

норной стороне. По-видимому, избыточный поток электронов, протекающий через ФС1, при тепловом шоке приводит к перевосстановлению пула ферредоксина. Это может приводить к инактивации ферредоксин:НАДФН-оксидазы. Известно, что активность этого фермента быстро регулируется через связывание с мембранными белками Tic62 и TROL, которые протектируют данный флавоэнзим от инактивации. Поэтому можно заключить, что одной из основных причин термоиндуцированного нарушения электронного потока в хлоропластах является осложнение оттока электронов от P700 по ферредоксин-зависимому пути.

ВЛИЯНИЕ СВЕТОДИОДНОГО ОСВЕЩЕНИЯ РАЗНОГО СПЕКТРАЛЬНОГО СОСТАВА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНА НИТРАТРЕДУКТАЗЫ И НАКОПЛЕНИЕ БЕЛКА В КЛЕТКАХ *SPIRULINA PLATENSIS*

Радюк М.С., Гончарик Р.Г., Булда К.Ю., Козел Н.В.

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Среди элементов минерального питания растительных организмов важную роль играет азот, так как он входит в состав белков и нуклеиновых кислот. Свободный азот воздуха растения (кроме бобовых) усваивать не могут. Большинство растительных организмов получают азот в основном в виде нитратов. Ключевым ферментом в цепи восстановления нитрата до нитрита и затем до аммония является нитратредуктаза. Известно, что клетки синезеленой водоросли *Spirulina platensis* накапливают большое количество (до 70 % от сухой массы) белка [1]. Однако, в отличие от высших растений, ассимиляция нитратов в клетках *Spirulina* изучена в недостаточной степени. Остается неясным, каким образом клетки водоросли регулируют свой метаболизм, чтобы синтезировать такое большое количество белка. Возможно это связано с тем, что нитратредуктаза *Spirulina* имеет большую специфическую активность и стабильность, чем нитратредуктаза высших растений, в частности риса [2]. Кроме того, при недостатке в среде обитания нитратов, клетки *Spirulina* в большей степени, чем другие организмы, способны к утилизации всех доступных источников азота (нитритов и аммония) [3]. В литературе есть данные о транскрипционной и посттрансляционной регуляции в высших растениях нитратре-

дуктазы внешними стимулами, в том числе и светом [4]. Мы предполагаем, что и в клетках водорослей, в частности *Spirulina*, при существенном изменении спектрального состава освещения могут проявляться подобные регуляторные механизмы, направленные на адаптацию системы ассимиляции неорганического азота к изменяющимся условиям окружающей среды. Так как с процессами превращения азота в клетках растительных организмов, в том числе и водорослей, непосредственно связана их продуктивность, выяснение влияния светодиодного освещения разного спектрального состава на систему ассимиляции неорганического азота представляется весьма актуальным.

В работе изучали изменение экспрессии гена, кодирующего фермент нитратредуктазу (Nar), а также накопления белка в клетках *Spirulina platensis* в условиях светодиодного освещения с разным спектральным составом. В качестве объекта исследования использовали трихомную синезеленую водоросль (цианобактерию) *Spirulina (Arthrospira) platensis* (Nordstedt) Geitler (штамм IBCE S-2 из коллекции Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси). Водоросль выращивали на стандартной среде Зарроука в стеклянных емкостях в режиме 14 ч света – 10 ч темноты при температуре $25 \pm 2^\circ\text{C}$ в течение 7 дней. Для выращивания *Spirulina platensis*, содержащей большое количество фикоцианина и β -каротина, кроме классических красного и синего светодиодов и их комбинации (красный : синий – 2:1 по энергии излучения), мы использовали осветитель более сложной конструкции, в спектре излучения которого содержался дополнительно желтый и голубой свет (красный : желтый : голубой : синий – 3:3:1:1 по энергии излучения), а также использовали энергосберегающую люминесцентную лампу Philips PL-S 11W\827 в качестве контроля. Интенсивности световых потоков лампы и комбинации светодиодов изначально были выравнены по энергии и составляли примерно 5 мВт/см².

Был осуществлен подбор праймеров, специфичных к гену Nar и гену-нормализатору 16SrRNA, оптимизирован протокол ПЦР-анализа для указанных праймеров и проведен ПЦР-анализ уровня экспрессии гена Nar в клетках *Spirulina*, выращенной при различной комбинации светодиодов. Полученные средние из 3-х повторностей уровней экспрессии гена Nar в клетках *Spirulina*, выращенной в условиях светодиодного освещения с разным спектральным составом, представлены в таблице. За 1,0 принят уровень экспрессии гена Nar в клетках *Spirulina*, выращенной под белым светом (контроль).

