

**БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИНСТИТУТ ЛЕСА НАН БЕЛАРУСИ**

КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

**Тезисы докладов II Международной
научно-практической конференции**

**Республика Беларусь
Минск
28–31 мая 2018 г.**

**МИНСК
БГУ
2018**

УДК 581.17(06)+604.6:58(06)
ББК 28.54.я43+30.16.я43
К48

Редакционная коллегия:

*И. И. Смолич (отв. ред.),
В. В. Демидчик, В. Е. Падутов*

Клеточная биология и биотехнология растений : тез. докл.
К48 II Междунар. науч.-практ. конф., Респ. Беларусь, Минск, 28–
31 мая 2018 г. / Белорус. гос. ун-т, Ин-т леса НАН Беларуси ;
редкол.: И. И. Смолич (отв. ред.), В. В. Демидчик, В. Е. Па-
дутов. – Минск : БГУ, 2018. – 145 с.
ISBN 978-985-566-559-6.

В издании представлены тезисы докладов участников II Международной научно-практической конференции «Клеточная биология и биотехнология растений». Рассматриваются вопросы, связанные развитием современных научных направлений клеточной биологии растений: метаболические процессы растительной клетки, биоэнергетика растений, транспорт веществ, рецепция и сигнальная трансдукция, фитогормональная регуляция клеточных процессов, стресс и адаптация; а также прикладные аспекты: молекулярные детерминанты урожайности, системная биология и биоинформатика, инновационные агро- и биотехнологии, микроклональное размножение растений и др.

Предназначено для широкого круга специалистов, работающих в области клеточной биологии и биотехнологии растений, а также в смежных областях.

УДК 581.17(06)+604.6:58(06)
ББК 28.54.я43+30.16.я43

ISBN 978-985-566-559-6

© БГУ, 2018

ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ

Сопредседатели:

Демидчик Вадим Викторович (зав. каф. клеточной биологии и биоинженерии растений, биологический факультет БГУ)

Падутов Владимир Евгеньевич (чл.-корр. НАН Беларуси, зав. лаб. генетики и биотехнологии, Институт леса НАН Беларуси)

Почетные председатели:

Лысак Владимир Васильевич (декан биологического факультета БГУ)

Юрин Владимир Михайлович (профессор, каф. клеточной биологии и биоинженерии растений, биологический факультет БГУ)

Председатель технического комитета:

Смолич Игорь Иванович (доцент, биологический факультет БГУ)

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ПРОГРАММНЫЙ КОМИТЕТ

Волотовский Игорь Дмитриевич (академик НАН Беларуси, зав. лаб., Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси)

Дубовская Людмила Вячеславовна (директор Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси)

Кабашникова Людмила Федоровна (чл.-корр. НАН Беларуси, зав. лаб., Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси)

Кильчевский Александр Владимирович (академик НАН Беларуси, Главный учёный секретарь НАН Беларуси)

Ламан Николай Афанасьевич (академик НАН Беларуси, зав. лаб., Институт экспериментальной ботаники НАН Беларуси)

Решетников Владимир Николаевич (академик НАН Беларуси, зав. отд., Ботанический сад НАН Беларуси)

Соколик Анатолий Иосифович (зам. декана по НИР, биологический факультет БГУ)

Титок Владимир Владимирович (чл.-корр. НАН Беларуси, директор Ботанического сада НАН Беларуси)

Шалыго Николай Владимирович (чл.-корр., зав. лаб., Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси)

Хрипач Владимир Александрович (академик НАН Беларуси, зав. лаб., Институт биоорганической химии НАН Беларуси)

МЕЖДУНАРОДНЫЙ КОМИТЕТ

Блюм Ярослав Борисович (академик НАН Украины, директор Института пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины)

Ветчинникова Лидия Васильевна (зав. лаб., Институт леса КарНЦ РАН)

Войцеховская Ольга Владимировна (зав. лаб., Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН)

Исаенков Станислав Валентинович (зав. сектором, Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины)

Медведев Сергей Семенович (зав. каф. Санкт-Петербургский государственный университет)

Минибаева Фарида Вилевна (зав. лаб., Казанский институт биохимии и биофизики РАН)

Мошков Игорь Евгеньевич (зам. директора, Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН)

Новикова Галина Викторовна (вед. науч. сотр., Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН)

Носов Александр Михайлович (зав. каф., Московский государственный университет)

Смоликова Галина Николаевна (доцент, Санкт-Петербургский государственный университет)

Тютерева Елена Владимировна (зав. сектором, Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН)

ТЕХНИЧЕСКИЙ КОМИТЕТ

Бандюкевич Наталья Георгиевна (вед. лаб.),
Баранов Олег Юрьевич (зав. сектором),
Бондаренко Владислав Юрьевич (магистрант),
Ветошкин Алексей Андреевич (магистрант),
Войтехович Мария Аркадьевна (аспирант),
Гриусевич Полина Вацлавовна (магистрант),
Дитченко Татьяна Ивановна (доцент),
Звонарев Сергей Николаевич (аспирант),
Каган Дмитрий Ильич (зав. сектором),
Кирисюк Юлия Викторовна (аспирант),
Константинов Андрей Вячеславович (мл. науч. сотр.),
Крытынская Елена Николаевна (доцент),
Кулагин Дмитрий Валерьевич (науч. сотр.),
Лукашевич Валентин Артурович (магистрант),
Мацкевич Вера Сергеевна (ассистент),
Новосельский Илья Юрьевич (стажер мл. науч. сотр.),
Павлютина Нина Борисовна (лаб. 1 кв. кат.),
Пожванов Григорий Александрович (ассистент),
Пржевальская Дарья Андреевна (мл. науч. сотр., агроном),
Притулик Наталья Валерьевна (лаб. 1 кв. кат.),
Прокофьева Елена Сергеевна (лаб. 1 кв. кат.),
Самохина Вероника Валерьевна (ассистент),
Стрельцова Дарья Евгеньевна (ассистент),
Филиппова Светлана Николаевна (доцент),
Филиппова Галина Григорьевна (доцент),
Цурбанова Ирина Александровна (лаб. 1 кв. кат.),
Черныш Мария Александровна (магистрант),
Чичко Александр Александрович (магистрант),
Шашко Антонина Юрьевна (стажер мл. науч. сотр.),
Яковец Оксана Геннадьевна (доцент).

Содержание

Информация о производителях оборудования в области клеточной биологии и биотехнологии.....	7
Тезисы докладов.....	17
1. Клеточная биология.....	18
1.1. Клеточные механизмы роста и развития.....	18
1.2. Молекулярные и биохимические основы клеточных функций.....	33
1.3. Мембранные транспортеры и клеточная сигнализация.....	46
1.4. Ответ растительной клетки на стрессорные воздействия.....	56
2. Биотехнология.....	79
2.1. Геномные технологии.....	79
2.2. Развитие биотехнологии на основе культур клеток, тканей и органов растений.....	87
2.3. Биорегуляторы и модуляторы роста растений.....	96
2.4. Биоинженерия растений.....	108
2.5. Клональное размножение растений.....	119
2.6. Биотехнология древесных растений.....	127
3. Образование.....	138
Именной указатель.....	142



Системы Ion GeneStudio S5 для NGS



Сегодня внедрение секвенирования нового поколения в вашей лаборатории стало легче, чем когда-либо.

✓ **ПРОСТОТА:** Системы работают на реактивах полностью готовых к загрузке в секвенатор.

Установив систему Ion Chef, вы можете автоматизировать подготовку библиотек и матриц, потратив на ручной труд во всей процедуре анализа от ДНК до результатов не более 45 минут.

- ✓ **МАСШТАБИРУЕМОСТЬ:** Один секвенатор. Множество задач. Вам больше не требуется накапливать образцы, чтобы достичь оптимальной экономичности анализа. Просто выбирайте чип, соответствующий задаче или вашим требованиям по производительности.
- ✓ **СКОРОСТЬ:** от ДНК до результатов всего за 24 часа.
- ✓ **МИНИМАЛЬНОЕ КОЛИЧЕСТВО ОБРАЗЦА:** всего 1 нг ДНК или РНК для исследования деградированных образцов или образцов с небольшим количеством материала с помощью AmpliSeq технологии.
- ✓ **ПРОСТОЙ АНАЛИЗ И ХРАНЕНИЕ ДАННЫХ:** от сырых данных до списка мутаций всего за несколько нажатий кнопки мыши.



Генетический анализатор SeqStudio



Лидер в области генетического анализа. Генетический анализатор, который позволяет проводить секвенирование и фрагментный анализ в одной плашке при одном запуске.

- ✓ Универсальный картридж «все в одном» - содержит полимер POP-1, анодный буфер, систему подачи полимера и капилляры.
 - ✓ Результаты, которым можно доверять – точность, которую вы привыкли ожидать от генетических анализаторов Applied Biosystems.
- ✓ Сокращение времени подготовки запуска – возможность комбинации секвенирования и фрагментного анализа в одном запуске.
 - ✓ Легкость доступа к данным, их анализ и передача в любое время, в любом месте, благодаря облачному сервису Thermo Fisher Cloud.

Ваш надежный партнер:

СПЕКТР ТРЭЙДИНГ

г. Минск, ул.Володько, 6
тел.: +375 17 205-46-78
факс.: +375 17 205-46-79

www.spt.by
E-mail: mail@spt.by

appliedbiosystems



QuantStudio – системы для количественной и цифровой ПЦР

Каждая лаборатория уникальна. Поэтому вашей лаборатории необходима платформа для кПЦР, которая идеально подойдет для решения ваших задач. Возможно, вам требуется простота при ограниченном бюджете, или же вам нужна надежность результатов при небольшом числе задействованных образцов. Может быть, для вашего исследования требуется максимальная пропускная способность для обработки большого потока данных или абсолютная точность результатов, чтобы вы смогли вывести исследование на новый уровень. В любом случае, мы сможем помочь вас найти такую систему **QuantStudio** от бренда Applied Biosystems, которая станет правильным решением для ваших целей: **QuantStudio 3, QuantStudio 5, QuantStudio 6 Flex, QuantStudio 7 Flex, QuantStudio 12K Flex, QuantStudio 3D.**



Термоциклеры: **Veriti, ProFlex, MiniAmp, MiniAmp Plus, SimpliAmp, Automated TC**

Технология VeriFlex – инновационный подход к кПЦР

- ✓ Более точный контроль.
- ✓ Решение «Лучше, чем градиент» -сохранение своих температурных характеристик между этапами оптимизации и изотермических условий, что устраняет необходимость в дополнительных шагах.
- ✓ Установление разных температурных режимов в ходе одного этапа протокола.



Когда каждый шаг должен быть точным

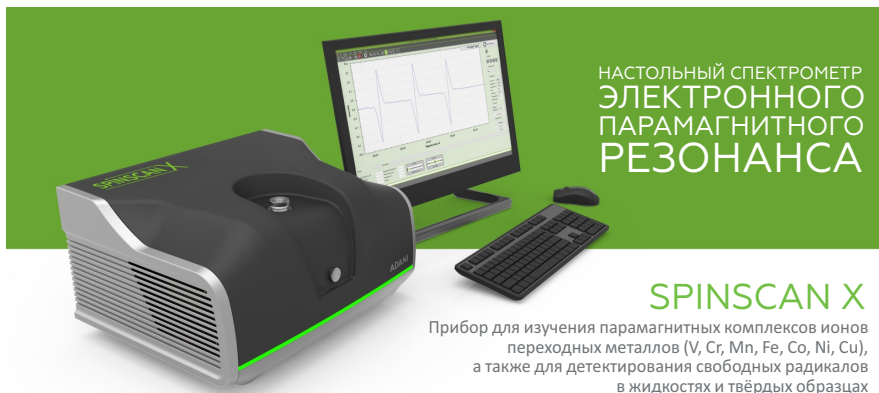
Ваш надежный партнер:

СПЕКТР ТРЭЙДИНГ

г. Минск, ул. Володько, 6
тел.: +375 17 205-46-78
факс.: +375 17 205-46-79

www.spt.by
E-mail: mail@spt.by

НА СТЫКЕ НАУК РОЖДАЮТСЯ НОВЫЕ РЕШЕНИЯ ЭПР СПЕКТРОМЕТР SPINSCAN X - ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ НОВЫХ ИДЕЙ



НАСТОЛЬНЫЙ СПЕКТРОМЕТР ЭЛЕКТРОННОГО ПАРАМАГНИТНОГО РЕЗОНАНСА

SPINSCAN X

Прибор для изучения парамагнитных комплексов ионов переходных металлов (V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu), а также для детектирования свободных радикалов в жидкостях и твёрдых образцах

ОСНОВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

- ▶ Компактный дизайн электромагнита и СВЧ тракта
- ▶ Высокая чувствительность и разрешающая способность
- ▶ Встроенный частотомер, датчики магнитного поля и температуры
- ▶ Автоматический расчет g-фактора
- ▶ Автоматическая настройка при смене образца
- ▶ Оптимизированные параметры магнитного поля: высокая точность задания поля, стабильность и однородность в рабочей зоне образца

ПОЛЬЗОВАТЕЛИ



ХИМИЧЕСКИЕ, ФИЗИЧЕСКИЕ,
БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЛАБОРАТОРИИ



ЛАБОРАТОРИИ ПО КОНТРОЛЮ
КАЧЕСТВА ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ,
ДОЗИМЕТРИЯ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ



ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЕ ГРУППЫ
В ОБЛАСТИ НАНО И БИОТЕХНОЛОГИЙ



ГЕОЛОГИЧЕСКИЕ
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЕ
ИНСТИТУТЫ



УЧРЕЖДЕНИЯ ОБРАЗОВАНИЯ



УП «АДАНИ»
ул. Селицкого, 7, Минск, 220075, Республика Беларусь
Тел.: +375 (17) 349 00 00; Факс: +375 (17) 346 29 02
www.lab.adani.by
info@adani.by

Сделано в Беларуси

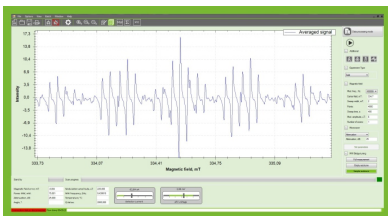


ADANI
от идей к решениям

СПЕКТРОМЕТР ЭЛЕКТРОННОГО ПАРАМАГНИТНОГО РЕЗОНАНСА

SPINSCAN X

Параметры		Преимущества спектрометра SPINSCAN X
Чувствительность	8×10^{13} спин/Т	► Измерение Q-фактора резонатора и мощности СВЧ
Разрешение	0,006 мТ	► Многочастотная модуляция магнитного поля
Максимальное магнитное поле	0,7 Т	► Диапазон фазового детектирования – 0-360°
Ширина развертки	10- 40,65 Т	► Детектирование первой и второй гармоник (в фазе и противофазе)
Рабочая частота	9,2-9,55 ГГц	► Широкий динамический диапазон. Автоматическая регулировка коэффициента усиления
Частота модуляции магнитного поля	10-250 кГц	► 2D, 3D – эксперименты (магнитное поле относительно мощности СВЧ, температуры, угла и др.)
Тип резонатора	TE ₁₀₂	► Удалённый доступ и управление через Ethernet
Добротность резонатора Q	5000	► Специальное программное обеспечение e-Spinoza: управление, автоматический сбор данных и их математическая обработка, удобный пользовательский интерфейс
ненагруженная		► Эргономичный дизайн
Разрешение амплитуды магнитного поля (цифровое)	24 бит	
Габаритные размеры	470x380x260 мм	
Вес	45 кг	



Спектр ЭПР перилена в серной кислоте



Спектр ЭПР спиновой ловушки TEMPOL (3D эксперимент)



Автоматическая система температурного контроля

Аксессуары и дополнительное оборудование

- Кварцевые ампулы, капилляры, Дюары, держатели для образцов и др.
- Системы температурного контроля (от -80 до +600 °C)
- Автоматическая система подачи жидких образцов
- Проточная система для жидких образцов и система «стоп-флоу»



Система «стоп-флоу»



Автоматическая система подачи жидких образцов



Постоянно совершенствуя продукцию, АДНИ оставляет за собой право вносить изменения в конструкцию и технические характеристики изделий в любой момент и без предварительного уведомления.

Группа компаний **Theseus Lab** начинала свою деятельность с поставок контрольно-измерительного оборудования институтам Национальной академии наук Республики Беларусь, а также для таких государственных предприятий, как БелГИМ и БелГИСС. В то время область применения предлагаемой аппаратуры ограничивалась радио-, электрическими, оптическими и акустическими измерениями.

Существенным этапом в развитии группы компаний стали победы в конкурсах на поставку цифровых передатчиков для Белтелерадиокомпаний и оборудования для целого ряда испытательных лабораторий. Эти победы позволили **Theseus Lab** перейти к новому этапу своего развития. Именно тогда сформировались новые принципы работы:

- произошёл переход от традиционных поставок оборудования, к реализации нестандартных комплексных решений для заказчиков;
- расширился ассортимент поставляемого оборудования и услуг: теперь предлагается широкий выбор производственного, контрольно-измерительного и лабораторно-аналитического оборудования, оснастки, комплектующих и расходных материалов, индивидуальная комплектация и настройка всей поставляемой техники;
- выстроен системный поиск всех приемлемых решений, независимо от того, представлен производитель на постсоветском пространстве или нет; это позволяет предлагать решения с невиданным до настоящего времени соотношением цена-качество;
- создана инфраструктура для эффективной мультипликации опыта, полученного в результате участия в тендерах и конкурсах, а также обслуживания клиентов;
- появилась возможность обслуживать заказчиков из России, Казахстана, Грузии, Кыргызстана, Украины, Армении и других стран.

В настоящее время **Theseus Lab** представляет собой команду, которая благодаря своим знаниям и опыту, рациональной организации и распределению обязанностей, подготовленным инструментам и наработанной репутации способна решать сложные и нестандартные задачи практически во всех областях человеческой деятельности. Сегодня **Theseus Lab** – инжиниринговая структура, которая глубоко вникает в задачи заказчика, тщательно исследует рынки, предлагает различные варианты решения задач, выбирает лучшее в рамках бюджета проекта и реализует сам проект, гарантируя результат.

В итоге заказчик получает следующее:

- Техническую консультацию.
- Готовые варианты решений.
- Оптимальные сроки и условия поставки и оплаты.
- Доставку, монтаж, наладку и запуск оборудования.

- Обучение персонала заказчика работе на нём, включая качественно переведённую на русский язык техническую документацию.
- Текущее обслуживание, гарантийный и послегарантийный сервис всего поставляемого оборудования.

Можно с уверенностью сказать, что в настоящее время в Республике Беларусь нет другой компании со столь широким диапазоном возможностей и с таким ассортиментом поставляемого оборудования.

Мы работаем с самыми разными категориями потребителей: от научных и учебных заведений до производственных предприятий, от независимых лабораторий до силовых структур, от операторов связи и кабельного телевидения до медицинских учреждений.

Сегодня **Theseus Lab** по силам решить любые задачи: от организации и модернизации любых лабораторий до организации экспериментального производства в любой сфере экономики, от комплексного оснащения учебных аудиторий до обустройства аэродинамической трубы для продувки современных авиалайнеров.

Если требуется решить сложную нестандартную техническую задачу, то это возможно именно с **Theseus Lab**.

Мы можем всё.

<http://theseuslab.by/>



Компания ООО «Эмпрос» специализируется на ремонте и продаже аналитического оборудования, комплектующих и расходных материалов, а также сервисном обслуживании приборов.

Мы осуществляем поставки по всей территории Республики Беларусь и странам СНГ. Гарантируем кратчайшие сроки по заказным позициям со склада в Минске и постгарантийное обслуживание оборудования в любой точке РБ.

Сфера деятельности компании: поставка, сервисное обслуживание сложного аналитического оборудования. Отдельная тематика компании – поставка вспомогательного оборудования, комплектующих и расходных материалов к аналитическим приборам различных фирм.

Направления по аналитическому оборудованию:

- ААС и ИСП спектрометры;
- УФ-Вид, ИК спектрофотометры;
- жидкостные и газовые хроматографы;
- лабораторные системы очистки воды;
- элементные анализаторы Hg, C, N, O, S, Cl, H;
- генераторы водорода, азота, нулевого воздуха;
- пламенные фотометры;
- счетчики частиц в воздухе и жидкостях.

Наша задача: комплексное решение проблем заказчика, наиболее полное удовлетворение разнообразных запросов пользователей аналитических приборов. Решение этой задачи достигается благодаря согласованной работе опытных квалифицированных сервисных инженеров, которые прошли обучение на заводах-производителях оборудования в Европе и подтвердили свою квалификацию в РУП «БелГИМ».

Мы не только продаем, но и производим! Специалисты компании разработали систему водоподготовки лабораторного назначения TotalLab с электронным блоком управления и оригинальным дизайном.



Компания ООО «Эмпрос» предлагает компактную и эффективную систему собственного производства для получения сверхчистой воды типа 1, которая предварительно была подвергнута процедуре обратного осмоса, дистилляции или деионизации. Система очистки воды **TotalLab** предназначена для лабораторий с небольшой потребностью в сверхчистой воде.

Производительность установки – 1,5 л/мин.

Водоочистительная система **TotalLab** может применяться в инструментальных методах анализа: атомно-абсорбционной и атомно-эмиссионной спектроскопии, высокоэффективной жидкостной хроматографии, газовой хроматографии, масс-спектрометрических методах анализа и др.

Преимущества уникальной системы TotalLab:

- компактный размер позволит легко установить систему в любом удобном месте;
- интуитивное управление;
- отображение параметров качества воды производится на дисплее;
- быстрая и простая замена картриджа;
- особенность технического обслуживания: время замены картриджа система подскажет сама;
- УФ-лампа позволит снизить показатель общего органического углерода (ТОС) в 3 раза;
- для отбора воды используется любая лабораторная посуда.

Сотрудничество с ООО «Эмпрос» поможет успешно решить возникающие у Вас проблемы в области работы и обслуживания аналитического оборудования, химического анализа и создания научно-технических разработок!

ThermoFisher SCIENTIFIC

– Эти хроматографы не крадут время
моих подчинённых на своё обслуживание.
Они высвобождают его для творческой работы.

– Вы говорите о **Thermo-Dionex**?

– Да, эти системы созданы для того, чтобы пахать.

(из разговора с директором по науке частной биотехнологической компании)

Высококласные жидкостные и ионные хроматографы от мирового производителя **Thermo-Dionex**. Все виды анализов по ГОСТ, ЕРА, ASTM и другим нормативам РБ, ТС и ЕС. Гибкий выбор систем от самых простых, до сложнейших комплексов для работы в прорывных научных областях и высокотехнологичных производствах. Предложения включают насосы и колонки для работы с давлениями до 1500 бар, нанопотоковые и полупрепаративные системы, возможность многомерной хроматографии, возможность автоматического считывания штрих-кода с пробирок, библиотеки методов для работы с диодно-матричным, флуоресцентным, электрохимическим, кондуктометрическим, рефрактометрическим, зарядовым и МС детекторами. Полный спектр оборудования для пробоподготовки, включая автоматические методы. Возможность автоматической удалённой работы систем, в том числе на производствах с агрессивной средой (класс защиты до IP65).



Жидкостные и ионные хроматографы **Thermo-Dionex** обеспечивают:

- Полный анализ метаболитов цикла Кребса, брожения и т.д.
- Полный анализ анионов и катионов, биогенных элементов и их производных.
- Полный анализ аминокислот и углеводов, включая полимеры разной длины и структуры
- Полный анализ витаминов и биологически активных веществ
- Полный анализ пищевых добавок, фармсубстанций, наркотических веществ и загрязнителей.
- Все виды анализа в области протеомики и геномики

За дополнительной информацией обращайтесь:

ООО "Старгейт"

Tel./Fax +375(29)188-92-06, +375(17)219-48-0

E-mail: karetskimbio@gmail.com, stargate.by@gmail.com

Определение азота/белка по методу Дюма за 4 минуты.

Метод Дюма в последние годы стал использоваться во всем мире в качестве эталонного метода точного и быстрого определения азота, например, в сельскохозяйственной продукции. Содержание белка является одним из важнейших показателей качества продуктов питания и сырья. По сравнению с «мокрым» химическим методом анализа по Кьельдалю, данный метод имеет преимущества по скорости выполнения, а также безопасности и экологичности (в методе Дюма не используются «агрессивные» реактивы).

