

Симпозиум 3

ГОРМОНЫ И ОНТОГЕНЕЗ

**INTERACTIVE EFFECTS OF PLANT GROWTH REGULATORS
(GA₃ AND TETCYCLACIS), LIGHT AND NaCl
ON GROWTH AND CARBOHYDRATE STATUS IN SEEDLINGS
OF TWO *CENTAURIUM* SPECIES**

B. Siler¹, D. Misić¹, V. Maksimović², D. Grubić¹

¹ Institute for Biological Research «Sinisa Stanković», University of
Belgrade, Belgrade

E-mail: dmisić@ibiss.bg.ac.yu

² Center for Multidisciplinary Studies, University of Belgrade, Belgrade

Genus *Centaurium*, belonging to the *Gentianaceae* family, comprises about 50 species spreaded in north hemisphere. They are known for its medical properties, which are ascribed to the secoiridoid glucosides. Two species from this genus (*C. erythraea* and *C. spicatum*) were used in our experiments. Seeds of *C. erythraea* were collected near Vlasina Lake (Sebia) and seeds of *C. spicatum* in Sutorina (Montenegro). After their sterilization seeds were used as primar explants for the *in vitro* culture establishment.

Fourteen days-old seedlings of *C. erythraea* and *C. spicatum* were used in experiments. Seedlings were grown in darkness or under long day conditions (16 h light/8 h dark), on SMS solid culture medium or medium supplemented with 200 mM NaCl. In additional experiments, 10⁻³ M GA₃ and/or 10⁻⁶ M tetcyclacis were supplied to each media composition. The aim of this study was to determine the interactive effects of plant growth regulators (GA₃ and tetcyclacis), light and NaCl on carbohydrate status in seedlings of *C. erythraea* and *C. spicatum*. Fresh and dry weights, shoot and root length, as well as the number of axillary buds per plant were also determined. The shoot growth was more adversely affected by the treatments applied when compared to the roots. Shoots of both species grown under darkness were taller when compared to the plants grown under long day conditions. The application of 10⁻³ M GA₃ stimulated shoot elongation, especially in dark grown plants of both species. Tetcyclacis reduced the stimulatory effect of GA₃ on shoot elongation. GA₃, when applied alone, and in combination with tetcyclacis, reduced the root length, as well as their fresh and dry weight under the control values. For *C. erythraea*, it was observed that darkness and NaCl stimulate the formation of axillary buds. The content of sucrose and reducing sugars (fructose and glucose) was determined four weeks after the onset of experiments. The stimulatory effect of NaCl salinity on carbohydrate accumulation in seedlings of both species was observed. The increased accumulation of carbohydrates under GA₃ treatment was also observed.

К ВОПРОСУ ОБ ОЦЕНКЕ ДЕЙСТВИЯ КСЕНОБИОТИКОВ НА РАСТЕНИЯ**On estimation of xenobiotics effects on plants****А.А. Абдурахманов**

Дагестанский государственный университет, г. Махачкала

E-mail: zemfirik@mail.ru

В растениеводстве ежегодно применяются различные новые химикаты – ксенобиотики, что делает необходимой конкретизацию действия их на культурные растения. Значимость этого вопроса с каждым годом возрастает в связи с постоянным ростом их накопления в почве и влияния на растения. Это и побуждает необходимость разработки экспресс-методов оценки их действия.

Нами изучены эффекты действия ряда ксенобиотиков, таких как децис, цимбуш, 2,4-Д, медный купорос, диэтилдитиэкат натрия. При этом в качестве моделей использованы семена, проростки и упрощенные изолированные органы (листья, гипокотили, семядоли, отрезки побегов) некоторых растений (огурцов, кабачков, фасоли, арбузов, томата, тополя, ивы). Эффект ксенобиотиков оценивали по реализации процессов роста, морфогенеза, закладки корней, выживаемости, содержанию пигментов пластид и показателей водообмена.

Чувствительность разных объектов и моделей неодинакова, она не совпадала при оценке разных показателей. Так, у изолированных структур, особенно чувствительным к ксенобиотикам, оказался процесс ризогенеза (особенно у гипокотилей и семядолей). Степень ингибирования процесса зависела от вида и органа растений, дозы и способа введения ксенобиотика. Заметно токсичны для изученных структур растворы медного купороса (50 мг/л), цимбуша (8 мг/л), 2,4-Д (10 мг/л) и частично диэтилдитиэката натрия (10 мг/л). При этом отмечено ингибирование процессов роста и морфогенеза, накопления биомассы. Наиболее отрицательно влияние ксенобиотиков в случае их постоянного культивирования в растворах даже при низких их концентрациях. При этом отмечены развитие некротических пятен на семядолях и гипокотильях, ослизнение оснований изолированных структур, находящихся в растворе.

В случае постоянного и даже временного контакта с растворами ксенобиотиков у изолированных листьев и семядолей отмечено снижение содержания пигментов пластид и заметное возрастание доли свободной воды по сравнению со связанной. Повышение ризогенной активности и продолжительности жизни (ПЖ) таких листьев и семядолей отмечено только в растворах дециса, приводящих к накоплению связанной воды в тканях (10 мг/л).

Обработка семян растворами ксенобиотиков вызывала не только подавление всхожести и удлинение сроков прорастания семян, но и подавление роста надземных и подземных структур у проростков и нарушение морфогенеза корней и листьев. В частности, корни и побеги росли, меняясь морфологически, скручиваясь, на семядолях обнаруживались некротические пятна. Ризогенез способствовал росту ПЖ изолированных семядолей. В то же время обильное развитие корней отрицательно влияло на ПЖ. Раньше всего, из-за своего истощения, отмирали семядоли с сильно развитой корневой системой в растворах с низкой концентрацией ксенобиотиков.

Отрицательные эффекты ксенобиотиков, вызванные обработкой разных моделей, не удавалось блокировать в последующем при культивировании (или обработкой) в растворах регуляторов роста (ИМК, ИУК 20 мг/л, БАП 10 мг/л, кинетин 10 мг/л). Некоторое ослабление отрицательного эффекта ксенобиотиков достигалось только при кратковременных контактах моделей с их растворами. Оно не устранялось в случае одновременного подавления жизнедеятельности моделей в растворах с концентрациями выше пороговых доз ксенобиотиков.

Некоторые из изучаемых ксенобиотиков (цимбуш, медный купорос, 2,4-Д), используемых против болезней и вредителей, токсичны и для растений. В связи с этим важно разграничить пороговые дозы токсичности как для вредителей и болезней, так и для растения-хозяина. Этому вопросу следует уделять внимание в будущем.

ВЛИЯНИЕ pH РАСТВОРОВ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА ЕЕ ПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРИ ЗАСОЛЕНИИ

pH dependence of salicylic acid protective effect at salinization

Г.А. Абилова, К.М. Хаметова

Дагестанский государственный университет, г. Махачкала
E-mail: gulyara@mail.dgu.ru

Салициловая кислота (СК) – это эндогенный регулятор фенольной природы, оказывающий влияние на дыхание, индукцию цветения, участвующий в регуляции морфологических процессов и устойчивости к патогенам (Шакирова, 2001). В последнее время СК стала привлекать внимание как сигнальный фактор растений (Тарчевский, 2002), и ей приписывают различные физиологические эффекты, которые все еще нуждаются в изучении. Для конкретизации этого вопроса мы предприняли изучение ее протекторной роли в повышении устойчивости растений к засолению. Растворы

СК, в концентрациях, применяемых для замачивания семян, обычно имеют рН от 1.5 до 4. В большинстве зарубежных и отечественных источников не упоминаются величины рН растворов СК, используемые для экзогенной обработки растений. Поэтому результаты могут быть обусловлены не только гормональным действием СК, но и сдвигом рН среды.

В связи с этим мы изучили влияние предпосевной обработки семян огурца сорта «Феникс» кислыми и нейтральными растворами СК на проявление устойчивости растений к засолению среды. Семена огурца замачивали в течение трех часов: в первом случае в растворах 0.1, 1 и 5 мМ СК, приготовленных на дистиллированной воде, а во втором – в растворах с теми же концентрациями СК, но с предварительным доведением рН NaOH до 7.0. Далее семена переносили на среду с 0.05 М NaCl. Контрольные семена проращивали на дистиллированной воде. Устойчивость огурца к засолению оценивали по показателям энергии прорастания (ЭП) семян на 3 сутки после замачивания, их всхожести на 5 и 7 сутки. У 8-дневных проростков определяли биомассу гипокотыля и корней, коэффициент полярности (КП), то есть отношение биомасс надземной части растений и корней.

В контрольном варианте NaCl в концентрации 0.05 М подавлял ЭП семян на 10 %, всхожесть на 5 и 7 сутки – на 11 и 30 %, что ниже по сравнению с контролем (дистиллированная вода). Семена, предварительно обработанные кислыми и нейтральными растворами СК, практически не отличались по ЭП и всхожести от контроля. Семена, замоченные в СК и далее перенесенные в раствор NaCl, обнаруживали различия в зависимости от рН ее растворов. В кислых растворах ЭП семян снижалась по мере увеличения концентрации СК – при концентрации 0.1 и 1 мМ СК она была на 21 и 18 % выше, а при концентрации 5 мМ – на 10 % ниже по сравнению с контролем. Всхожесть семян на 5 и 7 сутки оказалась тем ниже, чем выше концентрация СК. Так, если при концентрации 0.1 мМ на 5 и 7 сутки она соответственно была на 6 % больше и на 27 % меньше контроля, то при 5 мМ она была меньше соответственно на 32 и 52 %. При этом надо иметь в виду, что рН растворов 0.1, 1 и 5 мМ СК были соответственно 4.1, 3.3 и 2.9.

В опыте с нейтральными растворами СК ЭП семян, выросших на NaCl, не отличалась от контроля во всех трех концентрациях СК. Всхожесть семян при их замачивании в растворе 1 мМ СК на 5 и 7 сутки была выше соответственно на 18 и 67 %, при 5 мМ – соответственно на 17 и 63 %.

Рост гипокотилей и корневой системы проростков также ме-

нялся в зависимости от pH растворов СК. Кислые растворы СК не влияли на интенсивность роста гипокотилей, за исключением концентрации 5 мМ. При этом биомасса гипокотилей была на 49 % выше контроля. Засоление при этой же концентрации СК снизило биомассу гипокотилей на 21 %. При нейтральных значениях pH засоление не изменило биомассу гипокотилей при использовании всех трех концентраций СК. Значительно более чувствительной к засолению оказалась корневая система проростков, выросших из семян, обработанных кислыми растворами СК. КП увеличился с 3.27 при концентрации СК 0.1 мМ до 6.45 в растворе СК 5 мМ, что определяется заметным изменением биомассы корней. Обработка семян нейтральными растворами СК снизило величину КП как в контроле, так и при засолении среды.

Приведенные данные свидетельствуют о зависимости эффекта растворов СК от pH среды. Причем различные показатели роста имеют неодинаковое значение для оценки эффекта действия СК. В этом отношении наиболее чувствительной оказалась корневая система и величина КП. Результаты изучения экзогенного действия СК в зависимости от pH растворов даже на одном объекте имеют методическое значение для вычленения ее эффекта от влияния pH растворов. Одна и та же концентрация СК при разных значениях pH может быть и стимулирующей, и ингибирующей. Эти эффекты нуждаются в конкретизации при изучении физиологической роли СК на других растениях.

ПЕРОКСИДАЗЫ И NADH-ОКСИДАЗЫ РЕГУЛИРУЮТ СОДЕРЖАНИЕ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА В АПОПЛАСТЕ МЕЗОКОТИЛЕЙ КУКУРУЗЫ

Peroxidases and NADH-oxidases regulate content of hydrogen peroxide in apoplast of maize mesocotyls

О.В. Аврутина, Т.Е. Билова, Е.И. Шарова

Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург

E-mail: oavrutina@mail.ru

Предполагается, что пероксид водорода играет важную роль в регуляции роста растяжением растительных клеток, изменяя растяжимость клеточных стенок. В качестве субстрата пероксидаз он может участвовать в образовании окислительных поперечных связей между полимерами и тем самым снижать растяжимость. С другой стороны, в высоких концентрациях пероксид водорода генерирует гидроксил-радикал, разрывающий полимеры стенки и увеличивающий ее растяжимость. В ходе исследований была дана оцен-

ка с позиций осмотической модели растительной клетки причин торможения роста при облучении проростков кукурузы красным светом и постепенного замедления роста клеток по мере их дифференцировки.

У мезокотилей трехдневных проростков кукурузы снижение скорости роста в базальном направлении сопровождалось уменьшением эластической растянутости клеточных стенок (от 8.3 до 4.8 %), обусловленной в основном их ригидификацией на фоне незначительного увеличения осмотического потенциала клеточного сока (от -0.92 до -0.82 МПа) и неизменного осмотического потенциала апопластного раствора ($\Psi_0 = -0.17$ МПа). Снижение эластичности клеточных стенок мезокотилей (от 6.4 до 3.8 %), облученных красным светом (640-700 нм, 3 ч), было полностью вызвано ригидификацией стенок, так как концентрация осмотиков в клетках возрастала (-1.0 МПа), а в апопластном растворе не изменялась. При ригидификации клеточных стенок в базальном направлении и под действием красного света наблюдалось значительное снижение содержания пероксида водорода в апопластном растворе мезокотилей.

Для того чтобы понять, чем обусловлено это снижение, был изучен базипетальный градиент NADH-оксидазной активности клеточных стенок, приводящей к образованию пероксида водорода, и пероксидазной активности, приводящей к его утилизации.

Пероксидазы катализируют образование окислительных мостиков между полимерами стенок, используя пероксид водорода, и тем самым снижают эластическую растянутость стенок. Ригидификация стенок в базальном направлении сопровождалась двукратным возрастанием активности ионносвязанных с клеточной стенкой пероксидаз; при торможении роста мезокотилей под действием красного света активность пероксидаз также возрастала. Увеличение NADH-оксидазной активности клеточных стенок было незначительным.

Таким образом, в процессе замедления роста мезокотилей кукурузы, обусловленного дифференцировкой клеток, происходят значительная ригидификация клеточных стенок и возрастание активности пероксидаз, обеспечивающее снижение содержания пероксида водорода в апопластном растворе, на фоне практически неизменяемой активности NADH-оксидаз.

**ВЛИЯНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ
НА РОСТ ЗАРОДЫШЕВЫХ ОСЕЙ,
ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ ПОКОЯЩИХСЯ И ПРОРАСТАЮЩИХ
РЕКАЛЬЦИТРАНТНЫХ СЕМЯН КОНСКОГО КАШТАНА
(*AESCULUS HIPPOCASTANUM* L.)**

**Effect of physiologically active compounds on the growth
of axes isolated from dormant and germinating recalcitrant horse chestnut
(*Aesculus hippocastanum* L.) seeds**

М.И. Азаркович¹, Н.А. Гумилевская²

¹ Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, г. Москва
E-mail: m-azarkovich@mail.ru

² Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, г. Москва

Молекулярные механизмы индукции, поддержания и преодоления глубокого покоя у рекальцитрантных семян изучены мало и пока остаются неясными. Известно, что глубокий покой семян может быть следствием не только покоя, наложенного кожурой, но и покоя зародыша, в котором следует различать собственно покой осевых органов и ингибирующее действие семядолей на их рост. У покоящихся и прорастающих семян конского каштана была исследована способность осевых органов к росту в условиях *in vitro* после отделения от семядолей. Ранее нами было показано, что изолированные зародышевые оси не имеют собственного покоя и могут служить удобной модельной системой для изучения начальных этапов прорастания семян.

Использование изолированных зародышевых осей позволило получить первые данные о характере действия фитогормонов на рост изолированных осевых органов покоящихся и прорастающих семян. Цитокинин (БАП) и гибберелловая кислота не оказывали достоверного влияния на рост изолированных осей. Особый интерес представляют данные о действии экзогенной АБК на прорастание изолированных зародышевых осей конского каштана. Известно, что экзогенная АБК ингибирует прорастание многих видов ортодоксальных семян, не имеющих глубокого покоя. Чувствительность к экзогенной АБК ограничивается временем от начала набухания до проклевывания. Проклюнувшиеся семена были нечувствительны к действию экзогенной АБК. В нашей работе мы наблюдали сходную картину при действии АБК на изолированные оси конского каштана. АБК в концентрации 10^{-5} М полностью подавляла рост осей, изолированных до или во время стратификации семян. Однако оси, выделенные из уже проклюнувшихся се-

мян, были нечувствительны к экзогенной АБК. Таким образом, АБК подавляет проклевывание, но не влияет на последующий рост осевых органов после проклевывания. Механизмы ингибирующего действия АБК на проклевывание, как и причины потери чувствительности к этому гормону после проклевывания, пока не ясны. Полное ингибирование роста изолированных зародышевых осей в присутствии экзогенной АБК не коррелирует с действием гормона на уровень белкового синтеза. Из этого следует, что ингибирующее действие экзогенной АБК на прорастание изолированных осей не вызвано подавлением трансляционной активности в клетках, но может быть связано с изменениями в синтезе небольшой группы полипептидов, чей вклад в общий синтез белка незначителен. Исследование изменений в картине белкового синтеза, происходящих под влиянием экзогенной АБК, может в дальнейшем прояснить этот вопрос и дать ответ, связано ли ингибирующее действие экзогенной АБК на прорастание изолированных осей с подавлением синтеза полипептидов, необходимых для роста, или же с индукцией синтеза белков, ингибирующих рост.

В отличие от семян арабидопсиса, в изолированных осях конского каштана мы не наблюдали супрессии ингибирующего действия АБК в присутствии глюкозы. В конце стратификации глюкоза оказывает достоверное стимулирующее действие на рост осей.

Интересно отметить заметное ингибирующее действие ИУК в начале стратификации, однако использованная концентрация могла быть слишком высокой для данной модельной системы. В ходе стратификации этот эффект становился меньше, и в конце стратификации чувствительность к ИУК, также как и к АБК, снижалась.

Вытяжки из семядолей и семенной кожуры в начале стратификации заметно тормозили рост осей, к концу стратификации ингибирующее действие этих вытяжек исчезало, причем тормозящее действие семядольных экстрактов сохранялось дольше, чем действие экстрактов семенной кожуры.

В целом, зародышевые оси, изолированные из семян конского каштана в начале стратификации, были более чувствительны к испытанным воздействиям, чем в конце, что может свидетельствовать об изменении их физиологического состояния в ходе стратификации.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант 03-04-48156).

**ДВОЙНАЯ РОЛЬ ЦИТОКИНИНОВ
В КЛУБНЕОБРАЗОВАНИИ КАРТОФЕЛЯ *IN VITRO*****Dual role of cytokinins in tuberization of potato cultivated *in vitro***

Н.П. Аксенова, Т.Н. Константинова, Л.И. Сергеева, В.Н. Ложникова,
С.А. Голяновская, Е.В. Гришунина, Г.А. Романов
Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, г. Москва
E-mail: gar@ippras.ru

Длина дня и фитогормоны оказывают существенное влияние на процесс клубнеобразования у картофеля, однако биохимические механизмы, лежащие в основе этого влияния, пока не раскрыты. В работе изучали влияние кинетина на клубнеобразование и содержание эндогенных цитокининов (зеатин, зеатинрибозид – Z, ZR) в разных органах картофеля *Solanum tuberosum* L., культивируемого *in vitro* на различных свето-темновых режимах. Объектами служили нетрансформированные растения картофеля Дезире (WT) и полученные на их основе трансгенные формы (две линии) с увеличенным содержанием фитохрома B, экспрессирующие ген *PHYB* из *Arabidopsis thaliana* под контролем промотора *35S* SAMV. Растения культивировали на среде, содержащей 5 % сахарозы без гормонов или с добавлением цитокининов (1 мг/л кинетина или 0.5 мг/л БАП), в факторостатных камерах при +20 °C на длинном дне (ДД, 16 час света), на коротком дне (КД, 10 час света) или в непрерывной темноте. Содержание эндогенных цитокининов определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с предварительной очисткой колоночной хроматографией на концентрирующих патронах Sep-Pak C₁₈.

На среде без гормонов в условиях КД частота клубнеобразования у WT растений и у фитохромных трансформантов составила 65-80 %. В условиях ДД у нетрансформированного картофеля, обладающего короткодневной реакцией клубнеобразования количественного типа, клубни сформировались у 35-42 % растений. Фитохромные трансформанты проявили более сильную фотопериодическую зависимость клубнеобразования, свойственную диким и примитивным формам картофеля, и на ДД на среде без гормонов клубни образовывались только у 2-7 % этих растений.

Добавление в культуральную среду кинетина стимулировало клубнеобразование как у WT растений, так и у фитохромных трансформантов и привело к ослаблению фотопериодической зависимости инициации клубней. При этом наиболее сильная (в 6-8 раз) стимуляция образования клубней под влиянием экзогенных цитокининов наблюдалась у линий *PHYB* трансформантов в условиях

ДД. В опытах, проведенных в различных свето-темновых режимах на растениях WT и фитохромных трансформантах, найдено, что стимуляция клубнеобразования, вызванная внесением в культуральную среду кинетина, во всех случаях сопровождалась перераспределением содержания эндогенных Z и ZR по органам растений в пользу преимущественной локализации этих фитогормонов в зонах, потенциально способных к формированию клубней. Культивирование растений на среде, содержащей кинетин, привело к значительному (в 1.5-2.5 раза) снижению уровня Z и ZR в растущих надземных побегах и к некоторому увеличению их содержания в базальных частях растений, которые в наших опытах являются местами формирования клубней. Такое изменение градиента распределения эндогенных цитокининов по органам растений особенно отчетливо проявилось в условиях неблагоприятного для клубнеобразования ДД, когда добавление кинетина в культуральную среду привело к наиболее интенсивной стимуляции клубнеобразования. Вполне вероятно, что стимулирующий клубнеобразование эффект цитокининов, присутствующих в культуральной среде, реализуется непосредственно на уровне морфогенетических процессов в столонах и нижних стеблевых почках в ходе инициации клубней, в частности, путем усиления акцепторных свойств этих зон.

Было изучено также влияние длины дня на содержание цитокининов (Z и ZR) в различных органах фитохромных трансформантов и нетрансформированных растений, культивируемых на среде без гормонов. У обоих объектов содержание изученных цитокининов в различных органах, в особенности в листьях и побегах, было высоким в условиях ДД и значительно, в 2-3 раза, снижалось при перестановке растений на благоприятный для клубнеобразования КД.

На основе сопоставления всех полученных результатов выдвинуто представление о двойной роли цитокининов в клубнеобразовании. Согласно этому представлению, повышенное содержание цитокининов в листьях и растущих надземных побегах картофеля ингибирует клубнеобразование, тогда как локальное увеличение концентрации цитокининов в зонах, способных к формированию клубней, стимулирует процесс клубнеобразования.

Работа поддержана грантами РФФИ 04-04-49117 и 07-04-00585.

**ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ АРАБИНОГАЛАКТАНОВЫХ БЕЛКОВ
В ХОДЕ РАЗВИТИЯ ПЛОДОВ ГРЕЧИХИ ТАТАРСКОЙ****The alteration of arabinogalactan protein content during
the development of tatar buckwheat fruits****А.Н. Акулов, С.С. Архипова, Н.И. Румянцева**Казанский институт биохимии и биофизики Казанского НЦ РАН,
г. КазаньE-mail: akulov_anton@mail.ru

Изучали содержание арабиногалактановых белков (АГБ) в тканях плодов *Fagopyrum tataricum* на разных стадиях развития зародыша и эндосперма. Установлено, что наибольшее содержание АГБ в пересчете на мг белка обнаруживается в плодах, зародыш которых находится на стадии проэмбрио-глобулы, а эндосперм является ядерным (2 сут. после опыления, ПО). Значительное уменьшение в содержании внутриклеточных АГБ наблюдали при формировании клеточного эндосперма (4-5 сут. ПО). К моменту полного созревания плодов (20 сут. ПО) содержание АГБ уменьшалось в 3 раза по сравнению с 2 сут. плодами, в которых зародыш находится на стадии проэмбрио. Важно отметить, что АГБ, выделенные из плодов на разных сроках ПО, отличались по молекулярной массе: высокомолекулярные формы обнаруживали до 10-14 сут. ПО, средние и низкомолекулярные – с 15 по 20 сут. ПО.

При выделении семязачатков из плодов до 14-15 сут. ПО мы обнаружили, что клетки эндокарпия (внутреннего слоя перикарпия) выделяют секрет. При инкубации перикарпия в растворе реагента Ярива, специфически связывающегося с АГБ, было выявлено, что окрашивается только внутренний слой перикарпия. После отмывания реагента Ярива буфером окрашивание эндокарпия значительно уменьшалось, что могло свидетельствовать о том, что клетки эндокарпия секретируют АГБ. Изучение белкового состава секрета подтвердило присутствие в нем АГБ. Важно отметить, что хотя содержание внутриклеточных АГБ зародыше и эндосперме было существенно выше (в 7 раз), чем в перикарпии, спектр АГБ в них имел значительные отличия.

Работа поддержана грантом РФФИ № 05-04-49433а.

**РЕАКЦИЯ НА ИМК И БАП
СЕМЯДОЛЕЙ ЛЕЩИНЫ РАЗНОЙ ЗРЕЛОСТИ IN VITRO****IBA and BAP effect of on the nutlets cotyledons
at different stages of ripeness in vitro****А.А. Алиханова, М.А. Магомедова**

Дагестанский государственный университет, г. Махачкала

Изучена реакция на ИМК и БАП у эксплантов разных частей семядолей *Corylus avellana* L. полученных из плодов, отличающихся ростом и зрелостью *in vitro*. Для опытов использовали зеленые и растущие плоды в июне (I), июле (II), августе (III) из разных частей семядолей. Экспланты (5-10 мм) вычленили из проксимальной (основания, ближе к апексу проростка), медиальной (средней) и дистальной (верхней) частей семядолей. Культивировали их на среде Мурасиге – Скуга (МС) с введением ИМК (1 мг/л) и БАП (1 мг/л) по вариантам: минимальная среда МС – контроль (К), МС + ИМК (А), МС + БАП (Б), МС + ИМК: БАП 1:1 (В) и 1:2 (Г). Действие регуляторов роста изучалось путем культивирования эксплантов указанных вариантов постоянно на естественном комнатном освещении (1), 7 суток темноты с последующим переводом на освещение (2) или при обратном сочетании условий (3) и только в темноте (4). Проводили пассирование одновозрастных каллусов с корнями и без.

У эксплантов семядолей ранней стадии развития плода (I) независимо от вариантов увеличивались размеры и лишь частично – развивался каллус. Каллус развивался в основном у эксплантов с зародышевой почкой (А). У эксплантов верхней части семядолей (Г) не отмечена активность каллусо- и ризогенеза. Эти процессы не имели массовый характер развития. Экспланты всех вариантов в июне не отличались и по реакции на условия освещения (1-4). Хорошую активность роста и морфогенеза обнаруживали экспланты во II и III фазах развития плода. При этом каллус превышал размеры самого экспланта. Так, у семядолей, взятых из зеленых плодов в III фазе, экспланты нижней, средней и верхней частей исходно имея биомассу 34, 269 и 220 мг в последующем накопили биомассу соответственно 427, 807 и 482 мг. В нем только доля самого каллуса составила соответственно 208, 214 и 160 мг, что по отношению к величине общего прироста биомасса составила 49, 26 и 33 %. Экспланты развивали тем более мощный каллус, чем больше оказывалась раневая поверхность по отношению к общей поверхности экспланта. В таких случаях и на каллусах развивались и почки, и много корней. Особенно интенсивное развитие

корней отмечено в вариантах с ИМК (А), тогда как почек с корнями – ИМК и БАП (Б).

Экспланты семядолей из плодов в фазах I-III обнаруживали различия и в реакции на условия освещения. Наиболее слабо была выражена реакция по вариантам освещения у эксплантов семядолей из плодов I фазы. По фазам II и III реакция эксплантов проявлялась активнее. Корни интенсивно формировались в варианте (А) при культивировании их как на освещении (1), так и без него (4). В условиях освещения (1, 2) экспланты и их каллусы синтезировали хлорофилл, в темноте же оставались этиолированными.

Закладка почек больше отмечена в вариантах (1, 2) с БАП (Б) и при сочетании его с ИМК (Г). В вариантах (Б и Г) на освещении (1) на каллусах с корнями развивались только розетка из белых листочков и карликовые побеги с зелеными листочками.

Побеги с зелеными листьями преимущественно развивались из почек у каллусов в варианте с ИМК: БАП (Г) в условиях освещения (1 и 2). В единичных случаях на побеге развивались корни, а иногда на каллусах формировались только корни. Экспланты разных частей семядолей в вариантах культивирования на освещении отличались по накоплению средней биомассы. Так, при исходной разнице средней биомассы эксплантов 7 (К) до 47 мг у вариантов (А-Г), в вариантах с освещением (1, 2) их биомасса после образования каллуса составила от 650 (В) до 1580 мг (Б), т. е. с разницей 980 мг. Соответственно изменилась и сухая биомасса эксплантов по вариантам культивирования (свет и регуляторы роста). В вариантах 1 и 2 с БАП (Б, Г) на каллусах в последующем развивались придаточные почки.

Реакция проксимальной, медиальной и дистальной частей семядолей по вариантам регуляторов роста отличается от состояния формирования исходных семядолей, что зависит от фазы зрелости плодов. На характер содержания ИМК и БАП в среде влияют и условия освещения при культивировании эксплантов. В состоянии покоя у сухих плодов (I) разные части семядолей не реагируют не только на содержание в среде ИМК и БАП, но и на условия освещения. Процессы ризогенеза у незрелых семядолей реализовались и на минимальной среде, что свидетельствует о наличии в них эндогенных регуляторов роста. Однако введение в среду ИМК и БАП имело значение для регуляции темпов дифференциации и морфогенеза эксплантов. Пассирование каллусов проводили для выявления различий в их предрасположении к росту и дифференциации. Экспланты из исходных каллусов с корнями обнаружили большую активность к ризогенезу, чем экспланты каллусов без корней. Пассированные каллусы с почками и без них не отличались формированием почек.

**ИСПЫТЫВАЮТ ЛИ РАСТЕНИЯ ДЕФИЦИТ ЦИТОКИНИНОВ
ПРИ ВОЗВРАЩЕНИИ ОТ СТРЕССОВЫХ УСЛОВИЙ К ОПТИМАЛЬНЫМ?****Do plants experience a cytokinins deficit when returned
from stress conditions to optimal ones?****Т.Н. Архипова¹, Е. Prinsen²**¹ Институт биологии Уфимского НЦ РАН, г. Уфа
E-mail: Arkhipova@anrb.ru² Department of Biology, University of Antwerp, Antwerp

Снижение содержания цитокининов при дефиците воды и ионов традиционно считается одним из механизмов, обеспечивающих адаптивную ростовую реакцию растений: уменьшение скорости роста их побега, что приводит к экономии воды и позволяет мобилизовать ресурсы для роста корней и оптимизации их поглотительной способности. Однако снижение содержания цитокининов может лимитировать рост растений при возвращении в оптимальные условия. Ранее нами были выявлены штаммы микроорганизмов из рода *Bacillus*, различающихся по способности продуцировать цитокинины. Было показано, что инокуляция растений пшеницы штаммами с контрастным уровнем продукции цитокининов оказывало различное действие на растения: препараты из штаммов с высокой способностью к синтезу цитокининов оказывали более выраженное ростстимулирующее действие. Это свидетельствует о том, что именно цитокинины являются важным действующим фактором в механизме ростстимулирующего влияния микроорганизмов на растения. Цель данной работы заключалась в проверке гипотезы о том, что инокуляция цитокининпродуцирующими микроорганизмами растений, испытавших неблагоприятное воздействие абиотических факторов, компенсирует дефицит цитокининов и сможет, тем самым, ускорить рост и повысить урожайность растений.

Исследования проводили на растениях твердой пшеницы (*Triticum durum* Desf., сорта Безенчукская 139) в лабораторных условиях на песчаной культуре при оптимальном уровне освещенности и минеральном питании. Растения росли при двух влажностных режимах – 60 % от полной влагоемкости (контроль) и 30 % (засуха) в течение первых 7 суток. В половину сосудов опытной группы на 6 сутки с начала эксперимента, накануне прекращения засухи, вносили суспензию цитокининпродуцирующего штамма *Bacillus subtilis* ИБ-22. Инокуляция бактерий осуществлялась путем внесения суспензии в корнеобитаемую среду в количестве 1 мл/растение. В течение эксперимента оценивались длина и ширина листьев, сырой и сухой вес растений, транспирация и содержание воды, содержание

гормонов. Определение содержания цитокининов проводили двумя методами: методом иммуноферментного анализа и параллельно методом ВЭЖХ в сочетании с масс-спектрометрией.

Дефицит воды приводил к ожидаемому торможению роста побегов: листья растений пшеницы, испытывающих засуху, были короче и уже контрольных, площадь листовой поверхности сократилась на 25 %. Сырая масса побегов растений, испытывающих засуху, была ниже, чем у контрольных, на 22 %, в то время как сырой вес корней был одинаков у растений обоих вариантов, т.е. наблюдалась классическая адаптивная реакция перераспределения биомассы в пользу корней. Дефицит воды также вызывал снижение содержания цитокининов, главным образом в корнях стрессированных растений, что может свидетельствовать о сокращении синтеза гормонов. Прекращение засухи и перевод растений на нормальный уровень полива приводили к увеличению относительной скорости роста опытных растений. Нужно отметить, что растения, инокулированные суспензией цитокининпродуцирующего штамма, быстрее накапливали биомассу побегов. Растения двух опытных вариантов также отличались между собой по содержанию гормонов, уровню их накопления в корнях и побегах, по степени накопления отдельных форм цитокининов. На 2 сутки после прекращения засухи у растений, испытавших влияние дефицита воды, наблюдалась тенденция к накоплению цитокининов, но, если у неинокулированных растений прибавка как в корнях, так и побегах была незначительной, то содержание цитокининов в корнях инокулированных растений увеличилось на 30 %, а в побегах в 2 раза. Главным образом увеличилось содержание зеатинрибозида и зеатина, т.е. активных форм цитокининов. Тенденция повышенного содержания цитокининов в побегах инокулированных растений сохранялась и в последующие сутки – содержание зеатинрибозида и зеатина было соответственно 80 и 40 % по сравнению с контрольным. У неинокулированных растений можно отметить повышение содержания зеатина в побегах и накопление фосфатов в корнях, но не в побегах. Восстановление роста инокулированных растений после прекращения действия засухи происходило в большей степени, чем неинокулированных: по сухому весу побегов они не отличались от контрольных, в то время как неинокулированные после возвращения в оптимальные условия отставали от контроля по уровню накопления биомассы.

Таким образом, можно сделать вывод о положительном влиянии экзогенных, в данном случае микробных, цитокининов на восстановление роста растений после прекращения действия стресса.

Работа поддержана грантом РФФИ-Фландрия 05-04-50824.

**НЕЛИНЕЙНАЯ ЗАВИСИМОСТЬ
ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ЦИТОКИНИНОВ
ОТ ИХ КОНЦЕНТРАЦИИ В ПАТОСИСТЕМЕ
ПШЕНИЦА – ВОЗБУДИТЕЛЬ МУЧНИСТОЙ РОСЫ**

**Nonlinear dose-response of cytokinin-induced immunomodulation
in a pathogenic system wheat-causal organism of a powdery mildew**

А.В. Бабоша

Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН, г. Москва
E-mail: phimmunitet@yandex.ru

Использование патогеном регуляторных систем (в том числе фитогормональной) растения-хозяина – важный фактор совместимости при облигатном паразитизме. Одним из методов, позволяющих судить о роли фитогормонов в патогенезе, является исследование их иммуномодулирующих свойств. Вместе с тем направленность фитогормональной регуляции в случае цитокининов неоднозначна: иммуномодулирующие свойства в разных патосистемах варьируют от ингибирования инфекции до ее стимуляции. Целью настоящей работы явилось исследование концентрационной зависимости иммуномодулирующего действия экзогенных цитокининов в патосистеме: пшеница – возбудитель мучнистой росы *Erysiphe graminis* f.s. *tritici* Marchal.

Растения пшеницы (*Triticum aestivum* L., сорт Заря) выращивали в рулонах фильтровальной бумаги на растворе Кнопа в течение 12-14 дней. Производные зеатина, изопентениладенина и кинетина (Sigma, США) в опытах с интактными проростками добавляли в питательный раствор непосредственно после инфицирования. Отделенные листья после инокуляции патогена инкубировали в чашках Петри на плаву адаксиальной стороной вверх с использованием растворов цитокининов в дистиллированной воде. Через 5-7 дней с применением бинокулярного микроскопа учитывали суммарное число колоний мучнистой росы на абаксиальной и адаксиальной поверхностях 1-го листа.

Показано, что зависимость иммуномодулирующей активности от концентрации цитокинина немонотонна и нелинейна. Из 42 концентрационных кривых, полученных в разных условиях и с применением разных цитокининов, у 22 в той или иной мере на графике присутствовали три зоны: два пика максимальной восприимчивости (0.25-1.5 мкМ и 3-9 мкМ) и область максимальной устойчивости (1.5-3 мкМ). В девяти случаях кривые имели один минимум и один максимум. В трех и четырех случаях получены

графики с одним соответственно максимумом или минимумом, в двух случаях – S-образная кривая с повышением восприимчивости при увеличении концентрации цитокининов. При изменении условий эксперимента (тип цитокина, условия освещения и минерального питания, одновременная обработка дополнительными иммуномодуляторами) форма кривой и положение пиков изменяются.

Как правило, известные концентрационные зависимости для разных процессов имеют форму или монотонной линии, или кривой с одной экстремальной точкой (кривая оптимума). Последнюю случаю может соответствовать процесс с субстратным ингибированием. Очевидно, что появление двух и более пиков должно быть связано, по крайней мере, с какими-либо двумя процессами, дающими кривую оптимума. Можно сформулировать две группы гипотез, способных объяснить такую многофазную зависимость. Во-первых, процессы, соответствующие различным экстремальным (максимум или минимум) точкам графика, могут существовать параллельно и суммироваться независимо друг от друга. Такой механизм может быть связан с наличием нескольких цитокининовых рецепторов, различающихся параметрами связывания, локализацией или преимущественным воздействием на различные стадии развития патогена. Изменения положения пиков и их величины при изменении условий опыта можно было бы объяснить эффектами сложения и вычитания при наложении пиков друг на друга в результате изменения аффинности цитокининовых рецепторов. Во-вторых, две реакции с субстратным ингибированием должны образовывать последовательную цепь реакций (продукт первой является субстратом второй). Поскольку ферментативные реакции с субстратным ингибированием достаточно распространены, то высока и вероятность их последовательного соединения. В этом случае при определенных условиях концентрационные кривые будут иметь многофазный характер в результате изменения эндогенных концентраций веществ.

Построена математическая модель, соответствующая последнему механизму и отражающая основные особенности влияния экзогенных цитокининов на восприимчивость проростков пшеницы к возбудителю мучнистой росы: многофазность, высокая вариабельность при изменении условий эксперимента и неоднозначность иммуномодулирующего действия. При этом форма концентрационной кривой, соответствующей данной модели, меняется при изменении параметров, соответствующих притоку и расходованию цитокининов. На основе предложенной модели высказаны гипотезы, объясняющие роль цитокининов в регуляции процесса патогенеза в дан-

ной патосистеме, неоднозначное действие некоторых иммуномодуляторов, а также ранее известные экспериментальные данные о корреляции между устойчивостью и содержанием цитокининов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 05-04-48402).

ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТРАНСФОРМАНТОВ КАРТОФЕЛЯ С ГЕНОМ БИОСИНТЕЗА АУКСИНА *TMS I*

Phenotypic characteristic of potato transformants carrying *tms I* gene for auxin biosynthesis

Т.В. Баврина¹, Н.О. Юрьева¹, Е.М. Наумкина¹, И. Махачкова², Ю. Малбек²,
А. Травничкова², П. Добрев², Г.А. Романов¹

¹ Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, г. Москва

² Институт экспериментальной ботаники Чешской академии наук, г. Прага

E-mail: gar@ippras.ru

Ауксин является одним из важнейших гормонов растений. Обладая плеiotропным действием, этот фитогормон участвует в управлении ростом, развитием, формированием запасующих органов и др. Несмотря на многочисленные данные, полученные в опытах с экзогенной обработкой растений ИУК, особенности ее действия остаются до конца не раскрытыми. Для выяснения этого вопроса все чаще используют трансгенные растения с измененным гормональным статусом. Однако к настоящему времени отсутствуют данные по трансгенным линиям некоторых хозяйственно ценных растений, в том числе картофеля, экспрессирующих гены биосинтеза ауксина.

Нами получена новая трансгенная форма картофеля *Solanum tuberosum* L. сорта Дезире с повышенным содержанием свободного ауксина. Агробактериальную трансформацию клубневых эксплантов проводили с применением бинарного вектора, несущего целевой ген биосинтеза предшественника ауксина, *tms I*, под контролем 35S-промотора вируса мозаики цветной капусты, и селективный ген *npt II* под контролем pos-промотора. Селекцию растений проводили на среде с канамицином и цефотаксимом. Присутствие трансгенов в растениях устанавливали методом полимеразной цепной реакции с использованием праймеров для маркерного и целевого генов, а также для других вспомогательных элементов конструкции ДНК. В результате отобрано восемь независимых клонов, устойчивых к канамицину и несущих оба трансгена: *npt II* и *tms I*. В надземной части трансгенных растений было обнаружено повы-

шенное (на 20-60 %) содержание свободной ИУК по сравнению с исходной формой. Это свидетельствует о способности растений картофеля превращать индолацетамид (ИАМ), синтезируемый с участием трансгена *tms I*, в ИУК при помощи собственных ферментов с амидогидролазной активностью.

Полученные трансгенные линии при выращивании в культуре проявляли характерные фенотипические особенности (вегетативный рост, корнеобразование, каллусогенез, клубнеобразование) в зависимости от уровня накопления ИУК. При умеренном увеличении (на 20 %) содержания ИУК наблюдались ускорение образования корневой системы, рост биомассы листьев и стеблей. При значительном (до 60 %) повышении содержания ауксина у трансформантов, наоборот, отмечено уменьшение надземной и подземной биомассы. Эти растения были склонны к опухолеобразованию в виде каллусной ткани. Клубни растений первой группы были значительно крупнее, чем клубни растений второй группы. Результаты свидетельствуют о том, что умеренное увеличение содержания ауксина при трансгенозе улучшает, а значительное – напротив, ухудшает ростовые и продукционные характеристики растений картофеля.

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА В АПОПЛАСТЕ КОЛЕОПТИЛЕЙ И МЕЗОКОТИЛЕЙ КУКУРУЗЫ ПРИ ТОРМОЖЕНИИ РОСТА

The change in hydrogen peroxide contents in apoplast
of maize coleoptyles and mesocotyls under growth cessation

Т.Е. Билова, Е.И. Шарова, О.В. Аврутина

Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург
E-mail: tbilova@yahoo.com

Известно, что пероксид водорода способствует ужесточению клеточных стенок и, следовательно, торможению роста клеток, когда участвует в пероксидазных реакциях лигнификации и образования окислительных поперечных связей между полимерами клеточных стенок. С другой стороны, H_2O_2 является участником катализируемой пероксидазой или самопроизвольной реакции Фентона и, таким образом, способствует увеличению растяжения клеток, поскольку в результате этой реакции образуются гидроксил-радикалы, разрывающие в месте своего образования любые полимеры клеточных стенок. В связи с этим, регулируя баланс апопластного H_2O_2 , клетки способны контролировать активность выше перечисленных процессов.

В научной литературе сведения о содержании пероксида водо-

рода в апопласте редки и противоречивы, что связано с методическими проблемами. В нашей работе для исследования содержания H_2O_2 мы фиксировали апопластный раствор в момент выделения, для того чтобы инактивировать ферменты, использующие H_2O_2 в качестве своего субстрата, и очищали апопластный раствор от мешающих определению фенольных веществ и аскорбиновой кислоты. Микроколичества H_2O_2 измеряли по изменению хемилюминесценции люминола, а также спектрофотометрически по изменению окраски ксиленового оранжевого при окислении сульфата железа и по образованию окрашенного продукта в реакции окисления фенолов пероксидазой хрена.

Мы исследовали влияние физиологических (возрастные изменения тканей, воздействие фитогормона АБК, облучение красным светом) и стрессовых (облучение УФ-Б радиацией) факторов, вызывающих торможение роста, на содержание H_2O_2 в апопласте колеоптилей и мезокотилей этиолированных проростков кукурузы. Было показано, что уровень H_2O_2 в апопласте увеличивается с возрастом колеоптилей. У быстрорастущих колеоптилей 4-суточных проростков его содержание составляло 0.7 нмоль/(г сырой массы), а в колеоптилях 5-суточных проростков содержание H_2O_2 возрастало в 2.1 раза. Особенно сильно количество H_2O_2 увеличивалось при быстром старении изолированных колеоптилей. Сильные изменения в содержании пероксида водорода в апопласте колеоптилей также наблюдались под действием АБК. Вначале количество H_2O_2 возрастало и через час воздействия составляло 170 % от контроля, затем снижалось и через 4 ч составляло около 60 % от контроля.

В растущей зоне мезокотилей 3-суточных проростков содержание H_2O_2 в апопласте (0.7 нмоль/г сырой массы) было существенно выше, чем в зоне прекращения роста (0.45 нмоль/г сырой массы). Фотоингибирование роста мезокотилей под действием красного света сопровождалось снижением количества пероксида водорода в апопласте в 1.5 раза, тогда как торможение роста под действием ультрафиолетового облучения – возрастанием в 1.6 раза.

Таким образом, результаты нашей работы опровергают распространенное в литературе убеждение, что торможение роста сопровождается возрастанием содержания H_2O_2 в апопласте. Мы показали, что снижение роста, имеющее адаптивное значение (при обработке АБК) или связанное с процессом дифференцировки, сопровождается снижением содержания H_2O_2 в апопласте, тогда как торможение роста в результате снижения жизнеспособности растительных тканей (старение, УФ-Б облучение) связано с увеличением уровня апопластного H_2O_2 .

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОСТАВА И СОДЕРЖАНИЯ
ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ В СЕМЕНАХ РАСТЕНИЙ****The evaluation of composition and content
of photosynthetic pigments into plant seeds****О.В. Булда¹, Г.Н. Алексейчук¹, В.В. Рассадина², Н.А. Ламан¹**¹ Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича
НАН Беларуси, г. МинскE-mail: alekseichuk@biobel.bas-net.by² Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, г. Минск

Оценка состава и содержания каротиноидов и хлорофиллов в растительных объектах представляет важную информацию при изучении многих физиологических процессов. Методы определения пигментов хорошо разработаны для фотосинтезирующих тканей высших растений. Однако при работе с семенами возникают методические трудности, связанные со сложностью экстракции пигментов и необходимостью их дополнительной очистки. Для экстракции пигментов из семян применяется смесь петролейного эфира (ПЭ) и тетрагидрофурана (ТГФ) с последующей процедурой омыления для удаления хлорофиллов и липидов (Khachik et al., 1987). Однако в литературе не приведены формулы, позволяющие рассчитывать содержание пигментов в этих растворителях.

На основе анализа спектров поглощения стандартных растворов индивидуальных препаратов β -каротина, лютеина, хлорофилла *a* (Хл *a*) и хлорофилла *b* (Хл *b*) в смеси ПЭ:ТГФ нами выведены формулы для оценки содержания этих пигментов в смеси, содержащей все компоненты. Показано, что предложенные формулы могут быть использованы для расчета количества пигментов в вытяжках из ткани семян. Вычитание математическим способом из спектра поглощения экстракта вклада, обусловленного присутствием хлорофиллов, позволяет без проведения сапонификации рассчитывать в них содержание каротиноидов и ксантофиллов.

С использованием разработанных формул рассчитано содержание пигментов в семенах некоторых видов сельскохозяйственных культур. Согласно полученным данным, содержание каротиноидов в семенах разных сортов сои составило от 0.7 до 1.7, моркови – около 3.6, кукурузы – примерно 3.7, люпина – от 5.7 до 17.2, рапса – от 12.2 до 16.5, капусты – от 9.3 до 22.8 мкг/г сухого вещества. При этом в общей сумме каротиноидов доля ксантофиллов, как правило, в 2-3 раза превышала долю каротиноидов. Исключение составляли семена моркови, в которых содержание каротиноидов было выше.

Несмотря на то, что созревание семян сопровождается разрушением хлорофиллов, в зрелых семенах всегда присутствуют его остаточные количества. В наших экспериментах содержание хлорофилла в семенах кукурузы в среднем составляло 6, в семенах сои – 20, а в семенах люпина, рапса и капусты – от 20 до 140 мкг/г сухого вещества (в зависимости от степени зрелости семян разных партий). Наиболее высокое содержание хлорофилла обнаружено в семенах моркови – 311 мкг/г сухого вещества. При этом отмечено, что чем более зрелыми были семена, тем меньше в них содержалось суммарного хлорофилла и хлорофилла *a*.

Таким образом, разработан метод выделения и количественного спектрофотометрического определения содержания каротинов, ксантофиллов, Хл *a* и Хл *b* в суммарном экстракте из семян растений.

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского фонда фундаментальных исследований (грант № Б06-229) и международного Реинтеграционного гранта НАТО № 981402.

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ КАЛИКСАРЕНОВ НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ КОРНЕЙ ПШЕНИЦЫ

The effect of different calix[4]resorcarene derivatives on physiological status of wheat roots

Ю.Н. Валитова¹, Г.Н. Вафина¹, Л.Х. Гордон¹, А.Н. Ценцевичкий¹,
И.С. Рыжкина², С.Н. Судакова², С.Н. Подъячев²

¹ Институт биохимии и биофизики Казанского НЦ РАН, г. Казань

² Институт органической и физической химии Казанского НЦ РАН,
г. Казань

E-vail: valitova@mail.knc.ru

Каликсарены – синтетически доступные сложно организованные трехмерные макроциклические фенолы, способные образовывать с ионами и нейтральными молекулами супрамолекулярные агрегаты, моделирующие функции сложных биомолекул, такие, например, как транспортные или каталитические. В настоящее время развитие химии каликсаренов привело к переходу от изучения методов синтеза и свойств к исследованию возможностей, открывающихся при использовании в смежных областях науки, в частности, в области биомедицины. Появились сообщения о синтезе и исследованиях *in vitro* каликсаренов, которые рассматриваются в качестве потенциальных противовирусных и антибактериальных препаратов, молекулярных носителей лекарственных веществ. Для реализации этих свойств *in vivo* необходимо, чтобы каликсарены

были способны к взаимодействию и связыванию с мембранами клеток. Однако до настоящего времени исследование мембранотропных свойств производных каликсаренов проводилось в основном на модельных бислойных мембранах. Для установления возможного модифицирующего действия каликсаренов на мембраны живой клетки нами проведена работа по изучению влияния производных каликс[4]резорцинаренов на энергетический обмен клеток корней пшеницы.

Объектом исследований служили 4-тидневные проростки яровой пшеницы сорта Люба (*Triticum aestivum* L.).

Исследовалось действие амидного, карбоксильного и гидразидного каликс[4]резорцинаренов на потребление кислорода, выход ионов калия и мембранный потенциал корней пшеницы. Интенсивность дыхания определяли манометрическим методом Варбурга. О выделении и поглощении ионов калия корневыми клетками судили по изменению его содержания в инкубационной среде. Измерения проводили на пламенном фотометре ПФМ. Для измерения электрических параметров мембран использовали микроэлектродную технику.

Было показано, что различные производные каликс[4]резорцинаренов оказывают различный физиологический эффект на отсеченные корни пшеницы.

Амидный каликсарен на протяжении 5 часов инкубации оказывал небольшой стимулирующий эффект на потребление кислорода. При этом наблюдали усиленный выход ионов калия из клеток, а также небольшую гиперполяризацию плазмалеммы корней. Карбоксильный каликсарен оказывал обратный эффект на дыхательную активность корней пшеницы, вызывая уменьшение потребления кислорода корнями. Содержание ионов калия в инкубационной среде в течение 5 часов инкубации при действии карбоксильного каликсарена было также существенно ниже, чем в контроле. Кроме того, наблюдалась небольшая деполаризация плазматической мембраны корней. Физико-химическими исследованиями было показано, что амидный каликсарен образовывал агрегаты с мицеллами из катионного ПАВ. У карбоксильного каликсарена сродство к этим мицеллам было выражено менее значительно.

Поскольку гидразидный фрагмент содержит амидную группу, к которой присоединен еще один атом азота, было предположено, что физиологический эффект амидного и гидразидного каликсаренов будет сходным, а у гидразида, возможно, даже усиленным. Действительно, каликсарен, имеющий в своем составе два гидразидных заместителя на резорциновой основе, при длительной инкубации приводил к значительному увеличению потребления кислорода клетками корней, что сопровождалось повышенным выхо-

дом ионов калия из клеток корней. Мембранный потенциал корней при этом не отличался от контрольного.

Различия эффектов на корни, по-видимому, обусловлены разным химическим строением заместителей и, следовательно, различным агрегационным поведением исследованных соединений в растворах и типом взаимодействия молекул с мембранами.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 06-03-32402).

