионизированной воды при её исходном сопротивлении 18 Мом/см. Определение электропроводности проводили с использованием кондуктометра R 307 Metler Tolledo и полифункционального анализатора Consort-C863 в режиме кондуктометра по протоколу метода в модификации С.Е.Vega [3]. Состав и концентрацию ионов при истечении электролитов определяли на приборе для капиллярного электрофореза Капель-104Т ЛЮМЭКС. Пробу электролита в объеме 1,5 мл фильтровали через нитроцеллюлозный фильтр с размером пор 0,22 мкм. Условия определения для катионов: капилляр - Lэфф/Лобщ=50/60см, внутренний диаметр=75 мкм; ввод пробы - 150 мбар/сек, рабочее напряжение -10 Кв., детектирование - 254н.м., косвенное. Для определения анионов использовали те же параметры работы прибора при давлении на вводе пробы до 300мбар/с. и рабочем напряжении до +17 Кв. [6]. Детекцию выхода ионов K⁺ определяли так же на атомно-абсорбционном спектрофотометре AA-6800 Shimadzu для контроля адекватности измерений концентрации ионов методом капиллярного электрофореза.

Результаты и обсуждение

Интенсивность истечения электролитов наблюдаемая при промораживании листьев культурного ячменя и дикорастущих видов *Solanum* носит нелинейную зависимость от температуры и представляет собой в идеале сигмовидную кривую с тремя стадиями: экстенсивного процесса утечки электролитов, экспоненциальной стадии с быстрым повышением электропроводности и стадии насыщения. На рис. 1. представлены кривые изменения электропроводности воды связанной с истечением электролитов из клеток поврежденных тканей. При сравнении динамики истечения электролитов из тканей листьев ячменя и картофеля наблюдали следующее, динамика интенсивности истечения электролитов зависит от относительной морозостойкости образца, видовой и сортовой принадлежности.

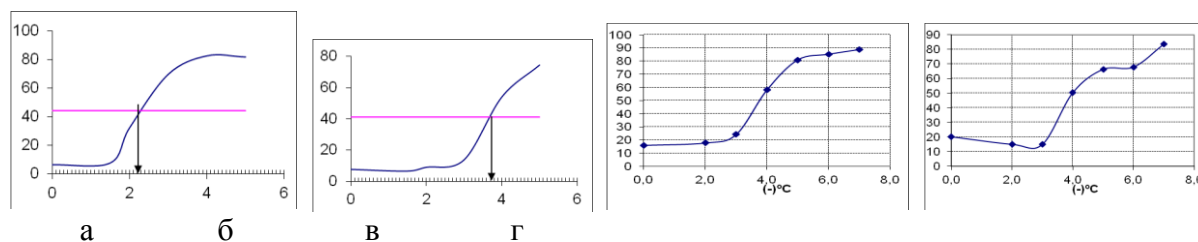


Рисунок 1 - Динамика истечения электролитов из тканей листьев после последовательного замораживания: а - *S.stoloniferum*, б - *S.albicans**, в - *H.vulgare* Roland, г - *H.vulgare* Radical. По оси абсцисс - температура замораживания в градусах С, по оси ординат – утечка электролитов в %

Figure 1 - Electrolite leakage dynamics from leafs tissue after it's consecutive freezing: а - *S.stoloniferum*, б - *S.albicans**, в - *H.vulgare* Roland, г - *H.vulgare* Radical. Axis absciss: freezing temperature by C°; axis ordinate: % of electrolyte leakage

Исследование содержания катионов и анионов методом капиллярного электрофореза ионов показали, что основной составляющей электролитов выходящих из клеток подверженных экстремальному воздействию стресса являются катионы калия.

Таблица1 - Содержание катионов и анионов при выходе электролитов из листьев ячменя и картофеля после замораживания

Table1 - Kation and anion content in electrolyte leakage after freezing barley and potato leafs

Сорт/ образец	t°, °C	Катионы, мг/л					Анионы, мг/л		
		NH4+	K+	Na+	Ca2+	Mg2+	Cl-	SO42-	NO3-
<i>H.vulgare</i>	0	0	1,02	0	0,10	0	0,84	0	0
Roland	-6	4,42	33,7	1,01	0,51	0,73	20,3	5,94	4,31
<i>H.vulgare</i>	0	0	0,14	0,05	0,07	0	0	0	0
Radical*	-6	0,21	3,91	1,22	0,69	0,3	11,5	1,83	0,18
<i>S.stoloniferum</i>	0	3,10	9,06	3,29	3,95	1,25	2,96	4,21	0
PI 497998	-6	1,47	125,8	6,97	38,9	28,2	107,7	16,4	78,3
<i>S.albicans</i>	0	0	2,06	3,33	4,93	0,78	0	0	2,20
PI 230494*	-6	0	156,2	3,13	11,7	12,5	0	0	26,0

*- относительно морозостойкий образец

Качественное содержание ионного состава электролитов формирующей электропроводность контрольной жидкости (в нашем случае, воды) зависит от видовой принадлежности образцов, помимо ионов K⁺, наблюдается выход из клеток ионов аммония, катионов кальция, магния, натрия. Из анионов стабильно наблюдается наличие ионов хлора, сульфат и нитрат ионов при повреждении листьев ячменя и *S.stoloniferum*. Для *S.albicans*, с А-геномом не обнаружено утечки ионов хлора, аммония, и сульфат-ионов. В таблице1 приведены количественные характеристики утечки ионов. Наблюдали увеличения интенсивности истечения количества ионов при понижении температуры

замораживания. Концентрация ионов в электролитах увеличивалась в зависимости от природного содержания ионов в тканях растений и содержала $K^+ > Na^+ > Mg^{+2} > Ca^{+2}$ для устойчивых образцов и $K^+ > NH_4^+ > Na^+ > Ca^{+2} > Mg^{+2}$ для неустойчивых.

Заключение

Таким образом, исследован состав ионов и динамика истечения при утечке электролитов из замороженных тканей, происходящей в процессе замораживания листьев двудольных и однодольных растений *Solanum sp.* и *Hordeum sp.*

Показано, что динамика истечения электролитов зависит от морозостойкости образца и его видовой принадлежности. Количество ионов при утечке электролитов увеличивается при понижении температуры замораживания листьев. Состав ионов исходящих электролитов содержит наибольшее количество ионов калия, а также катионы аммония, натрия, кальция и магния. Наблюдается также истечение анионов хлора, сульфат- и нитрат- ионов.

Литература

1. Палта Дж.П., Ли П.Х. Свойства клеточных мембран в связи с повреждениями при замерзании. В кн. Холодостойкость растений М.: Колос, 1983. С.79-96.
2. Palta J.P., Levitt J., Stadelmann E.J. Freezing injury in onion bulb cells// *Plant Physiology*. 1977. V.60. P. 393-397.
3. Vega S. E. , Palta J.P., Bamberg G.B. Variability in the rate of cold acclimation and deacclimation among tuber-bearing *Solanum* (Potato) species// *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 2000. V. 125. № 2. P. 205-211.
4. Гришенкова Н.Н., Лукаткин А.С. Определение устойчивости растительных тканей к абиотическим стрессам с использованием кондуктометрического метода// *Поволжский экологический журнал*. 2005. №1. С.3-11.
5. Серсенбаев Б.А., Сатыбалдиева М.Н., Исабеков Б.М., Амирова С.А. Влияние осмотического шока на проницаемость мембран клеток корня и освобождение лоури-положительных соединений// *Физиология растений*. 1983. Т. 30, вып. 4. С. 737-743.
6. Pendinen G., Gavrilenko T., Jiang J., Spooner D. M. Allopolyploid speciation of the tetraploid Mexican potato species revealed by genomic in situ hybridization// *Genome*. 2008. V.51. P.714-720.
7. Комарова Н.В., Каменцев Я.С. Практическое руководство по использованию систем капиллярного электрофореза «Капель». С.Пб.: Веда. 2008. 208 с.

IONS CONTENT IN ELECTROLYTE LEAKAGE AFTER BARLEY AND POTATO LEAFS FREEZING

Chernov V.E., Aksenov A.I., Ivanova M.A., Pendinen G.I., Mitilineos A.G.

freezing resistance, electrolyte leakage, ions content, barley, potato

Ions content of electrolyte leakage and it's dynamics after barley and potato leafs freezing was investigated. As it was shown, after leaf freezing electro conductivity evaluate by temperature decrease. Ions content estimate as K^+ , NH_4^+ , Na^{+2} , Ca^{+2} , Mg^{+2} cations and as Cl^- , SO_3^{-2} , NO_3^- anions. Ions content was different for different species and variety. Dependence of ions concentration on freezing temperature was observed too.

ДИНАМИКА АКТИВНОСТИ ЛЕКТИНОВ В ПРОРОСТКАХ ПШЕНИЦЫ ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ И ДЕЙСТВИИ ДИТЕРПЕНОВОГО ГЛИКОЗИДА

Шаймуллина Г.Х., Хусаинова Р.Р., Грошева Е.А., Невмержицкая Ю.Ю., Тимофеева О.А.

ФГОАУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», ул. Кремлевская, 18, г. Казань, 420008, Россия, E-mail: gulnazshajmullina@yandex.ru

Triticum aestivum L., лектины, очистка, патоген, стевиозид**Введение**

Ежегодные потери урожая сельскохозяйственных культур, вызванные развитием грибных заболеваний, требуют эффективных, экологически чистых путей решения проблемы защиты растений. Относительно высокое содержание лектинов в растительных тканях, способность реагировать с гликоконъюгатами на поверхности патогенов, наряду с ограничивающим рост микроорганизмов влиянием свободных лектиновых белков указывают на их защитную роль в растениях. Несомненно, большая роль в координации процессов жизнедеятельности клетки в неблагоприятных условиях принадлежит веществам гормонального типа. Показано, что стевиол, являющийся прекурсором гибберелловой кислоты, проявляет антибактериальные и рострегулирующие свойства [1]. Регуляторы роста стимулируют клеточный иммунитет и активизируют защитные силы самого растения, оказывая воздействие не на конкретную болезнь или вредителя, а на организм в целом. На этих основаниях, данное исследование направлено на выявление молекулярных ответов растительных клеток при патогенезе и возможный протекторный вклад стевиозида в ответ на инфицирование патогенов.

Материалы и методы

Объектом исследования служили проростки яровой пшеницы (*Triticum aestivum L.*) сорта Омская 33. В качестве инфекционного агента использовали *Fusarium (F.) oxysporum* Schlechtend.:Fr. Семена перед посевом стерилизовали в 70% этаноле, выращивали в кюветах на водопроводной воде и в растворе стевиозида в концентрации 10^{-8} М. Концентрация исследуемого соединения была подобрана в предварительных экспериментах. Инфицированию подвергали 7-суточные проростки, для чего их выдерживали в течение 4 ч в суспензии конидий с исходным титром $(1-3) \cdot 10^4$ КОЕ/см³ и затем отбирали первую пробу для определения активности растворимых и связанных с клеточной стенкой лектинов. Последующие образцы отбирали через каждые 24 ч (на протяжении 4 сут.). Общий возраст проростков составил 11 сут.

Растворимые лектины экстрагировали 0,05н HCl, лектины клеточной стенки – 0,05% раствором тритона X-100 по методу, описанному в ранее опубликованной работе [2]. Для определения количества белка использовали метод Bradford [3]. Активность лектинов определяли в планшетах для иммунологических исследований по их способности агглютинировать трипсинизированные эритроциты 1 группы крови. Лектиновую активность рассчитывали по минимальному количеству белка, вызывающему агглютинацию эритроцитов (мкг белка/мл)-1. Результаты обработали статистически, их считали достоверными при уровне погрешности $\leq 5\%$ по критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Как видно из рисунка 1, изменения активности растворимых лектинов при действии фитопатогена *Fusarium spp.* носили фазный характер: первый пик увеличения активности мы наблюдали через 24 ч после инфицирования, второй - через 72 ч. Такое повышение активности лектинов может свидетельствовать о вовлечении растворимых лектинов в ответную реакцию растений на инфицирование. Увеличение активности растворимых лектинов может быть обусловлено как их синтезом *de novo*, так и изменением конформации существующих молекул.

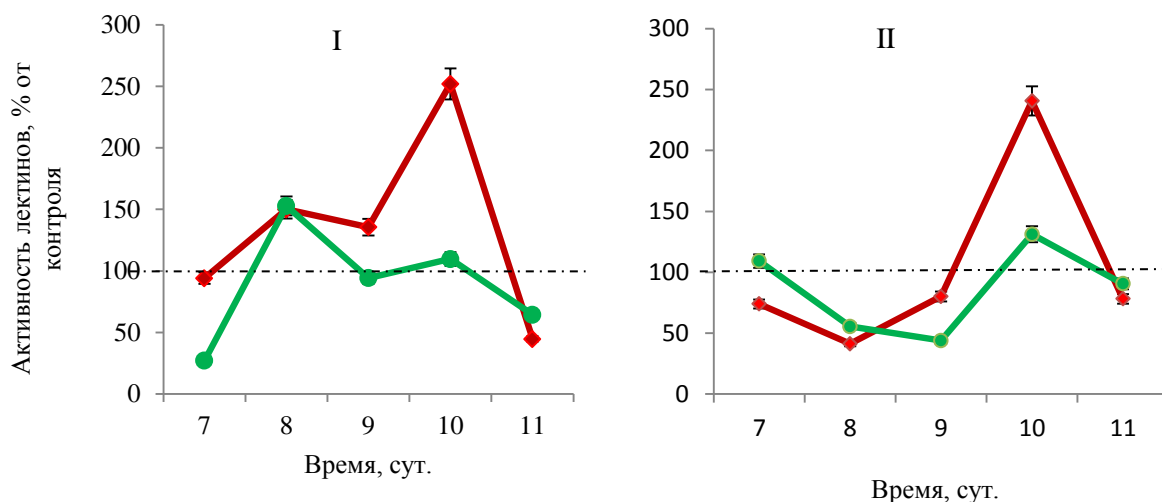


Рисунок 1 - Активность растворимых (I) и связанных с клеточной стенкой (II) лектинов яровой пшеницы сорта Омская 33:

♦- контроль + *Fusarium oxysporum*, •-стевиозид + *Fusarium oxysporum*

Figure 1 - Activity of soluble lectins and cell wall lectins spring wheat varieties Omsk 33:

♦- control + *Fusarium oxysporum*, •-stevioside+ *Fusarium oxysporum*

Один из механизмов действия веществ гормональной природы может осуществляться через изменение активности и содержания фитоагглютининов. Так было показано влияние гибберелловой кислоты на экспрессию гена, кодирующего лектин БКС30 массой 30 кДа [4]. В связи с этим мы решили предварительно обработать проростки пшеницы раствором дитерпенового гликозида стевиозидом (10⁻⁸ М), агликоном которого является гиббереллиноподобный дитерпеноид стевиол. Стевиозид уменьшил ответную реакцию растворимых лектинов на грибную инфекцию. В этом варианте мы наблюдали повышение активности растворимых лектинов только через 1 сут. после воздействия фитопатогенного гриба.

Инфицирование *Fusarium spp.* вызывало подавление активности лектинов клеточной стенки в течение первых двух сут. после инкубации растений в суспензии спор гриба, а затем на третьи сут. происходило значительное увеличение активности этой группы белков. Через 96 ч уровень активности лектинов клеточной стенки вновь был ниже по сравнению с контрольными растениями. Можно предположить, что более поздние изменения активности лектинов отражают симптомы болезни, т.е. коррелируют с восприимчивостью растений.

Предобработка растений стевиозидом уменьшала ответную реакцию лектинов клеточной стенки на инфицирование в течение всего эксперимента, возвращая активность этой группы белков к уровню контрольных растений через 96 ч после заражения грибным фитопатогеном.

Заключение

На основании результатов исследования динамики активности лектинов в проростках яровой пшеницы Омская 33 при действии инфицирования и проращивания в растворе стевиозидом можно утверждать о важной роли этих белков в формировании адаптивных реакций к патогенезу и о протекторном действии стевиозидом. В то же время, природные и синтетические регуляторы роста, сочетающие в себе ростстимулирующую и антистрессовую активность, могут быть использованы в растениеводстве, для борьбы с фитопатогенами.

Литература

1. Oliveira B.H., Stiirmer J.C., Filho J. D. S.[et al.] Plant growth regulation activity of steviol and derivatives // *Phytochemistry* – 2008. - V.69. - P. 1528-1533.
2. Тимофеева О.А., Невмержицкая Ю.Ю., Московкина М.А. Активность и состав лектинов клеточной стенки пшеницы при действии низких температур и ингибиторов кальциевой сигнальной системы// *Физиология растений*. 2010. Т. 57, № 2. С. 209-216.

3. 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.
4. Oda A., Sakuta C., Masuda S. et al. Possible involvement of leaf gibberellins in the clock-controlled expression of XSP30, a gene encoding a xylem sap lectin, in cucumber roots1 //Plant Physiol. - 2003. - V. 133. - P. 1779-1790.

**DYNAMICS OF LECTIN ACTIVITY IN WHEAT SEEDLINGS DURING INFECTION
AND DITERPENE GLYCOSIDE ACTION**

Shaymullina G.H., Khusainova R.R., Grosheva E.A., Nevmerzhitskaya Y.Y., Timofeeva O.A.

Triticum aestivum L., lectins, purification, pathogen, stevioside

Dynamics of lectins in sprouts of a spring-sown field activity in the conditions of infection and preprocessing by a diterpen glycoside the stevioside is investigated. Reduction of activity of soluble and connected with a cellular wall lectins in the preliminary processed in the stevioside plants testifies to manifestation of its protective properties.

АРХИТЕКТУРА КОРНЕВОЙ СИСТЕМЫ РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ ПРИ ДЕФИЦИТЕ ВОДЫ И РОЛЬ АБСЦИЗОВОЙ КИСЛОТЫ В ЕЕ РЕГУЛЯЦИИ

Шарипова Г.В., Ахиярова Г.Р., Веселов Д.С., Веселов С.Ю., Кудоярова Г.Р.

ФГБУН Институт биологии УНЦ РАН, пр. Октября, 69, г. Уфа, 450054, Россия
ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный университет», ул. З. Валиди, 32, г. Уфа, 450076, Россия*Hordeum vulgare*, абсцизовая кислота, дефицит воды, удлинение корней, примордии**Введение**

Изменение скорости роста и развития корневой системы – одна из наиболее важных реакций, обеспечивающих адаптацию растений к дефициту воды. Несмотря на значимость этой реакции, ее изучению уделялось недостаточно внимания, о чем свидетельствует противоречивость данных литературы на этот счет. Так, в соответствие с одной из точек зрения, торможение ветвления при дефиците воды – это наиболее характерная и важная реакция растений на дефицит воды [1]. Ее адаптивное значение кажется очевидным: она обеспечивает ускоренное удлинение главных корней и поглощение ими воды из глубины почвы при подсыхании ее верхних слоев. Тем не менее, сообщалось, что увеличение количества боковых корней является характерной реакцией на засуху у растений риса [2]. Скорее всего, адаптивное преимущество тех или иных особенностей изменений архитектуры корней ((1) их ускоренное удлинение за счет подавления ветвления или (2) усиленное ветвление) зависит от конкретных климатических условий (например, глубины расположения материнской породы, наличия воды на глубине почвы или подвешенной воды - в ее верхних слоях, связанной с выпадением осадков). Так или иначе, важно понять, от чего зависит ростовая реакция корней на дефицит воды. Роль гормонов ауксинов в регуляции ветвления корней хорошо известна [3]. Поскольку накопление в растениях абсцизовой кислоты (АБК) является одной из характерных реакций на дефицит воды, важно оценить ее роль в регуляции роста и развития корней на фоне засухи. Отдельные публикации указывают на подавление ветвления корней под влиянием АБК [4]. Однако роли этого гормона в регуляции ветвления на фоне дефицита воды не уделялось достаточно внимания. Наша работа направлена на углубление знаний об особенностях роста и развития корней при дефиците воды и роли АБК в регуляции этих процессов.

Материалы и методы.

Семена растений ячменя (*Hordeum vulgare* L.) сорта Steptoe и его дефицитного по АБК мутанта AZ34 проращивали в темноте на плотиках (связанные вместе полые запаянные стеклянные трубки) в кюветах с 10 % питательным раствором Хогланда-Арнона, а затем - при освещенности 400 ммоль м-2с-1 и 14-часовом световом дне. У трехсуточных растений дефицит воды создавали, добавляя полиэтилен гликоль (ПЭГ 6000) до конечных концентраций 6 и 12 %. Через сут. после добавления осмотика в питательную среду измеряли количество примордиев, а через двое сут. – количество боковых корней и длину основных корней. Количество примордиев корней, фиксированных по Кларку в смеси этанола и ледяной уксусной кислоты (3:1) и окрашенных ацетокармином, подсчитывали под микроскопом.

Результаты и обсуждение.

В отсутствие ПЭГ дефицитный по АБК мутант ячменя не отличался от исходной формы по длине корней. Дефицит воды не оказывал достоверного влияния на длину первичных корней растений сорта Steptoe, хотя можно заметить тенденцию к укорочению корней под влиянием ПЭГ (рис. 1а). В отличие от своей исходной формы у дефицитного по АБК мутанта AZ34 дефицит воды стимулировал удлинение корней (превышение длины корней на фоне 12 % ПЭГ по сравнению с контролем было достоверным при $p=0,007$). На основе опытов с об-

работкой растений кукурузы ингибитором синтеза АБК была сформулирована гипотеза о том, что этот гормон поддерживает удлинение корней на фоне дефицита воды [5]. Судя по нашим данным, эта закономерность не характерна для растений ячменя, у которых осмотический стресс стимулировал удлинение корней дефицитного по АБК мутанта и не влиял на длину корней его исходной формы с нормальной способностью к синтезу АБК. Наши данные говорят скорее о том, что АБК мешает стимуляции удлинения корней ячменя под влиянием дефицита воды.

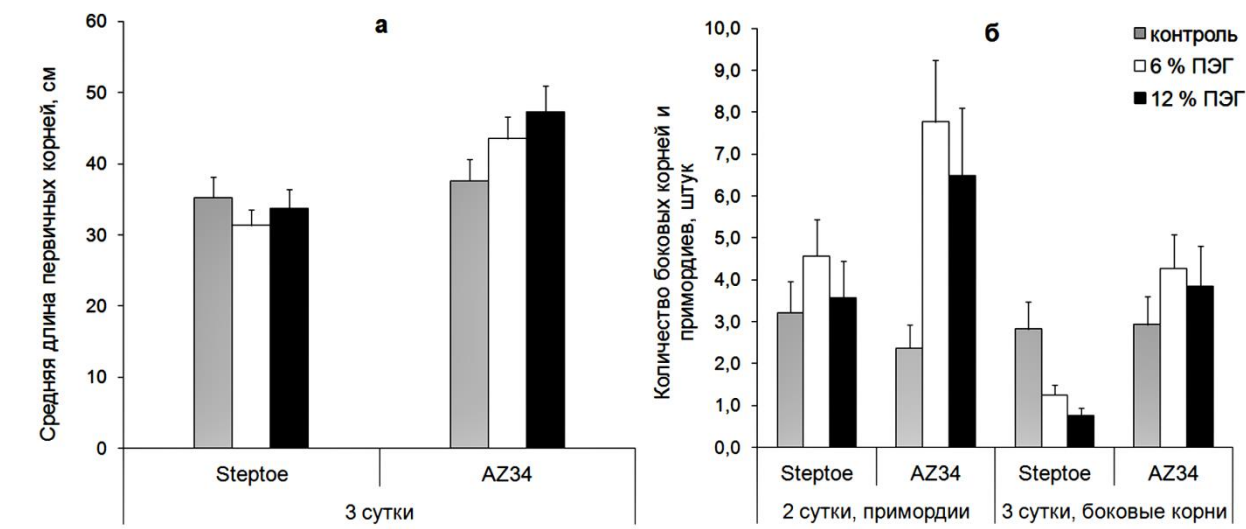


Рисунок 1 - Влияние дефицита воды на длину (а) и ветвление (б) корней ячменя сорта Steptoe и его дефицитного по АБК мутанта AZ34 через на второй (примордии) и третий день (длина первичных корней и количество боковых корней) после добавления ПЭГ в питательный раствор

Figure 1 - Effect of water deficit on the length (a) and branching (б) of roots of barley cultivar Steptoe and its ABA deficient mutant AZ34 on the second (primordia) and third (primary root length and number of lateral roots) days after addition of PEG to the nutrient medium

В отсутствие ПЭГ количество боковых корней и их примордиев у дефицитного по АБК мутанта было таким же, как у Steptoe (рис. 1б). На второй день после добавления ПЭГ в питательный раствор число примордиев достоверно не менялось по сравнению с контролем у растений Steptoe и резко возрастало под влиянием осмотического стресса у AZ34. Эти результаты указывают на то, что дефицит АБК способствовал инициации ветвления при дефиците воды. На следующий (третий) день после добавления ПЭГ сформированные ранее примордии должны были появиться на поверхности первичных корней (их количество в контроле увеличивалось за день в 4 раза). Однако, в отличие от закладки примордиев, количество которых не менялось по сравнению с контролем у Steptoe, число боковых корней у них резко снижалось под влиянием осмотического стресса. Очевидно, что некий фактор ингибировал удлинение уже сформированных примордиев и их появление в виде боковых корней. На первый взгляд может показаться, что роль этого фактора играет АБК. По крайней мере, в отличие от Steptoe, ветвление корней у дефицитного по АБК мутанта не снижалось, а возрастало под влиянием осмотического стресса. Тем не менее, количество боковых корней у AZ34 возрастало в меньшей степени, чем число примордиев. Следовательно, как и у исходной формы, ПЭГ ингибировал удлинение сформированных примордиев у мутанта ячменя. Эксперименты с дефицитными по АБК мутантами арадибопсиса показали, что АБК ингибировала удлинение боковых корней у растений этого вида [4]. Однако эта закономерность не проявлялась в наших экспериментах с растениями ячменя. Полученные нами результаты указывают на то, что в подавлении удлинения примордиев боковых корней при дефиците воды

принимает участие, кроме АБК, еще какой-то фактор. Его поиск входит в задачу дальнейших исследований.

Таким образом, сравнение реакции на осмотический стресс у дефицитного по АБК мутанта ячменя и его исходного сорта показало, что способность растений синтезировать АБК предотвращает стимуляцию удлинения первичных и закладки боковых корней при дефиците воды. Влияние АБК на скорость удлинения боковых корней в наших опытах проявлялось менее четко.

Работа выполнялась при поддержке РФФИ (грант 12-04-01111-а) и в рамках госзадания № 01201456413 Минобрнауки России.

Литература

1. Xiong L., Wang R.G., Mao G., Koczan J.M. Identification of drought tolerance determinants by genetic analysis of root response to drought stress and abscisic acid // *Plant Physiology*. – 2006. – V. 142. – P. 1065–1074
2. Henry A., Cal A.J., Batoto T.C., Torres R.O., Serraj R. Root attributes affecting water uptake of rice (*Oryza sativa*) under drought // *Journal of Experimental Botany*.- 2012. – V. 63. – P. 4751–4763.
3. Иванов В.Б. Клеточные механизмы роста растений. М.: Наука. 2011. – 104 с.
4. De Smet I, Zhang H, Inze D, Beeckman T. A novel role for abscisic acid emerges from underground // *Trends in Plant Science*. – 2006. – V. 1. – P. 434–439.
5. Sharp R.E., Poroyko V., Hejlek L.G., Spollen W.G., Springer G.K., Bohnert H.J., Nguyen H.T. Root growth maintenance during water deficits: physiology to functional genomics // *Journal of Experimental Botany*.- 2004. – V. 55. – P. 2343–2351.

ROOT ARCHITECTURE OF BARLEY PLANTS UNDER WATER DEFICIT AND THE ROLE OF ABSCISIC ACID IN ITS REGULATION

Hordeum vulgare, abscisic acid, water deficit root elongation, branching, primordia

Comparison of response to osmotic stress in ABA deficient barley mutant and its parental cultivar has shown that capacity of plants to synthesize ABA prevents stimulation of elongation and initiation of lateral roots under water deficit.

**ДЫХАНИЕ И СООТНОШЕНИЕ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ В ЛИСТЯХ
ДВУХ УМЕРЕННО СВЕТОЛЮБИВЫХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ
ПРИ РАЗНОЙ ОСВЕЩЕННОСТИ**

Шелякин М.А.

ФГБУН Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, ул. Коммунистическая, 28, г. Сыктывкар,
167982, Россия, E-mail: shelyakin@ib.komisc.ru

hylolephium triphyllum, *Rubus chamaemorus*, дыхание, дыхательные пути, альтернативный путь дыхания, свет

Митохондриальное дыхание вносит существенный вклад в устойчивость растительных клеток к неблагоприятному воздействию факторов среды. Во многом этому способствует наличие дополнительных нефосфорилирующих путей (внешних НАД(Ф)Н дегидрогеназ и энергетически малоэффективного альтернативного пути транспорта электронов (АП) через альтернативную оксидазу (АОХ) в электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) растительных митохондрий.

Проблема влияния света на дыхание растений долгое время рассматривалась через «призму» фотосинтеза. Представление о темновом дыхании в фотосинтезирующей клетке менялись от отрицания самой возможности дыхания на свету [1] до активации светом [2]. Позже преобладающим стало мнение, что процессы фотосинтеза и дыхания у фототрофных тканей на свету тесно скоординированы [3]. На зеленеющих проростках [6] и листьях теневыносливых растений [4,5] показано вовлечение АП на свету. Полагают, что АП участвует в окислении избытка восстановителей, поступающих из хлоропластов, и защите фотосинтетического аппарата от фотодеструкции [7].

Остается неясным, в какой мере установленные закономерности распространяются на дыхательный метаболизм растений в природе при длительной адаптации к разным световым условиям обитания.

В качестве модельных объектов использовали листья умеренно светолюбивых растений природной флоры *Hylolephium triphyllum* (Haw.) и *Rubus chamaemorus* L. Растения морошки приземистой произрастали на хорошо освещенном участке мезоолиготрофного болота, растения очитка пурпурного культивировали на делянке в окрестностях г. Сыктывкара. Часть растений получала полный солнечный свет (световые (С) растения), другие затеняли экраном, снижающим освещенность на 50% (теневые (Т) растения).

Интенсивность дыхания листьев определяли по поглощению O_2 при 20 °С с использованием электрода Кларка. Скорость дыхания выражали в наномолях O_2 / (г сухой массы мин).

Соотношение дыхательных путей изучали с помощью специфических ингибиторов. В качестве ингибитора АОХ использовали салицилгидроксамовую (СГК) или бензгидроксамовую (БГК) кислоты. Активность цитохромоксидазы подавляли KCN. Для выявления неспецифического действия СГК и БГК на дыхание и оптимальных концентраций ингибиторов применяли метод «прямого титрования», адаптированный для растительных тканей [8].

Определяли интенсивность поглощения O_2 и способность дыхательных путей в листьях морошки приземистой. Динамика дыхания листьев имела сложный характер: максимумы дыхательной активности были отмечены в начале цветения и в период плодоношения растений (в среднем 2000 нмоль O_2 / г сухой массы). Временное падение дыхательной способности листьев в конце цветения в 2 – 2.5 раза могло быть связано с необходимостью накопления углеводов для реализации генеративной функции (плодообразования) и запасания углерода в подземных побегах.

Вклад АП варьировал в пределах 30 – 45 % в зависимости от фазы роста и развития растений. В стареющих листьях резко возрастала доля остаточного (немитохондриального) дыхания, до 50 – 60 %. Феномен остаточного дыхания исследован недостаточно. Его связывают с активностью цитозольных ферментов, работа которых осуществляется в присутствии O₂. Повышение вклада V_{res} в листьях морошки в конце вегетации могло быть связано с усилением синтеза антоцианов и других фенольных соединений, которые накапливаются в стареющих листьях морошки [9]. В литературе приводятся данные, подтверждающие связь между увеличением активности V_{res} и накоплением фенольных соединений в листьях *Salvinia minima* [10].

Затенение не оказало влияния на сезонную динамику дыхательной способности листьев, однако снижало поглощение O₂ в среднем на 25 – 30%. Уровень освещенности не повлиял на соотношение дыхательных путей, вклад компонентов дыхания у затененных и контрольных растений был примерно одинаковым. В конце вегетации доля остаточного дыхания в листьях затененных растений была столь же высокой, как и у растений, произрастающих при естественной освещенности. Это свидетельствует о широкой экологической норме реакции листьев данных растений по отношению к световому фактору. Можно полагать, что характер изменения дыхания и соотношения дыхательных путей в большей мере контролировались онтогенетическими факторами внутренней природы, чем условиями внешней среды. Анализ с применением MANOVA и критерия Уиллкса показал, что на скорость дыхания статистически значимо влияли уровень освещенности ($P = 0.003$) и возрастное состояние растений ($P = 0.000005$), но возраст растений оказывал влияние в большей степени. Изменения в соотношении дыхательных путей не зависели от световых условий.

Дыхание растений отчетливо существенно снижалось к фазе плодоношения. В фазу цветения скорость поглощения O₂ в листьях уменьшалась примерно в 1.5 раза. В период плодоношения скорость дыхания листьев была ниже, чем в фазу вегетативного роста в 2.2 – 2.4 раза.

Установлено, что световые условия произрастания не оказали влияния на возрастной ход дыхания и соотношение дыхательных путей в листьях растений сорта пурпурного. В фазу вегетативного роста и цветения листья Т-растений дышали активней, листьев С-растений. Однако листья С- и Т-растений значимо не отличались по доле АП в общем дыхании и характеризовались высокой способностью к транспорту электронов по АП (40 – 50 % от общего дыхания). Вклад ЦП в дыхание листьев был наибольшим в фазу вегетативного роста (50 – 40 %). При переходе растений к цветению и плодоношению выявили снижение дыхания по ЦП и увеличение способности к дыханию по АП.

Таким образом, уровень освещенности оказывал влияние на общее дыхание листьев обоих видов исследуемых растений. У затененных растений морошки приземистой интенсивность поглощения O₂ листьями снижалась на 25 – 30 %, что могло быть связано со снижением продуктивности процесса фотосинтеза и энергетических потребностей клеток листьев морошки. У сорта пурпурного листья теневых растений, напротив, дышали несколько интенсивнее и дольше сохраняли дыхательную способность. Можно полагать, что на открытом свету листья растений быстрее старели, накапливая большее количество внепластидных пигментов – антоцианов, как это было показано ранее [11]. Снижение доли ЦП и увеличение вклада АП в общее дыхание листьев растений морошки и сорта пурпурного на завершающих этапах вегетационного периода связано с изменениями в метаболизме листьев растений и увеличением вклада компоненты дыхания поддержания над дыханием роста.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что изменения в дыхательном метаболизме умеренно светолюбивых видов растений контролируются внутренними факторами в большей степени, чем внешними условиями. Изменение освещенности не приводило к существенному нарушению соотношения дыхательных путей, что свидетельствует о поддержании устойчивого функционирования дыхательной системы листьев при длительной адаптации растений к световым условиям произрастания.

Работа выполнена при поддержке проекта УрО РАН 12-У-4-1008.

Литература

1. Заленский О.В. О взаимоотношениях между фотосинтезом и дыханием // Ботанический журнал. 1957 Т. 42. № 11. – С. 1674 – 1690.
2. Atkin O.K., Millar A.H., Gardeström P., Day D.A. Photosynthesis, Carbohydrate Metabolism and Respiration in Leaves of Higher Plants // Photosynthesis: Physiology and Metabolism / Ed. Leegood R.C., Sharkey T.D., von Caemmerer S. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2000. P. 153 – 175.
3. Семихатова О.А. Эколого-физиологические исследования темнового дыхания растений: прошлое, настоящее, будущее // Ботанический журнал. 2000. № 4. – С. 15 – 32.
4. Ribas-Carbo M., Robinson S.A., González-Meler M.A., Lennon A.M., Giles L., Siedow J.N., Berry J.A. Effects of Light on Respiration and Oxygen Isotope Fractionation in Soybean Cotyledons // Plant Cell Environ. 2000. V. 23. P. 983 – 989.
5. Головки Т.К., Дымова О.В., Пыстина Н.В. Адаптогенез фотосинтетического аппарата теневыносливых растений // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. Серия: Биология. 2001. – С. 77 – 79.
6. Noguchi K., Taylor N.L., Millar A.H., Lambers H., Day D.A. Response of mitochondria to light intensity in the leaves of sun and shade species // Plant, Cell & Environment. 2005. V. 28. P. 760 – 771.
7. Noguchi K., Yoshida K. Interaction between photosynthesis and respiration in illuminated leaves // Mitochondrion. 2008. V. 8. P. 87 – 99.
8. Lambers H. Respiration in intact plants and tissues: its regulation and dependence on environmental factors, metabolism and invaded organisms // Higher Plant Cell Respiration / Eds. Douse R., Day D. A. Berlin: Springer. 1985. P. 418 – 473.
9. Захожий И.Г., Табаленкова Г.Н., Дымова О.В. Сезонная динамика накопления веществ фенольной природы в листьях *Rubus chamaemorus* L. // Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты: Матер. докл. VIII Международного симпозиума. Москва. 2012. – С. 278 – 281.
10. Prado C., Rosa M., Pagano E., Prado F. Metabolic interconnectivity among alternative respiration, residual respiration, carbohydrates and phenolics in leaves of *Salvinia minima* exposed to Cr(VI) // Environmental and Experimental Botany. 2013. V. 87. P. 32 – 38.
11. Головки Т.К., Далькэ И.В., Бачаров Д.С., Бабак Т.В., Захожий И.Г. Толстянковые в холодном климате (биология, экология, физиология). СПб.: Наука, 2007. – 205 с.