Методика анализа содержания протеинов в мясе и мясных продуктах утверждена ассоциацией химиков-аналитиков (метод AOAC 992.23). В Российской Федерации для определения общего содержания азота и расчета содержания сырого протеина / белка принят ГОСТ Р ИСО 16634-1-2011 (1,2 часть) и ГОСТ Р 54390-2011, согласно которому определение содержания протеина / белка проводится путем сжигания по методу Дюма. Утвержден метод - МВИ 41-09 (ФР.1.31.2009.06332) для продуктов питания.

Прибор соответствует многочисленным международным и европейским стандартам:

- DIN EN ISO 14891 - Молоко и молочные продукты в целом.
- Утвержден метод Ассоциацией Американских Пивоваров и аналогичной Европейской (ASBC, EBC).
- AOAC 990.03, AOAC 968.06, AOAC 993.13, AOAC 992.15, AACC, ASBC, AOCS, CGC (для удобрений, мяса, хлеба, масла, кормов, ячменя, муки).
- DIN/ISO 13878 Анализ качества почв. Определение общего азота.

Наше решение для определения содержания азота/белка -rapid N exceed



Rapid N exceed - анализатор для быстрого и абсолютно безопасного определения азота (белка) в продуктах питания, объектах окружающей среды и др. методом Дюма. Прибор имеет встроенный автосамплер на 60 образцов массой до 1 г, или на 120 образцов до 300 мг. Для любого варианта возможна дозагрузка образцов во время анализа.

Преимущества метода для определения содержания азота/белка:

- Время анализа всего 4 минуты.
- Безопасный метод без использования серной кислоты и других агрессивных реактивов.
- Полное извлечение азота независимо от матрицы.
- Трехзонная печь для сжигания (при 950°C) и каталитического восстановления с использованием вольфрамового катализатора
- Подача кислорода при сжигании непосредственно к образцу с помощью специального сопла.
- Высокоэффективная трехстадийная осушка при сгорании образца газов при анализе образцов объемом до 1 г/мл. Все это обеспечивает высокую точность полученных результатов анализа.
- Диапазон определения Азота: 0,1-500 мг (или 100%)
- Точность: $\leq 0,1$ % (абс.) при анализе стандартных образцов
- Используемые газы: O_2 с точностью 99,995% (расход: 0,4 литра на анализ), CO_2 с точностью 99,995% (расход: 4 литра на анализ)
- Полная автоматизация анализа. Возможность быстрого анализа большого числа образцов.
- Анализатор работает в режиме экономичного расходования реагентов, стоимость 1 анализа - порядка 23 рублей.



За дополнительной информацией обращайтесь:

ООО "Старгейт", Tel./Fax +375(29)188-92-06, +375(17)219-48-09

E-mail: lab@abacus-lab.ru, karetskimbio@gmail.com, stargate.by@gmail.com

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

1. Клеточная биология

2. Биотехнология

3. Образование

Brassinosteroids as modulators of signaling, ion transport, growth and development in higher plants

**Demidchik V.^{1,*}, Straltsova D.¹, Charnysh M.¹, Przhevalskaya D.¹, Gorsky I.¹,
Usnich S.¹, Smolich I.¹, Hryvusevich P.¹, Navaselsky I.¹, Kolbanov D.¹,
Zhabinskii V.N.², Khripach V.A.², Sokolik A.¹**

¹Department of Plant Cell Biology and Bioengineering, Biological Faculty, Belarusian State University, 220030, 4 Independence Ave., Minsk, Belarus.

*Email: dzemidchik@bsu.by

²Institute of Bioorganic Chemistry NASB, Minsk, Belarus

Brassinosteroids (BRs) are phytohormones with a multitude of fundamental functions, which are critical for normal plant growth and development. Exogenous BRs can improve the quantity and quality of crops and ameliorates effects of stresses. Using native and synthetic analogues of BRs as a tool to improve plant yield seems to have a great potential for agriculture and biotechnology (Khripach, 2000). BRs have been intensively investigated for their biosynthesis, distribution and physiological functions using classical physiological tests, analyses of mutants and transgenic plants (*Arabidopsis thaliana* plants constitutively expressing aequorin). Recent data indicate that BRs are also sensed by the plasma membrane system catalyzing increase in the cytosolic free Ca^{2+} (in leaves of *Arabidopsis thaliana*). Zhao *et al.* (2013) have shown that the BR-induced elevation in the cytosolic free Ca^{2+} is abolished in knockout line lacking functional brassinosteroid receptor and after treatment with Gd^{3+} (blocker of Ca^{2+} -permeable nonselective cation channels) (Zhao, 2013). Zhang *et al.* (2005) using suspension culture cells of *Arabidopsis* have found that anion channel currents were inhibited by both 28-homobrassicinolide and 28-castasterone and outwardly-directed K^{+} conductance was stimulated by 28-homobrassicinolide but inhibited by 28-castasterone (Zhang, 2005). First part of our study was to examine possible effects of brassinosteroids on the plasma membrane cation conductances in plant cells and related Ca^{2+} driven signalling events. Standard patch-clamp and aequorin chemiluminometry techniques were used (Demidchik, 2011). Here, we report the first electrophysiological characterisation of brassinosteroid-activated Ca^{2+} -permeable channels in higher plants. Wheat root protoplasts (tested by patch-clamping) and whole *arabidopsis* plants expressing Ca^{2+} -reporting protein, aequorin (analysed by chemiluminometry), were used in this study. In the whole-cell patches (wheat root protoplasts), 1 μM 24-epibrassinolide, 28-homobrassicinolide or 24-epicastasterone were applied exogenously. Only 24-epicastasterone modified transmembrane cation currents while 24-epibrassinolide and 28-homobrassicinolide did not cause any reaction. Addition of 24-epicastasterone at cytosolic side through the patch-clamp pipette increased Ca^{2+} influx conductance, which demonstrated characteristics of depolarisation-activated Ca^{2+} channels. The pharmacological analyses have shown that brassinosteroid-activated Ca^{2+} -influx conductance was sensitive to inhibitors of Ca^{2+} -permeable cation channels. Blockers of K^{+} channels did not inhibit this conductance. The plasma membrane conductance, which was activated by an endogenous 24-epicastasterone, showed bell-like shape with maximal activation at depolarisation voltages (bath: 20 mM Ca^{2+}). Labelling castosterone (and its derivatives) with BODIPY (using castosterone-BODIPY conjugates which were synthesised chemically) showed that castosterone (and its derivatives) can be transferred to the cytosol both in intact roots and protoplasts. This confirms that the effect of 24-epicastasterone at the cytosolic face can potentially be observed in real plants. We also tested the effect of different brassinosteroids on cytosolic free Ca^{2+} , using *Arabidopsis*

thaliana plants constitutively expressing aequorin. Six brassinosteroids including brassinolide, castasterone, 24-epibrassinolide, 28-homobrassinolide, 24-epicastasterone and 28-homocastasterone were tested. All six brassinosteroids induced elevation of the cytosolic free Ca^{2+} in arabidopsis root cells. In the present study we demonstrated that 24-epicastasterone being more potent than 24-epibrassinolide and 28-homobrassinolide. 10 μM of exogenous BRs was the minimal concentration at which statistically significant changes of the cytosolic Ca^{2+} were observed. The obtained results suggest that the plasma membrane of root cells contains the brassinosteroid-activated cation-permeable channels, which can be involved in cell ion homeostasis and signalling. Apart from determination of molecular nature of the brassinosteroid action on plants, in our second part of the study, we have investigated BR effect on growth and development of plant species that have not yet been tested for their BR sensitivity. BR effects in orchid plants have never been tested although *Orchidaceae* is one of the two largest families of flowering plants. Six BRs, belonging to two main BR classes, were examined here for their effects on growth rate and development of *Phalaenopsis* $\times$ hybridum Blume protocorm-like bodies. the influence of 10^{-10} - 10^{-6} M brassinolide (BL), castasterone (CS), epicastasterone (EC), homocastasterone (GC), epibrassinolide (EB) and homobrassinolide (GB) was measured and analysed. Our data demonstrated that all BRs significantly stimulated orchid growth *in vitro*. The greatest effect on length was caused by castasterone, while maximal increase of weight was induced by brassinolide and epibrassinolide. Orchid microclones, grown in the presence of BRs revealed twice bigger length that control plants. Weight gain also increased 2 and 3.5 times when plants were cultivated on media containing BRs. Overall, we have demonstrated for the first time that BRs stimulate growth of representative of *Orchidaceae* and that this stimulation exceeds effect of auxins.

Видоспецифичность действия экзогенной салициловой кислоты на синтез антоцианов *in vivo*

Бачище Т.С.*, Савченко Г.Е.

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси», Минск, Беларусь.

*Email: tatsiana.bachyshcha@gmail.com

Салициловую кислоту (СК) рассматривают как сигнальную молекулу гормонального типа, включающую программы синтеза антиоксидантов при стрессе. Целью работы являлось исследование влияния экзогенной СК на синтез пигментов полифенольной природы в однодольных и двудольных растениях. Объектом исследований служили проростки озимой ржи (*Secale cereale* L.) и гречихи (*Fagopyrum esculentum* Moench). СК вводили в интактные растения через корни. Содержание пигментов определяли спектрофотометрически. Инкубация 3-дневных проростков ржи, в которых лист еще не вышел из coleoptilya, на растворе СК в течение 2 сут приводила к увеличению общего содержания полифенольных компонентов (в 1,5 раза по сравнению с контролем), но не влияла на синтез антоцианов. Такой же эффект наблюдали и в более зрелых проростках при увеличении продолжительности инкубации на растворе СК (с 6 до 10 сут). В листьях и стеблях молодых проростков гречихи обнаружено стимулирование накопления антоцианов после 3-х суток инкубации интактных 4-дневных растений на растворе СК (в 1,7 и 1,3 раза). В более старых проростках такая картина не наблюдалась. Содержание полифенолов при этом существенно не изменялось. Таким образом, в работе обнаружено отсутствие сцепленности в изменении общего содержания полифенолов и антоцианов как

одного из продуктов полифенольного метаболизма под влиянием СК и показана видоспецифичность действия салицилата на синтез антоцианов. В целом данные указывают на наличие более чем одной точки, регулирующей синтез антоцианов через взаимодействие с СК. Так, возрастание общего содержания полифенолов в проростках ржи можно связать с активацией процесса в регуляторной точке, относящейся к ранним стадиям синтеза вторичных метаболитов (на уровне ФАЛ). Однако сигнал не распространялся на антоциановую ветвь и пропорционального увеличения их содержания в проростках озимой ржи не было, возможно, из-за отсутствия стресса. Увеличение содержания антоцианов в проростках гречихи можно связать со стимуляцией метаболизма полифенолов в обход ФАЛ или после нее. Предполагают, что видоспецифичность действия СК зависит от ее взаимодействия с другими гормонами.

Регуляция сукцинатом роста и развития проростков *Arabidopsis thaliana*

Василевская В.А., Крытынская Е.Н.*

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь.*Email: krylena@bsu.by
Важным элементом современных агрономических технологий в растениеводстве стало применение регуляторов роста и развития растений, среди которых органические кислоты. Сегодня особое внимание уделяется вопросам росторегуляции, рассматривается участие органических кислот в формировании адаптационного потенциала растительной клетки в ответ на действие ряда стрессоров. Выявляется зависимость росторегулирующей активности экзогенных органических кислот от тестируемых концентраций, видовой принадлежности и стадии развития растения. По предварительным оценкам, многие экзогенные органические кислоты могут проявлять токсические эффекты. Экзогенная малоновая кислота считается гомологом сукцината, и в миллимолярных концентрациях потенциально токсична для модельного растения *Arabidopsis*. Наряду с инициацией подавления роста саженцев *Arabidopsis* дикого типа посредством регуляции активности малонил-СоА-синтетазы, она вызывает накопление сукцината в побегах рассады. В этой связи интерес вызывает токсичность экзогенного сукцината. С целью проверки токсического эффекта янтарной кислоты на рост и развитие проростков *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh дикого типа (WS-0) применили чашечный агаровый метод, методику асептического выращивания Ф. Лайбаха. Питательной средой выступала Мурашиге-Скуга (МС), дополненная различными концентрациями сукцината (0,01-1 ммоль/л). На протяжении 2 недель при вертикальном инкубировании чашек Петри в камере роста был исследован и проанализирован ряд показателей роста проростков, среди которых процент ингибирования прироста основного корня. Полученные данные позволили установить токсичность сукцината в отмеченных концентрациях для корневой системы. Установлен его дозозависимый эффект. Отмечено влияние срока экспозиции на степень ингибирования прироста основного корня. На среде МС, дополненной 0,01-1 ммоль/л сукцинатом, процент ингибирования нарастал в течение первой недели, его максимум на 4-5 сутки составил 50-62% соответственно концентрациям. К концу второй недели процент ингибирования прироста не превысил 30-35%. Визуально симптомы сукцинат-индуцированной токсичности были отмечены и на почвенной культуре, полученной при пересадке 13 суточных проростков. Растения сильно страдали на многих этапах

жизненного цикла, и при оптимальных условиях роста (в камерах роста) нами отмечена слабая степень цветения и низкая производительность семян.

Влияние кадмия на морфогенез карельской березы *in vitro*

Ветчинникова Л.В.^{А*}, Титов А.Ф.^В

^АИнститут леса КарНЦ РАН, ^ВИнститут биологии КарНЦ РАН,
ФИЦ «Карельский научный центр РАН», Петрозаводск, Российская Федерация

*Email: vetchin@krc.karelia.ru

Влиянию тяжелых металлов на рост и развитие растений посвящено значительное число работ (Prasad, 1999; Титов и др., 2007; Miras-Moreno et al., 2014; Казнина, 2016), большинство из которых проведено на целых растениях. Культура побегов *in vitro* используется гораздо реже (Емельянова, 2013), хотя именно она может быть удобной моделью для изучения реакции растений на действие тяжелых металлов, так как позволяет работать с однородным материалом в контролируемых условиях. Нами на культуре побегов карельской березы *in vitro*, полученной из верхушечной меристемы вегетативных почек, изучалось влияние ионов кадмия (10^{-6} – 10^{-3} М) на геммогенез (формирование почек и последующее развитие из них побегов) и ризогенез (корнеобразование). Показано, что присутствие металла в питательной среде в концентрации 10^{-5} М и выше приводит не только к его накоплению в растущих побегах, но и к ингибированию геммогенеза и ризогенеза, степень которого зависит от концентрации металла. Опыты также выявили небольшое стимулирующее действие кадмия в низкой концентрации (10^{-6} М) на рост, развитие побегов, формирование листового аппарата и корневой системы. Возможно, это связано с активизацией клеточного деления, изменением баланса гормонов или усилением хелатирующей способности клеток по отношению к ионам этого металла (Казнина, 2016). Увеличение содержания кадмия до 10^{-5} М сопровождалось уменьшением площади листовых пластинок, угнетением роста побегов и корневой системы, хотя и без нарушения процессов закладки и формирования новых органов. Очевидно, основной причиной таких изменений явилось негативное влияние металла на процессы деления и растяжения клеток (Серегин, 2009). При использовании кадмия в концентрации 10^{-4} М отмечено постепенное прекращение роста и развития побегов, а ризогенез полностью блокировался. Концентрация кадмия 10^{-3} М оказалась критической для геммогенеза: рост и развитие побегов полностью прекращалось, а спустя 5–7 сут они погибли. Таким образом, использование культуры побегов *in vitro* позволило не только установить ингибирующее действие кадмия на морфогенез карельской березы, но и показать, что ризогенез более чувствителен к действию этого металла по сравнению с геммогенезом.

Effect of cadmium on *in vitro* morphogenesis of curly birch

Vetchinnikova L.^{А*}, Titov A.^В

^АForest Research Institute of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russian Federation. *Email: vetchin@krc.karelia.ru

^ВInstitute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russian Federation

The effect of heavy metals on the growth and development of plants has been investigated in a substantial number of studies (Prasad, 1999; Titov et al., 2007; Miras-

Moreno et al., 2014; Kaznina, 2016), and a majority of them used whole plants as objects. Shoot culture *in vitro* has been used far more rarely (Emelyanova, 2013), although it is arguably a more convenient model for studying plant responses to heavy metal impact, permitting the handling of homogenous material under controlled conditions. We took *in vitro* culture of curly birch shoots, obtained from the apical meristem of vegetative buds, to investigate the effect of cadmium ions (10^{-6} – 10^{-3} M) on gemmogenesis (formation of buds and their further development into shoots) and rhizogenesis (root formation). It was demonstrated that where the metal was present in the nutrient medium at a concentration of 10^{-5} M or higher, it was not only accumulated in the growing shoots, but also inhibited both gemmogenesis and rhizogenesis to a degree depending on the metal concentration. The experiments also revealed a slight stimulating effect of cadmium at a low concentration (10^{-6} M) on shoot growth and development, as well as foliage and root system formation. This effect can probably be explained by an activation of cell division, shifts in the hormonal balance, or promotion of the cells' capacity to chelate ions of this metal (Kaznina, 2016). As the cadmium content was raised to 10^{-5} M, we observed a decrease in leaf surface area and inhibition of shoot and root growth, although the establishment and formation of new organs were not disrupted. The main reason for these changes apparently was the adverse effect of the metal on cell division and elongation (Seregin, 2009). The application of cadmium at the 10^{-4} M concentration gradually led to a cessation of shoot growth and development, and rhizogenesis was terminated entirely. The 10^{-3} M cadmium concentration proved to be critical for gemmogenesis: shoots stopped growing and developing, and died after 5–7 days. Thus, using *in vitro* shoot culture we managed to not only identify the inhibiting effect of cadmium on morphogenesis in curly birch, but also to demonstrate that rhizogenesis is more sensitive to the impact of this metal compared to gemmogenesis.

**Ветвление корня: от инициации примордия к архитектуре корневой системы
Демченко К.Н.*, Кирюшкин А.С., Ильина Е.Л.**

Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург,
Российская Федерация. *Email: Demchenko@binran.ru

Пластичность ветвления корневой системы является основой возможности адаптации растения к почвам, содержащим различные количества питательных веществ. В докладе мы суммируем достижения последних нескольких лет в нашем понимании начальных этапов детерминации клеток перицикла, приводящих к образованию бокового корня, механизмов регуляции пролиферации клеток перицикла и окружающих тканей, положения места инициации боковых корней вдоль оси материнского корня, а также гормональных факторов и их мишеней, осуществляющих последовательную программу развития бокового корня. Приводятся данные о роли ауксина в этом процессе, а также о механизмах передачи гормонального сигнала на молекулярные мишени, обеспечивающие закладку боковых корней. Образование бокового корня начинается с осцилляции концентрации ауксина в базальной части меристемы материнского корня и формирования в некоторых клетках его центрального цилиндра максимума клеточного ответа на ауксин. Следующим этапом является спецификация клеток-основательниц (founder cells) в перицикле и последующее образования точки ветвления (prebranch site). Ключевыми факторами, участвующими в образовании локальной компетенции клеток перицикла к инициации примордия бокового корня,

являются транскрипционный фактор GATA23 и мембранно-ассоциированный киназный регулятор MAKR4. Особую роль также играют малые сигнальные пептиды семейства RALF, представитель которого RALF34 непосредственно вовлечен в инициацию примordia и является возможным элементом этиленового сигналинга. Также показана роль тканей корня, окружающих перикцикл, в регуляции начальных этапов пролиферации клеток при инициации бокового корня и формировании архитектуры корневой системы. Среди цветковых растений также имеется целый ряд семейств, у которых инициация и развитие примordia бокового корня происходит непосредственно в меристеме родительского корня. Нами показана ключевая роль ауксина на начальных этапах инициации бокового корня у таких растений, в частности у Тыквенных. Впервые показано эволюционное сходство регуляторных генных сетей, формирующих компетенцию к образованию примordia бокового корня вне зависимости от его положения вдоль продольной оси материнского корня. Также обсуждаются механизмы, позволяющие некоторым видам создавать обширную корневую систему в кратчайшие сроки после прорастания. Рассматриваются возможные эволюционные механизмы определения места инициации бокового корня у цветковых растений. Исследования поддержаны Российским научным фондом (грант 16-16-00089).

Активность кислой инвертазы, локализованной в апопласте, регулирует процесс клубнеобразования у картофеля *in vitro*
Дерябин А.Н.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва,
Российская Федерация. Email: anderyabin@mail.ru

Показана углеводная регуляция клеточного цикла, обусловленная метаболическими реакциями, в том числе, с участием гексокиназ (КФ 2.7.1.1), реагирующих на концентрацию эндогенных моносахаров. Исследования проводили с растениями картофеля (*Solanum tuberosum* L., cv. Desiree) (контроль) и полученной на их основе линией, трансформированной геном *SUC2*, находящимся под контролем клубнеспецифического пататинового B33-промотора класса I. При конструировании трансгена использовался фрагмент *Asp718/SalI* из PI-3-INV плазмиды, содержащий ген *SUC2* *Saccharomyces cerevisiae*, кодирующий белок кислой инвертазы (КФ 3.2.1.26), соединенный с последовательностью сигнального пептида ингибитора протеиназы II картофеля, обеспечивающей апопластную локализацию фермента (дрожжевой инвертазы). Растения были получены с помощью агробактериальной трансформации, отобраны на MC-среде с канамицином и проверены на экспрессию трансгена методом Northern блот-гибридизации, в Max Planck Institute of Molecular Plant Physiology (Germany). Растения выращивали на свету при 22°C в течение 5 недель на MC-среде, дополненной 2% сахарозы (среда для размножения растений), либо 8% сахарозы (среда для получения микроклубней), в темноте. У трансформантов на 3-й неделе клубнеобразования активность кислых инвертаз в микроклубнях была на 50% выше, чем у контроля. На 6-й неделе клубнеобразования у обеих линий активность фермента была минорной, а на 10-й неделе и вовсе не обнаруживалась. Анализ сахаров в микроклубнях на 10 неделе клубнеобразования показал, что трансформация способствовала более высокому содержанию глюкозы (≥ 8.0 мг/г сырой массы), по сравнению с контролем (≤ 1.0 мг/г сырой массы). По содержанию сахарозы и фруктозы линии не различались (~ 3.5 и ~ 0.5 мг/г сырой

массы, соответственно). Микроклубни трансформантов содержали 9.9% крахмала, тогда как контроль 15.3%. Микроклубни трансформантов содержали сухого вещества 14.8%, что на 11.0% было меньше, чем у контроля. Следовательно, трансформанты, за счет более высокой активности кислой инвертазы, формировали более крупные, чем контроль, микроклубни, обогащенные глюкозой, с низким содержанием крахмала и сухого вещества (обводненные).

Фотопериодическая реакция озимой пшеницы в условиях *in vivo* и *in vitro*

Зубрич А.И.*, Авксентьева О.А.

Харьковский национальный университет В.Н. Каразина, Харьков, Украина

*E-mail: zubrych.a.i@gmail.com

Озимая пшеница одна из важнейших продовольственных культур в мире, которая выращивается в различных эколого-географических зонах при различных температурных и фотопериодических условиях. Эти факторы в значительной степени определяют адаптивность, устойчивость к абиотическим и биотическим стрессорам, продуктивность и качество урожая пшеницы. У мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) фотопериодическая реакция контролируется системой генов *PPD* (photoperiod). Культура *in vitro* является современной биологической моделью исследования биологии растений, однако на сегодня малочисленны исследования влияния индивидуальных генов на проявление тотипотентности клеток *in vitro* на объектах с трудной регенерацией, к которым относится мягкая пшеница. Целью работы было исследовать влияние фотопериодической реакции пшеницы мягкой и состояния системы генов *PPD* (доминантный / рецессивный) на процессы роста, развития, органогенеза и морфогенеза у изогенных по этим генам линий (NILs) озимой мягкой пшеницы сорта Мироновская 808 в условиях *in vivo* и *in vitro*. В ходе проведенных исследований установлено, что все изолинии реагируют на сокращение фотопериода как количественно-длиннодневные растения - в условиях короткого фотопериода они замедляют развитие. При этом задержка в развитии минимальной была у линии *PPD Ala*, а максимальной у сорта - полный рецессив по генам *ppd*. Показано, что доминантное состояние генов *PPD Ala* и *PPD D1a* приводит к ускорению развития опосредованно, через торможение ростовых процессов, а доминантное состояние гена *PPD B1a* может тормозить переход к генеративному развитию путем усиления ростовых процессов. Исследование процессов каллусогенеза изогенных по генам *PPD* линий показали, что генотип и тип эксплантов исходной изолинии влияют на частоту калусообразования, максимальными показателями калусогенеза характеризуется изолиния *PPD B1a*, которая в условиях *in vivo* развивается медленнее. Таким образом, установлено, что генетическая система контроля темпов развития пшеницы и фотопериодической чувствительности - гены *PPD*, детерминируя скорость роста и развития растений пшеницы в условиях *in vivo*, также влияют на процессы калусогенеза *in vitro*.