ВОЗМОЖНОЕ УЧАСТИЕ ОКСИДА АЗОТА И СУПЕРОКСИДА В ТРАНСДУКЦИИ АУКСИНОВОГО СИГНАЛА

Possible involvement of nitric oxide and superoxide in auxin signal transduction

Д.А. Вершинкин, Г.А. Романов

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, г. Москва
E-mail: gar@ippras.ru

В литературе приводятся данные, что под действием ауксина в растениях образуются активные производные кислорода (свободные радикалы) (Vascon et al., 2001; Schopfer et al., 2002, 2004; Ragnussat et al., 2003, 2004), такие как оксид азота (NO), супероксид (O_2^-) и гидроксил-радикал (HO^\cdot). Однако остается не ясным, какова функция этих соединений, и участвуют ли они в трансдукции ауксинового сигнала.

Мы изучали влияние этих производных на экспрессию *in planta* ауксин-зависимой полусинтетической генетической конструкции Dr5::*GUS*, которая была создана на основе ауксин-чувствительного участка промотора гена первичного ответа на ауксин. Дополнительным объектом исследования являлась NO-зависимая генетическая конструкция Atfer1::*GUS*, которая была создана на основе промотора гена первичного ответа на оксид азота. Опыты проводили на 4-дневных проростках трансгенного арабидопсиса.

Нами было показано, что доноры оксида азота усиливали экспрессию ауксин-зависимого промотора Dr5: 1 мМ нитропруссид натрия (SNP) – на 200-390, 100 мМ нитрозоцистеин – на 125, и 10 мМ NOR-3 – на 125 %. Конкурентный ингибитор NO-синтазы L-NNA в концентрации 1 мМ и скевенджер (поглотитель) оксида азота сPTIO в концентрации 2 мМ подавляли эффект ауксина (10 мМ) на экспрессию Dr5::*GUS* на 63 и 83 % соответственно. Эти эффекты ингибирования полностью снимались SNP в концентрации 1 мМ. В свою очередь ауксин в концентрации 10 мМ усиливал

экспрессию NO-зависимого промотора *Atfer1* в 2.7-6 раз. Ингибитор NO-синтазы L-NNA подавлял этот эффект ауксина.

Нами также было изучено влияние других активных форм кислорода: супероксида, гидроксил-радикала, пероксида водорода (0.1-1 мМ) и пероксинитрита (10-100 μ М) на экспрессию *Dr5::GUS*. Для получения супероксид-радикала использовали реактив, состоящий из НАДН (78 μ М), феназинметасульфата (5-10 μ М) и тетразолиевого нитросинего (50 μ М). Гидроксил радикал получали с помощью реактива Фентона (FeSO_4 , 50 μ М, H_2O_2 и аскорбат в концентрации 0.1-1 мМ), пероксинитрит – с помощью реакции нитрита и пероксида водорода в кислой среде.

Было показано, что только супероксид-радикал достоверно индуцировал транскрипцию этой генетической конструкции (на 100-112 %). Ни пероксинитрит, ни гидроксил-радикал не индуцировал *Dr5::GUS* и, наоборот, подавлял эффект ауксина на 48-58 и 34-62 % соответственно. Пероксид водорода не оказывал заметного эффекта.

Дополнительно были поставлены ряд опыты со скевенджерами свободных радикалов и ингибитором НАД(Ф)Н-оксидазы. Было показано, что скевенджер супероксида CuCl_2 (0.5 мМ) подавлял эффект ауксина на экспрессию *Dr5::GUS* на 35-40 %, а скевенджеры пероксида водорода (10 мМ КJ) и пероксинитрита (1 мМ тиомочевины) усиливали эффект ауксина на 72 и 62 % соответственно. Ингибитор НАД(Ф)Н-оксидазы ZnCl_2 (0.3 мМ) подавлял эффект ауксина на 24-54 %.

Таким образом, если суммировать наши и литературные данные, можно предполагать, что оксид азота и супероксид принимают участие в ответе клетки на ауксин. Судя по их влиянию на экспрессию генов первичного ответа, не исключено участие NO и супероксида во внутриклеточной трансдукции ауксинового сигнала. Однако вопрос о месте и конкретной функции этих реакционно-активных соединений в ауксиновом сигналинге остается открытым. Следует помнить также об антагонистических взаимоотношениях супероксида и оксида азота, так как они химически взаимодействуют, тем самым подавляя сигнал друг друга, и при этом образуют радикалы – сильные окислители, которые могут вызывать патологические процессы в клетках.

**ВЛИЯНИЕ ВЛАЖНОСТИ ВОЗДУХА НА СОДЕРЖАНИЕ ГОРМОНОВ
И РАБОТУ УСТЬИЧНОГО АППАРАТА РАСТЕНИЙ –
РЕГЕНЕРАНТОВ ПШЕНИЦЫ**

**Effect of air humidity on hormone content and function
of stomata in wheat plant-regenerants**

С.В. Веселова, Н.Н. Круглова, С.Ю. Веселов
Институт биологии Уфимского НЦ РАН, г. Уфа
E-mail: veselovasv@mail.ru

Размножение растений путем культуры клеток, ткани и органов широко распространено в биотехнологии, селекции и генной инженерии. Конечным этапом всех клеточных технологий является получение полноценных фертильных растений. Но при посадке растений в почву возникают трудности с акклиматизацией регенерантов к низкой влажности. Растения, пересаженные в почву из пробирки, быстро теряют воду через листья и вянут. Но особенности устьичного аппарата растений-регенерантов практически не изучены. На первом этапе нас интересовало, как условия высокой относительной влажности воздуха влияют на устьичную проводимость и содержание гормонов. Объектом исследований служили растения-регенеранты, полученные из каллусной ткани, и выращенные в почве интактные растения твердой яровой пшеницы сорта Харьковская 46 в фенотипе третьего листа. Сравнение регенерантов и интактных растений проводилось в течение 15 суток. При выращивании части интактных растений были созданы условия высокой относительной влажности воздуха, т.е. сходные с теми, которые возникают в пробирке при выращивании регенерантов (в дальнейшем «влажные» растения). Устьичная проводимость (g_s) регенерантов в пробирке и «влажных» растений была в два-три раза выше, чем у контрольных растений, выращенных при относительной влажности воздуха 65 %. Благодаря высокой влажности воздуха испарения воды практически не происходило, несмотря на высокую устьичную проводимость. При этом содержание активных форм цитокининов (зеатин и зеатин рибозид) в листьях растений было в два раза ниже у регенерантов и «влажных» растений, по сравнению с контролем. Кроме того, мы использовали специфические антитела к зеатинрибозиду для выявления цитокининов в клетках тканей листа (методом иммунолокализации). Этот метод показал более слабое окрашивание клеток устьиц регенерантов, по сравнению с контрольными растениями. Ранее нами было показано, что увеличение скорости транспирации при повышении температу-

ры приводит к увеличению загрузки цитокининов в ксилему и их притока из корней в листья. Эти результаты позволяют связать низкий уровень цитокининов в листьях регенерантов и «влажных» растений с низким уровнем их транспирации в условиях высокой относительной влажности воздуха. С транспирационным потоком цитокинины направляются непосредственно к устьицам, что объясняет яркое окрашивание устьиц с помощью антител к цитокининам в контрольных растениях. Связь цитокининов с транспирацией заключается еще и в том, что в опытах с экзогенными цитокининами они поддерживали устьица в открытом состоянии. Способность цитокининов поддерживать устьица открытыми трудно связать с тем фактом, что у растений-регенерантов на фоне низкого содержания цитокининов устьица были открыты. Высокая проводимость листа регенерантов для паров воды могла быть связана с низким содержанием в их листьях АБК, которая, как известно, закрывает устьица. На втором этапе нас интересовал момент пересадки растений-регенерантов в почву, т.е. снижение влажности воздуха. Для растений резкое понижение влажности является стрессом, поэтому была подобрана схема, при которой действие стресса уменьшалось. Растения-регенеранты при пересадке переносили на слабое освещение, а влажность воздуха уменьшали постепенно, в течение 7 суток, с 99 до 65 %. И только на 10 сутки регенеранты переносили в условия нормального освещения. В таких же условиях находились и «влажные» растения. Регенеранты и «влажные» растения сравнивали с контрольными, которые находились в условиях нормальной влажности и низкой и нормальной освещенности. При снижении влажности и освещенности устьичная проводимость контрольных растений быстро падала, что является нормальной реакцией растений на снижение уровня фотосинтеза и возрастание дефицита воды. Эта важная адаптивная реакция также проявлялась у регенерантов и «влажных» растений, но в меньшей степени, чем у контрольных растений. При последующем увеличении освещенности устьичная проводимость возрастала, что также является нормальной реакцией растений на снижение концентрации углекислого газа в результате возрастания уровня его фиксации. И снова эта адаптивная реакция (повышение устьичной проводимости под влиянием света) была в меньшей степени выражена у регенерантов и «влажных» растений, чем у контрольных растений. Такие различия в степени реагирования не просто объяснить гормонами, поскольку исходный уровень как цитокининов, так и АБК (у регенерантов и «влажных» растений) был ниже по сравнению с контролем. Скорее всего, у растений-регенерантов и «влажных» растений был нарушен нормальный приток из корней

гормонов (АБК и цитокининов), необходимых для регуляции устьичной проводимости. Возможно, что высокая влажность воздуха и отсутствие транспирационного запроса влияли на развитие как проводящей системы, так и устьиц. Дальнейшая работа позволит проверить, в какой мере потребность растений-регенерантов в гормонах можно восполнить, вводя АБК и цитокинины извне.

Работа поддержана грантом РФФИ 05-04-50824.

ФИТОГОРМОНЫ КАК РЕГУЛЯТОРЫ РОСТА И РАЗВИТИЯ ПРЕСНОВОДНЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ

Phytohormones as a regulators of fresh water algae growth and development

Л.В. Войтенко, Л.И. Мусатенко

Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины, г. Киев

E-mail: Lesya_voytenko@ukr.net

Фитогормоны, как составные регуляторных систем роста и развития высших растений, найдены также у грибов и низших растений, в том числе у водорослей различных систематических групп. Менее других групп организмов изучены фитогормональные системы у пресноводных водорослей. Немногочисленные и часто противоречивые результаты исследований последних обусловили цель нашей работы – изучить качественный состав и количественное содержание гиббереллинов и цитокининов у пресноводных водорослей – представителей рода *Chara* – с разной интенсивностью роста на разных этапах развития.

Объектами исследований были пресноводные зеленые харовые водоросли – *Chara contraria* A. Braun ex. Kutz. (высокорослая) и *Chara vulgaris* L. (низкорослая), членисто-мутовчатый побег которых характеризуется апикальным типом роста – неограниченным, а листья – ограниченным. Исследовали стерильный (неполовозрелый) и фертильный (половозрелый) талломы водорослей с ризоидами. Определение фитогормонов проводили методами ВЭЖХ и биотестов.

Содержание и соотношение различных форм гиббереллинов (ГПВ) и цитокининов (ЦТК) в исследуемых харофитах изменялись в процессе их роста и развития. Фертильный таллом *Ch. contraria* характеризуется большим (за счет конъюгированных форм) количеством ГПВ, чем стерильный. В бутанольных фракциях (БФ) обоих талломов преобладали вещества с Rf 0.4-0.6. Повышенное содержание связанных ГПВ найдено в фертильном талломе низко-

рослой *Ch. vulgaris*. При этом спектр ГПВ БФ был значительно шире, чем этилацетатной фракции (ЭФ), и количество их было больше. В БФ преобладали вещества с Rf 0.1 и 0.5-0.7, в ЭФ – с Rf 0.4-0.6, что предположительно соответствует гиббереллинам ГК₃, ГК₄, ГК₇, ГК₉. Очевидно, такой характер накопления ГПВ в фертильном талломе водорослей обусловлен активным развитием репродуктивных органов на боковых листовых узлах. Высокое содержание связанных ГПВ, по всей видимости, является резервом функционально активных гиббереллинов, контролирующих активность физиологических процессов роста и развития.

В талломах *Ch. contraria* и *Ch. vulgaris* идентифицированы свободные формы ЦТК – зеатин (З), зеатинрибозид (ЗР), изопентениладенин (иП) и изопентениладенозин (иПА). В стерильном талломе *Ch. contraria* доминировали ЗР и иПА, в фертильном – ЗР. Уровни всех найденных ЦТК в период репродуктивного развития водоросли были почти в 10 раз выше, чем в период вегетативного роста в основном за счет З, ЗР и иП. Что касается *Ch. vulgaris*, то в ее фертильном талломе среди найденных свободных ЦТК количественно преобладали изопентенильные формы, тогда как уровни З и ЗР были значительно ниже. Следует отметить, что в период репродуктивного развития водорослей содержание З и ЗР в фертильном талломе низкорослой *Ch. vulgaris* было существенно ниже, чем в талломе высокорослой *Ch. contraria*, тогда как уровни иП и иПА в исследуемых видах были почти одинаковыми. Можно предположить, что высокое содержание свободных форм ЦТК в репродуктивном талломе харофитов связано с повышенной интенсивностью метаболических превращений, обусловленных, с одной стороны, развитием репродуктивных органов, и, с другой, разной интенсивностью апикального роста этих уникальных организмов. Кроме того, полученные данные о зависимости между интенсивностью ростовых и формообразовательных процессов и соотношением фитогормонов могут свидетельствовать о том, что у водорослей, как и у высших растений, они играют роль эндогенных регуляторов роста.

**УЧАСТИЕ ФОСФАТИДНЫХ КИСЛОТ
В ТРАНСПОРТЕ ИОНОВ КАЛЬЦИЯ И МАГНИЯ
ЧЕРЕЗ МЕМБРАНЫ РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК**

**Participation phosphatidic acids in transport of calcium
and magnesium ions through membranes of plant cells**

О.В. Воронина¹, О.В. Танкелюн¹, А.Ю. Батов¹, Я. Мартинец², С.С. Медведев¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург
E-mail: voov2003@mail.ru

² Институт экспериментальной ботаники Чешской академии наук,
г. Прага

Фосфатидную кислоту (ФК) рассматривают как вторичный мессенджер липидной природы, который участвует в передаче сигналов о повреждении, водном, солевом и окислительном стрессах, полярном росте, осмотическом изменении объема замыкающих клеток устьиц и других процессов, происходящих в растительной клетке. Уровень ФК в клетках-мишенях временно повышается под действием патогенов, элиситоров, АБК и этилена. Изменение уровня ФК оказывает влияние на физические свойства мембран и их способность образовывать везикулы. ФК, как вторичный посредник липидной природы, способна вызывать связывание с плазмалеммой и повышение активности таких ферментов, как НАДФН-оксидаза, кальций-зависимых протеинкиназ, киназ МАРК-каскада, участвующих в трансдукции этиленового сигнала. Изменение уровня ФК оказывает влияние на физические свойства мембран, их способность образовывать везикулы и, тем самым, модулировать процессы везикулярного транспорта.

Имеются данные о том, что ФК обладает способностью транспортировать ионы Ca^{2+} через мембраны мышечных и нервных клеток. У растений при передаче сигнала АБК на замыкающих клетках устьиц выявлено, что изменение активности фосфолипазы D сопровождается повышением уровня ионов Ca^{2+} в цитоплазме. Можно предположить, что изменения уровня фосфатидной кислоты и концентрации ионов Ca^{2+} являются последовательными событиями при трансдукции сигналов в фосфатидатной сигнальной системе растительной клетки. Задача настоящей работы заключалась в анализе ионофорных функций фосфатидной кислоты в процессе транспорта ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} через мембраны растительных клеток.

Объектом исследования служили 4-суточные этиолированные проростки кукурузы (*Zea mays* L.), гибрид F1 Нарт 150. В работе были использованы отрезки корней и колеоптилей длиной 20 и

10 мм, соответственно с удаленными апексами. Везикулярные мембранные препараты плазмалеммы и эндомембран получали с использованием методов дифференциального центрифугирования с последующим разделением общей микросомальной фракции в двухфазной водно-полимерной системе декстран/полиэтиленгликоль (при выделении плазмалеммы) и в градиенте плотности сахарозы (при выделении фракции эндомембран, включающей тонопласт и эндоплазматический ретикулум). Транспорт ионов изучали спектрофлуорометрически с использованием индо-1 и хлортетрациклина (ХТЦ). Зонд индо-1 ($\lambda_{\text{возб.}}$ – 334 нм, $\lambda_{\text{фл.}}$ – 405 нм) загружали во внутреннее пространство везикул при помощи осмотического шока. Зонд ХТЦ ($\lambda_{\text{возб.}}$ – 470 нм, $\lambda_{\text{фл.}}$ – 521 нм) вносили в среду инкубации. Уровень флуоресценции определяли с использованием флуоресцентного спектрофотометра и программы Cary Eclipse (Австралия, 2000 г.).

Исследовано влияние фосфатидных кислот разного жирно-кислотного состава и рН среды на транспорт ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} через мембраны везикул плазмалеммы и эндомембран. Для измерения потоков ионов использовали флуоресцентные зонды: индо-1 (загружали внутрь везикул) и хлортетрациклин (добавлялся в среду инкубации). В ходе анализа использовали следующие фосфатидные кислоты: ФК, полученную из лецитина (фосфатидилхолина) яичного желтка; ФК, содержащую пальмитиновые жирные кислоты (16:0); ФК, содержащую олеиновые жирные кислоты (18:1). На везикулах, полученных из плазмалеммы, наибольший флуоресцентный ответ зонда индо-1 наблюдался при добавлении ФК (олеиновые жирные кислоты) в инкубационную среду с ионами Ca^{2+} . На везикулах эндомембран значительный эффект оказывали как ФК (олеиновые жирные кислоты), так и ФК (пальмитиновые жирные кислоты). Показано, что ФК способна транспортировать не только ионы кальция, но и ионы магния, т.е. ионы двухвалентных металлов, но с меньшим сродством. Действие (перенос ионов магния через мембраны) ФК, различных по жирно-кислотному составу, отличается. Таким образом, если ФК способна переносить ионы кальция через мембраны, т.е. обладает функцией кальциевого ионофора, то она может участвовать в системе кальциевой сигнализации, инициируя транспорт ионов Ca^{2+} по градиенту концентрации в цитоплазму, тем самым, активируя Ca -регулируемые процессы.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 05-04-49619.

**РОЛЬ ГОРМОНАЛЬНЫХ СИГНАЛОВ
В РЕГУЛЯЦИИ РОСТА ПОБЕГА И КОРНЯ
ПРИ ДЕФИЦИТЕ ИОНОВ В ПИТАТЕЛЬНОМ РАСТВОРЕ**

**The role of hormonal signals in the regulation of shoot and root growth
under ion deficit in the nutrient medium**

Л.Б. Высоцкая

Институт биологии Уфимского НЦ РАН, г. Уфа
E-mail: vysotskaya@anrb.ru

Доступность почвенных минеральных элементов определяет рост и развитие растений через их влияние на фотосинтез и распределение ассимилятов, активность ферментов, содержание пигментов, транспорт ионов и т.д. Поэтому для адаптации растений к условиям минерального статуса почвы необходима интеграция различных процессов, находящихся под контролем множества факторов. По некоторым данным литературы, дефицит азота и фосфора приводит к снижению проницаемости мембран для воды, генерируя гидравлический сигнал и приводя к дефициту воды в растении, что влечет за собой закрытие устьиц и ингибирование роста. Изменение концентрации гормонов в растениях, которое наблюдают в ответ на изменение доступности ионов в почве, также является важным звеном в процессе адаптации растений к условиям минерального питания. Нарушение потока гормонов из стрессированных корней зачастую может проявляться в более ранние сроки по сравнению с ощутимым изменением содержания элементов и ионов в самом растении. Довольно много внимания было уделено корневому сигналингу АБК. Однако обнаруженная недавно способность побега к самостоятельному синтезу цитокининов, а также отсутствие однозначной оценки вклада корневых цитокининов в сигналинг корень-побег при стрессах убеждает нас в актуальности исследований механизмов контроля содержания гормонов в условиях дефицита минерального питания.

Объектом исследований служили 6-8-суточные растения пшеницы (*Triticum durum* Desf., сорта Безенчукская139). Дефицит ионов в питательной среде создавали разбавлением 10 %-ного раствора X-A (контроль) до 1 %-ного. Гормоны определяли методом ИФА. Активность цитокининоксидазы (ЦКО) оценивали по количеству деградированного изопентениладенина в присутствии выделенного из растения препарата белка. Фотосинтез измеряли с помощью газового анализатора.

Разбавление питательного раствора приводило к ингибированию роста побега, в то время как скорость роста корня оставалась на уровне контрольных растений, что говорит о перераспределении

недостающих ресурсов в пользу корня. Наблюдаемое на второй день более низкое содержание сухого вещества в растениях на дефицитной питательной среде происходило за счет снижения скорости фотосинтеза. Уменьшение линейной скорости роста и накопления сырой массы проявлялось уже через сутки. Поскольку рост поделившихся клеток растяжением зависит от доступности воды, ингибирование роста могло быть связано с уменьшением потока воды из корней. Однако снижение гидравлической проводимости наблюдали только через день после снижения скорости роста побега. Кроме того, не было обнаружено никаких признаков дефицита воды в растениях: транспирация и устьичная проводимость, содержание воды оставались на уровне контрольных растений. Наблюдаемое нами снижение осмотической водной проводимости могло быть причиной умеренного снижения содержания воды в растущей зоне листа через двое суток после разбавления питательной среды. В этой связи в работе обсуждаются роль и вклад апопластного транспорта воды и транспорта ее от клетки к клетке. Но, несмотря на то, что мы не наблюдали выраженного гидравлического сигнала, ростовая реакция растений была типичной для дефицита ионов в почве и заключалась в относительной активации роста корней. Поэтому выбранная нами модель является очень удачной для изучения сигналов негидравлической природы.

Через сутки после разбавления питательного раствора содержание азота в разных зонах листа еще не претерпело существенных изменений. Содержание цитокининов к тому времени падало, а АБК – несколько повышалось. Эта гормональная реакция могла быть непосредственной причиной замедления роста побега. В качестве корневого сигнала выступало повышение содержания связанной АБК в ксилемном соке, которое было обнаружено в первые сутки после перенесения растений на дефицитную питательную среду. Накопление АБК в побеге, по-видимому, увеличивало уровень экспрессии гена ЦКО, повышение активности которой также проявилось через сутки после разбавления питательного раствора. Эти результаты говорят о том, что цитокининовый сигнал генерировался в самом побеге через активацию ЦКО. Таким образом, результаты исследований доказывают преимущественную регуляторную роль гормональных сигналов в обеспечении ростовой реакции побега. При этом данные не отрицают факт взаимодействия гормональных и гидравлических сигналов в регуляции координации роста побега и корня на последующих этапах. Кроме того, в работе показана роль ИУК и АБК в поддержании преимущественного роста корня, а также обсуждаются результаты оценки флоэмного транспорта гормонов из побега в корень.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты: № 06-04-49166, № 05-04-50824-МФ).

**МЕТОД ПРИВИВОК ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ТРАНСЛОКАЦИИ
СИГНАЛОВ ЦВЕТЕНИЯ У *ARABIDOPSIS THALIANA*****The grafting method for revealing the flowering signal translocation
in *Arabidopsis thaliana*****Ю.А. Гарлик, Э.Л. Миляева, Г.А. Романов**Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, г. Москва
E-mail: gar@ippras.ru

Переход растения от вегетативного состояния к цветению является одним из важнейших этапов в жизни растения, который определяет их продуктивность. Поэтому поиск механизмов, в том числе и молекулярно-генетических, определяющих переход к цветению, является одной из важнейших задач биологии.

В основе представлений о фотопериодической индукции цветения лежит разработанная М.Х. Чайлахяном теория о том, что под влиянием благоприятного фотопериода в листьях образуется стимул цветения, названный флоригеном, который транспортируется из листьев по флоэме в стеблевые апексы. Флориген вызывает последовательную активацию генов, участвующих в цветении. Современные молекулярно-генетические исследования подтвердили теорию М.Х. Чайлахяна о мобильном стимуле цветения. Дальнейшее изучение флоригена и характера его транслокации на молекулярно-генетическом уровне требует соответствующих модельных систем. Одним из наиболее удобных объектов исследований являются растения *Arabidopsis thaliana* L., для которого известна полная структура генома и получены мутанты по разнообразным генам, участвующим в цветении.

Целью нашей работы было отработать методы прививок разных органов растений *Arabidopsis thaliana* (экотип Columbia), индуцированных (длинным днем) или неиндуцированных к цветению.

Растения выращивали в почвенной культуре в факторостатных камерах Института физиологии растений на длинном (16 час света + 8 час темноты) и коротком (8 час света + 16 час темноты) дне при температуре 20-22 °С и освещении люминесцентными лампами белого света ЛБ-80. Интенсивность светового потока на уровне растений составляла 40 Вт/м².

Нам удалось привить апексы выращенных на коротком дне растений на растения, выращенные на длинном дне. Все растения находились в возрасте 45 дней – это возраст, когда на длинном дне арабидопсис уже зацветает. Верхушечные почки (~1 мм) вырезали острым лезвием под бинокляром, а затем помещали на место уда-

ленного цветоноса длиннодневного растения. Далее растения накрывали влажной фильтровальной бумагой и чашками Петри. Растения выдерживали на рассеянном свете до приживания апексов. Затем все преграды для света убирали и растения оставляли в условиях короткого дня.

Растения арабидопсиса являются количественно длиннодневными, т.е. зацветают как на длинном, так и на коротком дне. Но если зацветание на длинном дне происходит после 40 дней от посева, то на коротком дне – приблизительно через 120 дней.

В результате прививок были получены следующие результаты: апексы растений, выращенных на коротком дне и привитые на растения, выращенные на длинном дне, произвели цветки уже через 20 дней после прививки, несмотря на условия короткого дня. Контрольные апексы на растениях в условиях короткого дня перешли к цветению в обычное время, т.е. на 50 дней позже.

Таким образом, нам удалось осуществить прививки апексов неиндуцированных к цветению растений на индуцированные растения и выявить значительное ускорение перехода пересаженных апексов к цветению, что свидетельствует о транслокации сигнала цветения из растений-подвоев в привитые апексы.

ФОТОРЕЦЕПТОРЫ CRY1, PHYB И БРАССИНОЛИД В РЕГУЛЯЦИИ ОНТОГЕНЕЗА АРАБИДОПСИСА

Photoreceptors cry1, phyB and brassinolide in the regulation of Arabidopsis ontogenesis

И.Ф. Головацкая, Н.М. Никонорова, М.А. Шубина, Р.А. Карначук,
М.В. Ефимова, В.А. Хрипач¹

Томский государственный университет, г. Томск
E-mail: lapgol@mail.tomsknet.ru

¹ Институт биоорганической химии НАН Беларуси, г. Минск

Роли света и фитогормонов в регуляции развития растений значительно перекрываются. Недостаточно изучена роль ростстимулирующих фитогормонов brassinosterоидов в развитии растений при передаче светового сигнала через различные фоторецепторы. Удобным объектом для изучения взаимодействия brassinosterоидов и света в регуляции роста и развития растений служат мутанты *hy3* и *hy4* арабидопсиса *Arabidopsis thaliana* экотипа Landsberg *erecta*, дефектные по фитохрому В и криптохрому 1, выросшие из необработанных или обработанных 10^{-9} М раствором брассинолида (БЛ) семян на белом свете.

Сравнительный анализ роста и развития растений исходной

линии *Ler* и мутантов *hy3* и *hy4* показал, что отсутствие *phyB* и *cry1* обуславливает увеличение продолжительности стадий онтогенеза, в том числе замедляет переход из вегетативной стадии в репродуктивную.

40-дневные растения арабидопсиса мутантных линий характеризовались меньшей площадью розеточных листьев по сравнению с диким типом, что было обусловлено как меньшей скоростью роста листьев, так и более ранним завершением растяжения их поверхности. У растений мутантов замедлялось формирование главного генеративного побега (ГПП). Общее количество ярусов на генеративных побегах было существенно меньше у *hy3* (на 40 %) и больше у *hy4* (на 24 %) по сравнению с исходной линией. Такие различия были обусловлены меньшим ветвлением генеративных побегов у *hy3*, но большим – у *hy4*. Известно, что апикальное доминирование контролируется ауксинами. Отсутствие *phyB* усиливает апикальное доминирование, вероятно, также за счет увеличения синтеза ИУК. Данные, полученные нами ранее, показали, что отсутствие фитохрома В на белом свету+УФ-А обуславливает повышение уровня ауксина и уменьшение цитокининов в арабидопсисе.

Различия по числу репродуктивных органов (РО) свидетельствуют о длительной фазе бутонизации мутанта по фоторецептору фитохрому В, тогда как у мутанта по фоторецептору криптохрому 1 отмечены изменения в фазу плодоношения. Растения *hy4* формировали больше мелких стручков с меньшей наполняемостью семенами относительно *Ler*, часть стручков были бессемянными и опали. Эти данные характеризуют низкую мужскую фертильность у *hy4*. Общее количество созревших стручков у 64-дневных растений мутантов *hy3* и *hy4* меньше общего количества стручков у *Ler*, в результате чего была снижена их семенная продуктивность.

Предпосевная обработка 10^{-9} М раствором БЛ семян арабидопсиса разных линий изменила ростовые процессы и продолжительность фаз онтогенеза. Экзогенный БЛ способствовал большему и более раннему растяжению площади листьев розетки, увеличению длины ГПП и количества РО у *Ler*_{БЛ} по сравнению с *Ler*. Растения *Ler*_{БЛ} раньше завершали фазы формирования розетки и ГПП, а следовательно, раньше переходили в репродуктивную стадию, по сравнению с контролем *Ler*.

В отсутствие *cry1* была увеличена отзывчивость ростовых реакций *hy4*_{БЛ} на действие БЛ: отмечены усиление скорости формирования площади розеточных листьев и боковых побегов, увеличение длины ГПП и количества РО по сравнению с диким типом. У мутанта *hy4*_{БЛ} увеличилась на 85 % листовая поверхность розетки по сравнению с *hy4*, что обуславливало восстановление размеров *Ler*, начиная с 18 суток. Экзогенный БЛ повышал скорость растя-

жения осевых органов (ГПП) у всех линий, восстанавливая к 40 суткам дикий фенотип ГПП у обеих мутантных линий. Однако в дальнейшем (54 сутки) скорость растяжения ГПП мутантов снижалась по сравнению с $Ler_{\text{БЛ}}$, возможно, за счет отвлечения питательных веществ на рост боковых побегов. Накопление сухой биомассы растений мутантов под влиянием БЛ происходило за счет увеличения биомассы как розетки, так и ГПП. Действие БЛ ускорило цветение и плодоношение мутантов $hy3_{\text{БЛ}}$ и $hy4_{\text{БЛ}}$, по сравнению с $hy3$ и $hy4$, восстанавливая сроки развития исходной линии Ler .

Таким образом, мутации генов $PHYB$ и $HY4$ обуславливают замедление роста вегетативных и репродуктивных органов и увеличение продолжительности фаз онтогенеза растений на белом свете, возможно, за счет нарушений в восприятии света разного спектрального состава и регуляции ритмов роста и развития. Мутация гена $PHYB$ способствует увеличению апикального доминирования побега. Действие 0.001 мкМ БЛ снимает апикальное доминирование главного побега и стимулирует его ветвление, увеличивает количество стручков и их обсемененность, что обуславливает повышение семенной продуктивности арабидопсиса Ler , $hy3$ и $hy4$. Действие БЛ частично восстанавливает у мутантов фенотип дикого типа Ler , компенсируя отсутствие фоторецепторов, что позволяет предполагать БЛ в качестве трансдуктора светового сигнала, поглощаемого $phyB$ и $cry1$.

РОЛЬ ГИББЕРЕЛЛИНОВ И БРАССИНОЛИДА В РЕГУЛЯЦИИ РОСТА И РАЗВИТИЯ АРАБИДОПСИСА

The role of the gibberellins and brassinolide in the regulation of Arabidopsis growth and development

И.Ф. Головацкая, Ю.М. Винникова
Томский государственный университет, г. Томск
E-mail: lapgol@mail.tomsknet.ru

Известно, что гиббереллины (ГК) и брассиностероиды (БР) управляют морфогенезом растений. Дискуссионным остается вопрос о независимом контроле БР и ГК процессов роста и развития растений. В связи с этим исследовали совместное действие ГК и брассинолида (БЛ) в регуляции роста и развития растений *Arabidopsis thaliana* экотипа Landsberg *erecta*. Растения исходной линии Ler и

мутанта *ga4-1* с нарушенным синтезом активных ГК, выращивали из необработанных (контроль) или обработанных 10^{-9} М раствором БЛ семян (опыт) на белом свете.

Отсутствие активных форм эндогенных гиббереллинов GK_1 и GK_4 у мутанта *ga4-1* обуславливало замедление развития растений по сравнению с исходной линией *Ler*. С каждой последующей фазой развития *ga4-1* ее продолжительность увеличивалась от двух (фаза формирования розетки) до 14-ти суток (фаза плодоношения). Сравнительный анализ ростовых параметров и продуктивности 61-дневных растений показал, что отсутствие $GK_{1/4}$ обуславливало снижение темпов растяжения листьев, главного и боковых генеративных побегов (ГПП и БПП) и накопления сухой биомассы растений. Другой отличительной чертой мутанта по биосинтезу ГК явилось повышенное ветвление ГПП, имеющего в 2 раза большее количество БПП относительно *Ler*. Ветвление – признак снятия апикального доминирования, вызванного определенным соотношением ИУК и цитокининов. Поэтому недостаток $GK_{1/4}$, вероятно, затрагивал эндогенный уровень этих фитогормонов у мутанта. Это предположение согласуется с нашими данными, полученными при выращивании исследуемых линий арабидопсиса на монохроматическом свете. Растения мутанта *ga4-1* характеризовались более низким содержанием ИУК, но более высоким уровнем рибозида зеатина по сравнению с *Ler* как на зеленом, так и на синем свете.

Количество бутонов и цветков у растений мутанта было больше в 1.6 раза такового у дикого типа. Формировались мелкие стручки, часть из которых не достигала средних размеров и не вызревала, поэтому семенная продуктивность *ga4-1* в расчете на одно растение была ниже, чем у *Ler*.

Предпосевная обработка 10^{-9} М раствором БЛ семян арабидопсиса изменила как характер роста проростков, вегетативных и репродуктивных органов, так и продолжительность стадий жизненного цикла растений. Эффект экзогенного БЛ во многом зависел от уровня эндогенных ГК. Действие БЛ сокращало продолжительность фаз развития мутанта *ga4-1*, по сравнению с необработанными растениями, но при этом сохранялись различия с *Ler*. БЛ усиливал растяжение листьев и побегов, повышал ветвление и биомассу растений мутанта, причем последняя достигала уровня дикого типа в интервале с 28 по 40 сутки (фаза цветения). Экзогенный гормон увеличивал количество стручков и их наполняемость и в итоге – семенную продуктивность мутанта.

Наибольший эффект БЛ проявился в присутствии активных $GK_{1/4}$ у *Ler*, отмечено аддитивное действие двух групп гормонов ($GK_{1/4}$ + БЛ) на длину боковых побегов, площадь семядолей и листьев, сухую биомассу и синергическое – на семенную продуктив-

ность растения.

Из вышеизложенных данных следует, что роль $ГК_{1/4}$ состоит в увеличении растяжения и формировании вегетативных и репродуктивных органов и сокращении продолжительности стадий жизненного цикла растения арабидопсиса при выращивании на белом свете. Действие БЛ также уменьшает продолжительность фаз онтогенеза, увеличивает скорость роста органов обеих линий, различающихся по эндогенному уровню ГК. Наибольший эффект БЛ проявился в присутствии активных $ГК_{1/4}$, отмечено параллельное и совместное действие двух групп гормонов ($ГК_{1/4} + БЛ$) на параметры растения *Ler*.

Действие экзогенного БЛ частично компенсирует недостаток активных форм $ГК_{1/4}$, увеличивая общую длину побегов и восстанавливая семенную продуктивность мутанта до уровня дикого типа. Последний эффект был обусловлен увеличением количества боковых побегов, стручков, их длины и наполняемости семенами. Однако полного восстановления фенотипа исходной линии не происходило. При недостатке эндогенных активных $ГК_{1/4}$ у мутанта включались другие регулируемые БЛ компенсаторные механизмы. В качестве одного из них мог выступать определенный баланс эндогенных фитогормонов (ауксинов, цитокининов и других).

МОЖЕТ ЛИ ДЕКСАМЕТАЗОН БЫТЬ ИНДУКТОРОМ АПОПТОЗА В РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТКАХ?

Whether the dexamethasone can be of the apoptosis inducator in plant cells?

Л.Х. Гордон, Д.Ф. Рахматуллина, А.А. Пономарева, Т.И. Огородникова
Казанский институт биохимии и биофизики Казанского ИЦ РАН,
г. Казань
E-mail: gordon@mail.knc.ru

Известно, что дексаметазон (ДМ) является индуктором апоптоза в клетках животных. Действие ДМ на растительные клетки практически не изучено. В связи с этим нами были проведены исследования по выявлению влияния ДМ на дыхательный обмен и ультраструктуру растительных клеток. Была также поставлена задача определить ответную реакцию клеток растений на действие ДМ в условиях стабилизации внутриклеточного рН естественным рН-буфером карнозином.

Объект исследования: отсеченные корни 5-дневных проростков

пшеницы, выращенных в растворе CaCl_2 ($2.5 \cdot 10^{-4}$ М). Определяли потребление кислорода, дыхательный коэффициент, ультраструктуру клеток при 5-часовой инкубации корней с ДМ и через 24 часа инкубации. ДМ использовался в концентрации 10^{-5} М, карнозин – 20 мМ.

ДМ в течение 5 часов инкубации корней ингибировал потребление кислорода примерно на 20-30 %. Дыхательный коэффициент при этом не изменялся и был близок к единице. Вероятно, подавление дыхания ДМ не связано с ингибированием отдельных комплексов электрон-транспортной цепи митохондрий.

При стабилизации внутриклеточного рН карнозином ингибирующий эффект ДМ предотвращался. Мы предполагаем, что действие ДМ на дыхание связано с закислением цитоплазмы. Кроме того, ингибирование потребления кислорода может быть связано с блокадой ДМ гликолиза, что было показано на клетках животных. В наших опытах ДМ устранял стимуляционный эффект глюкозы на дыхание.

Электронно-микроскопические исследования показали, что через 5 часов действия ДМ происходит сильная вакуолизация цитоплазмы (один из признаков апоптоза). Вакуолизация в значительной мере устранялась карнозином.

Через 24 часа действия ДМ обнаруживается большое число погибших клеток. Потребление кислорода снижено. Действие ДМ частично предотвращается карнозином.

Таким образом, можно сделать вывод, что ДМ и в растительных клетках индуцирует апоптоз, вероятно, по механизму аутофагии (образованию больших вакуолей).

РОЛЬ ЛИСТЬЕВ И ЦИТОКИНИНА В ФОРМИРОВАНИИ ПЛОДОВ У ТОМАТА

Role of leaves and cytokinin on the development of tomatoes

И.А. Гусева, В.Н. Хрянин

Пензенский государственный педагогический университет

им. В.Г. Белинского, г. Пенза

E-mail: egf@sura.ru

Эксперименты по выяснению роли листьев и цитокинина (6-БАП) в образовании плодов у томата сорта Женарос проводились в закрытом грунте в ПО ГУП «Тепличный». Рассада в течение 45 дней выращивалась при досвечивании лампами марки REFLUX-600, а затем растения высаживались в грунт и выращивались при естественном освещении (4-11 тыс. люкс). Густота посадки: 2.5-2.7

растения на 1 кв.м, а среднее количество соцветий на каждом опытном растении 14 ± 3 штук. Опыт включает несколько вариантов: около кисти оставляли три листа (1-й вариант), два листа (2-й вариант) и один лист (3-й вариант). В следующей серии опытов во всех этих вариантах вводился цитокинин (6-БАП, 10 мг/л) путем наложения пластыря на основание черешка кисти с завязавшимися плодами (0.2-0.5 см в диаметре). Под пластырь закладывалась вата, в которую в течение четырех дней шприцем вводился 6-БАП. Результаты экспериментов показали, что рост плодов растений с тремя листьями у кисти в течение всех 53 дней наблюдения значительно опережал рост в других вариантах опыта. Количество кистей на одном растении сформировалось: в 1-м варианте – 15 шт., во 2-м – 14 шт., в 3-м – 13 шт. Среднее количество плодов в одной кисти составляло: в 1-м и 2-м вариантах – 4.5 шт., а в 3-м – 3.5 шт. Соответственно товарный урожай с апреля по сентябрь и общий был также выше в первом варианте – 10.8 кг с одного растения (во 2-м – 9.1 кг, в 3-м – 7.0 кг). Общее содержание углеводов в плодах растений первого варианта на 21 % также оказалось больше, чем во втором и третьем вариантах. Все это говорит о том, что в формировании плодов у томатов и обеспечении их питательными веществами принимают участие одновременно ассимиляты всех трех листьев, расположенных около кисти, а не отдельно взятый лист. К тому же интенсивность дыхания листьев растений 1-го варианта в 2-4 раза была выше, чем в других вариантах. Интересно, что содержание общей воды в листьях растений 3-го варианта было на 10-12% больше, а органических веществ меньше, чем в листьях томатов 1-го варианта опыта. Что касается цитокинина, обладающего аттрагирующей способностью, то его действие на формирование плодов томата более четко проявилось в варианте – 3 листа+6-БАП. На протяжении 41-го дня (начиная с 4-го дня после введения цитокинина) рост плода (диаметр и масса) в варианте – 3 листа+6-БАП на 30 % превышал контроль (3 листа без цитокининов). Созревание плодов у растений, обработанных 6-БАП, сократилось в варианте с тремя листьями на 11 дней, а с двумя и одним листьями – на 6 дней. На 7.2 % увеличилось в плодах опытных растений общее содержание углеводов по сравнению с контрольными, без введения цитокининов. Метод обработки растений цитокининами, позволяющий ускорить созревание плодов на 5-10 дней до товарного урожая и повысить содержание сахаров в плодах томатов до 7 %, можно рекомендовать в практику тепличных предприятий.

ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ МОРФОГЕНЕЗА МХОВ

Phytohormones in moss morphogenesis

О.Т. Демкив, Я.Д. Хоркавцив

Институт экологии Карпат НАН Украины, г. Львов

E-mail: *morphogenesis@mail.lviv.ua*

Гаплоидная гаметофитная стадия развития мхов – удобная модель для изучения процессов дифференциации на клеточном уровне, в связи с простотой строения протонемы и возможностью довольно легко культивировать растения стерильно. Большим преимуществом в изучении дифференциации гаметофита является также небольшое количество типов клеток на ювенильной стадии, а развитие происходит в результате дифференцировки одиночной верхушечной клетки. Хотя протонема мала по размеру, она доступна для непосредственного экспериментального исследования и это уже позволило получить важные морфогенетические результаты. Генетические исследования, изучение морфогенеза и гравичувствительности в основном проводят с *Funaria hygrometrica* и *Physcomitrella patens*. В опытах мы используем также *Ceratodon purpureus* и *Pottia intermedia*.

Известно, что дифференциация клеток протонемы зависит от фитогормонов (Ворр, Werner, 1993). Морфологические различия протонемы составляют клетки с прямой в хлоронеме и косой в каулонеме ориентацией межклеточных перегородок. Экзогенные ИУК и цитокинин контролируют дифференциацию клеток, а интегрируясь с внешними воздействиями, могут оказывать различное влияние на развитие протонемы. Под действием ауксина клетки хлоронемы начинают расти как каулонемные, а цитокинин активирует закладку почек гаметофоров. Чувствительность к цитокинину является универсальным свойством для различных видов мхов, что подтверждено многими исследованиями (Chopra, Kumar, 1988; Ворр, 1990; Демкив и др., 1991; Bhatla, 1994). Только на клетках каулонемы происходят дальнейшая дифференциация и образование почек. Каулонемные клетки служат специфической мишенью для цитокинина, потому что они содержат белки-посредники, связывающие цитокинин, которых нет на стадии хлоронемы (Heintz et al., 2006). От продолжительности действия цитокинина морфологический эффект может измениться, и если применить длительное воздействие (72 час), то у большинства почек это приводит к обратимости процесса и образованию протонемы, а иногда каллуса. Таким образом, происходит реверсия почек, и они не развиваются в листостебельные гаметофоры. Для АБК нет четкого определения

ее участия в развитии протонемы мхов. Чаще всего рассматриваются функции АБК в процессах приобретения толерантности к экстремальным факторам, таких как низкие температуры и обезвоживание во время вегетативного развития гаметофита. Однако в последних работах сообщается о регуляторном действии АБК в индукции почек и образовании гаметофоров *Funaria hygrometrica* (Christianson, 2000; Cove, 2006). В связи с гиперчувствительностью мутанта *C. purpureus* к АБК, мы провели опыты с низкими концентрациями абсцизовой кислоты (0.1-1.0 мкМ). Протонему выращивали на среде с АБК а затем переносили на среду с АБК+цитокинин. Результаты указывают на то, что АБК не препятствовала дифференциации каулонемных клеток, но независимо от этого образование почек подавлялось. Вероятно, АБК не влияет на рецепцию цитокинина, но эффективно предотвращает его действие на последующих этапах формирования почек. Однако пока этот вопрос остается не решенным.

Установлено, что цитокинин в морфогенезе гравитропной протонемы *Pottia intermedia* действует специфически. После гравитиммуляции и перенесения протонемы из темноты на свет, цитокинин индуцировал массовое образование почек на апикальных клетках, чего обычно в норме не наблюдается. В этом случае проявилось морфогенетическое действие цитокинина. Вероятно, гравитация усилила аттракцию и перемещение метаболитов к верхушке апикальной клетки, что способствовало физиологической поляризации и локальной дифференцировке почек. Если вектор гравитации снимали клиностаტიрованием, то почки закладывались по всей длине столонов, что подтверждает участие гравитации в морфогенезе апикальных клеток протонемы. Влияние ауксина в гравитропизме протонемы *C. purpureus* изучали с помощью ингибитора полярного транспорта ауксина НФК (N-1-нафтилфталомовая кислота). После действия 3 мкМ НФК чувствительность апикальных клеток к гравитации снижалась у 40, а скорость роста – у 30 %, т.е. НФК ингибировала оба процесса гравитропной реакции, но особенно изгиб. До этого исследовали только латеральные перемещения ИУК во время гравитропизма многоклеточных органов и не проводили аналогичных исследований на одноклеточных нитчатых структурах. Поэтому результаты наших опытов свидетельствуют об участии полярного транспорта ИУК в гравитропизме нитчатых структур с апикальным ростом. Очевидно, что не латеральное перемещение ИУК в одной клетке обеспечивает симметрию изгиба, а базипетальный транспорт поляризует ее функционально, вследствие чего зона роста перемещается также в зависимости от направления силы тяжести. Таким образом, дифференциация клеток протонемы и организованное развитие гаметофита мхов сопряжены с полярным транспортом фитогормонов.

**ИССЛЕДОВАНИЕ РОСТРЕГУЛЯТОРНЫХ СВОЙСТВ
САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ****Investigation of growth regulator properties of the salicylic acid**

Т.И. Дитченко, В.М. Юрин

Белорусский государственный университет, г. Минск

E-mail: ditchenko@inbox.ru

Целью настоящей работы явилось исследование закономерностей воздействия экзогенной салициловой кислоты (СК) на показатели роста каллусной культуры *Nicotiana tabacum* в зависимости от гормонального баланса питательной среды.

В качестве объекта исследований использовали длительно пассируемую каллусную культуру *Nicotiana tabacum*. Культивирование каллусов осуществлялось на питательной среде Мурасиге и Скуга в присутствии 3 мг/л индолилуксусной кислоты (ИУК), 0.2 мг/л 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д) и 0.04 мг/л кинетина (среда RMNO). В работе также были использованы модифицированные варианты питательной среды RMNO, один из которых характеризовался вдвое сниженным содержанием ауксинов ((ИУК и 2,4-Д), а другой – вдвое уменьшенной концентрацией кинетина. Культуры выращивались в темноте в условиях термостата при температуре 24.6 °С. Величина рН питательных сред до автоклавирования составляла 5.7-5.8. Для исследования рострегуляторных свойств СК было использовано девять ее концентраций в диапазоне от 10^{-7} до 10^{-3} моль/л.

Для каллусов *Nicotiana tabacum*, культивируемых на питательной среде RMNO, концентрационная зависимость действия СК на удельную скорость роста имела колоколообразный вид: наблюдалась достоверная стимуляция ростовых процессов в присутствии 10^{-5} моль/л СК и достоверное их ингибирование под влиянием концентраций $5 \cdot 10^{-7}$ и $5 \cdot 10^{-4} - 10^{-3}$ моль/л. Увеличение удельной скорости роста в присутствии 10^{-5} моль/л СК достигало в среднем 1.4 раза, а ее снижение при более высоких уровнях составляло от 1.3 при $5 \cdot 10^{-5} - 10^{-4}$ моль/л СК до 1.5 и 1.7 раза в результате воздействия концентраций $5 \cdot 10^{-4}$ и 10^{-3} моль/л соответственно.

Исследования рострегуляторных свойств СК для каллусов *Nicotiana tabacum*, выращиваемых на питательной среде, характеризующейся вдвое уменьшенной концентрацией ауксинов при неизменном уровне цитокинина, позволило выявить достоверное увеличение удельной скорости роста культуры в диапазоне концентраций $10^{-7} - 5 \cdot 10^{-5}$ моль/л СК. Наиболее выраженный стимулирующий

щий эффект, также как и для ранее протестированной питательной среды, был зарегистрирован в присутствии 10^{-5} моль/л СК. Возрастание удельной скорости роста каллусов *Nicotiana tabacum* в этом случае достигало более чем двух раз. В концентрациях $5 \cdot 10^{-4}$ и 10^{-3} моль/л СК, также как и в предыдущих экспериментах, вызывала существенное подавление роста каллусной культуры табака. Таким образом, снижение уровня 2,4-Д и ИУК в питательных средах приводило к расширению диапазона концентраций СК, характеризующихся ростстимулирующим действием. При этом исследуемое соединение начинало проявлять ростактивирующие эффекты уже при более низких уровнях содержания ($5 \cdot 10^{-7}$ – $5 \cdot 10^{-6}$ моль/л) по сравнению с питательной средой, отличающейся сбалансированным содержанием ауксинов и цитокининов.

Для каллусной культуры *Nicotiana tabacum*, выращиваемой на модифицированной питательной среде RMNO с вдвое уменьшенной концентрацией кинетина при неизменном уровне ауксинов, СК вызывала стимуляцию ростовых процессов также в достаточно широком диапазоне концентраций – от 10^{-6} до $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л. Максимальный стимулирующий эффект был зарегистрирован в присутствии 10^{-5} моль/л СК. Удельная скорость роста каллусов *Nicotiana tabacum* увеличивалась в 1.7 раза. Таким образом, величина ростактивирующего эффекта 10^{-5} моль/л СК на средах с вдвое уменьшенным содержанием кинетина была ниже, чем на средах со сниженным вдвое уровнем ауксинов. В отличие от рассмотренных ранее вариантов питательных сред в данной серии опытов СК вызывала достоверное возрастание удельной скорости роста даже в достаточно высоких концентрациях ($5 \cdot 10^{-5}$ – $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л). Достоверное уменьшение ростовой активности было обнаружено только для 10^{-3} моль/л СК. Ее падение составляло около 1.6 раза от контрольного уровня.

Анализ полученных данных позволяет заключить, что независимо от уровня экзогенных регуляторов роста – ауксинов и цитокининов – СК в концентрации 10^{-3} моль/л вызывает ингибирование ростовых процессов каллусной культуры *Nicotiana tabacum*. Механизм данного эффекта, вероятнее всего, аналогичен механизму действия фенольных ингибиторов роста, которые оказывают сильное влияние на рост растений в концентрациях, на два-три порядка более высоких по сравнению с таковыми для эндогенных фитогормонов, вызывая его торможение за счет подавления синтеза ИУК либо ускорения ее распада под действием ИУК-оксидазы. С другой стороны, в концентрации 10^{-5} моль/л СК вызывает существенную стимуляцию роста каллусной культуры *Nicotiana tabacum*. При этом степень активации ростовых процессов возрастает при нарушении баланса ауксинов и цитокининов в среде культиви-

рования. Таким образом, СК в достаточно невысоких концентрациях может выступать как эффективный экзогенный стимулятор ростовых процессов, что, наряду со способностью обеспечивать защиту растений от различного рода стрессовых воздействий, позволяет рассматривать данное соединение в качестве перспективного для практического применения регулятора роста растений.