RESPIRATION AND RESPIRATORY PATHWAYS RATIO IN LEAVES OF TWO SUN SPECIES PLANTS IN DIFFERENT LIGHT CONDITIONS

Shelyakin M.A.

hylotheplium triphyllum, *Rubus chamaemorus*, respiration, respiratory pathways, alternative respiration, light

Respiration rate and respiratory pathways ratio in *H. triphyllum* and *R. chamaemorus* leaves were studied in natural lighting and 50 % shading conditions. Was observed, that changes in respiratory metabolism of sun species plants leaves was controlled by intrinsic factors to a greater extent than the external conditions. Illumination changes did not lead to disruption of respiratory pathways ratio. Maintaining a stable functioning of the respiratory system is necessary for plant leaves adaptation to light environment.

**ДЕЙСТВИЕ И ПОСЛЕДЕЙСТВИЕ КРАТКОВРЕМЕННЫХ СНИЖЕНИЙ
ТЕМПЕРАТУРЫ ПРИ 24-ЧАСОВОМ ФОТОПЕРИОДЕ НА РОСТ,
РАЗВИТИЕ И УРОЖАЙНОСТЬ ТОМАТА**

Шибаетова Т.Г., Шерудило Е.Г.

ФГБУН Институт биологии КарНЦ РАН, ул. Пушкинская, 11, г. Петрозаводск, 185910,
Россия, E-mail: kharkina@krc.karelia.ru*Lycopersicon esculentum Mill., температура, круглосуточное освещение, рост, урожай***Введение**

Считается, что выращивание растений в условиях круглосуточного освещения при относительно невысокой плотности потока фотонов является одним из способов экономии ресурсов и повышения продуктивности растений [1, 2]. Однако, влияние круглосуточного освещения на растения видоспецифично, и томат является одной из наиболее чувствительных к круглосуточному освещению сельскохозяйственной культурой, у которой в этих условиях наблюдается световое повреждение листьев, проявляющееся в виде межжилкового хлороза, что отрицательно сказывается на росте, развитии и продуктивности растений [3, 4]. Ранее нами показано, что ежесуточные кратковременные снижения температуры до закалывающих значений (ДРОП, от англ. drop – падение) могут предотвращать физиологические повреждения листьев растений томата, вызванные действием круглосуточного освещения, не замедляя при этом скорость развития растений [5]. Не изученным оставался вопрос, отразится ли в последствии влияние круглосуточного освещения и ДРОП, применяемых в пререпродуктивный период, на урожайности растений. Таким образом, цель работы состояла в выявлении влияния ДРОП при круглосуточном освещении в пререпродуктивный период на рост и репродуктивное развитие растений томата, а также оценке последствие ДРОП и круглосуточного освещения на урожайность плодов томата.

Материалы и методы

Объектом исследования служили растения томата (*Lycopersicon esculentum* Mill.), гибрид Верлиока F1. Семена высевали в подготовленный грунт в камерах искусственного климата с фотопериодом 24 ч, освещенностью 155 мкмоль/(м²·с) фотосинтетически активной радиации (ФАР) и влажностью 70%. Растения выращивали при постоянной температуре 26°C (вариант 24 ч) или подвергая растения ежесуточному действию температуры 10°C в течение 2 ч (вариант 24 ч + ДРОП). Контролем служили растения, выращенные при фотопериоде 16 ч и температуре (день/ночь) 26/20°C. В конце пререпродуктивного периода (37 сут) растения всех вариантов были высажены в обогреваемые пленочные теплицы на Агробиологической станции Института биологии КарНЦ РАН (Петрозаводск, 61°47' с.ш., 34°20' в.д.) и выращивались в условиях естественного фотопериода в мае-августе 2012-2013 гг. (весенне-летний оборот). Плотность посадки – 2,8 раст/м². Перед высадкой растений в теплицу определяли площадь листьев и сухую биомассу растений. Содержание хлорофилла (хл) определяли спектрофотометрическим методом. Число генеративных органов (бутоны, цветки, завязи, плоды) подсчитывали каждые 7 дней. Энергию плодообразования определяли как процент нормальных плодов от количества цветковых почек. Учитывали раннюю (за первые 4 сбора плодов) и общую урожайность плодов с каждого соцветия.

Результаты и обсуждение

Выращивание растений томата в условиях круглосуточного освещения и постоянной температуры (вариант 24 ч) привело к развитию хлороза активно растущих листьев, в результате чего растения характеризовались низкими значениями биомассы и площади листьев (табл. 1). После высадки растений в теплицу, где все варианты находились в одинаковых температурных и световых условиях, наблюдалось последствие круглосуточного освеще-

ния, проявившееся в задержке цветения, снижении энергии плодообразования и урожайности плодов (табл. 2). Применение ДРОП в условиях круглосуточного освещения предотвратило появление хлороза листьев, увеличило биомассу растений и площадь листьев (табл. 1), а в последствии у растений, обработанных ДРОП, не отмечалось негативного влияния круглосуточного освещения, и время до цветения, энергия плодообразования и урожайность плодов не отличались от показателей контрольных растений (табл. 2). В конце пререпродуктивного периода растения, выращенные в условиях круглосуточного освещения с обработкой ДРОП, имели бóльшую биомассу по сравнению с растениями, выращенными при 16 ч фотопериоде, но при этом были более компактными, что является важным показателем качества для рассады томата (табл. 1). Бóльшая биомасса растений была обусловлена не большей площадью ассимилирующей поверхности, а более высокими значениями удельной поверхностной плотности листа (УППЛ). Считается, что биомасса растений, высаженных в теплицу, определяет интенсивность роста в начальный период после высадки и, в конечном счете, урожайность плодов томата [6]. Можно было ожидать, что рассада с бóльшей биомассой приведет к увеличению урожайности плодов. Наши результаты показали, что по общей урожайности растения, полученные из рассады, выращенной в условиях круглосуточного освещения с применением ДРОП, не превосходили контроль, но ранняя урожайность у них была выше, что, с учетом более высокой реализационной цены ранней продукции, может способствовать повышению экономической эффективности производства. Средняя масса плода не различалась достоверно между вариантами, составляя 105 г.

Таблица 1 - Ростовые показатели растений томата и содержание фотосинтетических пигментов в конце пререпродуктивного периода (36 сут от появления всходов)

Table 1 - Growth indices and chlorophyll content of tomato plants in the end of the prereproductive period (Day 36 after seedling emergence)

Вариант опыта	Сухой вес растения, г	Площадь листьев, см ²	Высота растения, см	УППЛ, мг/см ²	Содержание хл а+b, мг/г сух. массы
Контроль	1,56 b	556 b	38 c	1,6 a	17,1 c
24 ч	1,00 a	265 a	30 b	2,1 b	5,6 a
24 ч +ДРОП	1,97 c	526 b	22 a	2,4 c	10,8 b

(n=5); разные буквы указывают на достоверные различия (P<0,05).

Обычно повышение устойчивости растений к избыточному свету связывают с повышением активности механизмов антиоксидантной защиты [7]. Мы предполагаем, что ДРОП может защищать фотосинтетический аппарат листьев растений от повреждающего действия АФК в условиях длинных фотопериодов, индуцируя неспецифический ответ, как это было показано в работах с растениями огурца [8]. При формировании неспецифической устойчивости происходит активация механизмов антиоксидантной защиты [9]. Таким образом, ДРОП может снижать повреждающее действие круглосуточного освещения за счет повышения активности работы антиоксидантной системы растений, нейтрализующей АФК, появляющиеся в результате фотоокислительного стресса.

Таблица 2 - Репродуктивные показатели растений томата в весенне-летнем обороте в пленочных теплицах

Table 2 - Reproduction indices of greenhouse grown tomato plants

Вариант опыта	Продолжительность периода от всходов до цветения, сут	Энергия плодообразования, %	Ранняя урожайность, кг/м ²	Общая урожайность, кг/м ²
Контроль	46 a	97 b	4,3 b	10,4 b
24 ч	59 b	57 a	2,5 a	8,9 a
24 ч +ДРОП	49 a	93 b	4,6 c	10,2 b

(n=5); разные буквы указывают на достоверные различия (P<0,05).

Вопрос применения круглосуточного освещения в практике растениеводства решается исключительно исходя из экономической целесообразности [2]. На сегодняшний день томат считается одной из наиболее рентабельных культур защищенного грунта, и поэтому существуют потенциальные преимущества выращивания растений томата с применением круглосуточного освещения при относительно низком уровне освещенности. Особенно важно добиваться увеличения выхода ранней продукции, реализационная цена которой в несколько раз выше, чем поздней. Однако, для того, чтобы использовать эти преимущества в полной мере, необходимо лучше понимать механизмы реакции растений на действие длительных фотопериодов. Применение переменных температурных режимов, в том числе ДРОП, с тщательно подобранными параметрами (длительность и интенсивность низкотемпературного воздействия) может служить основой для разработки способов, позволяющих избежать неблагоприятных последствий круглосуточного освещения на рост и развитие растений.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 14-04-00840 а.

Литература

1. Sysoeva M.I., Markovskaya E.F., Shibaeva T.G. Plants under Continuous Light: a Review // *Plant Stress*. 2010. V. 4. №1. P. 5-17.
2. Velez-Ramirez A.I., van Ieperen W., Vreugdenhil D., Millenaar F.F. Plants under Continuous Light // *Trends in Plant Science*. 2011. V. 16. № 6. P. 310-318.
3. Arthur J.W., Guthrie J.D., Newell J.M. Some effects of artificial climates on the growth and chemical composition of plants // *Amer. J. Bot.* 1930. V. 17. P. 416-482.
4. Demers D.A., Dorais M, Wien H.C. et al. Effects of supplemental light duration on greenhouse tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plants and fruit yields // *Sci. Hort.* 1998. V. 74. P. 295-306.
5. Sysoeva M.I., Shibaeva T.G., Sherudilo E.G., Ikkonen E.G. Control of Continuous Irradiation Injury on Tomato Plants with a Temperature Drop // *Acta Hort.* 2012. V. 956. P. 283-290.
6. van de Vooren J., Welles G.W.H., Hayman G. Glasshouse crop production. In: *The Tomato Crop. A Scientific Basis for Improvement* (Atherton J.G., Rudich J., Eds.). Chapman and Hall, London, UK, 1986. P. 581-623.
7. Gill S.S., Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants // *Plant Physiol. Biochem.* 2010. V. 48. P. 909-930.
8. Марковская Е.Ф., Сысоева М.И., Шерудило Е.Г. Феномен ежесуточного кратковременного влияния низких закалывающих температур на жизнедеятельность растения // *Онтогенез*. 2008. Т. 39. № 5. С. 323-332.
9. Chapin F.S. Integrated responses of plants to stress. A centralized system of physiological responses // *Bio Science*. 1991. V. 41. P. 29-36.

EFFECTS AND AFTER-EFFECTS OF A TEMPERATURE DROP UNDER CONTINUOUS LIGHT ON GROWTH, DEVELOPMENT AND YIELD OF TOMATO PLANTS

Shibaeva T.G., Sherudilo E.G.

Lycopersicon esculentum Mill., temperature drop, continuous light, growth, yield

A temperature drop treatment (DROP) prevented physiological disorders of tomato plants under continuous light (CL) and enhanced growth of tomato transplants. Greenhouse grown tomato plants resulted from CL+DROP-treated transplants had higher early fruit yield compared to plants grown under 16 h photoperiod. Possible mechanisms of plant response to a temperature drop under CL are discussed.

**ВЛИЯНИЕ ДРОП-ВОЗДЕЙСТВИЙ РАЗНОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ НА РАСТЕНИЯ
ТОМАТА В УСЛОВИЯХ КРУГЛОСУТОЧНОГО ОСВЕЩЕНИЯ**

Шибаета Т.Г., Шерудило Е.Г.

ФГБУН Институт биологии КарНЦ РАН, ул. Пушкинская, 11, г. Петрозаводск 185910,
Россия, E-mail: kharkina@krc.karelia.ru*Lycopersicon esculentum Mill., низкая температура, круглосуточное освещение, хлороз***Введение**

Наличие света является обязательным условием для нормальной жизнедеятельности фотосинтезирующих организмов. Вместе с тем, он является агрессивным фактором, способным при определенном сочетании других факторов среды вызывать фотоингибирование, фотодинамическое разрушение фотосинтетического аппарата (ФСА) и даже гибель клеток [1, 2]. Реакция растений на круглосуточное освещение видоспецифична, и томат является одной из наиболее чувствительных сельскохозяйственной культурой, у которой в условиях 24-часового фотопериода развивается хлороз листьев [3]. Ранее нами показано, что ежесуточные кратковременные снижения температуры до 10°C (ДРОП, от англ. drop – падение) могут предотвращать повреждение листьев растений томата, вызванное действием круглосуточного освещения [4]. Цель настоящей работы состояла в определении эффективности кратковременных низкотемпературных воздействий разной интенсивности в предотвращении негативного влияния круглосуточного освещения на ФСА растений.

Материалы и методы

Объектом исследования служили растения томата (*Lycopersicon esculentum* Mill.), гибрид Верлиока F1. Растения выращивали в камерах искусственного климата при фотопериоде 24 ч, освещенности 155 мкмоль/(м²·с) фотосинтетически активной радиации (ФАР) и температуре воздуха 26°C. В период с 8-го по 23-ий день часть растений ежесуточно в течение 2 ч подвергали действию температуры 10°C (ДРОП Δ16°), 17°C (ДРОП Δ9°), 20°C (ДРОП Δ6°) или выращивали при постоянной температуре (ДРОП Δ0°). Градиент температур составлял, соответственно, 16, 9, 6 или 0°C. Контролем служили растения, выращенные при фотопериоде 16 ч и температуре 26°C. Полив проводили полным питательным раствором (рН 6.2-6.4).

Определяли площадь листьев и сухую биомассу растений. Для измерений флуоресценции хлорофилла использовали анализатор фотосинтеза с импульсно-модулированным освещением (MINI-PAM, Walz, Германия). Определяли максимальный квантовый выход фотохимической активности ФС II (Fv/Fm) после 20-мин темновой адаптации листьев и реальный квантовый выход фотохимической активности ФС II (Y). Выход электролитов из тканей листьев определяли при помощи кондуктометра HI 8733 (Hanna, Германия), оценивая в процентах от полного выхода электролитов после кипячения образца. Содержание хлорофилла (хл) определяли спектрофотометрически.

Результаты и обсуждение

У растений томата, выращенных в условиях круглосуточного освещения и постоянной температуры 26°C (ДРОП Δ0°), развивались признаки светового повреждения листьев в виде межжилкового хлороза. При этом наблюдалось снижение содержания хлорофилла, реального (Y) и потенциального (Fv/Fm) квантового выхода фотохимической активности ФС II и увеличение выхода электролитов (табл. 1). Растения, выросшие в условиях круглосуточного освещения и подвергавшиеся ежесуточно кратковременному действию низкой закалывающей температуры 10° (ДРОП Δ16°), имели листья без признаков хлороза, более высокие значения сухого веса растений, площади листьев, содержание хлорофилла, Fv/Fm, Y и более низкий выход электролитов по сравнению с растениями вариантов с меньшим градиентом

температур (ДРОП $\Delta 9^\circ$ и ДРОП $\Delta 6^\circ$) (табл.). Так называемый «умеренный ДРОП» с градиентом 6°C оказался неэффективным для предотвращения повреждения ФСА листьев в условиях круглосуточного освещения, однако у растений этого варианта (ДРОП $\Delta 6^\circ$) содержание хлорофилла было выше, а выход электролитов ниже, чем у растений, выросших при постоянной температуре (ДРОП $\Delta 0^\circ$). ДРОП с градиентом 9°C имел промежуточный эффект.

Таблица 1 - Влияние ДРОП-воздействий разной интенсивности на показатели роста, состояние фотосинтетического аппарата и выход электролитов у растений томата в условиях круглосуточного освещения

Table 1 - Effects of a temperature DROP of different intensity on plant biometric indices, electrolyte leakage and photosynthetic apparatus state in tomato plants under continuous light

Вариант опыта	Сухой вес растений, г	Площадь листьев, см ²	Содержание хл, мг/г сух. массы	Fv/Fm	Y	Выход электролитов, %
Контроль	0,45 a	182 b	13,8 d	0.810 c	0.731 c	30 c
ДРОП $\Delta 0^\circ$	0,79 b	190 b	9,6 a	0.601 a	0.357 a	43 d
ДРОП $\Delta 6^\circ$	0,81 b	263 a	10,3 a	0.501 a	0.232 a	26 b
ДРОП $\Delta 9^\circ$	0,90 b	267 a	10,1 b	0.800 b	0.488 b	25 b
ДРОП $\Delta 16^\circ$	1,16 c	300 c	11,8 c	0.828 d	0.759 d	20 a

(n=5); разные буквы указывают на достоверные различия ($P < 0,05$).

Из литературы известно, что переменные суточные температуры (термопериод с градиентом более 8°C) в определенной степени предотвращают развитие хлороза листьев в условиях круглосуточного освещения у некоторых растений семейства Solanaceae, включая томаты [5-7]. Мы предполагаем, что эффективность действия переменных суточных температур или кратковременных снижений температуры в суточном цикле в предотвращении повреждения листьев при круглосуточном освещении зависит в большей степени от абсолютного значения нижней температуры, чем от размера градиента температур. Если «нижняя температура» не относится к диапазону закаливающих температур [8], то предотвращения развития хлороза в условиях круглосуточного освещения не наблюдается, даже если размер градиента достаточно велик (более 8°C). Наблюдаемые в наших экспериментах эффекты в результате периодических кратковременных снижений температуры до значений, входящих в зону оптимума (17 и 20°C), представляют отдельный интерес, поддерживая предположения о том, что растение воспринимает как абсолютные значения температур, так и перепады температур, имеющие, возможно, сигнальное значение в жизни растений [9].

Исследования выполнены при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 14-04-00840 а.

Литература

1. Demmig-Adams B., Adams W. W. III. Photoprotection and Other Responses of Plants to High Light Stress // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 1992. V. 43. P. 599-626.
2. Рубин А.Б. Принципы организации и регуляции первичных процессов фотосинтеза // Тимирязевские чтения LV. Пушкино: ОНТИ ПНЦРАН, 1995. 38 с.
3. Sysoeva M.I., Markovskaya E.F., Shibaeva T.G. Plants under Continuous Light: a Review // Plant Stress. 2010. V. 4. №1. P. 5-17.
4. Sysoeva M.I., Shibaeva T.G., Sherudilo E.G., Ikkonen E.G. Control of Continuous Irradiation Injury on Tomato Plants with a Temperature Drop // Acta Hort. 2012. V. 956. P. 283-290.
4. Hillman W.S. Injury of tomato plants by continuous light and unfavorable photoperiodic cycles // Amer. J. Bot. 1956. V. 43. P. 89-96.
5. Omura Y., Oshima Y., Kubota C., Kozai T. Treatments of fluctuating temperature under continuous light enabled the production of quality transplants of tomato, eggplant and sweet pepper // Hort. Sci. 2001. V. 36. № 3. P. 586-587.

6. Ohyama K., Manabe K., Omura Y., Kozay T., Kubota C. Potential use of a 24-hour photoperiod (continuous light) with alternating air temperature for production of tomato plug transplants in a closed system // Hort. Sci. 2005. V. 40. P. 374-377.

7. Дроздов С.Н., Курец В.К., Титов А.Ф. Терморезистентность активно вегетирующих растений. Л.: Наука, 1984. 168 с.

8. Wang Y., Hua J. A moderate decrease in temperature induces COR15a expression through the CBF signaling cascade and enhances freezing tolerance // Plant J. 2009. V. 60. P. 340-349.

**INTENSITY EFFECTS OF A TEMPERATURE DROP
UNDER CONTINUOUS LIGHT ON TOMATO**

Shibaeva T.G., Sherudilo E.G.

Lycopersicon esculentum Mill., temperature drop, continuous light, chlorosis.

The effects of a short-term temperature drop intensity on the development of leaf chlorosis in tomato plants under continuous light were investigated. It is assumed that the prevention of leaf injuries occurs only when a critical temperature threshold (upper temperature limit for cold hardening) is exceeded.

ИЗМЕНЕНИЯ МОРФО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА РАСТЕНИЯ ТЫКВЫ ПРИ ЕЕ АДАПТАЦИИ К ТЯЖЕЛЫМ МЕТАЛЛАМ В УСЛОВИЯХ ЗАСОЛЕНИЯ

Ширвани Т.С., Аннагиева М.А., Бабаева Г.Х., Алиева Ф.К.

Институт ботаники Азербайджанской НАН, г. Баку, AZ 1073, Азербайджан,
E-mail: shirvani_ts@hotmail.com*тыква, хлоридное засоление, медь, ростовые параметры, сухой вес растений.***Введение**

Засоление почвы и загрязнение ее тяжелыми металлами (ТМ) являются одними из главных стрессовых факторов внешней среды, влияющих на рост и развитие растений и снижающих продуктивность сельхозкультур. Вместе с тем неуклонно возрастающая антропогенная нагрузка на природную среду приводит к еще большему росту количества засоленных территорий повсеместно в мире, в том числе и в Азербайджане, и загрязнению их ТМ. В силу этого проблема устойчивости и адаптации растений к ТМ в условиях засоления с каждым годом приобретает все большую актуальность. Однако механизмы устойчивости растений к совместному воздействию засоления и токсичности металлов, в частности меди, находятся на начальных стадиях исследования [2, 3, 7], и до сих пор не ясно, как засоление влияет на воздействие меди на физиолого-биохимический статус растений.

Рост растений представляет собой наиболее ярко выраженную функцию жизнедеятельности растительного организма. Поэтому изучение изменений ростовых параметров и биомассы растений является удобной экспериментальной моделью для определения их роли в выработке адаптивной стратегии и устойчивости растений к воздействию неблагоприятных факторов среды и поиске растительных видов, толерантных к действию засоления и высоких концентраций Cu. В представленной работе проведен анализ специфики ответных ростовых реакций растений *Cucurbita pepo* на индивидуальное и комплексное воздействие Cu и засоления.

Материалы и методы

Объектом исследования служили корни, стебли, настоящие и семядольные листья растений *Cucurbita pepo* L. сорта «Перехватка». Пятидневные проростки пересаживали в питательный раствор (ПР) Кнопа (0,5N, pH 6,0) в 4 вариантах опыта: контроль (ПР); ПР+NaCl (100мМ); ПР+ Cu (CuSO₄• 5 H₂O- 50 мкМ); ПР+Cu (CuSO₄• 5 H₂O- 50 мкМ)+NaCl (100мМ). Растения выращивали до 21 дня. Пробы растений брали на анализ на 7, 14, 21 день в трех биологических повторностях. Измеряли длину стебля, корня, количество и площадь листьев, сухой и сырой вес надземной и подземной частей растений.

Результаты и обсуждение

Рост растений на этапе проростков и молодых растений является одним из самых чувствительных к действию различных факторов интегральных физиологических процессов, во-первых, из-за снижения при стрессе интенсивности фотосинтеза, во-вторых, из-за перераспределения между органами ассимилятов, связанного с адаптационными перестройками. Причем, корень растений, первым делом подвергающийся воздействию токсикантов при их поглощении из среды, при своей сравнительно более высокой скорости роста ингибируется значительно сильнее, чем побег, что было показано в наших предыдущих исследованиях [1, 5] и в работах других авторов [4, 12].

Как и в случаях с Cd и Zn [1, 5], так и в случае использования меди и NaCl в качестве токсикантов корни растений оказались более чувствительными к воздействию избытка Cu, чем стебли, особенно на 7 и 14 дни, что было показано и в работе Qian et al. (2005). Причем ингибирование ростовых процессов в корнях было более заметным под воздействием Cu, чем под действием NaCl. Стебель при этом не испытывал повреждающего воздействия взятых стрес-

соров и даже превосходил контрольные растения по длине (на 9%) во всех вариантах опыта на 14 и 21 день. Совместное действие Cu и NaCl оказалось более негативным для ростовых процессов в корневой системе и снижало ее длину на 45-50% по сравнению с контролем у 14- и 21- дневных растений, одновременно благоприятно отражаясь на росте стебля. Комбинированное воздействие обоих стрессоров усиливало повреждающий эффект каждого стрессора в отдельности (Cu и NaCl) на прорастание семян и линейный рост проростков пшеницы и в работе El-Emany (2001).

Токсическое действие Cu было более заметным, чем действие NaCl, и на биомассе корней, чем на биомассе стеблей в последние 2 срока опыта. В варианте с индивидуальным применением NaCl корень во всех сроках опыта накапливал значительно больше биомассы, чем стебель. Совместное применение Cu и NaCl оказалось также более благоприятным для накопления биомассы корнями, чем стеблями, но только у 7- дневных растений. У 14- и 21-дневных растений корни начинали отставать от стеблей почти на 10% в накоплении сухой биомассы (в расчете на контроль), что указывает на сравнительно высокую восприимчивость корней *Cucurbita pepo* к медь-индуцируемой токсичности, особенно в присутствии NaCl. Токсическое действие Cu отрицательно сказывалось на биомассе корней в значительно большей степени, чем на биомассе стеблей и у *Elsholtzia haichowensis*, что также указывает на более высокую чувствительность корней этого растения к Cu- индуцируемой токсичности, чем его надземной части [12].

Анализ работ последних лет, посвященных изучению совместного воздействия засоления и ТМ на рост и физиолого-биохимический статус растений показал, что это воздействие видо- и сортоспецифично, т.е. засоление модифицирует ответы разных экологических групп растений на ТМ, и эти взаимоотношения между действиями металлов и солей на растения проявляются в виде синергизма, антогонизма и аддитивизма. [11]. Было показано, что гликофиты в условиях комплексного воздействия NaCl и ТМ подвергаются еще более интенсивному стрессовому влиянию, чем при их раздельном воздействии [10, 13], в то время как для галофитов характерна стратегия индукции защитных механизмов, обеспечивающих снижение токсического действия меди в условиях совместного действия Cu и NaCl [3, 6, 8, 9].

Полученные нами данные полностью подтверждают этот вывод. Совместное применение Cu и NaCl усиливало повреждающее действие каждого токсиканта в отдельности, отрицательно сказываясь на внешнем состоянии растений тыквы, относящейся к гликофитам, (потеря тургора, свидетельствующая о резком изменении водного статуса растений, и обесцвечивание листьев из-за снижения хлорофилла в результате окислительного стресса, вызванного медью [3]), и ростовых показателях (уменьшение длины корня, стебля, площади листьев).

Таким образом, в отличие от Cd и Zn, которые при засолении были более позитивными для роста и развития растений тыквы на двух последних стадиях опыта (14 и 21дн.) чем каждый в отдельности [1, 5], в случае Cu растения испытывали синергический, более интенсивный ингибирующий эффект от их комплексного воздействия. Это проявлялось в уменьшении тургора растений, появлении некротических пятен на листьях и потемнении корней, в уменьшении ростовых параметров и резком падении накопления биомассы корнями и надземными органами, особенно корнями. Все это свидетельствует о сравнительно высокой восприимчивости корней тыквы к Cu- индуцируемой токсичности, особенно в присутствии NaCl, и, в целом, о низкой видоспецифической толерантности *Cucurbita pepo* к Cu в условиях засоления.

Литература

1. Аннагиева М.А., Бабаева Г.Х., Алиева Ф.К., Ширвани Т.С. Ростовые ответные реакции *Cucurbita pepo* L. на токсическое воздействие цинка и засоления // Материалы X Международного симпозиума «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования», Пушкино- Москва, 2013, т.2, 71-74

2. Волков К.С., Холодова В.П., Кузнецов Вл.В. Адаптация растений к соли снижает токсической эффект меди // Докл. Академии наук, 2006, 411, 3, 270-274.
3. Волков К.С., Холодова В.П., Швартау В.В., Кузнецов Вл.В. Протекторный эффект хлорида натрия при адаптации растений хрустальной травки к избытку меди // Физиол. и биохим. культ. растений, 2010, 42, 5, 414-423.
4. Серегин И.В., Кожевникова А.Д. Транспорт, распределение и токсическое действие стронция на рост проростков кукурузы // Физиол. растений, 2004, 51, 2, 241-248.
5. Ширвани Т.С., Самедова А.Д., Пириев И.Т., Аннагиева М.А., Салаева Х.Л., Алиева Ф.К., Бабаева Г.Х., Али-заде В.М. Реакция растений тыквы на раздельное и совместное воздействие кадмия и засоления // Известия НАНА, 2012, 67, 1, 53-62.
6. Demirezen D.Y., Redd B. Effects of salinity on growth and nickel accumulation capacity of *Lemna gibba* (Lemnaceae) // J. Hazard Mater. 2006, 147, 74-77.
7. El-Enany A.E. Wheat seedlings response to interactive affects of Cu and salinity // Plant Nutrition. Food security and sustainability of agro-ecosystems through basic and applied research. Horst W.J. et al. (eds), Kluwer Acad. Publ., 2001, 424-425.
8. Fitzgerald F.J., Caffrey J.M., Nesaratnam S.T., McLoughlin P. Copper and lead concentrations in salt marsh plants on the Suir Estuaty, Ireland // Environ Pollut., 2003, 123, 67—74.
9. Helal M., Baibagysheva E., Saber S. Uptake of Cd and Ni by spinach *Spinacea oleracea* (L.) from polluted soil under field conditions as affected by salt water irrigation // Agronomie, 1998, 18, 443-448.
10. Huang Y.Z., Zhang G.P., Wu F.B., Chen J.X., Zhou M.X. Difference in physiological traits among salt-stressed barley genotypes // Commun. Soil Sci. Plant Anal., 2006, 37, 557-570.
11. Kholodova V.P., Volkov K.S., Kuznetsov V.I.V. Plants under heavy metal stress in saline environment // In: Sherameti I., Varma A. (eds.). Soil heavy metals, soil biology, Heidelberg: Springer- Verlag, 2010, 19, 163-183
12. Qian M., Li X. and Shen Z. Adaptive copper tolerance in *Elsholtzia haichowensis* involves production of Cu-induced thiol peptides // Plant Growth Regulation, 2005, 47, 65-73.
13. Smolders E., McLaughlin M.J. Chloride increases cadmium uptake in Swiss chard in a resinbuffered nutrient solution // Soil Sci Soc. Amer. Proc. 1996, 60, 1443—1447.

CHANGES IN MORPHOLOGICAL-PHYSIOLOGICAL STATUS OF PUMPKIN PLANT DURING IT ADAPTATION TO HEAVY METALS UNDER CONDITIONS OF SALINITY

Shirvani T.S., Annagiyeva M.A., Babayeva G.Kh., Aliyeva F.K.

pumpkin, chloride salinization, copper, growth parameters, dry weight of plants

A specific character of morphological-physiological stress responses of pumpkin plants to toxic effects of Cu and NaCl at their combined and alone application was studied. The growth criteria (length and dry weight of roots) were affected by salinity and Cu treatment at their alone application to the lesser degree than at their combined treatment. The results indicated higher susceptibility of pumpkin roots to Cu-induced toxicity under salinity as compared with the shoots.

ВЛИЯНИЕ ВОДНОГО ДЕФИЦИТА НА ВОДНЫЙ ОБМЕН И УРОВЕНЬ ЭНДОГЕННЫХ ГОРМОНОВ У СОРТОВ ПШЕНИЦЫ ОМСКОЙ СЕЛЕКЦИИ

Широкова Н.П.

Омский автобронетанковый инженерный институт, г. Омск, 14 военный городок, 644098, Россия, E-mail: Natalivita@mail.ru

водный дефицит, стресс, водный обмен, фитогормоны, засухоустойчивость

Введение

Изучению влияния водного дефицита на растения посвящено большое количество исследований (Генкель, 1982; Чиркова, 2002). Однако до настоящего времени не удалось создать целостную физиолого-генетическую модель признака засухоустойчивости, основанную на понимании биологических реакций растений, адекватно отражающих процессы адаптации и формирования урожая в условиях длительного обезвоживания тканей. По-прежнему, актуальной задачей для физиологии растений остается выяснение биологических закономерностей адаптации растений к обезвоживанию.

Процессы адаптации растений происходят в тесной связи с изменениями гормонального статуса растений. Фитогормоны, влияя на физиологию и морфологию растений, усиливают адаптивные возможности и приспособительные реакции растительного организма к неблагоприятным факторам среды (Якушкина, 1985; Davies, 2007). Особую роль в регуляции водного режима, адаптации растений к недостаточному водоснабжению играет абсцизовая кислота (Hartung, Sauter et al., 2002), имеются, также, данные о значении в этом отношении цитокининов (Романов, 2009).

Целью настоящей работы явилось выяснение физиологических ответов растений пшеницы омской селекции на пониженное водоснабжение, изучение роли фитогормонов в регуляции основных физиологических процессов при водном дефиците.

Материалы и методы исследования

Исследования проводили в условиях вегетационных опытов на яровой мягкой пшенице (*Triticum aestivum* L.) сортов омской селекции Омская 23 и Росинка.

В вегетационных опытах исследуемые растения выращивали в сосудах объемом 4 кг почвы. Влажность почвы при посеве наклюнувшимися семенами составляла 80% от полной влагоемкости (ПВ) почвы. Затем в ходе опытов создавали заданную по вариантам влажность почвы и далее поддерживали на уровне 60 и 30% от ПВ путем полива по массе. Вегетационные опыты проводили в различных модификациях. В одном из экспериментов заданную по вариантам влажность почвы создавали к началу фазы трубкования зерновой культуры, в процессе которой интенсивно проходит формирование генеративных органов. Этот период является критическим периодом в развитии пшеницы. Выращивание растений на разном уровне водоснабжения осуществлялось в течение всего вегетационного периода. Также был поставлен эксперимент, в котором первоначально растения в вегетационных сосудах выращивали при одинаковом уровне водоснабжения (60% от ПВ). В фазу трубкования растения переводили на разный уровень водоснабжения. На десятый день определенного водоснабжения растения снова переводили на оптимальный уровень водоснабжения и в таких условиях выращивали до конца эксперимента.

В процессе исследований определяли показатели водного обмена: интенсивность транспирации по методике Иванова А.А. с соавторами (1950), водный дефицит листьев по методике Шматько И.Г. (1983), общее содержание воды (Третьяков и др., 1990). Определение содержания абсцизовой кислоты и цитокининов проводили иммуноферментным методом (Кудоярова и др., 1990, 1996) с использованием прибора "Dombi plate" (Россия).

Результаты и обсуждение

Известно, что возможностей у растений преодолеть значительный водный стресс, тем больше, чем выше их способность избегать высыхания и, чем больше может обезвоживаться протоплазма клеток без губительных последствий (Генкель, 1982; Turner, Begg, 1981).

В наших исследованиях на начальном этапе водного дефицита содержание воды в растениях у обоих сортов пшеницы не менялось. В дальнейшем, в ходе онтогенеза уровень воды постепенно снижался у обоих сортов пшеницы, в большей степени у растений сорта Омская 23. В фазу трубкования в вегетационных опытах в условиях достаточного водоснабжения интенсивность транспирации сортов пшеницы Омская 23 и Росинка была одинаковой. В условиях водного дефицита у обоих сортов пшеницы интенсивность транспирации снизилась; в большей степени это произошло у растений сорта Омская 23. В дальнейшем, к фазе молочной спелости в условиях водного дефицита более интенсивная транспирация также сохранялась у сорта Росинка, в связи с этим увеличивался водный дефицит, и снижалось общее содержание воды в растениях, в том числе и во флаговых листьях этого сорта. Это согласуется с результатами исследований, в которых было показано, что флаговые листья более засухоустойчивого сорта пшеницы содержали меньше общей воды и имели больший водный дефицит (Кумаков и др., 1990). Это позволяет предполагать, что сорт пшеницы Росинка более засухоустойчив, чем сорт Омская 23. При восстановлении водоснабжения до нормального уровня интенсивность транспирации у обоих сортов пшеницы увеличивалась. Однако амплитуда колебаний интенсивности транспирации была ниже у сорта Росинка. Кроме того, после восстановления водоснабжения, у растений данного сорта полностью восстановилось и содержание воды в тканях. Это свидетельствует о лучшей способности более засухоустойчивого сорта Росинка регулировать водный баланс.