Высокопроизводительное секвенирование цитоплазматических геномов граба обыкновенного *Carpinus betulus* L. (Betulaceae)

Каган Д.И. *, Пантелеев С.В., Можаровская Л.В., Баранов О.Ю., Падутов В.Е.

Институт леса НАН Беларуси, Гомель, Беларусь. *E-mail: quercus-belarus@mail.ru

На основе приготовленных библиотек ДНК-фрагментов осуществлено секвенирование хлоропластного и митохондриального геномов граба обыкновенного

(*Carpinus betulus* L.) с использованием геномного анализатора Ion PGM System. Метрика полученных библиотек ридов для хпДНК и мтДНК *C. betulus* составила 243596 и 398459 соответственно, средняя длина ридов – 260 и 278 соответственно. В результате биоинформационного отбора ридов получено 23694 контигов для хпДНК и 37872 для мтДНК *C. betulus*. Окончательная обработка полученных библиотек с использованием программного пакета Lasergene v.11 показала, что размер хлоропластного и митохондриального геномов *C. betulus* составил порядка $\approx 0,16$ и $0,58$ млн п.н. соответственно. Проведен автоматический поиск открытых рамок считывания (ORF – open read frame) в цитоплазматических геномах исследуемого вида с использованием программного пакета CLC Sequence Viewer 6. Изучена структурная организация и проведена функциональная аннотация фрагментов хлоропластного и митохондриального геномов *C. betulus*. Для хлоропластного генома идентифицировано 134 транскрибируемых последовательностей, включающих 8 генов рРНК, 40 генов тРНК и 86 белок-кодирующих генов; для митохондриального генома – 70 экспрессируемых локусов, включающих 3 гена рРНК, 19 генов тРНК и 48 белок-кодирующих генов. На основании проведенного анализа разработан диагностический набор ДНК-маркеров для проведения паспортизации хозяйственно ценных генотипов *C. betulus*, включающий 30 пар оригинальных праймеров для ПЦР-амплификации 15 SSR-локусов хпДНК и 15 SSR-локусов мтДНК.

ПКС в системе пыльца-пестик в програмной фазе оплодотворения у *Petunia hybrida*

Ковалева Л.В.^{А*}, Захарова Е.В.^Б, Тимофеева Г.В.^А, Минкина Ю.В.^Б

^АИнститут физиологии растений им. Тимирязева РАН, Москва,
Российская Федерация

^БФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт
сельскохозяйственной биотехнологии», Москва, Российская Федерация

^ВИАТЭ Обнинский институт атомной энергетики НИЯУ «МИФИ»,
Обнинск, Российская Федерация. *Email: kovaleva_L@mail.ru

Пестики из предварительно кастрированных цветков петунии самонесовместимого клона, опыленные своей пыльцой (самоопыление) либо чужой (перекрестное опыление), собирали через 8-9 ч после опыления и фиксировали в растворе (37% раствор формальдегида: ледяная уксусная кислота: 50% этанол, 5:5:9). Визуализацию пыльцевых трубок, растущих *in vivo* в проводниковых тканях пестика, проводили с использованием флуоресцентного красителя анилинового голубого. Для обнаружения программируемой клеточной смерти (ПКС) были использованы три метода: окрашивание красителем трипановым синим, ДНК-электрофорез и TUNEL-метод (Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling). Эксперименты с трипановым синим показали гибель папиллярных клеток рыльца после всех типов опыления, тогда как окрашивание отсутствовало в рыльцах, взятых из бутонов, а также в неопыленных рыльцах из предварительно кастрированных цветков. В системе пыльца-пестик после совместимого опыления трипановым синим окрашивались 17% видимых пыльцевых трубок, в то время как после самонесовместимого опыления – 70% пыльцевых трубок. Электрофоретический анализ деградации ДНК выявил фрагментацию ДНК (признак ПКС) в тканях рылец и столбиков петунии самонесовместимого клона после

самоопыления и отсутствие деградации в рыльцах и столбиках после перекрестного (совместимого) опыления. Наложение TUNEL-окрашивания на окрашенные анилиновым голубым пыльцевые трубки позволило визуализировать ядра пыльцевых трубок от ядер клеток пестика. Окрашивание ядерным красителем DAPI показало, что TUNEL-положительный сигнал соответствует ядерной ДНК. После самонесовместимого опыления % положительных TUNEL-окрашенных ядер от всех видимых ядер составлял 68.5 %, в то время как после совместимого опыления - только 16,5 %. Признаки ПКС, включая деградацию ДНК, выявлены в столбиках петунии самонесовместимого клона через 8-9 ч после самоопыления, т.е. во время прохождения реакции самонесовместимости. Результаты свидетельствуют о том, что ПКС является детерминантой механизма самонесовместимости S-RНКазного типа у петунии. Полученные результаты позволяют заключить, что ПКС играет роль как в процессе узнавания в системе пыльца-пестик, так и в процессе отторжения несовместимых пыльцевых трубок.

Растение и гравитационное поле Земли Медведев С.С.

Кафедра физиологии и биохимии растений, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Российская Федерация. Email: s.medvedev@spbu.ru
Гравитационное поле Земли – это поле силы тяжести, обусловленное тяготением Земли и центробежной силой, вызванной её суточным вращением. Вектор силы тяжести, будучи направлен по вертикали, сохраняет неизменную ориентацию в пространстве в течение всего фило- и онтогенеза растений. Каждое растение способно "оценивать" свое положение относительно вектора силы тяжести и при необходимости корректировать его за счет поляризованного роста. Ключевой ответной реакцией растения на действие силы тяжести является гравитропизм – рост побегов вверх, против действия силы тяжести (отрицательный гравитропизм) и рост корней вниз, сонаправленно вектору гравитации (положительный гравитропизм). Другим проявлением гравитропизма является формирование изгибов органов растения в ответ на изменение его ориентации в пространстве. На ранних стадиях гравитропической реакции регистрируется электрическая поляризация, формируются полярные потоки и градиенты ауксина и кальция и практически уже через несколько минут после изменения положения растения в пространстве, благодаря гравитропическим изгибам, нормальная ориентация растения в пространстве восстанавливается. Изучение реакции растений на изменение вектора силы тяжести приобретает все более важное значение в связи с развитием т.к. «космического растениеводства», когда растения необходимо выращивать в условиях микрогравитации на орбитальных космических станциях и при длительных полетах человека в космосе. Однако в условиях космического полета влияние собственно микрогравитации не всегда удастся выявить, поскольку растения одновременно находятся под влиянием и других внешних факторов, таких как космическая радиация, высокое содержание этилена, отсутствие конвекции, ограниченный объём и др. На Земле эффекты микрогравитации позволяют моделировать такие приемы как гравистимуляция (поворот растений на 90°) и клинотатирование (непрерывное вращение растения вокруг одной или нескольких горизонтальных осей). В докладе будут представлены результаты о влиянии гравистимуляции на перестройки цитоскелета и метаболитные профили проростков

арабидопсиса. Будут также представлены данные о влиянии 3D-клиностагирования на метаболитные профили и протеом прорастающих семян рапса.

Работа выполнена с использованием оборудования ресурсного центра «Развитие молекулярных и клеточных технологий» научного парка при поддержке гранта РФФИ № 17-04-00862.

Особенности строения цитокининовых рецепторов картофеля

Solanum tuberosum

Мякушина Ю.А.^{А*}, Ломин С.Н.^А, Архипов Д.В.^А, Романов Г.А.^{А, Б}

^АИнститут физиологии растений имени К.А. Тимирязева РАН,
Москва, Российская Федерация. *Email: yulia-myakushina@yandex.ru

^БМосковский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Российская Федерация

В настоящее время арабидопсис является единственным видом растений, у которого детально охарактеризован аппарат рецепции и трансдукции цитокининового сигнала. Однако глобальные проекты по расшифровке геномов позволяют изучать цитокининовые системы регуляции целого ряда других растений и в первую очередь хозяйственно ценных культур. В 2011г. был секвенирован и опубликован геном дублированного моноплоида картофеля *Solanum tuberosum* (вар. Phureja), что предоставило возможность изучения молекулярных основ действия цитокининов у одной из главных пищевых культур планеты. Целью данной работы являлись идентификация и клонирование генов рецепторов цитокининов тетраплоидного сорта картофеля Дезире, а также исследование структурных свойств кодируемых белков. В результате клонирования и секвенирования гена *StHK4* было подтверждено полное сходство клонированной последовательности с последовательностью, представленной в базе данных NCBI. Дополнительно к этой условно «канонической» последовательности, по ходу клонирования *StHK4* была найдена еще одна изоформа этого гена с 28-мью заменами нуклеотидов и тремя делециями. Как и в случае гена *StHK4*, в геноме тетраплоидного картофеля сорта Дезире было обнаружено две изоформы гена *StHK3*. Одна из изоформ полностью соответствовала последовательности варианта Phureja, а вторая характеризовалась наличием 23 нуклеотидных замен и трех делеций. В результате клонирования гена *StHK2* было найдено две изоформы этого гена у картофеля сорта Дезире. Нуклеотидные последовательности четырех изоформ *StHK2* отличались от последовательности, представленной в базе данных, присутствием четырех и пяти, замен нуклеотидов, соответственно. Полученные данные указывают на значительное варьирование последовательности копийных генов у тетраплоидного картофеля. Биоинформатический анализ доменного состава и конформации найденных изоформ *StHK2*, *StHK3* и *StHK4* не выявил каких-либо существенных различий между ними, способных серьезно повлиять на функциональную активность исследуемых рецепторов. Экспериментальная оценка лиганд-связывающих свойств клонированных рецепторов подтвердила способность экспрессированных белков специфично и с высоким сродством связывать природные цитокинины. Работа поддержана грантом Российского научного фонда, проект № 17-74-20181.

Сравнение материнской и экзогенной абсцизовой кислоты в покоящихся и прорастающих семенах конского каштана

Обручева Н.В.^{*}, Синькевич И.А., Литягина С.В.

Институт физиологии растений РАН, Москва, Российская Федерация

^{*}Email: n.obroucheva@mail.ru, obroucheva@ippras.ru

Материнская АБК (матАБК) синтезируется в вегетативных органах и передвигается в семена с транспирационным током. Ее локализация в семенах определяется типом семян. В семенах злаков она локализована в колеоризе, прилегающей к корешку, и вымывается при набухании. В семенах арабидопсиса матАБК находится в субэпидермальном слое под кожурой, ингибирует гидролиз запасных углеводов; тем самым поддерживается слабый физиологический покой, снимаемый гиббереллинами. В семенах с семядолями матАБК содержится в осевых органах зародыша: при созревании она определяет отложение запасных белков и вхождение в покой. Семена конского каштана зимой находятся в состоянии глубокого физиологического покоя, имитируемое влажной холодной стратификацией. Выход из покоя происходит постепенно и завершается быстрым прорастанием. Содержание свободной матАБК в осевых органах достигает максимума к 11-12 неделям стратификации за счет перехода связанной формы в свободную, после чего снижается в результате синтеза 8'-гидроксилазы АБК, превращающей ее в неактивную фазевую кислоту. После выхода из покоя содержание матАБК падает в 80 раз до уровня, неингибирующего рост. Пусковым механизмом прорастания может быть активация плазмалемной H⁺-АТФазы в осевых органах при набухании (Int. J. Cell Sci. Mol. Biol. 2016, 2), приводящая к подкислению клеточных оболочек и их разрыхлению. Чтобы проверить, ингибирует ли матАБК этот процесс, осевые органы выходящих из покоя семян инкубировали с 10⁻⁶М додеканозолом, ингибитором превращения матАБК в фазевую кислоту. Сохраняющаяся на высоком уровне матАБК не влияла на подкисление клеточных стенок. В отличие от матАБК, экзогенная 10⁻⁵М АБК ингибировала на 50-70% подкисление клеточных оболочек. Приведенные результаты на семенах конского каштана подтверждают, что экзогенная АБК не имитирует действие матАБК. Такое предположение было выдвинуто при изучении влияния экзогенной АБК на состав белков (Plant Physiol. 2006, 142, 1493) и транскрипцию (Plant J. 2010, 62, 39) в семенах арабидопсиса. Работа поддержана грантом РФФИ № 17-04-00859.

Поиск генов липидного метаболизма у *Euonymus europaeus* с помощью транскриптомного анализа арилглусов на разных стадиях развития плода
**Павленко О.С.^{А*}, Садовская Н.С.^А, Мустафаев О.Н.^Б, Сидоров Р.А.^А,
Голденкова-Павлова И.В.^А**

^АИнститут физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН,
Москва, Российская Федерация. ^{*}Email: olgapavlenko.w@gmail.com

^ББакинский Государственный Университет

Секвенирование транскриптома дает возможность изолировать интересные гены, разрабатывать функциональные маркеры, осуществлять количественное определение экспрессии генов и проводить сравнительные геномные исследования. Полный транскриптомный анализ играет важную роль в расшифровке структуры и функции генома, идентифицируя генетические сети, лежащие в основе клеточных, физиологических, биохимических и биологических систем. Настоящее исследование

посвящено изучению генов липидного метаболизма из бересклета европейского (*Euonymus europaeus*). Интерес к растениям бересклета обусловлен тем, что эти растения, наряду с обычными триацилглицеридами (ТАГ), синтезируют и необычные их формы – sn1,2-диацил-3-ацетилглицеринов (ацДАГ). Причем накопление как ТАГ, так и ацДАГ происходит и в семенах и в ариллусах плодов. За счёт наличия ацДАГ жирные масла бересклетов приобретают уникальные свойства, имеющие высокую ценность для производства биотоплива, а растения данного рода становятся потенциальными донорами генов для создания генетически модифицированных линий сельскохозяйственных культур с изменённым составом масла. Для лучшего понимания механизмов биосинтеза ацДАГ был проведен транскриптомный анализ трех образцов из ариллусов *E. europaeus*, собранных на разных стадиях развития плода. Первый образец (первая стадия развития плода) характеризовался максимальным уровнем содержания ацДАГ и минимальным уровнем ТАГ, второй образец приблизительно равным содержанием ацДАГ и ТАГ, третий образец минимальным уровнем ацДАГ и максимальным уровнем ТАГ. Транскриптомный анализ проводили с помощью Illumina HiSeq 2500. В результате было получено 152777 транскриптов. Анализ экспрессии трех образцов позволил выявить на каждой стадии развития уникальные транскрипты. С помощью Blast2GO была определена вероятная функциональная принадлежность этих транскриптов и выявлены последовательности-кандидаты в гены липидного метаболизма у *E. europaeus*. Полученные данные также могут послужить основой для изучения других метаболических путей у растений бересклета. Работа выполнена при поддержке Гранта РНФ 17-74-10127.

Влияние ауксинов и брассиностероидов на прорастание семян *Thuja occidentalis* Linn.

**Пржевальская Д.А.^{А*}, Черныш М.А.^А, Шашко А.Ю.^А, Полугодкова А.В.^А,
Шлапакова К.А.^А, Колбанов Д.В.^Б, Демидчик В.В.^А**

^АБелорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: daryaprzhevalskaya@gmail.com

^БРеспубликанское учебно-опытное унитарное предприятие БГУ «Щемяслица», Минск, Беларусь

Хвойные растения являются перспективными для ландшафтного озеленения, поддержания и восстановления лесов. Проблемы массового размножения хвойных связаны с их продолжительным жизненным циклом, медленным развитием корневой системы при вегетативном размножении, низкой жизнеспособностью семян, а также поражением патогенами. Наиболее широко используемым в озеленении городов хвойным растением в нашей стране и многих странах Европы является туя западная (*Thuja occidentalis* Linn.). Семенное размножение позволяет получить большое количество растений туи, однако ее семена отличаются низкой всхожестью. Для улучшения прорастания семян и дальнейшего улучшения ростовых показателей посадочного материала может быть использована обработка семян регуляторами роста, такими как фитогормоны, в частности, ауксины. Тем не менее, в последние годы большое внимание уделяется и другим классам соединений, таким как брассиностероиды, которые обладают не только ауксиноподобным, но и стресс-протекторным влиянием. Для семян туи западной систематического анализа обработок брассиностероидами и ауксинами ранее проведено не было. В этой связи

целью настоящей работы было проанализировать воздействие на всхожесть и жизнеспособность семян туи западной важнейших ауксинов и брассиностероидов. В работе были протестированы эффекты 25 мг/л индолил-3-масляной кислоты (ИМК), нафтил-3-уксусной кислоты (НУК), индолил-3-уксусной кислоты (ИУК), а также влияние 10^{-8} М 28-гомобрассинолида (ГБ), 24-эпибрассинолида (ЭБ) и 24-эпикастерона (ЭК). Для каждого варианта было протестировано 70 семян, которые в течение 24 ч выдерживались в растворах с указанными фитогормонами. В качестве контроля использовались семена, выдержанные в растворе без фитогормонов. После обработки семена высаживались в парники с грунтом, содержащим торф, песок и вермикулит в соотношении 1:1:1. Проводилось измерение прорастания семян на 14 и 21 сут. На 14 сут максимальный эффект оказывал ЭК – всхожесть семян 1,62%. В остальных вариантах обработок процент всхожести семян был ниже, чем в контрольном варианте, который составил 0,82%. На 21 сут культивирования ЭК оказывал максимальное стимулирующее действие среди протестированных БС (3,06%). Ауксины также повышали всхожесть семян туи; семена, обработанные ИМК и ИУК, на 21 сут давали 2,65% и 2,4% прорастания, соответственно (0,82% в контроле). Таким образом, полученные данные указывают на ранее неизвестное стимулирующее действие обработок брассиностероидами, которое в ряде случаев превосходит схожие эффекты классических корнестимуляторов (ауксинов).

Прекращение фотохимической активности и деградация хлорофиллов при созревании семян *Pisum sativum* L. с желтыми и зелеными семядолями
Смоликова Г.Н.^{А*}, Широглазова О.В.^А, Виноградова Г.Ю.^Б, Леппянен И.В.^Б, Яковлева О.В.^Б, Долгих Е.А.^Б, Титова Г.Е.^Б, Медведев С.С.^А

^А Кафедра физиологии и биохимии растений, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Российская Федерация. *Email: g.smolikova@spbu.ru

^Б Лаборатория эмбриологии и репродуктивной биологии, Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, Российская Федерация

^В Лаборатория молекулярной и клеточной биологии, Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии РАН, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Почти три четверти продуктов питания мы получаем из семян, поэтому получение семян высокого качества является основой пищевой безопасности государства. Качественные семена должны обладать способностью долгое время храниться без снижения функциональной активности и питательной ценности. При этом устойчивость семян к повреждениям при хранении, закладывается в процессе их формирования на материнском растении. Необходимо учитывать, что у большинства сельскохозяйственных растений для формирования семян и накопления запасных питательных веществ необходим не только фотосинтез листьев материнского растения, но и фотосинтез, выявленный в развивающихся зеленых зародышках. Клетки зародышей формирующихся семян содержат хлорофиллы (Хл) и фотохимически активные хлоропласты, в которых присутствуют в необходимой стехиометрии все основные фотосинтетические комплексы. На поздних стадиях созревания гранальная структура хлоропластов в семенах нарушается, хлорофиллы распадаются и фотосинтез прекращается. При оптимальных условиях должно происходить полное разрушение Хл. Однако на практике в зрелых семенах многих

семейств сельскохозяйственных растений (злаковые, бобовые, крестоцветные и др.) часто присутствуют не полностью разрушившиеся Хл, которые снижают качество семян и их устойчивость к длительному хранению. Механизм, регулирующий распад Хл в процессе созревания семян, до сих пор полностью не выяснен. В докладе будут представлены результаты сравнительного анализа динамики фотохимической активности, ультраструктуры пластид, содержания хлорофиллов и каротиноидов, а также экспрессии генов, кодирующих ферменты деградации Хл в семенах *P.sativum*, которые формируют желтые и зеленые семядоли. Зеленый цвет семядолей гороха определяется мутацией в генах *STAY-GREEN (SGR)*, которые кодируют ферменты, участвующие в катаболизме Хл или разрушающие Хл-белковые комплексы, тем самым делая Хл доступными для расщепления. Проведенные исследования направлены на выявление маркеров для создания сортов, характеризующихся эффективной деградацией Хл в семенах на поздних этапах созревания. Работа выполнена с использованием оборудования ресурсного центра «Развитие молекулярных и клеточных технологий» научного парка СПбГУ и центра коллективного пользования научным оборудованием «Клеточные и молекулярные технологии изучения растений и грибов» БИН РАН при поддержке гранта Российского научного фонда № 16-16-00026.

Изменения цитоскелета растений в условиях симулированной микрогравитации

Шевченко Г.В.

Институт ботаники НАН Украины, ул. Терещенковская 2, 01004, Киев, Украина

Email: galli.shevchenko@gmail.com

Кортикальные микротрубочки (cortical microtubules (cMTs) являются динамичными структурами, которые подвергаются быстрым перестройкам при воздействии внешних и внутриклеточных сигналов (включая гравитацию и механический стресс). До настоящего времени не установлено каким образом осуществляется регулирование параллельной ориентации кортикальных микротрубочек и что является определяющим в расположении микротрубочек параллельно и перпендикулярно по отношению к оси клетки. Наши эксперименты с применением медленного клиностаტიрования показали рандомизацию пучков cMT в дистальной зоне растяжения корней *Beta vulgaris* и *Arabidopsis thaliana*, что в целом, объясняет задержку роста корня. Известно, что активность cMT регулируется многочисленными белками, ассоциированными с MT, среди которых MAP65-1, CLASP и Phospholipase D delta (PLD delta). Названные белки связывают антипараллельные MTs, регулируют динамику плюс-концов микротрубочек и стабилизируют так называемый континуум клеточная стенка – цитоплазматическая мембрана – цитоскелет. Эксперименты с проростками *A.thaliana*, выращенными на двумерных клиностахах, обнаружили снижение экспрессии MAP65-1, CLASP и PLD. Фармакологические исследования с оризалином (ингибитор полимеризации тубулина) свидетельствуют о том, что активность MAP65-1, CLASP и PLD-дельта зависит от состояния cMT, а уменьшение экспрессии происходит вследствие деполимеризации MT. Напротив, при клиноротации экспрессия MAP65-1, CLASP и PLD дельта усиливалась, предположительно из-за необходимости стабилизации пучков кортикальных MT, которые в результате влияния механического стресса, подвергались рандомизации. Каждый упомянутый белок стабилизирует cMT

специфическим образом и участвует либо в связывании МТ, либо в стабилизации плюс-конца, либо способствует связыванию МТ с плазматической мембраной. Наше исследование способствует пониманию регуляции роста растительных клеток и определению участия цитоскелета в механизме передачи сигнала силы тяжести.

Non-enzymatic post-translational modifications in proteins: at the interface of proteomics and metabolomics

Andrej Frolov¹, Tatiana Bilova^{1,2}, Christian Ihling³, Tatiana Mamontova^{1,4}, Ahyoung Kim¹, Elena Lukashova^{1,4}, Nadezhda Frolova⁵, Wolfgang Hoehenwarter⁶, Galina Smolikova², Sergei Medvedev², Claudia Birkemeyer⁵, Gerd U. Balcke⁷, Thomas Vogt⁷, Alain Tissier⁷, Andrea Sinz³, Wolfgang Brandt¹, Ludger Wessjohann¹

¹Department of Bioorganic Chemistry, Leibniz Institute of Plant Biochemistry,

²Department of Plant Physiology and Biochemistry, St. Petersburg State University,

³Department of Pharmaceutical Chemistry and Bioanalytics, Institute of Pharmacy, Martin-

Luther-Universität Halle-Wittenberg, ⁴Department of Biochemistry, St. Petersburg State

University, ⁵Faculty of Chemistry and Mineralogy, Universität Leipzig, ⁶Proteome

Analytics Research Group, Leibniz Institute of Plant Biochemistry, and ⁷Department of Metabolic and Cell Biology, Leibniz Institute of Plant Biochemistry.