**КЛЮЧЕВЫЕ КОМПОНЕНТЫ, КОНТРОЛИРУЮЩИЕ ХЕМОТАКСИС
К АММОНИЮ ОДНОКЛЕТОЧНОЙ ЗЕЛЕННОЙ ВОДОРΟΣЛИ
CHLAMYDOMONAS REINHARDTII В ПРОЦЕССЕ ГАМЕТОГЕНЕЗА**

**Key components that control chemotaxis towards ammonium
in unicellular green alga *Chlamydomonas reinhardtii*
during gametogenesis**

Е.В. Ермилова¹, Ж.М. Залуцкая¹, Д.М. Байбус¹, К. Бек²

¹ Биологический НИИ СПбГУ, Старый Петергоф, Санкт-Петербург

² Institute of Biology III, University of Freiburg, Freiburg

E-mail: ermilova@ee6439.spb.edu

В условиях голодания по источнику азота в вегетативных клетках одноклеточной зеленой водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* запускается программа гаметогенеза, приводящая к формированию на свету зрелых гамет, которые, как и вегетативные клетки, имеют два жгутика и подвижны. Исследования подвижности и поведения в жизненном цикле *C. reinhardtii*, позволили нам выявить на разных его этапах различную организацию аппарата хемотаксиса: вегетативные клетки и прегаметы (некомпетентные гаметы) демонстрируют хемотаксис к наиболее предпочтительному источнику азота – аммонию, тогда как зрелые гаметы утрачивают хемотаксическую активность к нему. С помощью метода РНК-интерференции получены штаммы со сниженным содержанием фоторецептора синего света фототропина. Уровни фототропина у штамма дикого типа и трансформантов проанализированы методом Вестерн-блот гибридации. Сравнительный анализ кинетики превращения хемотаксически активных прегамет в хемотаксически неактивные гаметы у штамма дикого типа и отобранных в работе трансформантов показал, что фототропин контролирует хемотаксис *C. reinhardtii* в процессе гаметогенеза.

Поглощение синего света фототропином приводит к активации сигнального пути, который по данным ингибиторного анализа включает, по крайней мере, три протеиновых киназы: протеинкиназу С, тирозиную протеинкиназу и протеинкиназу А, регулирующие хемотаксис *C. reinhardtii* к аммонии в процессе гаметогенеза.

Впервые выявлена регуляция светом транскрипции трех гаме-

тоспецифичных генов *a2*, *NSG3* и *mtd1*. Установлено, что белок АМТ1;4 не включен в регуляцию хемотаксиса, и нарушение этого транспортера аммония не сказывается на поведении клеток в целом. Охарактеризован инсерционный мутант CF57, интеграция в геном которого плазмидной ДНК привела к повреждению компонента, действующего после протеинкиназы А в фототропин-зависимом сигнальном пути, контролирующем хемотаксис. На основе экспериментальных данных предложена рабочая гипотеза, согласно которой фототропин-зависимые сигнальные пути состоят из отдельных модулей, в состав которых входят несколько общих компонентов, контролирующих как хемотаксис, так и формирование состояния компетентности у гамет. По нашим данным, к ним относятся продукты генов LRG6 и LRG7, а также протеинкиназа С и тирозиновая киназа.

Поддержано грантом РФФИ 04-0077.

**ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ СИГНАЛОВ СИНЕГО, ЗЕЛЕННОГО СВЕТА
И БРАССИНОСТЕРОИДОВ НА РАННИХ ЭТАПАХ ОНТОГЕНЕЗА
ARABIDOPSIS THALIANA (L.) HEYNH**

**Interaction of the blue and green light signals and brassinosteroids
at the early stages of *Arabidopsis thaliana* ontogenesis**

**М.В. Ефимова¹, Р.А. Карначук¹, И.Ф. Головацкая¹, В.А. Хрипач²,
С.В. Драч², Р.П. Литвиновская²**

¹ Томский государственный университет, г. Томск
E-mail: stevia555@mail.ru

² Институт биоорганической химии НАН Беларуси, г. Минск

Морфогенез растения находится под контролем внешних и внутренних факторов. С одной стороны, это свет, который регулирует рост и развитие растений. С другой, имеются эндогенные регуляторы – фитогормоны, которые могут быть вовлечены в управление фотоморфогенезом. Было высказано предположение, что одними из них являются брассиностероиды (БС). Участие основных представителей семейства брассиностероидов (гомобрассинолида и эпибрассинолида) в фотоморфогенезе не изучено. В настоящее время имеется много работ по взаимодействию красной области спектра и фитогормонов, однако практически не исследовано влияние синего и зеленого света, а также БС на рост и развитие растений.

Удобным модельным объектом для изучения регуляторной роли БС в морфогенезе растений на синем и зеленом свету служит

Arabidopsis thaliana, для которого получены мутанты по фоторецептору CRY1 (*hy4*) и с нарушенным биосинтезом brassinостероидов (*det2*).

Исследования этиолированных проростков *A. thaliana* показали, что длина гипокотилей и площадь семядолей *hy4* были достоверно меньше, чем у дикого типа *Ler*. Мутант *det2* отличался от дикого типа *Col* более укороченным гипокотилем, а также большей площадью семядолей. Анализ гормонального баланса показал, что для проростков *hy4* характерны высокое содержание свободной формы абсцизовой кислоты (АБК), свободной и связанной формы гиббереллина и пониженное содержание зеатина по сравнению с диким типом. У мутанта *det2*, по сравнению с родительской линией, обнаружено низкое содержание свободной формы индол-3-уксусной кислоты (ИУК) и БС. Формирование у мутанта крупных семядолей, вероятно, связано с высоким содержанием зеатина и его рибозида.

Реакция на brassinостероиды в темноте различалась у экотипов и мутантов и проявлялась в ингибировании длины гипокотыля и корня *Col*, *Ler* и *hy4*, а также стимуляции роста осевых органов *det2*. Наибольшая биологическая активность в отношении проростков арабидопсиса была показана для brassинолида, следующим по активности был эпи brassинолид для *Col* и *det2* и гомо brassинолид для *Ler* и *hy4*.

Освещение проростков арабидопсиса селективным светом вызывало процессы, аналогичные действию экзогенных БС. Зеленый свет ($\lambda = 515, 524.5$ и 532 нм) активировал фотоморфогенез в проростках *Ler* и *hy4*. Кратковременная деэтиоляция на синем свете (30 минут, $\lambda_{\max} = 439$ нм, 3 мкмоль/м²с) приводила к подавлению длины гипокотыля у проростков *Ler*, распрямлению гипокотильной петли и увеличению площади семядолей у *Ler*, *Col* и *det2*. Мутант *det2* отвечал на световое воздействие более значительным увеличением размеров семядолей, чем родительская линия *Col*, возможно, в связи с повышением уровня эндогенных БС на синем свету.

Влияние синего света на гормональный баланс проростков арабидопсиса *Ler* и *hy4* отличалось от действия зеленого света. На синем свету уровень эндогенных цитокининов в проростках арабидопсиса возрастал, а на зеленом падал. Кроме того, зеленый свет ($\lambda_{\max} = 543$ нм, $4,2$ мкмоль/м²с) вызывал увеличение уровня АБК, причем в большей степени – у мутанта *hy4*.

При совместном действии синего света и brassinостероидов (brassinоида, эпи brassинолида и гомо brassинолида, 10^{-8} М) наблюдалось сложение эффектов, что проявлялось в увеличении площади

семядолей Col и Ler, а также мутантов *det2* и *hy4* по сравнению с действием БС в темноте. Брассиностероиды устраняли ингибирующее влияние синего света на рост гипокотыля *Ler* и *hy4*. В свою очередь, синий свет подавлял удлинение гипокотылей *det2*, вызванное экзогенными БС.

При совместном действии экзогенного эпибрасинолида 10^{-6} М и зеленого света (λ_{max} 543 нм, 3.7 мкмоль/м²) на морфогенез арабидопсиса наблюдалось сложение эффектов в росте гипокотыля *Ler*. Это было сопряжено с повышением уровня свободных ИУК и АБК в проростках *Ler* и *hy4* на ЗС, но аддитивного эффекта при этом не наблюдалось. При одновременном действии зеленого света и ЭБЛ также показано повышение уровня цитокининов. Весьма вероятно, что это могло быть причиной увеличения площади семядолей как у *Ler*, так и у *hy4*.

Следовательно, показана физиологическая активность зеленого света, наряду с синим, а также брассиностероидов в регуляции морфогенеза арабидопсиса на ранних стадиях онтогенеза. Одним из механизмов, регулирующих развитие проростков *A. thaliana* под влиянием этих факторов, вероятно, является изменение уровня эндогенных фитогормонов.

ФОТОПЕРИОДИЗМ РАСТЕНИЙ: ИТОГИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИССЛЕДОВАНИЙ НА УКРАИНЕ

Plant photoperiodism: results and perspectives study in Ukraine

В.В. Жмурко

Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина, г. Харьков
E-mail: Vasily.V.Zhmurko@univer.kharkov.ua

В исследовании биологической природы фотопериодизма растений на Украине превалировало трофическое направление. Его результаты внесли существенный вклад в понимание биологической природы фотопериодизма.

Длительный период времени связь фотопериодической реакции растений с питанием отрицалась на том основании, что в условиях короткого дня цветение длиннодневных растений наступало позже, а короткодневных – раньше, чем на длинном дне при меньшем содержании в листьях углеводов и большем содержании азотистых соединений. В исследованиях украинских ученых это противоречие разрешено. Было сформулировано новое представление о питании растений, по которому – это сложный процесс накопления, оттока и превращения продуктов ассимиляции. Поэтому по содержанию углеводов и азота нельзя судить об особенностях питания расте-

ний. Их можно выявить, определяя динамику содержания продуктов ассимиляции в фотопериодическом цикле, то есть накопление, отток и превращение. При таком подходе было показано, что в условиях благоприятной длины дня интенсивность этих процессов у длиннодневных и короткодневных растений выше, чем в условиях неблагоприятной длины дня. Поэтому точки роста лучше обеспечены ассимилятами, что обуславливает ускорение морфогенетических процессов и, следовательно, более ранний переход растений к цветению в благоприятных фотопериодических условиях, чем в неблагоприятных. В этом суть трофических закономерностей фотопериодизма растений, сформулированных профессором В.С. Цыбулько. По современным представлениям, углеводы участвуют в экспрессии ряда генов, детерминирующих темпы развития растений. Следовательно, уровень обеспеченности углеводами апикальных меристем – важный фактор генетической регуляции сроков перехода к цветению растений в условиях разной длины дня. Было показано также, что фотопериодическая реакция растений связана с интенсивностью деления клеток в апексах, активностью ферментов и известных фитогормонов, содержанием витаминов в листьях и раскрыта биологическая природа этой связи.

Исследование фотопериодизма озимых злаков показало, что генофонд озимой пшеницы включает длиннодневные, короткодневные и фотопериодически нейтральные сорта. Темпы их развития в условиях разной длины дня связаны с трофическими процессами. Под влиянием прерывания темнового периода светом в короткодневном фотопериодическом цикле короткодневные сорта не переходят к колошению, длиннодневные ускоряют его, а нейтральные – не изменяют сроки колошения. Следовательно, у озимых злаков проявляются те же типы реакции на длину дня, что и у яровых фотопериодических групп растений. После перезимовки (весной) озимые короткодневные сорта проявляют длиннодневную реакцию, а длиннодневные и нейтральные – не изменяют ее. Показано, что наиболее морозостойкими являются короткодневные сорта.

По результатам исследований созданы несколько физиолого-биохимических экспресс-методов, которые позволяют выявить характер фотопериодической реакции генотипов, не выращивая их в условиях разной длины дня.

Кроме того, установлены закономерности наследования фотопериодической реакции у некоторых сельскохозяйственных культур, выявлены типы взаимодействия генов у гибридов от скрещивания короткодневных и фотопериодически нейтральных родительских форм, а также характер фенотипического проявления реакции на длину дня у гибридов в зависимости от фотопериодических

условий их выращивания.

В настоящее время на Украине изучение биологической природы фотопериодической реакции растений развивается в направлении исследования роли генов чувствительности к длине дня в детерминации трофических, фитогормональных и фитохромных механизмов регуляции темпов развития растений в разных фотопериодических условиях. Модельными объектами в этих исследованиях служат изогенные по генам *EE* линии сои, а также изогенные по генам *Ppd* линии пшеницы. Полученные данные свидетельствуют о том, что эти гены детерминируют отдельные стороны питания растений, активность ряда ферментов и фитогормональный статус моногенно доминантных изогенных линий при изменении темпов их развития в условиях разной длины дня. Показано, что активация системы фитохромов вызывает изменения скорости флорального морфогенеза, темпов развития и сроков перехода к плодоношению, интенсивности обмена углеводов и некоторых ферментов у овощных и декоративных растений. Под влиянием активации фитохромов красным светом (660 нм) существенно повышается продуктивность овощных растений.

ЛИНЕЙНАЯ МОДЕЛЬ ГОРМОНАЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ПОЛА У РАСТЕНИЙ

Linear model for hormonal regulation of plant sex expression

Б.П. Заплатин, М.А. Пятин, В.Н. Хрянин

Пензенский государственный педагогический университет

им. В.Г. Белинского, г. Пенза

E-mail: egf@sura.ru

Для построения модели использовался экспериментальный материал о влиянии различных групп фитогормонов на сексуализацию растений, полученный В.Н. Хряниным (1982) при изучении гормональной регуляции пола у растений. Возможность применения аппарата линейного программирования для построения модели обуславливается закрытостью механизма гормональной регуляции, позволяющего минимизировать одну или несколько величин, вызвавших отклонение системы от некоторого оптимального состояния. В нашей модели входным сигналом служило исходное состояние системы, а выходным – трансформация экспрессии пола растений под влиянием обработки фитогормонами. Причем линеаризация процесса допускает взаимодействие экзогенного регулято-

ра с исходным нативным балансом гормонов. Таким образом, модель, учитывая эффект, достигаемый в опытных вариантах, создаст набор и соотношение фитогормонов, позволяющие добиться максимального соответствия соотношению мужских, женских и интерсексуальных цветков, обнаруженному у реальных растений контрольного варианта. Суммарная активность экзогенных регуляторов максимизируется, отражая, тем самым, основные векторы фитогормонального влияния. Математическая модель показала, что проявление пола однодомных растений с раздельнополыми цветками (огурцы) зависит только от активности гиббереллинов (ГК) и цитокининов (БАП), которые примерно в равном соотношении способны полностью воспроизвести экспрессию пола контрольного варианта. Исключительная роль этих гормонов в определении пола будет сохраняться даже при усилении их активности для гиббереллинов почти в 2 раза, а для цитокининов – в 20 раз. Возможно, что нативные гормоны растения могут быть эффективнее, чем те, которые были использованы в эксперименте. Действие ГК и БАП, возможно, не связано – интегральный результат зависит от прева-лирования того или иного фитогормона в общем балансе. Ауксины (ИУК) и абсцизовая кислота (АБК) в этой модели должны отсутствовать, иначе изменится структура оптимального решения. Картина фитогормональной регуляции для двудомных растений шпината и конопли не столь однозначна — в обеих моделях полного соответствия контрольному варианту не достигнуто, что свидетельствует о неучтенных регулирующих факторах, которые могут быть неодинаковы, так как модель конопли отличается от реальных растений по числу женских цветков, а модель шпината – по числу мужских. И у шпината, и у конопли отмечается одинаково существенное участие ингибиторов в оптимальном решении. У шпината АБК – единственный регулятор, для модели конопли необходим еще и гиббереллин. Однако определенная зависимость переменных, как у шпината, так и у конопли, подтверждает метаболическую взаимосвязь гиббереллинов с содержанием АБК. Возможно, что большое количество АБК в моделях свидетельствует о большом потенциале гиббереллинов. Значительный регуляторный потенциал гиббереллинов в экспрессии пола однодомных растений проявляется также и в том, что для сохранения структуры оптимального решения активность ГК в моделях и шпината, и конопли не должна снижаться менее 77 %, в то время как возрастание доли ГК и АБК не меняет значения целевой функции. Определенным регуляторным потенциалом в моделях однодомных растений обладают, кроме того, цитокинины и ауксины – у конопли уже при незначительном возрастании активности БАП изменится структу-

ра фитогормональной регуляции модели, хотя в оптимальном решении эти фитогормоны себя не проявляют. Эти модели почти одинаково реагируют на изменение степени активности использованных в эксперименте фитогормонов. В итоге можно отметить следующие особенности моделей. У однодомных растений регуляция осуществляется исключительно ГК и БАП и зависит только от их активности. Двудомные растения, несмотря на большой регуляторный потенциал этих фитогормонов, в большей мере зависят от АБК и каких-то неизвестных факторов. Возможно, что эти различия объясняются неодинаковым способом контроля сексуализации у двудомных и однодомных растений. Однодомные растения с раздельнополыми цветками должны одновременно иметь механизмы маскулинизации и феминизации, определенным способом изолируя их друг от друга, что, видимо, объясняет отсутствие интерсексуальных цветков. Двудомные виды могут иметь разнесенные в пространстве механизмы сексуализации без специальных возможностей репарации фитогормонального статуса. В этом случае контроль может осуществляться ингибированием излишней активности определенного фитогормона. Интересно отметить, что у конопля эндогенный контроль структуры экспрессии пола слабее, чем у шпината, так как внешнее фитогормональное воздействие сильнее нарушает соотношение полов, и даже у контрольных растений присутствуют интерсексуальные цветки, а модель конопля больше соответствует ограничениям, т.е., лучше управляется экзогенными регуляторами.

**МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ И ПОДДЕРЖАНИЯ
ПОКОЯЩЕГОСЯ ЦЕНТРА В КОРНЕ
И ПРОБЛЕМА СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В РАСТЕНИЯХ**

**Mechanisms of formation and maintenance of root quiescent center
and problem of stem cells in plants**

В.Б. Иванов, Е.И. Быстрова, М.М. Месенко

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, г. Москва
E-mail: ivanov@ppras.ru

Интерес к изучению ствольных клеток в растениях резко возрос в последнее время. Однако до сих пор нет единого мнения о том, какие клетки в растениях можно считать ствольными. Растительные клетки способны обратимо переходить из пролиферирующего в ствольное состояние и обратно, и этот переход определяется системой межклеточных отношений и взаимосвязями отдельных

частей растения. Стволовые клетки, если под ними понимать клетки, сохраняющие длительное время способность к делениям и дифференцировке, возникают многократно при развитии примордиев корней и побегов, а не являются клонами популяции стволовых клеток, заложенной на определенной стадии эмбриогенеза.

Кончик корня – классический объект для изучения пролиферации клеток в растениях. Некоторые исследователи считали клетки покоящегося центра стволовыми, хотя сейчас большинство считает таковыми клетки, окружающие покоящийся центр, а его рассматривают как организационный центр, поддерживающий контактирующие с ним клетки в стволовом состоянии. Анализ литературы позволил нам сделать вывод о том, что именно клетки покоящегося центра являются стволовыми клетками. Возникновение покоящегося центра зависит от притока соединений сверху, среди них особо важное значение имеет ИУК, и притока пока не выясненных соединений из чехлика. В опытах с изучением регенерации корня после декапитации нами показано, что образование чехлика предшествует формированию покоящегося центра из активно делящихся клеток. При отрезании кончика корня кукурузы или целого корня от семени и выдерживании на влажной фильтровальной бумаге в нем происходит активация делений клеток покоящегося центра, и меристема превращается из закрытой в открытую. Сахароза не предотвращает активации делений клеток покоящегося центра. В основной части меристемы после отрезания кончика корня деления клеток останавливаются. В докладе обсуждаются возможные механизмы, контролирующие образование и поддержание покоящегося центра в корне и анализируются специфические особенности стволовых клеток в растениях по сравнению со стволовыми клетками животных. Способность меристемы образовывать стволовые клетки позволяет заключить, что не только меристема возникает из стволовых клеток, но и сами стволовые клетки образуются из активно делящихся клеток. Многократное образование стволовых клеток делает возможным длительное сохранение способности растений к открытому морфогенезу и вегетативному размножению.

Работа выполнена при финансовой поддержке Гранта РФФИ 06-04-48861.

**УЧАСТИЕ АУКСИНОВ В СТИМУЛЯЦИИ ВЕТВЛЕНИЯ КОРНЕЙ
ПРИ ИЗМЕНЕНИИ УРОВНЯ И РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ИОНОВ
В ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ**

**Implication of auxin in stimulation of root branching
by the level and distribution of ions in nutrient medium**

И.И. Иванов, В.К. Трапезников, Г.Р. Кудоярова, С.Ю. Веселов¹

Институт биологии Уфимского НЦ РАН, г. Уфа

¹ Башкирский государственный университет, г. Уфа

E-mail: *i_ivanov @ anrb.ru*

Представления о значении ауксинов в ростовой реакции корней на изменение концентрации ионов в среде базируются главным образом на косвенных данных: реакции растений на экзогенные ауксины и особенностях роста корней у мутантных растений, потерявших чувствительность к ауксинам. Хотя эти косвенные подходы указывают на участие ауксинов в ростовой реакции корней на уровень и распределение ионов в почве, изучение влияния этих факторов на содержание эндогенной ИУК может дать более полное представление о регуляторной функции ауксинов.

Растения *Arabidopsis thaliana* использовали для изучения роли ауксина в регулировании системного ингибирования раннего развития боковых корней высокой концентрацией нитрата. Для этого арабидопсис выращивали на вертикально расположенных агаровых пластинах, содержащих питательный раствор (по Zhang and Forde) с высокой концентрацией нитрата (50 мМ), ингибирующей ветвление корней. Через 10 суток часть растений переносили на среду с пониженным содержанием нитрата (1 мМ), а часть, в качестве контроля, вновь помещали на среду с 50 мМ нитрата.

С помощью иммуноанализа показано, что через сутки содержание ИУК в корнях растений, перенесенных на низкую концентрацию нитрата, было достоверно выше по сравнению с корнями проростков, пересаженных на ту же, ингибирующую ветвление среду. Визуально определяемое ветвление корней отмечалось у растений, перенесенных на среду с низкой концентрацией нитрата, лишь через 2-2.5 суток после переноса.

Корневая система растений в естественных сообществах и агроценозах функционирует в условиях гетерогенности почвы. Наиболее значимо разнообразие корнеобитаемой среды проявляется по содержанию элементов минерального питания, когда создается очаг с повышенным содержанием элементов минерального питания, во взаимодействие с которым вступает лишь часть корневой системы

растения. Пластичность корневой системы позволяет корням использовать содержащиеся в почве элементы минерального питания с максимальной эффективностью. Так, хорошо известна способность корней разрастаться в очаге с повышенным содержанием ионов. Обнаружена функциональная специализация корневой системы: часть корней, оказавшихся в области с повышенной концентрацией ионов, которая активно ветвится, в то время как корни вне очага питания растут преимущественно в длину. При этом первые специализируются на поглощении ионов, а вторые вносят основной вклад в обеспечение побега водой. Несмотря на сложности изучения роста корней, накоплены сведения об участии гормонов в этом процессе. Особая роль отводится ауксинам, которые играют важную роль как в регуляции корнеобразования, так и роста корней в длину и в стимуляции их ветвления.

Для изучения динамики содержания ауксинов в корнях при воздействии неравномерного распределения ионов был отобран сорт твердой пшеницы (*Triticum durum*) Безенчукская 139. Растения пшеницы выращивали на блоках из двух сосудов, в каждом с питательной средой Хогланда-Арнона различной концентрации с добавлением одного и того же количества микроэлементов. Пятисуточные проростки с пятью развитыми зародышевыми корнями размещали на стыке сосудов так, чтобы два зародышевых корня находились в сосуде с питательным раствором повышенной концентрации (высокосолевые корни, 500 % Хогланда-Арнона), а три других – в растворе пониженной концентрации (низкосолевые корни, 1 % Хогланда-Арнона).

Уже через двое суток после начала воздействия, когда боковые корни еще не успели появиться, концентрация ауксина в высокосолевых (ВС) корнях была выше, чем в низкосолевых. Начало ветвления ВС корней следовало за достоверным увеличением содержания в них ауксина, что может свидетельствовать о взаимосвязи этих процессов.

Результаты, полученные в данных экспериментах, свидетельствуют о том, что как неравномерность распределения ионов в питательном растворе, так и изменение концентрации ионов в нем, влияя на формирование корневой системы, сказываются и на содержании ауксинов. Причем относительное повышение концентрации ауксинов в корнях на первые-вторые сутки предшествует ветвлению корней. Такая гормональная реакция растений может играть важную роль в обеспечении захвата растением дополнительных ресурсов, влияя на скорость роста и ветвления корней.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 06-04-49166).

**АНТИСТРЕССОВОЕ ДЕЙСТВИЕ 4-ГИДРОКСИФЕНЭТИЛОВОГО СПИРТА
НА ВСХОЖЕСТЬ ИСКУССТВЕННО СОСТАРЕННЫХ СЕМЯН
АМАРАНТА И РАСТЕНИЯ, ВЫРАЩЕННЫЕ ИЗ НИХ**

**Antistress effect of 4-hydroxyphenethyl alcohol on the germination
of artificial by aged amaranth seeds and plants productivity**

Е.П. Иванова¹, Л.Л. Кириллова², Л.Д. Смолыгина¹, О.П. Сердюк¹

¹ Институт фундаментальных проблем биологии РАН, г. Пущино
E-mail: cheredova@mail.ru

² Тульский педагогический государственный университет, г. Тула

Длительное хранение семян растений сверх допустимого срока или воздействие неблагоприятных факторов приводит к значительному снижению их всхожести. Растения, выращенные из таких семян, часто отстают в росте, а их продуктивность снижается в сравнении с растениями, выращенными из качественного посевного материала.

Известно свойство цитокининов повышать всхожесть долго хранившихся семян и устранять последствия влияния стрессовых факторов на растения. В проростках амаранта и пшеницы, а также в фотосинтезирующих бактериях *Rhodospirillum rubrum* и *Rhodospseudomonas sphaeroides* нами было обнаружено соединение с высокой цитокининовой активностью – 4-гидрокси фенэтиловый спирт (ГФЭС). Ранее мы показали его способность повышать всхожесть стандартизованных качественных семян амаранта на 40 % и стимулировать рост ювенильных проростков на стадии «скрытого роста», выращенных из обработанных семян. В результате этого проростки миновали эту характерную для растений амаранта критическую фазу, что приводило к повышению их жизнеспособности, устойчивости к засорению в растительном полевом сообществе и увеличению продуктивности.

Нами была исследована способность ГФЭС, как природного цитокинина, устранять последствия воздействия стрессовых факторов на семена и растения, выращенные из них. Семена овощной формы амаранта (*Amaranthus caudatus* L.) подвергали искусственному старению (ИС) путем воздействия неблагоприятных факторов (НФ) – повышенной температуры 41 °С и относительной влажности воздуха 100 % в течение 4 суток. Часть таких семян оставляли без дальнейшей обработки (НФ), а другую часть обрабатывали 10⁻⁶ М водным раствором ГФЭС (НФ+ГФЭС) и сравнивали их всхожесть с контролем. В качестве контроля использовали семена, не подвергавшиеся НФ и не обработанные ГФЭС. Было также прове-

дено сравнение ряда биометрических параметров растений, выращенных из таких семян.

Установлено, что семена, подвергнутые ИС, теряют более 30 % всхожести. Высота растений, выращенных из таких семян, на стадии активной вегетации (55-й день) снижается в среднем на 36, масса – на 24, масса листьев с одного растения – на 27 % в сравнении с контролем. Обработка семян ГФЭС возвращает их всхожесть к исходному уровню. Обнаружено, что и высота и масса выращенных из таких семян растений достоверно превышают контроль в среднем на 30, а масса листьев с одного растения – на 16 %. Таким образом, положительное суммарное действие на высоту растений составляет 66, на массу растений – 54 и на массу листьев с одного растения – более 40 %.

Результаты измерений, проведенных в конце генеративной фазы развития растений (115-й день), показали, что положительное действие предпосевной обработки ИС семян раствором ГФЭС сохраняется на протяжении всей жизни растений. Воздействие НФ на семена приводит к уменьшению массы и высоты зрелых растений на 40 и 30 %, а обработка ГФЭС возвращает их к уровню контроля. При этом продуктивность листовой массы с 63 % в варианте НФ достоверно повышается в среднем до 116 % в варианте НФ+ГФЭС, т.е. наблюдается 53 %-ный суммарный положительный эффект.

Обнаружено положительное влияние предпосевной обработки ГФЭС на состояние генеративных органов и качество семян. Так, у растений, выросших из семян, подвергнутых воздействию НФ, метелка в среднем короче на 40 %, чем в контроле, а масса семян с одного растения и масса 1000 семян ниже, на 15 и 28 % соответственно. Предпосевная обработка ГФЭС приводит к восстановлению исходной длины метелки, а масса семян с одного растения и масса 1000 семян превышают контроль на 17 и 30 % соответственно. Последний эффект важен для культуры амаранта, так как его семена имеют очень малый вес и размер, из-за чего зависят стартовый рост, качество и жизнеспособность всходов и, в конечном счете, продуктивность культуры.

Таким образом, можно заключить, что предпосевная обработка ГФЭС восстанавливает всхожесть некачественного посевного материала амаранта и, устраняя последствия воздействия НФ, нормализует ростовые показатели выращенных из них растений. При этом на стадии активной вегетации такая обработка приводит к повышению продуктивности данной овощной культуры, а на генеративной фазе – к улучшению качества семян, которые могут быть использованы, в свою очередь, как посевной материал с целью получения более продуктивных растений во втором поколении.

Необходимо отметить, что предпосевная обработка семян ГФЭС может считаться экологически безопасной ввиду того, что это соединение имеет природное происхождение – оно вырабатывается, как экзометаболит, названными выше бактериями, которые могут содержаться в почвах и водоемах, и используется в микромолярных концентрациях.

ЖАСМОНОВАЯ КИСЛОТА И СИНИЙ СВЕТ В МОРФОГЕНЕЗЕ АРАБИДОПСИСА

Jasmonic acid and blue light in the morphogenesis of *Arabidopsis thaliana*

Р.А. Карначук, М.А. Большакова, М.В. Ефимова, И.Ф. Головацкая
Томский государственный университет, г. Томск
E-mail: karnach@mail.tsu.ru

Множественные сигнальные системы растительных клеток включаются как внешними, так и внутренними факторами. Фитогормоны, по всей видимости, включены в передачу светового сигнала и, тем самым, участвуют в регуляции фотоморфогенеза. Однако роль жасмоновой кислоты (ЖК) в регуляции ското- (в темноте), фотоморфогенеза и баланса эндогенных гормонов растений практически не изучена. Также не исследовано взаимодействие сигнальных путей, индуцируемых синим светом и жасмоновой кислотой, что и явилось предметом наших исследований.

Работа выполнена на модельном растении *Arabidopsis thaliana* экотипов Landsberg erecta (*Ler*) и Columbia (*Col*), а также мутантах, полученных на их основе – *hy4*, *axr1-3* и *jar1-1*.

ЖК в темноте задерживала рост гипокотилей арабидопсиса у экотипов *Col* и *Ler*, а также рост семядолей у *Ler*. Реакцию семядолей у *Col* на ЖК можно, вероятно, объяснить меньшей чувствительностью *Col* к этому гормону.

Мутант *axr1-3* имеет карликовый фенотип с нарушением апикального доминирования и отстает в росте, по сравнению с родителем *Col*, начиная с первых этапов онтогенеза. Скорее всего, это связано с нарушением работы гена *AXR*, который участвует в подавлении фотоморфогенеза в темноте, в результате чего гипокотиль вытягивается. Для *axr1-3* также характерна сниженная чувствительность к МеЖК и другим гормонам, что и проявилось в отсутствии какой-либо ростовой реакции гипокотилей и семядолей на действие ЖК.

jar1-1 является мутантом линии *Col* с нарушенной работой фер-

мента, модифицирующего ЖК, но при этом сигнальная трансдукция ЖК остается без изменений. Нами показано, что реакция *jar1-1* на ЖК выражалась в задержке роста гипокотыля, но в то же время площадь семядолей не изменялась, аналогичная реакция наблюдалась и у Col. Таким образом, судя по реакции гипокотыля, у мутанта не потеряна чувствительность к ЖК.

Длина гипокотилей светового мутанта *hy4* в темноте значительно короче, чем у *Ler*, тогда как площадь семядолей этих линий одинакова. При добавлении ЖК к прорастающим семенам арабидопсиса на СС наблюдалось более значительное подавление роста гипокотилей у диких экотипов и мутантов, чем только на СС, кроме *hy4* с нарушенной работой *cry1*. Совместное действие двух факторов СС и ЖК показало сложение эффектов на рост гипокотилей.

Таким образом, 10^{-6} М ЖК, как и СС, регулируют ранние этапы морфогенеза *A. thaliana* в качестве сигнальных систем. Весьма вероятно, что эта регуляция сопряжена с изменением баланса эндогенных гормонов. Показана интеграция сигнальных систем, включаемых СС и ЖК, в морфогенезе *A. thaliana*.

ФОСФОЛИПАЗЫ С И D – ВОЗМОЖНЫЕ УЧАСТНИКИ ТРАНСДУКЦИИ СИГНАЛА ЦИТОКИНИНОВ

Phospholipases C and D as putative participants of cytokinin signal transduction

Г.М. Карпова, С.Н. Ломин, М. Рифлер, Г.А. Романов
Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, г. Москва
E-mail: gar@ippras.ru

На протяжении всей жизни растений многие процессы их жизнедеятельности регулируются гормонами. Цитокинины являются одними из классических фитогормонов и, вместе с ауксинами, гиббереллинами, абсцизовой кислотой и этиленом, управляют ростом и развитием растений. Считается, что при передаче сигнала цитокининов работает так называемая двухкомпонентная система. Она включает в себя рецепторы гибридных гистидинкиназ (у арабидопсиса – АНК), фосфотрансмиттеры (АНР) и активаторы транскрипции (ARR В) генов первичного ответа (Heyl, Schmulling, 2003). В трансдукцию сигнала может быть также включен элемент фосфолипидного сигналинга – фосфолипаза D (PLD) (Romanov et al., 2002). В нашей работе мы проверяли возможность участия фосфо-

липазы С и D (PLC и PLD) в передаче сигнала цитокининов. Во многих процессах фосфолипазы С и D работают совместно (Meijer, Munnik, 2003). Есть свидетельства быстрой активации фосфолипаз С и D цитокининами (Kravetz et al., 2005). В нашей работе использовали трансгенные растения *Arabidopsis thaliana* рARR5::GUS, где репортерный ген GUS экспрессируется под контролем промотора гена первичного ответа на цитокинин ARR5. Фармакологические исследования проводили на трехдневных проростках, как описано в работе Romanov et al., 2002. Ингибитором PLC является U73122 (в качестве контроля использовали неактивный аналог U73343). Ингибитор специфически подавлял экспрессию гена рARR5::GUS на 60 % при концентрации 30 мкМ. В дальнейших экспериментах проверяли влияние ингибитора на передачу сигнала индивидуальными рецепторами цитокининов. Для этого мы использовали двойные мутанты *Arabidopsis thaliana* по рецепторам цитокининов (Riefler et al., 2005), у которых фактически экспрессировался только один рецептор из трех (у мутанта ahk4/ahk3 – рецептор АНК2, у мутанта ahk4/ahk2 – рецептор АНК3, у мутанта ahk2/ahk3 – рецептор CRE1/АНК4). Геномы растений содержали дополнительную конструкцию рARR5::GUS (ARR5 – ген первичного ответа на цитокинины). Опыты проводили на 4-х дневных проростках. В случае мутантов ahk4/ahk2 (в которых функционирует только АНК3) и ahk4/ahk3 (функционирует АНК2) U73122 и U73343 подавляли процесс в одинаковой степени. А у мутанта ahk2/ahk3 (функционирует CRE1/АНК4) U73122 действовал существенно сильнее своего неактивного аналога (5-30 мкМ) и при концентрации 30 мкМ полностью подавлял эффект от воздействия цитокининов. На мутантах испытывали также ингибитор PLD бутан-1-ол и его неактивный аналог бутан-2-ол. В диапазоне концентраций 0.3-1 % бутан-1-ол специфически подавлял процесс у всех мутантов. Таким образом, представляется вероятным, что PLD участвует в передаче сигнала цитокининов от всех рецепторов арабидопсиса, а PLC может работать в сигналинге рецептора CRE1/АНК4. Можно предположить, что фосфолипазы могут активироваться рецепторами через некий общий посредник. Так, недавно было показано, что рецептор АНК2 взаимодействует с PI4K β 1 (первым ферментом синтеза фосфатидилинозитол-4,5-дифосфата, PIP₂) (Dortay, 2006). PIP₂ в свою очередь является субстратом для PLC и активатором многих типов PLD.

Работа поддержана грантами РФФИ 07-04-00331 и 07-04-91211-ЯФ.

ИЗМЕНЕНИЕ ПОЛОВОЙ НАПРАВЛЕННОСТИ КЛЕЩЕВИНЫ**Changing of palmchrist sexual direction****В.Г. Картамышев, Е.В. Картамышева, Г.В. Бокий**

Донская опытная станция им. Л.А. Жданова, пос. Опорный

Изучение вопросов изменения пола у клещевины имеет огромное значение для проведения селекционной и семеноводческой работы с этой культурой. У клещевины большое разнообразие половых форм. Основными половыми типами являются: 1) обоеполые (*bisexualis*), 2) женские (*femineus*), 3) мужские (*masculus*), 4) растения со смешанным расположением женских и мужских цветов (*dispersus*), 5) полуженские (*subfemineus*), склонные к женским – женские растения с небольшим количеством мужских цветов.

Как показывают результаты опытов, проведенных во ВНИИМК Л.К. Воскобойником и на Донской опытной станции им. Л.А. Жданова ВНИИМК В. Г. Картамышевым, женские растения клещевины являются более урожайными по сравнению с обоеполыми растениями. Кроме того, женские растения ценны еще и тем, что они обеспечивают перекрестное опыление у сорта.

На Донской опытной станции им. Л.А. Жданова ВНИИМК проводятся работы в направлении увеличения числа женских растений клещевины, используя различные методы. В результате массового отбора женских растений, проводимого на участках размножения сортов и селекционных номеров, происходит постепенное увеличение числа женских растений. Это видно из данных испытания сортов Донская крупнокистная и Донская 7, а также селекционных номеров 89060 и 87405 в конкурсном сортоиспытании за последние три года. У Донской 7 процент женских растений составлял: 2004 г. – 13.55; 2005 г. – 25.29; 2006 г. – 40.12. У Донской крупнокистой – 2004 г. – 10.80; 2005 г. – 14.34; 2006 г. – 20.70. У номера 89060 – 2004 г. – 19.02; 2005 г. – 22.86; 2006 г. – 27.48. У номера 87405 – 2004 г. – 8.55; 2005 г. – 11.96; 2006 г. – 15.69. У сортов Щербиновская и Белореченская селекции ВНИИМКа количество женских растений составляет менее 1 %.

У отдельных самоопыленных линий процент женских растений достигает 70-80 %. Они используются в качестве материнских на участках гибридизации. Полученные гибридные семена применяются в качестве исходного селекционного материала. Благодаря использованию женских растений, отпала необходимость в трудоемкой работе по кастрации цветов у растений клещевины.

**ВЛИЯНИЕ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА НА ЭТАПЫ ОНТОГЕНЕЗА
ШИРОКОКОЛОКОЛЬЧИКА КРУПНОЦВЕТКОВОГО****Influence of the growth regulators
on ontogenesis stages of *Platycodon grandiflorus***

Д.И. Касимова, Р.Р. Гирфанова
Башкирский государственный университет, г. Уфа
E-mail: timursk@rambler.ru

Для сохранения генофонда редких лекарственных растений возможна их интродукция в районы с благоприятными условиями произрастания. Используя метод введения в культуру, нами в течение ряда лет проводились исследования с одним из красивейших представителей семейства колокольчиковых – *Platycodon grandiflorus* – ширококолокольчиком крупноцветковым. В задачи исследования входило изучение онтогенеза платикодона в закрытом и открытом грунте (Кармаскалинский район Республики Башкортостан), влияние регуляторов роста на ростовые процессы и этапы развития, семенную продуктивность, накопление в корнях веществ типа сапонинов.

Семена платикодона замачивали в конце апреля в течение 20 час в регуляторах роста ГК (гибберелловая кислота, 50 мг/л), НУК (нафтилуксусная кислота, 50 мг/л), ГА (гетероауксин, 50 мг/л), промывали водой и оставляли влажными при температуре +2-4 °С для стратификации. Прорастание семян (длина корешка до 1 см, появление семядольных листочков) ускорялось у опытных вариантов на 3-4 дня. Стадия проростка продолжалась 9-12 дней. С появлением пары супротивно расположенных листьев начиналась ювенильная стадия, продолжавшаяся до середины июля, когда на побегах вырастало до 4-5 пар супротивно расположенных листьев. С середины июля начиналось формирование корневища, растения переходили в иматурный период жизни. К концу августа завершался первая вегетация платикодона, были сняты морфометрические показатели. Особенно выделялись растения варианта ГК, которые на 66 % превышали контрольные по высоте стебля. Заканчивался этот период жизни утолщением основания корня, появлением боковых корешков. Растения переходили в иматурное состояние, а затем после отмирания надземной части и закладки почек – в виргинильный период жизни. Обработка регуляторами роста семян платикодона ускоряло прохождение всех этапов первого года жизни растений на 10-15 дней и продлевала первый год вегетацию на 10-17 дней по сравнению с контрольными растениями, у которых первый год вегетации заканчивался 7-21 сентября, а у опытных растений – 15-30 сентября. После отмирания побегов

(конец первого года жизни) корни выкапывали и проводили измерения длины, массы, количества почек на корневище. На втором году вегетации (виргинильный и генеративный периоды жизни платикодона) в первой декаде мая наблюдали отрастание почек в виде «конуса нарастания», закрытого шестью чешуевидными листочками, в основном зеленого или лилового цвета. По мере роста стебля листовое расположение в первых 4-5 узлах мутовчатое (по 3 в мутовке). Количество зубчиков у листьев низовой формации 12, у листьев верхушечной формации – по 22. В пятом и шестом стеблевых узлах расположение листьев супротивное. Растения варианта НУК имели побеги как с мутовчатым, так и супротивным расположением листьев, и на одном корневище развивалось до 5-7 генеративных побегов, в то время как в контроле максимальное число побегов два, а в варианте ГК не более четырех.

Фаза бутонизации (середина июня) у опытных растений началась раньше, чем у контрольных (на 4-5 дней), соответственно ускорялось и начало цветения (первая половина июля). Окраска венчика у всех растений голубого цвета с сиреневыми жилками, однако более крупные цветки отмечены для вариантов ГК и НУК с диаметром 7.5, 7.2 и у контрольных – 4.7 см. Фаза цветения опытных растений длилась 35-40, контрольных – 18-20 дней. В целом, у опытных растений на 30-35 дней удлинялся второй год вегетации и продолжался до конца сентября. После созревания коробочек сделан подробный анализ продуктивности *Platycodon grandiflorus*.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МУТАНТОВ ТОМАТА, РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ ПО ПРИЗНАКУ «ТИП СОЦВЕТИЯ»

Physiological peculiarities of tomato mutants differing in the trait «Inflorescence type»

E.N. Kirilova, S.I. Toma
Institute of Genetics and Plant Physiology
of the Academy of Sciences of Moldova, Chisinau
E-mail: sbiochim@asm.md

The investigation was carried out on a tomato mutant form in which the gene controlling flower formation is blocked and the inflorescence is modified representing undeveloped leaflets instead of flowers. The heterozygous form of this mutation with normal inflorescences and fruits were used as controls.

At the most significant developmental stages in the reproductive organs the content of phytohormones (cytokinins – zeatin and zeatin riboside, free and bound ABA and IAA) were measured by the method

of high pressure liquid chromatography, the activity of peroxidase and polyphenoloxidase was measured according to Boyarkin, their qualitative contents were determined by polyacrylamide gel electrophoresis using the incubation media, as for the activity measurement, to develop isoforms, as well as the electrophoretic spectrum to easy soluble proteins; the qualitative and quantitative contents of free amino acids were measured on AAA-339 analyzer.

The blocking of the gene controlling the reproduction system leads to a significant reconstruction of the hormonal and inhibitory status, the direction of the metabolic processes both in the whole plant and in its individual organs.

The most significant variations were observed at the stage of the marker gene display in the mutants. Maximal quantity of cytokinins, especially zeatin riboside, as well as both ABA and IAA, were found at the flower bud stage. The ABA content is higher and that of cytokinins, especially of zeatin, is lower in the *mult*-mutants, in contrast to the *fa*-mutant.

During this period in the reproductive organs of the mutants a lower activity of oxidative enzymes, and first of all, peroxidase is observed as well. A reverse correlation was observed between peroxidase and IAA activities.

During generative organ differentiation the content and ratio of the phytohormones varies. In the inflorescences the content of zeatin and zeatin riboside decreases by 3 and 10 times, respectively, the content of bound IAA exceeds by 6 times that of free IAA, while ABA variations are insignificant. The formation and growth of fruits at the early stages are related to the level of IAA, especially free one. The blocking of the gene encoding the flower formation leads to the increase in the contents of cytokinins, free IAA and sharp decrease in both ABA, bound IAA. The ratio between free and bound IAA makes 1:3.

The changes are observed in the protein-enzyme system. In the homozygous plants in which the gene controlling the reproductive system is blocked the components with a relative electrophoretic mobility (REM) of 0.30 and 0.58 and high REM 0.95 are absent in the electrophoretic spectrum of easy soluble protein of the reproductive organs. The components with both similar or close values of REM and specific ones were found in the peroxidase isoenzyme spectrum of the homozygous plants.

The differences in the mutants are observed in both the qualitative and quantitative content of free amino acids. The main variations are observed in dicarboxylic acids and their amides, serine and γ -aminobutyric acid. In the homozygous plants as compared with the heterozygous ones in the reproductive organs the content of asparagines is by 2, glutamine by 3 times lower, and that of serine and γ -

сы гидратации и прорастания пыльцевых зерен на воспринимающей поверхности рыльца и, возможно, включается в запуск межклеточных взаимодействий в системе пыльца-пестик. Выявленные нами изменения уровня АЦК, а также двух ключевых ферментов биосинтеза этилена (АЦК-синтазы и АЦК-оксидазы) в системе пыльца-пестик дали основание заключить, что этилен контролирует прорастание и рост мужского гаметофита в спорофитных тканях пестика и, очевидно, включается в запуск межклеточных взаимодействий в прогамной фазе оплодотворения. Прорастание и рост пыльцевых трубок после самосовместимого опыления сопровождаются повышенным (по сравнению с самонесовместимым опылением) содержанием АЦК в тканях рыльца и повышенной активностью АЦК-синтазы в тканях столбика и завязи, в то время как после самонесовместимого опыления отмечено повышенное (по сравнению с самосовместимым опылением) выделение этилена.

Суммирование этих результатов с ранее полученными данными о том, что этилен участвует в процессах программируемой клеточной смерти в тканях пыльника, координируя своевременную дегенерацию тапетума при формировании фертильного мужского гаметофита либо модулируя его преждевременную дегенерацию на стадии материнских клеток микроспор при формировании мужской стерильности, дает основание заключить, что этилен является фактором спорофитной регуляции развития, прорастания и роста (или подавления) мужского гаметофита в прогамной фазе оплодотворения.

Работа поддержана грантом Российского фонда фундаментальных исследований (N 06-04-48870).

РОЛЬ ФИФ₂-ЗАВИСИМОЙ ФОСФОЛИПАЗЫ D В РЕАЛИЗАЦИИ ДЕЙСТВИЯ ЦИТОКИНИНА

Role of PIP₂-dependent phospholipase D in the mechanism of cytokinin action

Я.С. Колесников¹, В.С. Кравец¹, С.В. Кретинин¹, Г.А. Романов²,
Я. Мартинек³, И. Махачкова³

¹ Институт биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины, г. Киев
E-mail: kravets@bpci.kiev.ua

² Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева, г. Москва

³ Институт экспериментальной ботаники, г. Прага

Цитокинины играют ключевую роль в регуляции роста и развития растений. Вопрос о молекулярном механизме действия этих соединений в клетке остается открытым. Фосфолипаза D (ФЛД) является важным компонентом передачи сигналов и регулятором

метаболизма клеток растений. Биотестом на действие цитокининов является накопление красного пигмента амарантина в семядолях амаранта (*Amaranthus caudatus* L.). Обнаружено, что низкие концентрации первичных спиртов подавляют данный процесс. Но поскольку они угнетают ФЛД, это свидетельствует в пользу участия названного фермента в реакции клеток на действие цитокинина. Важную роль в регуляции активности фермента принадлежит ФИФ₂. Целью данной работы было исследование роли ФИФ₂-зависимой фосфолипазы Д в реализации действия цитокинина. Для анализа фосфолипидов в ткани растений вводили [³³P]ортофосфат (Amersham) в течение 16 часов при 25°C. Растения отмывали от фосфора и вводили 5 мМ цитокинина. Для анализа активности фосфолипазы Д использовали реакцию трансфосфатидилирования. С этой целью в ткани растений вводили 0.8 % 1-бутанол. Для определения роли ФИФ₂ в регуляции активности ФЛД применяли неомидин, обладающий способностью связывать ФИФ₂. Растения замораживали в жидком азоте и использовали для экстракции и разделения липидов. Результаты проведенных исследований свидетельствуют об индукции биосинтеза фосфатидилбутанола под действием цитокинина. Введение в клетки неомидина резко угнетало данный процесс. Таким образом, ФЛД, стимулируемая в ответ на действие цитокинина, является зависимой от ФИФ₂.

Работа была выполнена при поддержке грантов INTAS N602/2001 и РФФИ 07-04-00331.

**ИНДУЦИРОВАННЫЕ ФИТОХРОМОМ А
ФОТОМОРФОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ
В КОРНЯХ КУКУРУЗЫ (*ZEА MAYS* L.)**

**Phytochrome A induced photomorphogenetic effects
in *Zea mays* L. roots**

Л.А. Коппель, А.Р. Генатулина, А.Н. Пегова, В.А. Синещев

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г.
М о с к в а

E-mail: Koppell@mail.ru

Фитохром (phy) – фоторецептор растений, обладающий наибольшей активностью в красной области спектра – кодируется наибольшим семейством генов (phyA-E), из которых основными являются phyA и phyB. Светолабильный phyA доминирует в этиолированных растениях и опосредует фотоответы в широком диапазоне спектра, включая дальнюю красную область. Многообразное дей-

ствие phyA может объясняться его структурной гетерогенностью. В нашей группе было показано существование двух молекулярных типов phyA: пулы phyA' и phyA'' являются продуктами пост-трансляционной модификации phyA и различаются по спектральным и фотохимическим свойствам, содержанию в органах и тканях, световой лабильности и ряду других характеристик (Sineshchekov, 2005). Однако точные структурные различия двух изоформ пигмента остаются не ясными, также как и их функциональные особенности. Ранее нами были обнаружены вариации в содержании изоформ phyA и их взаимопревращения на разных стадиях развития корня кукурузы (Korrel, Sineshchekov, 2003). В настоящей работе для выяснения функциональных свойств нативных пулов phyA ставилась задача соотнести изменение их содержания в ходе развития проростков кукурузы при разных световых режимах с морфологическими эффектами действия света на проростки.

Проростки кукурузы (сорт Кубанская) выращивали на фильтровальной бумаге, смоченной водопроводной водой в условиях темноты (Т) или под постоянным дальним красным светом (ДКС, $\lambda > 720$ нм, $I = 0.5 \mu\text{M}/\text{m}^2\text{s}$), эффекты которого опосредует только phyA. Образцами для измерения служили отрезки (2 мм) кончиков корней 3-дневных проростков. По степени развития проростки делили на две физиологические группы, соответствующие стадиям развития: растения с проклюнувшимися корнями без побегов (стадия 1 – корнеобразование) и растения с проросшими корнями и побегами (стадия 2 – побегообразование). Методом низкотемпературной спектрофлуориметрии фитохрома *in vivo* при 85 К измеряли спектры флуоресценции фитохрома в исходном состоянии (Pr) в образцах и после частичного фотоиндуцированного ($\lambda_{ac} = 633$ нм) превращения в первичный фотопродукт, lumi-R. Исходя из полученных спектров, пигмент описывали по параметрам: содержание в клетке ($[P_{tot}]$), положение максимума (λ_{max}) и полуширина полос излучения ($\Delta\lambda$), глубина превращения Pr в lumi-R (γ_1). На основании полученных значений $[P_{tot}]$ и γ_1 оценивали содержание двух феноменологических пулов фитохрома phyA' и phyA'' в отн. ед. в соответствии с их различной фотохимической активностью при низкой температуре (Sineshchekov, 1994).

Для всех образцов были получены характерные спектры флуоресценции phyA ($\lambda_{max} = 683$ нм, $\Delta\lambda \sim 22$ нм), тогда как общее содержание пигмента и фотохимический параметр γ_1 , отражающий соотношение его пулов, изменялись в широких пределах в зависимости от стадии роста проростков и условий освещения. В темных проростках на стадии 1 содержание phyA в кончиках корней было высоким ($P_{tot} = 1.6$ отн.ед.) при $\gamma_1 = 0.3$ и соотношении пулов

phyA'/phyA'' ~60/40 % (концентрации 0.96 и 0.64 отн. ед.). При переходе проростка к стадии 2 P_{tot} снижалась до ≈ 1 отн. ед. и, судя по уменьшению показателя γ_1 до 0,1, происходило перераспределение пулов в пользу светостабильного phyA'' (phyA'/phyA'' » 10/90 %, концентрации 0.1 и 0.9 отн. ед.). Таким образом, изменение баланса пулов phyA в развивающихся корнях кукурузы сопряжено с переходом к побегообразованию.