Фитогормоны, являясь важными эндогенными регуляторами жизнедеятельности растений, исполняют роль трансдукторов сигналов внешней среды (Кузнецов, 2002; Романов, 2009). Поэтому важно иметь картину баланса основных фитогормонов при водном дефиците у исследуемых сортов пшеницы.

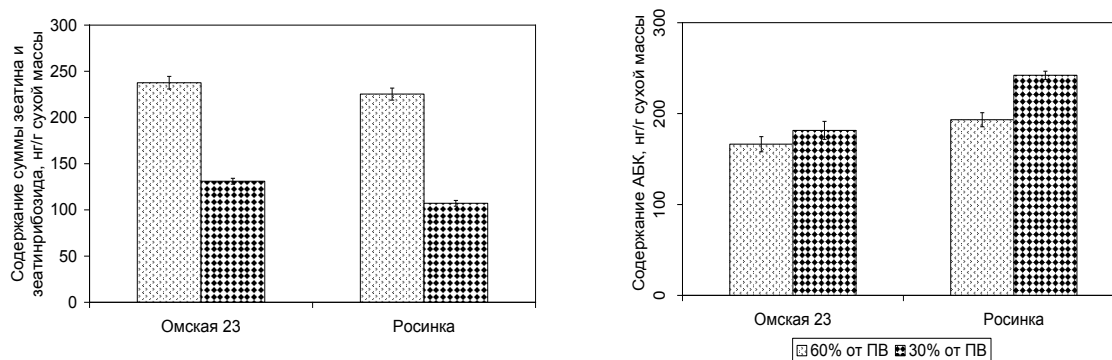


Рисунок 1 - Влияние водного дефицита на содержание цитокининов (зеатина и его рибозида) и абсцизовой кислоты в листьях пшеницы сортов Омская 23 и Росинка

Figure 1 - Influence of water deficit on amount cytokinins (zeatin and zeatinriboside) and abscisic acid in leaves of wheat sorts Omskaya 23 and Rosinka

В наших исследованиях в условиях достаточного водоснабжения в листьях трех верхних ярусов пшеницы сорта Росинка абсцизовой кислоты содержалось больше, чем в листьях сорта Омская 23. В условиях водного дефицита в листьях обоих сортов пшеницы происходило резкое снижение уровня зеатина, и возрастало содержание абсцизовой кислоты (рис. 1). При этом в листьях пшеницы устойчивого сорта Росинка увеличение содержания АБК было более значительным (на 25%) по сравнению с сортом Омская 23 (на 9%), менее устойчивого к засухе. Изучив изменение содержания эндогенного зеатина и АБК в листьях исследуемых сортов пшеницы, можно говорить о важной роли фитогормонов в регуляции устойчивости пшеницы к засухе.

Выводы

В ходе исследований были изучены особенности физиологических функций и роль фитогормонов в регуляции разных по засухоустойчивости сортов яровой пшеницы омской селекции. Показана роль АБК, цитокининов в регуляции водного обмена яровой пшеницы сортов Омская 23 и Росинка в условиях водного дефицита. При этом у более засухоустойчивого сорта Росинка уровень АБК выше.

Литература

1. Генкель П.А. Физиология жаро- и засухоустойчивости растений. М.: Наука, 1982. 280 с.
2. Иванов Л.А., Силина А.А., Цельникер Ю.Л. О методе быстрого взвешивания для определения транспирации в естественных условиях // Ботан. журн. 1950. Т. 35. В. 2. С. 171-185.
3. Кудоярова Г.Р., Веселов С.Ю., Каравайко Н.Н., Гюли-Заде В.В., Чередова Е.П., Мустафина А.Р., Мошков И.Е., Кулаева О.Н. Иммуноферментная тест - система для определения цитокининов // Физиология растений. 1990. Т. 37. В. 1. С. 193-199.
4. Кудоярова Г.Р. Иммунохимические исследования гормональной системы растений: регуляция роста и ответы на внешние воздействия // Автореф. дис. ... докт. биол. наук. С.-Петербург, 1996. 48 с.
5. Кумаков В.А., Перетягко А.И., Крупина Л.И., Седова Т.Н. Суточные и сезонные изменения содержания пролина у яровой пшеницы // Физиология и биохимия культурных растений. 1990. Т. 22. № 2. С.180-185.
6. Романов Г.А. Как цитокинины действуют на клетку // Физиология растений. 2009. Т. 56. № 2. С. 295-319.
7. Третьяков Н.Н., Карнаухова Т.В. и др. Практикум по физиологии растений. М.: Агропромиздат, 1990.
8. Чиркова Т.В. Физиологические основы устойчивости растений. С.-Петербург, 2002. 244 с.
9. Шматько И.Г. Водный режим растений в связи с действием факторов среды. Киев: Наукова думка, 1983. 200 с.
10. Якушкина Н.И. Роль фитогормонов в адаптации растений к условиям среды // Гормональная регуляция ростовых процессов. М.: Изд-во МОПИ, 1985. С. 3-8.
11. Davies P.J. The Plant Hormones: Their Nature, Occurrence, and Functions // Cornell University, Ithaca, NY, USA; Springer, 2007. P. 1-15.
12. Hartung W., Sauter A., Hose E. Abscisic Acid in Xylem: Where Does It Come from, Where Does It Go to? // J. Exp. Bot. 2002. V. 53. P. 27-32.
13. Turner N.C., Beggs L.E. Plant Water Relation and Adaptation to Stress // Plant and Soil. 1981. V. 58. № 1-3. P. 97-131.

INFLUENCE OF WATER DEFICIT ON WATER EXCHANGE AND LEVEL OF ENDOGENOUS HORMONES OF WHEAT SORTS OUT OF OMSK SELECTION

Shirokova N.P.

water deficit, stress, water balance, plant hormones, drought tolerance

The researches were carried out with two sorts of wheat Omskaya 23 and Rosinka in conditions of vegetation experiment. It is studied an influence of water deficit on water exchange and level of endogenous hormones. It is revealed the sorts differences in drought tolerance.

**АКТИВНОСТЬ ИНГИБИТОРОВ КАРБОГИДРАЗ В КЛУБНЯХ КАРТОФЕЛЯ
ПРИ ОБРАБОТКЕ БИОРЕГУЛЯТОРАМИ**

Шпирная И.А., Ахатова А.Р., Цветков В.О., Гильмуллина Г.Р., Ибрагимов Р.И.

ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный университет», ул. З. Валиди, 32, г. Уфа, 450076,
Россия, E-mail: i-shia@yandex.ru*устойчивость растений, ингибиторы гидролаз, биорегуляторы***Введение**

Важной проблемой сельского хозяйства является защита полей от вредителей и патогенов. Альтернативой «химическому» способу защиты, приводящему к усилению инсектицидной нагрузки на агроэкосистемы, падению товарных качеств продукции, снижению численности полезных насекомых в биоценозах, является использование препаратов-биорегуляторов. Одним из способов стимулирования устойчивости растений может служить регулирование активности ингибиторов гидролаз в растительных тканях. Как известно, растения синтезируют различные формы ингибиторов ферментов, которые играют весьма важную роль в защите от насекомых и патогенных атак [1, 2, 3]. Ранее было показано, что клубни устойчивых к колорадскому жуку сортов картофеля характеризуются высоким уровнем активности ингибиторов протеиназ насекомых [4]. Возможность искусственного регулирования уровня ингибиторов чужеродных для растительного организма гидролитических ферментов открывает принципиально новые подходы к поиску защитных препаратов, стимулирующих естественные механизмы устойчивости растений.

Материалы и методы

В опытах были использованы личинки колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata* Say) III стадии развития, растения картофеля (*Solanum tuberosum* L., сорта Невский, Луговской, Удача и Башкирский, селекционные гибриды № 4270, 4281-7, 4281-80, 4271-16). В качестве препаратов-биорегуляторов использовали Циркон (действующим веществом препарата является смесь гидроксикоричных кислот), Эпин-экстра (действующее вещество – 24-эпибрассинолид), Фитоспорин (действующим веществом препарата являются живые клетки и споры природной бактериальной культуры *Bacillus subtilis* 26 Д). Клубни картофеля трижды обрабатывали растворами биорегуляторов с интервалом 3 дня. Через 7 сут. после обработки в клубнях анализировали активность ингибиторов гидролаз колорадского жука.

Для получения ингибиторов навески растительной ткани растирали с кварцевым песком, добавляли четырехкратный объем воды, экстрагировали в течение 1 ч при 4 °С. Осадок отделяли центрифугированием, супернатант впоследствии использовали.

Определение активности амилаз методом агарозных гелевых пластин. Суть метода заключается в иммобилизации ферментного субстрата в агарозный гель, инкубации геля с ферментным раствором и последующем определении активности амилаз по размеру гидролизованного участка окрашенного субстрата [5]. В качестве субстрата целлюлаз применяли иммобилизованную в агарозе 1%-ную КМЦ, пектиназ – пектин, амилаз – крахмал. За 1 условную миллиединицу активности (МЕ) принимали количество фермента, которое гидролизовало субстрат на участке геля размером 1 мм². Активность ингибиторов определяли как разницу площадей гидролиза геля свободным ферментом и ферментом с ингибитором.

Результаты и обсуждение

В листьях и клубнях исследованных сортов картофеля, характеризующихся различной устойчивостью, выявлена активность ингибиторов, подавляющих действие целлюлолитических ферментов гриба *T. reesei* и колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata*), а также пектиназ вредителя (рис. 1 а, б, в). Уровень ингибиторной активности в листьях картофеля значительно различается в зависимости от сорта. Так, экстракты листьев гибрида № 4281-7 обладают наибольшей антицеллюлазной активностью, причем практически в равной степени подавляется активность целлюлаз и колорад-

ского жука, и *T. reesei*. У сортов Невский, Удача активность свободных ингибиторов целлюлаз в листьях совсем не выявлялась. Наибольшей активностью ингибиторов амилаз насекомых отличался сорт Невский. В листьях картофеля антиамилазная активность отсутствовала или выявлялась на низком уровне (рис. 1, г).

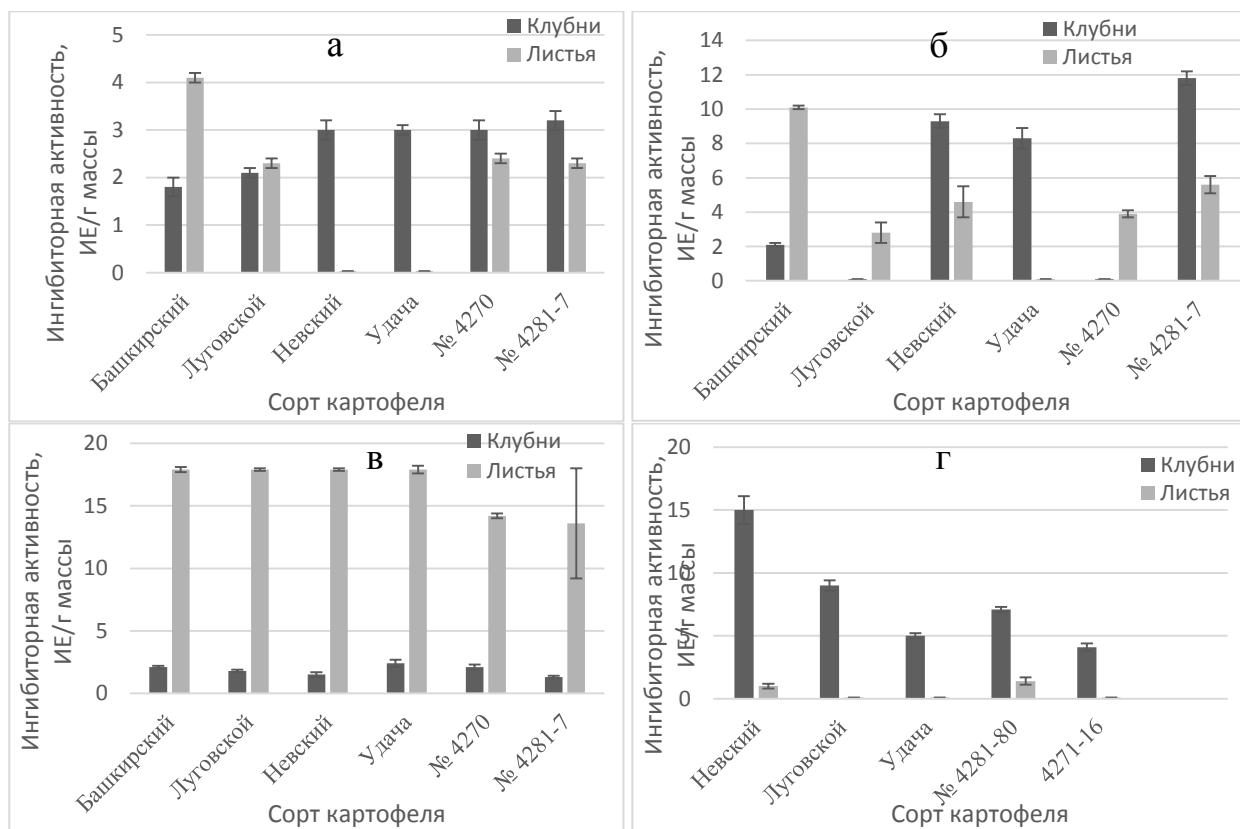


Рисунок 1 - Активность ингибиторов целлюлаз триходермы *T. reesei* (а) и колорадского жука (б), ингибиторов пектиназ (в) и амилаз (г) колорадского жука из клубней и листьев картофеля, ИЕ/г массы

Figure 1 - Activity of potato tubers and leaves inhibitors of trichoderma *T. reesei* cellulases (а), Colorado potato beetle cellulases (б), pectinases (в) and amylases (г), IE per g of wet mass

Таким образом, в тканях картофеля нами выявлены водорастворимые соединения, способные подавлять активность целлюлолитических и пектинолитических ферментов *Leptinotarsa decemlineata* и *Trichoderma reesei*. Изученные сорта и гибриды картофеля имеют существенные различия по антицеллюлазной и антипектиназной активности в клубнях и листьях.

Кроме того, данная активность способна изменяться под действием препаратов-биорегуляторов. Как видно из таблицы 1, препараты Циркон и Эпин-экстра стимулируют повышение активности ингибиторов амилаз по сравнению с контролем, Фитоспорин-М, напротив, понижает данную активность. Следует отметить, что в клубнях, обработанных Цирконом, активность ингибиторов всех карбогидраз определяется на уровне выше контроля. Вероятно, данные различия во влиянии препаратов обусловлены их химической природой. Так, действующими веществами препаратов Циркон и Эпин-экстра являются соединения, участвующие в метаболизме растительного организма (гидроксикоричные кислоты и 24-эпибрассинолид соответственно); Фитоспорин-М является бактериальным препаратом (содержит эндофитный штамм бактерий *Bacillus subtilis* 26 Д).

Закключение

Таким образом, обработка клубней картофеля препаратами-биорегуляторами оказывает неоднозначное влияние на активность ингибиторов карбогидраз колорадского жука в клубнях картофеля – повышает активность ингибиторов амилаз и целлюлаз и понижает активность ингибиторов пектиназ. Обнаруженный нами эффект повышения антигидролитической активности в тканях может рассматриваться как один из механизмов повышения неспецифической устойчивости растений к био-

тическим факторам, прежде всего к патогенным организмам и насекомым-вредителям. Наши эксперименты показали, что в клубнях и листьях изученных образцов картофеля выявляются ингибиторы, подавляющие активность целлюлитических ферментов *Leptinotarsa decemlineata* и *Trichoderma reesei*. Вероятно, ингибиторы целлюлитических ферментов входят в число факторов, определяющих устойчивость картофеля, и уровень их активности в тканях может служить показателем устойчивости.

Таблица 1 - Активность ингибиторов гидролаз колорадского жука (ИЕ/мг белка) в клубнях картофеля при обработке препаратами-биорегуляторами (0,001%).

Table 1 - Activity of inhibitors of Colorado potato beetle hydrolases (IE per mg of protein) in potato tubers during processing with bioregulating drugs (0.001%).

Варианты опыта	Ингибиторы целлюлаз	Ингибиторы пектиназ	Ингибиторы амилаз
Контроль (вода)	5,71 ± 0,87	1,95 ± 0,07	0,92 ± 0,08
Фитоспорин-М	4,57 ± 0,10	2,03 ± 0,17	0,86 ± 0,08
Циркон	10,43 ± 0,33	3,49 ± 0,27	2,16 ± 0,25
Эпин-экстра	2,72 ± 0,09	4,25 ± 0,26	4,08 ± 0,24

Литература

1. Jongsma M, Bolter C. The adaptation of insects to plant protease inhibitors // *Journal of Insect Physiology*. 1997. V. 43. № 10. P. 885-895.
2. Валуева Т.А., Мосолов В.В. Роль ингибиторов протеолитических ферментов в защите растений // *Успехи биологической химии*. - 2002. - Т. 42. С. 193-216.
3. Ахатова А.Р., Яруллина Л.Г., Шпирная И.А., Заикина Е.А., Сурина О.Б., Цветков В.О., Ибрагимов Р.И. Активность гидролаз, их ингибиторов в тканях растений при заражении фитопатогенами и обработке индукторами устойчивости // *Вестник Башкирского университета*. 2012. Т. 17. № 3. С. 1278-1281.
4. Ferry N, Edwards M, Gatehouse T, Capell P, Christou P. Transgenic plants for insect pest control: a forward looking scientific perspective // *Transgenic Res*. 2006. V. 15. P. 13–19.
5. Шпирная И.А., Умаров И.А., Шевченко Н.Д., Ибрагимов Р.И. Определение активности гидролаз и их ингибиторов по гидролизу субстрата в геле агарозы // *Прикладная биохимия и микробиология*. 2009. Т.45. № 4. С.497-501.

ACTIVITY OF CARBOHYDRASES INHIBITORS IN POTATO TUBERS AT PROCESSING WITH BIOREGULATORS

Shpirnaya I.A., Akhatova A.R., Tsvetkov V.O., Gilmullina G.R., Ibragimov R.I.

plant resistance, hydrolases inhibitors, bioregulators

This issue researches changing of activity of cellulases, pectinases and amylases inhibitors of different varieties potato plants and dependence of this parameter on bioregulating drugs. It is shown the dependence of inhibitory activity spectrum on variety of plant and the dissimilar effect of different types drugs on inhibitors activity.

**АКТИВНОСТЬ ГИДРОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ И ИНГИБИТОРОВ
МИКРОБНЫХ ГИДРОЛАЗ В ПРОРОСТКАХ ПШЕНИЦЫ
ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ *SEPTORIA NODORUM* BERK**

Шпирная И.А., Цветков В.О., Яруллина Л.Г., Янгильдина Ю.Я., Ибрагимов Р.И.

ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный университет», ул. 3. Валиди, 32, г. Уфа, 450076,
Россия, E-mail: i-shia@yandex.ru

пшеница, септориоз, ингибиторы гидролаз, гидролитические ферменты

Введение

Септориоз является одним из наиболее широко распространенных заболеваний зерновых культур. Возбудителями септориоза являются грибы из рода *Septoria*. Наибольшей вредоносностью, приводящей к большим потерям урожайности пшеницы, характеризуется *S. nodorum* Berk. et Br. (класс *Deuteromycetes*, порядок *Sphaeropsidales*).

Основными методами борьбы с данным заболеванием являются создание и использование устойчивых сортов, разработка новых эффективных, экологически безопасных средств защиты растений. Работы последних лет свидетельствуют, что важной составляющей защитного ответа растений является образование белковых ингибиторов гидролаз. Экспериментальные работы, направленные на исследование гидролаз как возможных биохимических факторов патогенности микроорганизмов и их природных ингибиторов как биохимических компонентов защитных реакций, пока в литературе немногочисленны [1-3].

Целью данной работы было определение уровня активности гидролитических ферментов и ингибиторов микробных гидролаз в проростках пшеницы при заражении *S. nodorum* Berk.

Материалы и методы

Объектами исследования служили проростки яровой пшеницы сорта Саратовская 55.

Для получения инфицированных проростков предварительно стерилизованные семена пшеницы проращивали в чашках Петри, в среду прорастания вносили суспензию зооспор гриба *S. nodorum* Berk в концентрации (10⁶ спор/мл). В качестве контроля использовали проростки, выращенные без заражения.

Навески проростков растирали с кварцевым песком, экстрагировали четырехкратным объемом воды в течение 1 ч при 4°C. Осадок отделяли центрифугированием, супернатант использовали как источник ферментов и ингибиторов.

Активность ферментов и ингибиторов определяли через 48ч после инокуляции. Определение активности растительных гидролаз и ингибиторов коммерческих препаратов пектиназы *Aspergillus niger*, амилазы *Bacillus subtilis*, целлюлазы *Trichoderma reesei* (Sigma, США) осуществляли по гидролизу яблочного пектина, крахмала и карбоксиметилцеллюлозы в агарозном геле [4], соответственно. Определение концентрации водорастворимого белка в растворах проводили по методу Бредфорд. Калибровочную кривую для определения концентрации белка строили по α -химотрипсину.

Эксперименты проводили в трех биологических и трех аналитических повторностях. В качестве величины погрешности использовали доверительный интервал выборочного среднего.

Результаты и обсуждение

Исследовали уровень активности гидролитических ферментов и активности ингибиторов экзогенных микробных гидролаз в проростках инфицированной септорией пшеницы (табл.1). Как видно, зараженные листья характеризуются более высокой активностью целлюлаз (1,3 раза), пектиназ (более 2-х раз), амилаз (более 2-х раз). Можно предположить, что повышение активности карбогидраз объясняется интенсивным развитием патогена в растительных тканях. Известно, что культура гриба *S. nodorum* Berk обладает активным комплек-

сом пектолитических и целлюлолитических ферментов. Вероятно, что частично гидролитическая активность в экстрактах инфицированных проростков представлена ферментами гриба *S. nodorum*.

В водных экстрактах проростков контрольных образцов обнаружена высокая активность соединений, ингибирующих амилазу *Bacillus subtilis* и пектиназу *Aspergillus niger*. Активность соединений, ингибирующих целлюлазу *Trichoderma reesei*, значительно ниже.

При заражении в проростках пшеницы изменяется уровень активности соединений, подавляющих действие гидролаз микробного происхождения. Так, отмечено повышение активности ингибиторов целлюлазы триходермы и снижение активности ингибиторов микробных пектиназы и амилазы.

Таблица 1 - Активность гидролаз и ингибиторов микробных гидролаз в проростках пшеницы при инфицировании

Table 1 - Activity of hydrolases and inhibitors of microbial hydrolases in wheat seedlings during infection

Вариант опыта	Активность гидролаз, Е/мг белка		
	целлюлаза	пектиназа	амилаза
Контроль	0,13 ± 0,06	9,75 ± 0,73	11,3 ± 1,2
Инфицирование	0,17 ± 0,08	20,65 ± 2,12	23,23 ± 1,3
Активность ингибиторов, ИЕ/мг белка			
	целлюлазы <i>T.reesei</i>	пектиназы <i>A.niger</i>	амилазы <i>B.subtilis</i>
Контроль	0,65 ± 0,08	6,69 ± 0,52	31,75 ± 3,72
Инфицирование	1,82 ± 0,35	3,58 ± 0,39	26,45 ± 2,61

Таким образом, изменение активности компонентов системы «микробный фермент – растительный ингибитор» может являться диагностическим признаком начавшегося инфекционного процесса. В связи с этим представляет интерес исследование компонентов системы в тканях сортов пшеницы, различающихся по степени устойчивости к септориозу.

Исследования выполнены в рамках государственного задания Минобрнауки РФ (Рег. № 01201456414).

Литература

1. Мосолов В.В., Валуева Т.А. Ингибиторы протеиназ и их функции у растений (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. 2005. Т.41. №3. С. 261-282.
2. Коначев Ал.В. Системы ингибиторов гидролаз у злаков - организация, функции и эволюционная изменчивость // Автореф. дисс. докт. биол. наук. - М.: 1992.- 38 с.
3. Яруллина Л.Г., Ибрагимов Р.И. Клеточные механизмы формирования устойчивости растений к грибным патогенам. Уфа: Гилем, 2006. -232 с.
4. Шпирная И.А., Умаров И.А., Шевченко Н.Д., Ибрагимов Р.И. Определение активности гидролаз и их ингибиторов по гидролизу субстрата в геле агарозы // Прикладная биохимия и микробиология. 2009. Т.45. № 4. С.497-501.

ACTIVITY OF HYDROLYTIC ENZYMES AND THEIR INHIBITORS IN SEEDLINGS OF WHEAT DURING INFECTION OF SEPTORIA NODORUM BERK

Shpirnaya I.A., Tsvetkov V.O., Yarullina L.G., Yangildina Yu.Ya., Ibragimov R.I.

wheat, septoria, hydrolases inhibitors, hydrolytic enzymes

There are shown the results of researches of influence of septoria infection on level of carbohydrases and inhibitors of microbial enzymes activity in seedling of spring wheat. It was shown, that during septoria infection the level of activity of enzymes and microbial hydrolases inhibitors changes.

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ С₃ И С₄ ВИДОВ СЕМЕЙСТВА МАРЕВЫХ ДЛЯ ФИТОМЕЛИОРАЦИИ ЗАСОЛЕННЫХ ТЕРРИТОРИЙ

Шуйская Е.В.¹, Рахманкулова З.Ф.¹, Биктимерова Г.Я.²,
Щербаков А.В.³, Суюндуков Я.Т.², Усманов И.Ю.³

¹ ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая 35,
г. Москва, 127276, Россия, E-mail: evshuya@mail.ru

² ГАНУ Институт региональных исследований Республики Башкортостан, ул. Цеткин,
г. Сибай, 2, 453830, Россия

³ ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный университет», ул. З. Валиди, 32, г. Уфа,
450076, Россия

семейство маревых, С₃ и С₄ растения, засоление, фитомелиорация

Введение

Площадь засоленных почв в связи с усиливающейся ксерофитизацией климата, а также наличием нефтедобывающей промышленности постоянно возрастает. Все это ведет к значительному уменьшению плодородия почв, снижению биопродуктивности и ухудшению качества сельскохозяйственной продукции. Такое состояние земель делает необходимой и актуальной разработку новых стратегий по использованию засоленных почв на локальном и глобальном уровнях с применением дикорастущих галофитов. Мировой генофонд галофитов насчитывает 2000-2600 видов, из них 512 видов имеются в пределах РФ (Шамсутдинов, Шамсутдинов, 2005). Спектр десяти ведущих семейств по количеству галофитов возглавляет *Chenopodiaceae* (370 видов - 23,75% от общего числа галофитов). Представители этого семейства и послужили объектами данного исследования. В настоящее время у различных видов галофитов изучаются механизмы солетолерантности (Katschnig et al., 2012), влияние солевого и осмотического стрессов на фотосинтез (Pinheiro, Chaves, 2011), в том числе растений с С₄ фотосинтезом (Ghannoum, 2009), рассматриваются возможности использования галофитов для фитомелиорации засоленных территорий (Manousaki, Kalogerakis, 2011) и т.д.

Цель работы: дать комплексную оценку устойчивости и потенциальной продуктивности четырех, типичных для засоленных почв Южного Урала представителей сем. *Chenopodiaceae*, отличающихся по типу фотосинтеза. А также оценить возможность их использования для фитомедиации и фитомелиорации деградированных пастбищных экосистем и засоленных территорий.

Материалы и методы

Материал для геоботанического описания был собран в ходе экспедиции в августе 2012 года на территории Хайбуллинского района Республики Башкортостан (РБ) и Кизильского района Челябинской области, где в 7 точках было выполнено 13 геоботанических описаний (ГАНУ Институт региональных исследований РБ, г. Сибай). Отбор площадок производился на засоленных почвах с различным типом растительности, но обязательным присутствием в них представителей семейства *Chenopodiaceae*. Определение проводилось по «Определителю высших растений Башкирской АССР» в двух томах (1988, 1989). Приведены характеристики сообществ, исходя из диагностических видов синтаксонов, выделенных на основе принципов классификации Браун-Бланке (Ямалов и др., 2004).

Пробы почв и растительный материал были собраны в 13 растительных сообществах. Определяли уровень содержания ионов натрия (Na⁺) и влажность почвы. На фотосинтезирующих побегах у всех групп исследуемых растений оценивали следующие параметры: рост побегов, сырую и сухую биомассу, содержание воды.

Полиморфизм белков (6-PGD, G-6-PD, MDH, GDH, PGM, PGI, GOT, DIA) изучали в природных популяциях методом электрофореза. Гистохимическое окрашивание ферментов и генетическая интерпретация проводились по (Soltis and Soltis, 1992; Гончаренко и др., 1989) с некоторыми модификациями.

Результаты и обсуждение

В результате комплексной научно-исследовательской работы охарактеризованы структуры и особенности галофильных растительных сообществ с присутствием представителей семейства *Chenopodiaceae*, а также выделены условия оптимального водно-солевого обеспечения и стрессовые условия для некоторых типичных галофитов и ксерофитов данного семейства. Оптимум для большинства видов составил 0,04–0,11 ммоль NaCl. Представители семейства *Chenopodiaceae* составляли 10–62,5% от общего видового разнообразия в изученных растительных сообществах. Были рассмотрены 4 типичных вида данного семейства, доминирующих в данных растительных сообществах: два однолетних *Atriplex tatarica* (С4 НАД), *Bassia sedoides* (С3-С4) и два многолетних *Atriplex verrucifera* (С3) и *Kochia prostrata* (С4 НАДФ). Исследуемые виды принадлежали к различным эколого-морфологическим группам и отличались по типу фотосинтеза. Известно, что представители родов *Atriplex* и *Bassia* могут принадлежать как С3, так и С4 типу фотосинтеза, тогда как *Kochia* в основном С4 растения (Akhanli et al., 1997). Показано, что в естественных условиях степень засоления определяет относительное изобилие С3 и С4 видов (Feldman et al., 2008). При этом известно, что растения, обладающие С4-типом фотосинтеза, имеют более высокий адаптационный потенциал, по сравнению с С3-растениями. Так, при засолении С4-растения характеризуются более эффективным, чем растения С3-типа, квантовым выходом фотосинтеза и меньшим расходом воды в ходе транспирации. Кроме того, морфологический тип кранц-анатомии листа соответствует проявлению признака суккулентности, что является одной из причин хорошей приспособленности С4-растений к действию соли. Длительное засоление способно даже вызывать морфологические изменения в структуре листьев растений этого типа в сторону увеличения суккулентности (Воронин и др., 1995). Известно, что С4-растения характеризуются высокой устойчивостью к стрессам благодаря некоторым особенностям их ферментных систем, меньшими значениями сопротивления мезофилла диффузии CO₂ и более высокой интенсивностью света при которой происходит насыщение С4-фотосинтеза по сравнению с С3-формами (Эдвардс, Уокер, 1986). Такие особенности С4-растений обеспечивают высокую интенсивность их фотосинтеза и продуктивность в условиях дефицита воды и при засолении.

По результатам наших исследований, более продуктивными (по росту и биомассе) были С4 растения и исследуемые виды расположились следующим образом: *K. prostrata* > *A. tatarica* > *B. sedoides* > *A. verrucifera*. Уровень генетического полиморфизма (P95) в популяциях изученных видов уменьшался в ряду: *A. tatarica* > *K. prostrata* > *A. verrucifera* > *B. sedoides*, а дефицит гетерозигот (генетический «показатель» стресса) увеличивался в ряду *K. prostrata* > *A. tatarica* > *A. verrucifera* > *B. sedoides*.

Выводы

1. Полученные генетические, биохимические и физиологические данные, позволяют сделать вывод, что С4 виды (*A. tatarica* и *K. prostrata*) на территории Южного Урала по продуктивности превосходят С3 (*A. verrucifera*) и промежуточный С3-С4 виды (*B. sedoides*).

2. Генетический анализ указывает на большую стабильность популяций многолетних видов, по сравнению с однолетниками и меньшее давление стресса в популяциях С4 НАДФ вида *K. prostrata*.

3. По результатам проведенных исследований могут быть даны следующие практические рекомендации: многолетники *K. prostrata* и *A. verrucifera* могут быть использованы в качестве доминантных видов при конструкции пастбищных экосистем, так как данные виды характеризуются относительно высокой продуктивностью и устойчивостью (по генетическим и морфологическим параметрам) в различных водно-солевых условиях обитания. Мно-

голетний C3 галофит *A. verrucifera* может быть использован для фиторемедиации и фитомелиорации деградированных пастбищных экосистем и засоленных территорий Южного Урала.

Работа выполнена за счёт средств гранта РФФИ «12-04-97023-р_поволжье_а».

Литература

1. Воронин П.Ю., Манжулин А.В., Мясоедов Н.А., Балнокин Ю.В., Терентьев Е.Н. Морфологический тип и фотосинтетическая функция листьев C4-растений при длительном засолении почвы // Физиология растений. 1995. Т. 42. С. 356-367.
2. Шамсутдинов З.Ш., Шамсутдинов Н.З. Галофитное растениеводство (эколого-биологические основы). Москва «Советский спорт», 2005, 300 с.
3. Эдвардс Дж., Уокер Д. Фотосинтез C3- и C4-растений: механизмы и регуляция. М.: Мир, 1986.
4. Akhani H., Trimbom P., Ziegler H. Photosynthetic pathways in *Chenopodiaceae* from Africa, Asia and Europe with their ecological, phytogeographical and taxonomical importance // P1. Syst. Evol. 1997. V. 206. P. 187-221
5. Feldman S. R., Biiiro V., Biani' N. B., Prido D. E. Soil salinity determines the relative abundance of C3/C4 species in *Argentinean grasslands* // Global Ecology and Biogeography. 2008. V. 17. P. 708-714.
6. Ghanoum O. C4 photosynthesis and water stress // Annals of Botany. 2009. V. 103. P. 635-644.
7. Katschnig D., Broekman R., Rozema J. Salt tolerance in the halophyte *Salicornia olichostachya* Moss Growth, morphology and physiology // Environ. Exp. Bot. 2012. In press (<http://www.sciencedirect.com/science/journal/00988472/81>).
8. Manousaki E., Kalogerakis N. Halophytes Present New Opportunities in Phytoremediation of Heavy Metals and Saline Soils // Ind. Eng. Chem. Res. 2011. V.50. P. 656–660.
9. Pinheiro C., Chaves M. M. Photosynthesis and drought: can we make metabolic connections from available data? // Journal of Experimental Botany. 2011. V.62. No. 3. P. 869–882.

GENETIC AND PHYSIOLOGICAL REASONS FOR USING C₃ AND C₄ CHENOPODIACEAE SPECIES FOR PHYTOMELIORATION OF SALINE LANDS

Shuyskaya E.V., Rakhmankulova Z.F., Biktimirova G.Ya.,
Sherbakov A.V., Suyundukov Ya.T., Usmanov I.Yu.

Chenopodiaceae, C3 and C4 plants, salinity, phytomelioration

Among studied species C4 plants were more polymorphic and productive. Perennial C3 and C4 species can be used for phytomelioration of saline lands due to their higher resistance.

**ФИЗИОЛОГО-МЕТЕОРОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО
БАЛАНСА ПОСЕВОВ ЯРОВЫХ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР И ЕГО ЗНАЧЕНИЕ
ДЛЯ АГРОМЕТЕОРОЛОГИЧЕСКИХ ПРОГНОЗОВ ИХ УРОЖАЙНОСТИ**

Шульгин И.А., Чуб О.В.

ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»,
Ленинские горы, д. 1, стр. 12, г. Москва, Россия, 119991, E-mail: ufarin@yandex.ru
ФГБУ «Гидрометеорологический научно-исследовательский центр РФ», Б. Предтеченский
пер., 11-13, г. Москва, 123242, Россия, E-mail: olya1132@yandex.ru

солнечная радиация, энергетический баланс, яровые злаки, посевы, фотосинтез, урожайность.

Солнечная радиация – основной энергетический фактор фотосинтетической деятельности и продуктивности растений, приход и поглощение которой посевами за сут. в течение вегетации может существенно изменяться, что должно учитываться в оценке состояния посевов, в агрометеорологических прогнозах урожайности в не меньшей мере, чем температура воздуха и почвы, осадки, запасы влаги в почве.