*Email: afrolov@ipb-halle.de

Non-enzymatic post-translational modifications, such as oxidation, deamidation, lipoxidation and glycation, are widely spread in all living organisms. Among them, glycation is still not completely characterized in plant organisms. In general, this phenomenon represents a post-translational modification of free protein amine and guanidine groups with carbonyl compounds, finally, resulting in formation of advanced glycation end products (AGEs). In mammals, AGEs have an impact in diabetes mellitus and serve as reliable markers of ageing. Accordingly, for several proteins, a clear relation between AGE formation, accompanying structural changes and loss of function was demonstrated. Several years ago, AGEs were identified in exhaustive hydrolyzates of plant proteins. Later, we described the constitutive glycated plant proteome, which differed much from the mammalian one. Thereby, our work was based on the integrative approach, combining metabolomic and proteomic techniques, with employment of model synthetic peptides and incubations under strictly controlled conditions. In this way, we demonstrated that ageing of plant organs is accompanied by formation of AGEs. Thereby, this phenomenon could be confirmed in leaves, seeds and such specialized structures, as legume root nodules. Thereby, specific sites of AGE formation could be identified and corresponding proteins annotated. These glycation hotspots indicate an essential degree of site specificity of the protein Maillard reaction. Finally, experiments with different forms of environmental stress revealed pronounced effects on the patterns of protein glycation both on the qualitative and quantitative levels. Generally, these patterns could be interpreted in the context of corresponding characteristic plant metabolites with a high glycation potential. However, despite relatively high levels of protein glycation, the biological role of this phenomenon in plants still needs further evaluation. The authors thank Russian Science Foundation (project No. 17-16-01042) for financial support.

Phloem fibers of fiber flax contain more rhamnogalacturonan I compared to fibers of linseed flax

Galinousky D.^{A,B*}, Mokshina N.^C, Sautkina O.^C, Khotyleva L.^A, Kilchevsky A.^A, Gorshkova T.^C

^AInstitute of Genetics and Cytology, Minsk, Belarus. *Email: galinowsky@gmail.com

^BBelarusian State University, Minsk, Belarus

^CInstitute of Biochemistry and Biophysics, Federal Research Center "Kazan Scientific Center of RAS", Kazan, Russian Federation

Flax is an important crop that produces plant fibers. The flax fibers are part of phloem and they represented as abnormally long sclerenchyma cells that have a thick tertiary cell wall. The main compound of the tertiary cell wall is cellulose (80-90 %) and the important non-cellulosic polymer is the rhamnogalacturonan I (RG-I). We have evaluated RG-I content in the outer fibers collected from divergent selection flax types – fiber flax (cultivars Drakkar, Grant, Laska) and linseed flax (cultivars Orpheus, Lirina). We have analyzed the outer fibers isolated from the flax stems during a rapid growth period, during tertiary cell wall formation. We determined by the chromatographic methods that key buffer-extractable polymers in fibers of all analyzed samples are RG-I and arabinogalactan/arabinogalactan proteins (AGP). The retention time of RG-I polymer during gel filtration chromatography corresponded to pullulans with a molecular weight of 350-950 kDa, and the main AGP fraction was about 70 kDa. The RG-I content was approximately equal to the AGP yield in the fibers collected from fiber flax but lower in linseed outer fibers (especially in Lirina cultivar more than 2 times). The RG-I yield was, on average, 2.8 times higher in fiber flax than in linseed flax. We have also evaluated the expression level of glycosyltransferase of 92 (*LusGt92-2*) and 47 (*LusGt47-1*) families, β -galactosidase (*LusBGAL*) and rhamnogalacturonan lyase (*LusRGL6*) genes. *LusGt92-2* and *LusGt47-1* encode enzymes that potentially involved in biosynthesis of RG-I; LUSRGL6 and LUSBGAL modify backbone and side chains, correspondingly, of RG-I. Expression level of *LusGt92-2* (*Lus10038387*) and *LusGt47-1* (*Lus10013790*) was in 5.3-10.7 times higher in fiber flax outer fibers than in linseed flax. The *LusBGAL* (*Lus10028848*) and *LusRGL6s* (*Lus10004281/Lus10019231*) expression levels were also higher in fiber flax than in linseed flax (4.4-5.1 and 2.5-3.8 times correspondingly). Thus fiber flax and linen seed flax cultivars are differed in RG-I content and have different expression levels of genes that potentially involved in the metabolism of this pectin polysaccharide. This work was partially supported by the grant of the Russian Science Foundation (project 17-76-20049).

Plant proteome. Changes during ageing and under environmental stress conditions

Elena Lukasheva^{A*}, Bilova T.E.^{B,C}, Paudel G.^C, Mamontova T. V.^{A,C},
Chantseva V.V.^B, Mavrupolo-Stolyarenko G.R.^A, Grishina T.V.^A,
Osmolovskaya N.G.^B, Balcke G.U.^D, Milkowski C.^E, Ihling Ch.^F, Sinz A.^F,
Wessjohann L.A.^C and Frolov A.A.^{A,C}

^ASt. Petersburg State University, Department of Biochemistry, Saint-Petersburg, Russian Federation. *Email: e.lukasheva@spbu.ru

^BSt. Petersburg State University, Department of Plant Physiology and Biochemistry, Saint-Petersburg, Russian Federation

^CLeibniz Institute of Plant Biochemistry, Department of Bioorganic Chemistry, Halle, Germany

^DLeibniz Institute of Plant Biochemistry, Department of Metabolic and Cell Biology, Halle, Germany

^EMartin-Luther Universität Halle-Wittenberg, Interdisciplinary Center for Crop Plant Research (IZN), Halle, Germany

^FMartin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Institute of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry and Bioanalytics, Halle, Germany

Proteome is a set of proteins expressed by an organism, tissue or cell at a specified moment of time. Plant proteome represents a labile system and changes with plant age or alterations of the organism's environment. This phenomenon underlies adaptation of plants to altering

internal and external conditions. Thereby, not only abundances of individual proteins (so-called protein expression), but also the patterns of post-translational modifications (PTMs) can be affected. For example, protein glycation was proposed as one of the non-enzymatic PTMs, accompanying plant ageing and response to environmental stress. To address this question, experimental models of drought, cadmium and high light stress were established with *Arabidopsis thaliana*, oilseed rape (*Brassica napus*) and pea (*Pisum sativum*). Thereby, physiological state of the plants was characterized with a panel of physiological and biochemical stress markers. Using the methods of bottom-up LC-MS-based in-depth proteomics and state-of-the-art bioinformatic approaches, we describe here the patterns of advanced glycation end products (AGEs) in plants, as well as their changes during plant ageing and under stress conditions. We demonstrate that accumulation of AGEs accompanies both processes, and occurs at specific protein sites – glycation hotspots. Based on structural modeling approach, we assume that site-specific glycation might affect specific protein functions. The work was supported by Russian Science Foundation (project №17-16-01042).

Биохимические изменения, индуцируемые в семенах *Brassica napus* L. в процессе длительного хранения и под влиянием ускоренного старения
**Банкин М.П.^{А*}, Билова Т.Е.^{А,Б}, Дубовская А.Г.^Б, Гаврилова В.А.^Б,
Фролов А.А.^Б, Медведев С.С.^А, Смоликова Г.Н.^А**

^А Кафедра физиологии и биохимии растений, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Российская Федерация

*Email: mikle.p.bankin@gmail.com

^Б Leibniz Institute of Plant Biochemistry, Department of Bioorganic Chemistry, Halle (Saale), Germany

^Б Лаборатория масличных культур, Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова РАН, Санкт-Петербург, Российская Федерация
Семена высокого качества способны долгое время храниться без снижения функциональной активности и питательной ценности. При оптимальных условиях семена могут поддерживать жизнеспособность без потери качества в течение нескольких лет. Однако при длительном хранении (ДХ) в них происходит постепенное накопление структурных и метаболических повреждений. Этот процесс называют «старением» семян. Понимание механизмов старения семян важно для поиска маркеров при сохранении генетических ресурсов. Эффективным приемом, позволяющим в краткие сроки моделировать ДХ, является «ускоренное старение» (УС). Однако, все еще остается открытым вопрос насколько изменения, происходящие в семенах при УС, близки изменениям, происходящим в процессе ДХ. Объектом исследования являлись семена *B.napus* сорта Ордеж-2 из коллекции ВИР РАН. ДХ осуществлялось 4 и 9 лет при 18°C и 5%-ном влагосодержании. УС проводили путем инкубации семян при 40°C и 10%-ном влагосодержании в течение 1 и 7 суток. Контролем являлись семена со всхожестью 99%. Через 4 года хранения и 1 сутки УС всхожесть семян снижалась до 91%. Через 9 лет хранения и 7 суток УС всхожесть семян снижалась до 46%. Была проведена сравнительная оценка развития окислительного стресса в описанных выше вариантах по нарушению целостности клеточных мембран и содержанию восстановленной (GSH) и окисленной форм глутатиона (GSSG). Установлено, что в условиях УС степень повреждения мембран была в 2 раза выше, чем при ДХ. ДХ также не влияло на содержание GSH и GSSG на

фоне резкого изменения соотношения GSH/GSSG после УС. Чтобы объяснить различия в окислительном статусе, был выполнен анализ первичных метаболитов при помощи хромато-масс-спектрометрии (GC-MS). Сравнение метаболитных профилей с использованием метода дискриминантного анализа проекций на латентные структуры (PLS-DA) показало значимые различия между исследованными моделями старения семян. Полученные данные свидетельствуют, что снижение всхожести семян рапса в процессе длительного хранения и ускоренного старения происходит разными метаболическими путями. Работа выполнена с использованием оборудования ресурсного центра «Развитие молекулярных и клеточных технологий» научного парка СПбГУ при поддержке гранта Российского научного фонда № 16-16-00026.

Исследование функциональной роли $\Delta 9$ -десатуразы в зависимости от внутриклеточной локализации в растительной клетке

**Берестовой М.А.*, Павленко О.С., Тюрин А.А., Сидоров Р.А.,
Голденкова-Павлова И.В.**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, 127276, Ботаническая ул., 35, тел. +7 (495) 977-94-00. *Email: m.berestovoy1181@gmail.com

Дельта 9-ацил-липидная десатураза является ключевым ферментом первого этапа модуляции ненасыщенности жирных кислот мембранных липидов растений. Дельта 9-ацил-липидная десатураза вводит первую двойную связь между 9 и 10 атомом углерода в цепи жирных кислот превращая насыщенные жирные кислоты в ненасыщенные. Десатурация жирных кислот в липидах является важнейшей реакцией, необходимой для поддержания гомеостаза клеточных мембран растений. На сегодняшний день имеется недостаточно данных том, как локализация $\Delta 9$ -десатуразы в различных компартментах растительной клетки взаимосвязана с ее функциональной эффективностью, а именно, с процессом модуляции ненасыщенности жирных кислот (ЖК) мембранных липидов. Получение экспериментальных данных о взаимосвязи локализации белка и его функциональной эффективности, может оказать неоценимую помощь в понимании регуляции ключевых биологических процессов на молекулярном уровне. Для выяснения этого вопроса, мы попытались оценить как состав и массовая доля ЖК изменяется при экспрессии десатуразы в различных компартментах растительной клетки. Используя унифицированные экспрессионные вектора для транзientной экспрессии в растениях *Nicotiana benthamiana*, несущие последовательности нативного и рекомбинантного гена $\Delta 9$ -десатуразы и лидерные последовательности для локализации его белкового продукта в цитоплазме, хлоропластах и эндоплазматическом ретикулуме (ЭПР). Мы показали, что лидерные последовательности обеспечивают корректную локализацию белкового продукта рекомбинантного гена в соответствующих компартментах растительной клетки: (хлоропласты, ЭПР, цитоплазма). Далее оценили вклад гетерологичной $\Delta 9$ -десатуразы на состав и массовую долю насыщенных и ненасыщенных ЖК суммарных липидов, и установили, что эти показатели при разной локализации $\Delta 9$ -десатуразы в растительной клетке достоверно различаются. Таким образом, получены приоритетные результаты о составе и массовой доли ЖК, в зависимости от локализации гетерологичной $\Delta 9$ -десатуразы в растительной клетке. Наши

результаты позволяют заключить, что метод транзientной экспрессии может быть применен для изучения вклада десатураз в модуляцию жирнокислотного состава мембранных липидов растений. Исследования выполнены при финансовой поддержке Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013-2020 годы, шифр 0106-2014-0025.

Изменения протеома клубеньков корней в ходе онтогенеза растений гороха
Гришина Т.В.^{1*}, Билова Т.Е.², Мамонтова Т.В.¹, Лукашева Е.М.¹, Чекина А.А.¹, Романовская Е.В.¹, Шумилина Ю.С.¹, Чанцева В.В.², Жуков В.А.³, Илинг К.⁴, Зинц А.⁴, Тихонович И.А.³, Фролов А.А.^{1,5}

¹Санкт-Петербургский Государственный Университет, Кафедра Биохимии, Санкт-Петербург, Российская Федерация. *Email: t.grishina@spbu.ru

²Санкт-Петербургский Государственный Университет, Санкт-Петербург, Кафедра Физиологии и Биохимии Растений, Российская Федерация

³Всероссийский Научно-Исследовательский Институт Сельскохозяйственной Микробиологии, Санкт-Петербург, Российская Федерация

⁴Мартин-Лютер Университет Халле-Виттенберг, Факультет Фармации, Германия

⁵Лейбниц-Институт Биохимии Растений, Департамент Биоорганической Химии, Галле, Германия

Продуктивность бобовых растений зависит от их способности к образованию симбиоза с ризобияльными азотофиксирующими бактериями. Функциональное состояние образующихся структур - корневых клубеньков имеет принципиальное значение для поддержания высокого уровня продукции биомассы и устойчивости к неблагоприятным факторам среды в течение всего периода онтогенеза растений. В связи с этим, представляет интерес исследование молекулярных механизмов старения клубеньков в свете связанного с возрастом снижения эффективности фиксации азота ризобияльным симбионтом, а также изменений в протеоме клубеньков, сопровождающих эти явления. Понимание этих изменений сделает возможной разработку биологических и агротехнических подходов, направленных на увеличение продуктивности бобовых растений. Для ответа на вопрос о характере онтогенетических изменений протеома гороха, растения выращивались в двух независимых экспериментах (каждый в трех биологических повторностях) на песке в присутствии ризобияльного симбионта *Rhizobium leguminosarum*. Сбор материала клубеньков проводился на четвертой, пятой и седьмой неделе после инокуляции, что соответствовало стадиям ювенильных, цветущих и зрелых растений. Белки были выделены из клубеньков методом фенольной экстракции, подвергнуты протеолизу трипсином, и полученные триптические пептиды были проанализированы методом нанопоточной хромато-масс-спектрометрии (nanoLC-ESI-Q-Orbitrap-MS/MS). Относительный количественный анализ без использования метки и статистический анализ результатов были выполнены с помощью программного обеспечения Progenesis и Perseus по трем протеотипическим пептидам. Аннотация дифференциально экспрессированных белков была осуществлена с помощью поисковой машины SEQUEST по вырожденной базе данных последовательностей белков трех родственных гороху растений. В результате было обнаружено около 400 белков, специфичных для протеома стареющих клубеньков, причем 49 белков были найдены в обоих экспериментах. Из них содержание 8 возрастало и 41 – снижалось. Большинство из этих белков были вовлечены в биосинтез белка и ответ растения на

действие стрессоров. Исследование было проведено при поддержке Российского научного фонда (проект № 17-16-01042).

Влияние 5-аминолевулиновой кислоты на дыхательную активность растений озимого рапса, обогащенных антоцианами

Емельянова А.В.^А, Обуховская Л.В.^Б, Аверина Н.Г.^А.

^АИнститут биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

*Email: yashchuk.anna@mail.ru

^БИнститут экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Дыхание – это важнейший физиологический процесс и фундаментальная основа жизни любой живой клетки. Наряду с фотосинтезом дыхание обеспечивает растительные организмы необходимой для их жизнедеятельности энергией, которая аккумулируется в важнейшем энергетическом субстрате – молекулах АТФ. Поэтому огромное значение для растения имеет поддержание дыхания и содержания АТФ на высоком физиологическом уровне. Целью работы явилось изучение влияния высоких концентраций экзогенной 5-аминолевулиновой кислоты (АЛК 200 мг/л), как генератора фотодинамических процессов и индуктора накопления антоцианов, на дыхательную активность растений озимого рапса. В качестве объекта исследования использовали 7-дневные проростки озимого рапса (*Brassica napus* L.) сорта «Зорны». Растения выращивали в лабораторных условиях до 7-дневного возраста либо на поверхности воды (контроль), либо на растворе АЛК (200 мг/л) при температуре $26 \pm 2^\circ\text{C}$ и интенсивности освещения 4900 люкс. Были изучены компоненты дыхательной системы – нековалентно связанный с белками гем, активность гем-содержащего фермента цитохром с-оксидазы, активность альтернативной оксидазы, а также с помощью установки PlantVital 5030 (Германия) скорость потребления кислорода в растениях озимого рапса, выращенных на растворах АЛК и на воде. Показано стимулирующее действие АЛК на дыхательную активность растений озимого рапса, обогащенных антоцианами. Так, в растениях, варианта «АЛК», скорость потребления кислорода возрастала в 2 раза по сравнению с контрольными растениями и составляла $0,0105 \pm 0,0019$ мкмоль $\text{O}_2/(\text{мг} \cdot \text{с})$. Под влиянием АЛК содержание нековалентно связанного с белками гема выросло на 58% по сравнению с контролем. В таких растениях отмечено существенное влияние АЛК на активность дыхательных ферментов - цитохром с-оксидазы и альтернативной оксидазы. Показано, что активность цитохром с-оксидазы в варианте «АЛК» составила $15,72 \pm 5,9$ нмоль/(мкг белка*мин), что в 5 раз больше, чем в контрольных растениях. Активность альтернативной оксидазы в растениях, обработанных АЛК, увеличилась на 62% по сравнению с контролем.

Возможности масс-детектора Waters ACQUITY QDa в анализе различных объектов

Заяц М.Ф.*, Свиридов И.А.

Theseus Lab, Прага, Чехия. *Email: mz@theseuslab.cz

Масс-селективные детекторы характеризуются гораздо большей селективностью и чувствительностью по сравнению с оптическими детекторами, такими как ультрафиолетовый, диодноматричный, флуоресцентный, рефрактометрический, а также электрохимический детектор при определении целевых компонентов в

сложных матрицах. В то же время широкому распространению масс-спектрометрии часто препятствует стоимость оборудования.

Корпорация Waters смогла решить проблему удешевления технологии и разработала масс-спектрометрический детектор для жидкостной хроматографии ACQUITY QDa. Отличительными особенностями этого детектора также являются: небольшой размер, простота в использовании, быстрый выход на режим, возможность интегрирования с оптическими детекторами для одновременного получения нескольких сигналов, надежные и воспроизводимые результаты при анализе сложных матриц. Детектор решает задачи по идентификации и количественному определению соединений со слабым поглощением в ультрафиолетовой и видимой области спектра, определению коэлюируемых веществ. Благодаря предустановленным оптимальным настройкам, детектор ACQUITY QDa позволяет полностью автоматизировать и значительно ускорить анализ образцов.

В сочетании с ВЭЖХ масс-спектрометрический детектор ACQUITY QDa может успешно использоваться для решения широкого круга задач при анализе различных объектов:

- определении витаминного состава продуктов питания;
- определения искусственных подсластителей и натуральных сахаров в продуктах питания и напитках;
- определение регламентированных микотоксинов в продуктах питания;
- определения остаточных количеств пестицидов в продукции растениеводства;
- определения антибиотиков в продукции животноводства и др.

При этом, использование детектора ACQUITY QDa позволяет объединить несколько методов в один и заменить сразу несколько детекторов, обычно используемых для этих целей: ультрафиолетовый или диодно-матричный, флуоресцентный, рефрактометрический, испарительный детектор светорассеяния и др. При этом достигаются лучшая избирательность метода и более низкие пределы количественного определения.

Детектор ACQUITY QDa также нашел применение для решения аналитических задач в таких областях, как: контроль качества на производстве, определение примесей в различных растительных материалах, контроль качества пищевой продукции, анализ объектов окружающей среды, анализ в области фармацевтики и биофармацевтики, судебная экспертиза и др.

5'-НТО - важный регуляторный элемент на этапе инициации трансляции гетерологичных генов в растительных клетках

Кабардаева К.В.^{А*}, Мустафаев О.^Б, Павленко О.С.^А, Тюрин А.А.^А,

Голденкова-Павлова И.В.^А

^АФедеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Российская Федерация. *Email: kabardaewa@yandex.ru

^ББакинский государственный университет, Баку, Азербайджан

Применение растений для наработки целевых белков позволяет частично или полностью решить ряд проблем, возникающих при экспрессии гетерологичных генов в других организмах. Но, наряду с этим, существует потребность контролировать экспрессию целевых генов в растительных системах более точно, по возможности, имея достаточный уровень рекомбинантного белка, при этом, не меняя

в значительной степени биохимический профиль клеток-продуцентов, и обеспечивая стабильность целевых белков и их доступность для выделения. Следует отметить, что 5'-НТО представляется весьма важным регуляторным элементом, способным оказать разнообразное влияние на обеспечение стабильности мРНК и эффективность ее трансляции. Поэтому, на наш взгляд, при разработке кассет для экспрессии трансгенов в растениях важно учитывать состав области, предшествующей стартовому кодону. Поиску консенсусной 5'-НТО для генов растений, на примере *A. thaliana*, и оценки ее влияния на эффективность трансляции гетерологичного гена в растительных клетках посвящена данная работа. Для того, чтобы выяснить есть ли взаимосвязь между уровнем экспрессии гена (на этапе трансляции) и наличием или отсутствием у него 5'-НТО, мы провели теоретические и экспериментальные исследования. Результаты *in silico* анализа позволили выявить следующую закономерность: средний размер 5'-НТО для большинства генов *A. thaliana* с высоким уровнем экспрессии варьирует от 80 до 120 п.н. со средним содержанием GC – 36,5%. На основании результатов выравнивания определена консенсусная 5'-НТО, как новый регуляторный элемент, который потенциально может обеспечить высокоэффективную экспрессию и синтез целевого продукта в растениях. Продемонстрировано, что консенсусная 5'-НТО обеспечивает увеличение накопления бирепортерного белка более, чем на 25%, тем самым выступает в качестве потенциального позитивного регуляторного элемента в эффективности трансляции. Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда №18-04-00026.

Взаимосвязь маркеров цитоплазматической ДНК и фенов у *Picea abies* (L.) Karst.

Каган Д.И., Маркевич Т.С.*, Падутов В.Е.

ГНУ «Институт леса НАН Беларуси», Гомель, Беларусь

*Email: Tatjana2002_21@inbox.ru

Изучены особенности формирования популяционной структуры *P. abies* с использованием фено- и ДНК-маркеров. Комплексный анализ распространения фенов, маркеров митохондриальной и хлоропластной ДНК показал, что еловая формация Беларуси характеризуется крайне сложной, разнородной структурой. Установлено, что ее формирование тесно связано с характером наследования. Передача митохондриальной ДНК (мтДНК) у хвойных видов осуществляется по материнской линии, т.е. семенами. В свою очередь, хлоропластная ДНК (хпДНК) наследуется только по отцовской линии и передается в ряду поколений с помощью пыльцы. Результаты анализа хпДНК еловой формации Беларуси свидетельствуют о высоком разнообразии хлоротипов (аллельных сочетаний локусов хпДНК) и отсутствии, в отличие от митотипов, их географической локализации. Полученные данные объясняют выявленные в ходе исследований различия в распространении по территории Беларуси фено- и ДНК-маркеров, диагностирующих историческое происхождение *P. abies*. Проявление фенов контролируется ядерной ДНК, передающейся по обоим родительским линиям и характеризующейся, в отличие от мтДНК и хпДНК, высокой степенью рекомбинации. Этим, по-видимому, обусловлено высокое разнообразие фенов *P. abies*. Фенетическая структура популяций исследуемого вида более соответствует генетической структуре, образуемой хлоропластной ДНК (отцовской), чем митохондриальной (материнской).