Под постоянным ДКС в корнях растений на стадии 1 [P_{tot}] и γ_1 были снижены до 1 отн. ед. и 0.1 соответственно. Эти данные говорят о том, что во время формирования корня на ДКС происходит перераспределение пулов phyA в сторону phyA'', до 20 и 80 % и концентрации 0.2 и 0.8 отн. ед. В растениях, выращенных на ДКС до стадии стеблеобразования, происходило лишь незначительное уменьшение общего содержания phyA и параметра γ_1 по сравнению с растениями, выращенными в темноте. На морфологическом уровне у проростков, растущих на постоянном ДКС, отмечали появление дополнительных корней, изгибы корня, интенсивный синтез антоцианов, более округлую форму и крупный размер клеток проводящих тканей.

Тот факт, что снижение содержания phyA' на стадии 2 коррелирует с менее выраженным действием ДКС на содержание и свойства фитохрома А, свидетельствует о том, что ответственным за его эффекты является форма phyA'. Полученные результаты указывают и на то, что ДКС может регулировать соотношение двух пулов phyA в корнях не за счет свето-индуцированного разрушения phyA', а путем прямого превращения phyA' в phyA'' и/или стимулирования преимущественного образования phyA''. Причем эта регуляция зависит от стадии развития проростка – влияние ДКС выражено на стадии корнеобразования и отсутствует при переходе проростка к побегообразованию.

В сообщении будут изложены также результаты проводящегося в настоящее время изучения действия ДКС на корни проростков, находящихся на стадиях развития 1 и 2, в которых доминируют соответственно phyA' и phyA'', и независимой оценки изменения общего уровня экспрессии гена фитохрома А методом РСР.

Исследования поддержаны РФФИ, грант № 05-04-49549.

СТАРЕНИЕ ЛИСТЬЕВ РАЗНЫХ ЯРУСОВ РАСТЕНИЙ
ДИКОГО И АФИЛЬНОГО ГЕНОТИПОВ ГОРОХА (*PISUM SATIVUM* L.)
В СВЯЗИ С СОДЕРЖАНИЕМ АБК

Senescence of the different circle leaves
of wild and afileous pea genotypes (*Pisum sativum* L.)
in the relation with ABA levels

Э.М. Коф¹, А.А. Борзов¹, В.В. Карягин¹, З.В. Калиберная¹,
Н.И. Александрюшкина², Б.Ф. Ванюшин², А.В. Середина²

¹ Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, г. Москва
E-mail: kof@ippras.ru

² НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского,
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва
E-mail: vanyush@belozersky.msu.ru

Возрастные изменения и старение (запрограммированная гибель) клеток и органов свойственны любому живому организму на протяжении всей его жизни. Эти изменения контролируются рядом факторов, в том числе, фитогормонами.

Для изучения запрограммированной гибели клеток и органов идет поиск новых моделей. К таким моделям безусловно относятся листья разных ярусов растений дикой формы (генотип *Af Af*) и листового афильного мутанта (генотип *af af*) гороха *Pisum sativum* L., у которого в результате гомеозисной мутации листочки преобразованы в усики. Для исключения влияния специфики сорта использовали полуизогенные линии, созданные на основе сорта New Line Early Perfection: NLEP (как дикая форма, генотип *Af Af*) и афильный (генотип *af af*) мутант (как усатая, т.е. безлисточковая форма).

Показано, что по мере удаления от основания стебля к его верхней части (апексу) площадь листьев увеличивалась и у растения афильного (генотип *af af*) мутанта, и у растений дикой формы. Однако у особей дикой формы такое увеличение носило прогрессивный характер в течение всей вегетативной фазы развития, а у растений афильного (*af*) мутанта – только до 5-6 листа. Затем кривая роста площади листьев афильных особей выходила на плато. В результате этого различия между листьями растений *wild* и *af* линий увеличивались.

Аналогичные изменения наблюдались и в нарастании сухой массы листьев растений разных ярусов. С увеличением собственного возраста листа повышалось различие между растениями дикой формы и афильным (*af*) мутантом в пользу дикой формы. Кроме того, у растений афильного (*af*) мутанта по мере удаления от осно-

вания стебля (т.е. у молодых субапикальных листьев) прогрессивно увеличивалась доля усиков по сравнению с дикой линией.

Газо-хроматографический анализ показал, что по мере старения целых листьев растений дикого типа (генотип *Af Af*) уровень АБК в них был приблизительно одинаков. В листьях растений афильного (генотип *af af*) мутанта содержание АБК сильно возрастало по мере увеличения собственного возраста листа, т.е. оказалось максимальным в старых листьях, расположенных у основания стебля, и минимальным – в молодых субапикальных листьях.

**ФОТОПЕРИОДИЧЕСКАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ
И СКОРОСПЕЛОСТЬ ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ
РАЗЛИЧНОГО ГЕОГРАФИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ**

**Photoperiodic sensitivity and earliness of winter bread wheat
of different geographic origin**

В.А. Кошкин, И.И. Матвиенко, О.П. Митрофанова
Всероссийский НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова,
г. Санкт-Петербург
E-mail: o.mitrofanova@vir.nw.ru

Для регионов, характеризующихся коротким периодом вегетации зерновых культур, необходимы скороспелые сорта. У скороспелых форм процессы роста и развития происходят интенсивнее, чем у позднеспелых, поэтому продолжительность вегетационного периода у них короче. Общая продолжительность вегетационного периода зависит в основном от длины межфазных периодов «всходы – колошение» и «колошение – созревание». У пшеницы контроль продолжительности периода «всходы – колошение» осуществляют системы генов *Vrn* (*Response to vernalization*) и *Ppd* (*Response to photoperiod*). Слабая фотопериодическая чувствительность (ФПЧ) контролируется доминантными генами *Ppd*. Сорта со слабой ФПЧ представляют большую ценность для селекции на скороспелость в разных регионах России. У скороспелых слабо чувствительных сортов пшеницы доминантные аллели генов *Ppd* воздействуют через фитохромную пигментную систему на хлорофилл-белковый комплекс, процессы роста и развития.

Опыты по изучению фотопериодической реакции растений проводили в вегетационном и фотопериодическом павильонах лаборатории физиологии Пушкинского филиала ВИР в 2002-2006 гг. Перед проведением опытов трехдневные проростки семян всех образцов яровизировали в темноте при температуре +2 °С в течение 75 дней. Эта продолжительность яровизации оказалась достаточной для

прохождения фазы колошения всеми образцами в условиях естественного длинного (17 ч 30 мин. – 18 ч 52 мин.) дня (ДД). Короткий (12 ч) день (КД) создавали, закатывая вагонетки с вегетационными сосудами в светонепроницаемый фотопериодический павильон, в котором они находились с 21 до 9 ч утра следующего дня. Сосуды с растениями, находящимися на ДД, на этот период времени помещали в стеклянный павильон.

Растения выращивали на дерново-подзолистой почве в пластиковых пятилитровых вегетационных сосудах. Посев семян проводили по периметру вегетационных сосудов. После всходов удаляли слаборазвитые проростки, оставляя в каждом вегетационном сосуде по 10 нормально развитых растений. Прополку, внесение удобрений, рыхление почвы, полив проводили в оптимальном для пшеницы режиме. У каждого растения отмечали дату колошения после выхода половины колоса из влагалища флагового листа главного стебля, маркировали стебли бумажными этикетками и вычисляли продолжительность периода «всходы – колошение».

ФПЧ определяли по величине задержки колошения на КД по сравнению с ДД ($T_2 - T_1$) и коэффициента ФПЧ ($K_{\text{фпч}}$), вычисляемого по формуле ($K_{\text{фпч}} = T_2/T_1$), где T_1 и T_2 – продолжительность периода всходы – колошение (сут) у растений, выращенных в условиях ДД и КД, соответственно. Образцы, задерживающие колошение на КД по сравнению с ДД не более чем на 10 сут., а также имеющие $K_{\text{фпч}} = 1.00-1.20$, классифицировали как слабо чувствительные к фотопериоду. Ошибки средних величин определяли по Доспехову. В качестве стандарта, имеющего слабую ФПЧ, использовали сорт Безостая 1.

Изучено 96 образцов озимой мягкой пшеницы из коллекции ВИР. Среди них местные и селекционные сорта, а также селекционные линии из России, Восточной и Западной Европы (Украина, Чехословакия до 1992 г., Венгрия, Румыния, Болгария, Франция), Средиземноморского региона (Греция, Югославия до 1990 г., Алжир), Закавказья (Грузия), Азии (Казахстан, Узбекистан, Китай, Япония), Африки (Южная Родезия), Северной и Южной Америки (Канада, США, Аргентина).

В сравнении с Безостой 1 в условиях ДД выявлены образцы с более коротким (38-41 день) и более продолжительным (= или >50 дней) периодом «всходы – колошение». Среди них лишь сорт Courtot (к-50738, Франция) классифицирован как скороспелый, но реагирующий на фотопериод. По-видимому, в одну группу с ним можно включить сорт Аиси (к-53809) из Грузии и форму без названия (к-31699) из Алжира. Остальные 20 скороспелых образцов вместе со стандартом Безостая 1 отнесены к классу со слабой ФПЧ. Это сорта преимущественно Северо-Кавказского региона России, Болгарии, Китая и Югославии до 1990 г. Среди образцов с сильной

задержкой колошения на КД (от 40 до 67 дней) – отечественные и зарубежные сорта с высокой морозостойкостью.

Образцы-источники озимой мягкой пшеницы с разной степенью чувствительности к фотопериоду представляют большой интерес для создания новых продуктивных скороспелых и зимостойких сортов и линий. Их можно использовать в селекции в различных регионах России.

РОЛЬ ФОСФОЛИПАЗЫ D В МЕТАБОЛИЗМЕ КЛЕТОК РАСТЕНИЙ И В ДЕЙСТВИИ ФИТОГОРМОНОВ

Role of phospholipase D in plant cells metabolism regulation and phytohormones action

В.С. Кравец

Институт биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины, г. Киев
E-mail: kravets@bpci.kiev.ua

Фосфолипазе D (ФЛД) принадлежит важная роль в регуляции метаболизма клеток растений. ФЛД расщепляет фосфолипиды с образованием фосфатидной кислоты (ФК) и свободных групп, таких как холин. Модификация активности метаболизма клеток происходит вследствие инициации ряда сигнальных систем клеток под влиянием как самой ФК, так и диацилглицерола (ДАГ), или ДАГ пиррофосфата, поскольку ФК в клетке способна дефосфорилироваться с формированием ДАГ, а также фосфорилироваться с участием ФК киназы до ДАГ пиррофосфата.

Нами исследована на различных уровнях организации – молекулярном, субклеточном и тканевом – реакция клеток растений на действие фитогормонов. Мы анализировали результаты исследований ряда лабораторий, в том числе выполненных с применением трансгенных растений, провели экспериментальные исследования реакции ФЛД клеток меристемы и зрелых клеток растений на действие АБК. В исследованиях использовали листья и меристему корней гибрида кукурузы «Говерла». Для анализа активности ФЛД использовали реакцию трансфосфатидилирования, определяя интенсивность включения P-33 в фосфатидилбутанол *in vivo*. С этой целью в ткани растений вводили [³³P]ортофосфат (Amersham) в течение 16 часов при 25 °С. Растения отмывали от фосфора и вводили раствор (0.8 %) бутанола и добавляли раствор АБК. Растения замораживали в жидком азоте и использовали для экстракции и разделения липидов.

Анализ результатов проведенных исследований свидетельствует о вовлечении ФЛД в реакцию метаболизма клеток на действие

сцизовой кислоты. Нами впервые получены результаты, указывающие на активацию ФЛД клеток меристемы при действии абсцизовой кислоты. Формирование ответа клеток на действие гормона инициируется ФЛД и вовлекает многокомпонентную систему клетки, направленную на повышение устойчивости растений к действию стрессов, включая повышение устойчивости к обезвоживанию тканей.

Работа была выполнена при поддержке гранта № F10/24-2005 Фонда фундаментальных исследований Украины.

ВЛИЯНИЕ АБСЦИЗОВОЙ КИСЛОТЫ НА АКТИВНОСТЬ ФОСФОЛИПАЗЫ С В КЛЕТКАХ ЛИСТЬЕВ КУКУРУЗЫ *IN VIVO*

In vivo effects of abscisic acid on phospholipases C activity in maize leaves

С.В. Кретинин¹, О.Н. Яковенко¹, Е.М. Кабачевская², Г.В. Ляхнович²,
И.Д. Волотовский², В.С. Кравец¹

¹ Институт биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины, г. Киев
E-mail: kravets@bpci.kiev.ua

² Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, г. Минск
E-mail: lpcp@biobel.bas-net.by

Абсцизовая кислота выполняет ключевую роль в адаптационных реакциях растений на действие таких абиотических факторов, как засуха, солевой стресс и переохлаждение. Исследования последних лет свидетельствуют об участии фосфатидилинозитолов в восприятии и трансформации сигналов окружающей среды в растительной клетке. Фосфоинозитид-специфичная фосфолипаза С (ФЛС), гидролизующая фосфатидилинозитол 4,5 бифосфат (ФИ(4,5)Ф₂) с образованием вторичных посредников инозитол 1,4,5 трифосфата (Инз(1,4,5)Ф₃) и диацилглицерола, привлекла внимание как возможный компонент трансдукции сигнала АБК. Однако данные, полученные с применением трансгенных растений и ингибиторов ФЛС, в отношении участия этого фермента в регуляции активности замыкающих клеток устьиц абсцизовой кислотой носят противоречивый характер, а вопрос о влиянии АБК на активность фосфолипазы С *in vivo* практически не изучен. Исходя из вышесказанного, целью нашей работы было изучить изменения уровня фосфатидилинозитол 4 монофосфата, фосфатидилинозитол 4,5 бифосфата и инозитол 1,4,5 трифосфата в клетках листьев кукурузы *Zea mays L in vivo* в ответ на воздействие АБК. Так как полифосфатидилинозитолы содержатся в организме растений в сравнительно небольших количествах, для их исследования целесооб-

разно использовать введение радиоактивной метки. Для этого листья кукурузы помещали в [^{33}P]ортофосфат и инкубировали в течение 16 часов при температуре 25 °С. Затем растительный материал обрабатывали АБК (10^{-5}M) 1-30 мин и фиксировали в жидком азоте. Количество $\text{Инз}(1,4,5)\text{Ф}_3$ определяли радиорецепторным методом с помощью набора TRK1000 (Amersham). Было установлено резкое возрастание (более чем в два раза) уровня содержания $\text{Инз}(1,4,5)\text{Ф}_3$ в течение 2 мин. после воздействия АБК, которое достигало максимума к 5 мин. и постепенно ослабевало в течение последующих 30 мин. Изменение уровня $\text{Инз}(1,4,5)\text{Ф}_3$ сопровождалось уменьшением радиоактивности $\text{ФИ}(4)\text{Ф}$ и $\text{ФИ}(4,5)\text{Ф}_2$ в течение 5 мин. Фосфатидилинозитол 4 монофосфат ($\text{ФИ}(4)\text{Ф}$) является предшественником $\text{ФИ}(4,5)\text{Ф}_2$ – субстрата ФЛС, образование которого происходит в результате фосфорилирования $\text{ФИ}(4)\text{Ф}$ фосфатидилинозитол-4-монофосфат-5-киназой. Установленные нами факты свидетельствуют об изменении соотношения содержания фосфатидилинозитол-4-монофосфата, фосфатидилинозитол-4,5-бифосфата и инозитол-1,4,5-трифосфата в растительной ткани уже на первых минутах воздействия АБК и позволяют утверждать, что ФЛС принимает участие в формировании реакции клеток растений на воздействие абсцизовой кислоты.

Авторы выражают благодарность д.б.н. С.П. Заике, зав. отделом Института земледелия УААН, г. Киев, за любезно предоставленные семена кукурузы.

Работа выполнена при поддержке гранта ФД Украины № Ф10/24-2005 и гранта РФФИ Беларуси № Б05К-108.

**ВЛИЯНИЕ ИНТЕРМЕДИАТОВ ЦИКЛА КРЕБСА В СВЕРХМАЛЫХ
КОНЦЕНТРАЦИЯХ НА ОНТОГЕНЕЗ *RAPHANUS SATIVUS*
И ПРИЖИВАЕМОСТЬ ЗЕЛЕННЫХ ЧЕРЕНКОВ *VITIS VINIFERA***

**Influence of Krebs cycle intermediates in superlow concentrations
on the *Raphanus sativus* ontogenesis
and acclimatization of the *Vitis vinifera* green cuttings**

В.В. Кропоткина, А.Л. Верещагин

Бийский технологический институт (филиал) Алтайского
государственного технического университета им. И.И. Ползунова, г.
Бийск

E-mail: val@bti.secna.ru

Ранее нами исследовалось влияние внекорневой обработки сверхмалых концентраций водных растворов индивидуальных кислот, входящих в цикл Кребса, а именно лимонной, яблочной, янтар-

ной, фумаровой, щавелевой, на урожайность и показатели качества редиса.

Было установлено, что в сверхмалых дозах 10^{-11} – 10^{-15} моль/л повышенной активностью обладают щавелевая, янтарная, яблочная кислоты, а лимонная и фумаровая кислоты – нет. Причем по всем вариантам были обнаружены повышение содержания сухого вещества и снижение содержания нитратов по сравнению с контрольным вариантом. Самые лучшие результаты были выявлены при использовании янтарной кислоты.

В данной работе рассматривалось совместное действие интермедиатов цикла Кребса в сверхмалых концентрациях на онтогенез редиса и приживаемость зеленых черенков винограда.

Редис. Изучалось действие водных растворов смеси кислот – лимонной, янтарной, яблочной и щавелевой (в том порядке, в котором они участвуют в цикле Кребса) – в мольных соотношениях 1:1:1:1; 1:2:3:4 и 4:3:2:1, водного раствора янтарной кислоты (эталон), диапазон изучаемых концентраций 10^{-7} – 10^{-15} моль/л, контроль (вода).

Опыты проводились в трехкратной повторности, площадь единичного опыта – 1 м², расход рабочего раствора – 0.3 л. Посев произведен 24 мая на глубину 2 см. Первая обработка путем опыливания вегетирующих растений редиса проводилась в фазу появления первых двух листьев – 2 июня, вторая обработка – при появлении первых двух настоящих листьев – 8 июня. Урожай был собран 28 июня.

Было установлено, что все растворы оказывают ростостимулирующее действие, причем наибольшей активностью обладает водный раствор смеси кислот в мольном соотношении 1:2:3:4 с суммарной концентрацией кислот 10^{-11} моль/л (прибавка урожая 300 % по сравнению с контролем и 190 % по сравнению с эталоном). Для всех вариантов обработки характерно увеличение содержания сухих веществ по сравнению с контролем (с 6.8 ± 0.4 на контроле до 7.3 ± 0.2 у опытных образцов, %) и эталоном (с 6.9 ± 0.6 на эталоне до 7.3 ± 0.2 у опытных образцов, %), что может быть связано с вовлечением экзогенных кислот в метаболические процессы, способствующие накоплению веществ, образующих биомассу редиса. Кроме этого, наблюдалось снижение содержания нитратов по сравнению с контролем (с 881 ± 58 на контроле до 320 ± 10 у опытных образцов, мг/кг).

Виноград. Изучалось действие водного раствора смеси кислот – лимонной, янтарной, яблочной и щавелевой – в мольном соотношении 1:1:1:1 концентрацией 10^{-11} моль/л на приживаемость зеленых черенков.

Зеленые черенки винограда были посажены в сосуды, обработаны вышеописанным раствором уже в грунте и укрыты непрозрачным материалом, через 50 дней был произведен осмотр растений. Контроль – необработанные растения.

Было обнаружено, что обработка черенков раствором смеси кислот в указанной концентрации способствует лучшей приживаемости черенков, развитию корневой системы по сравнению с контролем (с 60 % на контроле до 95 % у опытных образцов).

**ВЛИЯНИЕ ГЕНОТИПА И ПОГОДНЫХ УСЛОВИЙ
НА КАЧЕСТВЕННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПЫЛЬЦЫ
РАЗЛИЧНЫХ СОРТОВ-ОПЫЛИТЕЛЕЙ
И ОТБОРНЫХ ФОРМ *HIPPORHAE RHAMNOIDES* L.**

**The influence of the genotype and meteo conditions
on the qualitative characteristics of different sorts
and selected forms of Sea buckthorn pollen**

Т.Н. Кузнецова, Д.А. Лапшин

Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия,
г. Нижний Новгород
E-mail: lapshin-da@yandex.ru

В настоящее время в Нижегородской государственной сельскохозяйственной академии, наряду с селекцией женских сортов, ведется селекция мужских сортов-опылителей с хозяйственно ценными признаками, в том числе с высокой пыльцепродуктивностью жизнеспособной пыльцы.

Объектом исследования служила пыльца двух сортов-опылителей (Геракл и Дебют) и шести гибридов *Hippophae rhamnoides* L., различающихся по эколого-географическому происхождению родительских форм:

- сорт Дебют – сеянец катунского экотипа;
- форма 1/90 – гибрид, полученный при скрещивании родительских форм прибалтийской и саянской популяции;
- сорт Геракл; формы 31/89 и 5/93 – гибриды, полученные от опыления форм прибалтийской облепихи радиомутантом катунской облепихи (Ж – 24);
- формы 5/87, 1/89 и 1/91 – гибриды, полученные от опыления сортов МГУ опылителями катунского экотипа.

Жизнеспособность пыльцы *Hippophae rhamnoides* L. оценивали по содержанию накопленного крахмала и пролина. Содержание крахмала определяли, используя йодный метод, пролина – путем окрашивания пыльцы изатином. Полученные данные были статис-

тически обработаны методом многофакторного равномерного дисперсионного анализа.

Обработка полученных результатов методом дисперсионного анализа позволила выявить долю влияния генотипа и условий среды на содержание ряда пластических веществ в пыльцевых зернах (ПЗ) у исследованных сортов и гибридов.

Доля влияния генотипа на содержание крахмала в пыльцевых зернах была высокой – 65 %, тогда как доля влияния погодных условий в период формирования пыльцы составила лишь 4 %. В ходе проведенных исследований установлено, что пыльца исследованных образцов существенно различались по содержанию крахмала. Среди исследованных образцов доля ПЗ богатых крахмала была самой высокой у сорта Дебют в 2005 г. и составила 31 %, относительно высокой – у гибрида 1/91 (19 %). В 2006 г. сорт Дебют и гибрид 1/91 также имели наибольшее количество богатых крахмалом ПЗ, но доля их составила соответственно 10 и 8 %, что значительно ниже, чем в 2005 г. Следует отметить, что в 2006 г. количество богатых крахмалом ПЗ было существенно меньше, чем в 2005 г. У гибридов 1/89 и 5/93 в 2005 г. и в 2006 г., у гибридных форм 31/89 и 1/90 в 2005 г. и у образца 5/87 в 2006 г. доля пыльцы с высоким содержанием крахмала составляла менее 3 %.

Влияние генотипа на содержание пролина в пыльцевых зернах, по данным дисперсионного анализа, составило 65 %, а доля влияния погодных условий была значительно ниже и составила 10 %. Высокое содержание богатых пролином пыльцевых зерен было отмечено у сортов-опылителей Геракл и Дебют, а также у гибрида 1/89 как в 2005 г. так и в 2006 г. Доля ПЗ с высоким содержанием пролина у сортов Геракл, Дебют и гибрида 1/89 составляло в 2005 г. 28, 59 и 39 % соответственно, а в 2006 г. – 25, 25 и 28 %. Следует отметить, что в 2005 г. доля пыльцы с высоким содержанием пролина у гибрида 5/93 составляла 33, а в 2006 г. – 4 %. Низкое содержание пыльцевых зерен, богатых пролином, отмечено у гибрида 1/90 в 2005 г. и 2006 г. (3 и 2 % соответственно) и у гибрида 31/89 в 2005 г. (3 %). Значительное варьирование количества богатых пролином пыльцевых зерен, в зависимости от года формирования пыльцы, указывает на влияние погодных условий. Генотип опылителя, как мы полагаем, обуславливает потенциальные возможности в накоплении пролина образцом, а количество накопленного пролина контролируется погодными условиями.

Таким образом, результаты проведенных исследований указывают на более высокое влияние генотипа на накопление крахмала и пролина в пыльце, а погодные условия в период формирования мужского гаметофита играют менее значительную роль.

**PARADIGM LOST BUT QUESTIONS REMAIN:
ACETYLCHOLINE IS DECOMPOSED TO ETHYLENE AND ETHYLENE OXIDE.
WHICH OF THEM CAUSES VISIBLE BIOLOGICAL EFFECTS?**

B.A. Kurchii

Institute of Plant Physiology and Genetics, Kiev
E-mail: *kurchii@mail.ru*

Biogenic amine acetylcholine (ACh) is a rather simple molecule of formula $(\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3)$. Recent investigations suggest that ACh is not only present in neurons and glial cells of the nervous system but also is synthesized in epithelial, mesothelial, endothelial cells, alveolar macrophage, and white blood cells (Wessler, 1998). Surprisingly ACh is not only distributed in vertebrates and invertebrates but also in a plant kingdom (Tretyn, 1991). As in the animals ACh is synthesized in plants via acetyltransferase (EC 2.3.1.6) (Smallman, Maneckjee, 1981) and decomposed by acetylcholinesterase (EC 3.1.1.7) (Miura *et al.*, 1982). Little is known about the role of ACh in the plants. It is proposed that ACh can act in the plants as a local hormone in phytochrome-mediated responses (Jaffe, 1970) and produces alteration of ion channel activity (Tretyn, 1991; Ciong, Bisson, 2002). It is interestingly to note that from chemical viewpoint ACh is a quaternary ammonium salt that in appropriate conditions can be decomposed in accordance to Hofmann's rule with ethylene formation (Finar, 1986). In order to understand the molecular mechanisms which are responsible for the biological action of ACh we have examined the hypothesis (Kurchii, 1998) that physiological effects of ACh might be attributable to its decomposition with ethylene formation. Herein we report an extension of this approach toward the generation of ethylene and ethylene oxide from ACh.

The chemical ACh·HCl used in this work was from «Mosmedpreparaty». Ethylene oxide was purchased from «Sigma». ACh was decomposed in 10 cm³ flasks with rubber caps containing 3 mL of reaction mixture. The reaction mixture was kept at room temperature for 10 min before 1 cm³ of head space gas was analyzed in the gas chromatograph («Selmihrom», Sumy, Ukraine) filled with a flame-ionization detector and a 2 m x 3.2 mm stainless-steel column packed with Poropak-Q (80-100 mesh). The oven temperature was 100 °C and the N₂, H₂ and O₂ (air) flow rates were 40, 40 and 350 ml min⁻¹, respectively. Identification of chemicals was based on the retention time compared with ethylene and ethylene oxide standard.

An examine of the chromatogram suggests that in the air of flasks were found ethylene and ethylene oxide which were formed

during decomposition of ACh under influence of alkaline solution. Unfortunately we could not detect the third pick. Also ethylene oxide was found in the flasks where to ACh we added one drop of 0.9 % NaCl. Ethylene and ethylene oxide were already found in the flasks after 10 min of exposition. Thus, ACh is decomposed with formation of ethylene and ethylene oxide. At the same time the quantity of formed ethylene oxide was higher than ethylene.

From our experimental data we have concluded that rapid physiological effects of ACh (at least in plant tissues) can be caused by action of ethylene oxide that is a very reactive agent. Ethylene can be *in vivo* activated in the free radical addition reactions to the double bond and hence its biological effects occur later.

Biological action of ACh is explained in terms of an interaction with receptors for this chemical. This interaction is believed to be a physicochemical reaction that depends on the molecule of ACh being attracted to a corresponding or a complementary molecular structure of the receptor. Two types of ACh receptors are known as associated with animal cell membranes mediating physiological effects of ACh: nicotinic and muscarinic, being selectively activated by the agonists nicotine and muscarine, respectively. There are also numerous subtypes of these receptors.

The plant hormone ethylene is a simple two-carbon gaseous plant growth regulator that has profound effects on plant growth and development. It is believed that ethylene may function as signal molecules that trigger the signal transduction pathways in cells. Ethylene perception is the most well studied in *Arabidopsis* and is mediated by a family of five receptors: ETR1, ERS1, ETR2, ERS2, and EIN4 (Bleecker, 1999; Chang, Shockey, 1999) that have similarity to two-component regulators from bacteria (Bleecker, 1999; Schaller, Kieber, 2002; Ciardi-2001).

There's something funny about that affair. So many receptors are proposed for ACh and ethylene but nothing is known about ethylene oxide receptors. Intuitively, one would presume if ACh is decomposed *in vivo* with ethylene and ethylene oxide releasing, hence the question on the ACh receptor still seems to be open. Receptor proteins are extensively developed in plant and animal systems but questions remain: they really do exist!

РЕГУЛЯЦИЯ СООТНОШЕНИЯ
АВТОТРОФНОЙ И ГЕТЕРОТРОФНОЙ ТКАНИ В ПРОЦЕССЕ РАЗВИТИЯ
ХИМЕРНОГО ЛИСТА *FICUS BENJAMINA* 'STARLIGHT'

Ratio of the green and white parts and its regulation
in a leaf development of mosaic *Ficus benjamina* 'Starlight'

Е.А. Лабунская, В.В. Чуб, Т.В. Жигалова

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г.
М о с к в а

E-mail: styx_elenalab@mail.ru

С начала XX в. химеры растений являются удачным объектом анатомических исследований. Химерами, по определению Кренке, называются организмы или их части, состоящие из генотипически разнородных тканей, т.е. из тканей различных видов, рас, или из генетически видоизмененных тканей в пределах одного индивидуума. Химерность объекта часто имеет фенотипическое отражение в различных органах и тканях растения. Широко известны химерные сенполии (*Saintpaulia*) с секторами другого цвета в лепестках венчика. Многие искусственно полученные химеры используют для определения судьбы меристематических клеток в закладке органов растения. С помощью такого маркера, как плоидность клеток, Сатиной была впервые описана закладка примордия листа на цитохимерах *Datura*. В дальнейшем большое распространение получили работы на пестролистных бело-зеленых химерах. В основном это описания развития примордия листа различных растительных объектов, где важной информацией является рисунок зрелого листа. Небольшая часть работ посвящена взаимодействию генетически разнородных тканей в пределах одного органа. До недавнего времени мало внимания было уделено физиологии химерных растений. Данная работа освещает некоторые закономерности регуляции ростовых процессов химерных листьев.

В качестве объекта была выбрана периклиная бело-зеленая химера *Ficus benjamina* cv. 'Starlight', лист которой имеет зеленый центр и белый край. На границе белой и зеленой зон различима переходная зона светло-зеленого цвета, состоящая из зеленых и белых клеток. Сравнительный анализ пигментов, функционального состояния фотосинтетического аппарата, а также флуоресцентная микроскопия показали наличие малого количества хлоропластов в белой зоне листа, что является причиной ее альбинизма. Состав фотосинтетических пигментов в целом одинаков для белой и зеленой зон, квантовая эффективность функционирования фотосистемы II также практически не отличается в белой и зеле-

ной зонах. Расположение зон не меняется, однако их соотношение сильно варьирует в пределах одного растения. Оказалось, что доля зеленой зоны в листе зависит от порядка ветвления: чем выше порядок, тем меньше доля зеленой зоны. Морфометрическими методами продемонстрировали постоянство соотношения зон в раскрывшемся листе. Прямым физиологическим экспериментом на изолированных побегах одного порядка была показана зависимость доли белой зоны в закладывающихся листьях от накопленной суммарной зеленой площади в имеющихся листьях. Чем больше фотосинтетически активная площадь, тем больше белой ткани развивается в примordiaх листьев. Вероятно, существует оптимальное для данных условий выращивания соотношение между площадями белой и зеленой зоны (около 50-75 % зеленой поверхности в листе, таково преобладающее соотношение зон в листьях растений). При черенковании наблюдается дефицит продуктов фотосинтеза: отделенный от маточного растения побег высокого порядка несет в среднем листья с малой долей зеленого мезофилла. Молодое растение сначала должно восстановить фотосинтетический аппарат и образует листья 1-й и 2-й групп, а в дальнейшем образуются менее зеленые листья. Эти факты позволяют предположить воздействие метаболического сигнала от фотосинтезирующих листьев на ростовые процессы в новых листьях, что обратило нас к исследованиям анатомического строения меристемы и зон листа. Строение меристемы подтверждает гипотезу о периклиальной природе химеры *F. benjamina* cv. 'Starlight'. Сравнительные исследования строения различных зон пестролистной химеры и листа цельнозеленого сорта 'Daniel' показали высокую вариабельность структуры при условии наличия генетически разнородных тканей в пределах одного органа. Так, для белой и зеленой зон характерно наличие одного слоя столбчатого мезофилла, в переходной зоне их два: белый и зеленый. Это говорит о том, что генотипически различные клетки при развитии листа ведут себя рассогласованно. Мы считаем, что пестролистная химера, имеющая в листе как фотосинтезирующую, так и нефотосинтезирующую ткань, регулирует соотношение тканей-доноров и тканей-акцепторов сахаров в процессе развития каждого листа отдельно в зависимости от трофической обстановки, которая в данный момент наблюдается в растении.

**УЧАСТИЕ ЛЕКТИНОВ ОБОЛОЧКИ ПЫЛЬЦЕВОГО ЗЕРНА
В ЗАПУСКЕ ПРОРАСТАНИЯ****Involvement of pollen wall lectins in activation of germination****Е.А. Лазарева, Н.П. Матвеева, И.П. Ермаков**Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва
E-mail: plantphys@biophys.msu.ru

Начальный этап прорастания пыльцевого зерна покрытосеменных растений включает его регидратацию и активацию метаболических процессов, которые обеспечивают последующее формирование и быстрый рост пыльцевой трубки в направлении зародышевого мешка, где и происходит оплодотворение. Установлено, что легко диффундирующие из оболочки пыльцевого зерна белки необходимы для прорастания. Однако природа этих белков и механизмы их действия остаются не изученными. Вместе с тем, показано, что Глю/Ман-специфичный лектин конканавалин А (Кон А) вызывает гиперполяризацию плазматической мембраны и увеличение внутриклеточного рН вегетативной клетки и как следствие – стимулирует прорастание *in vitro*. В настоящей работе проверяли гипотезу о присутствии в оболочках пыльцевого зерна легковымываемых эндогенных лектинов, действующих на пыльцевые зерна подобно Кон А.

Исследовали действие белков, диффундирующих из оболочек пыльцевых зерен *Nicotiana tabacum* L. (диффузатов), на прорастание *in vitro* и величину мембранного потенциала. Последнюю величину определяли посредством количественной флуоресцентной микроскопии с использованием красителя DiBAC₄ (3) (микроскоп AxioPlan 2 imaging MOT (Zeiss), оснащенный цифровой камерой AxioCam HRc (Zeiss) с программным обеспечением AxioVision 4.2 (Zeiss)). Лектины выявляли методом гемагглютинации с использованием эритроцитов кролика. Фракционирование диффузатов проводили методом аффинной хроматографии на агарозе с иммобилизованным α -метил-маннопиранозидом, с использованием бетч-методики и колоночного варианта хроматографии, элюцию проводили α -метил-маннопиранозидом (0.5 М).

С использованием теста гемагглютинации в диффузатах была выявлена лектиновая активность. Установлено также, что диффузаты стимулируют прорастание пыльцевых зерен и вызывают гиперполяризацию плазматической мембраны вегетативной клетки. После удаления из их состава лектинов, специфичных к Глю/Ман, способность диффузатов влиять на мембранный потенциал существенно снижалась. Эти данные подтвердили наличие в составе

диффузатов лектинов, сходных с Кон А по специфичности и действию на пыльцевые зерна. Фракционирование диффузатов методом аффинной хроматографии позволило выделить лектин-содержащую фракцию, которая по данным электрофореза включала три белка: 58, 69 и 74 кД.

Выделенные лектины стимулировали прорастание пыльцевых зерен. Этот эффект, как и в случае с Кон А, блокировал α -метилманнопиранозид (0.3 М), что свидетельствует о специфическом взаимодействии лектинов с соответствующими углеводными детерминантами.

Можно предположить, что лектины оболочки пыльцевого зерна взаимодействуют с гликопротеинами плазматической мембраны вегетативной клетки – это могут быть рецепторные киназы или транспортные белки – и тем самым ускоряют запуск прорастания.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 05-04-49370).

ДИМЕТИЛСУЛЬФОКСИД ИЗБИРАТЕЛЬНО УСИЛИВАЕТ ЭФФЕКТ ЦИТОКИНИНОВ *IN PLANTA*

Dimethyl sulfoxide selectively potentiates the cytokinin effect in planta

С.Н. Ломин, В.В. Куликова, Г.М. Карпова, М. Рифлер, Г.А. Романов
Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, г. Москва
E-mail: gar@ippras.ru

Цитокинины, растительные гормоны, управляют многими процессами жизнедеятельности растений. В последние годы активно изучается молекулярный механизм действия этого фитогормона на растительные клетки. Для выяснения механизма передачи гормонального сигнала часто используют фармакологический анализ. При постановке количественных фармакологических экспериментов важно корректно оценивать эффект действия веществ на биологический объект, поэтому необходимо контролировать то, как действуют на изучаемый процесс сопутствующие вещества, в частности, применяемые растворители. Диметилсульфоксид (ДМСО, $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$) – один из известных растворителей, широко используемых в биохимии и физиологии растений. В наших экспериментах мы проверяли влияние различных концентраций ДМСО на индукцию цитокининами *in planta* трансгенной конструкции $pARR5::GUS$, где репортерный ген *GUS* экспрессируется под контролем промотора гена первичного ответа на цитокинин *ARR5*. Опыты проводили на 3-4-дневных проростках $pARR5::GUS$ -трансгенного арабидопсиса. ДМСО усиливал эффект цитокинина на экспрессию репортерного

гена *GUS*: при 2.2 % растворителя – в два, при 4.2 % – в 2.5, при 7 % – в 2.8 раза. Для выяснения возможных причин такого эффекта мы использовали бактерии, экспрессирующие гены индивидуальных рецепторов цитокининов арабидопсиса (*АНК3*, *CRE1/АНК4*), и проверили влияние ДМСО на связывание меченого триптом *транс*-зеатина с рецепторами разработанным ранее методом (Romanov et al., 2005). Оказалось, что ДМСО не только не увеличивает сродство цитокина к рецептору, а, наоборот, снижает связывание при концентрациях 5-10 %. ДМСО обладает некоторым структурным сходством с молекулой мочевины, фенильные производные которой (тидiazурон и др.) являются мощными цитокининами (Spichal et al., 2004; Romanov et al., 2006; Ломин, Романов, 2007). Однако маловероятно, что ДМСО сам является цитокинином, так как его молекула гораздо меньше по размерам, чем молекулы настоящих цитокининов, и сам по себе он обычно не вызывал активации гена первичного ответа в проростках. Эффект ДМСО является температурно-чувствительным и проявляется лишь в диапазоне температур 18-30 °С, а при более высоких температурах ДМСО, наоборот, ингибирует действие цитокининов. ДМСО по-разному действует на индукцию *pARR5::GUS* гена в различных органах 17-дневного арабидопсиса: в листьях ДМСО существенно усиливал действие цитокининов (при 2 % – в 2.5, при 6 % – в 5.3 раза), а в корнях данного эффекта не наблюдалось. Недавно было установлено (Nishimura et al., 2004, Higuchi et al., 2004), что у арабидопсиса рецепторы цитокининов по-разному экспрессируются по органам растения: *CRE1/АНК4* – преимущественно в корнях, *АНК3* – активнее всего в листьях, *АНК2* – во всем растении. Для исследования влияния ДМСО на экспрессию гена первичного ответа индивидуальными рецепторами цитокининов мы использовали двойные мутанты по рецепторам цитокининов (в таком растении работает лишь один из трех рецепторов, см. Riefler et al., 2005). Для удобства регистрации ответа на цитокинин в двойные мутанты была также встроена конструкция *pARR5::GUS*. ДМСО резко усиливал эффект цитокина в мутанте *ahk4/ahk2*, экспрессирующем ген *АНК3* (при 2.2 % – в 2.5, при 4.2 % – в 5 раз), значительно усиливал эффект в мутанте *ahk4/ahk3* (экспрессия *АНК2*) (4.2 % – два раза), но практически не оказывал влияния на эффект в мутанте *ahk2/ahk3* (экспрессия *CRE1/АНК4*). Таким образом, эффект ДМСО избирателен и, возможно, связан с особенностями тканевой и/или внутриклеточной локализации рецепторов цитокининов.

Работа поддержана грантом РФФИ 07-04-00331.

ЦИТОКИНИНЫ – ПРОИЗВОДНЫЕ АДЕНИНА ИЛИ ФЕНИЛМОЧЕВИНЫ – СВЯЗЫВАЮТСЯ С ОДНИМ И ТЕМ ЖЕ САЙТОМ РЕЦЕПТОРНОГО БЕЛКА**Cytokinins, adenine or phenylurea derivatives,
bind to the same site of receptor protein**

С.Н. Ломин

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, г. Москва
E-mail: gar@ippras.ru

Цитокинины – одни из классических гормонов растений, наряду с ауксинами, гиббереллинами, абсцизовой кислотой и этиленом. Они регулируют многие процессы жизнедеятельности растений на протяжении всей его жизни, управляя ростом и развитием растения. Вещества, обладающие цитокининовой активностью, можно подразделить на два химических класса: производные фенилмочевины (например, тидиазурон) и производные аденина (например, *транс*-зеатин). Природными цитокининами являются адениновые цитокинины, однако производные фенилмочевины также способны вызывать цитокининовые эффекты (Imamura et al., 1980). В связи с их химическим несходством было интересно узнать, взаимодействуют ли эти производные с цитокининовым рецептором и каким образом. Из литературы известно, что рецепторы цитокининов арабидопсиса и кукурузы при клонировании в *E. coli*. способны взаимодействовать с бактериальными системами передачи сигнала и индуцируют экспрессию репортерного гена (*cps::LacZ*) в присутствии цитокинина (Ueguchi et al., 2001; Yonekura-Sakakibara et al., 2004; Spichal et al., 2004). Тидиазурон также способен активировать экспрессию репортерного гена, причем интенсивность активации сравнима с эффектом *транс*-зеатина (Spichal et al., 2004). Следовательно, тидиазурон взаимодействует с цитокининовым рецептором. Используя трансгенные бактерии, несущие индивидуальные гены рецепторов арабидопсиса *АНК3* или *CRE1/АНК4*, в опытах по связыванию мы обнаружили, что меченый тидиазурон способен вытеснять меченый тритием *транс*-зеатин (Romanov et al., 2006). Однако оставалась вероятность того, что тидиазурон и *транс*-зеатин связываются с разными сайтами на рецепторе. Для выяснения механизма связывания тидиазурана проводили эксперимент, в котором получали несколько концентрационных зависимостей связывания меченого *транс*-зеатина в присутствии различных концентраций тидиазурана. Результаты обрабатывали в двойных обратных координатах (Варфоломеев, Гуревич, 1999). В результате получили семейство прямых, которые пересекались на оси ординат, как в случае *АНК3*, так и в случае *CRE1/*

ходной предковой группы высших растений *Rhynia major* выражена геодиатропная часть тела. Переход из водной среды в наземные условия существования мог произойти только при выработке различных приспособлений, в том числе и морфофизиологических дифференциаций тела по ориентации роста в окружающей среде.

Изучение риниофитов позволяет выявить эволюционную последовательность происхождения органов растений; первым сформировался стебель. Следовательно, у высших растений геодиатропность также является эволюционно древним свойством органа, который сформировался на основе адаптивной необходимости. Среди травянистых представителей хвощевидных, как вымерших, так и существующих, четко выражено подземное горизонтальное корневище.

В биоморфологии для характеристики реакции побеговой системы используют термин геофиллия, что отражает тягу побега вращаться в почву. Мы полагаем, что явление геофиллии также означает физиологический специфический механизм тропизма, благодаря которому реализуются рост и вращение части тела в почву. На основе анализа отделов высших растений можно прийти к выводу, что у покрытосеменных в процессе приспособительной эволюции жизненных форм геофиллия побега (положительный геотропизм), а в последующем гипогеофиллия (уход в почву) и гипогеоагравитропность (горизонтальный рост под поверхностью почвы) были воспроизведены из исторического прошлого как автономные (от ортотропного надземного побега) механизмы. Независимо от условий произрастания надземного побега автономность физиологического механизма гипогеоагравитропности обеспечивала сохранение под поверхностью почвы очагов меристемы побега (фонда вегетативного воспроизведения и репродукции).

Для подземного существования побега необходимы ассимиляты. При гипогеоагравитропном росте и симподиальном ветвлении побег непрерывно образует фотофильные надземные симподии (побеги). Основными функциями этих надземных побегов являются синтез ассимилятов и генеративная репродукция (при факторной возможности).

Итак, можно полагать, что в процессе эволюции травянистого многолетника, как жизненной формы, в осевой структуре сформировались две качественно различные по тропизмам апикальные зоны: 1) апикальная зона ортотропного надземного побега с отрицательным гравитропизмом и положительным фототропизмом; 2) апикальная зона диагравитропного подземного побега с отрицательным фототропизмом и диагравитропизмом – ростом органа, не реагирующего на одностороннее действие силы гравитации Земли.

**НАЧАЛО ФОРМИРОВАНИЯ ПОДЗЕМНЫХ ПОБЕГОВ
ВЕГЕТАТИВНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ
В ОНТОГЕНЕЗЕ ТРАВЯНИСТЫХ МНОГОЛЕТНИКОВ**

**The beginning of a vegetative propagation underground shoots formation
in perennial herbaceous plants ontogenesis**

А.М. Маркаров, Е.Л. Свердлова

Коми государственный педагогический институт, г. Сыктывкар

Подземные побеги являются специализированными органами вегетативного размножения. В какой период онтогенеза закладываются зачатки этих морфоструктур? Вопрос является важным не только в аспекте морфофизиологии. Конкуренция между растениями возникает при совпадении у них в пространстве и во времени процессов использования благоприятных режимов факторов внешней среды. Корневища и столоны, как специализированные органы вегетативного размножения, имеют большое значение в конкурентном захвате территории и сохранении вида в ценозе. Следовательно, определение начала формирования в онтогенезе растений зачатков корневищ и столонов покажет стартовые морфофизиологические особенности травянистого многолетника.

В литературе малочисленны сведения о времени образования подземных побегов вегетативного размножения (Маркаров, Свердлова, 1977). Наблюдения за латеральными почками на главном побеге показывают, что при формировании растений (например, *Solanum demissum*, *S. cardenasii*, *S. acaule*, *Helianthus tuberosus*) почки столонов и корневищ начинают закладываться в пазухах семядольных листьев. При формировании растений из вегетативных органов (корневищ или клубней) первые почки подземных побегов закладываются на трех-шести узлах нижней части ортотропного побега. Эти наблюдения проведены, помимо столонообразующих, на растениях, формирующих корневища (например, *Achillea millefolium*, *Phleum pratense*, *Phalaris arundinacea*, *Agropirum repens* и др.).

Наблюдения за формированием конуса нарастания ортотропного побега показали, что почки, из которых образуются специализированные побеги (корневища, столоны), закладываются на втором этапе органогенеза в пазухах семядольных и зачаточных листьев. Почки, образующие надземные боковые побеги у главного побега, закладываются после почек корневищ, столонов. Из этого следует, что у большой группы травянистых многолетников специализированное вегетативное размножение определяется в начале онтогенеза растения. Это, вероятно, один из механизмов надежности вегетативного способа размножения и быстрого закрепления

травянистого многолетника в ценозе. На образование специализированных подземных побегов не влияют плоидность вида и продолжительность фотопериода. Однако вследствие изменения гормонального статуса растения наблюдаются количественные изменения числа специализированных подземных побегов.

При сопоставлении роста и развития аборигенов низких географических широт *S. demissum*, *S. acaule*, *Ullucus tuberosus* с растениями – аборигенами умеренных широт (*H. rigidus*, *H. macrophyllus*, *H. subcanescens*) проявляются интересные особенности. На длинном дне у перечисленных видов увеличивается число столонов, а на коротком – сокращается. Вместе с тем, на длинном дне наблюдается полное генеративное развитие у *Ullucus tuberosus*, *S. demissum*, *S. acaule*. Растения *H. rigidus*, *H. macrophyllus*, *H. subcanescens* не цветут и остаются в вегетативном состоянии. Из этого следует, что отсутствуют корректирующие связи между морфофизиологическими процессами в генеративной и специализированной вегетативной сферах.

Образование специализированных подземных побегов у представителей различных семейств в начале онтогенеза (на втором этапе органогенеза) свидетельствует о константности этого периода. Можно полагать, что это общий морфофизиологический признак многолетних травянистых растений.

Анализ литературы показывает, что второй этап органогенеза имеет выраженные физиолого-биохимические особенности, которые отличают этот период от других этапов в онтогенезе растений. Обнаружено, что на втором этапе органогенеза в конусе нарастания главного побега резко возрастают соотношения белки/гетероауксин, нуклеиновые кислоты/гетероауксин. Одновременно на этом этапе возрастает устойчивость растения к радиации и гербицидам по сравнению с последующими этапами.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ МОРФОГЕНЕЗА КОРНЕВИЩ МНОГОЛЕТНИХ ЗЛАКОВ (НА ПРИМЕРЕ *PHALAROIDES ARUNDINACEA*)

Physiological mechanisms of morphogenesis regulation in perennial cereals rhizomes (by the example of *Phalaroides arundinacea*)

С.П. Маслова

Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, г. Сыктывкар

E-mail: maslova@ib.komisc.ru

Корневище выполняет важнейшую роль в онтогенезе многолетних растений, обеспечивая их вегетативное размножение и перезимовку. Наиболее важным этапом развития корневищ является осенний период, когда происходят важнейшие морфофизиологичес-

кие изменения и метаболические превращения, обеспечивающие дальнейшее существование растения. Целью наших исследований было изучение сезонных изменений анатомо-морфологической структуры и физиологической активности корневищ канареечника тростниковидного (*Phalaroides arundinacea*).

Показано, что усиление роста и пик накопления биомассы корневищ многолетнего злака находятся в противофазе с надземными побегами. К концу вегетационного периода величина соотношения биомасс приближается к единице, что свидетельствует о распределении значительного количества ассимилированного углерода в подземную часть растений. С наступлением осени наблюдаются существенные изменения в анатомической структуре корневища. Сокращается площадь сечения поперечного среза корневища на 38 %, уменьшается доля центрального цилиндра и увеличивается парциальный объем коровой паренхимы. Это свидетельствует об усилении запасающей функции и снижении активности транспортных процессов корневищ в связи с подготовкой растений к зимовке. В клетках эндодермы отмечены U-образные утолщения оболочек, которые имели четко выраженные прослойки суберина и полисахаридов. Обнаружено существенное уменьшение толщины и числа клеточных оболочек эндодермы корневища. Возможно, что при этом облегчается поступление в клетки корневища растворимых сахаров и/или вещества клеточных стенок эндодермы сами могут превращаться в сахара, необходимые для повышения устойчивости корневищ. С наступлением заморозков показано увеличение более чем в шесть раз в тканях корневища уровня олигосахаридов (29.4 мг/г сухой массы), которые считаются криопротекторами, повышают устойчивость растений к низким температурам. В годичном цикле развития корневища меняется соотношение простых и сложных углеводов, а их сумма остается постоянной. Изменение состава растворимых сахаров, возможно, участвует в регуляции процессов роста, развития и адаптации корневища, контролирует его морфогенетический цикл.

Результаты исследований свидетельствуют о выраженной гормональной регуляции роста и устойчивости корневищ. Величина соотношения Цит/АБК низкая в первую половину вегетации, резко увеличивалась при завершении сезона. Содержание Цит поздно осенью составляло 955 мкг/г сухой массы, что в 34 раза превышало таковое в активную фазу роста корневищ (июль). Высокая концентрация Цит в осенний период обусловлена, по-видимому, их защитной ролью при заложении на корневищах почек будущего года. Цит активизируют синтез стрессовых белков, что приводит к перестройке метаболизма и повышению устойчивости к неблагоприятным факторам среды. Возможно, что Цит, депонированные в корневищах, используются при отрастании многолетних злаков

ранней весной.

Данные микрокалориметрических исследований свидетельствуют о том, что корневища сохраняют способность к росту при низких положительных температурах поздней осенью. Кривая скорости роста корневищ, рассчитанная по показателям выделения тепла и CO_2 , отражает снижение эффективности использования углерода с увеличением температуры, особенно осенью. Положительный рост осенью наблюдали в диапазоне температур от 2 до 15 °С. После 15 °С величина относительной скорости роста, характеризующая активность запасания энергии в биомассе, уменьшалась до отрицательных значений. В целом, анализ температурных кривых летнего и осеннего периода свидетельствует о том, что низкие положительные температуры (2-5 °С) более благоприятны для роста корневищ, чем высокие положительные температуры (30-35 °С). Это отражает адаптивную стратегию корневищ, способных к зимовке и раннему отрастанию весной.