На основе физиолого-метеорологических подходов к продукционному процессу рассмотрен новый энергетический (ЭБ) метод – оценка компонентов баланса энергии посевов: прихода ФАР, ее поглощения, расхода на газообмен с запасанием в биомассе, влагопотребление и транспирацию, теплообмен со средой, фотоморфогенез и другие информационно-регуляторные процессы, что важно для агрометеорологических прогнозов.

Делается заключение, что на основе модели ЭБ и введения в уравнение ЭБ количественных значений можно оценивать максимально возможную погодно-климатическую продуктивность с.-х. культур, реальную урожайность и необходимое для посева количество влаги в почве.

Необходимость заблаговременных представлений об ожидаемом урожае хлебных злаков и зависимость состояния посевов от погодных условий требуют применения существующих и разработки новых методов для агрометеорологических прогнозов (АМП) урожая [1,2].

На основе декадной метео- и биологической информации (о плотности посева и т.д.), получаемой на сети станций Росгидромета для составления АМП используются ряд методов: статистический, на основе динамических моделей – динамико-статистический, синоптико-статистический. Они базируются на уже достаточно известных коррелятивных зависимостях физиологических процессов, состояния посевов от метеофакторов [1-3].

Эти зависимости характеризуются в агрометеорологии соответствующими коэффициентами, как например, гидротермическим (ГТК), агрометеорологическим коэффициентом увлажнения (АКУ) [4].

В отношении яровых культур основными оцениваемыми метеофакторами являются, как правило, температура воздуха и почвы, осадки, запасы продуктивной влаги в разных слоях почвы. Что же касается важнейшего фактора продуктивности – солнечной радиации, ФАР, - то в оперативной практике агрометеорологов она не учитывается, а в начинающихся использоваться динамико-статистических методах прогноза урожайности рассматривается как ежесуточно постоянная величина, не лимитирующая фотосинтез и рост растений. Между тем, суточные суммы приходящей интегральной радиации (Q_0) и ФАР (Q_f) в период вегетации яровых культур даже в пределах одного региона весьма варьируют от 1-2 до 12-15 МДж/м² [5], что необходимо принимать во внимание, тем более, что на многих станциях Росгидромета, под эгидой ГГО им. А.И. Воейкова, ведутся регулярные наблюдения Q_0 [6].

К тому же, особую роль играет радиация в критические радиационные периоды роста растений [7].

Учет прихода Q_0 и Q_f позволяет оценить, во-первых, максимально возможный среднесуточный (климатический) урожай; во-вторых, радиационные причины величины отклонения текущего состояния растений и их конечной продуктивности в данном году от «нормы» и, в третьих, выявить и анализировать влагопотребление и расход воды на транспирацию в динамике роста посевов [7, 8].

Эти возможности могут быть реализованы при учете и анализе нового для агрометеорологии физиолого-метеорологического метода – оценки энергетического баланса растений (за сут., декаду, фазу и т.д.), представленного в упрощенном виде ниже [7].

$$[(Q_0 \cdot k_f = Q_f) \cdot A_f = Q_{Af}] = [Q_{Af} \cdot \Pi P = QP = (Q_M = q \cdot M)] + (Q_W \approx Q_T) + Q_t + Q_{ir},$$

где Q_0 – приходящая суммарная солнечная радиация и ФАР (Q_f); k_f – доля Q_f в Q_0 ; A_f – коэффициент поглощения ФАР посевами за соответствующий период; Q_{Af} – поглощенная ФАР. В расходной части баланса QP – поглощенная ФАР, идущая на фотосинтез (газообмен, P) в соответствии с коэффициентом эффективности ее использования (ЭИ ФАР) или, что то же, с коэффициентом ее полезного действия (КПДА, ΠA_f). Одновременно QP характеризует использование Q_{Af} на ее запасание (Q_M) в сухой биомассе M с энергоемкостью q ; Q_W и Q_T – энергия, расходуемая на влагопотребление и транспирацию T . Q_T – на теплообмен и Q_{ir} на фоторегуляторные процессы.

В общем виде, в оптимально сформированном посевах без его лимитирования водно-корневым питанием численные значения компонентов баланса за сут. можно представить следующим образом:

$$Q_0 = 100\%, k_f = 0.48-0.50, A_f \approx 80\%.$$

Растения с лабильной архитектурой могут работать каждые сут. с $\Pi P \approx 10\%$ и тогда на Q_W расходуется около 87-88% Q_{Af} . В этом случае транспирационный коэффициент, согласно расчетам, равен примерно 130-140 г H_2O /г M , а продуктивность транспирации равна примерно 7-7.5 г M / 1 кг H_2O , как это имеет место у высокопродуктивных посевов в оптимальных и регулируемых условиях роста [3, 9]. Расход энергии на теплообмен в этом случае близок к 0, а на информационно-регуляторные процессы расходуется порядка 1-2% энергии.

Таким образом, посевы яровой пшеницы и ячменя в целом за период вегетации могут использовать приходящую ФАР с ΠP 5-6% [10, 11], а поглощенную около 7-8% [7]. Это позволяет при разных КПД рассчитывать величину $QP = Q_M$, далее конечную биомассу M и, зная величину $K_{хоз}$, оценить среднесуточную и ежегодную урожайность посевов, а так же необходимое для создания такой массы количество продуктивной влаги.

Если известно, что в течение последней или предшествующей декады приход Q_f был меньшим относительно климатической «нормы», то в соответствии с уравнением баланса получим новое, но меньшее, значение прироста массы, что можно учитывать в прогнозе урожайности.

Поскольку посевы в оптимальных условиях работают с максимальной за сут. эффективностью (ΠP), адаптивно реализуемой при среднесуточной суммарной поглощенной ФАР и ее среднесуточной интенсивности ФАР [7], то в соответствии со световой кривой газообмена нетрудно оценить более точную величину изменения прироста массы при изменении суточного прихода ФАР. Более того, с изменением прихода ФАР снижается и ΠP , что также сказывается на величине газообмена и прироста массы за сут..

В заключение подчеркнем, что в будущем, в оперативных АМП желательно учитывать и приход солнечной радиации, влияющей на состояние посевов и урожайность, а в разработке новых методов и критериев оценки ее влияния участвовали бы физиологи растений и агрометеорологи. Важность совместной работы связана и с тем, что лимитирующей составляющей АМП остается количественная морфо-физиологическая оценка динамического состояния посевов, их адаптивности к изменяющимся погодноклиматическим условиям.

Литература

1. Лебедева В.М., Страшная А.И. Основы сельскохозяйственной метеорологии. Том 2. Методы расчетов и прогнозов в агрометеорологии. Книга 2. Оперативное агрометеорологическое прогнозирование. // Обнинск, 2012, ВНИИГМИ-МЦД, 216 с.
2. Strasnaia A., Maksimenkova T., Chub O. Grain Yield Prediction in the Russian Federation Use of Satellite and In-Situ Data to Improve Sustainability. // Springer, Netherlands, 2010, p. 93–97.
3. Грингоф И.Г., Клещенко А.Д. Основы сельскохозяйственной метеорологии. Том 1. // Обнинск, 2011, ВНИИГМИ-МЦД, 808 с.
4. Чуб О.В., Страшная А.И. О возможности использования нового гидрометеорологического коэффициента увлажнения для мониторинга атмосферно-почвенных засух. Труды ГМЦ РФ. Гидрометеорологические прогнозы. // М., ГМЦ, 2012, Вып. 347, с.190-206
5. Абакумова Г.М., Горбаренко Е.В., Незваль Е.И., Шиловцева О.А. Климатические ресурсы солнечной энергии Московского региона. // М., Книжный дом «ЛИБРИКОМ», 2012, 312 с.
6. Бычкова А.П., Казеев Ю.И., Кривонощенко В.И., Луцько Л.В., Соколенко, С.А. Новые приборы для актинометрических наблюдений на сети. // СПб, Труды ГГО им. А.И. Воейкова, 2008, Вып. 557, с. 133-146.
7. Шульгин И.А. Лучистая энергия и энергетический баланс растений. Фитометеорологические и эколого-географические аспекты. // М., Альтекс, 2004, 141 с.
8. Тооминг Х.Г. Солнечная радиация и формирование урожая. // Л., Гидрометеиздат, 1977, 200 с.
9. Кошкин Е.И. Физиология устойчивости сельскохозяйственных культур. // М., Дрофа, 2010, 638 с.
10. Ничипорович А.А. О путях повышения продуктивности фотосинтеза растений в посевах. В кн.: Фотосинтез и вопросы продуктивности растений. // М., АН СССР, 1963, с. 3-38.
11. Ничипорович А.А., Шульгин И.А. Фотосинтез и использование энергии солнечной радиации. В кн.: Ресурсы биосферы. Том 2. // Л., Наука, 1976, с. 6-55.

PHYSIOLOGICAL-METEOROLOGICAL BASIS OF THE ENERGY BALANCE OF SPRING GRAIN CROPS AND ITS IMPORTANCE FOR AGROMETEOROLOGICAL FORECASTS OF CROP YIELD

Shulgin I.A., Chub O.V.

solar radiation, energy balance, spring cereals, crops, photosynthesis, yield

Data on the yield of the spring crops calculated by the agrometeorological forecasts are needed with a great advance before the beginning of their harvest. Yield forecasts take into account the parameters of the plants and their changes under the influence of a number of meteorological factors. The significance of accounting and radiation regime is emphasized. The new method of the calculation of the energy balance and its components is described (ward, absorption of the photosynthetic active radiation and its use), contributing to estimate possible and to prove the real yield of the spring crops.

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФИЗИОЛОГО-МЕТЕОРОЛОГИЧЕСКОГО
ЭНЕРГОБАЛАНСОВОГО ПОДХОДА ДЛЯ ОЦЕНКИ СРЕДНЕМОГОЛЕТНЕЙ
РАДИАЦИОННО- И ВЛАГООБУСЛОВЛЕННОЙ УРОЖАЙНОСТИ ЯРОВЫХ
КУЛЬТУР В ЦЕНТРАЛЬНЫХ НЕЧЕРНОЗЕМНЫХ И ЧЕРНОЗЕМНЫХ
ОБЛАСТЯХ РОССИИ**

Шульгин И.А., Чуб О.В.

ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»,
Ленинские горы, д. 1, стр. 12, г. Москва, Россия, 119991, E-mail: ufarin@yandex.ru
ФГБУ «Гидрометеорологический научно-исследовательский центр РФ», Б. Предтеченский
пер., 11-13, г. Москва, 123242, Россия, E-mail: olya1132@yandex.ru

солнечная радиация, энергетический баланс, яровые злаки, посевы, фотосинтез, урожайность

Для количественной оценки максимально возможной урожайности (МВУ) яровой пшеницы при выращивании в центральных Черноземных и Нечерноземных областях России использован энергобалансовый (ЭБ) метод. В уравнение ЭБ включены реальные численные значения прихода суммарной ФАР, ее поглощения в период фотосинтетической активной деятельности (ФАД) посевов, запасов продуктивной влаги (ЗПВ) в 1м слое почвы.

Показано, что радиационно-обусловленная среднемноголетняя МВУ может составлять в обеих областях 43-48 ц/га, а действительная максимальная влагообусловленная урожайность – 30-32 ц/га. Такая урожайность достигается при КПД поглощенной ФАР 3.3-3.8% при условии оптимальности термического режима. Расчетные значения хорошо согласуются с данными о фактической урожайности посевов в оптимальных условиях их роста.

Физиологу растений, агрохимику, агрометеорологу необходимо знать о том, каким может быть максимально возможная урожайность (МВУ) в данном году, и какой может быть среднемноголетняя МВУ в том или ином регионе.

Известно, что при оптимальности всех условий роста посевов их МВУ определяется приходом солнечной радиации [1], ее поглощением и эффективностью использования [2-4].

Представление о радиационно-обусловленной урожайности (РО МВУ) можно получить на основе использования уравнения энергетического баланса (ЭБ) посевов при введении в него соответствующих количественных значений его параметров [3,5].

Знание баланса позволяет оценивать минимально необходимые запасы продуктивной влаги (ЗПВ), которые должны обеспечивать РО МВУ в процессах влагопотребления и транспирации.

Тем самым, можно на основе агрометеорологических и актинометрических данных, анализа конкретного ЭБ посевов заранее оценивать влагообусловленную, действительно возможную урожайность (ВО ДВУ).

В данной работе и дается иллюстрация к сказанному в заголовке статьи. Уравнение ЭБ описано ранее [3], а так же в нашей статье в этом же сборнике [5]. Наиболее кратко оно выглядит так:

$$(Q_0 \cdot A_0 = Q_A) = Q_M + (Q_W \approx Q_T) + Q_t + Q_{ir},$$

где Q_0 – приходящая суммарная солнечная ФАР; Q_A – поглощенная ФАР посевом и ее расход на запасание в биомассе (Q_M), на влагопотребление и транспирацию Q_T , на теплообмен со средой (Q_t) и регуляторные процессы (за сут., фазу и т.д.).

В данной статье рассматриваются лишь среднемноголетние значения компонентов баланса, включая урожайность. В качестве примера представим материалы для московской области [6], которая входит в группу центральных нечерноземных областей.

Для нее период фотосинтетически активной деятельности посевов яровой пшеницы (ФАД, «всходы – начало молочной спелости», за 1981-2001 гг. составил 72 дня (с 5.05. по

10.07). Приход Q_0 был равен 675 МДж/м^2 и оптимальный по плотности посев, поглощая 80%, мог использовать (Q_A) 540 МДж/м^2 [7]. Для такого посева КПД Q_A на газообмен и создание биомассы Q_M принят достаточно большим: при $\rho_0 \approx 4\%$ $\rho_A \approx 5\%$. Тогда на Q_M расходуется около 1700 МДж/м^2 , что при энергоемкости массы порядка $16,8 \text{ КДж/г}$ отвечает величина общей биомассы к концу периода ФАД 161 ц/га . Принимая, что масса зерновок (M_3) в M_0 будет составлять 30%, получим $PO \text{ МВУ}$ порядка $48,4 \text{ ц/га}$.

Сразу же рассчитаем Q_T и T за этот же период ФАД. Итак, $Q_T = Q_A - Q_M = 513 \text{ МДж/м}^2$ и поскольку на транспирацию 1 г воды растениям необходимо примерно $2,42 \text{ КДж}$, получим, что $T \approx 211,5 \text{ кг}$ воды на м^2 или, что то же, $211,5 \text{ мм}$ слоя воды. В этом случае транспирационный коэффициент составил бы 131 г воды на 1 г M_0 , а коэффициент продуктивности транспирации (ПТ) – около $7,6 \text{ г}$ $M_0/\text{кг}$ воды, что очень близко к минимально возможным значениям ТК и максимально возможным значения ПТ [8, 9], являющихся, по существу энергетической величиной КПД использования влаги.

Между тем, реальные ЗПВ в 1 м слое почвы за период ФАД составляют $\approx 158 \text{ мм}$, т.е. они меньше необходимых для получения $PO \text{ МВУ}$ на 25%. Следовательно, на такую же величину меньше и влагообусловленная M_3 : она равна $\approx 36 \text{ ц/га}$. Так как после окончания периода ФАД посев должен тратить продукты на дыхание (5-10%), то в итоге получим M_3 примерно 32 ц/га , что практически равно получаемой в те же годы урожайности этих же культур во ВНИИСХ НЧО (пос. Немчиновка).

Следовательно, на фоне $PO \text{ МВУ}$ влага определила максимальную D_3 и посев мог и должен был работать с ρ_A не 5, а 3.3%.

Точно таким же образом был проанализирован ЭБ посевов этих культур в ЦЧО в период 1996-2008 гг [10]. Для станций Петринка (Курская область), Мичуринск (Тамбовская область), Каменная Степь (Воронежская область) за период ФАД (60-64 дня) $PO \text{ МВУ}$ составила 145.2 ц/га , а $M_3 \approx 43.6 \text{ ц/га}$, для формирования которых необходимы ЗПВ около $195\text{-}200 \text{ мм}$. С учетом же реальных ЗПВ ($150\text{-}160 \text{ мм}$), $VO \text{ МВУ}$, лимитирующая максимальную урожайность, составила 36.2 ц/га , а с учетом дополнительных затрат M_0 на дыхание растений (после периода ФАД) максимальное D_3 стала равной $30\text{-}32 \text{ ц/га}$. В этом случае растения работали с ρ_A не 5%, а 3.8%, что вполне типично для высокопродуктивных посевов в условиях ЦЧО России.

Таким образом, посевы яровой пшеницы и ячменя могли бы при нынешних среднемноголетних значениях приходящей суммарной ФАР и запасах продуктивной влаги давать урожайность не менее 30 ц/га , тогда как среднеобластная урожайность составляла примерно $19\text{-}22 \text{ ц/га}$. Вероятно, она могла быть обусловлена культурой земледелия, недостаточным корневым питанием, неравномерностью в течение вегетации радиационного и гидротермического режимов.

Энергетический подход позволяет, по-видимому, достаточно четко оценивать продукционный процесс и урожайность с.-х. культур, если погодно-климатические условия не экстремальны.

Литература

1. Тимирязев К. А. Солнце, жизнь и хлорофилл. Том 1. // М., Сельхозгиз, 1948, с. 82-692.
2. Тооминг Х.Г. Солнечная радиация и формирование урожая. // Л., Гидрометеиздат, 1977, 200 с.
3. Шульгин И.А. Лучистая энергия и энергетический баланс растений. Фитометеорологические и эколого-географические аспекты. // М., Альтекс, 2004, 141 с.
4. Шульгин И.А. Солнечные лучи в зеленом растении. Физиолого-метеорологические аспекты. // М., Альтекс, 2009, 217 с.
5. Шульгин И.А., Чуб О.В. Физиолого-метеорологические основы энергетического баланса посевов яровых зерновых культур и его значение для агрометеорологических прогнозов их урожайности. В этом же сборнике съезда ОФР. // Калининград, 2014.

6. Зорина С.А. Водно-радиационный режим и продуктивность яровой пшеницы в Подмоскowie. // М., МГУ, 2003, 31 с.
7. Абакумова Г.М., Горбаренко Е.В., Незваль Е.И., Шиловцева О.А. Климатические ресурсы солнечной энергии Московского региона. // М., Книжный дом «ЛИБРИКОМ», 2012, 312 с.
8. Шульгин И.А. Энергетический баланс и физиологические критерии продуктивности посевов сельскохозяйственных культур в условия изменений климата. Проблемы экологического мониторинга и моделирования экосистем. Том 25. // М., ИГКИЭ Росгидромета и РАН, 2013, с. 224-250
9. Грингоф И.Г., Клещенко А.Д. Основы сельскохозяйственной метеорологии. Том 1. // Обнинск, 2011, ВНИИГМИ-МЦД, 808 с.
10. Шульгин И.А., Тарасова Л.Л., Сенников В.А. Агрометеорологические аспекты оценки урожаев в условиях климатических изменений. // Адаптация сельского хозяйства России к меняющимся погодно-климатическим условиям – М., РГАУ-МСХА, 2011, с. 90-99.

**USING PHYSIOLOGICAL-METEOROLOGICAL ENERGY BALANCE APPROACH
FOR ESTIMATING MEAN ANNUAL THE RADIATION - AND MOISTURE CAUSED
PRODUCTIVITY OF SPRING CROPS IN THE CENTRAL CHERNOZEM AND
CENTRAL NONCHERNOZEM REGIONS OF RUSSIA**

Shulgin I.A., Chub O.V.

solar radiation, energy balance, spring cereals, crops, photosynthesis, yield

The results of calculations of mean as possible and really possible crop yields of spring wheat in the Central Chernozem and Central Nonchernozem regions of Russia on the basis of use of the equation of power balance are presented. Shown that the calculated values are in good agreement with the yield evidence.

ОСОБЕННОСТИ НАКОПЛЕНИЯ ФЛАВОНОИДОВ НЕКОТОРЫМИ ГАЛОФИТАМИ НА СОЛОНЧАКАХ ЮЖНОГО ЗАУРАЛЬЯ

Щербаков А.В.¹, Шуйская Е.В.², Усманов И.Ю.¹, Рахманкулова З.Ф.²,

¹ ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный университет», ул. З. Валиди, 32, г. Уфа, 450076, Россия, E-mail: Humanist314@rambler.ru

² ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, ул. Ботаническая 35, г. Москва, 127276, Россия, E-mail: evshuya@mail.ru

галофиты, солончаки, флавоноиды, ВЭЖХ, Южное Зауралье

Введение

Около 10% поверхности континентов покрыто засоленными почвами. На Южном Зауралье в пределах Республики Башкортостан площадь засоленных почв в связи с усиливающейся ксерофитизацией климата с одной стороны, наличием высокого уровня антропогенной нагрузки – с другой, постоянно возрастает. Это диктует необходимость разработки новых стратегий по использованию засоленных почв. Именно галофиты признаны тем ресурсом, который способен решить эту проблему (Aronson, 1985; Shuyskaya, et al., 2012). При этом очень важной представляется оценка уровня стрессовой нагрузки на растения- галофиты, обитающие на засоленных почвах. Одним из классов специализированных метаболитов, обеспечивающих неспецифическую антиоксидантную защиту растений при различных видах стресса, являются флавоноиды (Тюкавкина, 2008; Щербаков и др., 2009).

Материалы и методы

Объектами служили надземные части факультативных галофитов, относимых к трем видам сем. Chenopodiaceae: лебеды татарской, *Atriplex tatarica* L, бассии очитковидной *Bassia sedoides* (Pall.) Aschers. и кохии распростертой (стелющейся) *Kochia prostrata* (L.) Schrad., собранные в августе 2012 г. на солончаках на территории Башкирского Зауралья в диапазоне координат от 51051.218' до 52044.074' с.ш. и от 058013.646' до 059014.174' в.д. Уровень содержания ионов натрия (Na⁺) в верхнем горизонте (0-20 см) почвы определяли в водной вытяжке пробы (100 мг) на атомно-абсорбционном спектрометре (Hitachi 207, Japan). Хроматографический анализ флавоноидов методом ВЭЖХ проводили на системе Waters Breeze со спектрофотометрическим детектором на длине волны 254 и 275 нм. Использовали не менее трех биологических повторностей.

Результаты и обсуждение

Данные о содержании отдельных флавоноидов, обнаруженных в образцах исследованных видов представлены в таблицах 1-3.

Как следует из представленных данных, исследованные виды в целом характеризуются невысокими значениями показателей отдельных флавоноидов. При этом растения *Atriplex tatarica* отличаются, как в целом наиболее низким содержанием флавоноидов, так и по зависимости накопления флавоноидов от содержания натрия в почве от двух других родственных между собой видов – бассии и кохии.

Общее содержание выявленных у растений *Atriplex tatarica* флавоноидов положительно зависит от содержания в почве ионов натрия ($r=0,61$, $p<0.05$).

У растений *Bassia sedoides* и *Kochia prostrata* наблюдается прямо противоположная картина – накопление суммы выявленных флавоноидов в ответ на возрастание содержания ионов натрия в почве значимо снижается. ($r=-0,99$ и $-0,86$ при $p<0.05$ соответственно).

Таблица 1 - Содержание флавоноидов в исследованных образцах *Atriplex tatarica*, (мг/г)
 Table 1 - Flavonoid content in the samples of *Atriplex tatarica*, (mg / g)

Вещество	Координаты опорных точек					
	51051.218' с.ш., 058013.646 ' в.д.	52009.897' с.ш., 058032.522 ' в.д.	52000.891' с.ш., 058026.690 ' в.д.	52000.891' с.ш., 058026.690' в.д..	51058.018' с.ш., 058023.059 ' в.д..	51058.018' с.ш., 058023.059 ' в.д.
	Содержание натрия в почве, (мМ/г)					
	0,006	0,012-0,061	0,011-0,028	0,047-0,117	0,011-0,13	0,011-0,13
Кверцетин	0,01	-	-	0,01	-	-
Дигидрокверцетин	0,08	0,16	0,07	0,5	0,02	0,08
Рутин	0,06	0,63	1,27	0,1	0,02	0,01
Нарингин	0,03	0,34	0,27	-	3,03	3,91
Физетин	0,06	-	0,03	0,27	0,3	0,20
Морин	0,02	0,03	0,02	0,2	0,1	0,18
Гесперитин	0,17	-	-	0,15	-	-
Всего	0,43	1,16	1,66	1,23	3,47	4,38

Таблица 2 - Содержание флавоноидов в исследованных образцах *Bassia sedoides* (мг/г)
 Table 2 - Flavonoid content in the samples of *Bassia sedoides* (mg / g)

Вещество	Координаты опорных точек		
	51056.848'с.ш., 058023.344'в.д	52000.891'с.ш., 058026.690' в.д.	52009.897' с.ш., 058032.522' в.д.
	Содержание натрия в почве, (мМ/г)		
	0,001-0,005	0,011-0,028	0,012-0,061
Кверцетин	0,01	-	-
Дигидрокверцетин	0,1	0,04	0,01
Рутин	0,78	0,26	0,11
Нарингин	6,9	4,67	2,1
Физетин	0,06	0,024	0,012
Морин	0,04	0,017	0,008
Гесперитин	0,01	-	-
Байкалеин	1,9	0,79	0,38
Всего	9,7	5,8	2,6

Таблица 3 - Содержание флавоноидов в исследованных образцах *Kochia prostrata* (мг/г)
 Table 3 - Flavonoid content in the samples of *Kochia prostrata* (mg / g)

Вещество	Координаты опорных точек		
	51056.848'с.ш., 058023.344'в.д	52044.074'с.ш., 059014.174' в.д	51059.675'с.ш., 058032.347'в.д.
	Содержание натрия в почве, (мМ/г)		
	0,001-0,005	0,002-0,014	0,055-0,125
Кверцетин	-	-	0,01
Дигидрокверцетин	0,02	0,75	0,46
Рутин	8,13	4,96	1,71
Нарингин	13,53	8,16	5,03
Нарингенин	-	-	0,016
Физетин	0,01	0,46	0,76
Морин	0,01	0,02	0,03
байкалеин	-	0,002	-
Всего:	21,8	14,34	8

Заключение

Поскольку считается, что растения рода *Atriplex* отличаются более высокой солеустойчивостью, чем два других исследованных вида, можно сделать вывод, что повышение содержания ионов натрия в почве не оказывает угнетающего воздействия на накопление флавоноидов растениями этого вида. У близкородственных и менее устойчивых к засолению видов растений *Bassia sedoides* и *Kochia prostrata* наоборот, выявлено угнетение накопления флавоноидов в ответ на повышение содержания ионов натрия в почве.

Литература

1. Aronson J. Economic halophytes – a global review // *Plants for arid lands*. Ed. G.E. Wickens et al., 1985. P. 177-188.
2. Shuyskaya E., Rajabov T., Matsuo N., Toderich K., Gismatullina L., Voronin P., Norikazu Y. Seasonal Dynamics of Asiatic Desert C3/C4 Species Related to Landscape Planning and Rehabilitation of Salt Affected Lands // *Journal of Arid Land Studies*. 2012. 22-1, p. 77-82.
3. Тюкавкина Н.А. и др. Органическая химия. Спец. курс в 2 кн. Кн.2. М.:Дрофа, 2008.- 592 с.: илл.
4. Щербаков А.В. и др. Вариабельность содержания вторичных метаболитов у *Juniperus sabina* L. в условиях Южного Урала.// *Уфа, Башкирский химический журнал*, 2009. Том 16 №2., С. 132-138

FEATURES OF SOME SALT MARSH HALOPHYTES FLAVONOID ACCUMULATION IN SOUTH TRANSURALS

Scherbakov A.V., Shuyskaya E.V., Usmanov I.Yu., Rachmankulova Z.F.

halophytes, salt marshes, flavonoids, HPLC, antioxidant status, South Transurals

The differences in the accumulation of flavonoids three halophytes plant species under salt marshes conditions of Southern Transurals is determined.

ОРГАНИЗАЦИЯ И ТОЛЕРАНТНОСТЬ К ЗАСОЛЕНИЮ ИЗОЛИРОВАННЫХ СТРУКТУР ПОБЕГА У СОРТОВ ВИНОГРАДА

Юсуфов А.Г.; Мамедова К.К.

ФГБОУ ВПО «Дагестанский государственный университет им. В.И. Ленина»,
ул. М. Гаджиева, 43-а, г. Махачкала, 367000, Россия, E-mail: kalimat.mamedova@mail.ru

виноград, солеустойчивость, изолированные структуры

Введение

Разработка методов оценки устойчивости растений к стрессам остается актуальной задачей с учетом специфики объектов и факторов воздействия. При этом отличаются методы полевых и лабораторных методов оценки устойчивости к стрессам, хотя предпочтение отдается разработке лабораторных экспресс - методов. Такие методы актуальны в применении к древесным и многолетним формам, включая виноград. Многолетние растения сортов винограда характеризуются сложной системой взаимодействующих побегов разного возраста [2]. У винограда остается неизученной солеустойчивость структур побега.

Материалы и методы

Опыты проводились в 2009-2013 г весной и осенью с сортами Агадаи, Нарма, Хатми, Гюляби розовый и Премьер. Предстояло выяснить изменения в реакции на засоление среды эксплантов междоузлий побега и точек роста, а также стеблевых черенков у сортов винограда в ряду постепенного усложнения их организации. Экспланты культивировали *in vitro* на среде Мурасиге-Скуга разного состава [1]. Черенки же с 2-3 глазками культивировали в нестерильных условиях вода, растворы NaCl (10-3, 10-2, 10-1 М). Сравнение проводили по комплексу показателей жизнеспособности: выживаемость, формирование каллуса, корней, почек и побегов, их биомасса. Повышение концентрации солей в среде приводило к летальному исходу изолированных структур.

Виноград признан солеустойчивой культурой [3], тем не менее, на засоленных почвах наблюдаются повреждения корней и побегов.

Результаты и обсуждение

Отмечено явное ингибирование накопления сырой и сухой биомасс побега (1,3) и корней (2,4) у черенков сорта Нарма в растворе NaCl 10-2 М. У сорта Хатми отмечена иная картина, сырой биомассы корней в 10-2 М. Сорта Агадаи и Гюляби розовый, имеют наилучшие результаты в контроле (табл.1). Однако детальный анализ взаимоотношений корней и побегов по 12 признакам у Агадаи свидетельствует о сложной корреляции между ними в разных вариантах засоления [4].

Экспланты точек роста и междоузлий *in vitro* на питательной среде также по вариантам культивирования свидетельствуют о наличии различий (табл.2). Так, на жизнеспособность наибольшее воздействие оказало присутствие в среде NaCl, что сильнее всего выражено у изолированных междоузлий сорта Агадаи. В свою очередь эпин способствует смягчению этого эффекта. Интересным является тот факт, что черенки сорта Агадаи проявили достаточно высокую солеустойчивость в отличие от эксплантов. Это свидетельствует о повышении чувствительности изолированных структур, с упрощением их организации. Достаточно хорошие результаты практически по всем сортам показал фитогормон нового поколения – эпибросинолид (0,1мл/л), который частично снял стрессовый эффект соли.

Данные таблицы 3 демонстрируют жизнеспособность эксплантов сорта Премьер взятых с черенков, находившихся в растворе NaCl (10-3, 10-2М). Его экспланты в растворах солей не проявили лучшую выживаемость в питательной среде с солью, проявив почти одинаковые результаты с контролем.

Заключение

Итак, общим для сортов является повышение устойчивости к засолению в связи с усложнением структур в ряду междоузлий, точек роста побега и стеблевых черенков. По комплексу показате-

Таблица 1 - Сравнительная характеристика сырой и сухой биомасс побегов (1,3) и water корней (2,4) у сортов винограда при культивировании в воде (А) и 10-2 NaCl (Б)/

Table 1 - Comparative characteristics of wet and dry biomass of shoots (1.3) and roots (2.4) of grapes under cultivation in (A) and 10-2 NaCl (B)

Признаки	АГАДАИ				НАРМА			
	А		Б		А		Б	
	X±Sx	Cv,%	X±Sx	Cv,%	X±Sx	Cv,%	X±Sx	Cv,%
1	1911,0±494,97	103	1824,6±512,36	108	869,3±409,5	176	417,7±266,50	230
2	309,3±67,16	86,8	279,9±79,73	110	124,0±54,67	164	76,5±43,41	204
3	346,2±86,46	99,8	325,3±129,44	154	189,3±89,27	176	27,7±23,67	308
4	33,1±6,11	73	29,8±9,55	124	12,9±4,95	143	4,9±4,46	330
Признаки	ХАТМИ				ГЮЛЯБИ розовый			
	А		Б		А		Б	
	X±Sx	Cv,%	X±Sx	Cv,%	X±Sx	Cv,%	X±Sx	Cv,%
1	1168,2±394,73		1809,3±652,41	134	2136,3±510,05	95,5	1792,6±311,67	67
2	170,1±53,70		273,6±99,31	135	286,2±61,93	86	291,1±51,97	69
3	131,2±55,43		253,6±107,20	158	501,9±133,85	106	329,3±121,14	142
4	23,8±12,43		36,8±13,29	135	42,9±9,82	91	25,9±7,45	111

Таблица 2 - Состояние (%) эксплантов междоузлия (I) и эксплантов точек роста (II) разных сортов винограда

Table 2 - Explants of escape (I) and explants of shoot apex (II) by grape varieties

Сорта и варианты	Выживаемость		Рост		Каллус	
	I	II	I	II	I	II
Агадаи						
МС	82	50	0	20	0	0
МС + NaCl	21	17	0	0	0	0
МС + PP (ИМК+БАП)	100	86	22	35	22	35
МС+ PP + NaCl	100	20	50	0	100	0
PP+Эпин	98	75	35	38	50	38
PP+Эпин+ NaCl	88	50	0	0	0	0
Нарма						
МС	100	80	12,5	0	0	0
МС + NaCl	75	50	8	0	0	0
МС + PP (ИМК+БАП)	100	93	13	80	12,5	17
МС+ PP + NaCl	100	100	0	0	0	0
PP+Эпин	100	50	16,5	0	100	50
PP+Эпин+ NaCl	100	50	0	0	0	0

Таблица 3 - Состояние (%) эксплантов междоузлия (I) и точек роста (II) у сорта Премьер культивированного в воде (1) и NaCl 10-2 и 10-3 М (2 и 3)

Table 3 - explants of internodes (I) and of shoot apex (II) in water (1) and NaCl 10-2 and 10-3 М (2 and 3)

Варианты		Выживаемость			Каллус			Образование почек		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3
МС	I	100	100	76	5	0	0	0	0	0
	II	66	50	56	0	0	0	19	0	0
МС/NaCl	I	50	70	50	0	0	0	0	0	0
	II	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ИМК/БАП/NaCl	I	60	40	88	10	10	20	0	0	0
	II	50	50	50	0	0	0	0	50	0
ИМК/БАП	I	100	100	100	20	15	40	0	0	0
	II	89	100	100	40	40	10	50	50	0
ИМК/БАП/Э	I	96	95	100	10	35	30	0	0	0
	II	100	100	100	15	0	0	25	0	50

Литература

1. Калинин Ф.Л., Сарнацкая В.В., Полищук В.Е. Метод культуры изолированных тканей в физиологии и биохимии растений. Киев: Наук. думка, 1980. 488с.
2. Негруль Д.А., Никифорова Л.Т. О некоторых взаимосвязях между отдельными органами виноградного растения // Известия ТСХА.- 1958-Вып.1.-С. 73-84
3. Стоев К.Д. Физиологические основы виноградарства. Часть II// София 1973, 538 с.
4. Юсуфов А.Г., Мамедова К.К., Сулейманов А.Ш. Специфика связи процессов морфогенеза у черенков винограда при засолении среды // Известия ВУЗов Северо-Кавказский регион естественные науки, 2013, №4, С.58-61

ORGANIZATION AND SALT TOLERANCE ISOLATED STRUCTURES VARIETIES OF GRAPE

Yusufov A.G.; Mamedova K.K.

grapes, salt tolerance of isolated structures

To assess the salt tolerance of grape varieties studied reaction of stem cuttings and explants of internodes, apex shoot in NaCl solutions.

ВЛИЯНИЕ СПЕКТРАЛЬНОГО КАЧЕСТВА СВЕТА НА ФОРМИРОВАНИЕ АССИМИЛЯЦИОННОГО АППАРАТА ЭФИРОНОСНЫХ РАСТЕНИЙ И ИХ АДАПТАЦИИ К УСЛОВИЯМ ПОНИЖЕННОЙ ОСВЕЩЕННОСТИ.

Яковлева О.С., Волкова Т.А., Бокова М.И., Тараканов И.Г.