Особое влияние на формирование популяционной структуры еловой формации Беларуси оказывают миграционный и гибридационный факторы. Установлено, что в настоящее время генетическая и фенетическая структура *P. abies* представляют собой динамическую систему. Показано, что изменение климатических условий приводит к мозаичности экосистем, создающей возможности проникновения генетического материала на новые территории. Выявленные особенности географического распределения фено- и генофонда *P. abies*, обнаружение на территории страны зоны гибридизации карпатского и бореального происхождений данного вида, установление современных направлений миграции позволяют усовершенствовать лесосеменное районирование в Беларуси, которое обеспечит сохранение и эффективное использование ресурсного потенциала еловой формации в современных условиях, особенно в контексте изменения климата.

Борщевик Сосновского (*Heracleum sosnowskyi* Manden) как перспективный источник биологически активных соединений

Ламан Н.А., Копылова Н.А.*, Прохоров В.Н.

Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси, Минск, Беларусь. *Email: natal.kopylova.68@mail.ru

Среди инвазивных видов растений на территории Беларуси одним из наиболее агрессивных является борщевик Сосновского. Из способов ограничения распространения данного вида рассматривается использование его тканей и органов в качестве источника биологически активных соединений. Нами определен профиль летучих соединений борщевика Сосновского, который включает 18 компонентов, в том числе спирты, альдегиды, терпены и эфиры жирных кислот. Октил ацетат, октанол, октаналь, гексил изобутират и гексил-2-метил бутират являются основными составляющими экстрактов. Концентрация данных веществ варьировала в зависимости от места произрастания растений: октил ацетат (5,8-48,9 нг/см³), октаналь (1,1-4,9 нг/см³). Методом биотестов для корня и гипокотыля салата установлено, что аллелопатическая активность семян борщевика Сосновского обусловлена наличием октанала (EC₅₀=20 и 9 нг/см³ соответственно). Анализ суммы фенольных соединений в экстрактах различных органов борщевика Сосновского показал следующее: минимальное количество обнаружено в стеблях (4,42±0,11 мг/г) и стеблекорне (2,14±0,07 мг/г); значительное количество фенольных соединений накапливается в цветках (6,97-8,40 мг/г), листьях (6,78±0,09 мг/г) и завязях (4,87-6,97 мг/г). Состав и содержание фурукумаринов сильно варьирует в зависимости от локализации, стадии индивидуального развития и условий произрастания растений. Методом ВЭЖХ идентифицированы ангелицин, ксантотоксин, бергаптен, псорален, императорин, умбеллиферон. Показано, что наибольшее количество фурукумаринов содержат зеленые и зрелые плоды, причем почти все они сконцентрированы в эфирно-масличных канальцах плодовых оболочек. Проведено количественное определение α-токоферола в органах борщевика Сосновского. Наибольшее содержание α-токоферола обнаружено в листьях (3,92 мг/100 г сырой массы) и семенах (4,15 мг/100 г сырой массы). В стеблях, стеблекорне и соцветиях содержание α-токоферола значительно меньше, соответственно 1,52, 1,53 и 0,29 мг/100 г сырой массы. Содержание аскорбиновой кислоты в листовых пластинках и черешках листьев составило 1472 мг/100 г сухой массы и 732 мг/100 г сухой массы соответственно; содержание каротиноидов в листьях борщевика Сосновского --

10,76 мг/100 г сырой массы. Полученные данные позволяют обосновать перспективность использования борщевика Сосновского как источника ряда соединений с высокой биологической активностью.

Высокопроизводительный генетический анализ для биотехнологии растений Наталин П.Б.

Руководитель отдела генетического анализа, Россия и СНГ, Thermo Fisher Scientific

*Email: Pavel.Natalin@thermofisher.com

Фундаментальные исследования биологии растений является залогом успешного развития прикладных направлений биотехнологии растений. Перед ними стоит важная задача: обеспечить продовольствием постоянно растущее население нашей планеты. Доклад посвящен обзору современных методов высокопроизводительного генетического анализа, которые используются для расшифровки *de novo* геномов и транскриптомов растений, картирования количественных признаков, поиска новых генетических маркеров, геномной селекции, выявления ГМО. Также рассматриваются современные подходы к генетической инженерии растений, включая редактирование генома, а также работу с культурами растительных клеток.

JetGene – интегрированная база данных для создания и анализа узкоспецифичных выборок нуклеотидных последовательностей Садовская Н.С.^{А*}, Мустафаев О.^{Б}, Тюрин А.А.^А, Голденкова-Павлова И.В.^А**

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

*Email: nataliya.sadovskaya@gmail.com

^Б Бакинский государственный университет, Баку, Азербайджан

**Email: orkhan@bioset.org

Усовершенствование методов секвенирования нового поколения привело к резкому возрастанию количества полностью и частично завершенных геномных и транскриптомных проектов, которые охватывают огромное разнообразие живых организмов. Это повлекло за собой создание многочисленных баз данных, содержащих колоссальный объем информации о нуклеотидных последовательностях, начиная от последовательностей генов и заканчивая картами метаболических путей. Тем не менее, подобные информационные ресурсы в значительной степени предназначены для широкомасштабного биоинформационного анализа. Они не позволяют составлять выборки нуклеотидных последовательностей по различным параметрам, удовлетворяющим нетривиальным запросам экспериментатора, без привлечения вспомогательного программного обеспечения. Нами создана, пополняется и поддерживается база данных JetGene, охватывающая информацию о шести основных группах живых организмов: позвоночных, беспозвоночных, растениях, грибах, одноклеточных и бактериях. Она представляет собой многосторонний ресурс, позволяющий формировать и анализировать индивидуальные выборки нуклеотидных последовательностей, согласно критериям пользователя. Интуитивно понятный интерфейс JetGene включает в себя графическое отображение результатов и дает возможность получить итоговый набор последовательностей в fasta-формате. Пользователь может сформировать многоступенчатый запрос и провести сравнительный анализ кодирующих (CDS и cDNA) и некодирующих последовательностей (5'- и 3'-UTR) по 10 основным (size, CpG island, GC-content, nucleotide by position, nucleotide A/C/G/T,

gene and transcript names, chromosome, strain, motifs) и трем вспомогательным (aminoacid position, codon position, codon usage) параметрам. Данные, полученные на одном этапе работы можно использовать на последующих этапах, не извлекая их из JetGene. Таким образом, исследователь может получить различные варианты биологических текстов, удовлетворяющие нетривиальным сочетаниям параметров. Это значительно облегчает предварительный анализ и дальнейшую работу экспериментатора. Дополнительно есть возможность загрузить уже имеющуюся выборку или создать выборку *de novo*, проанализировать полноразмерную последовательность целиком либо ее определенный участок. JetGene свободно доступна по ссылке <https://jetgene.bioset.org>.

Особенности накопления фенольных соединений в траве и различных органах растений *Bidens frondosa*

Скуратович Т.А.^{А*}, Шабуна П.С.^Б, Фатыхова С.А.^Б, Молчан О.В.^А

^АИнститут экспериментальной ботаники НАН Беларуси, Минск, Беларусь

*Email: tskuratovich@yandex.ru

^БИнститут биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Чердаolistvennaya (*Bidens frondosa* L.) – инвазивный вид флоры Беларуси. Она активно распространяется по территории нашей страны и, тем самым, ограничивает произрастание аборигенного вида (*Bidens tripartita* L.), который включен в Государственную Фармакопею Республики Беларусь. В связи с этим возникает необходимость в исследовании биологически активных соединений чередыolistvennoy, которая может быть альтернативным источником фармакологически ценного сырья. Исследовано содержание сумм фенольных соединений и флавоноидов в траве и различных органах растений *B. frondosa* L. В зависимости от условий произрастания сумма фенольных соединений в траве составляла от 60,41±1,348 до 156,52±0,806 мг/г сухой массы. Флавоноиды в общей сумме фенольных соединений занимали примерно 30%. Установлено, что максимальным содержанием фенольных соединений и флавоноидов характеризовались листья – 212,76±2,697 и 85,54±6,460 мг/г сухой массы, соответственно. На втором месте по содержанию фенольных соединений находились соцветия (125,84±2,985 мг/г сухой массы). Флавоноиды в соцветиях составляли 35% от общей суммы фенольных соединений. В корнях содержание фенольных соединений было минимальным – 24,98±0,565 мг/г сухой массы. Методом ВЭЖХ определен состав и содержание фенольных кислот в траве и различных органах чередыolistvennoy. Установлено, что доминирующей фенольной кислотой в траве являлась хлорогеновая кислота. Максимальное ее количество составляло - 9,636±0,020 мг/г сухой массы. Также было исследовано содержание хлорогеновой кислоты в отдельных органах растений. Максимальное ее количество отмечено в листьях – 10,281±0,2059 мг/г сухой массы. В корнях содержание хлорогеновой кислоты было минимальным (0,042±0,0081 мг/г сухой массы). Производные кофейной кислоты 1 и 2 содержались в меньших количествах по сравнению с хлорогеновой. Их количество в траве варьировало от 0,126±0,0114 до 2,003±0,0513 мг/г сухой массы. В корнях производных кофейной кислоты не обнаружено. В исследованных образцах *B. frondosa* L. выявлены четыре соединения из группы флавоноидов, которые по масс-спектрам, литературным данным и УФ-спектрам предположительно идентифицированы как: цинарозид, флаваномареин, 4-метокси-7-О-β-D-глюкопиранозил-8,3'-дигидроксифлавонон,

мирицетин-гексозид. Таким образом, трава, листья и соцветия череды олистенной являются ценным источником фенольных кислот и флавоноидов и могут быть использованы в качестве фармакологически ценного сырья.

Оценка содержания хлорофилла и продуктов его распада в донных отложениях озер Нарочь и Мястро

Смольская О.С., Жукова А.А.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: sylimova_1991@mail.ru

Донные отложения дают ценную информацию о структурно-функциональных особенностях пресноводных экосистем и помогают при оценке экологического состояния. Одним из важных индикаторов физико-химического состояния и обменных процессов в водоемах является содержание хлорофилла и продуктов его трансформации в донных отложениях. В данной работе по характеру спектров поглощения света растительными пигментами были определены некоторые важные структурные показатели фитопланктона. Основным подходом, который позволяет определить содержание пигментов в донных отложениях, является спектрофотометрический метод. Исследованы спектры поглощения пигментов фитопланктона в донных отложениях озер Нарочь и Мястро за два вегетационных периода. Рассчитаны пигментные индексы, отражающие физиологическое состояние фитопланктона: E_{450}/E_{480} , E_{480}/E_{664} , E_{430}/E_{664} , E_{480}/E_{665} , $E_{480}/1,7E_{665}$, E_{430}/E_{412} . Оценены данные пигментных индексов контроля чистоты экстракта и качества воды: E_{664}/E_{720} , E_{430}/E_{720} , E_{412}/E_{720} , E_{530}/E_{720} , E_{430}/E_{530} , E_{664}/E_{530} и E_{412}/E_{664} . Измерение оптической плотности экстракта проводили в диапазоне 350–800 нм с шагом 1 нм, в качестве растворителя использовали 90 % ацетон. Установлено содержание хлорофилла а и феопигментов, рассчитаны плотность, влажность и доля органического вещества в исследованных пробах, представленными песками и заиленными песками. Установлено, что нет статистически значимой разницы между значениями светопоглощения на длине волны 720 и 750 нм. Проведена работа по расчету пигментных индексов и их значимости. Анализ пигментных индексов, отражающих физиологическое состояние фитопланктона показал, что информативными являются следующие: E_{450}/E_{480} , E_{480}/E_{664} , E_{430}/E_{664} , E_{430}/E_{412} . Индексы контроля чистоты экстракта могут быть использованы в качестве критерии качества исследованной пробы. Установлено, что нет связи с содержанием хлорофилла а и глубиной донных отложений, однако с глубиной увеличивается органическое вещество в сухой массе. В исследованных пробах отмечается высокая доля феопигментов в суммарном форбине (60–100%). Среднее содержание хлорофилла в 2016 г. составило $6,1 \pm 3,1$ мкг/г, наибольшее значение – 16,96 мкг/л, а наименьшее – 0,93 мкг/л. В 2017 г. на оз. Нарочь минимальное значение по содержанию хлорофилла составило 0,44 мкг/г, максимальное значение – 2,45 мкг/г, среднее значение – $1,9 \pm 1,1$. На оз. Мястро наблюдали следующую ситуацию: содержание хлорофилла в среднем составило $1,75 \pm 1,3$, показатель колебался от 0,25 до 5,3 мкг/г.

Тонкая настройка экспрессии гетерологичных генов: сложная сеть механизмов и ее релевантность для функциональной геномики и биотехнологии растений
Тюрин А.А., Кабардаева К.В., Павленко О.С., Гра О.А., Фадеев В.С.,
Голденкова-Павлова И.В.*

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, 127276, Российская Федерация, Москва, ул. Ботаническая, д. 35. *Email: irengold58@gmail.com

Создание экспериментальных моделей трансгенных растений для функциональной геномики, как и успех в создании новых форм растений с заданными свойствами или использовании их в качестве перспективных продуцентов, зависят от эффективности работы перенесенных генов. Эффективность экспрессии генов регулируется на разных этапах: транскрипции, трансляции, и стабильности белкового продукта переносимого гена, каждый из которых может стать лимитирующим звеном его эффективной экспрессии. Таким образом, основная задача исследователя – обеспечить контроль за экспрессией гетерологичного гена на всех этапах реализации генетической информации. Уровнем транскрипции гетерологичного гена исследователь может управлять за счет промоторных и энхансерных последовательностей. При этом, эффективность транскрипции может быть точно оценена разнообразными методами ПЦР, ставшими уже классическими. Однако крайне непросто контролировать эффективность трансляции мРНК и стабильности белкового продукта гетерологичного гена, поскольку о регуляции на уровне трансляции и стабильности белка известно значительно меньше. Согласно текущему мнению, основанному на экспериментальных данных – корреляция между уровнями мРНК и белка более, чем скромная, т.е. изменение уровня мРНК конкретного гена не обязательно приводит к ожидаемому изменению уровня соответствующего белка. Несмотря на сложность трансляционного контроля индивидуальных мРНК, в ходе выполнения транскриптомных и протеомных проектов достигнуты несомненные успехи в прояснении тонкой регуляции эффективности трансляции мРНК и стабильности белков. Современные подходы обеспечения эффективной экспрессии гетерологичных генов в растениях на всех этапах реализации генетической информации, основанные на экспериментальных данных, будут освещены в докладе. Кратко, такие подходы основаны на поиске, *in silico* анализе, конструировании и апробировании генетических детерминант, которые обуславливали бы не только эффективную, но и оптимальную экспрессию целевых генов в растениях, а также стабильность их белковых продуктов. И поскольку белковые продукты имеют критическое значение для жизнедеятельности организма в целом, использование знаний о механизмах регуляции эффективности трансляции мРНК и стабильности белкового продукта является исключительно важным для их практического применения при создании трансгенных растений для фундаментальных и прикладных исследований. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №17-04-00783_a.

Exogenous ascorbate as a signalling molecule in plants

Demidchik V.^{1,3*}, Vaitsiakhovich M.¹, Svistunenko D.², Navaselsky I.¹,
Hryvusevich P.¹, Mackievic V.¹, Samokhina V.¹, Pozhvanov G.⁴, Straltsova D.¹,
Smolikova G.⁴, Medvedev S.⁴, Sokolik A.¹

¹Department of Plant Cell Biology and Bioengineering, Biological Faculty, Belarusian State University, 4 Independence Square, Minsk, 220030, Belarus

*Email: dzemidchyk@bsu.by

²School of Biological Sciences, University of Essex, Wivenhoe Park, Colchester, Essex, CO4 3SQ, United Kingdom

³Russian Academy of Sciences, Komarov Botanical Institute, 2 Professora Popova Street, 197376 St Petersburg, Russian Federation

⁴Department of Plant Physiology and Biochemistry, St. Petersburg State University, Universitetskaya em. 7–9, 199034, St. Petersburg, Russian Federation

Plant cell signaling relies on a multitude of primary and secondary messenger molecules. Exogenous L-ascorbic acid (ascorbate) has not been considered as a signaling molecule in plant cells. However we have shown that, in *Arabidopsis thaliana* L. root cells, exogenous ascorbate (>30 μM) induces a transient increase of the cytosolic free Ca^{2+} activity ($[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$). This phenomenon is fundamental to plant signaling because it underlies transmission of most important plant signals, such as hormones and stress. Exogenous copper and iron stimulated the ascorbate-induced $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$ elevation while cation channel blockers, free radical scavengers, low extracellular $[\text{Ca}^{2+}]$, transition metal chelators and removal of the cell wall inhibited this reaction. These data show that the apoplastic redox-active transition metals are involved in the ascorbate-induced $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{cyt}}$ elevation. Exogenous ascorbate also induced moderate increase in programmed cell death symptoms in intact roots, but it did not activate Ca^{2+} influx currents in patch-clamped root protoplasts. Intriguingly, replacement of gluconate with ascorbate in the patch-clamp pipette revealed a large ascorbate efflux current, which showed sensitivity to anion channel blocker, anthracene-9-carboxylic acid (A9C), indicative of the ascorbate release via anion channels. EPR spectroscopy measurements demonstrated that salinity (NaCl) triggered accumulation of root apoplastic ascorbyl radicals in A9C-dependent manner, confirming that L-ascorbate leaks through anion channels under depolarisation. This mechanism can underlie ascorbate release, signaling phenomena, apoplastic redox reactions, iron acquisition and control of membrane ionic and electrical equilibrium (together K^{+} efflux via GORK channels). Financial support of the Russian Science Foundation (grant#15-14-30008 to VD) is gratefully acknowledged.

Ion channels as sensors for reactive oxygen species in plants

Demidchik V.^{1,2*}

¹Department of Plant Cell Biology and Bioengineering, Biological Faculty, Belarusian State University, 220030, 4 Independence Ave., Minsk, Belarus

²Komarov Botanical Institute RAS, 2 Professora Popova Street, 197376, Saint-Petersburg, Russian Federation

*Email: dzemidchyk@bsu.by

The reactive oxygen species (ROS) are involved in all major aspects of plant physiology. ROS are produced by intracellular and extracellular mechanisms and accumulate in the cell wall (apoplast), where the antioxidant capacity is much lower than in cytosol. The moderate generation of ROS is involved in normal plant physiology and adaptation needs

but their overproduction, for example during the environmental stress, results in irreversible oxidative damage and dysfunction of cell components (Demidchik 2015, Environ Exp Bot). The question of sensing ROS is still debated in plant physiology. Here, it is demonstrated that the plasma membrane ion channels transporting cations, such as Ca^{2+} and K^+ , function as prime targets of ROS in plants. These systems can catalyse early and rapid sensing of ROS in plants involved in a multitude of physiological reactions, such as adaptation to stresses, control of photosynthesis, cell elongation and gravitropic responses. In the plasma membranes of lower and higher plants, ROS instantaneously activate two major classes of ion channels: Ca^{2+} -permeable nonselective cation channels (NSCCs) and K^+ outwardly-rectifying channels (KORs encoded by GORK). Activation of cation channels by ROS leads to dramatic influx of Ca^{2+} for signaling, developmental and nutritional needs and K^+ loss (electrolyte leakage) inducing autophagic and necrotic cell death. Ca^{2+} entry also rearranges actin cytoskeleton and modifies vesicular transport. ROS-activated ion channels reveal complex nature of activation, depending on the developmental stage and oxidative capacity of tested ROS. The transition metal binding centres have recently been identified in some members of cyclic nucleotide-gated channels, a subclass of NSCCs (Demidchik *et al.* 2014, JXB). These centers potentially produce hydroxyl radicals from H_2O_2 (Haber-Weiss reaction) directly in the channel's macromolecule. Mutations in ROS-sensitive moieties in K^+ efflux GORK channel leads to the decrease of ROS-sensing capacity, suggesting that distinct molecular groups are responsible for ROS sensing by ion channels. These moieties probably confer physiological properties related to ROS, such as programmed cell death and autophagy. This study was supported by Russian Science Foundation grant#15-14-30008 to VD.

Salinity stress and improving salt tolerance in crops via regulation of Na^+ and K^+ transport

Isayenkov S.V.

Institute of Food Biotechnology and Genomics NAS of Ukraine, Osipovskogo 2a str, 04123, Kyiv, Ukraine. Email: stan.isayenkov@gmail.com

Soil salinity is a main type of abiotic stresses that leads to considerable crop yield losses, affecting millions of hectares of land around the world. The scale of this problem is expected to increase due to global climate change and expansion of irrigation practices in agriculture. The negative impact of salt stress on agricultural productivity is significant due to growth inhibition, reduced tillering and development of reproductive organs. The mechanisms of plant salt tolerance of plants rely on tight coordinated regulation of hundreds of genes and depending from them physiological programs. The significant progress in gene discovery, gene delivery and genome editing provide an excellent tool to improve salt tolerance of crops. The negative effects of high salinity are divided into two distinct phases. The first, it is independent from salt tissue accumulation - "osmotic phase". The second is "ionic phase". This type of phase is related to toxic effect of ions, mainly Na^+ and Cl^- , during salt accumulation in plant tissues. Due to similar physicochemical properties, the Na^+ is a main K^+ competitor in key metabolic processes in the cytoplasm. The one of main strategies employed by plants during salinity stress is maintenance of high cytosolic K^+/Na^+ ratio. The enrichment of plant tissues by K^+ and restriction of Na^+ uptake and accumulation are very promising approaches for plant salt tolerance improvement. The one of major mechanism of plant salt tolerance rely on regulation of Na^+ and K^+ transport.

The application of most prominent transporters involved in Na^+ and K^+ transport in plants to improve salinity tolerance will be discussed.

Changes of *Nitellopsis obtusa* action potential properties in response to exogenous L-asparagine

Lapeikaite I.*, Pupkis V., Kisiuriene V.

Vilnius University, Vilnius, Lithuania. *Email: indre.lapeikaite@vu.lt

Electrical excitability and signalling are intrinsic features of plants and some algae: electrical signals including action potentials (AP) are considered to be one of the primary responses to various environmental factors. AP propagation induces a number of physiological changes such as altered photosynthesis, respiration, gene expression and others. It is known that transduction of such important nutritional cues as external amino acids (AA) includes Ca^{2+} and electrical signalling. Discovery of plant glutamate receptor-like (GLR) suggested exogenous AA as possible signalling molecules in plants. Among wide range of AA detected as agonists for GLR, asparagine was reported as one of most effective. It is reported that asparagine, similarly to such AA as Glu and Gly, could influence electrical signalling in higher plants by affecting ion conductance and calcium entrance. Asparagine effect on properties of electrical signals in single intact cell is not yet described and was in focus of presented study. Our investigation aims to determine asparagine effect on plant cell excitation event parameters: AP threshold potential (E_{th}), amplitude, repolarization velocity and ion currents. In presented study, we demonstrated that in intact *Nitellopsis obtusa* internodal cell millimolar concentrations of L-asparagine alters variety of AP characteristics in dose dependent manner.

Профилирование генной экспрессии контрастных по устойчивости к патогену *Phytophthora infestans* сортах томата с использованием ДНК-биочипов для детекции цГМФ-регулируемых генов

Бакакина Ю.С.*, Дубовская Л.В.