Таким образом, выявлены существенные изменения в структуре и функциональной активности корневищ в осенний период, свидетельствующие об активных морфогенетических преобразованиях, процессах «скрытого роста», связанных с закладкой почек. Низкотемпературная адаптация морфогенетических процессов осенью обусловлена сдвигом оптимума для роста корневищ в сторону низких положительных температур, изменением анатомической структуры, соотношений углеводов и фитогормонов. Обсуждается роль гормонального и углеводного метаболизма в регуляции морфогенетического цикла корневища.

ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ГИНЗЕНОЗИДОВ В ЛИСТЬЯХ ПЛАНТАЦИОННОГО ЖЕНЬШЕНЯ *PANAX GINSENG* C.A. MEYER

Age changings of leaf ginsenosides content in cultivated *Panax ginseng* C.A. Meyer

В.В. Маханьков¹, О.Л. Бурундукова², Л.С. Лауве², Т.И. Музарок²,
Н.И. Уварова¹

¹ Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН,
г. Владивосток

² Биолого-почвенный институт ДВО РАН, г. Владивосток
E-mail: burundukova@ibss.dvo.ru

Женьшень (*Panax ginseng* C.A. Meyer, сем. Araliaceae), знаменитое лекарственное растение Дальнего Востока, корни которого используются в традиционной медицине Китая более 2000 лет. В биологической активности женьшеня важную роль приписывают

тритерпеновым гликозидам (гинзенозидам). В лечебной практике листья женьшеня не используются так широко, как корни. В экспериментах на животных было показано, что экстракт листьев женьшеня обладает защитным действием на клетки миокарда, а сумма гинзенозидов, выделенных из листьев *P. ginseng* С.А. Мейер, может действовать как антидиуретик. Исследования настойки листьев женьшеня (*P. ginseng* С.А. Мейер) на крысах и мышах показали перспективность использования подобных препаратов в качестве адаптогенных и антистрессорных средств. Роль гинзенозидов в жизнедеятельности самого женьшеня остается мало изученной.

Проведены исследования содержания гинзенозидов листьев растений различного физиологического возраста (от ювенильного до зрелого генеративного), выращенных из семян дикорастущего женьшеня Синегорской популяции в условиях коллекционного женьшенария БПИ ДВО РАН. Анализ методом ВЭЖХ водно-спиртовых экстрактов, полученных из листьев плантационного женьшеня, показал, что листья содержат гинзенозиды-Rb₁, -Rb₂, -Rc, -Rd, -F₂, -F₁, -Rg₁, -Re, -Rf и нотогинзенозид-R2. При этом в ходе роста и развития женьшеня происходят существенные изменения качественного и количественного составов гинзенозидов. Листья ювенильных растений содержат наибольшее количество гинзенозидов (23.50 мг/г сух. листа), среди которых преобладают гинзенозиды группы протопанаксадиола, в особенности F2 (9.21 мг/г). Далее с возрастом происходит снижение содержания гинзенозидов по сравнению с первым годом развития. Минимальное содержание гинзенозидов наблюдается на третий год развития при достижении растениями виргинильного возрастного состояния (5.42 мг/г). Аналогичную динамику возрастных изменений выявил анализ гербаризированных листьев, собранных в 2001 г.

Цитогенетические исследования, выполненные на образцах листьев ювенильных и генеративных растений, показали, что различия в содержании гинзенозида не связаны с полиплоидией или редукцией числа хромосом.

Вероятно, возрастная динамика содержания гинзенозидов сопутствует изменению адаптивной стратегии в онтогенезе растений женьшеня (усиление виалентных и ослабление патиентных свойств в рамках патиентного типа экологической стратегии). В первый год роста женьшень наиболее тенелюбив и легко поражается избыточным освещением, по мере дальнейшего роста и развития становится более выносливым к повышению интенсивности света и хорошо развивается при 50-60 % от полного солнечного освещения. Очевидно, гинзенозиды не только защищают женьшень от патогенов, но и играют определенную роль в адаптации к абиотическим факторам среды. Снижение содержания гинзенозидов в листьях

женшения с возрастом сопутствует ослаблению их тенелюбия и усилению светоустойчивости.

**РОЛЬ АУКСИНА, КАЛЬЦИЯ И КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ
В ПРОЦЕССАХ МОРФОГЕНЕТИЧЕСКОГО ПАТТЕРНИРОВАНИЯ
ТКАНЕЙ И ОРГАНОВ РАСТИТЕЛЬНОГО ОРГАНИЗМА**

**Role of auxin, calcium and the cell wall in morphogenetic patterning
of plant tissues and organs**

**С.С. Медведев, А.Ю. Батов, Е.И. Шарова, И.В. Маркова, Г.А. Пожванов,
Т.Е. Билова, О.В. Аврутина, М.В. Суслов**
Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург
E-mail: ssmedvedev@mail.ru

Важнейшими элементами регуляции морфогенеза являются *физиологическая поляризация* клеток и тканей, а также *дифференциальная активность генов*, экспрессия которых приурочена к определенным этапам онтогенеза растения. Основой дифференциальной активности генома являются градиенты фитогормонов, возникающие при поляризации клеток и тканей.

Благодаря осевой (полярной) организации своего тела, растительные организмы способны ориентироваться по отношению к вектору силы тяжести и другим векторным воздействиям. Вследствие аксиальной организации в процессе роста не происходит образования бесформенной массы живого вещества. Вдоль этой оси и симметрично по отношению к ней происходит закладка ветвей, листьев и боковых корней.

При формировании *физиологической* оси полярности в растениях наиболее существенное значение имеют процесс активного полярного транспорта фитогормона ауксина, градиенты биоэлектрических потенциалов, градиенты и полярные потоки ионов кальция, цитоскелет и клеточная стенка.

Полярные потоки ауксина в растительных тканях формируются двумя типами мембранных переносчиков, один из которых – AUX1 – обеспечивает вход ауксина в клетку, а другие – PIN (*pin-formed*) – выход. Полярность транспорта гормона обеспечивается за счет асимметрии распределения этих переносчиков в плазматической мембране.

Градиенты концентрации ИУК имеют решающее значение в процессах поляризации, роста и дифференцировки клеток и тка-

ней. Процесс активного транспорта ИУК, создавая позиционную информацию, действует как мощнейший морфогенетический фактор, контролируя формирование сосудистой системы и боковых корней, эмбриогенез и становление паттерна сосудов листа, цветение и тропизмы, формирование побегов и почек, филлотаксис и опадение листьев.

На уровне клетки полярность проявляется в различии скорости роста вдоль разных осей, а на уровне растущего побега – в том, что скорость его роста постепенно снижается в базипетальном направлении. Предполагается, что полярность роста является отражением различий в растяжимости клеточных стенок. У удлиняющихся клеток микрофибриллы целлюлозы ориентированы поперечно длинной оси клетки. Это делает клеточные стенки более растяжимыми в продольном направлении, чем в поперечном. Направление отложения микрофибрилл повторяет ориентацию микротрубочек кортикального слоя цитоплазмы, которая, в свою очередь, определяется Ca^{2+} -зависимыми процессами. Снижение растяжимости стенок у побегов в базипетальном направлении может быть основано на постепенном снижении скорости секреции полимеров клеточных стенок, а также на усилении окислительных процессов, приводящих к образованию поперечных сшивок между полимерами стенки. Эти окислительные процессы зависят от активности пероксидаз и концентрации перекиси водорода в апопласте.

Цитоплазматический кальций является вездесущим сигнальным ионом, контролирующим тургорное давление, секрецию, рост растяжением и процессы развития. Он является важным вторичным мессенджером для многих внешних и эндогенных сигналов. В тканях осевых органов растений выявлены активные полярные потоки кальция, не связанные с транспирацией и ксилемным транспортом.

В основе работы лежит разработанная авторами гипотеза о том, что первичным элементом поляризации и осевой симметрии у растительных организмов являются полярные потоки ионов Ca^{2+} , сопряженные с процессом полярного транспорта фитогормона ауксина. Градиенты концентрации ИУК, совместно с другими гормонами, контролируют направление дифференцировки клеток в апикальных и латеральных меристемах. На завершающем этапе морфогенеза цитоскелет и элементы клеточных стенок осуществляют окончательное формирование тканей и придают специфическую форму клеткам, тканям и органам растения.

В докладе на основании собственных и литературных данных обсуждаются принципы и механизмы взаимодействия фитогормонов, ионов Ca^{2+} , клеточной стенки и цитоскелета в процессах морфогенетического паттернирования (разметки) растительных орга-

нов и тканей, формирующихся в ходе онтогенеза.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 05-04-49619.

АНАЛИЗ РАБОТЫ ПО СВЕТАМ В КОМПАНИИ

Морфология и физиология растений в условиях светового дефицита

А.С. Минин, Н.Е. Минин, Н.С. Зельнер, Н.Н. Полежаева, О.В. Савва
Томский государственный педагогический университет, г. Томск
E-mail: minich@tdpu.edu.ru

Известно, что свет является одним из основных факторов, влияющих на развитие растений. В условиях светового дефицита растения проявляют ряд адаптивных реакций, направленных на увеличение площади поверхности листьев, изменение соотношения хлорофиллов и каротиноидов, а также на изменение соотношения длины и толщины стебля. Эти изменения направлены на то, чтобы растение могло уловить как можно больше света. В настоящее время активно изучаются механизмы формирования световых сигналов и их влияние на физиологические процессы в растениях. Одним из основных сигналов является фитохромин, который регулирует многие аспекты роста и развития растений. В частности, фитохромин участвует в регуляции длины стебля, цветения и других процессов. В условиях светового дефицита фитохромин активируется, что приводит к увеличению длины стебля и задержке цветения. Эти изменения направлены на то, чтобы растение могло достичь более высокого уровня освещенности. Кроме того, фитохромин участвует в регуляции соотношения хлорофиллов и каротиноидов. В условиях светового дефицита увеличивается содержание хлорофиллов и уменьшается содержание каротиноидов. Это приводит к увеличению поглощения света и снижению риска повреждения тканей. Таким образом, фитохромин играет важную роль в адаптации растений к условиям светового дефицита. В настоящее время активно изучаются механизмы формирования световых сигналов и их влияние на физиологические процессы в растениях. Одним из основных сигналов является фитохромин, который регулирует многие аспекты роста и развития растений. В частности, фитохромин участвует в регуляции длины стебля, цветения и других процессов. В условиях светового дефицита фитохромин активируется, что приводит к увеличению длины стебля и задержке цветения. Эти изменения направлены на то, чтобы растение могло достичь более высокого уровня освещенности. Кроме того, фитохромин участвует в регуляции соотношения хлорофиллов и каротиноидов. В условиях светового дефицита увеличивается содержание хлорофиллов и уменьшается содержание каротиноидов. Это приводит к увеличению поглощения света и снижению риска повреждения тканей. Таким образом, фитохромин играет важную роль в адаптации растений к условиям светового дефицита.

привело к увеличению их семенной продуктивности в 1.92 и 2.65 раз соответственно. Для растений *hy3*, выращенных на комбинированном свете, по сравнению с растениями, выращенными на БС, изменений в количестве репродуктивных органов, числа семян в стручке и семенной не обнаружили.

Изменения в динамике развития выращенных на комбинированном свете растений сопряжены с изменениями динамики уровня фотосинтетических пигментов. Для растений всех линий, выращенных на БС, отметили максимум накопления фотосинтетических пигментов через две недели вегетации, а у выращенных на комбинированном свете – через три.

Мутант *hy4* имеет ослабленный морфогенетический ответ на синюю и УФ-А область спектра из-за нарушения у него синтеза CRY1. Однако ответные ростовые реакции на воздействие УФ-А у него схожи с ответными реакциями растений *Leg* и протекают более интенсивно по сравнению с *hy3*, у которых не нарушены морфогенетические ответы на УФ-А и синюю область спектра. Это позволяет предположить, что ведущая роль в регуляции роста и развития растений *Arabidopsis thaliana* на комбинированном свете, состоящем из БС и УФ-А излучения, принадлежит не CRY1, а другой группе фоторецепторов УФ-А излучения.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГИДРОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ H^+ -АТФазы ПЛАЗМАЛЕММЫ КЛЕТОК СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЫ ТАБАКА VBI-0

Determination of hydrolytic plasma membrane H^+ -ATPase activity of tobacco suspension cell culture VBI-0

Ю.В. Михайлова, А.А. Кирпичникова, Д.А. Романюк, М.Ф. Шишова
Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург
E-mail: mjulka@yandex.ru, nastin1972@mail.ru

H^+ -АТФаза плазмалеммы участвует в широком спектре физиологических реакций, в том числе в уникальном явлении, характерном для растительных клеток – росте растяжением. Механизм этого процесса заключается в активации фитогормоном ауксином протонной помпы, функцию которой выполняет H^+ -АТФаза плазмалеммы. Согласно общепринятой «теории кислого роста», экскреция протонов ферментом обуславливает резкое закисление апопласта, что активирует ряд гидролитических ферментов и приводит к разрыхлению клеточной стенки. Последнее создает необходимые условия для осуществления ауксининдуцируемого процесса роста растяжением. Следует предположить, что изменение интен-

сивности работы H^+ -АТФаза плазмалеммы в ходе онтогенеза клетки может играть ключевую роль в регуляции интенсивности данного типа роста.

Одной из модельных систем для изучения онтогенеза растительной клетки является суспензионная культура клеток *Nicotiana tabacum* L. линии VBI-0. Особенности культуры табака VBI-0 является сохранение в ее клеточном цикле способности клеток к росту растяжением, а также ярко выраженное временное разделение фаз клеточного деления и растяжения. При пересадке клеток в новую среду с ауксином после двухдневной лаг-фазы происходит инициация клеточного деления, сопровождающаяся фрагментацией центральной вакуоли. С третьего по двенадцатый дни протекает фаза экспотенциального роста (деления), число клеток возрастает почти в 28 раз, образуются цепочки из 4-8 клеток. Далее наступает фаза стационарного роста (клетки табака растут в длину растяжением), которая продолжается до 18 дня культивации.

Цель нашего исследования заключалась в анализе изменений гидролитической активности H^+ -АТФазы плазмалеммы в ходе онтогенеза растительной клетки. Была проанализирована гидролитическая активность H^+ -АТФазы плазмалеммы клеток табака VBI-0, полученной из суспензионной культуры разного возраста (одно-, двух- и трехнедельной).

В работе везикулярные препараты плазмалеммы получали методом дифференциального центрифугирования с последующей очисткой в водной двухфазной полимерной системе декстран/полиэтиленгликоль. Гидролитическую активность АТФазы определяли в присутствии brj 58 спектрофотометрически по количеству неорганического фосфата, образованного в ходе ферментативной реакции.

Проведенный ингибиторный анализ показал отсутствие примесей тонопласта и фосфатаз в полученных везикулярных препаратах. Внесение в инкубационную среду ортованадата натрия и ДЦКД (ингибиторов H^+ -АТФазы плазмалеммы) привело к снижению активности фермента всех трех исследованных возрастов. Можно заключить, что полученная фракция обогащена везикулами плазмалеммы, и регистрируемая гидролитическая активность является результатом работы H^+ -АТФазы плазмалеммы.

Сравнительный анализ ферментативной активности H^+ -АТФазы плазмалеммы в ходе онтогенеза клетки выявил, что максимального значения она достигала у клеток двухнедельной культуры, находящихся в стадии интенсивного роста растяжением (28 мкМ Фн/мг белка/час). У клеток одно- и трехнедельной культуры, т.е. еще не приступивших или уже вышедших из стадии растяжения, интенсивность гидролиза АТФ фракцией плазмалеммы была близкой по значению (17.27 и 17.23 мкМ Фн/мг белка/час).

Выявленные различия активности могут быть связаны с изменением количества H^+ -АТФазы в составе плазмалеммы и/или с модификацией свойств фермента, например, за счет соотношения изоформ, посттрансляционной регуляции и т.д. В связи с этим было проанализировано такое свойство, как оптимум рН фермента для фракций плазмалеммы, полученных из клеток суспензионной культуры VBI-0 разного возраста. Сдвиг оптимум рН может служить косвенным указанием на изменение спектра экспрессируемых изоформ фермента. Проведенный анализ показал, что оптимумы рН H^+ -АТФазы плазмалеммы у клеток всех трех возрастов находятся в области рН, равном 6.0. Закисление (рН = 5.5) или защелачивание (рН = 7.2) среды инкубации приводит к значительному 25-30 %-ному понижению активности фермента. Следовательно, можно предположить, что в ходе развития суспензионной культуры экспрессируется лишь одна изоформа H^+ -АТФазы.

Полученные результаты свидетельствуют, что в процессе развития происходит значительное изменение активности основного потенциалгенерирующего фермента плазмалеммы. Максимальная интенсивность гидролиза АТФ характеризовала этап роста растяжением, что согласуется со значимостью протонной помпы в данном физиологическом процессе.

**ЗАВИСИМОСТЬ ОРГАНОГЕНЕЗА ГИБРИДОВ ЛИЛИЙ
ОТ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ ОБРАБОТКИ РЕГУЛЯТОРАМИ РОСТА
НА ЭТАПЕ ВВЕДЕНИЯ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO***

**Relation of lily hybrids organogenesis from pretreatment
by growth regulators on the stage of introducing in culture *in vitro***

Е.В. Мокшин, А.С. Лукаткин

Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, г. Саранск
E-mail: aslukatkin@yandex.ru

Декоративные растения, относящиеся к семейству *Liliaceae*, широко применяются для создания ранневесенних и поздневесенних ландшафтов, клумб, для выращивания в открытом грунте, а также выгонки в зимнее время. Однако до сих пор качество и количество посадочного материала не удовлетворяют потребности озеленительных организаций и населения. Решение этих проблем возможно благодаря использованию технологий клонального микроразмножения.

В настоящее время не существует универсальной технологии культивирования *in vitro*, которая была бы пригодной для всех растений. Для каждого вида и даже сорта требуется разработка

сугубо специфических методических приемов, обеспечивающих формирование растений-регенерантов в культуре тканей. Прежде всего это касается выяснения особенностей действия отдельных типов фитогормонов и их соотношений на процесс морфогенеза в культуре тканей. В связи с этим довольно интересным представляется изучение на этапе введения в культуру *in vitro* регенерационной активности эксплантов, обусловленной предобработкой их регуляторами роста. Очевидно, у растительных организмов в процессе эволюции постепенно утратилась независимость одних тканей и органов от других. Вероятно поэтому изолированные экспланты в условиях нарушенных коррелятивных связей требуют присутствия экзогенных регуляторов роста для образования новых органов.

Объектом исследования служили луковицы различающихся по происхождению гибридов лилий: Самур (*Longiflorum-Asiatic hybrids*), Сайдья (*Asiatic hybrid*), Барбареско (*Oriental hybrid*).

Предстерилизационную обработку проводили следующими регуляторами роста: эпином (1 мкг/л, 0.1, 10 мг/л) и 6-бензиламинопурином (6-БАП) (0.1, 0.5, 1.0 мг/л) с варьированием экспозиции (15 мин. и 1 ч). В качестве контроля использовали не обработанные регуляторами роста экспланты. Для получения хорошо растущей стерильной культуры луковицы делили на чешуйки, которые тщательно отмывали и поверхностно стерилизовали последовательно 70 %-ным этанолом (3 мин.) и 50 %-ным Доместосом (25 мин.). Экспланты (сегменты чешуек размером 1.0×0.5 см) помещали на питательную среду (ПС). В качестве основной ПС использовали агаризованную (0.7 %) среду с минеральной основой по Мурасиге и Скугу (рН 5.8-5.9), включающую витамины тиамин и пиридоксин (по 1 мг/л), аскорбиновую кислоту (15 мг/л), сахарозу (40 г/л), регуляторы роста – индолилуксусную кислоту (ИУК) и 6-БАП (по 1.5 мг/л). Выращивание осуществляли при температуре 18-23 °С и круглосуточном освещении белыми люминесцентными лампами с интенсивностью света 3 клк.

Исследования показали, что предварительная обработка чешуй регуляторами роста значительно влияла как на количество образовавшихся микролуковиц, так и их размеры. По количеству сформировавшихся микролуковичек наиболее эффективной для большинства исследуемых сортов оказалась предстерилизационная обработка эпином в концентрации 0.1 мг/л при экспозиции 1 ч – в среднем 3.6 шт./эксплант, тогда как в контроле – 2.3 шт./эксплант. Снижение времени обработки до 15 мин. (при всех концентрациях эпина) для большинства сортов оказалось менее эффективным (в среднем 2.0 шт./эксплант). Во всех исследованных вариантах наибольшей регенерационной активностью отличался сорт Са-

мур (3-4 шт./эксплант в опытном варианте и 2-3 шт./эксплант в контроле), а у сорта Барбареско был самый низкий показатель – 1.0 шт./эксплант, как в опыте, так и контроле. Предстерилизационная обработка эксплантов 6-БАП оказалась менее эффективной для всех сортов (в среднем 2.3 микролуковички/эксплант).

Предобработка эпином и 6-БАП положительно повлияла и на размер формирующихся микролуковичек. Установили, что для получения крупных луковиц целесообразнее использовать 6-БАП во всех концентрациях при длительности экспозиции 15 мин. В данном варианте у сортов Самур и Сайдья формировались луковички максимального размера (0.6 и 0.5 см соответственно). В контроле этот показатель в среднем составил 0.4 см. Использование для предстерилизационной обработки эпина оказалось менее эффективно.

Таким образом, предстерилизационная обработка эксплантов данных гибридов лилий эпином значительно улучшает процессы морфогенеза на этапе введения в культуру *in vitro*, стимулируя в 1.6 раза большее образование микролуковиц по сравнению с контролем. А предобработка эксплантов 6-БАП позволяет получать более крупные микролуковички – диаметром 0.5-0.6 см.

МНОЖЕСТВЕННОСТЬ ОТВЕТОВ ЛИСТА САХАРНОЙ СВЕКЛЫ НА ИЗБЫТОК ГЛЮКОЗЫ В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ РАСТЕНИЯ

Multiplicity of the sugar beet leaf responses on glucose excess during early plant ontogenesis

В.А. Мудрик, А.Р. Игнатьев, Н.С. Новичкова, А.К. Романова, Б.Н. Иванов
Институт фундаментальных проблем биологии РАН, г. Пущино
E-mail: romanova@issp.serpukhov.su

В процессе длительного воздействия повышенных концентраций CO_2 , наблюдаемых в атмосфере Земли, помимо положительного трофического эффекта происходит акклимация фотосинтеза, сопровождаемая усиленным накоплением растворимых углеводов (рУгл) и в особенности глюкозы (Глю). При этом в результате действия одной из форм гексокиназы, фосфорилирующей Глю, возникает негативный сигнальный эффект (НСЭ), приводящий к репрессии синтеза РБФК/О, К.Ф. 4.1.1.39. При повышенной $[\text{CO}_2]$ может снижаться также активность растворимой карбоангидразы, К.Ф.4.2.1.1, (рКА). В настоящей работе приводятся результаты комплексного исследования влияния избытка Глю на метаболизм

листа сахарной свеклы и, в частности, активность РБФК/О и рКА. Сахарную свеклу *Beta vulgaris*, подвид *saccharifera* выращивали: в сосудах объемом 450 см³ в песке, смачиваемом трижды в неделю разбавленным (1:5) питательным раствором Кнопа и в остальные дни – водой. Плотность потока фотонов падающего света (PFD) 250-300 мкмоль с⁻¹м⁻², продолжительность фотопериода 16 час. Температура 21±2 °С днем и 19±2 °С ночью. Исследовали растения в вегетативной фазе развития (ВФР). Относительный возраст листьев устанавливали по последовательности их появления. Ранний период ФВР – молодое растение, имеющее 5-6 развитых листьев. Отношение корень/побег = 0.1, поздний период – старшее растение, имеющее 10-12 листьев, корень/побег = 0.3). Избыток глюкозы создавали экспонированием частей срезанного листа как в Н₂О (Л_{Н₂О}), так и в 0.1 М растворе глюкозы (Л_{Глю}) при световом режиме: темнота / свет/темнота/свет (16/8/16/3 час), сравнивая полученные результаты с соответствующими показателями исходных не инкубированных листьев (Л_{исх}). Содержание (pУгл – Глю) и глюкозы во всех случаях после инкубации многократно увеличивалось: Л_{исх} < Л_{Н₂О} << Л_{Глю}. В раннем периоде ФВР коэффициент нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла (NPQ) в старшем Л_{исх} был в 1.8 раза выше, чем в молодом Л_{исх}. Величина NPQ по сравнению с Л_{исх} снижалась в Л_{Н₂О} и несколько повышалась в Л_{Глю}. Относительная скорость электронного транспорта (ETR₅₂₉) во всех трех вариантах опытов (Л_{исх}, Л_{Н₂О} и Л_{Глю}) с молодым листом была выше, чем у старшего листа молодого растения. Коэффициент фотохимического тушения флуоресценции (qP) в старшем листе в целом был несколько ниже, чем в молодом листе, и практически не изменялся после инкубации. В позднем периоде ВФР величина NPQ старых Л_{исх} была сравнима с NPQ старшего листа в ранней ФВР, однако значения ETR и qP были значительно ниже, чем у листьев раннего периода ФВР. У растения позднего периода ФВР все три параметра флуоресценции хлорофилла снижались по сравнению параметрами Л_{исх} особенно заметно в Л_{Глю}. Содержание белка в Л_{исх} молодого (7.8 мг/1г сырого веса) растения было более чем в 2.5 раза ниже, чем в Л_{исх} старого растения (20.8 мг/ 1г сырого веса). Содержание Хл(а+в) в Л_{Н₂О} и в Л_{Глю} растения раннего периода ФВР увеличивалось, а в листьях растения позднего периода ФВР – наоборот, уменьшалось. Скорость фотосинтетического выделения О₂ (Ph) в старшем Л_{исх} молодого растения была в 4.5 раза ниже, чем в молодом Л_{исх}, и снижалась в Л_{Н₂О} и Л_{Глю} старшего возраста более заметно, чем в молодом листе. В листьях растения позднего периода ВФР величина Ph старого листа была очень низкой, но в среднем и молодом листьях величина Ph была в

несколько раз выше, чем в старом, и закономерно снижалась в J_{H_2O} и $J_{Глю}$. Скорость поглощения O_2 в темноте в листьях, инкубированных в H_2O и 0.1 М глюкозе (в отличие от Ph), во всех случаях заметно увеличивалась. У растения раннего периода ФВР активность рКА в экстрактах из старшего листа в J_{H_2O} снижалась на 13 и в $J_{Глю}$ – на 24 %, по сравнению с $J_{исх}$, но в молодом листе активности и рКА, и РБФК/О были неизменны. В позднем периоде ФВР активность РБФК/О в старшем $J_{исх}$ была ничтожна, в среднем J_{H_2O} составляла 72 и в $J_{Глю}$ – 41 % от активности в $J_{исх}$, а в молодом J_{H_2O} – 89.5 и $J_{Глю}$ – 62.7 % от молодого $J_{исх}$. Активность рКА в позднем периоде ФВР в старом J_{H_2O} составляла 44 и $J_{Глю}$ 37 % от $J_{исх}$, в среднем J_{H_2O} – 51 %, в $J_{Глю}$ – 37 % от среднего $J_{исх}$, а в молодом J_{H_2O} рКА составляла 68.4 и в $J_{Глю}$ – 67.8 % от активности молодого $J_{исх}$. Сделан вывод, что основным условием проявления прямого гексокиназного эффекта глюкозы на РБФК/О и особенно на активность рКА является возраст листа и всего растения.

Обсуждаются и другие возможные механизмы подавления цикла Кальвина-Бенсона в присутствии избытка глюкозы и влияющие на параметры флуоресценции хлорофилла.

Работа выполнена частично за счет средств Президиума РАН. Программа фундаментальных исследований № 16 «Изменения окружающей среды и климата: природные катастрофы».

ПЕРЕХОД СЕМЯН ОТ ПОКОЯ К ПРОРАСТАНИЮ И НАПРАВЛЕННОСТЬ УГЛЕВОДНОГО МЕТАБОЛИЗМА В ОСЕВЫХ ОРГАНАХ СЕМЯН КОНСКОГО КАШТАНА

Seed transition from dormancy to germination and pattern
of carbohydrate metabolism in embryo axes of horse chestnut

Н.В. Обручева, С.В. Литягина
Институт физиологии растений, г. Москва
E-mail: obroucheva@ippras.ru

Переход от покоя к прорастанию является пусковым этапом вегетативного развития растения. У выходящих из покоя семян при набухании в клетках осевых органов происходит подготовка к инициации роста, завершающаяся переходом клеток к растяжению, что проявляется в наклеивании семян. Мы изучили динамику и состав основных групп углеводов в период медленного выхода из глубокого покоя, интенсивного выхода из покоя и полной потери покоя у семян конского каштана, находившихся в услови-

ях влажной холодной стратификации в течение 4, 9 и 16 недель соответственно. В эти сроки семена переносили в оптимальные для прорастания условия (27 °С, в темноте) и извлекали осевые органы из них для анализов в начале инкубации в воде, в середине периода набухания и в момент наклевывания. Из лиофильно высушенного материала углеводы извлекали смесью метанол : хлороформ : вода (12:5:3) при 60 °С 30 мин. и после центрифугирования при 20000 g надосадочную жидкость высушивали в вакууме. Материал подвергали силилированию для получения триметилсилилпроизводных и вводили в газовый хроматограф HP 5890 с пламенно-ионизационным детектором, в колонку HP 1 длиной 15 м и внутренним диаметром 0.53 мм. Разделение проводили в потоке гелия (скорость 2.5 мл/мин.) при 325 °С.

Преобладающим углеводом в осевых органах семян конского каштана является сахароза. В первой половине набухания в семенах всех сроков стратификации количество сахарозы незначительно возрастает за счет распада олигосахаридов – раффинозы и стахиозы. Во второй половине набухания интенсивно накапливаются моносахара – глюкоза и фруктоза. Из балансовых расчетов следует, что образование моносахаров происходит в большей степени за счет притока сахарозы из семядолей, происходившего активно в середине периода набухания. Направленность углеводного обмена одинакова во все сроки выхода семян из покоя. Такая готовность к осуществлению этих процессов означает, что превращения углеводов в осевых органах не являются пусковым механизмом выхода из покоя.

Накопление моносахаров перед наклевыванием обеспечивает возрастание осмотического давления в клетках осевых органов на 20 %, что способствует поступлению дополнительных количеств воды, необходимой для вакуолизации и начала растяжения клеток при прорастании. Образование моносахаров из притекшей сахарозы стало возможным благодаря установлению донорно-акцепторных связей между семядолями и осевыми органами семени – процесса, обязательного для формирования проростка.

Работа поддержана грантом РФФИ № 05-04-48381.

**ВЛИЯНИЕ РЕДОКС-РЕГУЛЯТОРОВ
НА АКТИВНОСТЬ ПРОТОННЫХ ПОМП ТОНОПЛАСТА
НА РАЗНЫХ ЭТАПАХ ОНТОГЕНЕЗА**

**Effects of redox-regulators on the hydrolytic activity of proton pumps
in the tonoplast of red beet at different stages of plant development**

Н.В. Озолина, Ю.Г. Сапега, Е.В. Прадедова, Р.К. Салаяв

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, г.
И р к у т с к
E-mail: ozol@sifibr.irk.ru

Изучено изменение чувствительности протонных помп тонопласта к редокс-регуляторам в зависимости от изменения функциональной нагрузки тонопласта, которое происходит на разных фазах онтогенеза. Установлено, что чувствительность протонных помп к редокс-регуляторам менялась в зависимости от фазы онтогенеза. В период активных ростовых процессов растения на первом году вегетации и окисленный (GSSG) и восстановленный (GSH) глутатион существенно (на 40-60 %) снижали активность H^+ -пирофосфатазы. В период покоя корнеплода активность этого фермента практически не изменялась при добавлении GSSG и GSH. На втором году вегетации, в период генеративной фазы онтогенеза активность H^+ -пирофосфатазы под влиянием GSSG и GSH вновь ингибировалась на 40-60 %. Эти данные позволяют говорить о важной роли редокс-гомеостаза, поскольку его изменение в любую сторону негативно сказывается на активности фермента. Активность H^+ -АТФазы на первом году вегетации не изменялась под влиянием GSSG и увеличивалась на 20-25 % при добавлении GSH. В период покоя этот фермент также мало зависел от GSSG, но GSH оказывал не стимулирующее, а ингибирующее влияние на 20-25 %. На втором году вегетации H^+ -АТФаза проявляла максимальную чувствительность к GSH – ее активность увеличивалась почти в два раза, хотя GSSG существенного влияния в этот период не оказывал. Исследование влияния дигидрокверцетина (ДГК) на протонные помпы тонопласта также было проведено на разных фазах онтогенеза столовой свеклы. В качестве антагониста, то есть окисляющего агента, использовали окисленный дитиотреитол (ДТТок). В первый год вегетации присутствие в среде и ДГК и ДТТок. существенного влияния на активность H^+ -пирофосфатазы не оказывало. В случае с H^+ -АТФазой наблюдалась следующая картина: окисленные условия, создаваемые 40мМ ДТТок., несколько снижали ее активность (на 20 %), но при добавлении в среду ДГК происходило увеличение гидролитической активности фермента на 65 % при 0.1 мг/мл и на 100 % – при 10 мг/мл. В период покоя ДГК

снижал активность и H^+ -АТФазы (в среднем на 40-50 %) и H^+ -пирофосфатазы (на 30-50 % в зависимости от концентрации). Изменения в чувствительности протонных помп к редокс-регуляторам на разных фазах онтогенеза может быть связано с целым рядом причин: наличием разных молекулярных форм ферментов, изменениями в составе мембранных липидов, конформации белковых молекул, которые могут происходить при изменении функциональной нагрузки, выполняемой мембраной.

Работа выполнена при поддержке РФФИ – грант № 05-04-48351.

СОРТОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИИ ПШЕНИЦЫ НА АКТИНОМИЦИН Д И СИНТЕТИЧЕСКИЙ РЕГУЛЯТОР РОСТА ФУРОЛАН

Influence of actinomicyn D and furolan, synthetic growth regulator on varietal features of wheat

Э.А. Окон¹, А.И. Насонов², Е.К. Яблонская^{1,2}, Н.А. Кузембаева²,
Н.И. Ненько¹, В.К. Плотников^{1,2}

¹ Кубанский государственный технологический университет, г. Краснодар

E-mail: yablonskay@mail.ru

² Краснодарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства им. П.П. Лукьяненко, г. Краснодар

E-mail: molbiokniish@mail.ru

Семена проходят сложный путь развития от формирования к созреванию. Далее после вынужденного или в разной степени глубокого покоя приобретают способность прорасти и формировать проросток. Большая часть генетической программы, связанной с реализацией этих процессов, считывается в период развития и созревания семян на материнском растении и включает регуляцию не только последовательного перехода от одной стадии к другой, но и программы приобретения устойчивости к высуханию, а также запасания и мобилизации питательных веществ. Вместе с тем, семена содержат не только весь метаболический аппарат транскрипции и трансляции, но также долгоживущие РНК, функционирующие при набухании. Количество и качество запасенных долгоживущих РНК определяют особенности прорастания и всего онтогенеза растения. При обработке семян специфическим ингибитором синтеза РНК – актиномицином Д – семена наклеиваются и происходит рост корней и coleoptилей за счет долгоживущей РНК семени. При этом интенсивность роста намного слабее, чем у контрольных растений, проращиваемых на дистиллированной воде. Показано, что семена озимой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) различных сортов селекции Краснодарского НИИСХ дифференциально

реагируют на блокаду транскрипции актиномицином Д, что, по-видимому, связано с разным количеством РНК в зерне и ее качеством (содержанием катионов магния в РНК, определяющим ее стабильность). Семена выращивали в чашках Петри на фильтровальной бумаге, смоченной раствором актиномицина Д в концентрации от 10 до 40 мкг/мл. Контролем служили семена, замоченные в дистиллированной воде. Для опытов использовали 3-5-суточные проростки, выращенные в темноте при температуре 19° либо 25 °С. Производилось измерение длины корней и стеблей проросших растений. Показано, что актиномицин Д снижал всхожесть семян и ингибировал рост растений, причем растения озимой пшеницы сорта Русса проявляли наибольшую чувствительность к данному ингибитору по сравнению с другими испытанными сортами. Подавление роста coleoptiles у проростков этого сорта пшеницы составляло 77, корней – 54, всхожесть снижалась на 45 %. Наименьшей чувствительностью к актиномицину обладали семена и проростки яровой пшеницы сорта Будимир. Растения озимой пшеницы сортов Безостая-1 и Зимородок занимали промежуточное положение по чувствительности к актиномицину. Таким образом, было выявлено, что ответная реакция проростков пшеницы на воздействие актиномицином Д является сортоспецифической и зависит от условий окружающей среды (температура, влажность, освещение и т.д. и т.п.), что можно использовать в модельных экспериментах и служить маркером в диагностике хозяйственно важных признаков и физиологических особенностей сортов. В опытах использовали также семена озимой пшеницы, выращенной в условиях обработки полевых посевов синтетическим регулятором роста фуроланом, синтезированным на основе фурфурола. Показано, что это биологически активное соединение (адаптоген) сортоспецифически повышает стабильность матричных РНК в проростках, созревающем и зрелом зерне пшеницы, увеличивает длину терминальных поли-А-последовательностей в молекулах матричных РНК, стимулирует накопление белка в зерне и изменяет фракционный состав белков. В модельных опытах была изучена интенсивность прорастания семян пшеницы, выращенной в условиях обработки полевых посевов фуроланом. Контролем служили семена растений, не обработанных этим веществом. Показано, что coleoptiles и корни пшеницы сорта Батько, выращенной в условиях обработки фуроланом, не отличались от контроля по уровню ингибирующего эффекта актиномицина Д. Растения же сорта Краснодарская 99 и Дея, обработанные фуроланом, были менее чувствительны к актиномицину Д. Кроме того, антибиотик снижал всхожесть семян у растений пшеницы чувствительных к фуролану сортов (Краснодарская 99, Дея). Таким образом, обнаружен эффект сортоспецифического

протекторного действия биологически активного соединения фурулан на обработку растений актиномицином Д. Очевидно, изменения в стабильности РНК под влиянием фурулана повышают стрессоустойчивость растений и жизнеспособность семян.

ИЗУЧЕНИЕ ФОСФОГИДРОЛАЗ ТОНОПЛАСТА В ПРОЦЕССЕ ОНТОГЕНЕЗА СТОЛОВОЙ СВЕКЛЫ (*BETA VULGARIS L.*)

The study of tonoplast phosphohydrolases in ontogeneses of red beet (*Beta vulgaris L.*)

О.С. Павловская, О.В. Ильина, Е.В. Прадедова, Н.В. Озолина, Р.К. Саяев
Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, г.
И р к у т с к
E-mail: cell@sifibr.irk.ru

Вакуолярная мембрана содержит разнообразные транспортирующие системы, обеспечивающие транспорт веществ по активному (с использованием энергии) и пассивному пути (без специальных энергетических затрат). Особый интерес вызывают системы активного транспорта тонопласта. В настоящее время на тонопласте выявлены три АТФ-зависимые транспортеры (H^+ -АТФаза, АВС-транспортер, Ca^{2+} -АТФаза) и один пирофосфат-зависимый (H^+ -пирофосфатаза). Все перечисленные фосфогидролазы имеют специфичные ингибиторы, применение которых позволяет идентифицировать активность каждого из ферментов. Так, H^+ -АТФаза тонопласта ингибируется нитратом (70 мМ) и бафиломицином, Ca^{2+} -АТФаза – эритрозином (0.05 мМ), АВС-транспортер подобно H^+ -АТФазе плазмалеммы – ванадатом (1 мМ), а H^+ -пирофосфатаза – фторидом (30 мМ).

По степени подавления (т.е. проценту ингибирования) определяли активность ферментов или долевого вклад исследуемого фермента в общую ферментативную активность. Ее выражали в процентном соотношении относительно контроля, активность которого принимали за 100 %, в каждом опыте в отдельности.

Активность вышеперечисленных фосфогидролаз тонопласта изучали на изолированных вакуолях корнеплодов столовой свеклы (*Beta vulgaris L.*) в разные периоды роста и развития растения:

I. Первый год вегетации (июль-август) – это период интенсивного роста корнеплодов, который характеризуется высокой активностью метаболизма;

II. Период покоя (сентябрь-май), корнеплоды хранили в овощехранилище при температуре +4 °С. Этот период условно делили

на 3 фазы: а) начало покоя (ноябрь), б) глубокий покой (февраль), в) выход из покоя (май).

III. Второй год вегетации (июль). Корнеплоды в период генеративной фазы развития.

Самая высокая активность АТФ-зависимых фосфогидролаз тонопласта наблюдалась во второй год онтогенеза (1.85 ± 0.54 мкМ Фн/мг белка), а самая низкая (0.45 ± 0.14 мкМ Фн/мг белка) – в период покоя; активность же пиррофосфатазы оставалась достаточно высокой на всех стадиях развития корнеплода (1.79 ± 0.41 мкМ Фн/мг белка).

Были получены следующие результаты: нитрат ингибировал АТФазную активность тонопласта у растущих корнеплодов на 43 %, на следующих фазах онтогенеза наблюдалось снижение ингибирования до 26 на стадии начала покоя, на стадии глубокого покоя – до 33, на стадии выхода из покоя – до 18, а во второй год вегетации составляло 22 %. Таким образом, наибольшая активность H^+ -АТФазы была на фазе роста, что видно по высокой степени подавления активности фермента в этот период, а минимальная активность – на стадии выхода из покоя и во второй год вегетации.

Что касается ванадат-чувствительной АТФазы, то наблюдалась следующая картина: ванадат подавлял АТФазную активность тонопласта у корнеплодов первого года вегетации – на 61, после чего наблюдалось повышение ингибирования в фазе начала покоя до 81 %, в следующих фазах покоя наблюдалось постепенное снижение ингибирования от 30 до 15 %, а во второй год вегетации наблюдалось увеличение ингибирования до 65 %, т.е. активность ванадат-чувствительной АТФазы была высокой на всех фазах онтогенеза, за исключением фаз глубокого покоя и выхода из покоя.

Активность же Ca^{2+} -АТФазы в процессе онтогенеза значительно не изменялась и была в среднем 59 % от контроля.

Полученные данные указывают на то, что в период покоя и во второй год онтогенеза преобладала активность АТФ-зависимых транспортирующих систем, тогда как в период интенсивного роста и накопления метаболитов преобладала активность H^+ -АТФазы.

Эксперименты по определению активности H^+ -пиррофосфатазы в процессе онтогенеза показали, что активность фермента оставалась высокой на всех стадиях развития корнеплода и составляла 100 %.

Из полученных результатов можно сделать вывод, что активность ферментов АТФазы и H^+ -пиррофосфатазы изменяется в процессе онтогенеза, так как максимальная АТФазная активность выявлялась на разных этапах онтогенеза. Протонная помпа (H^+ -АТФаза) обладала максимальной активностью в период активных ро-

стовых процессов в первый год вегетации. Ванадат-чувствительная АТФаза была достаточно активна в период первого и второго года вегетации, но наибольшая активность была отмечена на стадии начала покоя. Активность же Ca^{2+} -АТФазы, мало меняющаяся в ходе онтогенеза, достигала максимальных значений во второй год вегетации. Неизменно высокий уровень активности узкоспецифичной H^+ -пирофосфатазы оставался на всех стадиях роста и развития корнеплода.

ГУМИНОВЫЕ ФРАКЦИИ САПРОПЕЛЕЙ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА РОСТ *LEMNA MINOR* L.

Sapropels humic fractions and their influence on *Lemna minor* L. growth

А.А. Перк, А.А. Попов

Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, г. Якутск
E-mail: aaperk@mail.ru

Биологическая активность сапропелей (донных органических отложений) во многом связана с присутствием в них гуминовых кислот, алифатический характер которых, в отличие от хорошо изученных гуминовых соединений бурого угля, торфа и почв, дает повод назвать их особыми «сапропелевыми» кислотами. Данные вещества характеризуются также высокомолекулярностью, переменным составом и полифункциональностью, определяемыми условиями их образования. Поэтому особый интерес представляют исследования полидисперсности гуминовых веществ сапропелей, коммерческие препараты которых находят все большее применение в качестве стимуляторов роста и развития растений в сельском хозяйстве.

Гуминовые вещества были получены с использованием щелочного гидролиза (0.2 н NaOH) сапропеля оз. Большая Чабыда (в 20 км от г. Якутск) при нагревании, с последующим отделением гумата натрия от сапропелевой массы центрифугированием. Методом колоночной гель-хроматографии на сефадексе G-100 и сефариле G-300 (элюент – дистиллированная вода с pH 7.0; скорость элюции 10 мл/ч) в препарате удастся выделить не менее трех гуминовых фракций, имеющих характерные кривые поглощения в УФ- и видимой области спектра и характеризующимися молекулярными массами в 10-100 тыс. D. Средне (II)- и особенно высокомолекулярная (I) фракции преобладают по объему над низкомолекулярной (III). В результате многократного хроматографирования было

проведено накопление отдельных лиофилизированных фракций в количестве 20-50 мг для дальнейшего изучения их биологической активности при разных концентрациях действующего вещества (0.0001-0.01 %).

В качестве тест-объекта использовали ряску малую (*Lemna minor* L.). Ряска обладает быстрым ростом, простотой строения, легко образует генетически однородные линии. Кроме того, в естественной водной среде обитания этого растения постоянно присутствуют органические соединения, в том числе гуминовые вещества донных отложений. Рабочий клон выделен нами из местных озерной популяций в пригороде г. Якутск и поддерживался на 0.5 н средах Гельригеля или Хогланда-Снайдерса в условиях искусственного освещения. Для эксперимента бралось по три листеца (материнское и два неотделившихся дочерних растения) приблизительно одинаковой величины. Объем стаканчика – 40 мл, повторность 3-кратная. На 12 сутки растения вынимали, обсушивали на фильтровальной бумаге и определяли сырую массу каждой повторности (всех листецов), количество и внешний вид растений. Основным показателем служило изменение времени удвоения численности ряски в исследуемых растворах по отношению к контрольному (дистиллированной воде), выраженное в процентах Dt (%) = $(1 - (\ln(N_k) - \ln(N)) / (\ln(N_0) - \ln(N))) \cdot 100$ %, где N – исходное количество растений, N_k – количество растений в контроле, N_0 – количество растений в опыте при одинаковой длительности наблюдений.

Использовали тестовые концентрации гуминовых фракций в 0.0001, 0.001 и 0.01 %, что укладывается в основной стимулирующий диапазон суммарного препарата. Средняя сырая масса повторностей контроля на конец опыта составила 17.5 мг. Все гуминовые фракции к этому моменту при тестируемых концентрациях показали значительный стимулирующий эффект (кроме высокомолекулярной фракции I при 0.0001 и 0.001 %). Сырая масса достигала для I фракции при 0.01 % концентрации – 35.9 мг/повторность и была в пределах 25.5-54.2 мг для всех концентраций фракции II и 31.4-53.2 мг фракции III. Dt изменялась сходным образом и составляла: для I фракции (при 0.0001, 0.001 и 0.01 % концентрации соответственно) – 3.4, 15.0 и 24.5 % превышения удвоения численности над контролем; II фракции – 15.0, 13.0 и 40.6 %; III фракция – 25.8, 40.6 и 31.2 %. Таким образом, на тест-объекте *L. minor* показана более высокая биологическая активность средне(II)- и особенно низкомолекулярной (III) фракций натриевых гуматов мерзлотных сапропелей при разных их концентрациях по сравнению с высокомолекулярной компонентой (I). Эти отличия в стимулирующем эффекте отдельных фракций могут быть обусловлены большим числом функционально-активных групп у

первых и, соответственно, большей конкурентноспособностью их за клеточные рецепторы, связанные с ростовыми процессами, по сравнению с I фракцией.

Выявленные закономерности могут быть использованы для поиска технологических приемов, направленных на получение большего процента низкомолекулярных фракций гуматов при создании экологически чистых и более эффективных биопрепаратов на основе сапропелей.

РЕГУЛЯЦИЯ ГИББЕРЕЛЛИНОМ ЦВЕТЕНИЯ МУТАНТОВ АРАБИДОПСИСА

Flowering regulation of *Arabidopsis thaliana* mutants by gibberellin

М.А. Петрова, Э.Л. Миляева, Г.А. Романов

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, г. Москва

E-mail: gar@ippras.ru

Гиббереллин является одним из важнейших фитогормоном. Он участвует в регуляции различных физиологических процессов, таких как прорастание семян, мобилизация запасных веществ эндосперма, рост стебля, заложение цветков, образование и рост плодов и семян. Одной из важнейших функций гиббереллина, особенно заметных у длиннодневных растений, является участие в регуляции цветения.

В последние годы применение молекулярно-генетических подходов привело к значительному прогрессу в изучении механизмов действия гиббереллина на молекулярном уровне, в особенности при изучении перехода к цветению. Модельными объектами для этих исследований являются растения арабидопсиса, обладающие коротким жизненным циклом, высокой плодовитостью и самоопыляемостью, что позволяет легко получать и идентифицировать мутанты. Это дало возможность широко использовать мутанты арабидопсиса для познания механизмов регуляции цветения.

В настоящее время выявлены десятки генов, участвующих в регуляции зацветания арабидопсиса. Предложен ряд схем взаимодействия этих генов под влиянием внешних и внутренних факторов. Однако практически во всех схемах регуляция цветения гиббереллином представлена как обособленный путь, не связанный с другими путями. В то же время согласно представлениям, выдвинутому М.Х. Чайлахяном, гиббереллин является одним из компонентов флоригена – стимула цветения, образующегося в листьях под влиянием благоприятной длины дня.

Целью нашей работы было изучение влияния гиббереллина на индукцию цветения у арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana* L.) при использовании разнообразных мутантов. Объектами исследования были количественно длиннодневные растения дикого типа и растения мутантных линий арабидопсиса по гену *CONSTANS*, который, как предполагают, может участвовать в образовании стимула цветения под влиянием фотопериодической индукции. В работе использовали растения дикого типа экотипа Columbia и его мутанты № 3325, №3122 (The Nottingham Arabidopsis stock center, NASC) и дикого типа экотипа Lansberg erecta и его мутанты № 176, №179 (NASC). Также были использованы инсерционные мутанты арабидопсиса экотипа Columbia по генам фосфолипазы Д: *pldβ1*, *pldζ1*, *pldζ2*, *pldα1* (NASC).

Растения выращивали в факторостатных камерах Института физиологии растений на коротком (8 час света + 16 час темноты) и длинном дне (16 час света + 8 час темноты) в почвенной культуре при температуре 22-24 °С, влажности 80 % и освещении люминесцентными лампами белого света ЛБ80. Интенсивность светового потока на уровне растений составляла 40 Вт/м². Обработку растений гиббереллином (ГАЗ) в концентрациях 100 или 300 мг/л проводили путем опрыскивания листьев. Два раза в неделю производили измерения параметров роста растений: длины, ширины листа, длины черешка, длины цветоноса, а также отмечали даты перехода к цветению.

После обработки гиббереллином растений дикого типа, выращиваемых на коротком дне, было отмечено значительное ускорение цветения. Обработанные на коротком дне растения зацвели примерно в те же сроки, что и необработанные растения на длинном дне, благоприятном для цветения.

Самое значительное ускорение цветения среди мутантов, выращенных на коротком дне, было получено у мутантов *pldβ1* и *pldζ2*, обработанных гиббереллином, которые зацвели на месяц раньше необработанных.

Значительное ускорение цветения наблюдалось также при обработке гиббереллином мутантных растений по гену *CONSTANS*, которые зацвели на 16 дней раньше необработанных.

Таким образом, полученные результаты демонстрируют способность гиббереллина при опрыскивании листьев индуцировать цветение у арабидопсиса и свидетельствуют в пользу того, что характеристики этой индукции во многом зависят от генетического статуса растений.

**МЕТОД КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКИ СОДЕРЖАНИЯ ИУК
ПО ГИСТОХИМИЧЕСКОМУ ОКРАШИВАНИЮ GUS-AКТИВНОСТИ****Method for quantitative analysis of IAA content based
on histochemistry staining of GUS-activity****Г.А. Пожванов, А.Ю. Батов, С.С. Медведев**Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург
E-mail: pozhvanov@gmail.com

При изучении механизма действия гормонов, например ИУК, в ходе ростовых реакций возникает необходимость оценки локальных концентраций гормона в ткани.

В современных исследованиях биологии растений широко распространены методы работы с трансгенными объектами, трансформированными генетической конструкцией с использованием репортерного гена. Для выявления экспрессии интересующей конструкции репортером часто служит бактериальный ген глюкуронидазы, а для визуализации GUS-активности проводится гистохимическая реакция, дающая характерное синее окрашивание. В физиологии растений для исследования ростовых процессов нашли применение трансгенные конструкции с репортерным геном GUS, чувствительные к фитогормонам (ИУК, цитокинины и др.), это удобно благодаря надежной визуализации экспрессии фермента, но до сих пор доступно только качественное определение присутствия гормона.