ФГБОУ ВПО «Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия им. К.А. Тимирязева», Тимирязевская ул., 49, г. Москва, 127550, Россия, E-mail: plantphys@timacad.ru

спектральный состав света, эфирноносные растения, адаптация, ассимиляционный аппарат

Качество света оказывает значительное влияние на морфофизиологические реакции растений. Под действием света разной длины волны, в частности, изменяется пластохрон, морфология и анатомия листовой пластинки и её адаптивная поверхность. В значительной мере от характера освещения зависит и пигментный состав листьев. Под действием увеличения доли красного света разной длины волны, как показали наши эксперименты с использованием различных комбинаций узкополосного спектра светодиодных облучателей, у большинства исследованных видов растений формируются так называемые теневые листья с более крупными листовыми пластинками, меньшей удельной поверхностной плотностью и более выраженной мезофитной структурой [1, 2, 3].

В последнее время всё шире идет внедрение оранжевых растений в ближнюю антропогенную среду: жилые помещения, гостиницы, офисы, лечебные учреждения и т.п. В таких условиях важно, чтобы растения сохраняли свои полезные для человека свойства и достаточно быстро адаптировались к условиям пониженной освещенности. Большинство эфирноносных растений из различных систематических групп относится к светолюбивым видам, и поэтому в задачу данных исследований входило не только изучить, как качество света влияет на формирование их ассимиляционной поверхности, но и проследить адаптацию растений к дальнейшим условиям низкой освещенности. Это имеет не только теоретическое, но и достаточно важное практическое значение.

Эксперименты с оранжевыми растениями проводили на протяжении нескольких лет. В качестве объектов исследования использовали Пеларгонию зональную (*Pelargonium zonale* L.), Пеларгонию душистую (*Pelargonium graveolens* Ait), Мирт обыкновенный (*Myrtus communis* L.) , Розмарин лекарственный (*Rosmarinus officinalis* L.), Лаванду узколистую (*Lavandula angustifolia* L.), Плектрантус кустарниковый (*Plectranthus fruticosus* L'Herit). Растения для экспериментов выращивали из укорененных черенков в почвенной культуре, за исключением Лаванды узколистой, которую выращивали из семян.

В ходе экспериментов в контролируемых условиях растения помещали на световые режимы с использованием облучателей на основе узкополосных светоиспускающих диодов (СИД) красного света с разной длиной волны (коротковолновый – СИД 635 нм и длинноволновый – СИД 660 нм) на срок от двух недель до двух месяцев. Затем, часть растений помещали на естественный свет. В опытах был двойной контроль. В качестве первого контроля использовали растения, постоянно выращиваемые при естественном освещении. В качестве второго контроля брали растения, которые предварительно выращивали под натриевыми лампами высокого давления (НЛВД), а затем переносили в культивационное сооружение с естественным освещением.

Определяли интенсивность ростовых процессов (по накоплению сырой и сухой биомассы, формированию площади листьев), удельную поверхностную плотность листьев, содержание фотосинтетических пигментов, интенсивность фотосинтеза и транспирации, количество устьичных клеток, а также железистых волосков или эфиромасличных вместилищ на единицу площади листьев.

В результате проведенных экспериментов было установлено, что действие красного света разной длины волны имело видовую специфичность у изучаемых эфирноносных растений. Это было отмечено как при выращивании растений непосредственно под разными источниками облучения, так и при последующей их адаптации к условиям низкой освещенности закрытых помещений. Все изученные виды при экспозиции на коротковолновом красном свете формировали более крупные листья с более мезофитной адаптивной поверхностью и с более высоким содержанием фотосинтетических пигментов. Исключением был Плектрантус кустарниковый, у растений которого даже при короткой экспозиции на красном свете значительно снижалось содержание фотосинтетических пигментов и останавливались ростовые процессы. Длинноволновый красный свет оказывал угнетающее воздействие на растения всех изучаемых видов.

При переносе растений с коротковолнового красного света на естественный вновь образующиеся побеги имели более ксероморфную структуру, чем у растений, выращиваемых на естественном свете постоянно. Так, однолетние растения Розмарина лекарственного, предварительно выращенные в оранжерее и перемещенные под разные искусственные источники освещения сроком на 2 месяца, сформировали более крупные листья, но с меньшим содержанием железистых волосков. При перемещении данных растений на естественный свет, более ксероморфную структуру имели только растения, прошедшие пре-адаптацию на световом режиме с коротковолновым красным светом (табл. 1).

Таблица 1 - Влияние светового режима на формирование ассимиляционного аппарата и адаптивной поверхности листьев растений розмарина лекарственного (*Rosmarinum officinalis* L.) сорта Вешняковский (в числителе - показатели на момент окончания пре-адаптации, в знаменателе – через месяц после перемещения на естественный свет).

Table 1 - Effect of light environment on assimilation apparatus and leaf adaptive surface formation in Dwarf rosemary (*Rosmarinum officinalis* L.) plants, cv. Veshniakovskij (nominator – indices at the end of pre-adaptation period, denominator - indices determined one month after plant transition to natural light)

Световой режим в период пре-адаптации	Прирост побегов, см	Число вновь образованных листьев, шт	Площадь вновь образованных листьев, см ²	Число железистых волосков, шт/мм ²
Естественный свет	11,4 ± 0,3	11,7 ± 0,2	7,6 ± 0,4	130,1 ± 11,2
	10,5 ± 0,5	10,8 ± 0,3	8,1 ± 0,4	149,8 ± 10,3
НЛВД	6,3 ± 0,2	11,0 ± 0,4	14,1 ± 0,5	65,9 ± 7,3
	3,4 ± 0,1	7,4 ± 0,6	2,3 ± 0,1	160,5 ± 9,7
СИД 635 нм	10,7 ± 0,5	16,1 ± 0,2	14,7 ± 0,3	104,8 ± 13,1
	6,2 ± 0,3	9,8 ± 0,2	5,8 ± 0,1	176,3 ± 14,1
СИД 660 нм	19,6 ± 0,3	14,7 ± 0,5	22,5 ± 0,3	24,5 ± 4,2
	6,1 ± 0,4	9,5 ± 0,3	4,2 ± 0,2	127,8 ± 8,9

Таким образом, качество света, при котором выращивались оранжерейные и комнатные растения, оказывало значительное влияние на их дальнейшую адаптацию к условиям закрытых помещений и фитомодулей. Выдерживание большинства видов растений на коротковолновом красном свете от 2 недель до 2 месяцев благоприятствовало их дальнейшей адаптации к условиям низкой освещенности, которая является основным ограничивающим фактором при выращивании растений в комнатных условиях.

Литература

1. Енина О.Л., Кириченко Е.Б., Олехнович Л.С. и др. Некоторые закономерности формирования железистого аппарата представителей рода мяты (*Mentha* L.) в условиях светокультуры с использованием светодиодных облучателей // Доклады ТСХА, 2011, вып.283, с.198-202

2. Яковлева О.С., Яковцева М.Н., Тараканов И.Г. Морфофизиологические реакции растений земляники садовой *Fragaria x ananassa* Duch. на действие узкополосного спектра фотосинтетически активной радиации // Доклады ТСХА, 2012, вып. 284, с.139-141.

3. Tarakanov I., Yakovleva O., Konovalova I., Paliutina G., Anisimov A. Light-Emitting Diodes: on the Way to Combinatorial Lighting Technologies for Basic Research and Crop Production // *Acta Horticulturae*, 2012, vol. 711, p.171-178.

**EFFECT OF LIGHT SPECTRAL QUALITY ON ASSIMILATION APPARATUS
FORMATION IN ESSENTIAL OIL PLANTS AND THEIR ADAPTATION
TO LOW LIGHT ENVIRONMENT**

Yakovleva O.S., Volkova T.A., Bokova M.I., Tarakanov I.G.

light spectral quality, essential oil plants, adaptation, assimilation apparatus

Short-term (within two-eight weeks) essential oil plant priming under light regime on the base of monochromatic short-wave red light (635 nm) favors their adaptation to low light environment.

ВЛИЯНИЕ ГЕНОТИПА РАСТЕНИЯ - ХОЗЯИНА НА МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ВОЗБУДИТЕЛЯ КОРНЕВОЙ ГНИЛИ ПШЕНИЦЫ
BIPOLARIS SOROKINIANA

Яруллина Л.М., Умаров И.А., Новоселова Е.И.

ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный университет», ул. З. Валиди, 32, г. Уфа, 450076, Россия, E-mail: Lilechek89_89@mail.ru

triticum aestivum, Bipolaris sorokiniana, агроценозы, генотип, устойчивость растений

Введение

Поражение растений возбудителями болезней негативно отражается на количественных, качественных характеристиках урожая сельскохозяйственных культур. Степень устойчивости/восприимчивости растений к патогенам определяется как генотипическими и фенотипическими параметрами хозяина, так и особенностями паразитирующего организма. В процессе роста и развития культурные растения взаимодействуют с патогенами, реализующими различные стратегии питания. Механизмы влияния взаимодействующих организмов друг на друга остаются еще до конца не познанными.

В настоящее время широкое распространение получили корневые гнили зерновых культур. В среднем потери урожая от возбудителей данной болезни составляют 25% [1]. В большинстве регионов России корневую гниль вызывают в основном грибы из родов *Fusarium* и *Drechslera* (вид *Bipolaris sorokiniana*) [2]. Гриб *B. sorokiniana* паразитирует на подземных и надземных органах яровой пшеницы. Патогенные свойства гриба обусловлены способностью вырабатывать гидролитические ферменты и токсины [3]. Экологически безопасным способом защиты продовольственных культур от поражения возбудителями корневой гнили является использование устойчивых сортов. Однако для внедрения и широкого использования новых сортов необходимо исследовать особенности взаимоотношений растения-хозяина и фитопатогена.

Цель данной работы - сравнительная оценка роста и развития *B. sorokiniana* на растениях пшеницы с различной полевой устойчивостью.

Материалы и методы

Оценку полевой устойчивости различных сортов пшеницы к возбудителям корневых гнилей проводили на естественном инфекционном фоне. В лабораторных условиях для инфицирования растений пшеницы сортов Башкирская 24, Башкирская 26, Жница, Авиада использовали конидии грибов - возбудителя корневой гнилей *Bipolaris sorokiniana*, выделенные из производственных посевов пшеницы в Чишминском ОПХ. Семисуточные проростки пшеницы заражали путем полива основания стебля суспензией конидий патогенов из расчета 106 конидий/мл [4]. Степень поражения проростков оценивали по выраженности симптомов корневых гнилей на одном из восприимчивых органов – в основании 2-ого листа через 20 сут после инокуляции. Для окраски грибов по Граму использовали краситель генциановый фиолетовый, приготовленный с применением анилина [5]. Опыты проводили не менее чем в трех повторностях. Статистическую обработку результатов проводили с использованием компьютерных программ фирмы StatSoft (Statistica 6.0).

Результаты и обсуждение

Результаты полевых исследований показали значительное варьирование сортов пшеницы по признаку пораженности корневой гнилью. Наименьшая степень поражения возбудителем корневой гнили наблюдалась на сорте Башкирская 26 (15%). Наибольшую восприимчивость к патогену проявил сорт Жница (30%). Сорта пшеницы Башкирская 24 и Авиада заняли по данному признаку промежуточное положение (15% и 18% соответственно).

В лабораторных опытах выявлено, что степень развития корневых гнилей в основании 2-ого листа у растений пшеницы сорта Жница достигала 35 %, сорта Авиада - 25 % и 10 - 15 % - у пшеницы сортов Башкирская 26 и Башкирская 24 соответственно (табл. 1).

Таблица 1 - Развитие *Bipolaris sorokiniana* на листьях пшеницы различных сортов
Table 1 - Development of *Bipolaris sorokiniana* on leaves of different varieties of wheat

№ п/п	Сорт	Степень развития патогена, %	Число проросших конидий, %
1	Башкирская 24	15±1.1	28±1.9
2	Башкирская 26	10±1.2	23±1.3
3	Авиада	25±1.8	41±3.1
4	Жница	35±2.3	50±4.2

В ходе экспериментов установлено, что в условиях чистой культуры образуется несколько меньше спор, чем на растениях, что соответствует литературным данным [2]. У изолятов, выросших на твердой среде Чапека в сравнении с изолятами, спороносящими на листьях, наблюдалось уменьшение числа спор. Причем, количество проросших конидий на листьях пшеницы отрицательно коррелировало с полевой устойчивостью сорта (табл. 1).

При росте фитопатогенного гриба на твердой питательной среде наблюдалось появление коротких гифов. Возникновение аномальных ростковых трубок грибов отмечалось и при большом числе пересевов *in vitro* без пассирования на растении-хозяине. Морфологические признаки являются, как известно, одними из часто используемых критериев внутривидовой дифференциации грибов. Природные штаммы и искусственно полученные мутанты большинства грибов сильно варьируют по особенностям строения колоний и спороносного аппарата [6].

Как показали наши исследования, гриб *B. sorokiniana* на питательной среде Чапека образует 2 типа колоний - однородные и зональные. Поскольку природный изолят гриба обладает высоким полиморфизмом [2], то можно было ожидать и разнообразия его реакций при искусственных условиях культивирования.

Наблюдения за изменением прорастания конидий *B. sorokiniana* на листьях растений пшеницы сорта Жница, показали, что формировалась одна ростковая трубка (табл. 2). К моменту проникновения под эпидермис длина ее составляла 21.6±1.2 мкм.

Таблица 2 - Влияние генотипа пшеницы на морфологию конидий *Bipolaris sorokiniana*
Table 2 - The effect of genotype wheat on the morphology of conidia *Bipolaris sorokiniana*

Сорт	Виды ростковых трубок, %		
	нормальные	длинные	ветвящиеся
Башкирская 24	28.1±1.1	53.8±5.2	17.1±1.5-
Башкирская 26	24.8±2.2	50.9±3.1	24.1±1.8
Авиада	72.0±5.4	14.2±1.1	7.6±1.1
Жница	92.4±8.7	-	-

При развитии патогена на листьях сорта Башкирская 26 помимо нормальных, появлялись более длинные ростковые трубки (56.2±1.0 мкм), а также ростковые трубки, растущие поверхностно и не проникающие под эпидермис. Возможно, причиной наблюдаемого аномального развития *B. sorokiniana* на листьях устойчивого сорта пшеницы явилось обильное отложение в клеточной стенке лигнина. Формирование длинных и ветвящихся ростковых трубок свидетельствует о дискомфортном состоянии гриба, что было показано ранее [7]. Таким образом, на сортах пшеницы с высокой полевой устойчивостью число проросших кони-

дий гриба было гораздо меньше. Кроме того, в большинстве случаев, они имели ненормальное развитие.

Суммируя результаты проведенных исследований, можно сделать вывод, что формирование устойчивости растений пшеницы к некротрофному патогену *B. sorokiniana* происходит уже на эктофитной стадии развития гриба.

Работа проведена при финансовой поддержке гранта по Госзаданию № 01201456414

Литература

1. Тютюрев С.Л. Научные основы индуцирования болезнеустойчивости растений. С-Пб, Инновационный центр защиты растений, ВИЗР. 2002. 328 с.

2. Чулкина В.А. Корневые гнили хлебных злаков. Новосибирск, Наука. 1985. 189 с.

3. Никуленко Т.Ф., Чканников Д.И. Токсины фитопатогенных грибов и их роль в развитии болезней растений. М., Колос. 1987. 60 с.

4. Кумачева Е.М., Попов В.И. Метод инокуляции всходов пшеницы *Helminthosporium sativum* P.K. et B. // Бюлл. ВИЗР. 1976. № 39. С. 73-75.

5. Барыкина Р.П., Веселова Т.Д., Девятов А.Г., и др., Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методы. М.: Изд-во МГУ, 2004. 312

6. Brasier C.M., Gibbs J.N. Origin and development of the current Dutch elm disease epidemics // *Plant Disease Epidemiology*. Blackwell Sci. Publ. L. 2008. P. 34-39.

7. Дмитриев А.П., Тверской Л.А., Гродзинский Д.М. Активные механизмы фитоиммунитета лука // *Физиология и биохимия культурных растений*. 1986. Т. 18. № 5. С. 457-459.

INFLUENCE OF HOST PLANT ON THE MORPHOPHYSIOLOGICAL PARAMETERS OF ROOT ROT PATHOGEN OF WHEAT *BIPOLARIS SOROKINIANA*

Yarullina L.M., Umarov I.A., Novoselova E.I.

Triticum aestivum, Bipolaris sorokiniana, agroecosystems, genotype, plant resistance, fungus

Were studied in laboratory and field conditions the fungus *Bipolaris sorokiniana* infestation of wheat plants of different varieties, the degree of the infected plant tissues, especially the morphophysiological parameters of pathogen ectofitnoy on stage. Revealed that the wheat varieties with high field resistance number of germinated conidia was two times less, and in most cases, they had abnormal development. The results indicate that the formation of wheat resistance to *B.sorokiniana* determined on the primary stages of the relationship of the "host-pathogen».

КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПРИРОДНЫХ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА РАСТЕНИЙ

Яхин О.И.^{1,3}, Лубянов А.А.^{2,3}, Яхин И.А.^{1,3}, Калимуллина З.Ф.¹, Гареева Г.Б.¹, Маркелова Е.М.¹, Батраев Р.А.¹, Кабиров Р.Р.⁴, Фазлутдинова А.И.⁴, Иштимиров Э.И.^{1,4}, Халилова Д.И.^{1,4}, Шайдуллина Г.Ф.², Сулейманова Р.В.², Кадыров Ф.Ф.³

¹ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, пр. Октября, 71, г. Уфа, 450054, Россия,
E-mail: yakhin@anrb.ru

²ФГБОУ ВПО «Уфимский государственный университет экономики и сервиса», ул. Чернышевского, 145, г. Уфа, 450078, Россия

³Научно-производственное предприятие «Эко Природа», с. Улькунды Дуванского района Республики Башкортостан, ул. Валеева, 33, 452533, Россия

⁴ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы», ул. Октябрьской революции, 3а, г. Уфа, 450000, Россия

регуляторы роста растений, физиологическая активность, стресс, гормоны, аминокислоты, экспрессия генов, продуктивность

Введение

Стрессовые факторы разной природы оказывают негативное действие на рост, продуктивность и качество урожая сельскохозяйственных культур. Для стимуляции ростовых процессов, уменьшения влияния неблагоприятных воздействий, обеспечения высокой продуктивности культурных растений в растениеводстве применяют регуляторы роста (РРР) и антистрессовые препараты. В связи с этим актуальным является поиск и разработка новых высокоэффективных РРР. Цель настоящей работы – комплексная оценка биологической активности природных РРР, включающая скрининг препаратов с высокой ростстимулирующей и антистрессовой активностью, установление их механизмов действия, экологическую и токсикологическую оценку, и исследование их влияния на формирование элементов продуктивности и урожайность с/х культур.

Материалы и методы

Объекты исследований – яровая пшеница (*Triticum aestivum* L.), овес посевной (*Avena sativa* L.), рожь озимая (*Secale cereale* L.), ячмень (*Hordeum vulgare* L.) рис (*Oryza sativa* L.), капуста посевная (*Brassica oleracea* L.), лук-батун (*Allium fistulosum* L.), почвенная бактерия *Pseudomonas* sp., цианобактерия *Synechocystis aquatilis*, одноклеточные зеленые водоросли *Chlorella vulgaris*, диатомовые водоросли *Hantzschia amphioxys*, микроскопические грибы рода *Fusarium* и *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker, ногохвостки (*Folsomia candida*), а также беспородные белые мыши, беспородные белые крысы, морские свинки, кролики. В работе использовали разрабатываемые в Институте биохимии и генетики УНЦ РАН и НПП «Эко Природа» экспериментальные модификации биорегуляторов на основе растительного сырья семейства «стифун»: ИБГ-1, ИБГ-2, ИБГ-3, ИБГ-41, ИБГ-42, стифун-4, стифун-5, стифун-6М, стифун-16, стифун-31, стифун-32. Также в работе применяли биорегуляторы «эпин-экстра» (24-эпибрасинолид, ННПП «НЭСТ М»), новосил (тритерпеновые кислоты, Новосибирский институт органической химии СО РАН). Качественная и количественная оценка состава многокомпонентных РРР проводилась на предварительных этапах исследований с использованием методов высокоэффективной жидкостной хроматографии, масс-спектрометрии, ИК-, ЯМР-спектроскопии, иммуноферментного и элементного анализа, спектрофотометрии. Содержание свободных форм фитогормонов ЦК, АБК и ИУК определяли методом непрямого твердофазного ИФА (Кудоярова и др., 1986). Проводили оценку митотической активности меристематических клеток (Паушева, 1998), цитогенетических параметров (Блиновский и др., 1992), морфометрических параметров ядрышек в ядрах интерфазных меристематических клеток (Bloom, Goodpasture, 1976). Количественное определение свободных аминокислот проводили на аминокислотном анализаторе «Hitachi 835» (Япония). Локализацию и активность Mg²⁺-активируемой АТФазы (КФ 3.6.1.3) в рас-

тительных клетках оценивали по методу Вахштейна и Майзеля (Wachstein, Meisel, 1957). Содержание агглютинина зародыша пшеницы (АЗП) определяли методом непрямого конкурентного иммуноферментного анализа (ИФА) (Хайруллин и др., 1992). Активность протеиназ и их ингибиторов определяли по гидролизу синтетического субстрата N, α -бензоил-DL-аргинин-4-нитроанилида (БАПНА) (Erlanger, 1961). Количественное содержание тяжелых металлов определяли с использованием атомно-абсорбционного спектрофотометра с пламенным атомизатором AAS-30 (Carl Zeiss, ГДР). Транскрипционную активность генов фитохелатинсинтазы риса PCS1 - NC_008396 (NCBI) и белка холодового шока CSP5 (гомологичный гену AJ132903.1) оценивали методом RT-PCR в режиме реального времени с использованием пары красителей FAM/ROX и технологии межпраймерного переноса флуоресцентной резонансной энергии на приборе iCycler iQ (Bio-Rad, США) (Чемерис и др., 2005). Экологическая оценка PPP включала использование показателя индекса токсичности оцениваемого фактора (ИТФ) (Кабилов и др., 1997).

Результаты и обсуждение

На первом этапе исследований был проведен скрининг изучаемых PPP на ростстимулирующую, антистрессовую, фунгицидную активность с использованием широкого диапазона их концентраций. На основе полученных результатов для практического применения в растениеводстве были выбраны оптимальные концентрации по совокупности параметров: ростстимулирующая активность, фунгицидные и антистрессовые свойства, способность максимально увеличивать продуктивность растений, низкая себестоимость получения. Следует отметить, что у части исследованных препаратов была выявлена более выраженная ростстимулирующая активность, у других – фунгицидная. В то же время практически все препараты проявляли антистрессовые свойства в условиях водного дефицита, хлоридного засоления, токсического действия солей тяжелых металлов, гипотермии. Установленная высокая рострегулирующая активность изучаемых PPP была сопряжена с изменением гормонального статуса растений. Так, на растениях яровой пшеницы это выражалось в изменении содержания фитогормонов АБК, ИУК, цитокининов в корнях и побегах. Показателем для оценки их защитного действия на растения пшеницы в условиях дефицита влаги и солевого стресса может служить предотвращение стресс-индуцированного накопления в них АБК и увеличение содержания цитокининов в корнях. При обработке семян PPP увеличивали содержание лектинов в растениях пшеницы, клубней картофеля - вызывали продолжительное повышение активности ингибиторов трипсина в тканях. Применение PPP приводило к снижению распространенности и интенсивности развития возбудителей корневых гнилей, бурой ржавчины, мучнистой росы на посевах пшеницы, фузариоза и альтернариоза картофеля, а также уменьшало пораженность клубней фитофторозом, мокрыми гнилями и паршой обыкновенной. Изучаемые PPP активно влияли на метаболические процессы растений, синтез и транспорт соединений, участвующих в формировании защитных реакций. PPP увеличивали активность амилаз, протеиназ и их ингибиторов у растений пшеницы и в определенной степени предотвращали ростингибирующее действие хлорида натрия и ацетата кадмия. Специфичность изменений уровня отдельных свободных аминокислот при действии исследованных PPP в условиях ТМ-стресса у пшеницы может свидетельствовать об их участии в активации защитно-приспособительного потенциала растений. PPP как на основе растительного сырья, так и брассиностероидов существенно снижали уровень хромосомных нарушений в условиях токсического действия солей тяжелых металлов. Наряду с антистрессовыми свойствами PPP отмечалась стабилизация митотической активности растительных клеток. При их действии происходило снижение накопления тяжелых металлов в корнях, побегах культурных растений. Уменьшение содержания кадмия в побегах риса под влиянием PPP при экспозиции проростков на растворе ацетата кадмия сопровождалось снижением экспрессии гена фитохелатинсинтазы PCS1, индуцированной кадмием. Увеличение экспрессии гена CSP5 у растений капусты при применении PPP в условиях действия гипотермии было сопряжено с предотвращением стресс-индуцированного ингибирования роста растений. Регуляторы роста не проявляли ингибирующее действие на рост и развитие бактерий, водорослей, беспозвоночных, не оказывали общетоксическое действие на организм млекопитающих, не обладали сенсibiliзирующими свойствами при естественном пути поступления в организм, не влияли на формирование клеточного и гуморального иммунитета.

Заключение

Исследованные PPP семейства «стифун» являются препаратами с оптимальными экотоксикологическими характеристиками, обладают полифункциональным действием, сочетая рострегулирующую, фунгицидную и антистрессовую активности.

Литература

1. Методические рекомендации по комплексной оценке генетического риска применения фиторегуляторов в растениеводстве // Блиновский И.К., Хрусталева Л.И., Андреева Г.Н. и др. / под ред. В.С. Шевелухи. М.: Изд. МСХА. 1992. –28 с.
2. Кабиров Р.Р., Сагитова А.Р., Суханова Н.В. Разработка и использование многокомпонентной тест – системы для оценки токсичности почвенного покрова городской территории // Экология. 1997. № 6. С. 408 – 411.
3. Кудоярова Г.Р., Веселов С.Ю., Еркеев М.И. и др. Иммуноферментное определение содержания индолилуксусной кислоты в семенах кукурузы с использованием меченых антител // Физиол. растений. 1986. Т. 33. Вып. 6. С. 1221-1227.
4. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. - М.: Агропромиздат. 1988. – 271 с.
5. Хайруллин Р.М., Шакирова Ф.М., Безрукова М.В., Ямалеев А.М. Использование твердофазного конкурентного иммуноферментного анализа для определения содержания лектина в семенах и проростках пшеницы // Прикл. биохимия и микробиол. 1992. Т. 28. Вып. 3. С. 468-474.
6. Чемерис А.В., Никоноров Ю.М., Чемерис Д.А., Гарафутдинов Р.Р., Романенкова М.Л., Матниязов Р.Т., Гималов Ф.Р., Малеев Г.В., Вахитов В.А. Детекция в реальном времени специфических фрагментов ДНК или РНК с помощью основанных на FRET-эффекте полимеразной, лигазной и гибридизационной цепных реакций // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии. 2005. Т. 1. N. 2. С. 5-14.
7. Bloom S.E., Goodpasture C. An improved technique for selective silver staining of NOR's in human chromosomes // Human. Genet. 1976. V. 34. P. 199-206.
8. Wachstein, M., Meisel, E.: Histochemistry of hepatic phosphatases at a physiologic pH with special reference to the demonstration of bile canaliculi // Amer. J. clin. Path. 1957. V. 27. P. 13–23.

COMPREHENSIVE ESTIMATION OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF NATURAL PLANT GROWTH REGULATORS

Yakhin O.I., Lubyaynov A.A., Yakhin I.A., Kalimullina Z.F., Gareeva G.B., Markelova E.M.,
Batraev R.A., Kabirov R.R., Fazlutdinova A.I., Ishtimirov E.I., Khalilova D.I.,
Shaydullina G.F., Suleimanova R. V., Kadyrov F.F.

plant growth regulators, physiological activity, stress, hormones, amino acids, gene expression, productivity

The results of long-term studies of plant growth regulators of "stifun" group are presented. These PGRs are preparations with optimal ecotoxicological characteristics, polyfunctional action, growth regulating, fungicidal and anti-stress properties.

DORMANT RECALCITRANT SEEDS UNDER TEMPERATURE STRESSAzarkovich M.I.¹, Gumilevskaya N.A.²¹Timiryazev Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Sciences, Botanicheskaya str., 35, Moscow, 127276, Russia, E-mail: m-azarkovich@ippras.ru²Bach Institute of Biochemistry, Russian Academy of Sciences, Leninskii av., 33, Moscow, 119071, Russia*stress tolerance, seed dormancy, recalcitrant seeds, dehydrins, heat shock proteins*

Plant seeds are a unique object for studying the mechanisms of tolerance and adaptation to abiotic stresses. The seeds could not escape unfavorable environmental conditions but must adapt to overcome them, to retain a capability of germination, and to fulfill their physiological destination, i.e., species preservation and distribution. Furthermore, in seeds the developmental program of the individual plant is switched over from embryogenesis to germination; in the periods of seed development and germination, seed embryos, being subjected to the action of unfavorable conditions, must change cell activity on the level of gene expression and induce the synthesis of anti-stress proteins to protect themselves and overcome stress effects. On the other hand, embryos have to provide expression of genes for proteins required for further development, i.e., germination per se.

The mature horse chestnut (*Aesculus hippocastanum* L.) seeds are not tolerant to dehydration (i.e., belong to the recalcitrant seed type), but they are resistant to long cold stress, for instance, during winter in the central Russia when seeds are under the snow cover. The second biological peculiarity of horse chestnut seeds is that they are in the state of deep dormancy, i.e., they are incapable of germinating under favorable conditions without prior prolonged incubation at low above-zero temperatures and high water content, known as stratification.

The analysis of horse chestnut seed proteins made it possible to reveal a number of unique characteristics of their proteome, which distinguish recalcitrant horse chestnut seeds from the majority of orthodox seeds and is evidently related to the specific features of their physiological behavior. These characteristics include extremely low content of globulins, predominance of water-soluble proteins located in the cytosol, and the high level of non-compartmentalized heat-stable proteins [1, 2].

The presence of heat-stable proteins (i.e., proteins resistant to high-temperature denaturation) in horse chestnut seeds is the most interesting feature of the object of our study. The results obtained demonstrated that heat-stable proteins accumulate during maturation of horse chestnut seeds and are present in freshly picked seeds in considerable amounts. These proteins account for more than 30% of soluble cytosolic proteins of the axial organs and most of soluble proteins of cotyledons (more than 80%). It is possible that in some seeds certain heat-stable proteins may function as storage deposits, being a source of nitrogen for the seedling. The involvement of heat-stable proteins in some other specific functions related to their extreme temperature resistance, characteristic amino acid composition, and high cellular content cannot be ruled out. The interest in heat-stable proteins is further stimulated by the fact that this group encompasses the so-called late embryogenesis abundant (LEA) proteins, or dehydrins [3], which are viewed as factors of tolerance to desiccation for orthodox seeds. The lack of resistance of recalcitrant seeds to drying was thought to be the result of the absence of dehydrins. Subsequent studies, however, demonstrated that dehydrins are present in the fraction of heat-stable proteins in recalcitrant seeds of many woody species of the temperate climatic zone, including those of horse chestnut, but they were not found in species inhabiting humid tropics. This raises the question of the function performed by dehydrins in recalcitrant seeds.

In order to identify and characterize stress-induced dehydrin-like polypeptides in mature recalcitrant horse chestnut seeds, we analyzed the fraction of cytosolic heat-stable proteins isolated in

the period of seed dormancy and germination. In our experiments, in tissues of dormant seeds, dehydrin was identified by immunoblotting as a single bright band of the polypeptide with a mol wt of about 50 kD [4]. During radicle emergence, not only the fraction of heat-stable proteins was reduced but also the proportion of dehydrins in it decreased. Apparently, recalcitrant seed germination is accompanied by dehydrin disappearance, like this occurs during orthodox seed germination.

Since horse chestnut seeds contain along with heat-stable proteins numerous heat-sensitive proteins, it was of importance to elucidate whether dehydrin-like proteins are present among the latter. Nobody analyzed this protein fraction for the presence of dehydrin-like proteins. In the fraction of heat-sensitive proteins of horse chestnut seeds, we detected a component with a mol wt of 80 kD [4], which cross-reacted with anti-dehydrin antibody, i.e., was immunologically revealed as dehydrin-like protein. The analysis of different subcellular protein fractions of axial organs, cotyledons, and cotyledon petioles showed that both 50-kD dehydrin and 80-kD dehydrin-like protein could be detected in the total homogenate protein

However, dehydrins comprise only a small part of heat-stable proteins of recalcitrant seeds. The functions of other heat-stable proteins accumulating in horse chestnut seeds in great amounts during dormancy and germination, the reasons for their extreme heat resistance, and their relation to the low temperature action during stratification remain unclear. These questions are of great interest and require further study.

We believe that the presence in the proteome of horse chestnut seeds of hydrophilic proteins capable of holding moisture may be related to the recalcitrant character of these seeds. Heat-stable proteins also promote the resistance of highly watered seed to cold stress under the conditions of stratification, thereby keeping the embryo viable. From our point of view, the mere presence of a large amount of heat-stable proteins in dormant recalcitrant horse chestnut seeds is of great interest.

The assessment of translational activity demonstrated the presence of the competent translation machinery in the cells of axes and cotyledons of dormant horse chestnut seeds, which did not require additional activation and was capable of ensuring protein synthesis during stratification [2].

We demonstrated that *de novo* protein synthesis does occur in the course of stratification, even though its level is insufficient for overcoming dormancy and initiating germination. The protein synthesis in isolated axes does not depend on transcription and, it is only insignificantly changed qualitatively and quantitatively during stratification until the start of germination. To evaluate whether the potential protein-synthesizing capacity, detected in axis and cotyledon incubated at 28°C, is realized during stratification, the time of exposure to labeled amino acid was increased from 4 to 24, 48, and 64 h. It turned out that axes and cotyledons isolated from dormant and stratified seeds could absorb labeled amino acid and incorporate it into proteins not only at 28°C but also at 5°C, i.e., at a temperature of stratification. The set of polypeptides synthesized at both temperatures was similar. Thus, protein synthesis can occur in seeds during their long-term cold stratification.

The analysis of heat shock action on gene expression in embryo tissues in dormant horse chestnut seeds [5] demonstrated translation activation leading to the induction of a wide set of heat-shock protein synthesis at the maintenance of the bulk of normal (non-shock) cellular protein synthesis. Due to this specific embryo response to heat shock, at early stages of germination and even under unfavorable conditions, embryo cells retain a capability of continuation or supporting on the sufficient level of the synthesis of proteins required for cell activity switching over to new developmental program, from embryogenesis to germination, and thus increase the reliability of germination. We believe that the absence of discrimination of non-heat-shock mRNA translation during heat shock is specific for embryo tissues and could be considered an additional mechanism facilitating seed adaptation to unfavorable environmental conditions and successful germination.

Horse chestnut seeds survive successfully (and even require for deep dormancy release) the period of long cooling (18–22 weeks), retaining the high water content in their cells, and thus they are well adapted to overcome or correct damages arising under these conditions. However, according to current knowledge, heat-shock proteins just fulfill this protective function. Therefore, it might

be that, in mature dormant horse chestnut seeds, some amounts of required heat-shock proteins are already present. These heat-shock proteins could be synthesized and accumulated under the influence of elevated temperatures in the embryo cells during seed development or after their falling, i.e., in response to heat shock, and they were preserved in the cells after seed entry into deep dormancy in the metabolically active state; they could improve embryo tolerance to unfavorable environmental conditions during stratification and thus increase seed viability.

The work was supported by Presidium of RAS (program Molecular and Cell Biology)

References:

1. Gumilevskaya N.A., Azarkovich M.I., Komarova M.E., and Obroucheva N.V. Proteins of Axial Organs of Dormant and Germinating Horse Chestnut Seeds: 1. General Characterization // Russian Journal of Plant Physiology. 2001. Vol. 48. pp. 1–11.
2. Azarkovich M.I. and Gumilevskaya N.A. Proteins of Cotyledons of Mature Horse Chestnut Seeds // Russian Journal of Plant Physiology. 2006. Vol. 53. No 5. pp. 629–637.
3. Allagulova Ch.R., Gimalov F.R., Shakirova F.M., and Vakhitov V.A. Dehydrins in Plants: Structure and Estimated Functions // Biokhimiya. 2003. Vol. 68. pp. 1157–1165.
4. Gumilevskaya N.A., Azarkovich M.I. Identification and Characterization of Dehydrins in Horse Chestnut Recalcitrant Seeds // Russian Journal of Plant Physiology. 2010. Vol. 57. No. 6. pp. 859–864.
5. Azarkovich M.I., Gumilevskaya N.A. Response of Dormant Recalcitrant Horse Chestnut (*Aesculus hippocastanum* L.) Seeds to Heat Shock // Plant Stress. 2012. Vol. 6 (1). pp. 14–19.