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

*Email: bakakinay@mail.ru

Гуанилатциклазная сигнальная система, основным интермедиатом которой является циклический гуанозинмонофосфат (цГМФ), играет ключевую сигнальную роль в реализации абиотических и биотических стрессовых воздействий в клетках растений. В основе поздних цГМФ-опосредованных ответов лежат изменения на уровне транскриптома. Цель данной работы заключалась в проведении профилирования экспрессии цГМФ-регулируемых генов с использованием биочипов в контрастных по устойчивости к патогену *Phytophthora infestans* сортах томата с помощью микроэлектронного анализа. В работе использовали листья 45-дневных растений томата (*Lycopersicon esculentum* L.) двух сортов, контрастно различающихся по устойчивости к патогену *Phytophthora infestans*: OttaWa 30 (балл поражаемости «1») и Доходный (балл поражаемости «6»). Семена были любезно предоставлены д.с.-х.н. Налобовой В.Л. РУП «Институт овощеводства НАН Беларуси». Для работы использовали коммерческие ДНК-микрочипы «Tomato Gene Expression Microarray, 4x44K» («Agilent», США), которые содержат олигонуклеотидные последовательности для 35000 генов, экспрессируемых в растениях томата. Для детекции генов, которые дифференциально экспрессируются в тканях растений томата двух сортов, контрастно отличающихся по устойчивости к патогену

Phytophthora infestans, в ответ на действие мембрано-проникающего аналога цГМФ (2,5 мМ 8-бромо-цГМФ, инкубация в течение 2 ч) было осуществлено профилирование экспрессии генов с помощью микроэррей-анализа с использованием ДНК-микрочипов («Agilent», США). В результате проведенного сравнительного анализа выявлены гены, уровень экспрессии которых изменяется в растениях обоих контрастных сортов. Также обнаружена группа генов, экспрессия которых повышается только в одном сорте и подавляется в другом, указывая на разную направленность изменения экспрессии определенного набора генов. Гены, экспрессия которых регулируется цГМФ, кодируют белки, участвующие в реализации следующих биологических процессов: ответ на стимулы, биологическая регуляция, организация и биогенез внутриклеточных структур, внутриклеточные процессы, процессы развития, транслокации, процессы метаболизма, апоптоз. Также под действием цГМФ изменяется экспрессия генов, участвующих в ответах на абиотические и биотические факторы, а также токсические агенты. Полученные результаты могут быть использованы при разработке приемов по управлению устойчивостью растений и их урожайностью. Выявленные сортовые отличия проанализированных растений могут выступать дополнительным критерием при отборе растений, устойчивых к патогенам.

Индукция цитоплазматических Ca^{2+} -сигналов и модификация ростовых процессов в корне *Arabidopsis thaliana* L. Heynh. под действием экзогенного аскорбата

Войтехович М.А.* , Гриусевич П.В., Новосельский И.Ю., Самохина В.В., Демидчик В.В.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: makovitskayama@gmail.com

Л-аскорбиновая кислота (аскорбат) – важнейший антиоксидант растительной клетки, вовлеченный в цикл Фойер-Халливела-Асада и обеспечивающий детоксикацию H_2O_2 во всех клеточных компартментах за исключением апопласта. Аскорбат также представлен и во внеклеточном пространстве. Однако его роль в этом компартменте остается малоизученной. Концентрация аскорбата в апопласте (0,1-1 ммоль/л) значительно ниже, чем в цитоплазме (10-20 ммоль/л). Пероксидазные и оксидазные системы устраняют аскорбат из клеточной стенки, переводя его в форму дигидроаскорбата, который транспортируется внутрь клетки при помощи активных транспортеров. Ряд фактов свидетельствует о вовлечении аскорбата в генерацию гидроксильных радикалов в клеточной стенке в результате реакций со связанными в ней переходными металлами, в частности, Cu^{2+} и Fe^{3+} . Гипотетически это может приводить к активации Ca^{2+} -проницаемых катионных каналов и входу ионов кальция в клетку. В настоящей работе мы приводим результаты тестирования данной гипотезы. В ходе проведенных опытов показано, что в корнях *Arabidopsis*, экзогенный аскорбат в концентрации выше 0,1 ммоль/л вызывает временное увеличение активности цитоплазматического Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит.}}$). Аскорбат-индуцируемые Ca^{2+} -сигналы имели волнообразную форму с одним пиком, достигая максимума в течение 1-5 мин в зависимости от тестируемой концентрации. Они подавлялись при введении в среду хелаторов меди и железа, что указывает на вовлечение свободнорадикальных процессов, катализируемых переходными металлами, в частности синтеза гидроксильных радикалов. Введение в среду

совместно с аскорбатом ионов меди и железа стимулировало аскорбат-индуцируемое повышение уровня Ca^{2+} , а добавление блокаторов Ca^{2+} -проницаемых ионных каналов (La^{3+} и Gd^{3+}) вызывало его подавление. Значительный ингибирующий эффект также оказывала тиомочевина, которая способна снижать уровень генерации гидроксильных радикалов. В целом, проведенные эксперименты показали, что внеклеточный аскорбат может быть важным сигнальным агентом в корне высших растений, активируя вход Ca^{2+} в результате активации соответствующих катионных каналов плазматической мембраны. В ходе работы было также проведено исследование влияния экзогенного аскорбата на рост и архитектуру корней арабидопсиса с применением техники замены среды. Замена контрольной среды на аскорбат-содержащую, начиная с уровня 0,3 мМ аскорбата, подавляла рост основного корня и модифицировала такие параметры его архитектуры, как диаметр корня и длина клеток зоны растяжения.

Выходящий поток L-аскорбата из клеток корня *Arabidopsis thaliana* L. Heynh. опосредуется ALMT-подобными анионными каналами

Гриусевич П.В., Новосельский И.Ю., Войтехович М.А., Соколик А.И., Демидчик В.В.*

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: dzemidchyk@bsu.by

L-аскорбиновая кислота, присутствующая в клетках растений в виде одновалентного аниона - аскорбата, является важнейшим антиоксидантом, кофактором ряда ферментов, а также характеризуется прооксидантной активностью (при синтезе $\text{HO}^{\bullet}$). Гипотетически, экзогенный аскорбат может также использоваться клеткой в качестве сигнальной молекулы. Несмотря на важнейшие функции аскорбата в растении, механизмы его транспорта изучены крайне слабо. Термодинамически выход аскорбата может осуществляться системами пассивного ионного транспорта, такими как анионные каналы. Однако, проницаемость данной транспортной системы к аскорбату не изучена у высших растений. Целью нашей работы являлось тестирование потенциальных токов аскорбата в клетках корня высших растений через анион-проницаемые каналы плазматической мембраны. Эксперименты были проведены с использованием электрофизиологической техники пэтч-кламп в режиме «щелая клетка». Объектом исследования являлись протопласты, выделенные энзиматическим путем из клеток корня арабидопсиса. В результате проведенных исследований было показано, что в условиях доминирования аскорбата в качестве анионной составляющей внутриклеточной среды, регистрируется исключительно высокий уровень токов, ответственных за выход анионов. Это указывает на значительную проводимость анионных каналов плазматической мембраны клеток корня и потенциально других тканей высших растений к аскорбат-аниону. Аскорбатные токи были потенциал-независимыми и демонстрировали высокую скорость активации, чем были похожи на ранее обнаруженные у многих высших растений токов анионных каналов семейства ALMT (aluminum-activated malate transporters). Добавление ингибиторов катионных каналов не приводило к изменению отрицательных токов плазматической мембраны, ответственных за выход аскорбата. При этом основной ингибитор анионных токов (антрацен-9-карбоновая кислота) плазматических мембран растений при введении его внутрь пэтч-пипетки полностью блокировал аскорбат-индуцируемую

проводимость. Экзогенная L-аскорбиновая кислота (1 ммоль/л) не вызвала изменений входящих Ca^{2+} -токов, а также выходящих токов на плазматической мембране протопластов. Однако, введение в среду Cu^{2+} (30 мкмоль/л) приводило к активации как входящих, так и выходящих катионных токов в присутствии аскорбата, близких по характеристикам с токами, активирующимися под действием гидроксильных радикалов в корнях высших растений, которые ранее были описаны в литературе. Таким образом, в представленном исследовании было впервые установлено, что анионные каналы плазматической мембраны клеток высших растений обладают высокой проницаемостью к аскорбат-аниону. Выход аскорбата через анионные каналы может иметь исключительное значение для физиологии растений, обеспечивая как межклеточный транспорт важнейшего антиоксиданта, так и ток каунтер-ионов при стресс-индуцированной утечке электролитов.

Молекулярная сигнализация между *Pectobacterium carotovorum* и *Nicotiana benthamiana*: идентификация ключевых сигнальных компонентов
Колубако А.В.*, Бадалян О.А., Николайчик Е.А.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: kolubakoav@yandex.by

Сигнальные цепочки, ответственные за распознавание растениями патогенов, существенно отличаются в зависимости от растения и типа патогена. Большинство детальных исследований в этом направлении касаются биотрофных патогенов, тогда как для некротрофов доступно значительно меньше информации, а в случае взаимодействия типичного некротрофа *Pectobacterium carotovorum* с растениями семейства Пасленовые информация о молекулярной сигнализации практически отсутствует. В настоящей работе сделана попытка идентификации ключевых компонентов сигнальной цепочки, ответственной за распознавание *P. carotovorum* модельным растением *Nicotiana benthamiana*. Ранее нам удалось продемонстрировать доставку пектобактериями в клетки растений эффекторного белка DspE. С помощью дрожжевой двухгибридной системы идентифицированы рецепторподобные киназы RLK2 и RLK5, специфически взаимодействующие с DspE. Эти рецепторы можно рассматривать в качестве первого звена сигнальной цепочки, ответственной за распознавание пектобактерий, поскольку их инактивация блокирует развитие реакции сверхчувствительности при инфильтрации листьев *N. benthamiana* суспензиями клеток пектобактерий. Вирус-индуцированный сайленсинг показал участие в детекции пектобактерий еще нескольких сигнальных белков: цитоплазматической киназы TPK1b, MAP-киназ SIPK и WIPK, компонента шаперонного комплекса SGT1, а также мембранного сигнального белка NDR1. Не выявлено участие в детекции *P. carotovorum* классического MAMP-рецептора FLS2/BAK1, а также цитоплазматических сигнальных белков RAR1 и EDS1. Отсутствие эффекта от инактивации FLS2 и BAK1 оказалось связано с особенностью используемого штамма (несет делецию генов биосинтеза жгутика, из-за чего флагеллин отсутствует на поверхности клеток этого штамма). Эксперименты с сайленсингом NDR1 свидетельствуют о распознавании растениями эффектора пектобактерий, отличного от единственного охарактеризованного на сегодня эффектора DspE. А потребность в NDR1 и SGT1, но не в RAR1 и EDS1 предполагает, что детекция дополнительных эффекторов пектобактерий может осуществляться с помощью цитоплазматического сигнального белка CC-NB-LRR-

типа. Полученные данные являются основанием для поиска дополнительных эффекторов ССТТ и ключом к созданию устойчивых к пектобактериям растений.

Как Cd и другие катионы распределяются внутри хлоропластов. Поиск возможных мишеней Cd

Лысенко Е.А.*, Клаус А.А., Карташов А.В., Кузнецов В.В.

Институт физиологии растений РАН, Москва, Российская Федерация

*Email: genlysenko@mail.ru

Кадмий – один наиболее токсичных тяжёлых металлов. Кадмий способен повреждать фотосинтетический аппарат *in vitro*, однако, растения защищают свои хлоропласты, и лишь малое количество Cd проникает в них. Малое количество лимитирует прямое ингибирующее действие. Поэтому мы впервые изучили распределение Cd внутри хлоропластов. Оказалось, что при поступлении *in vivo*, 80% Cd накапливается в тилакоидах и лишь 20% задерживается в строме. Следовательно, вероятной мишенью являются компоненты световой фазы фотосинтеза в тилакоидах. В модели поступления *in vitro* Cd распределяется между тилакоидами и стромой примерно поровну. Мы изучили распределение других катионов – Mg, Ca, Fe, Mn, Zn, Cu, K – между стромой и тилакоидами. Сопоставив уровень катионов, мы сделали вывод, что количество Cd в тилакоидах достаточно для существенного замещения Cu (в пластоцианине), или Zn (в карбоангидразах или в протеазах FtsH), или Mn (в водоокисляющем кластере фотосистемы 2). Мы сравнили воздействие *in vivo* нескольких тяжёлых металлов: Cd, Fe, Cu. Воздействие Cd изменяло содержание всех изученных катионов в хлоропластах. Изменение уровня K и Mn было характерно для воздействия любого из тяжёлых металлов. Изменения остальных катионов было специфично для Cd. По-видимому, Cd конкурировал с Zn за транспорт внутрь хлоропластов, что снижало накопление Zn в хлоропластах. Накопление Ca в хлоропластах не изменялось, однако, наблюдалось перемещение огромной порции Ca из стромы в тилакоиды. Вероятно, это защитный механизм, при помощи которого растения уменьшают возможность Cd к конкурентному замещению в тилакоидах. Эти результаты будут подробно представлены и обсуждены в докладе. Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 14-04-00584.

Электрофизиологический анализ калиевой проводимости наружного выпрямления у растений, лишенных АФК-сенсорного цис-151 в калиевом канале GORK

Новосельский И.Ю., Гриусевич П.В., Соколик А.И., Демидчик В.В.*

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: dzemidchik@bsu.by

Активные формы кислорода (АФК) вовлечены также в ряд важнейших процессов жизнедеятельности высших растений, стрессовые ответы и патофизиологические явления, такие как индукция клеточной гибели. Растения генерируют АФК в различных физиологических состояниях, при этом особую роль играет апопластный пул данных соединений. Несмотря на исключительную важность для физиологии растений механизмы взаимодействия и первичных сигнальных реакций, вызываемых АФК на поверхности клетки, остаются открытыми. Целью настоящей работы было выявить потенциальные сенсоры АФК в структуре ионных каналов плазматической

мембраны клеток высших растений и произвести их электрофизиологический анализ с использованием техники пэтч-кламп. С помощью биоинформационных подходов нами было показано, что в канале GORK, по аналогии с K^+ -каналом SKOR, есть аминокислотный остаток цистеин в 151 положении (Цис-151), который вероятно может выступать в роли АФК-чувствительного центра канала. В этой связи были проведены электрофизиологические тесты при помощи техники пэтч-кламп на протопластах, выделенных из клеток корня *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. В исследовании использовались корни *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh четырех типов: 1) дикий тип Wassilevskija – ‘WS-0’; 2) нокаутные мутанты *gork1-1*, лишенные функционального белка GORK 3) *gork1-1* с возмещенным нативным GORK; 4) *gork1-1*, экспрессирующий GORK с заменой C151S. Введение в наружный раствор смесей, генерирующих гидроксильные радикалы (1 mM $CuCl_2$, 1 mM H_2O_2 , 1 mM L-аскорбиновой кислоты), вызывало многократное увеличение медленно-активирующейся компоненты выходящего тока. У растений-нокаутов *gork1-1*, данная компонента тока отсутствовала, как до, так и после обработки их смесью, генерирующей гидроксильные радикалы. У растений *gork1-1* с возмещенным каналом GORK наблюдалась нормальная активация медленных наружу-направленных токов. Линии *gork1-1*, экспрессирующие GORK с заменой цистеина 151 на серин, демонстрировали снижение чувствительности к смесям, генерирующим гидроксильные радикалы. Полученные данные указывают на то, что Цис-151 в комплексе K^+ -канала GORK участвует в прямом взаимодействии с АФК и опосредует активацию данного канала в ответ на продукцию в среде АФК. Таким образом, в данной работе продемонстрирована роль K^+ -каналов GORK в первичных взаимодействиях растительной клетки с АФК. Показано, что в присутствии АФК канал GORK способен катализировать выход K^+ из клеток корня, что вероятно опосредует метаболические перестройки адаптивного характера, а также индукцию запрограммированной клеточной гибели.

Негеномные эффекты брассиностероидов на уровне плазматической мембраны и систем клеточной сигнализации у высших растений

Стрельцова Д.Е.^{А*}, Гриусевич П.В.^А, Савчук А.Л.^Б, Жабинский В.В.^Б, Хрипач В.А.^Б, Соколик А.И.^А, Демидчик В.В.^А

^А Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: straltsova@bsu.by

^Б Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Стероидные гормоны играют роль сигнальных молекул у животных и у растений. В организме животных они реализуют физиологическое действие при помощи геномного и негеномного механизмов. Геномный путь влияния опосредуется внутриклеточными рецепторами. Негеномный механизм не затрагивает напрямую генетический аппарат, а проявляется во взаимодействии с рецепторами плазматической мембраны и системами ионного транспорта, такими как Ca^{2+} -проницаемые ионные каналы. Негеномный путь включает быстрый ответ на метаболическом уровне; он может в дальнейшем приводить и к изменению генетической экспрессии. У растений не обнаружено генов членов суперсемейства ядерных рецепторов, также как не описаны и негеномные пути реализации эффектов стероидных гормонов растений – брассиностероидов (БС). В связи целью работы являлось выявление и детальное исследование быстрых реакций транспортно-

сигнальных систем плазматической мембраны растительной клетки на введение в среду брассиностероидов. В работе были использованы корни яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L., 'Василиса') и арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana* L. Heynh). Применялась техника пэтч-кламп и Ca^{2+} -эквориновая хемиллюминиметрия. Для тестирования транспорта БС через плазматическую мембрану был использован кастастерон с ковалентно-прикрепленным BODIPY или флуоресцеина (Институт биоорганической химии НАН Беларуси). Измерение кинетики входа трейсера Ca^{2+} ($^{90}\text{Sr}^{2+}$) выполнялось с помощью метода меченных атомов. Люминиметрические измерения показали, что 28-гомобрассинолид, 24-эпибрассинолид и 24-эпикастастерон индуцируют временное повышение $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит.}}$, достигающее пика 2-3 мин после введения БС в окружающий раствор. Эффект развивался при концентрациях БС выше 10 мкмоль/л, достигая максимума при 400 мкмоль/л. Реакция была чувствительна к Gd^{3+} , что указывает на вовлечение Ca^{2+} -проницаемых каналов плазматической мембраны в процессы входа Ca^{2+} , активируемые БС. Электрофизиологические тесты (пэтч-кламп) показали, что 24-эпибрассинолид и 28-гомобрассинолид не изменяют проводимости плазматической мембраны в большинстве протопластов при их экзо- и эндогенном введении. В то же время 24-эпикастастерон при его введении как в наружный, так и во внутренний растворы (пипетка пэтч-кламп) вызывал увеличение конститутивных наружу-выпрямляющих K^{+} -токов. Эндогенное введение 24-эпикастастерона также вызывало у части протопластов активацию уникальных деполяризационно-активируемых Ca^{2+} -проницаемых катионных каналов (Depolarization-Activated Calcium Channels: DACC), ранее описанных только для небольшой группы объектов. Добавление в наружный раствор 1 мкмоль/л 24-эпикастастерона не изменяло скорость накопления $^{90}\text{Sr}^{2+}$ корнями пшеницы. Иммуноферментный анализ уровня БС в корнях пшеницы показал, что они содержат как БС лактоновой, так и кетоновой группы. БС первой группы доминировали количественно. С помощью флуоресцентно-меченных БС было установлено, что БС в течение 1 часа способны проникать в детектируемом количестве внутрь растительной клетки (протопласты и целый корень) из окружающего раствора. В результате проведенной работы можно сделать следующие выводы: 1) БС индуцируют реакции Ca^{2+} -сигнализации в клетках корня высших растений, т.е. обладают выраженными негеномными эффектами; 2) БС активируют токи калия и кальция через плазматическую мембрану протопластов, выделенных из клеток корня пшеницы; 3) БС проникают через плазматическую мембрану клеток корня, т.е. потенциально могут влиять на транспортные и сигнальные системы со стороны цитоплазмы. Работа выполнена в рамках гранта БРФФИ № B15M-014.

Ответная реакция клеток *Nitella flexilis* на присутствие в среде гербицидов атрибута, прометрекса, глифосата и фюзилада

Яковец О.Г.*, Андала Т.С.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: yakovets@inbox.ru

Клетки харовых водорослей являются классическим объектом для исследования быстрой реакции растительного организма на изменяющиеся условия окружающей среды. Для этого в качестве тест-реакции можно использовать биоэлектрические характеристики плазмалеммы клеток, а также скорость движения цитоплазмы. При

этом по индуцированным экзогенными химическими веществами изменениям скорости циклоза можно судить о скорости передачи сигнала внутрь клетки, возникающего в ответ даже на низкие концентрации загрязнителя. Исследовалось кратковременное (до 15 мин) и длительное (до 60 мин) действие 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} М атрибута, глифосата, прометрекса и фюзилада на скорость циклоза в интернодальных клетках *Nitella flexilis*. После 15-мин воздействия 10^{-6} М всех гербицидов наблюдалось уменьшение скорости циклоза, а 20мин-экспозиция в контрольном растворе (искусственная прудовая вода) приводила практически к полному восстановлению параметра. После действия 10^{-5} М и 10^{-4} М атрибута скорость циклоза практически не восстановилась, а после действия прометрекса и фюзилада – восстановилась. Следует отметить периодически наблюдающуюся гибель клеток после обработки атрибутом и глифосатом. По силе кратковременного воздействия концентрации 10^{-4} М протестированные гербициды можно расположить в следующий ряд: атрибут>глифосат>прометрекс>фюзилад. Атрибут в этой концентрации снижал скорость циклоза на 40,9 мкм/с, глифосат – на 20,7 мкм/с, прометрекс – на 36,9 мкм/с, фюзилад – на 19,7 мкм/с. При длительной экспозиции в растворах гербицидов растительная клетка приспособливается к их присутствию в окружающей среде: это проявляется в стабилизации движения цитоплазмы, а также способности клеток реагировать на смену экспериментальных растворов на контроль не остановкой циклоза, а сохранением и приближением его скорости к контрольным величинам.

Advanced approaches of cell selection and new forms of cell lines with combined stress tolerance

Sergeeva L., Bronnikova L.^{A*}

Institute of Plant Physiology and Genetics, Natl. Acad. Sci. of Ukraine, Ukraine, 31/17 Vasylykivska St., Kyiv, 03022. *Email: Zlenko_lora@ukr.net

Cell selection is a reliable method for obtaining plant forms with genetic changes. Global environment deterioration and enlarged deficit of stress tolerant genotypes call for new ideas and approaches. The idea of using heavy metal ions in cell selection for obtaining variants tolerant to abiotic stresses was created. Heavy metal ions (HMI), a large number of toxicants, are divided into two categories. The first group joints physiological ions. The second one consists of ions, toxic at trace concentrations. They are: Pb^{2+} , Ba^{2+} , Cd^{2+} , etc. it is known that barium (Ba^{2+}) ions disturb cell K^+ transport. At the same time the disturbance of K^+/Na^+ ratio is the pathologic result of the salinity. Cadmium (Cd^{2+}) ions inflict plant water status. So we used those cations for obtaining osmotic stress tolerant variants via cell selection. Selective systems with lethal for wild type cell cultures doses of Ba^{2+} or Cd^{2+} cations were elaborated. Suspension cell cultures were plated between two layers of selective media in Petri dishes. After 30-35 days of cultivation the growth of single cells started. The appearance frequency was 10^{-6} . Ion-resistant cell proliferated and formed certain resistant cell lines. After several (2-4) passages under initial stress conditions calli biomass were divided and transferred to fresh media of different compositions. They are: standard nutritional media (normal conditions); media with the addition of HMI (stress I, mineral); media with the addition of sea water salts or mannitol (stress II, osmotic). All stress-formed ingredients were added at lethal for ordinary cultures doses. Several resistant cell lines of tobacco, soybean, wheat, maize were selected. Those lines challenged any abiotic stress. The media rotations were arbitrary. Cell selection with HMI is the advanced method for obtaining plants with combined tolerance to abiotic stresses.

Effect of low-temperature exposure on the morphogenesis reactions of the callus culture of winter wheat

Shulik V.V.

Kharkiv National University Karazin, Kharkiv, Ukraine

Email: viktoria.shulik@karazin.ua

The culture of plant cells and tissues plays a significant role in studying the morphogenesis pathways, since the widest range of plant morphogenetic potential appears *in vitro*. A complex of endogenous and exogenous factors determines the program of morphogenesis, among which temperature is one of the most important. For winter wheat, the period of prolonged exposure of low positive temperature (vernalization) is required for transition to generative development, i.e. full realization of morphogenesis. The effect of low-temperature exposure on callus culture of winter wheat, perhaps, will also stimulate the pathways of morphogenesis *in vitro*. The aim of the study was to investigate the effect of positive low-temperature exposure (15 and 30 days) on the morphogenetic reactions of callus culture of three winter wheat varieties - Doridna, Statna and Astet. After low-temperature exposure, the calli were transferred to the regeneration medium MC, supplemented with 3 mg/l BAP and 0,5 mg/l NAA. Calli had been being cultured on the light intensity of 2-3 kL for 4 weeks. According to the results, all investigated variants of winter wheat varieties exhibited morphogenetic reactions, however in varying degrees.