Цель данной работы – разработка метода количественной оценки ИУК по гистохимическому окрашиванию на GUS-активность. Объектом исследования являлись семидневные проростки *Arabidopsis thaliana* L., трансформированные конструкцией DR5::GUS. Растения выращивали на агаризованных средах с различной концентрацией ИУК, что было необходимо для построения калибровки. Гистохимическое окрашивание корней растений производили реактивом X-Glc (5-Bromo-4-chloro-3-indolyl β -D-glucopyranoside, Fluka № 16667). Затем выполняли микрофотосъемку окрашенных образцов (микроскоп Биолам-Р13, МФН-11, Canon EOS 350D) и компьютерный анализ цифровых изображений в программах ImageJ и Adobe Photoshop CS2.

Показано, что отклик по каналам цифрового изображения, R, G и B зависит от концентрации ИУК в среде выращивания, отклик в канале R достоверно увеличивается с возрастанием концентрации ИУК в среде. По оценке падения яркости видно, что она показывает логарифмическую зависимость от концентрации ИУК в пределах 10^{-7} – 10^{-5} М. Кроме того, падение яркости в канале R достоверно отличается от каналов G и B. Таким образом, анализ цифро-

вых изображений может использоваться для количественной оценки GUS-активности.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 05-04-49619.

УКРЫТИЕ СУБСТРАТА КАК СПОСОБ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ РАЗМНОЖЕНИЯ ЯГОДНЫХ И ДЕКОРАТИВНЫХ КУЛЬТУР

Substratum covering as a way of increasing berry and decorative cultures reproduction efficiency

Ю.А. Рогозянская, Е.А. Ляшенко, С.А. Плыгун, А.Г. Гурин
Орловский государственный аграрный университет, г. Орел
E-mail: borpli@orel.ru

При выращивании посадочного материала используют разнообразные приемы стимуляции ризогенеза, среди которых не последнее место занимают агротехнические приемы регуляции факторов внешней среды. Для укоренения черенков факторы внешней среды должны одновременно обеспечить условия ассимиляционной деятельности листьев, максимальное сокращение транспирации и должный уровень окислительно-восстановительных процессов в основании черенка. Не стоит забывать и о том, что физиологические и биохимические процессы при регенерации черенков значительно отличаются от таковых в целостном растении. Так, образование придаточных корней у зеленых черенков успешно протекает при повышенной оводненности растительных тканей и высокой относительной влажности внешней среды. Причем насыщение тканей черенка водой происходит в основном через листья, поскольку даже после отделения черенка от маточного растения они сохраняют способность к транспирации.

Поглощение же воды через основание среза происходит в гораздо меньшем количестве и не имеет существенного значения для укоренения черенков. При этом реакция отдельных видов на условия увлажнения сильно варьируется. Так, черенки черной смородины способны укореняться даже в воде, в то время как черенки крыжовника, облепихи отрицательно реагируют на переувлажнение субстрата. Исходя из этого, необходим очень строгий контроль водно-воздушных режимов тех сред, где протекают процессы придаточного корнеобразования у зеленых черенков.

Известно, что зеленые черенки большинства сортов и пород в условиях искусственного тумана обычно укореняются хорошо, однако довольно часто укореняемость и выход черенков бывают невысокими. Причин возникновения подобной ситуации может быть не-

сколько. Так, многие из черенков могут погибать из-за того, что их корневая система загнивает из-за неблагоприятного водно-воздушного режима корнеобитаемого слоя и сильного переувлажнения субстрата. В этой связи не теряют своей значимости агротехнические приемы, позволяющие регулировать влажность поверхностного слоя субстрата, в котором сосредоточена основная масса корней. Перспективный способ регулирования влажности – поверхностное укрытие культивационных гряд перфорированной полиэтиленовой пленкой или другими полимерными материалами. Укрытие не препятствует поливу, но ограничивает транспирацию, обеспечивая поддержание влажности поверхностного слоя субстрата на оптимальном уровне.

В 2003-2006 гг. мы изучали действие поверхностного укрытия субстрата, в котором протекает процесс ризогенеза перфорированными полимерными материалами на укореняемость зеленых черенков различных ягодных культур в условиях туманообразующей установки. Объектами исследований служили зеленые черенки облепихи сорта Перчик, черной смородины сорта Экзотика; крыжовника сорта Колобок, жимолости сорта Избранница. В контрольном варианте поверх субстрата насыпался слой речного песка 1.5-2 см. В остальных вариантах субстрат накрывался следующими перфорированными материалами: рогожкой, спонбондом, полиэтиленовой пленкой. В перфорированные отверстия высаживались зеленые черенки по схеме 5×10 см по 100-150 штук в трехкратной повторности.

Результаты исследования показали, что укрытие субстрата испытываемыми материалами оказало положительное влияние на укореняемость зеленых черенков. Так, укореняемость зеленых черенков черной смородины в контрольном варианте составила 79.6, тогда как в вариантах с укрытием субстрата – 86.6-91.2 %. На крыжовнике укореняемость в контрольном варианте составила 69.9 %, а в вариантах с укрытием субстрата – 73.7-83.0 %. Наибольший эффект от применения укрывных материалов наблюдался на облепихе. В контрольном варианте укоренилось черенков 58.6 % от числа высаженных, а в вариантах с укрытием – 87.7-89.4. Наименьший эффект от укрытия субстрата наблюдался на жимолости – укореняемость была выше только в вариантах с применением спонбонда и рогожки лишь на 0.1 и 1.4 % соответственно. Это объясняется тем, что у этой культуры более короткий период корнеобразования, в то время как у облепихи, черной смородины и крыжовника он более продолжителен.

Таким образом, применение укрывных материалов при производстве посадочного материала ягодных культур способствует предупреждению переувлажнения субстрата в период активного ризогенеза и загнивания зеленых черенков, благодаря созданию наибо-

лее благоприятного водно-воздушного режима в верхнем слое субстрата. Как следствие, при применении укрывных материалов существенно повышается укореняемость зеленых черенков, при этом наибольший эффект проявляется на культурах, требующих более длительного периода корнеобразования.

**РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ЦИТОКИНИНАМИ:
ПРИНЦИП ТРАНСКРИПЦИОННЫХ КАСКАДОВ
И ПРИНЦИП ОТРИЦАТЕЛЬНОЙ ОБРАТНОЙ СВЯЗИ**

**Regulation of gene expression by cytokinins:
the principle of transcriptional cascades
and the principle of negative feedback control**

Г.А. Романов

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, г. Москва
E-mail: gar@ippras.ru

Цитокинины, «классические» фитогормоны, выполняют многообразные регуляторные функции в ходе роста и развития растительного организма. Цитокинины необходимы для пролиферации клеток, они способствуют росту боковых побегов (снятию апикального доминирования), индуцируют побегообразование в каллусной культуре, увеличивают апертуру устьиц, задерживают старение листьев; в зависимости от вида растения могут стимулировать прорастание семян, развитие хлоропластов, цветение, клубнеобразование, биосинтез пигментов. Все эти процессы требуют на клеточном уровне существенного перепрограммирования работы генетического аппарата, при этом изменение уровня экспрессии нередко затрагивает сотни или даже тысячи генов. Однако являются ли все эти гены цитокинин-чувствительными и чем определяется тканевая и возрастная специфика действия цитокининов?

Многочисленные попытки выявления генов первичного ответа на цитокинин привели к успеху в 1998 г., когда такие гены были впервые обнаружены у арабидопсиса (Brandstatter & Kieber) и кукурузы (Sakakibara et al.). Вскоре гены раннего ответа на цитокинин были отмечены и в культуре клеток табака (Романов и др., 1999; Schaefer et al., 2000). В опытах с клетками табака мы применили методы массового анализа транскриптов, такие, как Differential Display (DD) и Representation Difference Analysis (RDA). Количественный анализ показал, что число генов раннего ответа на цитокинин клеток табака очень невелико и не превышает 0.7 % от общего числа экспрессируемых генов. При этом существенная часть таких генов не активировалась, а, наоборот, репрессирована-

лась гормоном. Эти и литературные данные позволили выдвинуть представление о том, что гены первичного ответа на фитогормоны, кодирующие регуляторные белки, вызывают следующую «волну» крупных транскрипционных изменений по каскадному принципу (Романов, 2002). Более полный анализ транскриптома при воздействии цитокинина был выполнен нами на проростках арабидопсиса при использовании микрочипов Affymetrix ATH1 (microarray), отражающих практически полный набор генов арабидопсиса (Brenner et al., 2005). Из общего числа более 11 тыс. активных генов обнаружено всего 82 (0.73 %) гена первичного ответа, уровень транскриптов которых достоверно менялся через 15 мин обработки проростков цитокинином (71 ген активировались и 11 – репрессировались гормоном). При этом среди генов первичного ответа значительную часть составляли гены, кодирующие регуляторные белки, в том числе факторы транскрипции (AP2, myb, bHLH, zinc-finger, ring-finger, homeobox protein и др.). Это предполагало возможность последующего глобального изменения транскриптома по каскадному принципу. Действительно, через два часа воздействия цитокинина изменения экспрессии затронули уже более 1800 генов (около 16 % от общего числа), причем у большей части этих генов вторичного ответа уровень экспрессии снижался, а не активировался (Brenner et al., 2005). Естественно предположить, что эти вторичные изменения во многом зависят и от тканевой/возрастной специфики клеток и тем самым определяют многообразие клеточных ответов на цитокинин.

Еще одно важное заключение было сделано на основе анализа характера изменений экспрессии генов при действии цитокинина. Оказалось, что у подавляющего большинства генов размах изменений уровня транскрипции сравнительно невелик – в диапазоне 2-10 раз по отношению к исходному уровню. В случае наибольших изменений, например, при активации гена *ARR5* резкий подъем содержания транскриптов сменяется быстрым спуском с выходом на плато при относительно умеренном уровне активации. Объяснение этого феномена – быстрое включение механизмов отрицательной обратной связи, препятствующих чрезмерным и долговременным отклонениям уровней экспрессии чувствительных генов в ответ на фитогормон. Механизм на транскрипционном уровне связан с активацией цитокининами генов *ARR* типа А, продукты которых (белки – регуляторы ответа) снижают эффект цитокининов на транскрипцию. Еще один уровень обратной связи – метаболический, он связан с активацией цитокинин-оксидазы, разрушающей активные формы цитокининов. Все эти механизмы приводят к ограничению интенсивности и продолжительности ответной реакции клеток на цитокинин, что важно для обеспечения оперативности цитокининовой регуляции в растении. По всей видимости, выявлен-

ные для цитокининов принципы транскрипционных каскадов и отрицательной обратной связи справедливы и для других фитогормонов, способных регулировать транскрипцию соответствующих генов первичного ответа.

Работа поддержана грантами РФФИ 07-04-00331 и 07-04-91211-ЯФ.

**ВЛИЯНИЕ АУКСИНА НА РОСТ И РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ
ARABIDOPSIS THALIANA ДИКОГО ТИПА
И МУТАНТОВ С ИЗМЕНЕННОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬЮ К ГОРМОНУ**

**Influence of auxin on growth and development of *Arabidopsis thaliana*
wild type plants and mutants with altered auxin sensitivity**

**Д.А. Романюк, В.В. Емельянов, Ю.В. Михайлова, А.А. Кирпичникова,
М.Ф. Шишова**

Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург
E-mail: daria-rom@yandex.ru

Фитогормон ауксин обладает широким спектром физиологического действия. Под его контролем находятся деление и растяжение растительных клеток. Ауксин участвует в регуляции целого ряда морфогенетических программ, в том числе органогенеза, и является одним из факторов, определяющих полярность растительного организма. В последние 10 лет возможность использования молекулярно-генетических подходов позволила выявить целый ряд генов, экспрессия которых влияет на чувствительность растений к ауксину. К этой группе можно отнести и такие гены, как *AXR1*, *AXR4*, *AUX1*. Мутации по этим генам приводят к нарушениям механизма действия ауксина на растительные клетки или его полярного транспорта, результатом чего является нарушение развития растения. Для мутантов была доказана пониженная чувствительность к гормону по одной из ауксин-специфичных реакций (чаще всего на примере гравитропической реакции). Тем не менее неизвестно, каким образом эти мутации, связанные с рецепцией, трансдукцией и транспортом гормона могут влиять на развитие, а также гормональный статус проростков арабидопсиса.

Целью данной работы являлся сравнительный анализ роста побегов и корней и содержания ауксина в проростках арабидопсиса дикого типа и мутантов *aux1-7*, *axr1-3*, *axr4-2*, выращенных на безгормональной среде или при добавлении экзогенных ауксинов (ИУК – индолилуксусная кислота, 1-НУК – 1-нафтилуксусная кислота, 2-НУК – 2-нафтилуксусная кислота).

Растения *A. thaliana* выращивали в стерильных условиях, в световой установке при 8-часовом фотопериоде и при температуре

+26 °С в течение 20 дней. Был проанализирован характер роста корней и листьев у растений дикого типа и мутантных линий. В качестве показателей развития использовали такие параметры, как длина корневой системы, а также масса корней и листьев. Определение содержания эндогенных фитогормонов проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа.

Внесение ИУК в околоразовую среду растений арабидопсиса дикого типа приводит к повышению концентрации гормона в побегах, что стимулирует его развитие. Обработка активным синтетическим ауксином 1-НУК, напротив, приводит к резкому повышению концентрации свободной ИУК в корнях, что вызывает видоизменение корневой системы (укорочение и утолщение). Проростки арабидопсиса мутантной линии *aux 1-7* отличаются пониженным содержанием ИУК. Экзогенная обработка природным ауксином приводит к повышению концентрации ИУК, особенно в побегах, что интенсифицирует рост всего проростка. Проростки арабидопсиса мутантной линии *aux 1-3*, напротив, характеризуются высоким содержанием ИУК в тканях по сравнению с проростками дикого типа. Добавление экзогенного гормона еще больше увеличивает концентрацию эндогенного гормона и тем самым тормозит рост корневой системы. Для побега была выявлена обратная зависимость. Закономерности развития и динамика изменения концентрации гормона в тканях проростка мутантной линии *aux 4-2* в целом отличались от таковых у линий *aux 1-3* и *aux 1-7* и были сходны с проростками дикого типа. Полученные данные позволяют предположить, что физиологическое проявление мутации *aux 4-2* не связано с нарушениями механизма транспорта гормона или его первичной трансдукции с участием убиквитинового системы.

БРАССИНОСТЕРОИДЫ КАК ФАКТОРЫ РЕГУЛЯЦИИ ОНТОГЕНЕЗА ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Brassinosteroids as factors of regulation of an ontogenesis of drug plants

Е.С. Роньжина, И.Н. Волошина

Калининградский государственный технический университет, г.
К а л и н и н г р а д

E-mail: ron-box@mail.ru

Важное значение лекарственных растений в жизни человека в сочетании с сокращением естественных ареалов произрастания обуславливает необходимость их производства в промышленных масштабах. Поэтому целью работы явилось изучение влияния брассинпродуктивности ряда лекарственных растений в почвенно-клима-

тических условиях Калининградской области.

Лекарственные травы 9-ти видов выращивали в условиях полевого мелкоделяночного опыта без применения удобрений при минимальном использовании пестицидов (однократно перед посевом применяли раундап). Определяли действие и последствие предпосевной обработки семян барботированием (традиционно применяемая обработка семян), эпибрассинолидом, либо последовательное применение барботирования и эпибрассинолида. Брассиностероиды или брассиностероиды в сочетании с барботированием весьма существенно (до 100 %) повышали всхожесть и энергию прорастания семян, влияя даже в том случае, если эти показатели были снижены до 20-30 % в результате длительного хранения. Фитогормоны обладали длительным последствием, в течение всего онтогенеза стимулировали рост и развитие подземных и надземных органов всех изученных видов лекарственных растений. Эти фитогормоны были способны повышать устойчивость растений к неблагоприятным факторам и патогенам. Все перечисленные выше параметры в опытном варианте превышали контрольные в 1.1-1.4 раза. Такое полифункциональное действие брассиностероидов, в конечном итоге, существенно повышало биомассу растений. В то же время была обнаружена видовая специфика (сила эффекта, концентрационная и временная зависимость) ответных реакций лекарственных растений на предпосевную обработку семян. Полученные данные свидетельствуют о целесообразности внедрения предпосевной обработки семян брассинолидом в технологию выращивания лекарственных растений с учетом тщательного подбора условий обработки, в первую очередь, концентрации препарата и времени его воздействия.

ЦИТОКИНИНЫ И АУКСИНЫ В РЕГУЛЯЦИИ РОСТА И РАЗВИТИЯ РАСТЕНИЙ

Cytokinins and auxins in regulation of growth and development of plants

Е.С. Роньжина, Е.А. Калинина

Калининградский государственный технический университет, г. Калининград

E-mail: ron-box@mail.ru; bobrik79@mail.ru

Традиционно считают, что этап роста растительных клеток растяжением контролируется, главным образом, ауксином. Этот вывод был сделан в основном при изучении осевых органов (как правило, отрезков колеоптилей) злаков. Цитокинины же обычно рассматривают в качестве наиболее эффективных ингибиторов аук-

син-зависимого роста. В то же время в литературе накоплено большое количество фактов, свидетельствующих о способности цитокининов стимулировать и даже индуцировать рост растяжением растительных клеток, что особенно четко проявляется у листьев, листовых высечек и изолированных семядолей травянистых двудольных (но не однодольных) растений. Настоящая работа была проведена для уточнения роли этих двух типов фитогормонов в регуляции роста растительных клеток растяжением.

Объектами исследования служили однодольное растение кукуруза (*Zea mays* L., сорт СТК-189 МВ) и двудольное – тыква (*Cucurbita pepo* L., сорт Мозолеевская столовая). Опыты были проведены на модельных системах и целых растениях. В качестве модельных систем использовали отрезки осевых органов – декапитированных и недекапитированных колеоптилей этиолированных проростков кукурузы, а также высечки, полученные из паренхимных органов – зрелых, только что закончивших рост листьев тыквы. Влияние фитогормонов на рост органов интактного растения изучали в вегетационных, вегетационно-полевых и мелкоделяночных опытах. Растительные ткани обрабатывали 10^{-5} М раствором ИМК или 10^{-4} М раствором БАП; наиболее эффективные концентрации фитогормонов подбирали предварительно.

Во всех вариантах опыта было выявлено стимулирующее действие ауксинов и цитокининов на рост клеток растяжением. В модельных системах (колеоптиля, листья) оба фитогормона ускоряли рост клеток как осевых органов, так и паренхимных тканей растений, хотя эффективность их действия была различной – ауксины в большей степени влияли на рост колеоптилей кукурузы, цитокинины – на рост фрагментов листьев тыква. При совместном применении эти фитогормоны взаимно уменьшали эффекты друг друга. Данные наблюдения были подтверждены при изучении ростовых эффектов ИМК и БАП на рост клеток интактного растения. Указанные фитогормоны с разной эффективностью стимулировали рост клеток всех надземных органов: стебля (увеличивая его длину и толщину), листьев (увеличивая их площадь и толщину листовой пластинки).

Сделан вывод об участии обоих типов фитогормонов – и ауксинов и цитокининов – в регуляции роста растяжением. Полученные результаты обсуждаются с позиции высокой ткане-, органо-, таксоноспецифичности действия фитогормонов, зависимости их ростовых эффектов от возрастного состояния растений.

**РОСТ И РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ
ПРИ ПОВЫШЕННОМ СОДЕРЖАНИИ СВИНЦА В ПОЧВЕ**

Plant growth and development under the increased level of lead in a soil

Е.С. Роньжина, Е.А. Юдинцева

Калининградский государственный технический университет, г.
К а л и н и н г р а д
E-mail: ron-box@mail.ru

Среди токсичных элементов биосферы на территории Калининградской области наиболее распространен свинец, относящийся к первому классу опасности по степени воздействия на живые организмы. Кроме того, он оказывает негативное воздействие непосредственно на формирование урожая.

Поэтому целью настоящей работы явилось изучение роста и развития в онтогенезе двух важнейших сельскохозяйственных культур – бобов и пшеницы – в условиях загрязнения почвы различными дозами свинца (от 0.5 до 3.0 ПДК по валовому содержанию).

Для характеристики роста и развития были изучены следующие показатели: накопление сырой и сухой биомассы растений в онтогенезе, доля различных органов в общей биомассе растения, динамика роста листьев и суммарной листовой поверхности, формирование стебля и корня, скорость прохождения онтогенеза (сроки наступления той или иной фазы).

В целом, повышение уровня свинца в почве оказывало негативное влияние на все изученные параметры. Однако низкие дозы свинца несколько стимулировали рост и развитие растений, и лишь начиная с уровня свинца, равного 1.5 ПДК, рост и развитие растений тормозились, а сырая и сухая биомасса отдельных органов и целого растения уменьшалась.

Таким образом, данные, полученные при изучении роста и развития растений, свидетельствовали об обоснованности установленных ПДК свинца в почве. Однако по мере увеличения концентрации свинца в почве пропорционально возрастало его накопление в надземной части растений, в том числе в продуктах урожая. Так, даже при 0.5 ПДК содержание этого элемента в растениях было весьма существенным, а уже при 1.0 ПДК, т.е. разрешенной концентрации свинца в почве, уровень этого элемента в растительных тканях был настолько высок, что превышал ПДК, установленные для бобовых и зерновых культур.

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют об экологической опасности загрязнения окружающей среды соединениями свинца и о необходимости снижения установленной ПДК свинца в почве.

**ИЗМЕНЕНИЕ ТРАНСПОРТНОЙ АКТИВНОСТИ
ПРОТОННЫХ НАСОСОВ КЛЕТОК КОЛЕОПТИЛЕЙ
НА РАННИХ ЭТАПАХ РАЗВИТИЯ ПРОРОСТКОВ КУКУРУЗЫ**

**Changing in transport activity of coleoptile cells proton pumps
at early stages of maize seedlings development**

**Е.Л. Рудашевская, О.В. Танкелюн, А.А. Кирпичникова, Н.В. Шахова,
М.Ф. Шишова**

Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург
E-mail: shakhova-11@yandex.ru

Универсальным свойством живых клеток является активное поддержание внутриклеточного гомеостаза, в первую очередь постоянного уровня рН цитозоля. При этом участие протонов в развитии широкого спектра физиологических реакций позволяет рассматривать их в качестве компонентов (вторичных посредников) протонной сигнальной системы. Возвращение сигнальной системы к первоначальному состоянию, т.е. к исходному значению рН, может осуществляться с помощью различных механизмов, включающих ряд метаболических реакций, потребляющих или продуцирующих протоны, а также процессов трансмембранного транспорта ионов H^+ между цитоплазмой, внутриклеточными компартментами и апопластом. Активную транслокацию протонов в растительных клетках обеспечивают такие H^+ -насосы, как H^+ -АТФаза плазмалеммы (Р-типа; 3.6.3.6.), H^+ -АТФаза тонопласта (V-типа; ЕС 3.6.1.3), а также H^+ -пирофосфатаза вакуолярного типа (ЕС 3.6.1.1.). Все три перечисленных протонных насоса играют огромную роль в обеспечении жизнедеятельности растительной клетки, а также в ее способности воспринять сигнал и сформировать адаптивный физиологический ответ. Не вызывает сомнения, что они служат наиважнейшим звеном такого процесса, как рост растяжением, который является универсальным свойством растительных клеток и заключается в многократном увеличении размеров клетки и ее вакуолизации. Тем не менее, остается дискуссионным вопрос о вкладе каждого из трех протонных насосов в этот процесс и о возможном перераспределении их ролей в ходе развития и изменения ростовой активности.

Одной из моделей для исследования роста клеток растяжением являются coleoptили злака – быстро развивающиеся органы ювенильного проростка. В работе были использованы декапитированные coleoptили этиолированных 3-, 4- и 5-суточных проростков кукурузы (*Zea mays* L.), т.е. в период развития органа от перехода клеток к росту растяжением на третьи сутки до значительного снижения активности роста клеток и чувствительности ростовой

реакции к ауксину на пятые сутки. Ранее нами показано изменение гидролитической активности H^+ -АТФазы в процессе развития колеоптиля. В настоящем исследовании оценивалось изменение протон-транспортирующей активности H^+ -АТФазы Р-типа, а также H^+ -АТФазы и H^+ -пирофосфатазы вакуолярного типа в везикулярных препаратах соответственно плазмалеммы и эндомембран, полученных методом дифференциального центрифугирования с очисткой в градиенте плотности сахарозы. Интенсивность транспорта протонов оценивали с использованием флуоресцентных зондов: diS-C₃-(5), FITC-dextran и акридиновый оранжевый. Проведен сравнительный анализ транспортной активности трех протонных насосов. Показана наиболее высокая активность вакуолярной пирофосфатазы на начальных этапах роста растяжением. В процессе дальнейшего роста все больший вклад в транспорт ионов водорода вносят АТФазные насосы как тонопласта, так и плазмалеммы, с преобладающей активностью последней. При остановке роста активность всех протонных помп значительно снижается, но сохраняются их субстратная специфичность и чувствительность к ингибиторам, что свидетельствует о сохранении физиологического значения. Обсуждаются регуляторные механизмы, участвующие в перераспределении активностей протонных помп, и значение изменения их активности в метаболизме и энергетике клетки в связи с изменением ростовой активности органа.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты № 00-04-48551, 03-04-48167).

**ОСОБЕННОСТИ БИОХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ТКАНЕЙ
КАРЛИКОВОЙ И ВЫСОКОРОСЛОЙ ФОРМ ЯБЛОНИ СИБИРСКОЙ
MALUS BACCATA (L.) BORKH**

**Particularity of biochemical compounds of *Malus baccata* (L.) Borkh
dwarf and high forms**

**А.В. Рудиковский, Л.В. Дударева, Е.Г. Рудиковская, Н.А. Соколова,
А.В. Назарова**

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, г. Иркутск
E-mail: laser@sifibr.irk.ru

Работа выполнена в рамках исследований по выявлению и интродукции линий естественных карликов и суперкарликов. Эти линии представляют собой чрезвычайно интересный материал для научных исследований – микроэволюционные процессы, изучение генетических и биохимических основ карликовости, селекция карликовых подвоев и т.д. – и интродукции.

На территории Республики Бурятия одним из авторов была

обнаружена естественная популяция карликовой формы яблони сибирской. Методом микросателлитного генетического анализа установлено, что это именно популяция, а не клон одного дерева.

Известно, что рост растений регулируется системой фитогормонов, в том числе ауксинами. Проведенный методом хромато-масс-спектрометрии биохимический анализ тканей карликовой и высокорослой форм показал, что содержание ауксинов в высокорослой форме заметно (на 20 ± 1.5 %) превышает таковое в карликовой форме яблони сибирской. Кроме этого, тем же методом были показаны различия в содержании жирных кислот и степени их ненасыщенности в мембранных липидах изучаемых форм. Так, в высокорослой форме индекс ненасыщенности, характеризующий общее содержание полиеновых жирных кислот в ткани, составил 1.72, а в карликовой 1.55. Полученные результаты дают основания предположить, что изучение особенностей биохимического состава карликовой и высокорослой форм яблони сибирской является перспективным для поиска возможных путей формирования карликовости.

ВЛИЯНИЕ МЕТИЛЖАСМОНАТА НА ГОРМОНАЛЬНЫЙ СТАТУС РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ

The influence of methyljasmonat on hormonal status of wheat plants

А.Р. Сахабутдинова, Ф.М. Шакирова

Институт биохимии и генетики Уфимского НЦ РАН, г. Уфа

E-mail: *shakirova@anrb.ru*

Жасмоновая кислота и метилжасмонат (МЖ) – эндогенные регуляторы роста, характеризующиеся разнообразием проявлений физиологического действия в онтогенезе растений. Они участвуют в контроле старения листьев и созревания плодов, образования клубней, формирования пыльцы и развития цветка, накопления вторичных метаболитов; регулируют интенсивность ростовых процессов клеток, дифференцировку тканей и органогенез растений. Особое внимание к жасмонатам вызвано выявлением их ключевой роли в запуске индуцированной системной устойчивости (ИСУ) растений к патогенам и вредителям, в основе которой лежит индукция экспрессии защитных генов. В последнее время стали появляться сведения, убедительно свидетельствующие о вовлечении жасмонатов в формирование устойчивости растений к стрессовым факторам абиотической природы, что дает основание отнести жасмонаты к индукторам неспецифической устойчивости. Несмотря на интенсивные исследования физиологического действия жасмона-

тов, механизмы, лежащие в основе реализации разнообразия их регуляторного действия на растения, пока далеки от ясности.

Цель нашей работы – исследование влияния обработки МЖ на рост и гормональный статус растений пшеницы сорта Башкирская 24. В работе мы использовали предварительно отобранную по оценке энергии прорастания семян концентрацию МЖ, которая составила 10^{-7} М. МЖ в этой же концентрации проявил заметный ростстимулирующий эффект и при обработке 4-суточных проростков, о чем судили по увеличению сырой и сухой массы проростков. В связи с тем, что гормональная система играет определяющую роль в регуляции ростовых процессов растений, важно было оценить характер влияния МЖ на баланс фитогормонов. В ходе инкубирования проростков пшеницы на растворе МЖ каких-либо значимых изменений в уровне ИУК и АБК в корнях не было выявлено. В то же время, МЖ вызывал более чем 1.5-кратное транзитное накопление цитокининов с максимумом, приходящимся на 2 час, а к 6 час опытные и контрольные растения по содержанию цитокининов уже не различались. Как известно, цитокинины участвуют в регуляции разнообразных физиологических программ, включая активацию ростовых процессов и индукцию защитных реакций. В связи с этим, выявленный нами факт воздействия МЖ на количественный уровень цитокининовых гормонов дает основание рассматривать их в качестве важного регуляторного компонента в реализации эффектов, вызываемых обработкой жасмонатами.

Работа поддержана грантами РФФИ – Агидель № 05-04-97913, НШ 3692.2006.4.

ЦИТОКИНИНОВЫЙ ЭФФЕКТ У ФОТОТРОФНЫХ ПУРПУРНЫХ БАКТЕРИЙ И РАСТЕНИЙ ТАБАКА, ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ БИНАРНЫМ ВЕКТОРОМ pGA 482 С ГЕНОМ

Cytokinin effect in phototrophic purple bacteria and tobacco plants transformed by binary vector pGA 482 with *ipt* gene

О.П. Сердюк¹, Е.П. Иванова¹, Л.Д. Смолыгина¹, А.М. Бутанаев¹, Г.Н. Ширшикова¹, В.В. Алексеева², Е.Б. Рукавцова², Г.А. Семенова³, Я.И. Бурьянов²

¹ Институт фундаментальных проблем биологии РАН, г. Пущино
E-mail: olserdyuk@issp.serpukhov.su

² Филиал Института биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, г. Пущино

³ Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино

Отсутствие классических цитокининов у фототрофных пурпурных бактерий (ФПБ) было показано нами ранее. Недавно нами также обнаружено, *in silico*, что у ФПБ с полностью определенными

ми геномами отсутствуют белки, сходные по аминокислотным последовательностям с аннотированными бактериальными и растительными изопентенил-трансферазами. Мы пришли к выводу, что у ФПБ гены биосинтеза цитокининов отсутствуют или по каким-либо причинам не экспрессируются. Поскольку в данной ситуации идентификация гена биосинтеза цитокининов у пурпурных бактерий и его продукта изопентенилтрансферазы традиционными методами могла не дать результата, было решено трансформировать ФПБ вектором, несущим ген биосинтеза цитокининов и проследить за изменениями, происходящими в фототрофных бактериях.

В исследованиях использована фототрофная пурпурная несерная бактерия *Rhodospseudomonas palustris*. Бинарный вектор pGA482 для трансформации растений, содержащий ген *ipt* под контролем сильного конститутивного промотора вируса мозаики цветной капусты CaMV 35S, был сконструирован нами ранее. Источником гена *ipt* выбрана природная Ti-плазмида pTiVo542 из супервирulentного штамма *Agrobacterium tumefaciens* A281. Вектор содержит также полилинкер с несколькими сайтами для клонирования, стабильно поддерживается и мобилизуется в клетках *E. coli* и *A. tumefaciens* благодаря присутствию в плазмиде специфического сайта широкого круга хозяев pRK2, который используется в качестве челночного вектора для переноса различных генов между *E. coli* и ФПБ.

Методом конъюгации вектор был перенесен из *E. coli*, штамм S17, в клетки *Rps. palustris*. Наличие плазмиды в клетках бактерии было подтверждено ростом трансформированной пурпурной бактерии *Rps. palustris* только на средах с тетрациклином, в отличие от дикого штамма бактерии. Кроме этого, перенос тотальной ДНК, выделенной из пурпурных бактерий, в *E. coli* и последующий ДНК-электрофорез показали наличие в клетках *E. coli*, плазмиды 13400 п.о., что соответствует размеру pGA482 и гена *ipt*, 700 п.о.

Простыми и надежными методами доказательства экспрессии генов в трансформированных организмах являются выделение и идентификация их конечного продукта или выявление специфических для них физиологических эффектов. Исследование состава экзометаболитов у трансформированных клеток *Rps. palustris* показало отсутствие в среде культивирования классических цитокининов пуриновой природы, однако в трансформированных клетках присутствовал аденин, причем у фототрофно выращенных бактерий его было в 3.5 раза больше (1.5 мг/л), чем в культуральной жидкости темновой культуры. В нетрансформированных клетках аденин отсутствовал вовсе. Известно, что регуляцию уровня цитокининов в растениях осуществляет цитокининоксидаза, которая

приводит к необратимой деструкции цитокининов до аденина. На основании полученных и литературных данных можно предположить, что появление аденина среди экзометаболитов ФПБ связано с усиленным биосинтезом цитокининов. Известно свойство цитокининов усиливать биосинтез ДНК. Электронная микроскопия выявила большое количество нуклеоидов в трансформированных клетках ФПБ по сравнению с контрольными, что также возможно свидетельствует об экспрессии гена *ipt* в ФПБ. В трансформированных клетках наблюдалось частичное необратимое подавление биосинтеза бактериохлорофилла и каротиноидов. Ранее нами было показано, что у трансформированных вектором pGA 482 растений табака с конститутивной экспрессией агробактериального гена *ipt* также наблюдается подавление биосинтеза хлорофилла. Изучение белкового состава клеток *Rps. palustris* показало наличие новых полос у трансформированных клеток в низкомолекулярной области геля – от 10 до 18 кДа, в области 27 кДа (такой же молекулярный вес у изоопентенилтрансферазы) и в области 45-60 кДа (57.4 кДа – у цитокининоксидазы), а также подавление биосинтеза некоторых белков.

Учитывая полученные результаты, можно предположить, что фототрофные пурпурные бактерии могут быть использованы как модельные системы в исследованиях участия цитокининов и механизмов их действия в темновом и фотометаболизме, влияния различных внешних факторов на биосинтез цитокининов, эволюции биомолекул с последующей экстраполяцией всех этих данных на процессы в растениях.

**ВЛИЯНИЕ ОРИЗАЛИНА И АБСЦИЗОВОЙ КИСЛОТЫ
НА СКОРОСТЬ ВЕЗИКУЛЯРНОЙ СЕКРЕЦИИ
В КЛЕТКАХ КОЛЕОПТИЛЕЙ КУКУРУЗЫ**

**Effect of oryzalin and abscisic acid on the rate of vesicular secretion
in cells of maize coleoptiles**

Н.Ф. Синютина, Т.Е. Билова, Д.В. Суслов, О.В. Танкелюн
Биологический НИИ Санкт-Петербургского государственного
университета,
г. Санкт-Петербург
E-mail: fam-bio@mail.ru

Роль микротрубочек в регуляции роста и развития растений обусловлена их участием в механизме деления и растяжения клеток, так как они образуют митотическое веретено и регулируют

направление отложения микрофибрилл целлюлозы, обуславливающих анизотропные механические свойства клеточных стенок. Тем не менее реструктуризация микротрубочек в некоторых неделящихся клетках, влияющая на рост последних, не приводит к изменениям ориентации микрофибрилл целлюлозы, что свидетельствует о существовании дополнительных механизмов, посредством которых микротрубочки регулируют растяжение клеток. Одним из этих механизмов может быть влияние микротрубочек на везикулярную секрецию, обеспечивающую доставку структурных компонентов клеточной стенки и белков, регулирующих ее растяжимость.

Целью настоящего исследования было изучение влияния оризалина, специфического ингибитора микротрубочек растений, и фитогормона абсцизовой кислоты на скорость везикулярной секреции в клетках колеоптилей кукурузы. Скорость везикулярной секреции оценивали двумя независимыми способами: 1) анализ динамики секреции апопластных пероксидаз 5-мм отрезками 4-суточных этиолированных колеоптилей кукурузы в инкубационную среду; 2) анализ тока мембран в клетках этиолированных колеоптилей кукурузы от эндоплазматического ретикулума к плазмалемме с использованием *мио-2*-³H-инозитола как предшественника инозитолсодержащих липидов. Микротрубочки визуализировали иммунофлуоресцентным методом.

На протяжении 4-часовой инкубации с оризалином (5 мкМ) и АБК (100 мкМ) скорость роста отрезков колеоптилей кукурузы снижалась по сравнению с контролем на 30 и 60 % соответственно. Оризалин полностью устранял кортикальные микротрубочки уже на 2-й час инкубации растительной ткани, тогда как АБК не оказывала видимого влияния на их структуру и ориентацию на протяжении 4-часового инкубационного периода. Оризалин снижал активность апопластных пероксидаз, секретлируемых отрезками колеоптилей, на 14 % на 2-й и 3-й час инкубации. Эффект АБК был значительно сильнее: данный фитогормон ингибировал секрецию пероксидаз более чем в два раза после 1-часового лаг-периода. При анализе тока мембран с помощью *мио-2*-³H-инозитола оценивали распределение радиоактивной метки в мембранных фракциях, полученных при помощи высокоскоростного центрифугирования в градиенте плотности сахарозы, а также в инозитолсодержащих липидах этих фракций. О влиянии на ток мембран судили по изменениям отношения радиоактивности липидов фракции эндоплазматического ретикулума к фракции плазмалеммы (ЭР/ПМ) и к фракции аппарата Гольджи (ЭР/АГ). Обнаружили, что АБК не оказывает достоверного влияния на отношение радиоактивности ЭР/АГ, но повышает отношение радиоактивности ЭР/ПМ на 58%, тогда как оризалин увеличивает отношение радиоактивности ЭР/АГ и ЭР/ПМ на 84 и 41 % соответственно.

Таким образом, данные двух независимых методов свидетельствуют о влиянии оризалина и АБК на скорость везикулярной

секреции в клетках колеоптилей кукурузы. Эффект оризалина может быть связан с участием микротрубочек в регуляции секреции на стадии транспорта везикул от ЭР к АГ. Действие АБК на секрецию, по-видимому, не зависит от микротрубочек и осуществляется на стадии транспорта везикул от АГ к ПМ.

Работа выполнена при поддержке гранта INTAS № 01-51-6459.

**ВЛИЯНИЕ ЧУЖЕРОДНОЙ ЦИТОПЛАЗМЫ
У ГИБРИДОВ АЛЛОЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ
(*T. AESTIVUM* L.) НА БАЛАНС ФИТОГОРМОНОВ**

**The influence of alien cytoplasm on phytohormones balance
in allocytoplasmic wheat hybrids (*T. aestivum* L.)**

**И.В. Скоробогатова¹, О.Г. Семенов², Г.И. Карлов¹, Е.В. Захарова¹,
Н.П. Карсункина¹**

¹ Российский государственный аграрный университет
им. К.А. Тимирязева, г. Москва
E-mail: karlov@timacad.ru

² Российский университет Дружбы народов, г. Москва
E-mail: sog480@yandex.ru

Как известно, решающее значение в управлении онтогенезом растений и их продуктивностью имеют изучение и мониторинг их фитогормонального статуса. Механизм действия фитогормонов в клетке сводится, прежде всего, к активации специфических генов, ответственных за синтез необходимых ферментов. Генотип детерминирует гормональную регуляцию, которая, в свою очередь, оказывает на него существенное влияние и вместе с генетической регуляцией составляет основу эндогенного контроля при реализации наследственной программы растений.

Генетически регулируемые уровни эндогенных фитогормонов лежат в основе всех корреляций в организме. Для нормального роста необходимо не просто присутствие гормонов, а их определенное соотношение. При этом соотношение гормонов находится под влиянием средовых факторов. Характер проявления основных адаптивных реакций растений в онтогенезе определяется всей совокупностью наследственных факторов (идиотипом), при этом цитоплазматические детерминанты являются не только источниками генотипической изменчивости, но и оказывают большое влияние на характер онтогенетической адаптации растений. Создание новых генетических моделей пшеницы – гибридов аллоцитоплазматичес-

кой пшеницы (АЦПГ), различающихся типами чужеродной цитоплазмы, представляет удобную модель для изучения сложных процессов регулирования экспрессии генома растений. В наших исследованиях использован метод сравнения реципрокных (взаимных) гибридов, имеющих идентичный ядерный геном, но различающихся типами цитоплазмы, которая передается гибридам по материнской линии.

В качестве доноров чужеродной цитоплазмы использованы две константные линии яровой АЦПГ с различными типами цитоплазмы – *T. timopheevi* и *Secale cereale* L. (озимая рожь Вятка). Вторым компонентом для получения реципрокных гибридов взяты два яровых сорта пшеницы, различного эколого-географического происхождения – сорт SV 66342 (Швеция) и сорт Энита (Россия). Использование именно этих гибридных комбинаций (F_7) для определения их фитогормонального статуса объясняется тем, что даже в поздних гибридных поколениях (F_5 - F_7) у них проявляется ядерно-цитоплазматический гетерозисный эффект.

Изучение фитогормонов проводилось на 9-дневных проростках растений, выращенных на 1/2 смеси Кнопа. Содержание фитогормонов определяли в одной навеске растительного материала методами высокоэффективной жидкостной хроматографии (ИУК, ЦТК, АБК) и биотестирования (ГК). Интенсивность выделения этилена измеряли при помощи газового хроматографа.

Сравнение реципрокных гибридов позволило установить влияние чужеродной цитоплазмы на соотношение фитогормонов у гибридных растений. Так, сравнение реципрокных гибридных комбинаций с участием АЦПГ *T. timopheevi* и сорта SV66342, полученных прямым скрещиванием (на цитоплазме *T. timopheevi*), с гибридами, полученными в результате обратного скрещивания (на цитоплазме *T. aestivum* L.), выявило у них следующее соотношение фитогормонов: ИУК, АБК и ГК было больше у гибридов на чужеродной цитоплазме (*T. timopheevi*), тогда как уровень ЦТК и этилена был приблизительно одинаков.

Сравнение реципрокных гибридов с участием второй гибридной комбинации АЦПГ на цитоплазме *Secale cereale* L. показало следующее соотношение фитогормонов у гибридов, полученных прямым и обратным скрещиванием: ИУК, АБК, ЦТК и этилена также было больше у гибридов на чужеродной цитоплазме (*Secale cereale* L.).

Итак, сравнительное изучение указанных реципрокных гибридов показало более высокий уровень фитогормонального статуса у гибридов пшеницы с чужеродной цитоплазмой. Более активное функционирование у них системы внутренних природных регуляторов объясняет проявление у этих гибридных комбинаций ядерно-цитоплазматического гетерозисного эффекта.

ИНТРУЗИВНЫЙ РОСТ РАСТИТЕЛЬНЫХ ВОЛОКОН**Intrusive growth of plant fibers**

**А.В. Снегирева, М.В. Агеева, В.В. Сальников, А.В. Анисимов,
В.Н. Воробьев, Т.А. Горшкова**
Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, г. Казань
E-mail: *Snegirevan@inbox.ru*

Известно два основных типа роста растительных клеток: координированный (или симпластический) и интрузивный. Интрузивно растущая клетка опережает рост сопредельных тканей, внедряясь между окружающими ее клетками. Интрузивный рост характерен для клеток нескольких растительных тканей, при этом классическим примером служат волокна склеренхимы.

Интрузивный рост растительных клеток отчасти напоминает рост аксонов и дендритов животных, однако механизмы его осуществления существенно иные, в частности, из-за наличия клеточной стенки. Различаться также могут и движущие силы, и механизмы реализации, и способы регуляции, сведения о которых на сегодняшний день практически отсутствуют. Этот пробел во многом объясняется тем, что непосредственное наблюдение интрузивного роста затруднено, а выделение интрузивно растущих клеток в количествах, достаточных для биохимического и молекулярно-генетического анализа, практически невозможно. Причин для этого несколько. Во-первых, интрузивный рост осуществляется клетками, находящимися в толще других тканей. Во-вторых, клетки имеют на этой стадии биогенеза тонкую клеточную стенку, что делает их чрезвычайно хрупкими. Важно найти подходы, которые позволят изучать интрузивный рост волокон и влияние на него различных факторов на живых растущих растениях, или попытаться осуществить интрузивный рост волокон *in vitro*, как это было сделано для пыльцевой трубки, но до сих пор никем не продемонстрировано для волокон.

Удобным объектом для исследования интрузивного роста могут служить флоэмные волокна льна. Волокна растут интрузивно только до «точки слома» – участка стебля, где резко меняются его механические свойства. Продолжительность такого роста составляет около двух дней. За это время волокна достигают длины до 10 см. Ранее считалось, что волокна формируются путем длительного апикального роста, совмещенного с отложением вторичной клеточной стенки в срединной части клетки. В результате проведенных комплексных исследований пересмотрены представления о характере формирования этих клеток. Обнаружено, что у первич-

ных флоэмных волокон льна, как и у большинства других клеток, удлинение и формирование вторичной клеточной стенки практически разделены по времени.

Одним из отличий концевое и диффузное типов роста является сопоставление структуры цитоплазмы кончика клетки и ее срединной части. Известно, что в растущих апикально клетках можно выделить несколько зон, различающихся по структуре цитоплазмы. Анализ ультраструктуры флоэмного волокна льна на стадии интрузивного роста позволил обнаружить, что в этой клетке не наблюдается зонального расположения органелл. В апикальной части нет предпочтительного накопления везикул Гольджи. Диктиосомы и ЭПР равномерно распределены в цитоплазме волокна. Волнистый контур плазмалеммы на всем протяжении длины волокна позволяет предположить, что отложение нового материала не ограничивается кончиком клетки. Микротрубочки, наблюдаемые в кончике волокна, в отличие от клеток с концевым ростом, имели поперечную ориентацию. На основании совокупности данных был сделан вывод о том, что в ходе интрузивного удлинения волокно растет диффузно.

Нами разработан подход для характеристики интрузивного роста *in situ*. Так как интрузивно растущая клетка внедряется между окружающими ее клетками, происходит увеличение числа мембран на поперечном срезе растения. Этот показатель может быть охарактеризован методом спинового эха ЯМР в сочетании с импульсным градиентом магнитного поля. Неудачные попытки поддержать интрузивный рост *in vitro* и серия экспериментов с использованием метода ЯМР позволили сделать вывод о том, что волокна хорошо «общаются» между собой. Так, поранение части волокон останавливает интрузивный рост даже тех волокон, которые не задеты и расположены на расстоянии нескольких сантиметров от места воздействия. Кроме того, в «точке слома» все волокна прекращают расти, хотя утолщение клеточной стенки начинается лишь у части волокон, расположенных во внешней части пучка, а значит, не может быть лимитирующим фактором для роста остальных волокон. Следовательно, можно говорить о кооперативном поведении волокон, при котором должна существовать система передачи сигнала между клетками. Сигнал передается не по симпласту, так как уже на стадии интрузивного роста волокон плазмодесмы разрушаются. Одной из систем регуляции может быть электрофизиологическая. В серии экспериментов установлено, что участки стебля, имеющие сходную анатомию, но содержащие волокна на разных стадиях развития, резко отличаются по параметрам биоэлектрогенеза.

**ДЕЙСТВИЕ СЕЛЕНА НА РОСТОВЫЕ ПРОЦЕССЫ И ПРОЯВЛЕНИЕ ПОЛА
У ДВУДОМНЫХ РАСТЕНИЙ КОНОПЛИ****Selenium influence on growth and sex expression of dioecious hemp plants****С.А. Солдатов, В.Н. Хрянин**Пензенский государственный педагогический университет
им. В.Г. Белинского, г. Пенза
E-mail: *egf@sura.ru*

В целях изучения действия селена на рост, развитие и дифференциацию пола у растений были проведены опыты с культурой изолированных зародышей. В качестве объектов исследования были взяты разные сорта двудомной конопли. Обнаружено, что величина и направленность эффекта действия селена на процессы роста и развития растений конопли зависели от доз микроэлемента в среде выращивания, а также от сортовых особенностей растений. Селен в оптимальных концентрациях положительно влиял на рост и развитие растений конопли разных сортов. У опытных растений стимулировался не только рост побега, но и рост корня. Так, селенат натрия, введенный в питательную среду, стимулировал рост зародышей конопли: побега на 7.2-46.8 %, корня на 14.8-56.6. Разница в высоте растений и длине корней между контролем и опытом наблюдалась уже на восьмой день выращивания. Выяснилось, что для стимуляции роста корня необходимы более низкие концентрации селена в среде выращивания, чем для роста побега. У опытных растений среднеспелого сорта микроэлемент ускорял начало бутонизации на пять-шесть дней по сравнению с контролем. Добавление к питательной среде селената натрия индуцировало появление женских растений. Наибольший сдвиг в сторону женского пола был отмечен у среднеспелого сорта «Зеница» (71.8-78.6 % в опыте при 40.0 % в контроле). В ходе лабораторных опытов подтвердилось, что воздействие микроэлемента на ростовые процессы растений конопли зависело от концентрации селената натрия в среде. Использование наиболее концентрированных растворов вызывало ингибирование процесса прорастания семян и последующий рост растений. Стимулирующее действие селената натрия в большей степени сказалось на росте побега, чем на росте корней. При этом в действии селена проявилась сортоспецифичность. Максимальная стимуляция селенатом натрия роста корней и побега наблюдалась при различных для каждого сорта концентрациях. Для раннеспелого сорта «Кубанская ранняя» они составили 0.005 мМ, для среднеспелого «Зеница» – 0.0005 мМ, для позднеспелого «Славянка» – 0.00005 мМ. В оптимальных концентрациях селен проявил поло-

жительное действие на прирост сырой и сухой массы побега и корней относительно контроля. Так, у сорта «Кубанская ранняя» при концентрации соли в среде выращивания 0.05 мМ сырая и сухая масса корней в опыте увеличилась по сравнению с контролем на 178.0 и 69.1 % соответственно. У сорта «Зеница» при использовании селената натрия в концентрации 0.005 мМ сырая и сухая масса корней в опыте увеличилась по сравнению с контролем на 64.6 и 11.9 % соответственно. У сорта «Славянка» оптимальные для накопления биомассы концентрации соли были на порядок ниже и составили для корня – 0.00005 мМ (прибавка – на 94.9 и 57.1 % соответственно). После установления ростостимулирующего эффекта селена на растения конопли нами поставлена серия опытов по выяснению действия микроэлемента на митотический индекс (МИ) апикальных корневых меристем. Было установлено, что селенат натрия влияет на митотическую активность меристем корней проростков конопли. Воздействие оптимальных доз селената натрия приводит к интенсификации клеточных делений, увеличивая МИ корневых меристем у сорта «Кубанская ранняя» на 57.3 %, у сорта «Зеница» – на 91.5, у сорта «Славянка» – на 115.4 по сравнению с контролем. У растений конопли всех трех сортов селенат натрия стимулировал более раннее начало митотических делений в опыте по сравнению с контролем. Применение растворов высоких концентраций снижает величину митотического индекса. Интенсификация клеточных делений обуславливает ростостимулирующий эффект селена на десятидневные проростки конопли, а также увеличение накопления опытными растениями сырой и сухой биомассы по сравнению с контролем. Но ростостимулирующий эффект селена на растения конопли не следует сводить лишь к усилению митотической активности меристем корней проростков. Так, например, средняя длина корней проростков в возрасте 34 час в опыте (0.0005 мМ) у сорта «Кубанская ранняя» составляла 7.1 мм (в контроле – 4.9 мм), у сорта «Зеница» – 5.7 мм (контроль – 3.0 мм), у сорта «Славянка» – 6.1 мм (контроль – 3.5 мм). Появление корня на фазе наклевывания не связано с активацией деления клеток. Дистальная часть корня выталкивается в результате растяжения клеток. На этом этапе важно накопление осмотически активных веществ в клетках и размягчение клеточных стенок за счет их подкисления протонами, выделяемыми из цитоплазмы плазмалемной H^+ -АТФазой, что усиливает рост клеток растяжением. Селен, вероятно, способствует усилению этих процессов.

**АДАПТАЦИОННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ КЛЕТОЧНЫХ СТЕНОК
МЕЗОФИЛЛЬНЫХ КЛЕТОК В ОНТОГЕНЕЗЕ ЛИСТА ЗЛАКА****Adaptive variability of the mesophyll cells walls
during grass leaf ontogenesis****В.А. Спивак, Е.В. Гулина¹, Б.Г. Быховцев**Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского,
г. Саратов¹ Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова,
г. СаратовE-mail: ev-gulina1@yandex.ru

Развитие листа – процесс динамичный, осуществляющийся при постоянном изменении условий окружающей среды. Процесс формирования мезофилла злаков по длине листовой пластинки в значительной степени варьирует, что приводит к различиям размеров, формы, фотосинтетической активности клеток мезофилла.

Мезофилльная клетка злака с момента возникновения достигает конечных размеров диаметра раньше, чем длины. Это связано не только с особенностями формы листовой пластинки, но и интеркалярным типом ее роста. Более того, рост листовой пластинки – процесс ритмичный, характеризующийся спадами и подъемами ростовой активности, которые четко выделяются морфологически у некоторых видов злаков.

Лист злаков в онтогенезе проходит несколько периодов, включая скрытый и видимый рост. Клетки мезофилла во время скрытого роста листовой пластинки характеризуются прозенхимной формой и еще не образуют складок клеточной стенки. Такое состояние обусловлено тем, что в этот период клетки находятся в фазе растяжения и активно потребляют как питательные вещества, так и воду для поддержания метаболических и ростовых процессов.

Переход листа на видимый рост и автотрофный способ питания приводят к тому, что поверхность клеточных стенок плотно прилегающих друг к другу клеток мезофилла становится складчатой. Таким образом, с одной стороны, в клетке увеличивается площадь плазмалеммы, с другой – поверхность клеточной стенки. В результате складчатости клеточных стенок происходит формирование определенного объема межклеточных полостей, необходимого для эффективного осуществления процессов газообмена и транспирации. Неравномерное распределение в листовой пластинке пшеницы клеток, различающихся архитектоникой и размерами, указывает на то, что в процессе развития листа форма клетки возникает под действием определенных механических нагрузок, испытываемых элементами всех уровней организации. Складчатые клетки мезо-

филла злаков среди отечественных физиологов нередко называются ячейстыми ввиду повторяемости ограниченного, но не изолированного складками клеточной стенки, элементарного пространства. В классической механике, конструкция подобной формы, созданная из эластичного материала и подкреплённая кольцевыми элементами таким образом, что создается гофрированная поверхность, имеет название – подкреплённая одноосная цилиндрической оболочка. Такая оболочка при определенных условиях призвана воспринимать лишь одно из главных натяжений – окружное, а нагрузка от внутреннего давления приходится на элементы складки.

В модельных системах при описании напряженного состояния мягких оболочек цилиндрической формы пользуются такими показателями, как окружное и меридиональное натяжения, раскройный радиус цилиндрической оболочки, избыточное внутреннее давление, конструкционный угол. Наиболее эффективные величины конструкционных углов при разработке модельных конструкций находятся в пределах от 45 до 85°. Форма складчатой клетки мезофилла более сложна в интерпретации, чем форма модельных объектов. Поэтому мы на данном этапе исследования в качестве оценочных показателей выбрали сумму двух конструкционных углов и расстояние между вершинами соседних ячеек клеток мезофилла. Проростки разных видов пшеницы, выращенные на свету, имели тенденцию к снижению суммарных размеров конструкционных углов с 137°77' и 124°34' на третьи сутки культивирования до 84° и 73°61' на двенадцатые сутки, соответственно. Отсутствие света приводило к возрастанию размеров углов, которые в те же сроки имели значение: 149°, 141° и 159°67', 147°67', соответственно. На основании полученных результатов можно сделать вывод, что конструкционные углы, образованные клеточной стенкой мезофилльных клеток, как правило, имеют значения, рекомендуемые в классической механике или близкие к ним.

Таким образом, наряду с развитием фотосинтетического аппарата и становлением функции фотосинтеза происходят ростовые процессы, которые не заканчиваются с накоплением хлорофилла и дифференциацией хлоропластов, а продолжают до момента установления соответствия между фотосинтезом и водообеспечением листа. Отсутствие света не приводит к остановке роста клеток мезофилла, поэтому в темноте лист продолжает увеличиваться в размерах, но в этом случае даже после отгиба листовая пластинка не разворачивается. Образование складчатых клеток имеет прямую связь с внутренней организацией тканей листовой пластинки. Мощное развитие сосудисто-волокнистых пучков и склеренхимы в листе является показателем возрастания механической нагрузки и приводит к образованию более глубоких складок у клеток мезофилла.

**РОЛЬ HSP60 В РАЗВИТИИ ПРОГРАММИРУЕМОЙ КЛЕТОЧНОЙ СМЕРТИ
У *ARABIDOPSIS THALIANA*****The role of Hsp60 in the development
of *Arabidopsis thaliana* programmed cell death**

А.В. Степанов, Т.М. Русалёва, Н.Н. Варакина, И.В. Федосеева, Е.Г. Рихванов,
Г.Б. Боровский, В.К. Войников

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, г.
Иркутск

E-mail: saw33@list.ru

Белки теплового шока (Hsp) играют важную роль в развитии приобретенной термотолерантности животных и растений, защищая клетки от гибели при жестком тепловом шоке. Показано, что у животных такие белки, как Hsp70, Hsp28, Hsp60 и Hsp90 играют антиапоптозную роль, ингибируя развитие программируемой клеточной смерти (ПКС). Однако в последнее время появились сообщения о том, что Hsp60 у животных наряду с антиапоптозной может играть также и проапоптозную роль. В нормальных условиях Hsp60 локализуется в митохондриях клеток и участвует в переносе синтезированных в цитозоле белков в митохондрии и их последующем рефолдинге, однако в стрессовых условиях Hsp60 может выходить в цитоплазму и участвовать в каскаде реакций, активирующих развитие ПКС у животных. К настоящему моменту в литературе нет информации об антиапоптозной или проапоптозной роли растительных Hsp.

В связи с этим задачей нашего исследования было изучить роль Hsp60 в развитии ПКС у *Arabidopsis thaliana* при жестком тепловом шоке. Для этого мы исследовали индукцию синтеза Hsp60 и изменение его локализации в клетке при жестком тепловом шоке, вызывающем развитие ПКС у культуры клеток *A. thaliana*.

В работе использовали 8-дневную культуру клеток *A. thaliana* экотип *columbia*. Белки разделяли с помощью SDS-электрофореза в ПААГ, идентификацию белков осуществляли с помощью Вестерн-блоттинга с соответствующими антителами. Выживаемость клеток оценивали методом восстановления ТТХ (2,3,5-трифенилтетразолиум хлорид). В качестве маркеров апоптоза использовали выход из митохондрий в цитоплазму цитохрома *c* и фрагментирование ядерной ДНК (ДНК-ладдеринг).

Исследование тотального белка показало, что при увеличении жесткости теплового воздействия синтез Hsp60 плавно увеличивался на протяжении всего диапазона используемых температур. Повышение синтеза Hsp60 обратно пропорционально коррелировало со снижением выживаемости клеток. В то время как белки

Hsp101 и Hsp17,6 (класс 1), определяющие развитие индуцированной термотолерантности, синтезировались только при мягком не повреждающем тепловом шоке (37 °C).

На следующем этапе, используя метод дифференциального центрифугирования, отделяли митохондриальную фракцию белков от цитоплазматической. Результаты исследований показали, что с увеличением стресса Hsp60 и цитохром *c* выходят из митохондрий, и обнаруживаются в цитоплазматической фракции. Интересно, что предварительный мягкий тепловой шок блокировал выход Hsp60 из митохондрий при 50 °C, но не имел значительного влияния на выход цитохрома *c*. Обнаруженное блокирование выхода Hsp60 в цитоплазму хорошо согласовалось с повышенной термотолерантностью клеток.

Таким образом, полученные результаты позволяют предположить, что Hsp60 у высших растений и в частности у исследованного нами *A. thaliana* в отличие от других изученных Hsp в определенных условиях способен играть проапоптотную роль, а выход цитохрома *c* и Hsp60 из митохондрий в цитоплазму, возможно, происходит двумя независимыми путями, хотя механизм такого действия для нас остается во многом непонятным, поэтому для выяснения этого вопроса нужны дополнительные исследования.

**ВЛИЯНИЕ ИУК И КИНЕТИНА
НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА
МЕРИСТЕМНЫХ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ (*SOLANUM TUBEROSUM* L.)**

**Influence of iAA and kinetin on oxidative metabolism enzyme activity
of meristem potato plants (*Solanum tuberosum* L.)**

О.В. Страшкевич, Т.Г. Янчевская, А.Н. Гриц
Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича
НАН Беларуси, г. Минск
E-mail: assolia@gmail.com

Клубни картофеля представляют собой уникальный биологический объект. Все запасные белки клубней закодированы в одном локусе восьмой хромосомы и содержат 40-50 генов, экспрессирующих данные белки. В сортовом полиморфизме закодирована специфичность каждого сорта в отношении устойчивости или восприимчивости к болезням, к абиотическим факторам внешней среды, а также продуктивности.

Известно, что обработка фитогормонами приводит к перестройке белкового состава в различных тканях и органах растений. Изменение белковых спектров в клубнях картофеля свидетельствует о

регуляции экспрессии генома растения, которое служит важным диагностическим критерием действия фитогормонов. С целью изучения изменений в белковых спектрах при действии фитогормонов исследовалось их последствие при обработке листьев на запасающие белки клубней картофеля среднеранних сортов белорусской селекции.

Согласно полученным данным, при обработке ИУК в концентрации 5 мг/л листьев укореняющихся регенерантов меристемных растений при микроклонировании, в клубнях происходит изменение фракций предположительно белковых ингибиторов, которые находятся в области молекулярных масс 18-24 кДа. Из литературных источников известно, что эта область молекулярных масс на электрофореграммах белков может представлять собой разные классы сериновых протеиназ и состоит из шести-восьми полипептидов. В своих экспериментах при обработке ИУК мы наблюдали количественное увеличение белковых полос в данных фракциях.

При обработке кинетином (5 мг/л), помимо увеличения количественного содержания фракций протеиназных ингибиторов, наблюдается также появление новой полосы по отношению к контролю в области 23 кДа.

В результате проведенных экспериментов выявлены хорошо заметные различия в полипептидах клубней апикальных и базальных регенерантов картофеля. В белковых спектрах клубней, полученных из базальных черенков, наблюдается увеличение количественного содержания белков 18 и 24 кДа, определяемое с использованием компьютерной программы TotalLab v2.01.

Полученные различия в спектрах белков клубней в ответ на экзогенное действие гормонов практически не зависели от исходного эндогенного содержания фитогормонов в регенеранте (апикальный, средний, базальный).

Учитывая уникальность клубня картофеля, как объекта исследования, нами были изучены изменения активности специфических белков, возникающие в ответ на стрессы различной этиологии.

Согласно литературным данным, СОД (супероксиддисмутаза) является важным компонентом антиоксидантной системы, реагирующей на стрессовые воздействия. В клубнях картофеля в наших экспериментах молекулярные формы СОД были представлены семью изоферментами, различия количественного и качественного содержания которых зависели от исходного содержания эндогенных фитогормонов в регенеранте.

Клубни, полученные из апикальных и базальных регенерантов, отличаются различной интенсивностью определенных молекулярных форм СОД из числа нами выявленных. Причем обработка ИУК

не приводила к изменениям в составе молекулярных форм СОД. При обработке кинетином наблюдается количественное увеличение молекулярных форм СОД в 4.5 раза по сравнению с контролем, появление новых форм и тотальное увеличение всех форм СОД.

Резюмируя полученные результаты, можно заключить, что обнаружено специфическое последствие ИУК и кинетина на активность СОД в клубнях картофеля. При обработке кинетином наблюдается сильная активация молекулярных форм СОД, а обработка ИУК не влияет на активность и динамику молекулярных форм СОД.

Полученные результаты могут свидетельствовать в пользу того, что различия количественного и качественного содержания СОД может отражать весь спектр изменений при воздействии внешних и внутренних факторов на вегетативных стадиях онтогенеза растения.

МОРФОГЕНЕЗ *IN VITRO* СЕЛЕКЦИОННО-ЦЕННЫХ ГЕНОТИПОВ КУКУРУЗЫ

The morphogenesis *in vitro* of elite genotypes of corn

Д.Е. Струнин, Л.Е. Сергеева

Институт физиологии растений и генетики НАН Украины, г. Киев

Традиционным подходом при проведении работ по регенерации кукурузы *in vitro* является использование каллусной культуры, полученной из незрелых зародышей. При этом формирование эмбриогенного каллуса в ходе культивирования первичных эксплантатов обеспечивает высокую частоту регенерации. Однако способность к образованию эмбриогенного каллуса из этого эксплантата – признак, присущий далеко не всем генотипам, что налагает определенные ограничения на использование методов регенерации, основанных на использовании незрелых зародышей кукурузы. Таким образом, спектр генотипов, в отношении которых возможно применение указанного подхода, достаточно узок, следствием чего является невозможность получения регенерантов от ряда селекционно-ценных генотипов.

Альтернативный подход состоит в разработке методов, обеспечивающих высокий выход регенерантов в применении к отдельно взятому генотипу, нивелирующих генотипическую зависимость регенерационной способности. Это достигается путем оптимизации состава питательных сред, а также подбором эксплантатов, обладающих высоким регенерационным потенциалом.

В нашей работе мы использовали генотипы Л-250, Л-370, Л-

390, Л-391, Комета и Пионер селекции Института физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины. Работа проводилась с использованием двух типов эксплантатов – незрелых зародышей и различных частей 7-дневных проростков кукурузы. Эксплантаты после выделения помещали на питательные среды различного состава и культивировали при постоянной температуре в отсутствии освещения.

Для каждого из названных генотипов было выделено от 150 до 200 зародышей. Приблизительно на 10-й день культивирования отмечено начало каллусообразования, частота которого, в зависимости от генотипа, варьировала в пределах 46.4-98.6 %. В отношении всех исследуемых генотипов зарегистрировано определенное сходство в морфологии каллуса: в подавляющем большинстве случаев каллус характеризовался как светлоокрашенный, рыхлый, неправильной сферической формы. На 35-40-й день после начала культивирования для всех исследуемых генотипов было зафиксировано массовое образование корней. Частота ризогенеза варьировала в пределах 88.6-100 %. Случаев побегообразования ни для одного из изучаемых генотипов зарегистрировано не было, что свидетельствует о низком регенерационном потенциале изученных генотипов.

Для поиска первичных эксплантатов генотипов Л-250, Л-370, Д-390, Л-391 и Пионер, обладающих достаточным уровнем тотипотентности, была применена методика получения регенерантов, основанная на использовании различных частей проростка кукурузы, полученных из зрелых зерновок. Части проростков культивировали на модифицированной среде №6. Нами было установлено, что процессы каллусогенеза, ризогенеза и побегообразования в большинстве случаев протекают параллельно, это касается всех генотипов, за исключением генотипа Л-250 – в этом случае корнеобразование не отмечалось. Наиболее стабильная частота побегообразования для генотипов Л-250, Л-370, Л-390, Л-391 и Пионер наблюдалась из медиальной части проростка. Эта величина изменялась в пределах 20.0-28.6 %. Важным обстоятельством является то, что для всех исследуемых генотипов отмечено небольшое варьирование частоты побегообразования при регенерации из медиальной части проростка, в то время как частота побегообразования из апикальной и базальной частей проростка для каждого из исследуемых генотипов изменялась в широких пределах.

Дальнейшие исследования будут направлены на оптимизацию состава питательных сред и условий культивирования, что обещает получение надежной регенерационной системы, необходимой для использования в работе по генетической трансформации кукурузы.

**ПРИНЦИП ОПЕРЕЖАЮЩЕГО ОТРАЖЕНИЯ ДЕЙСТВИТЕЛЬНОСТИ
В РЕГУЛЯЦИИ ОНТОГЕНЕЗА ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ****Principle of outstripping reality reflection in ontogenesis control of higher plants****И.Г. Тараканов**Российский государственный аграрный университет –
МСХА им. К.А. Тимирязева, г. Москва
E-mail: *ivatar@yandex.ru*

Приспособление растений к изменяющимся условиям внешней среды осуществляется через их свойства раздражимости и способность к саморегуляции. Взаимодействие организма с внешней средой зависит от характера изменения ее параметров (апериодические или ритмические, предсказуемые изменения). Реакции на апериодические воздействия носят запаздывающий (релаксационный) характер. В реакции на ритмические изменения внешней среды (суточные, годовые) важное значение имеет свойство опережающего отражения действительности. Оно выражено в различной степени у представителей разных уровней организации живой материи. Наибольшее развитие механизмы такого рода реакций получили у организмов с высшей нервной деятельностью, которые рассматриваются как самообучающиеся системы с аппаратами поиска и прогнозирования. У растений предполагается наличие аналогов афферентного синтеза, работающих на основе различных физических и химических воздействий. Общим для всех форм является сигнальный характер данной реакции. Организм, воспринимая начальные воздействия в ряду ритмически повторяющихся явлений внешней среды, реагирует как бы на весь ряд, изменяясь таким образом, чтобы заранее приспособиться к жизненно важным изменениям в этом ряду. Начальные воздействия играют роль сигналов по отношению к дальнейшим существенным для жизни воздействиям.

Классическим примером опережающего отражения действительности является фотопериодическая реакция растений. Естественные изменения длины дня, направленность которых (сокращение или увеличение) меняется раньше, чем напряженность жизненно важных факторов среды, играют роль сигналов, обеспечивающих организм информацией о предстоящих сезонных изменениях таких факторов. Фотопериодическая реакция является приспособлением ко всему годовому ритму изменений условий окружающей среды и играет ключевую роль в реализации репродуктивных стратегий растений.

Приспосабливаясь к окружающей среде, растительный организм периодически оценивает, «сканирует» ее. При этом используются сигналы, несущие информацию о характере действия и напряженности внешних факторов. Полученные рецепторами сигнала

лы «дешифрируются», и с учетом содержащихся в них сведений далее происходит коррекция работы ростовых центров, а в случае триггерных систем – переключение с одной генетической подпрограммы развития на другую. Дифференциальная активация генов в онтогенезе представляет собой выбор пути развития системы из числа потенциально возможных. Механизмы, основанные на принципе опережающего отражения действительности, обеспечивают смену состояний растительного организма в онтогенезе (прорастание семян, переход из ювенильного состояния в цветочноспелое – появление компетенции к индуктивным воздействиям – переход к генеративному развитию).

Явление опережающего отражения действительности лежит в основе ранних реакций растений в синдроме избегания затенения. Еще до реального ухудшения световых условий в развивающемся ценозе у растений активизируется развитие светособирающего аппарата, затрагивающее строение листьев, адаптационные изменения пигментного комплекса, вытягивание побегов у растений со стратегией конкурентов или уход в состояние покоя у стресс-толерантов. Сигналом для запуска этих реакций является изменение спектрального состава отраженного соседними растениями света.

Интересно отметить, что механизм опережающего отражения действительности обуславливает реализацию сходных программ роста и развития в рамках жизненных стратегий как в случае фотопериодической реакции, так и в синдроме избегания затенения. Можно говорить о явлении кросс-адаптации в ответ на действии разных сигналов о предстоящем изменении условий окружающей среды.

**РАСТЯЖЕНИЕ ГИПОКОТИЛЯ У РАЗНЫХ ГЕНОТИПОВ
ГОРЧИЦЫ САРЕПТСКОЙ *BRASSICA JUNCEA* (L.) COSS.
ПОД ДЕЙСТВИЕМ ГИББЕРЕЛЛИНА В ЗАВИСИМОСТИ
ОТ СООТНОШЕНИЯ КРАСНОГО И ДАЛЬНЕГО КРАСНОГО СВЕТА**

**Hypocotyl elongation in various genotypes
of indian mustard *Brassica juncea* (L.) Coss.
in response to gibberellin as affected by red : far-red light ratio**

И.Г. Тараканов, К.Б. Игнатов
Российский государственный аграрный университет
им. К.А. Тимирязева, г. Москва
E-mail: ivatar@yandex.ru

Изменение спектрального состава света в растительном сообществе в результате поглощения и отражения физиологической радиации оказывает значительное влияние на рост и развитие рас-

тений. В частности, изменение соотношения красного и дальнего красного света является сигналом для запуска реакций синдрома избегания затенения. Обсуждается роль гиббереллинов в трансдукции светового сигнала, воспринимаемого фитохромами. Вероятными механизмами регуляции процессов роста в этих условиях являются активация биосинтеза гиббереллинов под управлением фитохрома и управляемая фитохромом чувствительность тканей-мишеней к гиббереллинам. Рассматривается также возможность параллельного функционирования различных механизмов.

Удобным объектом для изучения чувствительности растений к гиббереллинам при регуляции ростовых реакций синдрома избегания затенения является процесс усиливающегося в этих условиях растяжения гипокотыля. Целью настоящей работы было изучение зависимости от соотношения красного (К) и дальнего красного (ДК) света реакции растяжения гипокотыля под действием гиббереллина A_3 у разных биотипов из сортовой популяции горчицы сарептской Краснолистая. В работе использовались линии *ant*, *epi* и *ros*, различающиеся по уровню фотопериодической чувствительности и скорости начального роста у ювенильных растений. Разное соотношение К : ДК (1.89 и 2.51) достигалось за счет варьирования светового потока от люминесцентных ламп и ламп накаливания.

Растения изучаемых линий различались по уровню чувствительности к экзогенному GA_3 . Наиболее высокий прирост по сравнению с контролем отмечался у линии *ant*, наименьший – у *epi*. Первый генотип характеризуется наименьшей интенсивностью начального роста в контроле, а второй – наибольшей. Максимальный прирост по сравнению с контролем при К : ДК = 2.51 наблюдался у *ant* при концентрации GA_3 10^{-4} М, у *epi* при 10^{-5} М, у *ros* при 10^{-3} М. Соответственно, при К : ДК = 1.89 насыщение реакции наступало при 10^{-5} М, 10^{-6} М и 10^{-4} М. Таким образом, на фоне повышенного содержания ДК в спектре у всех линий повысилась чувствительность к экзогенному гиббереллину. Проростки *epi* менее чувствительны к GA_3 (это заметно по слабому приросту по отношению к контролю и по низким оптимальным концентрациям GA_3) из-за высокого естественного уровня гиббереллинов. Напротив, у проростков *ros* насыщение реакции на экзогенный GA_3 в диапазоне повышенных концентраций обусловлено невысокой активностью эндогенных гиббереллинов.

Разный уровень чувствительности биотипов в составе популяции к соотношению К : ДК в спектре поступающего к растениям излучения, а также к гиббереллинам, влияет на различия в ритмике роста растений в условиях ценоза, обуславливая их разнокачественность по габитусу и семенной продуктивности.

**ВЛИЯНИЕ ФИТОГОРМОНОВ НА РАННЕЕ РАЗВИТИЕ
МОРСКОЙ БУРОЙ ВОДОРΟΣЛИ *FUCUS VESICULOSUS* L.****The influence of the phytohormones on early development
of marine brown alga *Fucus vesiculosus* L.****Е.Р. Тараховская, Ю.И. Маслов**Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург
E-mail: dialea@inbox.ru

Влияние фитогормонов на рост и развитие растительных организмов в настоящее время исследуется почти исключительно на высших растениях. В то же время фитогормоны присутствуют и, несомненно, играют важную роль и в представителях различных групп водорослей. Особенно это касается макрофитных водорослей, характеризующихся, по мнению многих исследователей, тканевой структурой таллома. К таким растениям относится широко распространенная в северных морях бурая водоросль *Fucus vesiculosus* L. Процессы оплодотворения и эмбриогенеза этой водоросли происходят в воде, независимо от тканей материнского организма, и в лабораторных условиях возможно получение и длительное поддержание синхронной культуры эмбрионов. Вследствие этого эмбрионы *F. vesiculosus* являются удобным объектом для изучения процессов регуляции дифференцировки и развития растительного организма.

В нашей работе исследовано влияние фитогормонов индолил-3-уксусной кислоты (ИУК), кинетина, гибберелловой кислоты (ГК) и абсцизовой кислоты (АБК) на следующие процессы: поляризация и прорастание зигот *F. vesiculosus*, рост эмбрионов, интенсивность дыхания, содержание фотосинтетических пигментов и рибулособисфосфаткарбоксилазы/оксигеназы (Рубиско), интенсивность фотосинтеза, активности фотосистем (ФС) I и II. Показано, что ИУК (10^{-5} М) стимулирует поляризацию зигот и усиливает рост ризоидальных частей эмбрионов примерно на 10 %. Кинетин в той же концентрации оказывает противоположный эффект, замедляя прорастание зигот фукуса и ускоряя первое деление, что в некоторых случаях приводит к появлению неполярных эмбрионов. В присутствии кинетина объем ризоидальных частей эмбрионов через 48 ч после оплодотворения почти на 40 % меньше, чем в контрольном варианте. ГК и АБК не оказывают существенного влияния на динамику поляризации зигот и роста эмбрионов *F. vesiculosus*. На содержание фотосинтетических пигментов в эмбрионах фукуса наиболее значительное действие оказывают кинетин и АБК. Кинетин вызывает повышение содержания хлорофиллов; воздей-

ствие АБК (10^{-5} М), напротив, приводит к резкому снижению количества этих пигментов. Под воздействием ауксина происходит некоторое снижение содержания пигментов, однако при внесении в среду одновременно ИУК и кинетина, содержание хлорофиллов, особенно хлорофилла «а», не только не снижается, но увеличивается сильнее, чем под действием одного кинетина. В большинстве случаев изменения, индуцированные гормонами, касаются хлорофиллов и практически не затрагивают каротиноиды. Исключением является только АБК, вызывающая значительный прирост суммарного количества каротиноидов. Содержание Рубиско в эмбрионах фукуса существенно возрастает при обработке водорослей кинетином и, особенно, кинетином вместе с ИУК. Сам по себе ауксин вызывает небольшое снижение количества фермента. Значительное (примерно на 25 %) уменьшение содержания Рубиско в клетках эмбрионов вызывает АБК. Обработка эмбрионов кинетином приводит к значительному увеличению интенсивности фотосинтеза и дыхания и активности фотосистем, особенно – ФС I. Увеличивается значение отношения активностей ФС I/II (от ~0.6 (в контрольном варианте) до 0.8), что означает большую степень использования потенциальной активности ФС II. Сходный эффект оказывает и сочетание цитокинина с индолил-3-уксусной кислотой. ИУК без добавления кинетина, напротив, действует как ингибитор фотосинтетических процессов. Еще более сильный ингибирующий эффект оказывает АБК, при обработке этим гормоном отношение ФС I/II падает до ~0.5. Гиббереллин не оказывает существенного воздействия на фотосинтетические характеристики эмбрионов *F. vesiculosus*.

ЯВЛЯЕТСЯ ЛИ МЕТИЛЖАСМОНАТ-ИНДУЦИРОВАННЫЙ СИНТЕЗ NO ПРИЧИНОЙ РЕПРОГРАММИРОВАНИЯ СИНТЕЗА БЕЛКОВ?

Is the methyl jasmonate-induced synthesis of NO a reason of the protein synthesis reprogramming?

И.А. Тарчевский, В.Г. Яковлева, А.М. Егорова

Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, г. Казань

E-mail: tarchevsky@mail.knc.ru

Известно, что жасмонат и метилжасмонат (МеЖК) являются одними из ключевых регуляторов синтеза защитных патоген-индуцированных белков. Было обнаружено, что экзогенный МеЖК вызывает быстрое и сильное повышение содержания NO в тканях растений и что донор NO усиливал, а ингибитор образования NO затормаживал синтез защитных белков, из чего был сделан вывод, что NO является медиатором МеЖК-индуцированной активации

защитных генов (Wang, Wu, 2005). Для проверки этого предположения мы сопоставили влияние МеЖК и нитропруссид (донора NO) на набор и содержание белков не в листьях, как это было сделано указанными выше авторами, а в корнях.

Объектом исследования служили восьмидневные проростки гороха (*Pisum sativum* L.) сорта Тан. Проростки гороха ставили на растворы МеЖК (20 мкМ) и нитропруссид натрия (донора NO) (150 мкМ) на 5 суток. Контролем служили растения, выращенные на воде. Для разделения растворимых белков использовали 2D-электрофорез. Двумерный электрофорез осуществляли на приборах Protean IEF Cell и Protean II xi 2-D Cell («Bio Rad» США) с использованием стрипов 17 см ReadyStrip фирмы Bio-Rad с иммобилизованным градиентом pH 4-7. Изофокусирование проводили в течение 10-12 часов. Перед началом разделения белков во втором направлении стрипы уравнивали в буфере, содержащем додецилсульфат натрия. Разделение белков по молекулярным массам проводили в вертикальных пластинах полиакриламидного геля 12.5 % в присутствии 2% додецилсульфата натрия. МеЖК вызвал появление отсутствовавших в контроле пяти новых белков (17.5 кДа pI 5.35; 20 кДа pI 5.34; 21.7 кДа pI 5.01; 22 кДа pI 5.01; 68 кДа pI 5.93) и значительное усиление образования четырех белков (20 кДа pI 5.98; 21.5 кДа pI 5.05 и pI 5.13; 27 кДа pI 5.7), исчезновение двух белков (16.8 кДа pI 5.0; 24 кДа pI 5.0) и снижение содержания пяти белков. В отличие от МеЖК, нитропруссид не вызвал появления новых пятен белков на 2D-электрофореграммах, но повысил содержание белков с молекулярными массами 27 кДа pI 5.7; 29.6 кДа pI 5.35; 30.4 кДа pI 5.37. Наибольшее отличие от действия МеЖК заключалось в том, что нитропруссид вызывал исчезновение гораздо большего количества пятен белков на 2D-электрофореграммах. Последнее подтверждает ранее полученные нами с помощью 1D-электрофореза данные о гораздо большем, чем при действии других сигнальных соединений, уменьшении набора белков под влиянием нитропруссид (Тарчевский, 2002). Наши данные свидетельствуют, что однонаправленное действие МеЖК и NO проявилось лишь в случае повышения содержания белка 27 кДа, pI 5.7, который с помощью MALDI TOF MS был идентифицирован как L-аскорбатпероксидаза, и снижения содержания белков с молекулярной массой 16.8 pI 5.0 и pI 5.15. Эти факты позволяют считать, что действие МеЖК и NO на изменение набора и содержания белков осуществляется в значительной степени независимыми сигнальными путями и лишь приблизительно 10 % белков изменяют свое содержание сходным образом. Возможно, что в корнях взаимоотношения липоксигеназной и NO-синтазной сигнальных систем осуществляются отличным от листьев образом. Известно, например, что существенную роль в функционировании липоксиге-

назой сигнальной системы в листьях играют хлоропласты, отсутствующие в клетках корней. Различная реакция белок-синтезирующих систем листьев и корней на действие еще одного ключевого регулятора защитных реакций растений – салицилата была продемонстрирована нами в представленных на этот съезд ОФР тезисах (Яковлева, Тарчевский, Егорова).

Работа поддержана грантом Президиума РАН по МКБ № 10002-121 и грантом РФФИ № 04-04-49348.

**ПОГЛОЩЕНИЕ, ТРАНСПОРТ И МЕТАБОЛИЗМ
ЭКЗОГЕННОГО СВОБОДНОГО ЗЕАТИНА И ЕГО РИБОЗИДА
РАСТЕНИЯМИ ПШЕНИЦЫ**

**Uptake, transport and metabolism of exogenous free zeatin
and its riboside by wheat plants**

Л.Н. Тимергалина, Т.Н. Архипова, С.Ю. Веселов, Г.Р. Кудоярова
Институт биологии Уфимского НЦ РАН, г. Уфа
E-mail: leinaz@mail.ru

Представления о характере действия гормонов, и в том числе цитокининов, формировались на основе опытов с экзогенными гормонами. Поступление гормонов в растительный организм извне происходит не только в эксперименте, но и в естественных условиях, когда корни поглощают цитокинины из почвенного раствора, где их присутствие связано с жизнедеятельностью ризосферных микроорганизмов и самих растений. Предполагается, что именно способность микроорганизмов продуцировать фитогормоны, лежит в основе их влияния на рост растений. Вместе с тем, в последнее время стало известно, что растения способны быстро инактивировать цитокинины, поступающие в апопласт, что вызывает сомнения как в функциональном значении микробных цитокининов, так и в сигнальной роли цитокининов на уровне целого растения. С помощью иммуноанализа мы проследили за поступлением, транспортом и метаболизмом разных форм цитокининов в растениях.

При использовании зеатина рибозида (0.1 мг/л) увеличение содержания цитокининов по сравнению с контролем происходило только в корнях и в той же неизменной форме, в какой гормон был добавлен в раствор. Уровень накопления зеатина рибозида (ЗР) в корнях был самым высоким через 3 час после начала воздействия, когда его было в пять раз больше, чем в контроле, и затем он снижался: через сутки его содержание только в три раза превышало контрольные значения, а через двое суток – в два. Поскольку взаимопревращение свободных азотистых оснований и их рибози-

дов обычно происходит в цитоплазме, неспособность экзогенного ЗР превратиться в другие его метаболиты указывает на то, что он не поглощается клетками растений пшеницы данного возраста а, скорее всего, инактивируется под влиянием апопластной цитокининоксидазы. Неспособность ЗР проникать в клетки растений корней можно объяснить присутствием в его молекуле радикала рибозида, который увеличивал ее гидрофильность и, соответственно, снижал способность к пассивной диффузии через мембрану. Отсутствие накопления цитокининов в побеге при введении ЗР в питательный раствор указывает на присутствие непреодолимого барьера на пути гормона по апопласту в ксилемные сосуды (скорее всего, в виде поясков Каспари). Этим растения пшеницы отличались от растений кукурузы, у которых по данным литературы АБК может загружаться в ксилему непосредственно через апопласт.

Использование в качестве экзогенного цитокинина свободного основания зеатина (З) резко меняло картину. При той же концентрации З, что и ЗР в предыдущих экспериментах, накопление цитокининов в корнях шло как в виде свободного основания, так и рибозилированной формы. Эти результаты указывают на то, что в корнях происходили метаболические превращения экзогенного цитокинина, а поскольку такие превращения, скорее всего, происходят в цитоплазме, можно говорить о поглощении зеатина клетками корня. То, что зеатин, в отличие от его рибозида проникал в клетки, вероятно, было связано с большей гидрофобностью молекул свободных оснований. При использовании З в качестве экзогенного цитокинина уже через 3 час возрастало содержание цитокининов в ксилемном соке и побеге, что указывает на транспорт гормона в побег. В ксилемном соке контрольных растений было в два раза больше ЗР, чем З, а при введении З извне его концентрация возрастала в меньшей степени, чем рибозилированной формы (в четыре раза – у З и в семь – у ЗР). В побеге также при введении З сначала возрастало содержание его рибозида, и лишь затем – свободной формы гормона. Эти результаты соответствуют представлению о роли рибозидов цитокининов как транспортной формы, но свидетельствуют о том, что загрузка цитокининов в ксилему зависит от их метаболизма в клетках корня, превращающего цитокинины в их транспортную форму.

Через 3 час после начала воздействия содержание зеатина в корнях возрастало пропорционально концентрации экзогенного гормона в питательном растворе. Вместе с тем, такой пропорциональности не удалось обнаружить при анализе клеточного сока, где концентрация цитокининов была одинаковой на фоне 0.1 и 0.5 мг зеатина на 1 л питательного раствора. Эти результаты свидетельствуют о способности корней контролировать поступление цитокининов в побег, уменьшая их отток в случае высокой (и, вероятно,

избыточной) концентрации цитокининов. Увеличение содержания цитокининов в побеге сказывалось на его росте, а величина рост-стимулирующего эффекта была пропорциональна уровню накопления гормонов.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о способности растений контролировать процесс транспорта цитокининов из побега в корень и предотвращать избыточное накопление гормона в побеге. Вместе с тем, нами показано поступление физиологических концентраций цитокининов в клетки корня из питательного раствора и из корней – в побег, и их влияние на рост побега, что подтверждает как сигнальную функцию цитокининов на уровне целого растения, так и значение гормонов, поступающих в корни из почвенного раствора.

Работа поддержана грантом РФФИ-Фландрия № 05-04-50824.

**ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ РОЛЬ ФИТОГОРМОНОВ
В РЕГУЛЯЦИИ ИОННОГО ГОМЕОСТАЗА МУЖСКОГО ГАМЕТОФИТА:
ЭФФЕКТЫ ЭКЗОГЕННЫХ ФИТОГОРМОНОВ НА ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ pH
ПРОРАСТАЮЩИХ ПЫЛЬЦЕВЫХ ЗЕРЕН ПЕТУНИИ**

**A potential role of phytohormones in male gametophyte
ion homeostasis regulation:
effects of exogenous phytohormones on intracellular pH
of germinating petunia (*Petunia hybrida* L.) pollen grains**

Г.В. Тимофеева, И.М. Андреев, Ю.В. Минкина, Л.В. Ковалева
Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, г. Москва
E-mail: g_timofeeva@mail.ru

К настоящему времени накоплено достаточно много данных, указывающих на ключевую роль трансмембранного транспорта основных физиологически важных ионов, таких как H^+ , K^+ и Ca^{2+} в процессах прорастания пыльцевых зерен и роста пыльцевых трубок (Messerli et al., 1995; Матвеева и др., 2002, 2004; Dutta & Robinson, 2004). Однако сведения об участии фитогормонов в ионной регуляции этих процессов практически отсутствуют и ограничены лишь результатами, косвенно свидетельствующими об их вовлечении в межклеточные взаимодействия в системе пыльца-пестик в прогамной фазе оплодотворения (Kovaleva et al., 2003). Вместе с тем известно, что пыльцевые зерна содержат значительную часть классических фитогормонов и их эндогенный уровень изменяется в ходе прорастания пыльцы *in vitro* и чувствителен к действию экзогенных фитогормонов (Ковалева и др., 2005). В этой связи не

исключена возможность участия таких соединений в процессах прорастания пыльцевого зерна, в частности, путем временной модуляции ими ионного гомеостаза клеток мужского гаметофита, если принять во внимание известные эффекты фитогормонов на рН и рСа цитозоля растительных клеток другого происхождения.

В настоящей работе с помощью флуоресцеин диацетата – известного индикатора цитоплазматического рН – проведены измерения внутриклеточного рН (pH_c) прорастающих пыльцевых зерен петунии (*Petunia hybrida* L.) с целью выявления возможного влияния на величину этого параметра экзогенных фитогормонов (ауксина (ИУК), абсцизовой кислоты (АБК) и гиббереллина A_3). В контроле, т.е. в отсутствие фитогормонов, pH_c медленно в течение 4 час, возрастал от 6.0 до 6.5. Действие ИУК на pH_c растущих в течение 4 час пыльцевых трубок выражалось в монотонном защелачивании (0.5 ед. рН) внутриклеточной среды и не обращалось со временем. В отличие от ИУК, АБК при ее добавлении в суспензию пыльцевых зерен после 1 час их прорастания вызывала щелочной сдвиг pH_c , который достигал 0.5 ед. рН через 20 мин после начала действия фитогормона, а гиббереллин A_3 вызывал подобный эффект (щелочной сдвиг на 0.25 ед рН) только после 4-х час роста пыльцевых трубок. Эти результаты дают основание полагать, что регуляция pH_c у петунии, возможно, является гормон-зависимым процессом и что тенденция к обращению эффекта фитогормонов в ходе прорастания пыльцы может быть связана с осцилляторным характером изменения pH_c со временем в ходе его регуляции.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 06-04-48870).

РЕДОКС-ЗАВИСИМОЕ ВЫДЕЛЕНИЕ H^+ КЛЕТКАМИ КОРНЕЙ И СООТНОШЕНИЕ ИУК/АБК В ОРГАНАХ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ

Redox dependent H^+ -extrusion of cell root and IAA/ABA ratio in a winter wheat organs

Е.С. Ткачук, М.М. Богдан, А.Б. Карлова, А.И. Демьяненко
Институт физиологии растений и генетики НАН Украины, г. Киев
E-mail: misha25@ukr.net

Изучение взаимосвязи между секрецией протонов и содержанием фитогормонов в органах растений является одним из весьма актуальных вопросов современной физиологии растений.

Необходимость проведения таких исследований основывается на противоречивости представлений о роли АТФ- и редокс-зависи-

мого выделения протонов клетками растений в электрогенезе растений (Опритов, Пятыгин, Ретивин, 1991; Опритов, 2000), а также возражениями противников теории «кислого роста», в частности об ауксин-зависимой активации H^+ -помпы и роста растяжением (Медведев и др., 1999; Медведев, 2005).

Цель наших исследований – изучение влияния предпосевной обработки семян 0.4 %-ным раствором созданного жидкого комплексного удобрения «Фізіоживлін» на редокс-зависимое выделение протонов и ацидофицирующую активность клеток корней, поглощение K^+ и Ca^{2+} -ионов, а также содержание в органах озимой пшеницы фитогормонов (ИУК, АБК, зеатина и зеатинрибозида).

Растения озимой пшеницы сорта «Ятрань 60» и «Перлина Ліостепу» выращивали методом водной культуры на 0,5 н ПС Хогленда-Арнона до 10-15-суточного возраста. Активность редокс-системы и ацидофицирующую активность корней изучали методом Новака, Иванкиной (1978) и Вахмистрова, О Эн До (1991). Содержание ИУК, АБК, зеатина и зеатинрибозида определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (Савинский, Драговоз, Педченко, 1991).

Исследования показали неоднозначное влияние предпосевной обработки семян 0.4 %-ным раствором комплексного удобрения «Фізіоживлін» на ацидофицирующую активность и редокс-зависимое выделение протонов корнями растений.

Установлено, что обработка семян отрицательно влияла на ацидофицирующую активность корней растений сорта «Ятрань 60» и почти не оказывала никакого воздействия на растения сорта «Перлина Ліостепу».

Положительное воздействие предпосевной обработки семян было выявлено при изучении активности редокс-системы корней растений. Феррицианидредуктазная активность корней возрастала больше у растений сорта «Ятрань 60» – на 13.4 % (680.6 против 600 мМ ФЦК/г·мин у контрольных растениях). Масса корней растений обоих сортов после предпосевной обработки семян также увеличивалась. Опытные растения характеризовались при этом более интенсивным поглощением кальция и содержанием его в апопласте.

Установлено, что предпосевная обработка семян не оказывала существенного положительного влияния на поглощение и содержание калия в апопласте.

Исследованиями показано, что увеличение редокс зависимого выделения протонов и нарастания массы корней после предпосевной обработки семян сопровождалось положительным ее влиянием на содержание в органах ИУК. В корнях растений количество ее возрастало на 21.9 % и составляло 516.7 нг на грамм сырого вещества. В листьях же опытных растений, где образуется ИУК, содержание ее повысилось на 408.8 % и составляло 1440 нг на

грамм сырого вещества. Еще более существенное положительное влияние предпосевной обработки семян было обнаружено при определении содержания зеатина в листьях растений. Величина его возрастала по сравнению с контрольными растениями чуть ли не на два порядка.

Предпосевная обработка семян неоднозначно влияла на содержание АБК и зеатина в корнях и листьях растений. При снижении содержания АБК в корнях опытных растений на 41.5 %, наблюдалось ее увеличение в листьях на 10.3 %. На фоне резкого возрастания зеатина в листьях, содержание его в корнях снижалось по сравнению с контрольными растениями на 79.3 %. Что касается зеатинрибозида, то содержание его в корнях и листьях опытных растений уменьшалось соответственно на 52.7 и 39.3 %.

Расчеты показали, что опытные растения характеризовались резким увеличением соотношения ИУК/АБК в органах растений. В листьях растений величина его возрастала более существенно, нежели в корнях и составляла 10.4:1 против 2.2:1 в контрольных растениях, т.е. увеличивалась в 4.7 раза. В корнях опытных растений соотношение ИУК/АБК равнялось 6.1:1 против 3.3:1 и было выше по сравнению с контрольными растениями в 2.1 раза.

Таким образом, исследованиями установлено, что усиление роста растений в результате предпосевной обработки семян сопровождается увеличением содержания ИУК и соотношения ИУК/АБК в корнях и листьях растений, а также активности редокс-зависимого выделения H^+ корнями. Установленный факт подтверждает существующее мнение о том, что редокс-система, а не H^+ -помпа, играет главную роль в H^+ -экструзии клеток корней и электрогенезе растений.

ВЛИЯНИЕ 6-БЕНЗИЛАМИНОПУРИНА И ЗЕАТИНА НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ СТАРЕЮЩИХ ЛИСТЬЕВ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ (*BETA VULGARIS L.*)

Influence of 6-benzyladenine and zeatin on the metabolic processes
of sugar beet (*Beta vulgaris L.*) leaf senescence

Н.Н. Топчий¹, В.Д. Сакало², Е.Н. Тищенко², В.М. Курчий²

¹ Киевский национальный университет им. Тараса Шевченко, г. Киев
E-mail: topchiy_nataliya@mail.univ.kiev.ua

² Институт физиологии растений и генетики НАН Украины, г. Киев

Молекулярно-генетические и биохимические закономерности процессов старения растительных организмов являются одними из приоритетных направлений онтогенеза. Несмотря на то, что старение листа генетически запрограммировано в онтогенезе растений,

оно может регулироваться разными факторами и подвергаться гормональному контролю.

Изучали влияние фитогормонов цитокининовой природы – 6-бензиламинопурина (БАП) и зеатина – на метаболические процессы стареющих листьев сахарной свеклы: уровень деградации ядерной ДНК (яДНК), количество ядер, содержание хлорофилла и белков, синтез сахарозы и ее включение в метаболизм.

Растения сахарной свеклы сорта Уладовская односемянная-35 дважды в течение вегетации обрабатывали растворами цитокининов в концентрации: БАП – $4 \cdot 10^{-5}$ М, зеатина – $1 \cdot 10^{-6}$ М. Исследовали 13-14-е листья в разные периоды онтогенеза: ювенильные (5-дневные), растущие и закончившие рост (25- и 45-дневные) и стареющие (60-дневные).

При старении листа происходит частичное разрушение ядер. Под влиянием же БАП и зеатина процессы разрушения ядер в стареющих листьях сахарной свеклы замедляются. При этом происходит частичная деградация яДНК с образованием непрерывного спектра фрагментов, размер которых составлял не менее 2000 п.н. Олигонуклеосомной фрагментации не наблюдалось вплоть до полного пожелтения листа. Такая фрагментация ДНК не соответствует характеру деградации ДНК при некрозе.

В стареющих листьях снижалось содержание легкорастворимых белков и в 60-дневном составляло практически половину от максимального, отмеченного в 25-дневном листе. Экзогенный БАП на 17-28 %, а зеатин на 24-39 стимулируют повышение уровня белков как в молодых, так и стареющих листьях.

По мере старения происходит снижение содержания хлорофилла, который в 60-дневном листе составляет 27 % от максимального. Цитокинины сдерживали разрушение хлорофилла: в старом листе под влиянием БАП содержание хлорофилла составляло 39 % от максимального, зеатина – 42.

С состоянием фотосинтетического аппарата тесно связана функциональная активность фермента синтеза сахарозы – сахарозофосфатсинтазы (СФС, К.Ф. 2.4.1.14). Активность СФС в онтогенезе не постоянна, максимум ее отмечен в 25-дневном листе, когда он уже начинает выполнять донорную функцию. В старом (60-дневном) листе удельная активность СФС составляла 26 % от максимальной. Обработка листьев БАП и зеатином стимулирует СФС в зрелых и стареющих листьях в два-три раза, хотя в молодых (5-25-дневных) зеатин не эффективен.

Известно, что в регуляции эндогенного уровня сахаров в фотосинтетических тканях и связанного с этим старением принадлежит гексокиназе (К.Ф. 2.7.1.1), так как образуемые ею фосфорилированные сахара снижают экспрессию генов, ответственных за син-

тез хлорофиллсвязывающих белков. Значительное (в 15.7 раза) увеличение активности гексокиназы в стареющих листьях шло параллельно со снижением содержания хлорофилла. В молодых (5-дневных) листьях экзогенные БАП и зеатин значительно активировали фермент (на 288 и 176 % соответственно), но при этом общий уровень активности был невысокий. Активация в этот период фермента фитогормонами может свидетельствовать об их участии в обеспечении фосфорилированными сахарами активно идущих ростовых и метаболических процессов. По мере созревания и старения листьев активность гексокиназы стремительно повышается. БАП и зеатин ингибировали фермент на 40 %.

Таким образом, в процессе старения листьев сахарной свеклы происходят существенные изменения в метаболизме: частичное разрушение ядер, деградация яДНК, снижение уровня растворимых белков, хлорофилла, значительная инактивация синтеза сахарозы СФС-зой, повышение активности гексокиназы. Экзогенные гормональные препараты цитокининовой природы – БАП и зеатин принимают участие в процессах поддержания целостности ядер и стабилизации молекул ДНК, способны регулировать активность ферментов синтеза и метаболизма сахарозы – СФС и гексокиназы, повышая функциональную активность стареющих листьев сахарной свеклы.

НА ГОРМОНАЛЬНУЮ СИСТЕМУ КАРТОФЕЛЯ В УСЛОВИЯХ ИМ

Effect of electostatic fields on ablet citostatic fields in vitro

Н.Н. Третьяков, В.Н. Овчинников, Т.Н. Пугачева, Р.С. Сув
Российский государственный аграрный университет
им. К.А. Тимирязева, г. Москва

Проведены в 1985-1986 гг. исследования по влиянию электрических полей на процессы фотосинтеза и дыхания картофеля в условиях имитации естественных условий. В работе использовались методы измерения флуоресценции хлорофилла, поглощения кислорода и выделения углекислого газа. Показано, что электрические поля влияют на процессы фотосинтеза и дыхания картофеля, что связано с изменением активности ферментов цикла Кальвина и цикла Кребса. Результаты работы опубликованы в журнале "Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук" (1986, № 1).

ное побегообразование разных типов эксплантов, интенсивность видимого фотосинтеза и темнового дыхания, топографию градиентов БЭП (биоэлектрических потенциалов). В докладе приводятся результаты определения гормонального статуса пробирочных растений трех генотипов картофеля на этапе клонального размножения. Регенерация пазушных почек, ризогенез, последующее развитие растений проходило на фоне постоянного воздействия электростатических полей напряженностью $E = +10$ кВ/м и $E = -10$ кВ/м. Электростатическое поле (ЭСП) создавали генератором высокого напряжения В-524 в специальной установке. Воздействие электростатическим полем на растения было постоянным на протяжении всего пассажа (30 дней). Экстракция эндогенных ИУК, цитокининов и АБК проводили комплексным методом отдельно из апикальной и базальной частей побегов картофеля, предварительно зафиксированных жидким азотом. Содержание фитогормонов определяли методом иммуноферментного анализа. Анализ содержания гормонов в апикальной и базальной частях растений позволяет судить о создаваемых различными электростатическими полями градиентах гормонов. Длительное воздействие (30 дней) на пробирочные растения картофеля ЭСП существенно влияло на содержание и соотношение ИУК, зеатина и АБК. Отмечены сортовые особенности. Воздействие ЭСП на пробирочные растения картофеля, очевидно, влияло на все процессы, определяющие содержание фитогормонов (синтез, метаболизм, образование конъюгатов, транспорт и др.). Изменение гормонального статуса растений под влиянием ЭСП, что могло быть как причиной, так и следствием физиологических процессов (рост, CO_2 -газообмен, БЭП и др.).

ЭСП существенно изменяет гормональную полярность растений – осевые градиенты гормонов. Осевые градиенты содержания фитогормонов характеризуют уровень аксиальной полярности побегов пробирочного растения картофеля как одного из факторов, определяющих ход процессов морфогенеза и органогенеза, уровень отдельных физиологических и биохимических процессов растений. В наших опытах в большинстве случаев отмечено более устойчивое положительное влияние на гормональную систему пробирочных растений картофеля ЭСП напряжением $E = +10$ кВ/м.

ЭСП, способствуя оптимизации гормонального статуса растений, очевидно, активизирует также адаптивные процессы к стрессам, которые неизбежно испытывают пробирочные растения в условиях *in vitro* (малый объем корнеобитаемой и воздушной среды в пробирке, недостаточное освещение и др.). Поэтому при последующих технологических процессах, связанных с пересадкой картофеля в полевые условия, растения-регенераты после воздействия ЭПС оказывались более устойчивыми и продуктивными по количеству и качеству семенных клубней.