**INCREASING THE EFFICIENCY OF SOIL PHYTOREMEDIATION
POLLUTED BY PESTICIDES BY USING DERIVATIVES OF OKSANE**

Baizhumanova R.¹, Seisenbai Ch.², Kalugin S.¹, Nurzhanova A.²

¹al-Pharabi Kazakh National University, 71 al-Pharabi, Almaty, 050038, Kazakhstan,

E-mail: kalugin_sn_org@mail.ru

²Institute of Plant Biology and Biotechnology, 45 Timiryazev str., Almaty, 050040, Kazakhstan.

E-mail: gen_asil@mail.ru

phytoremediation, organochlorine pesticides, growth regulators, wild plants

Introduction

Phytoremediation is biotechnologically cleaning soil and water contaminated by xenobiotics using of plants [1-2]. In economic terms phytoremediation has advantages over the "chemical" and "mechanical" methods of soil remediation because its implementation not intended major investments and running costs. The development phytoremediation soil contaminated by pesticides aroused that Kazakhstan as "heritage" from the disintegrated USSR got the numerous "hot spots" - the territory of the former storehouses obsolete pesticides and adjacent to them land. These "hot spots" are a danger to the environment and human.

The strategy for this project was using growth regulator for increase of phytoextraction potential of pesticide-tolerant wild plants.

Materials and Methods

Objects were five species (*Amaranthus retroflexus*, *Artemisia annua*, *Ambrosia artemisiifolia*, *Xanthium strumarium* and *Cucurbita pepo ssp. pepo*). *C. pepo ssp. pepo* is hyperaccumulator of organochlorine pesticides [3].

In field sites around the territory of the former storehouse's pesticides were divided on sites of size of 1x1 for each plant species. 100 kg of soil was used to form each site. Initial soil pesticide concentration was 7,769 $\mu\text{g kg}^{-1}$. The main pollutants in sites were the metabolites of 4,4'-DDE (3,867 \pm 240 $\mu\text{g kg}^{-1}$) and 4,4'-DDT (3,902 \pm 297 $\mu\text{g kg}^{-1}$).

At one site, plants were grown on polluted pesticides soil with growth regulator (0,0001% 2,2'-semicarbazone dimetiloksan-4-one) and other site plants were grown on polluted pesticides soil without growth regulator. Control was the polluted pesticides soil without plants/growth regulator and polluted pesticides soil without plants, but with growth regulator.

Plants had treatment with growth regulator in the period of seedlings. The growth regulator (2,2'-semicarbazone dimetiloksan-4-one) synthesized us the new substance in laboratory. It is shown that substance at the concentration 0.0001% has ability of increasing the biomass plants compare with control [4].

Residual concentrations of organochlorine pesticides in soil and plant tissue were determined by using a gas chromatograph (Zvet 550) with an electron capture detector.

As estimated criteria of accumulative ability of plants following parameters were used: the residual amount of pesticides in above-ground and root of plants, in $\mu\text{g kg}^{-1}$; phytoextraction (was calculated as accumulation of pesticides in above-ground or root (the residual amount of pesticides in tissue of plants multiplied on wet weight), in μg ; and translocation factor was calculated as [SDDT] (above ground)/ [SDDT] (in roots) to reflect the amount of contaminant that is transported to the shoots with respect to the amount that is in the roots.

The statistical processing of our data was carried out using MS EXCEL software.

Results

The migration process of organochlorine pesticide from root to aboveground depends on their hydrophobicity. Metabolite 4,4-DDT (log Kow 5.5) less hydrophobic than 4,4-DDE (log Kow 6.9). Is believed that metabolite DDE 4.4 less adsorbed in the aboveground than 4,4-DDT [5].

In our studies confirmed that plants accumulate in vegetative organs more metabolite 4,4-DDT than the metabolite 4,4-DDE. The main body of the accumulation of pesticides is the root system (Tabl 1).

Table 1 - Pesticide concentrations and mass in plants from two test plots at hot spots; one test plot had no regulator of growing and one test plot was with regulator of growing

Samples	Vegetation	Plant mass (kg)	Pesticide concentration ($\mu\text{g kg}^{-1}$)		Phyto extraction (μg)
			4.4'DDE	4.4'DDT	
<i>Cucurbita pepo ssp. pepo</i>					
Pol. soil	Aboveground	0.269	229 \pm 38	289 \pm 5	140
	Root	0.002	430 \pm 14	670 \pm 48	2
Pol. soil + SC	Aboveground	0.568	178 \pm 22	190 \pm 18	209
	Root	0.005	488 \pm 24	425 \pm 27	5
<i>Xanthium strumarium</i>					
Pol. soil	Aboveground	0.021	242 \pm 33	345 \pm 74	12
	Root	0.014	1122 \pm 47	946 \pm 69	29
Pol. soil + SC	Aboveground	0.036	322 \pm 12	542 \pm 22	31
	Root	0.016	1380 \pm 124	750 \pm 25	35
<i>Ambrosia artemisifolia</i>					
Pol. soil	Aboveground	0.021	140 \pm 111	240 \pm 174	8
	Root	0.012	1190 \pm 138	627 \pm 224	22
Pol. soil + SC	Aboveground	0,034	221 \pm 42	142 \pm 10	12
	Root	0,013	1059 \pm 49	1100 \pm 94	28
<i>Amaranthum retroflexus</i>					
Pol. soil	Aboveground	0,073	85 \pm 3	100 \pm 7	14
	Root	0,020	260 \pm 15	220 \pm 11	9
Pol. soil + SC	Aboveground	0.075	105 \pm 47	125 \pm 9	17
	Root	0.024	321 \pm 23	127 \pm 25	11
<i>Artemisia annua</i>					
Pol. soil	Aboveground	0.039	76 \pm 9	66 \pm 12	6
	Root	0.003	641 \pm 45	541 \pm 32	4
Pol. soil + SC	Aboveground	0.041	90 \pm 3	102 \pm 47	8
	Root	0.004	820 \pm 62	762 \pm 114	6
Pol. Soil – polluted soil SC –2.2 '-semicarbazone dimetiloksan-4-one					

Among the five plant species included in the study, *A.annua*, *A. artemisifolia* and *X.strumarium* showed the highest pesticide accumulation ability including all plant biomass. *C. pepo ssp. pepo* and *A.retroflexus* showed the highest translocation factors for accumulating pesticides in aboveground plant tissue.

Application of growth regulator resulted in rising plant biomass and increased percentage phytoextraction of pesticides. *X. strumarium* phytoextraction increased 41 to 66 μg pesticides, *A.*

artemisifolia increased from 30 to 40 µg, *A. retroflexus* increased from 23 to 28 µg and *C. pepo ssp. pepo* increased from 142 to 214 µg. Species *A. annua* had low biomass production in this study and did not increase phytoextraction with added growth regulator.

These results are consistent with the literature that to enhance bioavailability of organochlorine pesticides in system «soil - plant" necessary to select the favorable conditions [6].

Conclusion

The adding of growth stimulator to the pesticide-polluted soil in the period of seedlings increases the biomass of plants, phytoextraction of pesticides and their migration in system “soil – root – aboveground”. This information can be used for developing technologies of pesticides phytoremediation of contaminated soils.

References

1. Cunningham S.D., Anderson T.A., Schwab A.P, Hsu F.C. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants// *Advances in Agronomy*. – 1996. – Vol. 56. – P.55-114.
2. Pascal-Lorber S., Laurent F. Phytoremediation Techniques for Pesticide Contaminations // *Alternative Farming Systems, Biotechnology, Drought Stress and Ecological Fertilisation, Sustainable Agriculture Reviews 6*. E. Lichtfouse (ed.). – 2011. – Springer Science + Business Media. – P. 77-105.
3. White J. Differential bioavailability of field-weathered p,p'-DDE to plants of the Cucurbita and Cucumis genera // *Chemosphere* –2002. – Vol. 49. – P.143-152.
4. Mitrofanova A., Baizhumanova R., Bazhakanova S. New heterocyclic plant growth stimulants for phytoremediation technology clear the land from persistent organic pollutants // *Inter. scientific conf. of students and young scientists "World of science"*. – 2012. – Almaty: KazNU. – P. 10-11.
5. Raina V., Suar M., Singh A. et.al.. Enhanced biodegradation of hexachlorocyclohexane (HCH) in contaminated soils via inoculation with *Sphingobium indicum* B90A // *Biodegradation*. – 2008. –Vol.19. –P.27-40.
6. Dowling D.N., Doty S.L. Improving phytoremediation through biotechnology // *Current Opinion in Biotechnology* – 2009. – Vol.20. – P.204-206.

SI-RICH MINERAL ZEOLITE STIMULETES GROWTH PROCESSES AND INCREASES PLANT RESISTANCE TO CADMIUM STRESS

Balakhnina T.I.¹, Bulak P.², Matichenkov V.V.¹, Kosobryukhov A.A.¹, Włodarczyk T.M.²

¹Institute of Basic Biological Problems, Russian Academy of Sciences, Institutskaja 2, Pushchino, Moscow Area, 142290, Russia, E-mail: tbalakhnina@rambler.ru

²Institute of Agrophysics, Polish Academy of Sciences, 20-290, Lublin, Poland, E-mail: teresa@demeter.ipan.lublin.pl

antioxidant enzymes; cadmium; oxidative destruction; silicon; zeolite

Introduction

Cadmium (Cd²⁺) is one of the most dangerous heavy metals that can accumulate in the plant tissues. It is extremely toxic to plants, inhibits seed germination, the growth of seedlings, and changes the intensity and direction of many metabolic processes in the plant cells. One of the non-specific reactions in the development of cadmium stressed plants are intensified oxidative processes in the cells, which are based on the formation of excessive amounts of reactive oxygen species (ROS) [1]. Searching for ways to improve the sustainability of living organisms to the actions of different stress factors is one of the most important problems in modern plant physiology and biochemistry. The important role of silicon (Si) in enhancing the growth, development, and in the weakening of biotic and abiotic stresses has been observed in a wide variety of plant species [2, 3, 4, 5]. The key mechanisms of the Si-mediated attenuation of destructive processes in higher plants are: the stimulation of the antioxidant system of plants, the complex formation of toxic metal ions with Si, the distribution of ions of toxic metals within the plant, etc. [4]. Application of active silicon to the soil, in particular, its' soluble and easily digestible by plants form, monosilicic acid, contributes to lower the intensity of the destructive processes in plants under the action of stress factors [5].

This research was undertaken to show that zeolite, a silicon-rich mineral, induces growth, biomass accumulation and resistance in barley *Hordeum vulgare* L., cv Bartom to the subsequent effects of different doses of cadmium.

Materials and Methods

Growth of the plants; Barley seeds (*Hordeum vulgare* L., cv. Bartom) were germinated and after that, a separate group of seeds was sown in pots filled with coconut shavings and zeolite with the following ratio of volumes: 90:10, 80:20 and 50:50 (v:v), respectively. Zeolite (brand DSP, ZeoTradeResource Ltd., Orlov region, Russia) contain: SiO₂ –74.0%, TiO – 0.52%, Al₂O₃ – 12.4%, Fe₂O₃ – 1.2%, MnO – 0.03, CaO – 2.5%, MgO – 1.1%, K₂O – 2.5%, Na₂O – 0.7%, P₂O₅ – 0.4 pH 6.5. The next group of germinated seeds was sown in pots filled with coconut shavings and peat (v:v), pH 6.5. The composition and concentrations of the nutrients in the peat were similar to those of the zeolite but without silicon. Since the main component of the zeolite of this brand is silicon (up to 74%), the plants which were grown on a substrate containing zeolite we called (+Si), without zeolite – (-Si). After two weeks of growth on a substrate, groups of plants, the contents of which were 0, 10, 20 and 50% zeolite, respectively, were used to evaluate the accumulation of mono- and polysilicic acids in the shoots and to estimate the growth processes of the roots and shoots, the concentration of chlorophyll in leaves and the photosynthesis rate.

For the evaluation of the plants' response to the effects of cadmium, the seedlings, those grown without zeolite and those the contents of which were 50% zeolite, were carefully removed from the substrate and placed in 500 ml pots (10 plants per pot) with distillate water (Cd 0 µmol) or an aqueous solution (450 and 1000 µmol) of Cd (NO₃)₂, pH 6.5. By this means, the following variants were prepared: (-Si); (-Si;+ Cd 450 µmol); (-Si;+ Cd 1000 µmol); (+Si);(+Si;+ Cd 450 µmol) and (+Si;+ Cd 1000 µmol).

Plant measurements: The concentrations of Si, P, K, Ca, Mg, Al and Fe in solutions prepared with shoot tissues were tested by ICP OES spectrometer Perkin Elmer Optima 5300 DV [8]. The content of soluble silicon in the shoots was analyzed by measuring the concentration of monosilicic and polysilicic acids after the seedlings had grown for two weeks on the substrate without and with zeolite as it was shown in [5]. The effect of zeolite on growth processes was evaluated in the same plants by measuring the biomass accumulation and the elongation of the roots and shoots. The development of a stress realizing system in the leaves was evaluated by measuring the intensity of the oxidative destruction processes which were determined by the concentration of the substances reacting with thiobarbituric acid (TBARs) and by the activity of enzymes superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX) glutathione reductase (GR) and guaiacol peroxidase (GPX) as it was shown in [6] after 2 and 24 hours of exposure in aqueous solutions of Cd(NO₃)₂.

Results

Adding the zeolite to the substrate (+Si) resulted in the accumulation of mono- and polysilicic acids in the shoots, increase growth in the length of the seedlings, biomass production, a decrease in TBARs contents, an increase in antioxidant enzymes SOD, APX, GR, and GPX activities in the leaves. The negative effects of Cd²⁺, which were reflected in the loss of chlorophyll contents and intensity of photosynthesis as well as higher contents of TBARs were observed in the (-Si) variants to a greater extent than in the (+Si)- plants. The activities of SOD, APX, GR and GPX increased in the barley leaves of (-Si) and (+Si)-seedlings with an increase of Cd²⁺ concentration in the acting solution. The values of the ratios between TBARs concentrations and the SOD, APX, GR and GPX activities in (-Si) variants were higher than in (+Si) plants both under optimal conditions and with Cd stress. This allows us to conclude that the application of Si-rich mineral zeolite at cultivation of barley stimulates growth processes and enhances plants' resistance to cadmium stress through a shift in the dynamic equilibrium between the rate of oxidative destruction and the activity of the antioxidant system in favor of the latter.

Discussion

In this study zeolite was used as a stimulating factor with a large (about 74%) silicon content available to the plants. Plant growth on the zeolite-enriched substrate led to the accumulation of monosilicic and polysilicic acids in the leaves' tissues. In this way, silicon enriched plants (+Si) were obtained, which, as we assumed, should respond to Cd stress differently than the control ones (-Si). The increase in the growth rate of (+Si)-plants in length and biomass production was observed especially during the first week of development. Zeolite had practically no influence on the chlorophyll concentration, but the photosynthetic rate after two weeks in (+Si)-plants was slightly lower than in (-Si)-plants. The exposure of the barley seedlings in the aqueous solutions of Cd(NO₃)₂ led to a decrease of the pigment contents in the leaves of both variants and was dependent on the Cd concentration in the acting solution; in the leaves of (+Si)-plants chlorosis, induced by Cd-stress, appeared less. The decrease in the rate of photosynthesis with the Cd stress in the leaves of (+Si)-plants was also expressed to a lesser extent compared with the (-Si)-plants.

Ma (1990) showed that there were no detectable difference in the CO₂ assimilation rate between the (-Si)- and (+Si)-plants [7]. The effect of Si on the photosynthetic rate is low under optimum growth conditions. However, under stress conditions the photosynthetic rate was higher in (+Si)-plants than in (-Si)-plants probably due to the Si-induced decrease in the transpiration rate. According to [9], there is a correlation between the intensity of photosynthesis and the transpiration rate. Under the conditions of our experiment, the accumulation of available Si in the tissues of the leaves could result in an increase in stomatal resistance and a reduction of the transpiration rate. The intensity of oxidative destruction in the leaves of (+Si)-plants was lower than that in (-Si)-plants. The intensity of oxidative destruction in (+Si)-plants under Cd stress staying at a lower level than that of (-Si)-plants may also be explained by the increase of antioxidant enzyme activities. In this work we observed that SOD, APX, GR and GPX activities increased in the leaves of (-Si) plants in response to cadmium stress with increasing doses of the acting stressor. Zeolite stimulated the system defensive against oxidative destructions; the activities of antioxidant enzymes in the leaves of (+Si)-

plants were higher than that of the (-Si) variant, but the increment in activity of these enzymes after exposition in the water solutions of Cd in the (+Si)-plants was lower. We assumed that this may be explained by the possibility of the silicon not only decreasing the uptake of heavy metal ions, whereby it reduces the transpiration rate and binds them into complexes and thereby reduces their negative effect.

Conclusion

Si-rich mineral zeolite stimulates growth processes and enhances the resistance of barley plants to the effects of cadmium at the earlier stages of stress development through a shift in the dynamic equilibrium between the rate of oxidative destruction and the activity of the antioxidant system in favor of the latter.

References

1. Balakhnina T.I., Kosobryukhov A.A., Ivanov A.A., Kreslavskii V.D. The Effect of Cadmium on CO₂ Exchange, Variable Fluorescence of Chlorophyll, and the Level of Antioxidant Enzymes in Pea Leaves // *Russian Journal of Plant Physiology*. 2005. V. 52 №1. P. 15–20.
2. Epstein E. Silicon // *Ann Rev of Plant Physiol. and Plant Mol. Biol.* 1999. V. 50. P. 641 – 664.
3. Ma J.F. Role of silicon in enhancing the resistance of plants to biotic and abiotic stresses // *Journal Soil Sci. Plant Nutr.* 2004. V. 50. P. 11–18.
4. Balakhnina T., Borkowska A Effects of silicon on plant resistance to environmental stresses. (Review) // *Int. Agrophys.* 2013. V. 27. №2. P. 225-232.
5. Balakhnina T.I., Matichenkov V.V., Włodarczyk T., Borkowska A., Nosalewicz M., Fomina I.R. Effects of silicon on growth processes and adaptive potential of barley plants under optimal soil watering and flooding // *Plant Growth Regul.* 2012. V. 67. P. 35 – 43.
6. Balakhnina T., Bennicelli R., Stępniewska Z., Stępniewski W., Borkowska A., Fomina I. Stress responses of spring rape plants to soil flooding // *Int. Agrophys.* 2012. V. 26. P. 347 – 353.
7. Ma J.F. Studies on beneficial effects of silicon on rice plants. Dissertation, Kyoto University. 1990.
8. Huang C.Y.L., Schulte E.E. Digestion of plant tissue for analysis by ICP emission spectroscopy // *Communications in Soil Science & Plant Analysis.* 1985. V.16. №9. P. 943–958.
9. Ali S., Farooq M.A., Yasmeeen T., Hussain S., Arif M.S., Abbas F., Bharwana S.A., Zhang G. The influence of silicon on barley growth, photosynthesis and ultra-structure under chromium stress // *Ecotoxicol Environ. Saf.* 2013. V. 89. P. 66-72.

PHOSPHORYLATION OF PHOTOSYNTHETIC ANTENNA LHCII INFLUENCES ITS MOLECULAR ORGANIZATION

Bednarska J.¹, Janik E.¹, Luchowski R.¹,
Mazur R.¹, Garstkab M.², Gruszecki W.¹

¹Department of Biophysics, Institute of Physics, Maria Curie-Skłodowska University,
20-031 Lublin, Poland

²Department of Metabolic Regulation, Institute of Biochemistry, Faculty of Biology,
University of Warsaw, 02-096 Warsaw, Poland

light-harvesting, phosphorylation, thylakoid

The light-harvesting complex of photosystem II (LHCII) is the most abundant membrane protein in the biosphere and it binds about half of the total pool of chlorophylls present in chloroplasts. Under normal light conditions LHCII functions as an antenna, which absorbs quanta of electromagnetic radiation from the visible and ultraviolet region of the spectrum, and then transfers excitation energy to the reaction center. Under light stress conditions, when the absorbed energy exceeds the amount which the photosystem can utilize, the antenna complex undergoes phosphorylation. This results in LHCII detachment from the PSII causing dynamic reorganization of the thylakoid membrane.

The subject of our research were bilayers formed with chloroplast lipids (DGDG and DGDG) modified with the LHCII complex in two forms phosphorylated (isolated from pre-illuminated spinach leaves) and non-phosphorylated (isolated from dark-adapted spinach leaves). The purpose of our studies was to determinate the molecular organization of the lipid-protein multi-bilayer under normal and light stress condition.

The results of our study, which were obtained by steady-state and time-resolved fluorescence spectroscopy, infra-red spectroscopy and diffractometry measurements indicate that both types of LHCII complexes, phosphorylated and non-phosphorylated, are organized in different types of structures inside the lipid bilayer. Non-phosphorylated LHCII creates trans-membrane structures, which constitute a kind of scaffold for the lipid bilayer in contrast to the phosphorylated complex which forms lamellar structures in plane of the membrane. Furthermore, spectroscopic analysis indicate that this type of aggregated structures are responsible for excess excitation energy quenching in high light condition.

**THE CHEMICAL COMPOSITION OF CALLUSAR CULTURE AND ROOTS
OF *RHODIOLA ROSEA* L. OF CARPATHIAN ORIGIN**

Calugaru-Spataru T.¹, CiocarlanbA.², Silion M.²

¹Institute of Genetics, Plant Physiology & Protection, Academy of Sciences of Moldova, Padurii str. 20, MD-2002, Chisinau, Republic of Moldova

²“Petru Poni” Institute of Macromolecular Chemistry of the Romanian Academy, Aleea Grigore Ghica Voda 41A, RO-700487 Iasi, Romania

rhodiola rosea, rhizome, callus, secondary metabolites

Introduction

Rhodiola rosea L. (Golden root) is a valuable medicinal that prevent tiredness, increase learning and memory capacity, prevent age related diseases, depression and sexual disorders [1]. *R. rosea* L. has shown also a wide range of curative effects: anti-arrhythmic, cardioprotective, liver protection, anti-oxidative protection at the cellular level, antitumor and attenuation of adverse effects after chemotherapy [1, 2].

The chemical composition of *R. rosea* extracts is very complex and contains several groups of compounds, including phenylpropanoids, phenyletanoids, monoterpenes, flavonoids, coumarins, and organic acids [2]. According to the European Pharmacopeia the quality of *R. rosea* extract depends of rosavin content, which is a marker compound of specie [2]. Due to rapidly growing demands of industry the collection of *R. rosea* plants from the nature increase at a rapid rate. An alternative source of *R. rosea* plants can be offered by its introduction in agriculture as well as the use of *in vitro* methods for the cultivation and propagation of plant cells and organs. For this reason, we initiated a multidisciplinary research to enable cultivation of *R. rosea* in Moldova and start with investigation on chemical composition of *R. rosea* rhizomes collected in the Carpathian Mountains of Romania. The second step was testing of UV radiation and elicitor (cinnamyl alcohol) influence on secondary metabolites accumulation in callusar culture of *R. rosea*. The present paper report the experimental data obtained in result of this researches.

Material and Methods

Biological materials. Seeds and rhizomes of *Rhodiola rosea* plants were collected at the beginning of September (2005) on Ineu Mountain, Eastern Carpathian massive of Romania, at the altitude of 1700-1800 m.

Propagation. Seeds after 30 days of stratification were germinated and used for plants multiplication *in vivo*. For rapid multiplication *in vitro* and callus initiation the sterilized buds from rhizomes of selected plants were used [6].

Extraction and analysis of secondary metabolites. The callus and rhizomes were extracted in accordance to the procedures described before [7]. The chemical composition of extracts was established by HPLC-MS method.

Results and Discussions

It is well known that *Rhodiola* species, including *R. rosea* are heterogeneous and this creates problems in correct identification of species for individual plants, especially those supplied as seeds from commercial sources or individual growers. At the beginning of our research, we had only seeds purchased or gifted by individuals, and which were supposed to be *R. rosea*. Because of their small dimensions it was impossible to establish the species appurtenance based on their morphologic appearance. The comparison of plantlets obtained from the seeds collected during our expeditions and those from other sources shown large morphological and biological differences. The plants obtained from collected seeds had characteristic oblong elliptic leaves, typical of *R. rosea*, and produced multiple stems. Experiences were set up to determine the optimal conditions for seed germi-

nation. The highest rate of seeds germination (95%) was achieved after 1 month of stratification which is the optimal one.

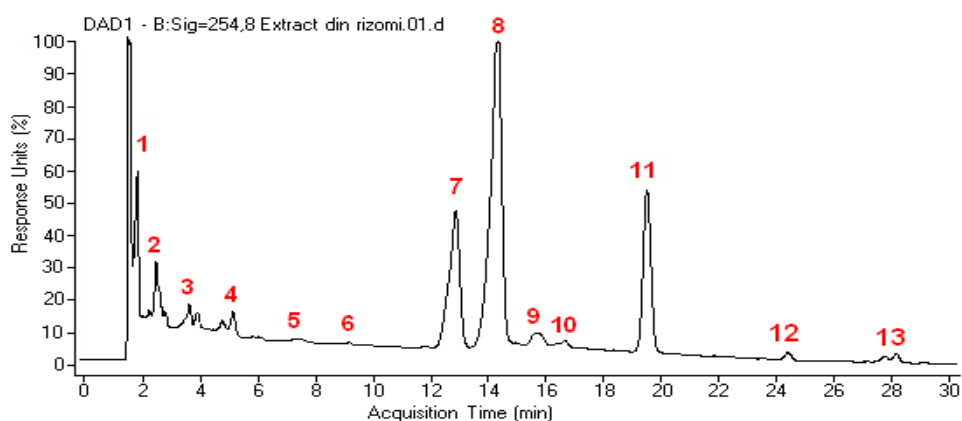


Figure 1 - The chromatogram of HPLC analysis of extract from rhizomes of *R. rosea*.

Peaks: 1 - gallic acid; 2 – salidroside; 3 and 4 - 4-methoxy cinnamyl-(6'-O- α -arabinopyranosyl)-O- β glucopyranoside; 5 and 6 – derivatives of compounds 3 and 4; 7 – rosin; 8 – rosin; 9 - cinnamyl-(6'-O- β -xylopyranosyl)-O- β -glucopyranoside; 10 – rosinidin; 11 – derivative of compounds 3 and 4; 12 and 13 – derivatives of compounds 3 and 4.

The plants growing in nature and those obtained artificially from germinated seed are very heterogeneous regarding to their morphological features. Analysis of extracts obtained from *R. rosea* rhizomes collected in Romanian Carpathian Mountains showed that all specific for *R. rosea* components are present. While the relative content of active components in rhizomes (Figure 3) of 4-years old plants, cultivated in Ungheni area (Moldova) was variable, as well as, growth rate of different individuals. Taking this into account, the most vigor individuals were selected and propagated *in vitro*.



Figure 2 - Callus culture of *R. rosea*



Figure 3 - One year rhizomes of *R. rosea*

The chemical compositions of the *R. rosea* genotypes growing in Siberian or North Russian mountains are well known [2, 4]. Our research is a first analysis of the *R. rosea* rhizomes collected in Romanian Carpathian Mountains. The results of HPLC-MS analysis of *R. rosea* rhizomes (Fig. 1) showed that those of Carpathian origin contain main markers compounds, salidroside, rosin, rosin, gallic acid, and six derivatives of 4-methoxy cinnamyl-(6'-O- α -arabinopyranosyl)-O- β glucopyranoside, found in rhizomes of Russian origin [2, 3, 4, 5].

It must be mentioned that at the moment for the first time it was experimentally demonstrated that low temperatures and ultraviolet irradiation are important factors that cause the accumulation of secondary metabolites in callus of *R. rosea* (Figure 2). Utilization of these factors, in combination with elicitors, increases the content of secondary metabolites in artificial callus culture of *R. rosea* [7].

Conclusions

1. The chemical composition of *R. rosea* rhizomes collected in Romanian Carpathian Mountains is comparable with this of Russian origin.

2. Application of low temperatures, UV irradiation and elicitors are important factors that provide synthesis and accumulation of secondary metabolites in callus of *R. rosea*.

References

1. Kelly G.S. *Rhodiola rosea*: A Possible Plant Adaptogen // *Altern. Med. Rev.* – 2001, N3, p. 293-302.

2. Саратиков А.С, Краснов Е.А. Родиола розовая (золотой корень). Томск: Изд. Томск, ун-та, 2004. с. 292.

3. Куркин В.А., Запесочная Г.Г. Химический состав и фармакологические свойства растений рода родиола (обзор) // *Хим.-фармац. журнал.* — 1986.-Т. 20, № 10.-С. 1231-1244.

4. Кирьянова А.А., Бондаренко Л.Т, Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Дубичев А.А. , Воронцов Е.Д. Определение биологически активных компонентов корневищ *Rhodiola rosea* // *Химия природ, соедин.*, 1991. -№3- С. 320-323.

5. Rohloff J. Volatiles from rhizomes of *Rhodiola rosea* L. // *Phytochemistry*, 2002. – vol. 59 - N6. - p. 655-661.

6. Dascalu A., Gang D., Calugaru T., Malinoc A., Toma S. *Rhodiola rosea* L. a valuable medicinal plant: problems of introduction // *Advanced Biological Technologies and their Impact on Economy, Proceedings of the Symposium*; Chisinau. – 2005. p. 112-117.

7. Calugaru-Spataru T., Silion M., Ciocarlan A., Dascalu A. Study of biotransformation compounds in callusar culture of *Rhodiola rosea* specie. *Revista - Lucrari Stiintifice* – vol. 56(2)2013, p. 57-60.

**THE IMPACT OF OIL AND METABOLITE ON TRANSLOCATION
OF “HEAVY” METALS INTO SUGAR-BEET *BETA VULGARIS***

Grigoriadi A.S., Bashirova R.M., Lopatin N.V.

Bashkir State University, ul. Zaki Validi 32, Ufa, Russia,
E-mail: nyshal11@yandex.ru, bashirovarm@mail.ru

oil soil, heavy metals, Beta vulgaris, metabolit, thiophen

Introduction

Oil can influence on plants both directly and indirectly. The direct influence can be realized due to the in-situ change of soil porousness and the decrease in redox-potential. The indirect influence can be realized due to the change of soil grain texture and the mobility of microelements. The special interest is represented by the oil of the brand Urals that contains large quantity of sulfur compounds – the predecessors of phitokhelatins (thiophen and others). Taking the foregoing into consideration, we have conducted the research of “heavy” metals translocation into the plants of sugar-beet *Beta vulgaris*.

Materials and Methods

The stages of our experiment are the following: 1) The monitoring; 2) The induction of oil into the topsoil (6 %); 3) The induction of “metabolite” – the isolate of symbiote *Scopulariopsis acremonium*; 4) The induction of oil into the topsoil (6 % + “metabolite”).

The content of “heavy” metals in the soil was determined according to the all-Union State Standard 30692-2000. The measures were taken from the nuclear-absorptive spectrometer AA-6200 Shimadzu.

The order of taking measurements is carried out according to the Instruction of maintaining the nuclear-absorptive spectrometer AA-6200 Shimadzu. The sample analysis is carried out twice minimum. The efficiency of translocation was estimated on the basis of determining:

- the bioconcentration factor (BCF) defined as the ratio of “heavy” metals concentration in the top soil and the concentration of “heavy” metal inside the ground;
- the translocation factor defined as the ratio of “heavy” metals concentration in the top soil and the concentration of “heavy” metal in the root system.

Results and Discussion

It is commonly known that sugar-beet is a hyper-absorber of lead, it has been noted in our experiment. In the controlled version, the maximum level of lead translocation factor is noted. Lead, iron and manganese transfer into the sugar-beet more actively in the black leached soils.

On the areas contaminated by oil, the changes in the nature of metal translocation are noted. Cadmium translocation becomes more intense into root crops by 3,68 times; zinc and manganese translocation increases at 42 % and 30 %.

The simultaneous influence of oil and metabolite changes the nature of metal translocation. The combined action of oil and germ culture activates translocation of cobalt, copper, zinc and iron that are self-existing microelements for this culture. At the same time, the lead translocation into plants decreases substantially; the cadmium translocation into plants doesn't change.

In the above-ground part of the plant, the maximum amount of cadmium is accumulated, and the amount of lead is less than in the root crops. The soil contamination by oil activates the translocation of lead, zinc, iron and especially cadmium (more than at 2 times) into the leaves compared to the control.

The induction of metabolite and oil into the soil causes activating the accumulation of self-existing microelements in the leaves, but it decreases cadmium accumulation. At the same time it is obvious that the induction of metabolite into the contaminated soil activates the accumulation of lead in the sugar-beet leaves.

The soil contamination by oil modifies the induction of metals into plants substantially. Some of these metals are self-existing. Thus, zinc having the influence on auxins synthesis is a constituent of 300 different enzymes of various groups that regulate the main processes of metabolism. In particular, zinc is a co-factor of mitochondrial alcohol dehydrogenase [1]. It is believed that zinc and auxins have directly-proportional relation. Besides, zinc has an impact on the permeability of cellular membranes. It is known that zinc is accumulated in plants, generally, in stems, leafstalks and veins of leaves.

At the same time, the translocation of cobalt into the sugar-beet decreases (more than by 90 %). The latter process seems to be the leading factor that restricts beet crop. It is known that cobalt influences on the accumulation of betalains *Beta vulgaris* [2]. The ions Co^{++} influence on enzymes interchange of the plant when inhibiting the synthesis of ethylene and peroxidase resolving of indoleacetic acid [3]. The ions of cobalt regulate the activity of Mg-chelatase [4], influencing on the accumulation of chlorophyll and on the initial stages of its formation. Cobalt-cofactor of noncorrin enzymes – noncorrin-cobalt-containing enzymes (methionine aminopeptidase, prolidase, nitrile hydratase, glucose isomerase, methylmalonyl-CoA carboxytransferase, aldehyde decarboxylase, lysine-2,3-aminomutase and others [5].

Usually the accumulation of cadmium and the accumulation of lead are closely connected with each other. It is shown by the example *Polygonum hydropiper* L., *Rumex acetosa* L., *Lolium perenne*, *Brassica juncea*, *Brassica napus*, *Helianthus annuus* [6, 7].

In our experiment we have shown that the dependency is clearly observed only in root crops. In the leaves there is no such a phenomenon.

It is known that the plants, in which metabolism is connected with the synthesis of great amount of sulfur compounds, accumulate cadmium more actively. Thus, it is shown that cabbage plants (*Brassica juncea* and *Brassica carinata*) are able to accumulate to 40 mg/kg of cadmium [8].

It is obvious that oil chelates bind cadmium in a differentiated way and make it more movable. Our results coordinate with the data of A. Sekara et al. [9] who showed that *Beta vulgaris* var. *cicla* L. accumulates cadmium in a greater degree than other plants (*Cucurbita pepo*, *Cichorium intybus*, *Phaseolus vulgaris*, *Hordeum vulgare*, *Brassica oleracea*, *Zea mays*).

Since the commercial value is presented by root crops, it should be kept in mind that in the areas contaminated by oil, the content of cadmium should be controlled. In future, it will be sensible to control the effect of foliar nutrition with cobalt salts in order to make good the deficit of cobalt that happens as a result of oil activity.

There are reasons to consider that thiophens (thiophurans) play the role of chelated substances that form compounds with cadmium. There are also reasons to use the combination of high-sulfur oil products with metabolite in the areas contaminated by lead.