Callus of *Doridna* was light brown, friable, watered, with green roots; *Statna* and *Astet* - matte, white and yellow, with green chlorophyllous areas and roots, friable and watered. Organogenesis was manifested by the formation of meristematic zones and intensive rhizogenesis. While the formation of roots was more intense than gemogenesis in all varieties irrespective of temperature conditions. Chlorophyllogenesis was manifested in different ways: the formation of green meristematic zones, green roots (abnormal path of development) and general greening of callus tissue (formation of mixotrophic callus). In all experiment variants subjected to + 4° C temperature for both 15 and 30 days, the increase of frequency of meristematic zones formation was observed. However, the increase of number of those zones per callus was found only in *Statna*. The maximum intensity of gemogenesis was shown for *Astet*, the minimum - *Doridna*. In general, low-temperature exposure, regardless of duration, stimulated morphogenetic reactions of calli of the winter wheat varieties.

Продуктивность водоросли *Haematococcus pluvialis*, содержание в ней фотосинтетических пигментов, активных форм кислорода и астаксантина при выращивании в условиях засоления

Аверина Н.Г.*, Козел Н.В., Щербаков Р.А., Радюк М.С., Мананкина Е.Е., Гончарик Р.Г., Шалыго Н.В.

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси; Минск, Беларусь

*Email: averina@ibp.org.by

Штамм ИВСЕ Н-17 водоросли *Haematococcus pluvialis* из коллекции Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси был изучен на предмет индукции накопления в клетках кето-каротиноида астаксантина в условиях избыточного засоления питательной среды 25, 50, 100 200 и 300 мМ NaCl. Параллельно оценивали продуктивность *H. pluvialis* по показателям сухой биомассы и белка, содержания фотосинтетических пигментов и АФК. NaCl в концентрациях 25, 50 и 100 мМ стимулировал накопление сухой биомассы водоросли в течение 12-и суток выращивания в среднем в 1,3 раза по сравнению с контролем. Содержание белка в расчете на сухую биомассу снижалось и составляло в среднем 70% от контроля на 7-е сутки культивирования при использовании 50–300 мМ соли и 55% – на 12-е сутки для концентраций соли 100–300 мМ. Через 7 суток выращивания на растворах NaCl уменьшалось и общее количество фотосинтетических пигментов – хлорофилла *a* и *b*, а также каротиноидов – неоксантина, виолаксантина, лютеина и β-каротина. Хлорофилл *b* оказался более устойчивым к засолению по сравнению с хлорофиллом *a*. Наиболее сильно под воздействием NaCl снижался уровень β-каротина. Стрессовые условия, создаваемые NaCl, привели к генерации АФК. Так, через 7 суток культивирования общее содержание АФК в варианте «NaCl-100» в 1,7 раза превышало таковое в контроле и в 3,0 раза выше контроля в 12-суточной культуре. Отмечено существенное положительное влияние NaCl на содержание астаксантина. Максимальный эффект наблюдали при использовании 100 мМ NaCl. Через 7 суток культивирования содержание астаксантина превышало контрольные показатели в 2,8 раза, а через 12 – в 20,5 раз. Количество клеток водоросли через 7 суток выращивания в варианте «NaCl-100» уменьшалось в среднем на 33%, в то время как диаметр клеток возрастал на 29%.

Биотестирование растворов меди и кадмия по реакции флуоресценции хлорофилла суспензии клеток *Chlorella sp.*

Буко А.С.*, Смолич И.И.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: bukoandrey@mail.ru

Изменения флуоресцентной эмиссии хлорофилла фотосинтезирующих организмов часто указывают на изменения в фотосинтетической активности, последняя при этом будет характеризовать физиологическое состояние растения. Нами на примере модельного объекта клеток суспензионной культуры *Chlorella sp.* изучено влияние ионов Cu^{2+} (5, 50 и 250 мкг/л – CuCl_2) и Cd^{2+} (10, 100 и 500 мкг/л – CdCl_2) на уровни флуоресценции клеток водоросли хлореллы. Культивирование микроводоросли *Chlorella sp.* проводили на питательной среде Тамия при регулируемом освещении люминесцентных ламп (107 мкмоль фотонов/м²·с, 16:8). Перемешивание суспензии хлореллы и газообмен среды осуществлялось за счет барботирования газовой смеси. Измерения флуоресценции проводились на спектрофлуориметре *Cary Eclipse* (Varian, Австралия), длина волны возбуждения 435 нм, длины волн эмиссии 685 и 720 нм. Зафиксировано увеличение уровня флуоресценции клеток водоросли хлореллы под влиянием ионов кадмия при длине волны 685 нм до 38–39 отн.ед. при контрольных значениях в нативной культуре водоросли и адаптированной в темноте в течение суток 31 и 36 отн.ед., соответственно. Следует указать на отсутствие концентрационной зависимости для кадмия. В отношении влияния ионов меди в изученных концентрациях установлено, что уровень флуоресценции при длине волны 685 нм составил для концентраций 5 и 50 мкг/л примерно 41 отн. ед., а для 250 мкг/л – 46 отн.ед. Изменения уровней флуоресценции клеток водоросли *Chlorella* при длине волны 720 нм оказались незначительными. Их значения составляли величины 16–17 отн.ед. Таким образом, показана возможность использования флуоресцентного метода для биотестирования водных или почвенных растворов, содержащих ионы тяжелых металлов, при оценке их опасности для фотосинтезирующих организмов.

Растения модулируют устойчивость насекомых-вредителей к инсектицидам, влияя на активность ферментов системы детоксикации у фитофагов

Воронова Н.В.*, Шулинский Р.С., Ковалев Я.В., Астравич В.А.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: nvoronova@bsu.by

В результате длительной совместной эволюции растения и их специализированные вредители сформировали комплекс взаимных адаптаций и контр-адаптаций, в число которых входит синтез растениями различных вторичных метаболитов, оказывающих угнетающее влияние на рост и развитие фитофагов. Высокая эффективность вторичных метаболитов растений как инсектицидных агентов позволила разработать два новых класса органических инсектицидов, являющихся структурными аналогами растительных метаболитов, – неоникотиноиды и пиретроиды. Учитывая тесную связь вредителей с их кормовыми растениями и тот факт, что за нейтрализацию ксенобиотиков и токсичных компонентов пищи у насекомых отвечает одна и та же высокоиндуцибельная ферментативная система, можно предположить, что растения с различной композицией вторичных метаболитов будут влиять на активность системы детоксикации у питающихся на

них насекомых и, таким образом, опосредованно модулировать их «on-spot» устойчивость к инсектицидам. В наших исследованиях мы выкармливали сестринские (генетически идентичные) линии тлей *Myzus persicae* и *Aphis gossypii* на редке черной, моркови посевной, перце овощном и свекле обыкновенной и, после не менее чем 1 месяца поддержания культуры на кормовом растении, оценивали такие параметры как вес имаго (прямое взвешивание), активность эстераз и цитохромов р450 (спектрофлуориметрический метод с флуоресцин-диацетатом и 7-этоксикумарином в качестве субстратов, соответственно) и активность экспрессии гена CYP6CY3 (РТ-ПЦР) и выживаемость при контакте с препаратами, содержащими тиаметоксам, имидаклоприд или пиримифос-метил (учет смертности в эксперименте). Оказалось, что тли, питавшиеся на указанных растениях, отличались по всем оцениваемым параметрам, причем в большинстве случаев различия являлись высокозначимыми ($p \leq 0,000$). Во всех случаях питание на разных кормовых растениях приводило к различиям в уровне активности как эстераз, так и CYP450 у тлей, причем активация эстераз и CYP450 происходила независимо. Выживаемость тлей при контакте с инсектицидами всегда значимо различалась ($p \leq 0,00$). Таким образом, было показано, что питание на конкретном кормовом растении приводит к изменению устойчивости тлей к воздействию неоникотиноидов и органофосфатов, что связано с изменением активности белков системы детоксикации в процессе питания вредителей.

Причины индукции реакции гиперчувствительности у растений *Nicotiana tabacum* при контакте с клетками *Pectobacterium atrosepticum* 21A

Дюбо Ю.В.*, Николайчик Е.А.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: yuliyadiubo@gmail.com.

Программируемая клеточная смерть играет важную роль во многих процессах развития растений. Не меньше ее роль и в развитии инфекционного процесса. Локальная гибель клеток, или реакция гиперчувствительности (РГ), в местах внедрения патогена как правило локализует инфекцию и активирует системные защитные реакции, делая растение более устойчивым к последующим атакам родственных патогенов. РГ типична при попытке заражения патогеном нехозяйских растений, однако специализированный патоген картофеля *Pectobacterium atrosepticum* обычно не вызывает эту реакцию у растений табака *Nicotiana tabacum*. Тем не менее, единственный из штаммов *P. atrosepticum* из нашей коллекции, белорусский изолят 21A, является хорошим индуктором РГ. Целью настоящей работы являлось выяснение причины этого уникального свойства штамма 21A. Геномы различных штаммов *P. atrosepticum* имеют очень высокую степень сходства друг с другом (99% и более), поэтому мы попытались найти отличительные особенности штамма 21A с помощью сравнительной геномики. Различия хромосомных последовательностей между штаммами оказались связаны в основном с мобильными генетическими элементами: профагами и IS-элементами, в составе которых генов, способных иметь отношение к взаимодействию с растениями, выявить не удалось. Уникальной для штамма 21A оказалась относительно крупная (32 т.н.п.) плазмида pPA21A, в которой можно выделить не менее трех локусов, потенциально ответственных за наблюдаемый фенотип. Плазмида несет ген фосфолипазы D, способной расщеплять клеточные липиды до фосфатидной

кислоты, которая является известным индуктором клеточной гибели. Кроме того, мы предполагаем, что кодируемый плазмидой сиртуин-подобный белок может являться регулятором, модифицирующим иммунные реакции растений. Наконец, плазида несет полноразмерный кластер генов системы секреции IV типа, способной транспортировать бактериальные белки в клетки растений. Введение pRA21A в клетки бесплазмидного штамма *P. atrosepticum* придало последнему способность индуцировать РГ, что подтверждает ответственность за этот фенотип расположенных на плазмиде генов. Идет конструирование делеционных вариантов плазмиды, лишенных предполагаемых факторов вирулентности, для уточнения роли последних в индукции РГ.

АФК-зависимая индукция разрывов ДНК в клетках протонемы *Physcomitrella patens* под действием засоления

Звонарёв С.Н.^А, Мацкевич В.С.^А, Angelis K.J.^Б, Демидчик В.В.^{А*}

¹ Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: dzemidchyk@bsu.by

² Институт Экспериментальной Ботаники, АН Чешской Республики, Прага, Чехия

Засоление – глобальная проблема, затрагивающая треть обрабатываемых почв на планете. Несмотря на высокий интерес к исследованиям в этой области, механизмы влияния повышенных уровней NaCl на растительную клетку до сих пор остаются неясными. Общеизвестно, что засоление не является генотоксическим стрессом, т.е. предполагается, что его воздействие на затрагивает повреждение ДНК. Однако в последние годы показано, что засоление способно индуцировать генерацию гидроксильных радикалов и других активных форм кислорода. В то же время, синтез гидроксильных радикалов является ключевым механизмом воздействия на ДНК генотоксических веществ, например, некоторых тяжелых металлов, многих окислителей и токсинов. Также посредством генерации гидроксильного радикала воздействуют на ДНК различные формы ионизирующего излучения. Ранее было обнаружено, что в корнях высших растений высокие уровни NaCl вызывают всплеск синтеза гидроксильных радикалов (Demidchik et al., 2010, Journal of Cell Science). Таким образом, можно предположить, что в клетках растений могут происходить разрывы ДНК, связанные с синтезом АФК и приводящие к повреждению генетического материала. Одной из удобных моделей для изучения разрывов ДНК является протонема мха *Physcomitrella patens* (Hedw.) Bruch & Schimp (фискомитрелла). Для данной экспериментальной системы отлажена техника электрофореза ДНК одиночных клеток (COMET). В настоящей работе мы предприняли попытку продемонстрировать, что NaCl способен вызывать генерацию АФК в клетках фискомитреллы, по возможности, показать долю гидроксильных радикалов в общей продукции АФК, а также измерить и проанализировать одиночные и двойные разрывы ДНК в ответ на повышенные концентрации NaCl. Для решения данных задач нами был развит ряд подходов, базирующихся на использовании эпифлуоресцентной микроскопии. Была разработана методика измерения АФК в клетках фискомитреллы при помощи флуоресцентного зонда диигидроэтидий (ДГЭ) и адаптирована техника Comet для определения разрывов ДНК. При использовании ДГЭ обычно имеется проблема высокого фонового свечения и возникновения артефактов при связывании промежуточных продуктов окисления ДГЭ с ДНК, обладающих сильной флуоресценцией в красной области.

Применение «зеленого» фильтра (Nikon; FITC Standard) позволило отсеять испускание в области красного света, сфокусировав регистрацию на область продуктов взаимодействия с АФК. Это дало возможность получить высокочувствительную систему для анализа генерации АФК в клетках фискомитреллы. В ходе проведенных опытов было обнаружено, что NaCl в концентрациях свыше 200 мМ вызывает значительное увеличение интенсивности флуоресценции ДГЭ. Эффект увеличивался с концентрацией NaCl, достигая максимального значения при 300 мМ. ДГЭ чаще всего используется как зонд для супероксидного анионного радикала ($O_2^{\cdot-}$), однако результаты наших тестов показали, это вещество чувствительно к другим АФК. Супероксиддисмутаза уменьшала индуцированную NaCl флуоресценцию ДГЭ на 40-45% при 200-300 мМ NaCl и на 60% при 400 мМ NaCl. Эти данные показывают, что приблизительно половина ДГЭ-сигнала связана с реакцией с $O_2^{\cdot-}$. Тиомочевина, которая является относительно специфическим агентом связывающим гидроксильные радикалы ($OH^{\cdot}$), уменьшала индуцированную NaCl флуоресценцию ДГЭ на 20% при 200 мМ NaCl и на 30% при 300 и 400 мМ NaCl, соответственно. Это указывает на то, что часть сигнала ДГЭ вызывается реакцией с гидроксильными радикалами. Другие низкомолекулярные антиоксиданты, такие как восстановленный глутатион, диметилсульфоксид и спермин также частично подавляли индуцированный NaCl сигнал ДГЭ. Эти вещества вызвали 40-50% снижение сигнала ДГЭ при 200-300 мМ NaCl и 25-30% при 400 мМ NaCl. Таким образом, было показано, что засоление вызывает генерацию АФК, в том числе его наиболее реакционных форм, таких как гидроксильные радикалы. Для анализа разрывов ДНК были адаптированы методики на основе Comet: нейтральный Comet assay для обнаружения двунитевых разрывов и щелочной Comet assay, который чувствителен к одонитевым разрывам ДНК. Результаты Comet-тестов показали, что обработка протонемы 100 мМ NaCl вызывает значительное увеличение дву- и одноцепочечных разрывов ДНК. Обработка 300 и 500 мМ NaCl увеличивала количество двуцепочечных разрывов ДНК на 3-3,5 и 4-4,5 раза по сравнению с контролем, соответственно. Приблизительно также прогрессировало количество одноцепочечных разрывов с ростом концентрации соли в среде. Индукция двуцепочечных разрывов ДНК может быть связана с активацией процессов запрограммированной клеточной гибели, ранее зарегистрированной для обработок NaCl различных тканей растений. В то же время, появление и нарастание количества одноцепочечных разрывов может быть объяснено с точки зрения окислительного повреждения ДНК, схожего по своей природе с действием генотоксических факторов. Таким образом, в настоящей работе было впервые показано, что NaCl вызывает повреждение ДНК, которое проявляется в накоплении одно- и двуцепочечных разрывов и может быть связано с нарастающей продукцией высокореакционных АФК, таких как гидроксильные радикалы.

Метилжасмонат повышает холодоустойчивость растений пшеницы при обычной и пониженной температуре

Игнатенко А.А.*, Таланова В.В., Репкина Н.С., Холопцева Е.С., Титов А.Ф.

Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН»,
Петрозаводск, Российская Федерация. *Email: angelina911@ya.ru

Жасмонаты, включая жасмоновую кислоту и метилжасмонат (МЖ), участвуют в регуляции процессов роста, развития и в формировании ответных реакций растений

на действие внешних факторов. В частности, установлена роль жасмонатов в защите растений от патогенов и насекомых-вредителей, однако их участие в устойчивости к абиотическим факторам изучено пока недостаточно. В связи с этим нами проведено исследование влияния МЖ на растения пшеницы, находящиеся при обычной или в условиях действия низкой положительной температуры. Установлено, что обработка растений пшеницы МЖ (1 мкМ) вызывает повышение их холодоустойчивости в условиях нормальной температуры (22°C). При этом, у проростков под влиянием МЖ увеличивается интенсивность фотосинтеза и активность ключевых антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ) и пероксидазы (ПО). Активизация антиоксидантной системы (АОС), в свою очередь, способствовала уменьшению содержания в листьях растений пероксида водорода. Если же обработка растений МЖ предшествовала воздействию низкой температуры (4°C), то наблюдалось большее повышение холодоустойчивости пшеницы, чем без МЖ, а также снижение уровня одного из конечных продуктов перекисного окисления липидов – малонового диальдегида (МДА) и пероксида водорода. Кроме того, при холодовом воздействии происходило увеличение активности СОД, КАТ и ПО, причем в листьях растений, обработанных МЖ, зафиксирована повышенная по сравнению с контролем (без обработки МЖ) активность указанных ферментов. Помимо этого, МЖ в условиях действия низкой температуры стимулировал интенсивность фотосинтеза и накопление свободного пролина. Таким образом, из полученных данных следует, что МЖ способен вызывать повышение холодоустойчивости растений пшеницы как при обычной, так и при пониженной температуре, что выражается в стабилизации фотосинтеза, увеличении активности АОС, снижении уровня окислительного стресса в клетках листьев и ряде других физиолого-биохимических изменений, носящих адаптивный характер.

О механизмах устойчивости и адаптации растений к тяжелым металлам

Казнина Н.М.*, Титов А.Ф.

Институт биологии - обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук», Петрозаводск, Российская Федерация

*Email: kaznina@krc.karelia.ru

Проблема устойчивости растений к тяжелым металлам многие годы занимает одно из центральных мест в экологической физиологии растений в силу постоянно усиливающегося загрязнения окружающей среды этими химическими элементами. Известно, что тяжелые металлы токсичны для растений, однако есть виды (так называемые «исключатели»), которые способны расти в условиях довольно высоких их концентраций в почве, накапливая при этом значительное количество ионов металлов в корнях. Анализ современной литературы и результаты собственных исследований позволяют заключить, что известные на сегодняшний день защитно-приспособительные механизмы, определяющие устойчивость растений к тяжелым металлам, можно условно разделить на две группы: а) действующие вне клетки и препятствующие их поступлению в клетку и б) действующие внутри клетки и обеспечивающие связывание и/или удаление ионов металлов из метаболически активных компартментов. Внутриклеточные механизмы металлоустойчивости изучены к настоящему времени гораздо лучше, однако и здесь остается немало нерешенных вопросов. Например, слабо изучены механизмы, обеспечивающие

удаление металлов из клетки, в том числе с участием трансмембранных белков, осуществляющих перенос ионов через тонопласт в цитозоль и далее через плазмалемму в апопласт. Почти ничего не известно о роли водородных помп тонопласта и плазмалеммы в процессе адаптации растений к тяжелым металлам, хотя этот вопрос обсуждается в литературе. Поиск ответов на эти и другие вопросы необходим для более глубокого понимания механизмов, обеспечивающих высокую устойчивость и адаптацию растений к высоким концентрациям тяжелых металлов. Причем ответы на них важны не только в теоретическом, но и в практическом плане, так как они могут быть использованы в селекционно-генетических работах, направленных на отбор и/или создание сортов (генотипов, экотипов), способных проявлять интересующие нас свойства в условиях загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами.

Снижение скорости роста, генерация активных форм кислорода и индукция запрограммированной клеточной гибели в корнях *Triticum aestivum* L. при обработке наночастицами меди

Кирийук Ю.В.^{А, Б*}, Демидчик В.В.^А

^АБелорусский государственный университет, Минск, Беларусь

^ББрестский государственный университет, Брест, Беларусь

*Email: yulya.kiriyuk@mail.ru

Интенсивное применение наноматериалов, в особенности, металл-содержащих наночастиц, может привести к их накоплению в окружающей среде в токсических для растений концентрациях. Ряд исследований показывает, что уровень некоторых металл-содержащих наночастиц в почве, загрязненной городскими отходами, уже сейчас достигает нескольких миллиграмм на килограмм сырой почвы. Несмотря на прогрессирующее количество публикаций по теме нанотоксичности, влияние металл-содержащих наночастиц на организм растения остается изученным крайне плохо. В представленной работе было исследовано первичное влияние медных наночастиц на физиологические процессы в корне важнейшей сельскохозяйственной культуры – пшеницы. В качестве объекта исследования выступали проростки *Triticum aestivum* L. (сорт Дарья). Тестировалось влияние медных наночастиц ($d = 38 \pm 4$ нм; MTI Corporation, США) и медного балка (< 75 мкм; Sigma), а также супернатанта, полученного после центрифугирования наночастиц. Использовалась стандартная световая и эпифлуоресцентная микроскопия, рулонные ростовые тесты и техника пэтч-кламп. В результате проведенных исследований было установлено, что наночастицы меди при введении их в среду выращивания растений в концентрации свыше 50 мг/л снижают скорость роста корней пшеницы по сравнению с балком и супернатантом. Они также стимулировали генерацию активных форм кислорода (тест на основе флуоресцентного зонда диgidроэтидитиум) и индуцировали увеличение доли клеток корня пшеницы с симптомами запрограммированной клеточной гибели (с 3-5% до 40-70%). При этом наблюдалась конденсация цитоплазмы и отделение плазматической мембраны от клеточной стенки, а также потемнение цитоплазмы и формирование в ней темных телец. При обработке растений медным балком или супернатантом эти повреждения проявлялись в меньшей степени. Анализ биохимических симптомов запрограммированной клеточной гибели (уровня протеазной активности), активирующихся в клетках корня пшеницы под действием наночастиц меди, был

проведен с использованием флуоресцентного маркера CaspACE™ (Promega, США). Было установлено, что доля клеток с высоким уровнем активности протеаз возрастает после обработки корней пшеницы наночастицами; балк и супернатант вызывали меньшие по силе эффекты. Также было показано, что эффекты наночастиц на активность протеаз подавляются антиоксидантами и блокаторами Ca^{2+} -проницаемых и калиевых каналов. Были проведены пилотные опыты с использованием техники пэтч-кламп, продемонстрировавшие активацию внутри-направленных Ca^{2+} -проводимостей под действием наночастиц меди. Таким образом, полученные результаты указывают на токсическое влияние наночастиц меди на корни пшеницы, превосходящее по интенсивности эффекты медного балка и супернатанта. Наиболее вероятными первичными причинами токсичности являются гиперпродукция активных форм кислорода и ионный дисбаланс, формирующийся в результате активации редок-чувствительных катионных каналов плазматической мембраны под действием наночастиц. Исследование поддержано БРФФИ и Минобразования РБ, №20163145.

Роль PhoP в зависимом от кворум-сенсинга проявлении вирулентности *Pectobacterium* sp.