**THE ROLE OF INDIVIDUAL ORGANS AND THEIR PHYTOHORMONES
PLANTS IN SEX EXPRESSION****V.N. Khryanin**

Penza State Pedagogical University, Penza

E-mail: egf@sura.ru

Result of the many different experimental approaches, it has been possible to bring to light some of the mechanisms of hormonal regulation of sex expression in plants, and to determine the causes of sexual differentiation in dioecious plants and in monoecious plants that bear unisexual flowers. Discovered that both the roots and the leaves play important roles in this phenomenon; the roots are responsible for female sex expression, and the leaves for male sex expression. The next question addressed the nature of the compounds necessary for male and female sex expression. The effects observed when 6-BAP was introduced into plants with their roots removed indicated that the action of the roots in promoting female sex expression and the synthesis of cytokinins in the root system were closely related. The experimental introduction of GA, into plants with their leaves removed demonstrated that the mode of action of leaves in promoting male sex expression involved the synthesis of gibberellins in the leaf tissues. These findings were in complete agreement with analytical studies of the variations in the endogenous levels of the two phytohormones. Female plants have significantly higher levels of cytokinins than male plants, whereas male plants contain much more gibberellin than do females. Moreover, the well-established connection between the metabolism of roots and leaves was clearly observed in the studies of the hormonal balance in intact and mutilated plants. Specifically, it was established that the levels of endogenous cytokinins and gibberellins are not independent variables. High cytokinin activity is paralleled by low gibberellin activity, and vice-versa. This finding supports the notion that the roots, being producers of cytokinins, play an important role in leaf metabolism, and that the leaves, in their turn, being producers of gibberellins, influence the metabolism of the roots. Thus the physiological roles played by the phytohormones in plant development appear to be crucial. The interaction between the individual organs that synthesize different phytohormones is very important in determining sex expression, for gibberellins and cytokinins actively migrate through the vascular system that connects the leaves and the roots to the shoot. According to Miginiac (1978), the roots play an important role in the correlations that are regulated by the functions of the meristem. A similar conclusion can be reached about the leaves. Cytokinins are

produced predominantly' in the roots and are subsequently transported to the stem apices. In these, the cytokinins activate the functioning of the meristem and apparently induce the regulatory system that determines female sex expression. The situation is similar in the case of gibberellins that are synthesized in the leaves. Gibberellins are transported from the leaves to the apical buds where they are activated. Apparently, gibberellins mainly act in conjunction with other phytohormones. The modes of action of these two phytohormones studied in experiments in which the introduction of the phytohormones followed by treatment with inhibitors of nucleic acid and protein metabolism. Mitomycin and puromycin interfere with female sex expression caused by 6-BAP, which implies that cytokinins are active at the level of replication and translation. Actinomycin 1), however, counteracts the effect of gibberellin in stimulating male sex expression, which implies that gibberellins act at the level of transcription. In fact, these results are the first tangible indication that the mode of action of the phytohormones in sex expression involves changes in the activity of the genetic apparatus of the cell. The tissues of female plants contain specific cytokinins and a specific protein that are absent from male plant tissues. This finding is owed to chromatographic studies and immunochemical analysis. Thus, it is possible that there is a cell- based interaction between specific cytokinins and proteins, perhaps a formation of a hormone-receptor complex,' which regulates the expression of the genes responsible for female sex expression. Following this logic, the gibberellins synthesized in the leaves would be transported into the cells of the apical meristem where they would bind to specific receptors and possibly to other proteins that can activate the complete developmental program of male sex expression. Perhaps the hormone-receptor complexes act on gene-modifiers that regulate the level of male or female sex expression. Interestingly, the existence of gene modifiers has been demonstrated in many plants, such as corn, hemp, and grape. Naturally, sex expression is not regulated by cytokinins and gibberellins alone. Sexual differentiation should be seen as a chain of interacting events that are triggered by one or many internal and external factors. This is clearly indicated by our studies of the biological activity of phytohormones and of the effects of individual and combined treatments with phytohormones and inhibitors. However, there appear to be two main factors (the most direct causes) that trigger the differentiation of sexes. These two factors are, of course, cytokinins and gibberellins. These most effective, primary phytohormones act in cooperation with other, secondary but nonetheless important phytohormones. The most important secondary phytohormones are auxins and ethylene. The mode of action of ABA

is still very poorly understood because of the incomplete data and ambiguous interpretations. Its action may perhaps be linked to changes in the level of proline, which may play an important role in the shift from vegetative to reproductive growth and may act later also in the fertilization processes. The findings made in the study of sex expression in dioecious plants and in monoecious plants bearing unisexual flowers may perhaps eventually be applied to monoecious plants with bisexual (hermaphroditic) flowers, where the processes of male and female sexual differentiation are intimately connected.

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К Ca^{2+} ПРОТОННЫХ НАСОСОВ ВАКУОЛЯРНОГО ТИПА И ТРАНСПОРТ Ca^{2+} , СОПРЯЖЕННЫЙ С ИХ АКТИВНОСТЬЮ

Vacuolar type H-pumps sensitivity to Ca^{2+} and Ca^{2+} transport connected with their activity

Н.В. Шахова, О.В. Танкелюн

Биологический институт

Санкт-Петербургского государственного университета, г. С.-Петербург

E-mail: *shakhova-11@yandex.ru*

Известно, что ионам Ca^{2+} принадлежит важная роль в механизмах трансдукции сигналов и регуляции функций в растительной клетке. Изменение концентрации ионов Ca^{2+} в цитоплазме оказывает влияние на активность многих клеточных ферментов. В работе изучали действие ионов Ca^{2+} на АТФ- и пиродифосфат-зависимый транспорт H^+ в везикулярных фракциях, обогащенных фрагментами тонопласта из клеток колептилей проростков кукурузы. Транспорт H^+ внутрь везикул определяли спектрофотометрически по динамике снижения поглощения оптического зонда акридинового оранжевого. Определенные концентрации ионов Ca^{2+} в инкубационной среде, включающей ЭГТА, рассчитывали с использованием компьютерной программы (Brooks, Storey, 1992).

H^+ -насосы везикулярной фракции эндомембран из проростков кукурузы проявляли различную чувствительность к концентрации ионов Ca^{2+} в реакционной среде. Гидролитическая активность H^+ -АТФазы вакуолярного типа показывала слабую чувствительность к ионам Ca^{2+} . Снижение NO_3^- -ингибируемой АТФазной активности наблюдалось при концентрации несвязанного Ca^{2+} выше 20 мкМ, она оставалась значительной и при 0.5 мМ Ca^{2+} . По отношению к транспорту H^+ , поддерживаемому АТФ, ингибирующее действие Ca^{2+}

обнаруживалось при концентрации 1-2 мМ в инкубационной среде и достигало полумаксимальной величины при 35-50 мкМ.

В отличие от АТФазы, пирофосфатаза проявляла чувствительность уже к 0,5 мкМ Ca^{2+} . Полумаксимальное ингибирование КС1-стимулируемой пирофосфатазной активности достигалось при концентрации Ca^{2+} 15 мкМ. Эффект Ca^{2+} на пирофосфат-зависимое поступление H^+ в везикулы также наблюдался при концентрации 0,5 мкМ, а полумаксимальное подавление активности – при 5 мкМ. Считается, что основной причиной ингибирования H^+ -пирофосфатазы Ca^{2+} является образование конкурентного ингибитора CaPPi [Rea P.A., Poole R.J., 1993; Maeshima, 2000]. Можно предположить, что H^+ -пирофосфатаза способна отвечать на умеренные физиологические изменения уровня ионов Ca^{2+} в цитоплазме, возникающие под действием факторов внешней среды и переходе растительной клетки в другое физиологическое состояние.

Снижение скорости активного поступления ионов H^+ в мембранные везикулы в присутствии ионов Ca^{2+} может быть обусловлено не только их ингибирующим действием, но и наличием в вакуолярной мембране механизма транспорта Ca^{2+} , утилизирующего градиент рН. Было показано, что трансмембранный градиент рН, сформированный в присутствии АТФ и пирофосфата, рассеивался при последующем добавлении ионов Ca^{2+} в инкубационную среду. Внесение ЭГТА/ЭДТА останавливало выход H^+ и обращало его движение. Зависимость скорости выхода ионов H^+ от концентрации Ca^{2+} имела насыщающий характер. Предполагаемый $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ -обмен, утилизирующий ΔpH , образованный V-АТФазой, обнаруживался в присутствии 5 мкМ Ca^{2+} и достигал полумаксимальной скорости при 7-10 мкМ Ca^{2+} . Выход H^+ на фоне пирофосфат-зависимого градиента активировался в присутствии 1-5 мкМ несвязанного Ca^{2+} , K_s для Ca^{2+} составила около 3 мкМ.

Таким образом, регистрируемое изменение скорости снижения поглощения АО в присутствии ионов Ca^{2+} (в микромолярных концентрациях) может быть частично связано с наличием на тонопласте $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ -обменника. Это может быть одной из причин более высокой чувствительности к Ca^{2+} транспортной активности H^+ -АТФазы и H^+ -пирофосфатазы по сравнению с их гидролитической активностью.

**МНОГООБРАЗИЕ РЕЦЕПТОРНЫХ СИСТЕМ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ.
РЕЦЕПЦИЯ ФИТОГОРМОНА АУКСИНА****Wide spectra of plant cell receptors. Perception of auxin signal****М.Ф. Шишова**

Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург

E-mail: *mshishova@mail.ru*

Формирование адекватного физиологического ответа на изменяющиеся внешние, а с появлением многоклеточности, и внутренние условия – важнейший принцип существования живой клетки, возникший в процессе эволюции. Один из главных этапов заключается в идентификации природы и силы сигнала, что и осуществляется рецепторными системами. Интенсивные исследования последних лет указывают на общность принципов формирования и дальнейшего функционирования рецепторных систем прокариотических и эукариотических клеток. Основные типы рецепторных систем принято подразделять на рецепторы-ферменты (киназы, фосфатазы), рецепторы – ионные каналы, рецепторы, сопряженные с G-белками, рецепторы – факторы транскрипции. В настоящее время все перечисленные типы рецепторов идентифицированы в растительных клетках. Значительный прогресс достигнут в расшифровке основных принципов хемо-, механо-, термо- и фоторецепции у растений. Отсутствие у них специализированных органов чувств позволяет сделать предположение о том, что большинство клеток растительного организма способно воспринимать целый комплекс эндогенных и экзогенных сигналов, следовательно, обладает множественностью рецепторных систем.

Конец XX в. охарактеризовался идентификацией целого ряда рецепторов, отвечающих за восприятие гормональных сигналов. С помощью молекулярно-биологического подхода выявлены семейства рецепторов-протеинкиназ, принимающих участие в детекции этиленового, цитокининового, брассиностероидного сигналов, а также сигналов некоторых пептидных гормонов. В последние годы было показано, что рецепторы вовлечены в регуляцию интенсивности транскрипции генов, принимающих участие в трансдукции гиббереллинового и абсцизинового сигналов. 2005 г. ознаменовался доказательством существования растворимого рецептора ауксина (белка TIR1), который также участвует в регуляции транскрипции ауксинзависимых генов посредством активации убиквитинового системы. Тем не менее, накопленные ранее результаты свидетельствуют о том, что целый ряд ауксинзависимых физиологических реакций (изменение мембранного потенциала, закисление цитоплазмы, повышение концентрации кальция в цитозоле, набухание

протопластов и т.д.) активируются в течение первых минут и даже секунд после начала гормонального воздействия. Следовательно, растительные клетки имеют, как минимум, два типа рецепторов для фитогормона ауксина. Во-первых, это идентифицированный цитоплазматический рецептор, принимающий участие непосредственно в регуляции транскрипции, но имеющий лаг-период в активации около 15-20 мин. Во-вторых, рецептор на плазмалемме, с неокончательно доказанной двухдоменной структурой. Экстраклеточный домен рецептора представляет собой низкомолекулярный белок АСВ1. Данный рецептор по нашим и литературным сведениям отвечает как за первичные (в первые 10 мин.) ауксининдуцируемые реакции, так и более медленные морфофизиологические реакции, к числу которых относится, например, рост растяжением.

**ВЛИЯНИЕ ФОРМ АЗОТНОГО ПИТАНИЯ НА GUS-РЕАКЦИЮ РАСТЕНИЙ
ARABIDOPSIS THALIANA, ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ GUS-ГЕНОМ
ПОД КОНТРОЛЕМ ЦИТОКИНИН-ЗАВИСИМОГО ПРОМОТОРА ГЕНА ARR5**

**Effect of nitrogen nutrition types on GUS-activity of *Arabidopsis thaliana* plants
transformed by GUS-gene under control
of cytokinin-dependent promoter of ARR5-gene**

В.Ю. Штратникова, О.Н. Кулаева

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г.
М о с к в а

E-mail: vtosha@yandex.ru

Роль нитратов в индукции синтеза цитокининов в растениях хорошо известна. Гораздо менее изучено влияние аммонийной формы азота на образование цитокининов.

Задача данной работы состояла в выяснении влияния нитратной и аммонийной форм азотного питания на экспрессию GUS-гена в растениях *Arabidopsis thaliana*, трансформированных генетической конструкцией, содержащей ген β-глюкуронидазы под контролем цитокинин-зависимого промотора ARR5-гена, относящегося к генам первичного ответа на цитокинин. Интенсивность экспрессии GUS-гена под контролем промотора ARR5-гена используется в некоторых работах для оценки распределения активных форм цитокининов в растениях.

Мы сравнили развитие GUS-реакции в трансгенных растениях *A. thaliana*, росших в течение двух-трех недель на среде Мурашиге и Скуга (MS) с половинным содержанием солей, включающую ион нитрата и ион аммония, и на безнитратной среде MS, в которой ион нитрата отсутствовал, а недостаток азота возмещался солью $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Таким образом, в качестве источника минерального азота служили NO_3 и NH_4 , либо только NH_4 . По GUS-реакции оценива-

лось накопление в растениях физиологически активных форм цитокининов.

Развитие GUS-активности определяли двумя методами: 1) по флуоресценции 4-метилумбеллиферила и 2) по колориметрическому измерению окрашенного в синий цвет продукта реакции с субстратом X-Gluc. Оба метода дали согласованные результаты.

Полученные результаты показали существенно большую GUS-активность в растениях *A. thaliana*, выросших на аммонийном азоте, по сравнению с растениями, получавшими обе формы азота. Это говорит о большем содержании цитокининов в растениях при аммонийном питании. Следует отметить, что развитие GUS-активности было довольно гетерогенным. Поэтому достоверное ее увеличение в 1.5-6 раз для аммонийных растений проявлялось в 2/3 опытов.

Увеличение содержания цитокининов у растений на аммонийном азоте подтверждено прямым определением цитокининов (зеатина и зеатин-рибозида) иммуноферментным методом.

Дополнительные обработки растений нитратом в разных концентрациях в течение 4-6 час не вызывали воспроизводимых различий в GUS-реакции растений, выросших на разных средах. Зависимости GUS-активности от концентрации нитрата при дополнительных обработках также не наблюдалось.

Увеличение содержания цитокининов в растениях *A. thaliana* при использовании аммонийного азота в качестве единственного источника азотного питания является новым фактом, подтвержденным двумя способами определения GUS-активности и иммуноферментным анализом цитокининов. Это явление заслуживает специального дальнейшего изучения.

Работа частично поддержана грантом Государственной поддержки научных исследований, проводимых ведущими научными школами РФ НШ-3692.2006.4.

**ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ВЫРАЩИВАНИЯ ДВОЙНЫХ МУТАНТОВ
ARABIDOPSIS THALIANA ПО ЦИТОКИНИНОВЫМ РЕЦЕПТОРАМ
НА ЦИТОКИНИНОВУЮ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ РАСТЕНИЙ**

**Influence of growth conditions for cytokinin receptor double mutants
of *Arabidopsis thaliana* on cytokinin responsiveness of plants**

А.В. Юдина, С.Н. Ломин, М. Рифлер, Г.А. Романов
Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, г. Москва
E-mail: gar@ippras.ru

Цитокинины – классические растительные гормоны, которые влияют на многие аспекты жизнедеятельности растений. На протяжении жизни растение должно адекватно реагировать на изме-

нение условий произрастания. Цитокинины преимущественно образуются в корне, поэтому могут участвовать в передаче информации об изменении условий минерального питания корней в другие органы растения. Известно, что растение *Arabidopsis thaliana* имеет три рецептора цитокинина, Arabidopsis Histidine Kinases: АНК2, АНК3 и CRE1/АНК4. Ранее было показано, что цитокинины участвуют в регуляции ассимиляции нитрата, фосфата и сульфата (Maruyama-Nakashita et al., 2004; Rahayu et al., 2005; Franco-Zorilla et al., 2005). За это свойство в основном отвечает рецептор CRE1/АНК4, который экспрессируется преимущественно в корне (Nishimura et al., 2004). Нитрат усиливает синтез цитокининов, активируя экспрессию гена *AtIPT3*. Также нитрат, фосфат и сульфат активируют транскрипцию гена *CRE1/АНК4*. Наша работа была направлена на изучение влияния ионов неорганических солей на экспрессию цитокининовых рецепторов. Для этого мы использовали двойные мутанты *Arabidopsis thaliana* по рецепторам цитокининов, у которых фактически экспрессировался только один рецептор из трех (у мутанта *ahk4/ahk3* – рецептор АНК2, у мутанта *ahk4/ahk2* – рецептор АНК3, у мутанта *ahk2/ahk3* – рецептор CRE1/АНК4). Геномы растений содержали дополнительную конструкцию *rARR5::GUS* (*ARR5* – ген первичного ответа на цитокинины). Для эксперимента использовали четырехдневные проростки, выращенные на модифицированной жидкой среде MS. Из среды поочередно удаляли фосфаты, сульфаты или нитраты (в зависимости от варианта), заменяя их эквивалентным количеством хлоридов одновалентных солей. В качестве контроля использовали проростки, выращенные на MS или на воде. Четырехдневные проростки инкубировали с цитокинином ($5 \cdot 10^{-6}$ М БАП) 5 час, затем анализировали активность *GUS in vitro* (Romanov et al., 2002). Соли по-разному влияли на цитокининовую чувствительность мутантов *Arabidopsis thaliana*. Экспрессия гена *GUS* в АНК2-варианте снижалась в отсутствии нитрата. Отсутствие фосфатов, сульфатов и нитратов слабо сказывалось на чувствительности варианта АНК3, она лишь немного снижалась в отсутствии фосфата. Чувствительность CRE1/АНК4-варианта снижалась во всех случаях удаления солей (отсутствие нитратов, фосфатов, сульфатов). В дальнейшей работе предполагается напрямую проанализировать экспрессию генов рецепторов путем определения количества соответствующих транскриптов.

Работа поддержана грантом РФФИ 07-04-00331.

**ВЛИЯНИЕ ЗРЕЛОСТИ ПЛОДОВ ЛЕЩИНЫ
НА РОСТ И МОРФОГЕНЕЗ СЕМЯДОЛЕЙ *IN VITRO*****Dependence of growth and morphogenesis of *Corylus avellana*
cotyledons *in vitro* on degree of its fruit ripeness****А.Г. Юсуфов, А.А. Алиханова**

Дагестанский государственный университет, г. Махачкала

Созревание плодов у форм и сортов лещины (*Corylus avellanae* L.) наступает в разные сроки года. При этом плоды постепенно формируются и семядоли достигают физиологической зрелости, а затем полной спелости, и после переходят в состояние покоя – это сухие зрелые семена. Возрастные изменения растений и органов оказывают влияние на реализацию процессов роста и регенерации (Кренке, 1950). Для конкретизации этого вопроса изучали особенности роста и морфогенеза семядолей *in vitro* по фазам формирования плодов лещины. Сравнивали семядоли из плодов в состоянии покоя при полной зрелости (I), растущих и физиологически формирующихся в июне (II), июле (III) и августе (IV).

Для опытов ядра извлекали из плодов и стерилизовали в 0.1 % растворе сулемы (9-12 мин.), затем промывали их три-четыре раза стерильной водой. Экспланты (5×10 мм) получали из разных частей семядолей: основания с зародышевой почечкой (А) и без нее (Б), средней (В) и верхней (Г). Экспланты культивировали на среде Мурасиге-Скуга (МС) без регуляторов роста (контроль), отдельно и в сочетании ИМК (1 мг/г) и БАП (1мг/л).

Процессы роста и морфогенеза у эксплантов разных частей семядолей (А-Г) из покоящихся плодов реализовывались неактивно. Даже в случае некоторого увеличения размеров у эксплантов таких плодов не была отмечена дифференциация корней и почек. У части эксплантов формировался незначительный каллус. Только у некоторых эксплантов (А) семядолей при росте зародышевой почки было отмечено формирование слабых корней.

Экспланты семядолей из формирующихся зеленых плодов оказались более активными к морфогенезу и росту. В варианте II только у части эксплантов (Б) отмечено развитие каллуса и увеличение биомассы. У эксплантов верхней части семядолей (Г) рост и формирование каллуса оказались ослаблены, а у эксплантов основания (А) сильно разрастался каллус, что препятствовало росту зародышевой почечки.

Лучше всего протекали процессы морфогенеза у эксплантов семядолей из плодов в фазах III и IV. Так, экспланты нижней (без

почки), средней и верхней частей семядолей увеличивались в размерах в три-четыре раза, на них развивался мощный каллус, его размеры определялись площадью раневой поверхности. У эксплантов разных частей по фазам III и IV отмечено развитие большого числа корней из каллуса, а у части из них – розетка хлоротичных листочков. Некоторые экспланты формировали карликовые побеги с зелеными листочками. Экспланты плодов (III и IV) нижней части семядолей (А) увеличивались незначительно, а на каллусах формировались корни, особенно много по мере роста побега.

Итак, реализация процессов роста и регенерации у семядолей *in vitro* определяется состоянием развития плодов. Так, у покоящихся зрелых плодов (I) экспланты семядолей разных частей характеризуются низкой активностью роста и регенерации. В лучшем случае только отдельные из них развивали небольшой каллус, а рост ограничивался растяжением клеток пластинки. И зародышевые почки у эксплантов нижней части этих плодов оставались в покое даже при экзогенном введении в среду ИМК и БАП.

У формирующихся зеленых плодов (II) семядоли в интактном состоянии находятся в фазе активного роста. Однако *in vitro* у эксплантов разных частей семядолей (А-Г) этих плодов слабо проявлялся рост, каллусо- и ризогенез даже при введении в среду ИМК и БАП. По мере роста и созревания зеленых плодов (III и IV), когда завершается формирование семядолей с покрытием ядра белой кожурой (теста), экспланты разных частей семядолей *in vitro* проявляют большую активность роста, каллусо- и ризогенеза. На них даже на минимальной среде формировались почки, мощные каллусы и множество корней независимо от места вычленения экспланта и наличия зародышевой почки. Кроме того, экспланты семядолей из зеленых плодов III и IV фазы развития обнаруживали реакцию на введение в среду ИМК и БАП активацией морфогенеза.

Природа неодинаковой реализации процессов роста и морфогенеза, а также проявления связи между ними у эксплантов семядолей плодов лещины II-IV фаз развития неясна и нуждается в изучении. Доминирует ли при этом гормональная или структурная их специфика в реализации позиционных и возрастных различий (Barlow, Carr et al, 1984). Пока очевидно лишь ингибирование процессов роста и морфогенеза *in vitro* у семядолей при покое этих плодов, что предположительно можно связать с наличием в них ингибиторов роста (Moore, 1989). У растущих плодов, по-видимому, различно соотношение разных регуляторов роста в семядолях, оказывающее влияние на реализацию процессов роста и регенерации.

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ
САЛИЦИЛАТ-ИНДУЦИРОВАННОГО ИЗМЕНЕНИЯ НАБОРА
И СОДЕРЖАНИЯ БЕЛКОВ В ЛИСТЬЯХ И КОРНЯХ ГОРОХА**

**A comparative analysis of the salicylic acid-induced change of a set
and content of proteins in pea leaves and roots**

В.Г. Яковлева, И.А. Тарчевский, А.М. Егорова
Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, г. Казань
E-mail: yakovleva@mail.knc.ru

Работами ряда авторов было показано, что салициловая кислота (СК) является одним из ключевых регуляторов защитных реакций растений. Известно, что под влиянием элиситоров происходит быстрое и значительное повышение содержания эндогенной СК и что обработка растений экзогенной СК вызывает образование отсутствующих в контрольном варианте белков, в том числе относящихся к «патоген-индуцированным» белкам. Это действие салициловой кислоты может объясняться, во-первых, тем, что она способна выступать в роли первичного сигнала, «включающего» некоторые из сигнальных систем клеток и, во-вторых, тем, что СК является одним из медиаторов НАДФН-оксидазной и NO-синтазной сигнальных систем, роль которых в репрограммировании синтеза белков достаточно хорошо известна. Необходимо отметить, что в качестве объекта исследования влияния СК на растения в большинстве случаев использовались листья и не проводилось сопоставления действия СК на набор и содержание белков в листьях и корнях растений. Мы решили восполнить этот пробел, тем более что ранее с помощью одномерного электрофореза нами были получены данные, которые свидетельствовали об изменении спектров растворимых белков под влиянием СК в листьях гороха (Тарчевский и др., 1996, 2000). Объектом исследования служили восьмидневные проростки гороха (*Pisum sativum* L.) сорта Тан. В работе использовали 2D-электрофорез, MALDI TOF-масс-спектрометрию, программу Mascot, базу данных NCBI. Двумерный электрофорез осуществляли на приборах Protean IEF Cell, Protean II xi 2-D Cell («Bio-Rad», США) с использованием стрипов 17 см («Bio-Rad») с иммобилизованным градиентом pH 4-7 и pH 3-10. Изофокусирование проводили в течение 10-12 часов. Перед началом разделения белков во втором направлении стрипы уравнивали в буфере, содержащим додецилсульфат натрия. Разделение белков по молекулярным массам проводили в вертикальных пластинах полиакриламидного геля 12.5 %. Масс-спектры получали на тандемном MALDI скоростном масс-спектрометре Ultraflex II BRUKER (Германия), оснащенном УФ лазером (Nd). Воздействие СК (50мкМ) на

растения в течение 5 дней приводило к существенным изменениям набора и содержания белков как в листьях, так и в корнях проростков гороха. В листьях СК приводила к появлению и повышению содержания около 20 белков. Значительные изменения наблюдали в кислой области с pI 4.3 до 5.2. СК индуцировала синтез 10 белков (три белка 34 кДа pI 4.34, 4.48 и 4.8; два белка 32 кДа pI 4.6 и 4.65 и белок 31 кДа pI 4.8; два белка 33 кДа pI 5.0 и 5.13; два белка 26.8 кДа pI 4.66 и 4.8). В области pI 7.0-9.0 увеличивалось содержание нескольких белков с молекулярными массами 31-34 кДа. Кроме того, мы наблюдали уменьшение содержания нескольких низкомолекулярных белков. Часть белков, содержание которых значительно увеличивалось, была идентифицирована с высокой степенью точности с помощью MALDI TOF MS – кислые бета-1,3-глюканазы, щелочные бета-1,3-глюканазы, хитиназа, disease resistance response protein, PAP fibrillin, глюкозидгидролаза, малатдегидрогеназа (предшественник). В корнях СК также вызывала изменение содержания растворимых белков. Значительно повышалось содержание семи белков в кислой области (pI от 4.53 до 4.85) с молекулярными массами от 31.8 до 34 кДа. Повышалось содержание двух белков (вероятно, изомеров одного и того же белка) 24 кДа pI 5.03 и pI 5.12, а также белков 26.5 кДа pI 5.7; 30.4 кДа pI 5.37; 38 кДа pI 5.88. Было выявлено и уменьшение содержания некоторых белков (16.8 кДа, pI 5.0; 20 кДа, pI 5.98; 26.5 кДа pI 5.56). Нами были идентифицированы некоторые из салицилат-индуцированных белков корней, содержание которых повышалось – аскорбатпероксидаза, глутатион-S-трансфераза, цитоплазматическая малатдегидрогеназа, бета-субъединица трансляционного фактора элонгации и др. Обращает на себя внимание следующая важная особенность салицилат-индуцированного ответа белковых систем листьев и корней. Если в листьях салицилат индуцировал образование антипатогенных белков прямого действия – бета-1,3-глюканаз и хитиназ (разрушающих клеточные стенки патогенных микроорганизмов), то в корнях наблюдалось усиление образования аскорбатпероксидазы (одного из ключевых ферментов аскорбат-глутатионового цикла уничтожения перекиси водорода) и глутатион-S-трансферазы, участвующей в детоксикации образующихся при инфицировании растений продуктов. Другими словами, если итогом салицилат-индуцированного репрограммирования синтеза части белков в листьях было появление оружия против патогенов, то в корнях – повышение устойчивости к патогенам клеток самого растения-хозяина. Такая специфика сигнальных адаптивных процессов в надземных и подземных органах растений обнаружена впервые.

Работа поддержана грантом ведущей научной школы ЛОТ-2006-РИ-112/001/004 и грантом РФФИ № 04-04-49348.

**РЕГУЛЯЦИЯ РОСТА МЕРИСТЕМНЫХ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ
(*SOLANUM TUBEROSUM* L.) *IN VIVO* ПОД ЭКЗОГЕННЫМ ДЕЙСТВИЕМ
ГОРМОНОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЭНДОГЕННОГО ИХ СОДЕРЖАНИЯ**

**Regulation of meristemic potat growing plants
(*Solanum tuberosum* L.) *in vivo* under the exogenous hormones
action depending on their endogenous content**

Т.Г. Янчевская, О.В. Страшкевич

Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича
НАН Беларуси, г. Минск

E-mail: t_yanch@mail.ru, t_yanch@biobel.bas-net.by

Достижения фундаментальных исследований в области физиологии растений в современном мире призваны закладывать основу для разработки прорывных технологий и практического использования. Повышение урожайности и качества картофеля – культуры, занимающей третье место в мире, требует достаточного количества высококачественного посадочного материала. Для решения этой проблемы нами разработана ионитопонная технология круглогодичного получения оздоровленного материала картофеля в биотехнических комплексах путем микроклонирования меристемных растений на безвирусной основе *in vivo* на ионообменных сбалансированных субстратах многократного использования. Однако поиск возможностей увеличить потенциал продуктивности сельскохозяйственных культур остается по-прежнему актуальным. Самым перспективным в этом направлении представляется применение биологически активных веществ (БАВ), как регуляторов роста и развития растений. Среди них все большее распространение приобретают brassinosteroids из-за своей биологической эффективности, экологической безопасности, применения в малых дозах. Известно, что они способны существенно изменять гормональный баланс растения, влияя тем самым на дифференцировку, рост, цветение, устойчивость и старение.

Вместе с тем к настоящему времени установлена гормональная неоднородность различных зон осевого органа: в стебле картофеля существует базипетальный градиент цитокининов, акропетальный абсцизовой кислоты и изменяющийся в ходе вегетации градиент ауксинов. Поскольку черенковые регенеранты развиваются из участков материнского меристемного растения с различным фитогормональным балансом, они могут иметь метаболические различия, связанные, в частности, с системой донорно-акцепторных связей, ответственных за перераспределение продуктов фотосинтеза между аттрагирующими центрами. В связи с этим, исследование различных аспектов физиологического действия brassinosteroids на

метаболизм микроклонов с различным уровнем фитогормонов может способствовать расширению представлений о механизмах управления растительным онтогенезом.

Цель настоящего исследования заключалась в выяснении физиологических эффектов, вызываемых экзогенным действием 2,4-эпибрассинолида (в концентрации 10^{-7} мг/л) на картофель раннего сорта Лазурит (белорусской селекции), развившийся из меристемных растений, различающихся исходным уровнем содержания фитогормонов – апикальных (А), средних (С) и базальных (Б) черенковых регенерантов, представляющие модельную экспериментальную систему.

Рассада, выращенная из регенерантов (А), в возрасте до 28 сут отличалась более высокими скоростями ризогенеза, линейного роста и формирования листьев под действием 2,4-эпибрассинолида относительно контроля. Растения характеризовались усиленным развитием боковых побегов в пазухах листьев. С увеличением возраста исследуемых растений (после 30 сут.) наблюдалась тенденция к снижению сырой массы рассады из регенерантов (А) по сравнению с растениями (Б). В связи с тем, что цитокининам принадлежит важная роль в подавлении апикального доминирования, которое наблюдало у регенерантов из апикальных черенков (рост боковых побегов), а также принимая во внимание тот факт, что на протяжении всей вегетации максимальное содержание цитокининов наблюдалось в апикальном участке стебля растений картофеля, можно объяснить преобладание боковых побегов и столонов у (А) при выращивании *in vivo* на искусственных ионообменных субстратах.

Проведенные исследования показали, что обработка 2,4-эпибрассинолидом приводила к подавлению синтеза Хл *a* и *b* и каротиноидов при одновременном увеличении соотношения Хл *a/b*, изменениям мембранной системы хлоропластов и фотосинтетической активности. Под действием эпибрассинолида регенеранты из апикального черенка дают больший урожай мини-клубней с меньшими размерами и массой по сравнению с растениями из средних и базальных черенков. При отсутствии вирусной инфекции, тестируемой иммунофлуоресцентным и электрофоретическим анализами, эпибрассинолид значительно стимулировал образование фракции суммарных флавоноидов у регенерантов из апикального черенка (367 % к контролю), в то время как у растений из базального черенка происходило уменьшение их содержания (43 % к контролю).

Используя модельную систему черенков меристемных растений картофеля, исходно различающихся содержанием фитогормонов, можно утверждать, что брассиностероиды способны существенно изменять гормональный баланс растения, вызывая эффекты, зависящие от уровня гормона в растении по типу синергизма и свидетельствуют о непосредственном участии брассиностероидов в регуляции роста и формировании стрессоустойчивости у растений картофеля при вегетативном микроклонировании *in vivo*.

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

Vergeldt F.J.	137	Akerlund H.E.	28
Xiuxiu Ge	170	Baluska F.	156
Yang Q.	170	Biel R.Y.	41
Абдеева И.	226	Brewin N.J.	154
Абдрахимов Ф.А.	30, 31	Burda K.	28
Абдрахимова Й.Р.	31	Datsenko V.K.	47
Абдурахманов А.А.	233	de Boer A.H.	179
Абилова Г.А.	234	Dietz K.-J.	156
Авальбаев А.М.	171	Fomina I.R.	41
Аверина Н.Г.	210, 229	Gospodarek M.	8
Авксентьева О.А.	185	Goss R.	28
Аврутина О.В.	236, 250, 327	Grubisic D.	232
Агеева М.В.	366	Grudzinski W.	8
Азаркович М.И.	180, 238	Gruszecki W.I.	8
Аксенова Н.П.	240	Grzyb J.	28
Акулов А.Н.	242	H. van As	137
Алейникова А.Ю.	173, 187, 190	Hause B.	58
Александрова М.С.	82	Heldt H.-W.	47
Александровская Н.И.	213, 302	Khlebopros R.G.	41
Алексеева В.В.	360	Khryanin V.N.	392
Алексейчук Г.Н.	252	Kirilova E.N.	295
Алиханова А.А.	243, 400	Kirizii D.A.	139
Алябьев А.Ю.	101	Knop C.	47
Алявина А.К.	64	Koroleva O.	47
Ампилогова Я.Н.	33	Kots S.Ya.	47, 139
Андреев И.М.	385	Kruk J.	28
Анисимов А.В.	137, 366	Kurchii B.A.	311
Антонова Г.Ф.	35	Latowcki D.	28
Архипова С.С.	242	Lohaus G.	47
Архипова Т.Н.	245, 383	Maksimovic V.	232
Астахов С.О.	61	Maksymiec W.	8
Ашпакин В.В.	203	Malichenko S.M.	47, 139
Бабаков А.В.	179	Misic D.	232
Бабоша А.В.	247	Nazarova G.N.	41
Баврина Т.В.	249	Nishio J.N.	41
Байбус Д.М.	277	Patyra M.	8
Бакирова Г.Г.	30	Pawlowski K.	58, 103, 129
Балаур Н.С.	37	Popovic Z.	29
Баранова Е.Н.	38	Prinsen E.	245
Баркалова О.Н.	75	Siler B.	232
Баташев Д.Р.	47, 103	Soukhovolsky V.G.	41
Баташева С.Н.	30	Strzalka K.	28
Батов А.Ю.	261, 327, 347	Sytnikov D.M.	139
Батыгина Т.Б.	10	Toma S.I.	295
Башмаков В.Ю.	71	Tomos D.	47
Баштанова У.Б.	97	Tongquan Yu	170
		Vasyliuk V.M.	47

Волошина И.Н.	353	Бек К.	277
Воробьев В.Н.	366	Белимов А.А.	156
Воронина О.В.	261	Белозерова Н.С.	190
Воронцов В.А.	37	Бернер Т.	187
Воронцова Е.А.	150	Билова Т.Е.	236, 250, 327, 362
Вреугденхил Д.	212	Бободжанова Ф.Х.	216
Выскребенцева Э.И.	162	Богдан М.М.	386
Высоцкая Л.Б.	176, 263	Бойченко В.А.	143
Высоцкий Д.А.	179	Бокий Г.В.	293
Галеева Е.И.	195	Большакова М.А.	290
Галибина Н.А.	49	Бондаренко М.А.	218
Гамалей Ю.В.	14, 47, 103, 129, 147	Борзов А.А.	213, 302
Гарлик Ю.А.	265	Борисов А.Ю.	154, 156
Генатулина А.Р.	299	Борисов Б.А.	43
Генерозова И.П.	162	Боровский Г.Б.	372
Гималов Ф.Р.	198	Бровко Ф.А.	175
Гирфанова Р.Р.	294	Буболо Л.С.	160
Глотов В.А.	133	Будда О.В.	252
Голденкова И.В.	226	Бурлакова Е.Б.	77, 78
Головацкая И.Ф.	266, 268, 278, 290	Бурундукова О.Л.	325
Головко Т.К.	17, 69, 319	Бурьянов Я.И.	360
Голяновская С.А.	240	Бутанаев А.М.	360
Гордон Г.Х.	270	Буфетов Е.Н.	115
Гордон Л.Х.	101, 253	Бухов Н.Г.	37, 40
Горшкова Т.А.	51, 56, 85, 366	Быков О.Д.	43, 45
Грабельных О.И.	52, 113	Быстрова Е.И.	284
Гречкин А.Н.	108	Быховцев Б.Г.	370
Гримм Б.	229	Валитова Ю.Н.	253
Гриц А.Н.	373	Валиуллини Л.Р.	31
Гришунина Е.В.	240	Ванюшин Б.Ф.	12, 95, 142, 203, 213, 215, 302
Груша В.В.	55	Варакина Н.Н.	372
Гудков И.Н.	55	Васильева В.С.	175
Гулевич А.А.	38	Вафина Г.Н.	253
Гулина Е.В.	370	Вахитов В.А.	198
Гумилевская Н.А.	180, 238	Верещагин А.Л.	307
Гурин А.Г.	348	Вершинкин Д.А.	255
Гурьянов О.П.	56	Веселов Д.С.	176
Гусева И.А.	271	Веселов С.Ю.	257, 286, 383
Даниленко В.А.	196	Веселова С.В.	257
Данилова С.А.	182	Ветчинникова А.В.	165
Демиденко А.В.	182, 183	Викторова Л.В.	195
Демкив О.Т.	273	Винникова Ю.М.	268
Демченко К.Н.	58	Войников В.К.	52, 113, 372
Демьяненко А.И.	386	Войтенко Л.В.	259
Деревянчук М.В.	60	Войцеховская О.В.	47, 103, 129
Дзюбенко В.С.	61, 62, 63	Волотовский И.Д.	306

Кавракова З.К.	223	Дитченко Т.И.	275
Казачков М.Г.	153	Добрев П.	249
Калиберная Э.В.	302	Додуева И.Е.	207
Калинина Е.А.	354	Донцова С.В.	202
Канючкова Г.К.	163	Драгович А.Ю.	170
Каравайко Н.Н.	188	Драч С.В.	278
Карлов Г.И.	364	Дубравина Г.А.	64
Карлова А.Б.	386	Дударева Л.В.	358
Карначук Р.А.	266, 278, 290	Дустмаматов А.Г.	66, 68
Карпеченко Н.А.	222	Дымова О.В.	69
Карпова Г.М.	291, 316	Егорова А.М.	381, 402
Карсункина Н.П.	364	Емельянов В.В.	352
Картамышев В.Г.	293	Епринцев А.Т.	71, 133, 218
Картамышева Е.В.	293	Ермаков И.П.	315
Карташов И.М.	91	Ермилова Е.В.	73, 277
Карягин В.В.	302	Ершова А.Н.	75
Касимова Д.И.	294	Ефимова М.В.	266, 278, 290
Касымова Г.Ф.	202	Жернаков А.И.	156
Кауш М.В.	37	Жесткова И.М.	33, 158
Кашина О.А.	101	Жигалова Т.В.	313
Кесслер Р.М.	93	Жигачева И.В.	77, 78
Кириллова И.Г.	94	Жмурко В.В.	185, 280
Кириллова Л.Л.	288	Жолкевич В.Н.	66
Кирпичникова А.А.	330, 352, 357	Жуковская Н.В.	79, 81
Кирпичникова О.В.	135	Журавлев Ю.Н.	19
Кицан Р.Р.	37	Загоскина Н.В.	82
Ковалева Л.В.	297, 385	Зайцева С.М.	82
Коваль И.А.	147	Залуцкая Ж.М.	277
Коваль С.Ф.	210	Заплатин Б.П.	282
Козулева М.А.	87	Захарова Е.В.	297, 364
Колесников Я.С.	298	Захожий И.Г.	83
Колесникова А.Ф.	220	Зеленьчукова Н.С.	329
Колесниченко А.В.	52, 113	Зубкова Е.К.	103, 160,
Колоколова Н.С.	93, 149		187, 188
Коломийцева Г.Я.	95	Зубо Я.О.	173, 187,
Константинова С.В.	97		190, 227
Константинова Т.Н.	240	Ибрагимова Н.Н.	85
Копич В.Н.	96, 153	Иванов Б.Н.	87, 89, 334
Коппель Л.А.	299	Иванов В.Б.	284
Кордюм Е.П.	60	Иванов И.М.	286
Коф Э.М.	213, 302	Иванова Е.П.	288, 360
Кочетова Г.В.	97	Игнатов К.Б.	378
Кошишова Ю.Н.	127, 128	Игнатова Л.К.	89
Кошкин В.А.	303	Игнатъев А.Р.	334
Кравец В.С.	60, 298, 305,	Ильина Е.Л.	207
	306	Ильина О.В.	341
Кравцов А.К.	187, 190	Ильинова М.К.	163
Кремнев Д.А.	73	Кабачевская Е.М.	306
Кретинин С.В.	60, 298, 306	Кабашникова Л.Ф.	131

Максютова Н.Н.	195	Кропоткина В.В.	307
Малбек Ю.	249	Круглова Н.Н.	257
Мамушина Н.С.	103, 160	Крутова Е.К.	127
Маркаров А.М.	319, 322	Крылова Е.М.	226
Маркелова А.Г.	138	Кудоярова Г.Р.	286, 383
Маркин Н.В.	196	Кудрявцев А.М.	170
Маркова И.В.	327	Кудрякова Н.В.	183, 187, 188, 192
Мартинек Я.	298	Кудряшов А.П.	99
Мартинец Я.	261	Кудряшова И.Б.	213
Маслов Ю.И.	380	Кузембаева Н.А.	339
Маслова Е.В.	71	Кузнецов В.В.	20, 173, 182, 183, 187, 188, 190, 192, 227
Маслова И.П.	61	Кузнецова Т.Н.	193, 309
Маслова С.П.	323	Кулаева О.Н.	175, 183, 187, 188, 192, 227, 397
Маслова Т.Г.	160	Куликова В.В.	316
Матвеева Н.П.	315	Куприянова Е.В.	138, 188
Матвиенко И.И.	303	Курчий В.М.	388
Матниязов Р.Т.	198	Кустова Ю.Ю.	226
Маханьков В.В.	325	Кучаева Л.Н.	123
Махачкова И.	249, 298	Лабунская Е.А.	313
Медведев С.С.	261, 327, 347	Ладыгин В.Г.	63, 138
Мельникова А.Н.	103	Лазарева Е.А.	315
Меренюк Л.Т.	37	Ламан Н.А.	252
Месенко М.М.	284	Лапина Т.В.	73
Микшина П.В.	56	Лапшин Д.А.	193, 309
Миляева Э.Л.	265	Лауве Л.С.	325
Миляева Э.Л.	345	Лебедева О.Р.	128
Минич А.С.	329	Лире К.	187
Минич И.Б.	329	Литвиновская Р.П.	278
Минкина Ю.В.	385	Литягина С.В.	336
Митрофанова О.П.	303	Лобышева Н.В.	142
Михайлова Ю.В.	330, 352	Ложникова В.Н.	240
Мокшин Е.В.	332	Ломин С.Н.	291, 316, 318, 398
Мокшина Н.Е.	85	Лосева Н.Л.	101
Московкина М.А.	147	Лось Д.А.	188
Мошков Д.А.	175	Лукаткин А.С.	332
Мошков И.Е.	200, 205	Лукашук О.А.	64
Мубаракшина М.М.	87	Лутова Л.А.	207
Мудрик В.А.	334	Лушникова А.Л.	175
Музарок Т.И.	325	Ляхнович Г.В.	306
Мусатенко Л.И.	259	Ляшенко Е.А.	348
Мухитова Ф.К.	108	Магомедова М.А.	243
Мухтарова Л.Ш.	108	Макаров В.Н.	131
Назарова А.В.	358		
Наимов С.Н.	202		
Насонов А.И.	208, 339		
Насырова Ф.Ю.	223		
Наумкина Е.М.	203, 249		
Немировская Э.А.	207		
Ненько Н.И.	339		

Радионов Н.В.	182	Нигмонов М.	202
Ракитин В.Ю.	297	Никашин Б.А.	205
Рассади́на В.В.	210, 252	Никитин М.М.	73
Рахматуллина Д.Ф.	270	Николаева М.К.	104
Репин А.В.	163, 165	Никонорова Н.М.	266
Рифлер М.	291, 316, 398	Новикова Г.В.	200, 205
Рихванов Е.Г.	372	Новицкая Л.Л.	106
Рогозянская Ю.А.	348	Новичкова Н.С.	334
Рожкова О.В.	93	Обручева Н.В.	336
Романов А.Г.	350	Овчинникова В.Н.	390
Романов Г.А.	21, 203, 240, 249, 291, 298, 316, 255, 265, 345, 398	Огородникова А.В.	108
		Огородникова Т.И.	270
		Оельмюллер Р.	227
		Озерова Л.В.	109
		Озолина Н.В.	338, 341
Романова А.К.	334	Окон Э.А.	339
Романюк Д.А.	330, 352	Осипенкова О.В.	225
Роньжина Е.С.	353, 354, 356	Осипова М.А.	207
Рубцова М.С.	127, 128	Осиюк А.С.	99
Рудашевская Е.Л.	129, 357	Осмоловская Н.Г.	111, 123
Руденко Н.Н.	89	Острикова О.В.	220
Рудиковская Е.Г.	358	Павлик Л.Л.	175
Рудиковский А.В.	358	Павловская О.С.	341
Рукавцова Е.Б.	360	Пахомова М.В.	14
Румянцева Н.И.	242	Пегова А.Н.	299
Русалева Т.М.	372	Перк А.А.	343
Рыжкина И.С.	253	Петрова М.А.	345
Савченко Г.Е.	131	Пивоварова Н.Ю.	113
Сакало В.Д.	388	Плотников В.К.	208, 339
Салега Ю.Г.	338	Плыгун С.А.	348
Салина Е.А.	223	Побежимова Т.П.	52, 113
Сальников В.В.	85, 366	Подъячев С.Н.	253
Саляев Р.К.	23, 338, 341	Пожванов Г.А.	327, 347
Сараева О.В.	329	Польгалова О.О.	115
Сафронова В.А.	156	Поляков В.В.	38
Сахабутдинова А.Р.	359	Пономарева А.А.	115, 270
Свердлова Е.Л.	322	Попов А.А.	343
Селиванкина С.Ю.	187, 188	Попов В.Н.	117, 150, 218, 222
Семенов А.Е.	133	Попова В.Т.	118
Семенов О.Г.	364	Попова М.С.	120, 121
Семенова Г.А.	360	Попова Н.Ф.	123
Семихатова О.А.	135	Потехина Н.Н.	329
Сергеев Д.А.	223	Прадедова Е.В.	338, 341
Сергеева Л.Е.	375	Пронина Н.А.	138
Сергеева Л.И.	212, 240	Прусов А.Н.	95
Сердюк О.П.	288, 360	Пузанский Р.К.	125
Середина А.В.	213, 302	Пузина Т.И.	390
Сибгатуллин Т.А.	137	Пятин М.А.	282
Синетова М.П.	138		

Усманов Т.П.	216	Синецков В.А.	299
Усманова О.В.	216	Синютина Н.Ф.	362
Фаткуллина Л.Д.	77, 78	Скатерная Т.Д.	140, 153
Фаттахов С.Г.	77, 78, 101	Скоробогатова И.В.	364
Федореева Л.И.	215	Сметанин Д.В.	208
Федоренко Г.М.	149	Смирнова Т.А.	95, 142
Федорин Д.М.	71	Смольгина Л.Д.	288, 360
Федорин Д.Н.	218	Снегирева А.В.	366
Федосеева И.В.	372	Соболев Д.Е.	215
Федотова И.Э.	220	Соболькова Г.И.	226
Федулина С.Б.	127	Соколова Н.А.	358
Фернандес Э.	73	Солдатов С.А.	368
Фоменко О.Ю.	150, 222	Спивак В.А.	370
Хаметова К.М.	234	Стадничук И.Н.	143
Хамрабаева З.М.	167	Стасова В.В.	35
Харитоненко А.И.	152, 153	Стахов М.П.	145
Харченко О.В.	96, 140, 152, 153	Степанов А.В.	372
Харченко П.Н.	38, 213	Степанченко Н.С.	205
Хедтке Б.	229	Страшкевич О.В.	373, 404
Хлесткина Е.К.	223	Струнин Д.Е.	375
Ходоренко А.В.	154, 156	Сувд Ч.	390
Хоркавцив Я.Д.	273	Судакова С.Н.	253
Хоробрых С.А.	87	Суслов Д.В.	362
Хохлова Л.П.	31, 147	Суслов М.В.	327
Хрипач В.А.	266, 278	Табаленкова Г.Н.	69
Христин М.С.	89	Танкелюн О.В.	261, 357, 362, 394
Хрянин В.Н.	271, 282, 368	Тараканов И.Г.	377, 378
Хурматов Х.Х.	223	Тараховская Е.Р.	380
Цап Т.В.	99	Тарчевский И.А.	381, 402
Ценцевичкий А.Н.	253	Теребова Е.Н.	49
Цыганов В.Е.	154, 156	Тимергалина Л.Н.	383
Чан Тхи Хоанг Куэн	71	Тимофеева Г.В.	297, 385
Чемерис А.В.	198	Тимофеева О.А.	147
Чемикосова С.Б.	56	Тихомиров А.А.	25
Чернова Т.Е.	56	Тихонова М.А.	196
Чиков В.И.	30	Тихонович И.А.	154, 156
Чуб В.В.	313	Тищенко Е.Н.	388
Чулкова Ю.Ю.	147	Ткачук Е.С.	386
Чумак Н.М.	208	Тоньшин А.А.	142
Шакирзянова Г.С.	216	Топчий Н.Н.	388
Шакирова Ф.М.	171, 359	Травничкова А.	249
Шарова Е.И.	236, 327	Трапезников В.К.	286
Шарова Т.Е.	250	Третьяков Н.Н.	390
Шахова Н.В.	357, 394	Трибунских В.И.	101
Шацких А.С.	222	Трифопова Т.В.	195
Швартау В.В.	109, 145	Трофимова М.С.	33, 158
Шевченко Г.В.	188	Уварова Н.И.	325
Шевырева Т.А.	158	Усатов А.В.	93, 149, 196

Юсуфов А.Г.	400	Шегай И.Д.	63
Яблонская Е.К.	339	Шепеляковская А.О.	175
Ягодина Л.О.	85	Шереметьев С.Н.	14
Яковенко О.Н.	306	Шерстнева О.А.	160
Яковлева В.Г.	381, 402	Ширшикова Г.Н.	360
Якубова М.М.	167	Шишова М.Ф.	330, 352, 357, 396
Ямбуренко М.В.	187, 227	Шредерс С.М.	163, 165
Янчевская Т.Г.	373, 404	Штратникова В.Ю.	192, 397
Яронская Е.Б.	229	Шубина М.А.	266
Яцко Я.Н.	69	Шугаев А.Г.	37, 77, 78, 162
		Шугаева Н.А.	162
		Шуляковская Т.А.	163, 165
		Юдина А.В.	398
		Юдина О.С.	135
		Юдинцева Е.А.	356
		Юлдашев Р.А.	171
		Юрин В.М.	275
		Юрина Н.П.	225
		Юрьева Н.О.	226, 249

VI съезд Общества физиологов растений России

**Международная конференция
«Современная физиология растений:
от молекул до экосистем»**

Материалы докладов в трех частях

Часть I

*Рекомендовано к изданию ученым советом
Института биологии Коми НЦ УрО РАН*

Редакторы Т.В. Цветкова, О.П. Сыромолотова, В.В. Пархачева
Оригинал-макет Е.А. Волкова
Дизайн обложки А.Д. Ремизов, И.В. Далькэ

Лицензия № 0047 от 10.01.99

Компьютерный набор. Подписано в печать 30.05.2007. Формат 60×90¹/₁₆.
Печать офсетная. Бум. офсетная. Усл. печ. л. 26.0. Уч.-изд. л. 26.0.
Тираж 350. Заказ № 40.

Издательство Коми НЦ УрО РАН
167982, ГСП, г. Сыктывкар, ул. Первомайская, 48