References:

1. Gaither L.A., Eide D. Eucaryotic zinc transporters and their regulation// *BioMetals*. 2001. Vol. 14. P. 251-270.
2. Trejo – Tapia G., Jimenez- Aparicio A. Influence of cobalt and other microelements on the production of betalains and the growth of suspension cultures of *Beta vulgaris* // *Plant cell, Tissue and Organ Culture*. 2001. Vol. 67. P. 19-23.
3. Hansen H., Grossman K. Auxin – induced Ethylene Triggers Abscisic Acid Biosynthesis and Growth Inhibition // *Plant. Physiol*, November 2000. Vol. 124. P. 1437 – 1448
4. Walker C.J., Willows R.D. Mechanism and regulation of Mg-chelatase // *Biochemical journal*. 1997. Vol. 327. P. 321-333.
5. Kobayashi M., Shimizu S. Cobalt proteins // *European j. of biochemistry*. 1999. Vol. 261. P. 1-9
6. Sarwoko Mangkoedihardjo, Surahmida *Jatropha curcas* L. for Phytoremediation of Lead and Cadmium Polluted Soil // *World Applied Sciences J*. 2008. Vol. 4 (4). P. 519-522

7. Lai H. A., Lai K. T., Wai M. H. et al. Phytoremediation of Cd and Pb by Four Tropical Timber Species Grown on an Ex-tin Mine in Peninsular Malaysia // *World Academy of Science, Engineering and Technology*. 2010. Vol. 62. P.244-248.
8. Ahmed K. S.; Panwar B. S.; Gupta S. P. Phytoremediation of cadmium-contaminated soil by Brassica species// *Acta agronomica hungarica*. 2001. Vol.49, № 4. P. 351-360.
9. Sekara A., Poniedziaek M., Ciura J., Jedrszczyk E. Cadmium and Lead Accumulation and Distribution in the Organs of Nine Crops: Implications for Phytoremediation // *Polish J. of Environmental Studies*. 2005. Vol. 14, № 4. P. 509-516.

UDC 581.1

HOW PLANTS MANAGE LIGHT EXCITATIONS DRIVING PHOTOSYNTHESIS?

Gruszecki W.I.¹, Janik E.¹, Bednarska J.¹, Zubik M.¹, Puzio M.¹, Sowinski K.¹, Luchowski R.¹,
Grudzinski W.¹, Mazur R.², Garstka M.²

¹Maria Curie-Sklodowska University, Pl. Marii Curie-Sklodowskiej 1, 20-031 Lublin, Poland?

E-mail: wieslaw.gruszecki@umcs.pl

²University of Warsaw, Warsaw, Poland

Efficient activity of photosynthesis in plants is based upon operation of the antenna pigment-protein complexes which collect light quanta and transfer electronic excitations towards the reaction centers. Such an activity is very important under low light conditions but overexcitation, associated with illumination with strong light, can result in photo-damage of the photosynthetic apparatus. Plants have developed several strategies, during the biological evolution, to respond to overexcitation conditions. These mechanisms operate at all the organization levels, including the molecular level. The latter mechanisms are not fully understood and are a subject of intensive study in many laboratories around the world. We will provide an overview on the physiological mechanisms which operate in plants in order to manage light excitations driving photosynthetic reactions. We will also present the results of our recent studies which show that light-driven reorganization of the major antenna pigment-protein complex of plants, LHCII, results in quenching of excess excitation and therefore may serve as an element of overall photoprotective strategy in plants.

WHY CHLOROPLASTIC FERREDOXIN:NADP+ OXIDOREDUCTASE BINDS TO LIPIDS MODEL MEMBRANES STUDY

Grzyb J.M.¹, Łuczowska R.¹, Gieczewska K.²

¹Institute of Physics PAS, al. Lotników 32/46, 02-668 Warsaw, Poland

²University of Warsaw, Poland, E-mail: jgrzyb@ifpan.edu.pl

ferredoxin:NADP+ oxidoreductase, Langmuir-Blodgett monolayers, lipids

Introduction

Ferredoxin:NADP+ oxidoreductase (FNR) is a cyanobacterial and plant enzyme, involved in photosynthetic electron transfer. It catalyses synthesis of NADPH, using reduced ferredoxin as source of electrons in linear electron transfer chain [1]. It may also take part in cyclic electron transfer, interacting with cytochrome b6f complex or directly with thylakoid membrane [2]. In non-photosynthetic tissues isoforms of FNR play a role in biosynthetic pathways [3]. Cyanobacterial version of FNR has additional domain (CpcD-like), responsible for binding to phycobilisomes. It is suggested, that full length protein is important for cyclic electron transfer, while CpcD-like domain depleted FNR is fully functional in linear electron transfer [4].

The important question in full understanding of FNR activity in cyclic electron transfer is the mode of its interaction with membrane. We have already proved that FNR isolated from spinach binds directly to artificial membranes, showing that it attaches to monogalactosyldiacylglycerol (MGDG) and digalactosyldiacylglycerol (DGDG) in pH-dependent pattern [5]. Here we present the continuation of the research, using FNR enzyme from cyanobacterium, *Synechocystis sp.* PCC 6803, expressed and purified from *E.coli* expression system.

Materials and Methods

FNR gene was amplified from DNA, isolated from *Synechocystis* PCC 8030. Primers were designed for full length protein and for the version without N-terminal, CpcD-like domain. Obtained genes were cloned into pet28 vector, containing already MBP gene for better expression and solubility of hybrid proteins. Expression was carried on in *E.coli* (bl21).

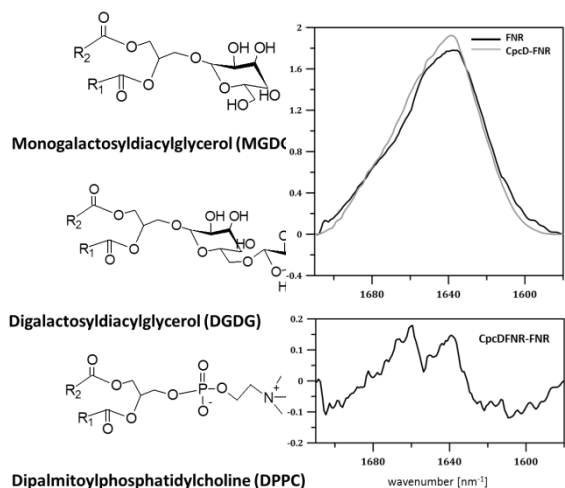


Figure 1 - Chemical structure of lipids used in presented study and comparison of Amid I (area normalized) of FNR and CpcD-FNR

MBP-FNR was purified on nickel column, and finally, the MBP-tag was removed by TEV protease digestion. Purity of FNR was checked by SDS-PAGE and UV/VIS spectrophotometry. Concentration of proteins were determined according to extinction coefficient of holoprotein.

Monolayers of lipids were formed on air-water interface by deposition of small volume of lipids in chloroform solution and protein solution was injected beneath monolayer. For more details about procedure see [5]. Three types of lipids were used - MGDG and DGDG (Lipid Products Ltd) and dipalmitoylphosphatidylglycerol (DPPC) came from Avanti Polar Lipids. Water phase was buffered with Mess/NaOH pH 5.0 or HEPES/NaOH pH 8.0,

depend on experiment variant. Surface pressure was monitored by Nima Technology tensiometer. Amid I was measured for deuterated proteins deposited on ATR crystal in FT-IR spectrometer (Bruker Co). with FTIR spectrometer Liposomes were prepared from DPPC as multilamellar vesicles by hydration of lipid film and following sonication. For gel filtration experiment the Superdex 75 5/150 column (GE Healthcare), connected to Akta Purifier system was used.

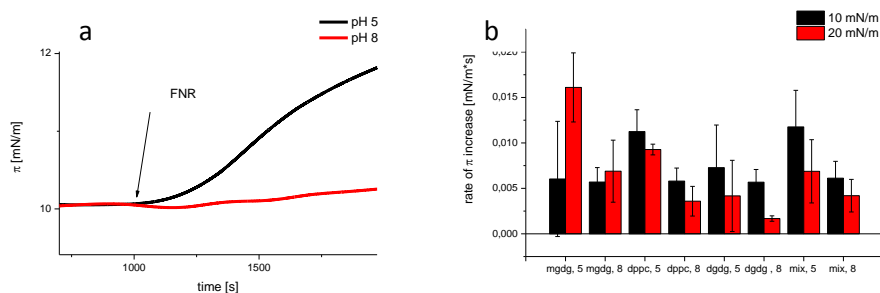


Figure 2 - Influence of FNR injection beneath lipid monolayers: a) examples of surface pressure change after FNR injection beneath MGDG monolayer created on interface between air and buffered water phase (25 mM Mess/NaOH, pH 5 or 25 mM Hepes NaOH, pH 8.0), and b) comparison of initial rate of surface pressure change after injection of FNR beneath monolayer of lipids (MGDG, DGDG, DPPC or mix – 30% MGDG/70% DGDG)

Results and Discussion

As previously for spinach FNR, we applied Langmuir-Blodgett (LB) technique to characterize FNR binding to selected lipids: DPPC, MGDG and DGDG. Chemical structures of lipids are shown in Fig.1. MGDG and DGDG are main constituent of thylakoid lipid pool. Although both are galactolipids, MGDG forms reversed hexagonal structure while DGDG is bilayer forming lipid. Due to its packing parameter, MGDG may facilitate protein incorporation and function into membrane [6]. DPPC, although not occurring in thylakoids, was used as control bilayer forming lipid. The mixture of MGDG/DGDG and MGDG/DPPC, corresponding to more natural situation, were included in the tests. Fig.2a presents typical record of change in surface tension, obtained after injection of FNR beneath monolayer of MGDG in two different pH conditions. Situation is similar as for spinach FNR [5]– for both pH values the enzyme was binding to the membrane, however interaction in pH 5 led to more significant change in surface pressure. For other tested lipids we also showed binding, however different in rates and total surface pressure changes (Fig.2b). There, our results suggest that binding to membrane is not directly dependent on lipid polar head group properties, but is modulated by this property, possibly determining available space between residues. Full length (containing CpcD-like domain) FNR was binding weaker in all tested cases, but with pH- and lipid-dependence as “short version” of the enzyme. Both proteins, as evidenced from FT-IR spectrum are similar in secondary structure (Fig. 1). Additional CpcD-like domain has theoretical pI about 9.9, than it was positively charged both at pH 5 and pH 8, what may suggest that protein overall charge is important for binding.

We tested also influence of membrane packing, here represented by different starting values of surface pressure (10 mN/m and 20 mN/m), finding that higher π delayed rate of protein incorporation as well as total change in π . The only exceptions were monolayers formed from pure MGDG, both at pH 5 and pH 8. It may suggest that higher available space between head group is important, because with higher membrane packing less protein molecules were incorporated in DGDG or DPPC. However, it also suggest that stability of membrane is equally important, since for higher surface pressure also the lateral mobility of lipids decrease. Detailed explanation of experiment with MGDG will need further studies. In general, interaction with membranes was faster and stronger at pH 5. Different pH conditions simulated changes observed in chloroplast during illumination, which influence membrane fluidity and structure [7] but may also change overall charge of protein molecule (should be close to 0 at pH 5 while negative at pH 8) as well as induce conformational changes of FNR [8].

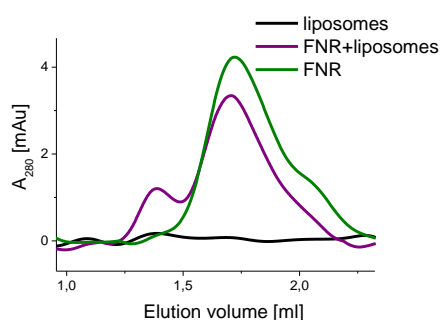


Figure 3 - Elution profiles of FNR and FNR incubated with DPPC liposomes. Separation on Superdex 75 10/300 (GE Healthcare) was monitored at 280 nm. At control run of liposomes alone no peaks were found, while in presence of liposomes FNR eluted also at volume corresponding to much higher mass.

Monolayer experiment suggested that FNR should be steadily bound to DPPC or DGDG – indeed, as shown in Fig.3, the FNR-liposome complex may be separated from free FNR by gel filtration. This observation may help in future in determination of binding constant. In case of MGDG, after longer incubation, decrease in surface tension was observed, however it was not clearly if correlated to destabilization of monolayer or detachments of protein molecules.

To sum up, we proved that FNR from *Synechocystis sp.*, sharing only 5% sequence homology but of almost identical secondary and tertiary structure with spinach FNR, also interact with model membranes of MGDG, DGDG and DPPC. The binding depends on pH, most probably by double mechanism, related to changes in membranes stability but also charge and structure of protein.

Acknowledgements

Presented work was financed by *Iuventus PLUS grant no 0166/IP/2011/71 from Ministry of Science and Higher Education, Poland. Measurements were partially performed in the NanoFun laboratories co-financed by the European Regional Development Fund within the Innovation Economy Operational Programme POIG.02.02.00-00-025/09*

References

1. Carrillo, N., and Ceccarelli, E., Open questions in ferredoxin-NADP⁺ reductase catalytic mechanism, *Eur. J. Biochem.*, 2003, vol. 270, pp.1900–15.
2. Bojko, M., Kruk, J., and Więckowski, S., Plastoquinones are effectively reduced by ferredoxin:NADP oxidoreductase in the presence of sodium cholate micelles Significance for cyclic electron transport and chlororespiration, *Phytochemistry*, 2003, vol. 64, pp. 1055–60.
3. Onda, Y., and Matsumura, T., Differential interaction of maize root ferredoxin: NADP⁺ oxidoreductase with photosynthetic and non-photosynthetic ferredoxin isoproteins, *Plant Physiology*, 2000, vol. 123, pp. 1037–45.
4. van Thor, J., and Jeanjean, R., Salt shock-inducible Photosystem I cyclic electron transfer in *synechocystis* PCC6803 relies on binding of ferredoxin: NADP⁺ reductase to the thylakoid membranes via its CpcD phycobilisome-linker homologous N-terminal domain, *Biochim. Biophys. Acta*, 2000, vol. 1457, pp. 129–44.
5. Grzyb, J., Gagoś, M., Gruszecki, W.I., Bojko, M., and Strzałka, K., Interaction of ferredoxin:NADP⁺ oxidoreductase with model membranes. *Biochim. Biophys. Acta*, 2008, vol. 1778, pp.133–42.
6. Schaller, S., Latowski, D., Jemiola-Rzemińska, M., Wilhelm, C., Strzałka, K., and Goss, R., The main thylakoid membrane lipid monogalactosyldiacylglycerol (MGDG) promotes the de-epoxidation of violaxanthin associated with the light-harvesting complex of photosystem II (LHCII), *Biochim. Biophys. Acta*, 2010, vol. 1797, pp. 414–24
7. Garab, G., Hierarchical organization and structural flexibility of thylakoid membranes. *Biochim. Biophys. Acta*, 2014, vol. 1837, pp. 481–94
8. Grzyb, J., Malec, P., Rumak, I., Garstka, M., and Strzałka, K., Two isoforms of ferredoxin:NADP(+) oxidoreductase from wheat leaves: purification and initial biochemical characterization, *Photosynth. Res.* 2008, vol. 96, pp. 99–112

**THE INFLUENCE OF TRACE ELEMENTS ON THE NITRATE REDUCTASE
AND PEROXIDASE ACTIVITY IN SUGAR BEET LEAVES UNDER
TEMPORAL WATER STRESS**

Lisnic S., Toma S., Coretscaia Iu.

Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection of the ASM, str. Padurii 20,
MD-2002, Chisinau, Moldova, E-mail: slisnic@rambler.ru

sugar beet, trace elements, nitrate reductase, peroxidase activity

Introduction

A full realization of the potential productivity of plants under unfavorable conditions of soil moisture can be achieved through modification of adaptive responses (tolerance) of plants to drought by increasing the accessibility of nutrients for plants, maintaining of the nitrate reductase activity during plant vegetation period at a high and stable level as a result of plant nutrition calibrated correctly with micro fertilizer Microcom-T and application of suspensions of microorganisms. Plants have resistance to adverse environmental factors by modifying various metabolic processes, such as: increased of antioxidant enzymes activity, increased proline content, changes in the assimilation of nitrogen, carbon and other nutrients. The soil microorganisms together with fertilizers cause changes in the interactions root zone and soil rhizosphere in conditions of nutrients imbalance in the soil [1-3].

The purpose of research was to identify patterns in the relationship between nitrate reductase and peroxidase activity in the leaves under seeds treatment of sugar beet (variety Baracuda) increasing concentrations of trace elements, from the complex of microelements Microcom-T, increasing concentrations of copper in the soil, the use of microorganisms (*Azotobacter chroococcum*, *Bacillus subtilis*) and temporal water stress.

Materials and Methods

In laboratory conditions was carried out short- term experience to determine (approximately) optimal concentration of trace elements in fertilizer Microcom-T for seed treatment to optimal growth and development of plants. Soil - calcareous chernozem. To each pot (500 g of soil) were added 100 mg active substance (NPK)/kg of soil. Variety of sugar beet - Baracuda . Treatment of seeds carried out by increasing concentrations of trace elements in preparation Microcom-T under the scheme: Control – 0; 0.01; 0.05; 0. 10; 0. 20; 0. 30; 0.50 and 1. 0%. In the vegetation phase of 4-5 veritable leaves, and in the period - 20 to 25 days after emergence of seedlings was determined nitrate and peroxidase activity. The increasing doses of copper in soil (mg Cu/kg soil): Control - 0; 5; 30; 60; 120; 250; 500; 1000 and 1500. In the period of 20 to 25 days after seedlings emergence was determined weight of seedlings, the activity of the nitrate reductase in the soil and nitrate reductase and peroxidase activity in the leaves. Experience in green house was carried out in the Mitcerlih pots with capacity of 22 kg. Soil - calcareous chernozem. In each pot was administrated basic fertilizer (NPK - 500 mg of active substance / kg of soil). Sugar beet seed treatment (Baracuda) with the preparation of micronutrients and microorganisms was performed 5 hours before setting up the experience. The concentration of trace elements in Microcom-T for seed treatment - 0.5 %, and 0.3 % - for foliar treatment. Foliar treatment of plants by microorganism's derivatives (metabolites) was conducted in intensive phase of plants growth and temporary water stress (35 % WHC) over 10 days. Under controlled conditions of soil moisture nitrate reductase and peroxidase activity, monosaccharide and sucrose content in leaves were determined after 10 days of water stress, after 10 - days of plants transferring under optimal soil moisture (70 % WHC). At the end of the vegetation was determined sugar beet root mass and sugar content in them. Nitrate reductase activity in soil was determined by Galstean and Marcosean [5], the nitrate reductase activity *in vivo* in leaves – by the method of Mulder, [4], peroxidase activity – by the method of Boiarchin [4], the

content of trace elements –using the AAS-1, the content of carbohydrates – by the method of Bertran [4].

Results and Discussion

In the pot experiment was established a relationship between the nitrate reductase activity in the leaves and the concentration of trace elements in solution under seed treatment by Microcom-T. The higher enzyme activity was under increasing concentrations of the Microcom-T to 0.3 - 0.5% and decreased at 1%. However, it should be noted that under concentration of the Microcom-T in 1% was observed, as a rule, the maximum accumulation of biomass of plants and, therefore, reducing the activity of the nitrate reductase is associated with the "dilution effect" of plants growth. Seed treatment with trace elements in complex with microorganisms usually marked the same pattern, with the only difference being that the primary process of the reduction of nitrate maintained at a high level in a wide range of concentrations of trace elements. It was revealed the relationship between the activities of nitrate reductase and peroxidase activity in leaves: increased activity of nitrate reductase in leaves is accompanied by a slight decrease in peroxidase activity, which indicates likely to improve the physiological condition of the plants in these conditions.

Under seed treatment by Microcom-T in combination with microorganism's peroxidase activity in the leaves is slightly higher compared with the processing of seeds by micronutrients, especially at the maximum concentration of trace elements in solution (1%). Simultaneously some changes in the processes of denitrification in soil were observed with Microcom-T plus microorganisms: the primary process of denitrification was reduced to a greater extent that may be associated with processes in the rhizosphere: root exudates reduce the primary process of denitrification, contribute to increase nitrates availability to plants. A slight increase in peroxidase activity and high activity of nitrate reductase in this variant was associated with a more intense accumulation of biomass plants.

It was noted that under low doses of copper in the soil (5 mg element / kg soil), the nitrate reductase activity in the leaves is much higher and is maintained up to 120 mg element / kg soil. The maximum enzyme activity was noted at a dose of 240 mg element / kg of soil, and was reduced at a dose of 500, significantly- reduced at a dose of 1000 and, especially at a dose of 1500 mg element / kg soil. From these data it can be concluded a considerable tolerance of sugar beet to high doses of copper in the soil (in the range of 30 - 300 mg / kg). This is confirmed by the data on peroxidase activity: the activity of the enzyme is reduced significantly at low doses of copper in soil (5mg/kg) and increases especially at a dose of 120 mg element / kg soil. Further contamination of soil by copper had little effect on the activity of peroxidase. It should be noted the changes in the primary process of denitrification in the soil with increasing copper content in the medium. At a dose of 5 mg element / kg soil nitrate reductase activity is slightly reduced, gradually decreases as the number is up to 60 mg / kg, sharply decreases with further increase in the dose, and at doses above 1000 mg / kg denitrification virtually ceased. Reduction of the denitrification process at relatively low doses of copper in the soil (up to 60 mg / kg) and high nitrate reductase activity in the leaves under these conditions indicate increase the availability of nitrate to the plants, intensification of plants metabolism, because in these variants was the greatest accumulation of biomass of sugar beet.

In the pot experiment, temporal water stress (35% WHC, 10 days) contributed to maintain nitrate reductase activity at a higher level under seed treatment with Microcom-T, and when combined with the use of microorganisms. More intensive reduction of nitrates in the leaves was also observed for foliar Microcom-T. Foliar treatment of plants with Microcom-T in combination with microbial metabolites maintained the primary process of nitrate reduction in leaves at a stable level while peroxidase activity was reduced. Treatment of seeds with Microcom-T alone and in combination with microorganisms, usually promoted a slight decrease in nitrate reductase activity of the soil, which, apparently, indicates an increase in the availability of nitrate for plants in these conditions. However some increase was noted in the denitrification process under treatment of plants with Microcom-T + microorganisms metabolites (metabolites of *Azotobacter chroococcum*+ *Bacillus subtilis*) in conditions of deficiency of water in soil. The average weight of root in a pot exper-

iment (at the end of the growing season) for foliar application of Microcom-T and the optimal conditions of soil moisture (70% WHC) was higher than the control with 12.1%, and in the moisture stress conditions - 14.8 % (the average weight of a root in control variants was respectively 470.3 and 445.5 g). Average weight of root increased respectively to 9.3 and 9.2% in variants Microcom-T + microbial metabolites. Treatment of seeds with Microcom-T increased root weight respectively to 8.6 and 16.1%, and the combination of the Microcom-T + microorganisms – to 10.1 and 13.4%. Unfavorable conditions of soil moisture led to a significant reduction in sucrose content at the end of the growing season of sugar beet roots. The sugar content in the roots at optimum soil moisture was 14.4%, while under water stress its content decreased with 0.7%. Foliar Microcom-T contributed to sucrose increasing at 0.5% under the optimum conditions of soil moisture and 1.1% during water stress. Microcom-T + microorganisms metabolites increased content of sucrose respectively to 0.3 and 0.9%, and under foliar treatment respectively 0.4 and 1.1%.

Conclusions

It was established a decrease in the primary process of denitrification under optimal doses of copper in soil (5 mg / kg) and an increase in nitrate reductase activity in the leaves of sugar beet. The application of Microcom-T alone or in combination with microorganisms or microbial metabolites is accompanied by the maintenance of nitrate reductase and peroxidase activities in the leaves at the higher and more stable level both under optimal water supply and under temporal water stress, which is apparently due to the increase availability of nitrate to plants, resistance of sugar beet to temporal water stress and an increase in the average weight of roots.

References

1. Menh M and Martin E. Mobilization of cadmium and other metals from two soils by root exudates of *Zea mays* L., *Nicotiana tabacum* L. and *Nicotiana rustica* L. Plant and Soil. 1991. 132. N2. P. 187-196.
2. Treeby M.M, Marschner H., and Romheld V. Mobilization of iron and other micronutrient from calcareous soil by plant-borne, microbial and synthetic metal chelators. Plant and Soil. 1989. 114. P. 217-226.
3. Toyeben Abedi and Hassan Pakhiyat. 2010. Antioxidant Enzyme Changes in Response to drought Stress in Ten Cultivares of Oiled Rape (*Brassica napus* L). Chech. J. Plant. Breed. 2010. 46. N 1. P. 27-34.
4. Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П., Перуанский Ю.В., Луковникова М.И., Луковников М.И. Методы биохимического анализа растений. Ленинград. 1987. С. 430.
5. Хазиев Ф. Методы почвенной энзимологии. Москва. Наука. 1990 С.190

PHOTOPROTECTION IN PLANTS - LIGHT-INDUCED EXCITATION QUENCHING IN PHOTOSYNTHETIC ANTENNA COMPLEX LHCII

Puzio M., Zubik M., Luchowski R., Janik E., Bednarska J., Grudzinski W., Gruszecki W.I.

Department of Biophysics, Institute of Physics, Maria Curie-Skłodowska University,
20-031 Lublin, Poland, E-mail: michal.puzio86@gmail.com

Plants have developed several adaptive regulatory mechanisms operating at all the organization levels, in order to optimize the use of light energy and protect themselves against excessive excitation-related damage.

Plant pigment-protein complex LHCII is the most abundant antenna system in the biosphere and is responsible for binding of approximately half of the chlorophyll pool on Earth. Structure and function of this antenna pigment-protein complex have been already established whereas researchers in numerous laboratories are currently involved in study aimed to clarify the role of LHCII in photoprotection in the photosynthetic apparatus subjected to light stress conditions.

Light-induced excitation quenching in LHCII, manifested by chlorophyll a fluorescence decrease, seems to be an expression of a certain aspect of the photoprotective activity at the level of a single pigment-protein complex. Light-driven chlorophyll a excitation quenching in LHCII was analyzed in comparison with spectroscopic characteristics of the complex. The results indicate that excitation quenching is associated with appearance of the fluorescence emission band centered at 700 nm, diagnostic of oligomerization of the complex.

ANTIOXIDANT PROTECTION OF ZEA MAIS L. LEAVES IN RESPONSE TO DROUGHT AND CHEMICAL TREATMENT

Stefirta¹, Bulhac I.², Melenciuc M.¹, Aluchi N.¹, Coropceanu E.²

¹Institut of Genetic, Physiology and Protection of Plant, 2002, Padurilor str. 20, Chisinau, Moldova,
E-mail: anastasia.stefirta@gmail.com;

²Institut of Chemistry, 2028, Moldova, E-mail: ionbulhac@yahoo.com

drought, plants, antioxidant enzymes, malondialdehyde, ascorbate, carotenoids.

Introduction

Environmental stresses are the most limiting factors for agricultural productivity. Nowadays a big concern is the water deficit leading to drought, which is one of the most unfavorable factors for plant performance and higher crop yield [1]. Resistance to abiotic stresses is considered the one of the desired traits of crops. The various tolerance mechanisms have been suggested on the basis of the biochemical and physiological changes related to drought. The water deficit may incite the formation of free radicals of oxygen. The reactive oxygen species (ROS) production in various compartments is low under normal growth condition. When the ROS overcome the critical threshold concentration, they cause oxidative damage of cellular components, plant senescence and premature death of plant [2]. A plant protection from excessive production of ROS may include the enzymatic decomposition and the inactivation (neutralization) by low molecular weight compounds. The water stress tolerance of plants was associated with the induction of antioxidant defence systems, including ROS-scavenging enzymes such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX), glutathione peroxidase (GPX), glutathione reductase (GR), guaiacol peroxidase (GwPX), and non-enzymatic antioxidants such as ascorbic acid, glutathione, α -tocopherol, and carotenoids [1;3]. Recently a lot of research has been devoted to the prospecting of compounds with antioxidant properties and argumentation of their use on reasons of increased ROS detoxification and protection from oxidative stress.

The objective of this study was the assessment the antioxidant propriety of a new coordination compound [Co(DH)₂(Thio)₂]NO₃ named as Coditiaz and its effect on the maize plant tolerance at drought conditions.

Materials and Methods

The plants *Zea mays* L., cv. P458 with different potential of resistance and adaptation to the soil water deficiency served as the study object. Greenhouse experiments were performed on plants grown in Miterlih containers (30 kg oven dry soil) under controlled soil water content. The analyses were performed at the critical period of plant development – the stage of "panicle-flowering". The experiment design included the two treatments: a) control plants, grown at permanent soil water content - 70% of total capacity for soil water (TCS); b) plants exposed to the drought (30 % TCS) for 10 days. Parallel variants included the plants treated by 0, 0005% water solution of Coditiaz. The lipid peroxidation tested by malone dialdehyde (MDA) content ($\epsilon = 155/\text{mM.cm}$) served as an index of oxidative damage of plants. MDA was measured by using thiobarbituric acid. The leaf samples (0,5g) were homogenized in 10 ml of 0.1% trichloroacetic acid and centrifuged at 15000 g for 5 min. The aliquot of the supernatant (1ml) was supplemented with 4 ml of 0.5 % thiobarbituric acid in 20 % trichloroacetic acid. The mixture was heated at 95°C for 30 min and quickly cooled in the ice bath. After centrifugation at 10000 g for 10 min, the absorbance of the supernatant was recorded at 532 and 600 nm. The MDA content was expressed as μM MDA/g fresh weight.

Superoxide dismutase activity was measured according to the method described by [4]. Ascorbate peroxidase activity was assayed by the method [5]. Guaiacol peroxidase activity was determined by monitoring an increase in absorbance at 470 nm and calculated using the tetraguaiacol extinction coefficient 26.6 mM cm. Catalase activity was assessed by method [6], namely by measured consumption of H₂O₂ ($\epsilon = 39.4 \text{ mM cm}$ at 240 nm). Glutathione reductase activity was determined by monitoring a decrease in light absorbance associated with the oxidation of NADPH [7] and calculated using the extinction coefficient 6.22 mM cm for NADPH at 340 nm. Glutathione peroxidase activity was measured by the method based on oxidation of reduced glutathione. Statisti-

cal analysis was conducted using the mean values for drought-stress treatment and control plants ("STATISTICA 7.0").

Results and Discussion

It was shown, that ROS generated during the drought induced lipid peroxidation in cell membranes of leaves (table 1). The treatment of plants with Coditiaz at optimal soil water content provided a reduction of MAD content approximately by 30 % compared to untreated control plants. In contrary, the MAD content in leaves of plants exposed to drought stress increased significantly: by 124.5 % for untreated plants and by 116.7% for plant treatment with coordination compound.

Table 1 - Change the Malone Dialdehyde content and the activity of antioxidant enzymes in leaves of maize plants under optimal and drought conditions

Parameters	Soil water content, % TCS		Effect of treatment, % of Control	
	Control, optimal soil water content 70%	Drought – soil water deficiency, 30%	at optimal soil water content	at drought conditions
MDA content, mkM/g f. w.	34,74±0,65 * 23,96±0,18 **	43,30±0,78 27,97±0,34	68,97	64,59
SOD activity, conv.unit./g f. w.	21,14±0,12 28,7±0,24	24,55±0,23 32,74±0,21	135,76	133,36
CAT activity, mM./g f. w.	1,05±0,01 1,32±0,009	1,62±0,009 1,91±0,02	125,71	117,90
APX activity, mM./g f. w.	5,06±0,03 5,84±0,034	5,87±0,04 7,21±0,041	115,41	122,82
GR activity, mM./g f. w.	56,00±0,32 64,33±0,44	64,79±0,46 78,03±0,58	114,87	120,43
GPX activity, mM./g f. w.	41,29±0,5 48,66±0,43	62,44±0,71 81,46±0,58	117,85	130,46
GwPX activity, mM./g f. w.	101,29±0,98 152,56±1,16	131,88±1,02 197,13±1,39	150,61	149,47
Ascorbic acid content, mg%	18,19±0,43 19,80±0,63	17,16±0,31 18,36±0,53	108,85	107,00
Carotenoids content, mg/100g f. w.	58,08±0,53 63,93±0,49	49,70±1,28 52,30±1,20	110,07	105,23

* Numerator - the values of the control untreated plants;

** Denominator - the values of the plants treated with Coditiaz

Remarkable, MDA increased more significantly in untreated plant, growing in drought conditions, compared to the content in leaves of plants pre-treated before the drought with the coordination compounds. The level of lipid peroxidation was used as an indicator of ROS-mediated oxidation destruction. Similarly, various authors have suggested that tolerant genotypes showed lower lipid peroxidation [3]. Intensification of lipid peroxidation under stress condition caused the formation of new free radicals, most often more aggressive, which provoked a chain reaction of biomolecules destruction. Thus, our results demonstrated the sufficient antioxidant properties of coordination compound [Co(DH)₂(Thio)₂]NO₃ and its contribution to the plant resistance to oxidative stress caused by tissue dehydration.

An important component of stress protection mechanisms was assumed the ROS systems with the functions of enzymatic and non-enzymatic neutralization [1; 3]. The tolerance of plants to water stress was closely associated with its antioxidant enzyme system. The activity of antioxidant enzymes in maize leaves exposed to the drought increased significantly, especially in plants treated with Coditiaz (table). Under drought stress conditions the SOD activity increased up to 116% in leaves of untreated plants, and up to 154.9% in plants treated with Coditiaz. The effective functioning of SOD largely depends on the functioning of other components of the protec-

tion system, particularly of those that neutralizes hydrogen peroxide (catalase and peroxidase). Hydrogen peroxide formed as a result of ROS scavenging by SOD can cause the inhibition of this enzyme. SOD, CAT and APX are known as enzymes working together, and may provide the tolerance to drought stress. CAT and APX activities increased at optimal conditions for treated plants 125.7 and 115.4 %, respectively. In drought condition effect of treatment was 117.9 and 122.8 %. A high activity of enzymes GPX, GR and GwPX was specific for plants treated with Coditiaz (table 1). Just under drought stress conditions there has been found the increase of activity of indicated enzymes, respectively, by 130.5%, 120.4% and 149.5%. The ascorbic acid and carotenoids are known also essential for plant protection from excessive ROS production [Noctor G., Foyer C.H., 1998]. In our study, the ascorbat and carotenoids contents decreased in the leaves of plants under drought stress. Considerable reduction has been observed in carotenoids contents – by 14.4 % in the leaves untreated plants and by 9.95 -10.5 % in the leaves of treated with coordination compound.

In summary, the tolerance of maize plants to oxidative stress, caused by drought, is closely associated with its antioxidant enzyme system and with low-molecular weight antioxidants, such as ascorbate and carotenoids. Coordination compound [Co(DH)₂(Thio)₂]NO₃ revealed the antioxidant properties and could have an important role in protection against drought.

References

1. Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. //Trends in Plant Science. 2002. 7. No.9. P. 405 – 41
2. Miller G., Shulaev V., Mittler R. Reactive oxygen signaling and abiotic stress. //Physiologia Plantarum. 2008. 133. No 3. P. 481 -489
3. Sairam, R.K. and D.C. Saxena. Oxidative stress and antioxidants in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance. //Journal of Agronomy and Crop Science. 2000. 184. P. 55 – 61.
4. Giannopolitis C.N., Ries S.K. Superoxide Dismuase.1. Occurrence in Higher Plants. // Plant Physiol. 1977. 59. P. 309 – 314.
5. Nacano Y., Asada K. Hydrogen Peroxide Is Scavenged by Ascorbate Specific Peroxidase in Spinach Chloroplasts // Plant Cell Physiol. 1981. V. 22. P. 867-880.
6. Chance B., Machly A. Assay of catalases and peroxidases. // Methods in Enzymology, S.P. Colowick and N.O. Kaplan (ed). N.Y.: Acad. Press. 1955. V. 2. P. 764-775.
7. Schadle M., Bassham J.A. Chloroplast. Glutathione reductase // Plant Physiology. 1977. V. 59. No. 4. P. 1011.
8. Noctor G., Foyer C.H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. //Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 1998. 49. P. 249 – 279.

THE ESTIMATION OF *SALIX SHWERINII* CAPACITY FOR PHYTOREMEDIATION OF POLLUTED AREAS

Terebova E.¹, Androsova V.¹, Markovskaya E.¹, Kaipiainen E.²

¹Russia, Republic of Karelia, Petrozavodsk, Petrozavodsk State University, 33, Lenin Str., 185910,
E-mail: eterebova@gmail.com

²Finland, Joensuu, University of Eastern Finland, FIN-80101,
P.O. BOX 111, E-mail: erik.kaipiainen@uef.fi

phytoremediation, Salix shwerinii, cell wall, Kostomukshsky GOK

Biological features of *Salix* plants such as exhibit fast growth [1], tolerance to pollution [2], elevated water usage [3, 4], extensive root systems [5], as well as evolutionary aspects [6] have been already studied for a long time. These properties allow to use *Salix* plants for phytoremediation of industrial territories [7]. It is known that *Salix* species is hyperaccumulator of heavy metals. It accumulates pollutants in leaves and stems more than in roots. The biofiltrational properties of willow plants are based on the mechanisms of absorption and binding of heavy metals from an environment, such as soil, sewage, etc. The ability of plants to accumulate the heavy metals directly depends on the properties of cell walls. Depositing capability of plants cell walls is limited. It is affected by biological peculiarities of different plants species and environmental factors. Nowadays the role of cell walls of *Salix* species is not enough studied. Therefore the investigation of properties of cell walls of leaves as the main organ of assimilation and the wood of trunk as the basic area of transport of heavy metals, is actual for an estimation of volumes of biofiltrational properties of willow plants.