Таблица – Экспрессия гена *Nar* и содержание белка в клетках *Spirulina platensis* при выращивании водоросли под светодиодными осветителями и люминесцентной лампой Philips (контроль)

Свет / Показатель	Белый (контроль)	Красный	Синий	Красный + синий	Красный + желтый + голубой + синий
Уровень экспрессии гена <i>Nar</i> , отн. ед.	1,0	1,03±0,06	1,14±0,06*	1,10±0,05*	1,01±0,04
Белок, мг/ г с.м.	452,0±22,2	548,8±24,7*	423,2±7,4*	512,5±35,1*	500,1±15,6*

Примечание: г с.м. – грамм сухой массы, * – различия по сравнению с контролем достоверны, $p < 0,05$.

Выявлена тенденция к увеличению экспрессии гена *Nar* во всех опытных вариантах по отношению к контролю. Наиболее высокий уровень экспрессии гена *Nar* в клетках *Spirulina* зафиксирован в варианте с использованием только синего света в качестве фотосинтетически активного (на 14% больше по сравнению с контролем), а также в варианте с использованием совместно красного и синего светодиодов (на 10% больше контроля). Возможно, такая стимуляция экспрессии гена *Nar* синим светом связана с наличием в составе нитратредуктазы флавина, который активно поглощает свет в этой области спектра [5].

Анализ содержания белка в клетках водоросли позволил выявить увеличение его синтеза на 11% (красный + желтый + голубой + синий), 13% (красный + синий) и 21% (красный) во всех опытных вариантах по отношению к контролю, за исключением варианта с использованием синего света. Отсутствие прямой корреляции между экспрессией гена *Nar* и накоплением белка при использовании только синего света, видимо, связано с существенным снижением фотосинтетической активности клеток *Spirulina platensis* в связи с отсутствием в спектральном составе освещения желтого и красного света, наиболее эффективно поглощаемого фикоцианином (максимум поглощения фикоцианина – 620 нм), что является лимитирующим фактором, ограничивающим накопление белка в клетках водоросли.

Литература

1. Мельников С.С. Спирулина. Справочное пособие в вопросах и ответах. – Мн.: Изд-во «Право и экономика», 2005. – 57 с.

2. Ali A. et al. *Spirulina* nitrate assimilating enzymes (NR, NiR, GS) have higher specific activities and are more stable than those of rice. // *Physiol. Mol. Biol. Plants*. 2008. V. 14, N 3– P. 179-182.
3. Jha P., Ali A., Raghuram N. Nitrate-Induction of nitrate reductase and its inhibition by nitrite and ammonium ions in *Spirulina platensis* // *Physiol. Mol. Biol. Plants*. 2007. V. 13, N 2. P. 163-167.
4. Fischer K. et al. Structural basis of eukaryotic nitrate reduction: crystal structures of the nitrate reductase active site // *Plant Cell*. – 2005. – Vol. 17. – P. 1167–1179.
5. Кузнецов В.В., Дмитриева Г.А. Физиология растений. – М.: Высш. шк., 2006. – 742 с.

**ВЛИЯНИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО
ИЗЛУЧЕНИЯ He-Ne ЛАЗЕРА ($\lambda=633$ нм) НА
ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ
ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ**

Скрипченко Н.В., Левчик Н.Я., Качалова Н.М.*, Дзюба О.И.

*Национальный ботанический сад имени Н.Н. Гришко НАН Украины,
Киев, Украина*

**Институт физико-органической химии и углекислоты имени
Л.М. Литвиненко НАН Украины, Киев, Украина*

Многочисленные исследования метаболитов семян свидетельствуют о том, что они играют важную роль как в обеспечении процесса прорастания семян, так и в дальнейшем развитии и продуктивности растений, в установлении фитоценологических связей между ними и микрофлорой почвы, а также в жизнеспособности семян и их генетической стабильности [1]. Биологической активностью обладают метаболиты семян белковой природы (протеолитические и гидролитические ферменты, фосфатазы, лектины), аминокислоты, фитогормоны, углеводы, фенольные соединения [1, 2].

Все основные физиологические процессы, имеющие место в растительном организме, с наибольшей скоростью происходят в красном свете. Поэтому для достижения максимального эффекта интенсификации роста, фотосинтеза, дыхания, ассимиляции и других при низких энергозатратах необходимо, чтобы внешний биофизический фактор (в частности, лазер-