The aim of the investigation is to study the role of cell wall of *Salix* plants in depositing of heavy metals and properties of cell walls, both their composition structure and amount of the ion-exchange groups as well as biometric parameters of plants in conditions under influence of Ore Mining and Processing Enterprise «Kostomukshsky» (OMPE, Kaleval region of Karelia republic). By using the obtained data it is possible to estimate the depositing ability of willows' plants and their sustainability to industrial pollution.

The field studies and experiment in greenhouses have been done. During the field experiment samples of plant *Salix shwerinii* E. Wolf, planted in the flow of water contaminated by OMPE were taken on physiological and biochemical tests to assess growth, development and phytoremediation capacity of *Salix shwerinii*. According to their biometric parameters sampled plants were divided into two groups: (1) - with maximum growth parameters and (2) - with minimum growth parameters.

During June-September, 2013 a cameral experiment in growing of *Salix shwerinii* was carried out in greenhouses. In July 100 seedlings of *Salix shwerinii* were planted in a clean soil (control) and soil that was watered with contaminated water from OMPE (experimental), mainly with N, P, K, Li, Ca, Fe, Cu, Zn, Co in concentrations which did not exceeding the maximum concentration limits for water. The soil contained sand and peat in a ratio of 3 to 1, the range of pH was 4-5. The experiment was finished in September. The following studies were carried out: 1. Biometric measurements of experimental *Salix* plants. 2. Physiological studies of experimental *Salix* plants (properties of the cell wall). Features of cell wall of *Salix* species were studied by using the potentiometric titration method [8]. It allowed to extract different types of functional groups (amino, phenolic, carboxyl), determine their amount and evaluate total ion-exchange ability of *Salix* cell walls.

The analysis of the data showed that such basic indicators of plant growth, as the length of the roots (20%), shoots (50%), leaf square (20%), number of leaves per stem (26%) were higher in the experimental willow plants, watered with contaminated water from OMPE, compared to the control plants. Index SLA, which characterizes the function of photosynthetic apparatus of plants was also higher in the experimental willow plants. Sampled *Salix* plants from territory of OMPE had the same biometric parameters as the plants from greenhouses. While plants from environs of OMPE had number of shoots two times more. However, their index SLA was lower than the index of plants from greenhouses.

Table 1 - Biometric averages data of experimental and control *Salix shwerinii* plants

	Roots length, cm	Amount of shoots	Length of shoots, cm	Leaves square, mm	Amount of leaves per shoot	Wet weight of 10 leaves, g	Dry weight of 10 leaves, g	SLA, mm ² /m ³ *g
Control plants (greenhouses)	14,1±4,1	2,3±1,2	15,3±10,6	935,6±272,6	15±5	1,08±0,46	0,25±0,12	3,75
Experiment (greenhouses)	17,7±7,1	1,6±0,7	22,5±13,4	1131,6±406,5	19±7	1,02±0,41	0,25±0,11	4,43
Samples 1-4 K.mining	13,5±2,6	3,7±0,3	11,4±8,5	326±27,5	13±5	0,63±0,1	0,24±0,1	1,53
Samples 3-6 K.mining	14±1,79	5,5±1,3	8,97±5,5	273,1±17,4	9±4	0,46±0,1	0,19±0,1	1,21

The cell wall of plants - the basic structure of cells, tissues and organs of plants which can bind or accumulate heavy metals. The number of groups in the structure of cell wall of plants characterizes its total ion exchange capacity. The more such groups, the more metal can be bound by cell wall. The basic ion exchange groups of cell wall that bind heavy metals - carboxyl groups. They function at physiological pH range (5-7). From data of the number and the ratio of different functional groups the component composition of the cell wall can be identified, i.e. the presence of proteins (aminogroups), pectins (carboxyl groups), phenolic compounds (phenolic groups). The analysis of ion exchange properties of the cell wall of experimental and control plants showed that ability of leaves cell wall to bind heavy metals (6200) was higher in the *Salix* plants watered with contaminated water from OMPE than in control plants (4700). Also, more protein (aminogroups) and phenols (phenolic-OH group) were in the cell wall of the tested plants. In *Salix* plants brought from territories of OMPE, the ability of cell wall to bind heavy metals is also higher (in average of 5300 mkmol / g dry weight).

Table 2 - The content of ionogenic groups (S, mkmol/g of dry weight) and their ionization constants (pKa) in leaves cell wall of *Salix shwerinii*

Functional groups	Control plants (greenhouse)		Experimental plants (greenhouse)		Experimental plants sample 1 (K. mining)		Experimental plants sample 2 (K. mining)	
	S	pKa	S	pKa	S,	pKa	S	pKa
Aminogroups (NH ₂ -)	700±30	2,74±0,30	1900±50	2,84±0,25	1400±50	2,75±0,35	1100±50	2,77±0,15
PGUA-COOH-groups*	900±30	5,90±0,52	800±50	5,44±0,45	800±35	5,65±0,50	900±50	5,60±0,32
non-PGUA-COOH-groups	2000±50	7,34±0,21	1300±50	7,37±0,13	1210±50	7,38±0,25	1600±55	7,38±0,31
Phenolic-OH-groups	1100±70	8,21±0,54	1610±50	8,48±0,58	1690±100	8,71±0,25	2600±30	8,86±0,56
Total content groups	4700		5610		5100		6200	

Notes: * (PGUA) -COOH-groups of -D-polygalacturonic acid

Thus, in polluted conditions the contents of nitrogen and phenol components increases in the structure of the cell wall of *Salix* plants. The increasing aminogroups in the structure of the cell wall is associated with the stimulation of the nitrogen metabolism of plants watered with contaminated water. Phenolic OH-groups are the components of the metabolic lignin. Lignin - component of plant secondary cell wall and secondary metabolism. Phenolic components have protective function. It can be concluded that in polluted conditions the size of cell wall of willow leaves increases as well as its ion exchange capacity. At the whole plant the stimulation of nitrogen and secondary metabolism occurs. This leads to increasing of photosynthesis estimation - SLA. Thus, according to obtained results the following conclusions can be made: 1. Species of *Salix*

shwerinii is able to grow in contaminated soils of OMPE. 2. The stimulation of nitrogen and secondary metabolism of *Salix* plants occurs in polluted conditions. 3. The cell wall of willow leaves increases in size as well as its ion-exchange capacity in polluted conditions.

This work was supported by Karelia ENPI CBC programmer, grant KA-394 «Development of tree plantations for tailings dumps afforestation and phytoremediation in Russia».

References

1. Nixon D.J., William Stephens, Tyrrel S.F., Brierley E.D.R. The potential for short rotation energy forestry on restored landfill caps (Review paper) // *Bioresource Technology*, 2001. V. 77. P. 237-245.
2. Кулагин А.Ю. Ивы: техногенез и проблемы оптимизации нарушенных ландшафтов. Уфа: Гилем, 1998. 193 с.
3. Turtola S., Rousi M., Pusenius J., Yamaji K., Heiska S., Tirkkonen V., Meier B., Julkunen-Tiitto R. Genotypic variation in drought response of willows grown under ambient and enhanced UV-B radiation // *Environmental and Experimental Botany*, 2006. V. 56. P. 80-86.
4. Кулагин А.Ю. Феномен засухоустойчивости видов рода *Salix* L.: экспериментальная характеристика особенностей водного режима // *Известия Самарского научного центра РАН*, 2003. Т.5. №23. С.328-333.
5. Rytter R.-M., Lars Rytter, L. Growth, decay, and turnover rates of fine roots of basket willows // *Can. J. For. Res.*, 1998. V. 28. P. 893–902.
6. Скворцов А. К. Ивы СССР. Систематический и географический обзор. Москва: «Наука», 1968. 262 с.
7. Kuzovkina Y. A., Volk T.A. The characterization of willow (*Salix* L.) varieties for use in ecological engineering applications: Co-ordination of structure, function and autecology // *Ecological Engineering*, 2009. V. 35. P. 1178–1189.
8. Galibina N.A, Terebova E.N. Characterization of cell wall properties in needles from scotch pine trees of various vigor // *Russian Journal of Plant Physiology*, 2008. Vol. 55. N 3. P. 419 – 425.

PHOTOSYNTHETIC EFFICIENCY OF DIFFERENT *ARABIDOPSIS* ECOTYPES

Wójtowicz J., Gieczewska K.

University of Warsaw, Miecznikowa 1, PL-02-096 Warsaw, Poland,

E-mail: kat.gieczewska@biol.uw.edu.pl

Arabidopsis thaliana ecotypes, photochemical efficiency, modulated fluorescence

Introduction

Arabidopsis thaliana is a small flowering plant which became a model organism of choice for plant biology. *Arabidopsis* is well suited for studies of natural variation as ecotypes collected from various places around the world exhibit striking differences observed for a variety of features such as, for instance, light and hormone sensitivity, seed size, the light-dependent hypocotyls growth, or the growth rate. The most popular ecotypes of *Arabidopsis thaliana* Landsberg *erecta* (*Ler*) and Columbia (*Col*) have been dealt with as “wild-type” plants of *A. thaliana*. However, these ecotypes have different genetic background and thus show different organ shapes and growth characteristics [4].

Therefore we decided to measure and compare the efficiency of the photosynthetic apparatus in various *Arabidopsis* ecotypes (*Col*-0, *Col*-1, *Col*-2, *Col*-8) performing modulated chlorophyll *a* fluorescence analysis using pulse-amplitude modulated (PAM) fluorometry.

In this paper the differences in photosynthetic performance and energy dissipation between *Arabidopsis* ecotypes are discussed.

Materials and Methods

Plant materials and growth conditions

Arabidopsis thaliana plants (ecotype *Col*-0, *Col*-1, *Col*-2, *Col*-8) were grown in hydroponic culture using seed holders (aponics i ge, Belgium) in custom 1.8-L boxes with low-density support. The seeds were placed on seed holders containing 0,65% (w/v) agar plugs. The boxes were filled with a quarter of standard Knop solution and grown under long-day conditions (16-h photoperiod, 110 μ E 21/18 °C) for 8-10 weeks.

Photosynthetic measurements

Modulated chlorophyll *a* fluorescence analysis

In vivo chlorophyll *a* fluorescence was measured using a PAM-2000 portable chlorophyll fluorometer (Heinz Walz, Effeltrich, Germany) plants were dark-adapted for 30 min. The minimum chlorophyll fluorescence at open PSII centers in the dark (F_0) and under actinic light (F_0') was determined using a weak, red measuring light (650 nm) with very low intensity (0.8 μ mol $m^{-2} s^{-1}$). A saturating pulse of white light (3000 μ mol $m^{-2} s^{-1}$ for 800 ms) was applied in order to estimate the maximum chlorophyll fluorescence at closed PSII centers in the dark (F_m) and under actinic light (F_m'). The steady-state chlorophyll fluorescence (F_s) was recorded during actinic light illumination. The maximal photochemical efficiency of PSII (F_v/F_m) was calculated as $(F_m - F_0)/F_m$. The photochemical quenching (q_P) and the non-photochemical quenching q_N were calculated as $(F_m' - F_s)/(F_m' - F_0')$ and $(F_m - F_m') - (F_0 - F_0')/(F_m - F_0)$, respectively.

Results and Discussion

The main parameters of chlorophyll fluorescence on the surface of the leaves of all *Arabidopsis* ecotypes (*Col*-0, *Col*-1, *Col*-2, *Col*-8) were measured. Dark-adapted induction curves were recorded under defined conditions in order to obtain detailed information on various partial reactions of photosynthesis and so to examine maximum quantum yield (F_v/F_m).

The F_0 parameter characterizes the level of fluorescence when QA acceptors are completely oxidized and all PSII reaction centers are open [5]. The increase of this value results in a decrease in the efficiency of energy transfer between carotenoids in PSII and in energy absorption efficiency of PSII, which may be caused by the disconnection of LHCII antennas from the PSII core. The effec-

tive communication between the subunits of the photosynthetic apparatus and the energy transfer between reaction centers depends on the Fm parameter [3].

Values of Fv/Fm reflect the potential efficiency of PSII with the optimal values around 0,83 for most plant species [2]. Changes in this parameter may relate to damages in PSII and to electron transport performance [1].

Presented results (Table 1) indicate that the highest value of F0 and the lowest value of Fv/Fm ratio are observed in Col-1 ecotype, suggesting a decrease in energy transfer to PSII and its potential efficiency. On the contrary, the high values of Fv/Fm ratio observed in Col-0, Col-2, Col-8 ecotypes, differ slightly and all nearly reach the reference value for non-stressed plants (0,83). The highest value of maximal fluorescence (Fm) was detected in the leaves of Col-2 ecotype, whereas the lowest value of Fm was noted in Col-0 ecotype (Table 1).

Table 1 - Main parameters of chlorophyll *a* fluorescence of leaves of *Arabidopsis* ecotypes

	Col-0	Col-1	Col-2	Col-8
F0	0,392±0,067	0,556±0,025	0,512±0,040	0,489±0,043
Fm	2,299±0,536	2,665±0,684	2,911±0,757	2,717±0,581
Fv/Fm	0,827±0,012	0,796±0,070	0,824±0,002	0,816±0,025

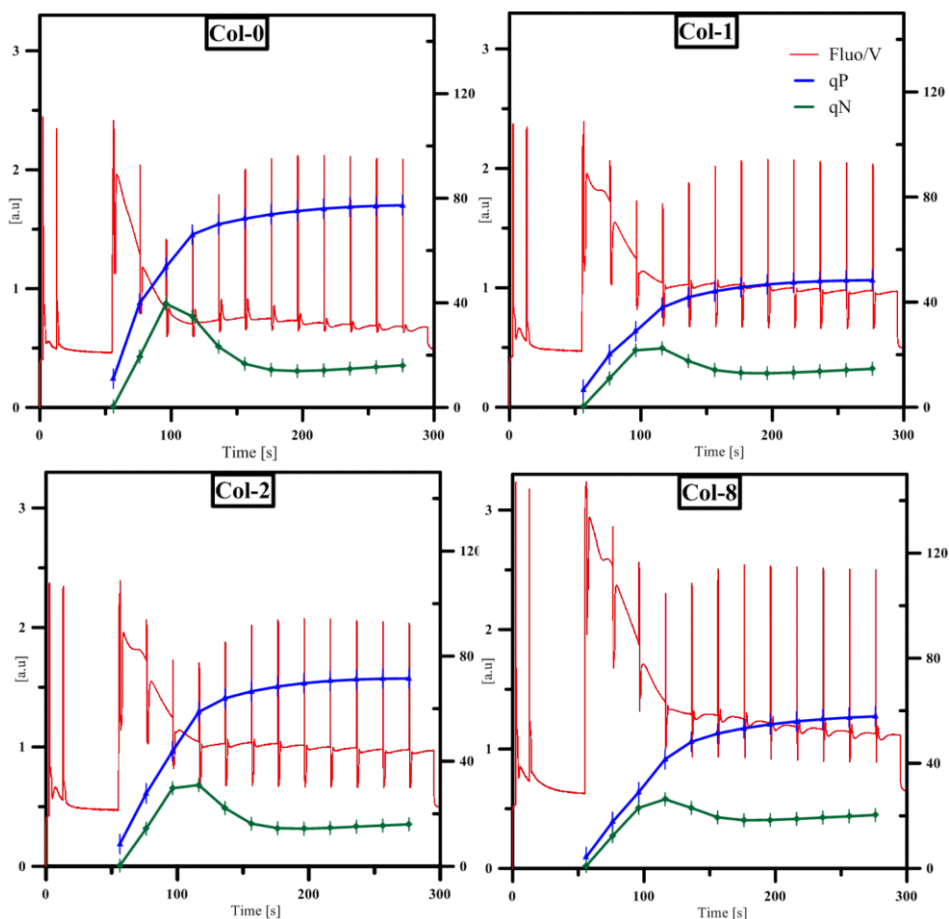


Figure 1 - Fluorescence quenching analysis of leaves of *Arabidopsis* ecotypes using modulated fluorescence

These observations were further confirmed by the fluorescence quenching analysis (Fig.1). Photochemical quenching (qP) shows the proportion of light energy absorbed by PSII to the energy used during photosynthesis. The qP parameter indicates the number of open PSII reaction centers [1]. Visible differences in the qP curve (Fig.1, blue line) are involved with the closure of reaction

centers under actinic light saturation, which can be a characteristic feature of the studied ecotypes with the maximal value of qP curve observed in leaves of Col-0 ecotype, whereas the lowest value of the qP curve was detected in Col-1 ecotype (Fig.1, Col-1). Non-photochemical quenching (qN) monitors the apparent rate constant for heat loss from PSII [1]. The initial increase of the qN curve to the maximal value (Fig.1, green line) appears first in the Col-0 ecotype (100 s), followed by the curve decline to the optimal value, characteristic for a fully functional photosynthetic apparatus [1]. On the contrary, the qN curve observed for the Col-1 ecotype shows the lowest maximal value of qN parameter achieved after the longest period of time (Fig.1, Col-1, 122 s). The comparison of qP and qN curves between studied *Arabidopsis* ecotypes suggests these plants' different adaptability to strong light. Furthermore, different values of Fv/Fm observed earlier (Table 1) indicate divergent photosynthetic performance .

In conclusion, studies indicate that analyzed *Arabidopsis thaliana* ecotypes (Col-0, Col-1, Col-2, Col-8) dealt with as "wild type" plants and model organisms for plant biology show differences in photosynthetic efficiency. This information may be used in further studies, extended to various light conditions and to response to various stresses in order to fully understand the individual features of each ecotype, which could improve and authenticate scientific research.

Acknowledgments

Presented work was financed by SONATA grant no 2013/09/D/NZ3/02399 from National Centre of Science, Poland (KG).

References

1. Rudowska L., Gieczewska K. Mazur R et. al.: Chloroplast biogenesis – Correlation between structure and function; *BBA*: 1817, 2012, 1380-1387.
2. Pfundel E., Klaughammer C et. al.: Deriving fluorometer-specific values of relative PSI fluorescence intensity from quenching of F0 fluorescence in leaves of *Arabidopsis thaliana* and *Zea mays*: *Photosynth Res*: 114, 2013, 189-206.
3. Maxwell K., Johnson NG: Chlorophyll fluorescence – a practical guide; *Journal of Experimental Botany*: 51, 2000, 569- 668.
4. Zeller G: *Resequencing Data of 20 Arabidopsis Ecotypes*, Tubingen, 2005.
5. Murkowski A. et al.: Application of luminescence methods in research on responses of crop plants to some stress factors: *Acta Agrophys*: 61, 2002, 3 – 158.

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ ЧАСТИ II

A-Z		Zubik M.	543, 550
Aluchi N.	530	А	
Androsova V.	554	Абдрасулова Ж.Т.	15
Azarkovich M.I.	527	Абдрахимов Ф.А.	18
Baizhumanova R.	530	Абдрахимова Й.Р.	18
Balakhnina T.I.	533	Абдуллаев А.А.	49
Bashirova R.M.	540	Абдуллаев А.С.	30
Bednarska J.	536, 543, 550	Авальбаев А.М.	21
Bulak P.	533	Авксентьева О.А.	24
Bulhac I.	551	Авраменко Т.В.	27
Calugaru-Spataru T.	537	Азизов И.В.	30
Ciocarlanb A.	537	Акинчиц Е.К.	105
Coretscaia Iu.	547	Аксенов А.И.	475
Coropceanu E.	551	Александров Е.А.	196
Garstka M.	536, 543	Алексеева С.И.	36
Gieczewska K.	544, 557	Алиева Ф.К.	493
Grigoriadi A.S.	540	Аллагулова Ч.Р.	21
Grudzinski W.	543, 550	Алшоразова И.П.	381
Gruszecki W.I.	536, 543, 550	Алыбаева Р.А.	33
Grzyb J.M.	544	Андреев И.М.	18
Gumilevskaya N.A.	544	Андреева А.А.	36
Janik E.	536, 543, 550	Анисимов А.В.	38, 430
Kaipiainen E.	554	Аннагиева М.А.	493
Kalugin S.	530	Антал Т.К.	412
Kosobryukhov A.A.	533	Антипина О.В.	384
Latowski D.	158	Анточ Л.П.	41
Lisnic S.	547	Анциферова О.А.	43
Lopatin N.V.	540	Архипова Н.С.	111
Luchowski R.	536, 543, 550	Астафурова Т.П.	46, 108, 302
Łuczowska R.	544	Атабаева С.Д.	33
Markovskaya E.	554	Атоев М.Х.	49
Matichenkov V.V.	533	Ахатова А.Р.	498
Mazur R.	536, 543	Ахиярова Г.Р.	480
Melenciuc M.	551	Б	
Nurzhanova A.	530	Бабаева Г.Х.	492
Puzio M.	543, 550	Бабайцева Е.В.	299
Seisenbai Ch.	530	Бабенко Л.М.	240
Silion M.	537	Балнокин Ю.В.	187, 281, 363
Sowinski K.	543	Баталова Г.А.	52
Stefirta A.	551	Батова Ю.В.	205
Terebova E.	554	Батраев Р.А.	524
Toma S.	547	Башмаков Д.И.	143
Włodarczyk T.M.	533	Баштовая С.И.	462
Wójtowicz J.	557	Бедарева О.М.	55, 211

Безрукова М.В.	58	Власова Н.С.	369
Белава В.Н.	450	Воденеев В.А.	105, 427
Беляев Д.В.	363	Войцековская С.А.	108
Берников Л.Р.	61	Войцеховская О.В.	445
Биктимерова Г.Я.	503	Волкова Т.А.	518
Богданова Е.С.	329	Воробьев В.Н.	111, 196
Богданова Ю.Г.	471	Воробьев Г.В.	111
Бокова М.И.	518	Воронин П.Ю.	113, 333
Бондаренко О.В.	228	Воронкова Т.В.	237
Борисова Г.Г.	357	Высоцкая Л.Б.	152, 252
Брейгина М.А.	64	Вязов Е.В.	116
Брель Н.Г.	208	Г	
Буболо Л.С.	293	Гаевский Н.А.	131
Бубякина В.В.	67	Газизова Н.И.	360
Будак А.Б.	462	Галашева А.М.	346
Бударин С.Н.	234	Галибина Н.А.	119, 316, 332
Букреева В.В.	299	Гареева Г.Б.	524
Булатова К.М.	381	Гармаш Е.В.	158, 287
Булгаков Д.В.	27	Гаспирович В.В.	427
Буренина А.А.	46, 307	Генерозова И.П.	122
Бурлуцкая Е.Ю.	70	Гильванова И.Р.	125
Бурмистрова Н.А.	73	Гильмуллина Г.Р.	498
Бурундукова О.Л.	27, 76, 113	Голденкова-Павлова И.В.	454
Бурханова Г.Ф.	409	Голованова Т.И.	128, 131, 184
Бухарина И.Л.	79	Головки Т.К.	134, 412, 433
Буцанец П.А.	82	Гончарова Э.А.	137
Бушуева А.В.	105	Горбачева О.В.	102
Быковская И.А.	352	Горохова А.А.	140
Бычков И.А.	225	Григориади А.С.	193
В		Грошева Е.А.	478
Вайнер А.А.	85	Грузнова К.А.	143
Валиахметова К.И.	178	Д	
Валитова Ю.Н.	88	Давыдова Е.А.	146
Валиулина А.Ф.	128, 131	Далькэ И.В.	134, 149
Валько О.Н.	91	Даминова А.И.	354
Васильев С.В.	94	Данилова Е.Ю.	94
Васильева И.В.	67	Дашкова И.О.	102
Венжик Ю.В.	97	Дегерменджи А.Г.	442
Веремейчик Г.Н.	27	Дедова М.А.	152
Верещагин А.Г.	389	Джумаев Б.Б.	49
Вернигора Е. Г.	76	Димитриева Т.В.	372
Верниченко И.В.	352	Дмитриев А.П.	166
Верхотурова Г.С.	108	Дмитриева С.А.	155
Веселов А.П.	392	Дубровина А.С.	468
Веселов Д.С.	99, 480	Дымова О.В.	158, 412
Веселов С.Ю.	99, 439, 480	Е	
Веселова С.В.	102, 340	Елагина Д.С.	111

Еникеев А.Г.	343	Камашева А.А.	79
Енина О.Л.	237	Канаш Е.В.	213, 397
Ермаков И.П.	64	Карпец Ю.В.	216
Ермошин А.А.	228	Катичева Л.А.	105
Ершова А.Н.	160	Кенжебаева С.С.	33
Ж		Кидрясова Р.Н.	471
Живухина Е.А.	175	Кирдей Т.А.	219
Жмурко В.В.	24	Киризий Д.А.	222
Жуйкова Е.В.	172	Кириллов А.Ф.	460, 462
Жуйкова Т.В.	172	Кириллова И.Г.	225
Жук В.В.	169	Кириллова Э.Н.	462
Жук И.В.	166	Киселев К.В.	468
Жук О.И.	163	Киселева Г.К.	326
Жуков А.В.	389	Киселева И.С.	172, 228
З		Клечковская Ю.Б.	234
Завриев С.К.	372	Коваль Е. В.	231
Загоскина Н.В.	175	Козина Л.В.	76
Захожий И.Г.	134, 149	Козьмик Р.А.	462
Зиннатова Э.Р.	172	Коковкина Е.В.	134, 158, 433
Зотикова А.П.	307	Колупаев Ю.Е.	85, 216
Зубкова Е.К.	293	Кондратьев М.Н.	234
Зубова М.Ю.	175	Кондратьева В.В.	237
Зулфугаров И.С.	36	Коновалов П.В.	113
И		Корецкая Ю.Л.	269
Ибрагимов Р.И.	178, 471, 498, 501	Корнилова Ю.Ю.	390
Ибрагимова К.К.	111	Коробова А.В.	252
Иванов А.А.	181	Коршикова Н.Г.	140
Иванов Л.А.	329	Косаковская И.В.	240
Иванова А.Н.	184, 444	Кособрюхов А.А.	181, 243, 278
Иванова Л.А.	329	Косов И.В.	421
Иванова М.А.	474	Кохметова А.М.	381
Иванова Т.В.	187	Кочетов А.А.	397
Икконен Е.Н.	190	Красавина М.С.	73
Ильина И.А.	324	Красова Н.Г.	346
Ильясова Е.Ю.	193	Креславский В.Д.	278
Ионенко И.Ф.	196, 199, 202	Крылова Ю.В.	349
Искакова А.Б.	436	Ктиторова И.Н.	246
Иштимиров Э.И.	524	Куделина Т.Н.	249
К		Кудоярова Г.Р.	152, 252, 439, 480
Кабиров Р.Р.	524	Кузнецов Вл.В.	94, 113
Кадыров Ф.Ф.	524	Кузнецов М.Н.	255, 315
Казакевич А.В.	249	Кузнецова Н.А.	258
Казнина Н.М.	205	Кузнецова Э.И.	187
Калацкая Ж.Н.	208	Куликов И.М.	255
Калимуллина З.Ф.	524	Куликова А.Л.	258
Калинина Е.А.	55, 211	Кулуев Б.Р.	409

Куприянова Е.В.	261	Мирская Г.В.	397
Курамшина З.М.	264, 403	Митилинеос А.Г.	475
Курашов Е.А.	349	Михайлов А.Л.	312, 323
Курносова Т.Л.	338	Михайлова И.Д.	310
Кучарова Е.В.	36	Михайлова С.И.	46, 307
Л		Молчан О.В.	208
Лайдинен Г.Ф.	205	Моргалев Ю.Н.	307
Ламан Н.А.	208	Мотылева С.М.	315
Ланцев В.Л.	267	Мошков И.Е.	384
Ларикова Ю.С.	234	Мощенская Ю.Л.	318
Лешукова Л.А.	172	Музарок Т.И.	27
Ли Т.Е.	414	Мурачева Л.С.	55, 211
Лисицын Е.М.	52	Мурзабаев А.Р.	58
Лисник С.С.	269	Мусиенко Н.Н.	169
Ломоватская Л.А.	272	Мухитова Ф.К.	88
Лоскутов И.Г.	397	Мясоедов Н.А.	187, 281
Лубянов А.А.	524	Н	
Луговая А.А.	216	Нагиев Д.А.	30
Лукаткин А.С.	143, 308	Нарайкина Н.В.	321
Луценко Э.К.	275	Насибуллин Р.И.	193
Любимов В.Ю.	278	Невмержицкая Ю.Ю.	312, 323, 478
М		Ненько Н.И.	326
Маденова А.К.	379	Нестеров В.Н.	329
Маевская С.Н.	333	Нечаева Т.Л.	175
Майорова О.В.	281	Никерова К.М.	332
Макарова Г.А.	399	Никифорова Х.Р.	455
Макеева И.Ю.	369	Николаев И.В.	409
Максимов И.В.	340, 409	Николаева М.К.	335
Максимовских С.Ю.	284	Ниловская Н.Т.	338
Малева М.Г.	287	Новицкая Л.Л.	119
Малина Р.Б.	290	Новоселова Е.И.	521
Малышев Р.В.	134, 149	Ноговицын П.А.	36
Мамедова К.К.	515	Носова К.С.	228
Мамушина Н.С.	293	Нужная Т.В.	340
Маракаев О. А.	296	Нурминская Ю.В.	343
Маркелова Е.М.	524	О	
Марковская Е.Ф.	243	Обуховская Л.В.	249
Масленников П.В.	299, 400	Огородникова С.Ю.	231
Масленникова Д.Р.	21	Ожерельева З.Е.	346
Маслова С.П.	149, 302	Олехнович Л.С.	237
Маталин Д.А.	363	Омарова А.Ш	415
Маханьков В.В.	27	Опекунова М.Г.	349
Медведев С.С.	406, 439	Оразбаева У.М.	415
Мертвищева М.Е.	315	Орлова Ю.В.	281
Милютин И.Л.	421	Осипов Ю.А.	213, 397
Минибаева Ф.В.	88, 155, 360	Осипова Л.В.	338, 352
Миронов К.С.	305	Охлопкова Ж.М.	36

П			
Панюта О.А.	450	Синькевич М.С.	321, 395
Паракшина Э.М.	140	Синявина Н.Г.	397
Пахомова В.М.	354	Скатерная Т.Д.	240
Паштанова Е.С.	234	Скобелева О.В.	246
Пендинен Г.И.	475	Скрыпник Л.Н.	400
Перк А.А.	67	Слепцов Н.В.	36
Петров В.С.	326	Смирнова Ю.В.	264, 403
Плотникова О.М.	284	Смоликова Г.Н.	406
Подгорная М.Н.	318	Собачкин Д.С.	421
Полева С.В.	64	Соколова Л.Г.	272
Поморцева К.А.	357	Сорокань А.В.	102, 409
Пономарев А.Г.	67	Софронова В.Е.	412
Пономарева А.А.	155, 360	Софронова И.Н.	119
Попов В.Н.	384	Спанкулова З.Б.	415
Попова Л.Г.	363	Спиридович Е.В.	208
Придача В.Б.	375	Стародубцева А.А.	243
Пронина Н.А.	261	Стеценко Л.А.	418
Пузанский Р.К.	366	Стробыкина А.С.	323
Пузина Т.И.	369	Судачкова Н.Е.	421
Пчёлкин В.П.	389	Сулейманова Р.В.	524
Р		Сулкарнаева А.Г.	88
Рахманкулова З.Ф.	125, 504, 513	Сундырева М.А.	326, 424
Рахматуллина Д.Ф.	360	Сурова Л.М.	427
Рзаев А.А.	30	Суслов М.А.	38, 430
Рогожин Е.А.	372	Сухов В.С.	105, 427
Розенцвет О.А.	328, 433	Сучкова С.А.	46
Романенко А.С.	272	Суюндуков Я.Т.	503
Романова Л.И.	421	Схляхо Т.В.	326
Русаков Д.В.	213	Сысоева М.И.	190
Русакова И.И.	52	Т	
Рыкун О.В.	272	Табаленкова Г.Н.	149, 433
Рязанцев Д.Ю.	372	Таланова В.В.	97
С		Тараканов И.Г.	518
Сазонова Т.А.	375	Таран Н.Ю.	450
Салаев М.А.	46	Татарина Т.Д.	67
Салтанович Т.И.	378	Терлецкая Н.В.	436
Самедов П.А.	30	Тимергалина Л.Н.	439
Седельников В.П.	113	Тимофеева О.А.	312, 323, 478
Седловский А.И.	381	Титов А.Ф.	97, 205
Селиванов А.А.	384	Титова Н.В.	290
Середнева Я.В.	392	Тихова Г.П.	375
Сибгатуллин Т.А.	196, 199, 202, 386	Тихомиров А.А.	442
Сидоров Р.А.	389	Тома С.И.	269
Симакова А.А.	272	Трунова Т.И.	321
Синицына Ю.В.	392	Тулякова М.В.	52
		Туманов В.Н.	91
		Тэженова А.И.	381

Тюпина Л.Н.	381	Шаварда А.Л.	366, 406
Тюрин А.А.	453	Шайдуллина Г.Ф.	524
Тютерева Е.В.	293, 445	Шаймуллина Г.Х.	478
У		Шакирова Ф.М.	21, 58
Умаров И.А.	521	Шамилов Э.Н.	30
Усманов И.Ю.	503, 512	Шарипова Г.В.	99, 481
Ушакова С.А.	442	Шатило В.И.	237
Ф		Швиденко Н.В.	216
Фазлутдинова А.И.	524	Шелепова О.В.	237
Фархутдинов Р.Г.	99, 447	Шелякин М.А.	484
Фатуллаева А.С.	160	Шерстнева О.Н.	427
Федоренко Г.М.	275	Шерудило Е.Г.	487, 490
Федураев П.В.	400	Шиббаева Т.Г.	190, 487, 490
Фомаиди С.В.	450	Ширвани Т.С.	492
Фронтасьева М.В.	79	Широкова Н.П. В	495
Х		Ширшикова Г.Н.	278
Хаджиев Т.А.	453	Шихов В.Н.	442
Хайленко Н.А.	436	Шишкану Г.В.	290
Хайруллин Р.М.	264, 403	Шишова М.Ф.	366
Халилова Д.И.	524	Шкрыль Ю.Н.	27
Халилова Л.А.	187, 281	Шпирная И.А.	178, 471, 498, 501
Хамидуллин А.Ф.	111	Шувалов А.В.	363
Харитонов Т.Д.	36	Шугаев А.Г.	18, 82, 122
Харчук О.А.	457, 460, 462	Шугаева Н.А.	82
Хасанова Д.В.	465	Шуйская Е.В.	503, 512
Холмогоров С.В.	296	Шуклина Д.А.	128
Холодова В.П.	94	Шульгин И.А.	506, 509
Холопцева Е.С.	97	Шумакова О.А.	468
Хрипач В.А.	85	Щ	
Христенко В.С.	468	Щербаков А.В.	503, 512
Хусаинова Р.Р.	477	Э	
Ц		Эргашев А.Э.	49
Цветков В.О.	178, 471, 498, 501	Ю	
Цыдендамбаев В.Д.	187, 389	Юрченко А.А.	363
Ч		Юрченко В.С.	406
Чадин И.Ф.	149	Юсуфов А.Г.	515
Чанцева В.В.	406	Я	
Чеботарева К.Е.	293	Яковлева О.С.	518
Чернов В.Е.	475	Яковлева П.А.	352
Чертова Н.В.	453	Ямалеев А.М.	465
Чесноков Ю.В.	137	Ямалеева А.А.	465
Чихачева А.Ю.	349	Янгильдина Ю.Я.	501
Чуб О.В.	506, 509	Яруллина Л.Г.	501
Чукина Н.В.	287	Яруллина Л.М.	521
Чупахина Г.Н.	146, 400	Ястреб Т.О.	85
Ш		Яхин И.А.	524

Научное издание

**Материалы Международной научной конференции
и школы молодых ученых**

**«Физиология растений – теоретическая основа
инновационных агро- и фитобиотехнологий»**

Часть II

Ответственный редактор Роньжина Елена Степановна

**Proceedings of the International scientific conference
and School for young scientists**

**«Plant Physiology as a Theoretical Basis for
Innovative Agriculture and Phytobiotechnologies»**

Volume II

Editor Ron'zhina Elena S.

Для оформления стр. 14 использован рисунок из кн.: Кефели В.И., Прусакова Л.Д. Химические регуляторы растений / Новое в жизни, науке, технике. – Сер. биология. - № 7. – М.: Знание, 1985. – 64 с.

Подписано в печать 16.05.2014 г. Формат 60×84 (1/16). Печ. л. 35,5. Тираж 100 экз.