Кравченко У.А.*, Круг А.Н., Николайчик Е.А.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: ulyaulyami@gmail.com

Устойчивость растений к заболеваниям, как и успешность колонизации патогенами растений, зависят от работы сигнальных систем в клетках взаимодействующих организмов. Некротрофный патоген *Pectobacterium carotovorum* поражает растения, используя богатый арсенал гидролитических ферментов для разрушения поверхностных структур клеток растений. Растения способны детектировать промежуточные продукты гидролиза полимеров клеточной стенки экзоферментами патогена и активировать соответствующие иммунные реакции, однако при высокой активности экзоферментов промежуточные продукты расщепляются полностью, и активации иммунитета не происходит. Ключевой для патогена является координирующая уровень экспрессии гидролитических экзоферментов с плотностью бактериальной популяции система кворум-сенсинга, состоящая из двух белков ExpI (ацилгомосеринлактонсинтазы) и ExpR (ацилгомосеринлактон-зависимого транскрипционного фактора). В ходе исследования транскрипционных факторов *P. carotovorum* мы заметили сайт связывания одного из них, PhoP, перед геном *expI*, что предполагает возможность контроля кворум-сенсинга с помощью PhoP. Настоящее исследование имеет целью экспериментально подтвердить взаимосвязь вышеуказанных регуляторных систем и возможность ранней активации факторов вирулентности патогена за счет PhoP-зависимой детекции дивалентных катионов и антимикробных пептидов при контакте с растением. К настоящему моменту сконструирован и частично охарактеризован инсерционный *phoP*-мутант, у которого выявлено снижение как пектолитической активности, так и выработки ацилгомосеринлактона, а также зарегистрировано изменение вирулентности на растениях картофеля. Поскольку снижение пектолитической активности может быть как прямым следствием инактивации *phoP* (из-за PhoP-сайтов перед генами пектаттиаз), так и опосредованным результатом снижения выработки ацилгомосеринлактона и репрессии синтеза вторичных метаболитов через

глобальный регулятор RsmA, идет конструирование двойных мутантов *phoP* в комбинации с *expI* и *rsmA*. В ходе расшифровки сигнальной цепочки, в состав которой предположительно входят PhoP, ExpI, ExpR (и его гомолог VirR), а также RsmA, с помощью репортерных конструкций показана перекрестная регуляция между транскрипционными факторами ExpR и VirR. В дальнейшем планируется тестирование работы этой сигнальной цепочки в ходе заражения растений, проверка иммунных реакций растений при контакте со штаммами патогена, у которых нарушена вышеописанная сигнализация.

Использование трансгенных линий табака в культуре *in vitro* для изучения устойчивости к температурным стрессам

Лукаткин А.С.*, Лукшина Т.А., Ведяшкина О.А.

Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, Саранск, Российская Федерация. *Email: aslukatkin@yandex.ru

Трансгенные растения являются удобным объектом при изучении реакции на различные абиотические стрессы, поскольку позволяют вычленять отдельные звенья метаболизма, где эффективно изменено функционирование, и оценить роль этих изменений при действии неблагоприятных факторов. В работе изучали растения табака (*Nicotiana tabacum*) дикого типа (сорт Самсун) и линий 6214 (трансформированной пластином-GFP) и 29 (сверхэкспрессирующей ген Fe-COD). Растения, введенные в культуру *in vitro*, клонально размножали, выращивали в культуре *in vitro* до возраста 60-80 дней, подвергали 18-часовому воздействию высоких (40°C) или пониженных (5°C) температур (контроль выдерживали при 23°C) и определяли состояние клеточных мембран по выходу электролитов из клеток (на кондуктометре ОК-102, Radilkis, Венгрия), интенсивности перекисного окисления липидов (на спектрофотометре UVmini1240, Shimadzu, Japan), а также состояние фотосинтетического аппарата по параметрам флуоресценции хлорофилла (на флуориметре Junior PAM, Walz, Germany). Выявлено, что при действии неблагоприятных температур существенно изменялись измеряемые параметры, указывающие на нарушения структуры и функционирования мембран, как и нарушения функционирования фотосинтетического аппарата. Более сильные повреждения выявлены после воздействия высокой температуры. Сравнение растений-регенерантов табака разных линий показало несколько различающуюся в количественном аспекте реакцию (по индексам повреждения) на неблагоприятные температуры, при этом самыми чувствительными к температурным воздействиям оказались растения Wt, а самыми устойчивыми – трансформанты по гену Fe-COD. Следует отметить, что по направленности ответных реакций растений табака на температурные стрессы не выявлено различий дикого типа и трансформантов. Авторы выражают благодарность сотрудникам Малопольского центра биотехнологии (Ягеллонский университет, Краков, Польша) и ВНИИ сельскохозяйственной биотехнологии (Москва, Россия) за любезно предоставленные для исследования семена и пробирочные растения трансформантов табака.

Оценка роли свободного гистидина в индукции сигнальных и адаптивных реакций *Arabidopsis thaliana* в ответ на никелевый стресс

Мацкевич В.С., Кузнецова Н.А., Самохина В.В., Демидчик В.В.*

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: dzemidchik@bsu.by

Согласно экспертной оценке Евросоюза уровень выбросов в окружающую среду тяжелого металла никеля (Ni^{2+}) и его металл-органических форм прогрессирует и относится к «крайне высоким»; сам Ni^{2+} входит в топ-5 важнейших с точки зрения загрязнения тяжелых металлов. Для человека никель является канцерогеном и вызывает токсические симптомы, начиная с 1-5 мкмоль/л. Концентрации Ni^{2+} свыше 30 мкмоль/л оказывают токсическое воздействие на большинство растений. Токсичность Ni^{2+} обусловлена его высокоаффинным связыванием с важнейшими лигандами биополимеров клетки и с генерацией активных форм кислорода (АФК). Клеточный механизм Ni^{2+} -индуцированных повреждений до конца не понятен, т.к. свободный ион Ni^{2+} в биологических системах не способен катализировать синтез АФК. Тем не менее, в большом количестве работ отмечено свободно-радикальное окислительное влияние никеля на растительные клетки, такие как окисление важнейших липидов и белков. Также не ясным остается механизм, при помощи которого растительная клетка распознает высокие уровни никеля в среде. Никель является блокатором Ca^{2+} -проницаемых ионных каналов, ответственных за генерацию Ca^{2+} -сигналов, служащих для обеспечения явлений раннего распознавания стрессовых сигналов у растений. Примечательно, что борьба организма растения с повышенными уровнями никеля в среде связана с усилением синтеза и подъемом клеточного уровня свободного гистидина – эффективного хелатора Ni^{2+} . Концентрация гистидина при никелевом стрессе также увеличивается и в апопласте. Общий уровень гистидина может возрасть в несколько раз даже у обычных неустойчивых к никелю видов. В то же время имеется флора, эволюционно-приспособленная к высоким уровням никеля в среде, так-называемая флора серпентинных почв. Данные растения также имеют повышенный уровень гистидина в клетках и в апопласте. Также ранее были проведены испытания чувствительности к никелю растений с гиперэкспрессией ферментов синтеза гистидина. Данные растения продемонстрировали одновременно 10-кратное увеличение уровня гистидина и многократное повышение эффективной действующей концентрации, вызывающей угнетение ростовых процессов. Особая роль гистидина в адаптации растений к условиям повышенного содержания никеля в среде ставит вопрос о механизмах влияния никель-гистидиновых комплексов на организм растения на молекулярном и клеточном уровне. Теоретически данные комплексы могут участвовать в распознавании никеля растением, так как согласно ряду данных они могут обладать более высокой редокс-активностью, чем практически инертный Ni^{2+} . Интересно, что некоторые работы отмечают сильный уровень окислительных повреждений при обработке растений избытком никеля. В настоящем исследовании была протестирована гипотеза, согласно которой комплексы никеля с гистидином способны воздействовать на сигнальные процессы клетки, в частности, Ca^{2+} -сигнализацию, изменяя характер экспрессии генов, участвующих в стресс-метаболизме, и запрограммированной гибели клеток (ЗКГ). Опыты были выполнены с использованием растений *Arabidopsis thaliana*, выращенных в вертикальной гелевой культуре. Введение Ni^{2+} в среду выращивания

подавляло рост основного корня растений. Полумаксимальный эффект достигался при введении 0,3 мМ Ni^{2+} , а полное ингибирование – при 3 мМ Ni^{2+} . Добавление гистидина снижало токсическое действие Ni^{2+} на рост корня, в особенности, при высоких уровнях никеля в среде. Тестирование симптомов ЗКГ на фоне повышенных уровней никеля в среде показало их значительное увеличение. Добавление никеля вместе с гистидином изменяло характер симптомов ЗКГ. В присутствии гистидина росла активность протеаз ЗКГ при одновременном снижении уровня морфологических изменений, свойственных ЗКГ. Данный эффект довольно неожиданный, так как обычно вышеприведенные симптомы коррелируют позитивно. Люминометрический тест на основе системы Ca^{2+} /экворин показал, что добавление Ni^{2+} к корням арабидопсиса не вызывает изменений $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит.}}$, однако его введение на фоне гистидина индуцирует значительный Ca^{2+} -сигнал. Таким образом, в присутствии гистидина никель становится распознаваем системой Ca^{2+} -сигнализации растительной клетки. Испытания эффектов никеля также были проведены с использованием растений-нокаутов, лишенных канала GORK, важнейшей системы, катализирующей выход из клеток ионов калия (K^+) при стрессе. Данные каналы имеют в своей структуре АФК-чувствительный центр. Растения *gork1-1*, а также растения с модифицированным АФК-чувствительным центром, демонстрировали пониженную чувствительность к Ni^{2+} по сравнению с природным экотипом. Это свидетельствует о том, что редокс-чувствительный канал GORK может выступать в роли одной из первичных мишеней токсического действия Ni^{2+} . У растений, выращиваемых на среде с Ni^{2+} , также было отмечено значительное увеличение относительной концентрации транскриптов НАДФН-оксидазы RBOHC, глутатион-редуктазы GR1, Ca^{2+} -зависимой протеинкиназы CPK6, K^+ -канала GORK, а также некоторых других генов, активность которых часто связывают с абиотическими стрессовыми воздействиями. Гистидин нормализовал Ni^{2+} -зависимую стимуляцию экспрессии данных генов. На основе полученных результатов предложен механизм воздействия Ni^{2+} на сигнально-регуляторные системы клеток корня в присутствии гистидина. Гистидин активирует окислительно-восстановительные свойства Ni^{2+} , что приводит к появлению Фентон-подобных реакций, таких как катализ синтеза $\text{HO}^{\bullet}$ и других АФК. Это стимулирует способность Ni^{2+} к редокс-зависимой активации Ca^{2+} -проницаемых каналов, Ca^{2+} -сигнальных систем, экспрессии «адаптивных» генов и ЗКГ.

Характеризация симптомов NaCl-индуцируемой запрограммированной клеточной гибели в корне *Arabidopsis thaliana* L. Heynh. дикого типа и линиях, лишенных АФК-активируемого K^+ -канала GORK

Мацкевич В.С.^А, Самохина В.В.^А, Кузнецова Н.А.^А, Демидчик В.В.^{А, Б*}

^АБелорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: dzemidchik@bsu.by

^ББотанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Более одной трети всех обрабатываемых почв на нашей планете засолено. Ежегодные потери от токсического влияния засоления исчисляются сотнями миллиардов долларов. Основным повреждающим компонентом засоления выступает Na^+ , механизмы первичного воздействия которого на клетки корня высших растений до конца не понятны. В последние годы активно развивается представления об

устойчивом NaCl-индуцируемом ионном дисбалансе как центральном механизме токсичности высоких уровней Na^+ для растений (Demidchik *et al.*, 2014, J Exp Bot; Demidchik *et al.*, 2018, Funct Plant Biol). Одним из результатов ионного дисбаланса является индукция нежелательной запрограммированной клеточной гибели, которой предшествует ряд автофагических реакций. Ключевая роль калиевого канала GORK в ионном дисбалансе при солевом стрессе была недавно раскрыта нами при исследовании этой системы в корнях арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana* L. Heynh.). Целью настоящей работы являлось выявление особенностей развития симптомов запрограммированной клеточной гибели (ЗКГ), индуцированной NaCl, а также модификации ростовых процессов в ответ на NaCl у *Arabidopsis thaliana* дикого типа и линиях, лишенных АФК-активируемого K^+ -канала GORK. В экспериментах были использованы природный экотип WS-0 (Wassilewskija), а также нокаутный мутант *gork1-1*, лишенный наружу-выпрямляющего K^+ -канала GORK. Культура целых растений выращивалась вертикально из семян на чашках Петри (100% среды Мурашиге и Скуга, 0,35% фитогеля, 1% сахарозы, pH 6,0) с использованием стандартных протоколов. Для анализа ростовых процессов использовалась техника замены среды, стрессор вводился в среду выращивания на 4 сут. Было показано, что замена контрольной среды на среды с 75-200 мМ NaCl вызывало подавление удлинения основного корня. Примечательно, что корни *gork1-1* были менее чувствительны в данным обработкам (по сравнению с диким типом). Максимальный эффект (ингибирование на 60%) было обнаружено для обработки 200 мМ NaCl. У *gork1-1* данный эффект был в 2 раза слабее. Индукцию ЗКГ осуществляли инкубированием растений в 200 мМ растворе NaCl на протяжении 15 ч. Для выявления развития морфологических симптомов ЗКГ анализировалось 10 выборок по 50 клеток каждая, отдельно для трихобластов и атрихобластов. Жизнеспособность клеток корня определяли с помощью красителя Evans Blue. Тест на активацию каспазоподобных протеаз проводили с помощью CaspACE FITC-VAD-fmk *in situ* marker kit. Обработка растений 200 мМ NaCl в течение 15 ч значительно стимулировала количество симптомов ЗКГ в корнях дикого типа. Сигнал FITC-VAD-fmk был значительно ниже у растений *gork1-1*. Доля атрихобластов с морфологическими симптомами ЗКГ у растений WS-0 составляла порядка 45%, а в корнях *gork1-1* – всего 15%. Для корневых волосков эти показатели составляли у WS-0 – 50%, у *gork1-1* – 25%. NaCl-индуцируемая ЗКГ сопровождалась нарушением целостности плазматической мембраны и давала позитивный тест с Evans Blue. У корней, обработанных высокими уровнями NaCl, наблюдался более высокий уровень флуоресценции CaspACE FITC-VAD-fmk по сравнению с контролем. Это свидетельствует об индукции каспазоподобных протеаз, вовлекаемых в процессы ЗКГ. В линии *gork1-1* активация протеазной активности была менее выраженной. Полученные данные позволяют сделать следующие выводы: 1) при добавлении NaCl в среду выращивания резко снижается скорость роста основного корня арабидопсиса; 2) повышенные концентрации NaCl индуцируют развитие морфологических и биохимических симптомов ЗКГ; 3) у растений, лишенных K^+ -канала GORK, симптомы ЗКГ менее выражены, что свидетельствует о вовлечении данных каналов в стресс-ответ. This study was supported by Russian Science Foundation (grant #15-14-30008 to Vadim Demidchik).

Транскриптомный анализ реакции растений *Solanum tuberosum* на пектобактериальную инфекцию

Николайчик Е.А.^{А*}, Гоголева Н.Е.^Б, Бадалян О.А.^А, Гоголев Ю.В.^Б

^А Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: nikolaichik@bsu.by

^Б Казанский институт биохимии и биофизики, Казань, Российская федерация

Pectobacterium carotovorum – патогенные бактерии, способные вызывать заболевания как подземных, так и надземных частей растений картофеля: мягкую гниль клубней и "черную ножку" стеблей. Основными факторами вирулентности этих бактерий считаются многочисленные гидролитические экзоферменты, способные разрушать полимеры клеточных стенок клеток растений. Пектобактерии обычно ведут себя как типичные некротрофы, поэтому долгое время считались полагающимися на массированную продукцию экзоферментов для быстрого разрушения клеток растений как основной способ преодоления иммунных реакций хозяев. В последнее время, в том числе и в результате наших исследований, стала появляться информация о достаточно тонком молекулярном взаимодействии в патосистеме *P. carotovorum* – *S. tuberosum*, включая прицельные манипуляции со стороны патогена отдельными компонентами иммунной системы хозяина. Так, транслокация патогеном в клетки растений эффекторного белка DspE является одним из первых шагов к преодолению иммунного барьера хозяина. Непосредственными мишенями DspE в клетках растений оказались несколько рецепторных протеинкиназ, взаимодействие с которыми этого эффектора нарушает работу иммунной системы растения. В настоящей работе для получения полной картины об изменениях, происходящих в растении во время пектобактериальной инфекции и уточнения роли эффекторного белка DspE в преодолении иммунитета использована технология RNA-seq. Транскриптомный анализ выявил значительные изменения уровней экспрессии генов из нескольких важнейших функциональных категорий. В контексте молекулярных механизмов устойчивости растений картофеля к бактериальной инфекции в докладе будут детально рассмотрены изменения экспрессии генов многочисленных рецепторных протеинкиназ и компонентов сигнальных цепочек, генов, связанных с метаболизмом стрессовых гормонов, а также будет обсуждена роль DspE в этих изменениях.

Влияние высокотемпературных воздействий разной интенсивности на теплоустойчивость растений пшеницы и накопление в их листьях транскриптов генов *BiP*, *IRE1*, *Bax2*, *McalI*

Нилова И. А.^{*}, Топчиева Л.В.

Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН», Петрозаводск, Российская Федерация. *Email: im-ira@mail.ru

Высокие неблагоприятные температуры вызывают нарушения в работе системы контроля качества белка в клетках растений, влекущие за собой развитие стресса эндоплазматического ретикулума (ЭР-стресс) и даже программируемую клеточную смерть (ПКС). Реализация этих процессов, вероятнее всего, зависит от напряженности действующего фактора, что может обуславливать особенности формирования теплоустойчивости растений при неблагоприятных воздействиях разной интенсивности. В связи с этим, изучали действие высоких температур (33 и 37°C) на теплоустойчивость и уровень транскриптов генов *IRE1* и *BiP*, кодирующие

белки ответа растений на ЭР-стресс, и *BAH.2* и *МСАП*, кодирующие белки, участвующие в ПКС. Теплоустойчивость проростков пшеницы при 33°C повышалась через 1 сут. При 37°C она увеличивалась через 1 ч и возрастала до конца эксперимента. Причем, эта температура индуцировала больший по абсолютному значению прирост теплоустойчивости по сравнению с температурой 33°C. В клетках листьев растений, находящихся при температуре 33°C, отмечено снижение уровня транскриптов генов *IRE1*, *BiP*. Действие температуры 37°C, напротив, способствовало быстрому (15 мин-1 ч) повышению содержания мРНК указанных генов. При более продолжительном прогреве при 37°C наблюдали снижение их экспрессии в листьях. Интересно, что обе температуры индуцировали накопление транскриптов гена *BAH.2* с той лишь разницей, что максимальный их уровень при 37°C был выше и достигался значительно быстрее (через 1 ч, а не через 24 ч как при 33°C). У растений, находящихся в условиях высоких температур (как 33°C, так и 37°C), наблюдали повышение содержания мРНК гена *МСАП* через 1 сут. Обнаруженные различия в характере изменения уровня транскриптов генов *IRE1* и *BiP* свидетельствуют, на наш взгляд, о разном вкладе кодируемых ими белков в формирование устойчивости пшеницы к высокотемпературному воздействию разной интенсивности.

Редокс-опосредуемые посттрансляционные модификации белков при восприятии и передаче стрессорных сигналов у растений

Новикова Г.В.*, Мионов К.С., Зорина А.А., Фоменков А.А., Носов А.В., Мошков И.Е.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, Москва, Российская Федерация. *Email: gv.novikova@mail.ru

В ответ на действие стрессоров различной природы в клетках растений накапливаются активные формы кислорода (АФК) и азота (АФА), а именно: пероксид водорода (H_2O_2) и оксид азота (NO), - которые вследствие своей высокой реакционной способности могут вызывать либо окислительные повреждения, либо инициировать передачу воспринятого клетками сигнала, в том числе, редокс сигнала. Несмотря на существенные успехи, достигнутые к настоящему времени, молекулярные механизмы, лежащие в основе восприятия и внутри-/межклеточной передачи сигналов АФК/АФА, всё еще далеки от понимания. Между тем, на основании анализа транскриптомов, ставшего популярным в последние годы, можно заключить, что понятие специфического транскрипционного маркерного гена («ROS/RNS marker gene») не представляется точным. Оказалось, что вызываемые изменения уровня(ей) мРНК зависят от типа, места и продолжительности образования АФК/АФА, а также от влияния АФК/АФА, образовавшихся в одном компартменте, на их накопление в других компартментах клетки. То есть, сравнивая разные стимулы, можно получить существенно отличающиеся результаты, даже если имелись незначительные различия при «конструировании» окислительного стресса. Указанные ограничения могут быть преодолены при помощи анализа белков, которые способны узнавать АФК/АФА и передавать эту информацию, которая преобразуется в биологические ответы клеток. Выявление и изучение таких белков – одна из основных задач редокс биологии растений. Принято считать, что интервенция АФК/АФА в работу многих сигнальных путей есть результат

АФК/АФА-опосредуемых посттрансляционных модификаций (РТМ) сигнальных белков. В докладе будут рассмотрены такие АФК/АФА-опосредуемые РТМ как карбонилирование, S- нитрозилирование, нитрирование аминокислотных остатков в белках *per se*, а также в связи с их влиянием на фосфорилирование сигнальных белков, которое будучи наиболее подробно исследованной РТМ, влияет на функциональную активность, взаимодействие с белками-партнёрами и локализацию сигнальных белков клеток растений. Работа поддержана Российским научным фондом грант № 14-24-00020.

Редокс-зависимая реорганизация актинового цитоскелета в корне арабидопсиса под действием стрессовых и регуляторных воздействий

Пожванов Г.А.^{А*}, Медведев С.С.^А, Виссенберг К.^Б, Демидчик В.В.^Б

^А Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Российская Федерация. *Email: g.pozhvanov@spbu.ru

^Б Университет Антверпена, Антверпен, Бельгия

^В Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Микрофиламенты актина весьма важны в жизни растительной клетки и вовлечены практически во все виды регуляторных и стрессовых ответов. Настоящая работа демонстрирует АФК-зависимую реорганизацию актинового цитоскелета при солевом и окислительном стрессе, а также в ходе гравитропического ответа *in vivo* в корне растений *Arabidopsis thaliana GFP-fABD2*, экспрессирующих GFP-метку для F-актина. Действие сублетальной (100 мМ) концентрации NaCl вызывало полимеризацию актина в зоне растяжения в течение 10 мин. после начала воздействия и приводило к замедлению либо остановке роста корня. Угловое распределение микрофиламентов переходило от аксиальной ориентации к широкому спектру направлений с пиками при 15°, 45° и 90°. Эффект подавлялся полиаминами (спермин, спермидин), блокаторами Ca²⁺-проницаемых каналов и гасителями АФК. Таким образом, перестройка актина при солевом стрессе могла быть вызвана образованием гидроксильных радикалов и входом Ca²⁺. Обработка смесью, генерирующей гидроксильные радикалы (1 мМ Cu²⁺, 1 мМ L-аскорбат и 1 мМ H₂O₂), вызывала сходную, но в 10 раз более быструю реорганизацию актина. Гасители АФК, полиамины, EGTA и модуляторы активности неселективных катионных каналов тормозили АФК-зависимую реорганизацию цитоскелета. Более того, мелиорирующие действие полиаминов и гасителей гидроксильных радикалов предотвращало остановку роста корня при солевом или окислительном стрессе. Вектор силы тяжести особенно важен для растений, поскольку среди других факторов среды сохраняет направление в течение всего онто- и филогенеза. Ранее нами было показано, что при гравистимуляции (поворот в вертикальной плоскости на 90°) происходит реорганизация актинового цитоскелета в клетках зоны растяжения корня. В работах Д.Н. Нелюбова (1901) этилен был открыт как фитогормон, изменяющий направление роста при гравитропизме побегов на 90°, однако механизм этого феномена оставался неизвестным. В нашей работе обработка растений этиленпродуцентом этефоном вызывала разборку микрофиламентов и значительное расширение спектра их ориентации в зоне растяжения. Эффект перестройки актина, индуцированной гравистимуляцией, снимался при обработке растений ингибитором синтеза этилена – аминоэтоксивинилглицином (АВГ), который стабилизировал аксиальную ориентацию микрофиламентов. Салицилат –

также негативный регулятор синтеза этилена – нарушал реорганизацию актина. Является ли повышение уровня АФК фактором, необходимым для реорганизации актина? Эксперименты с растениями арабидопсиса *NuPer*, экспрессирующими H_2O_2 -чувствительную конструкцию, показали, что при гравистимуляции в кончике корня растёт уровень H_2O_2 -зависимого сигнала в течение первых 15 мин., что предшествует реорганизации актина. Предложена гипотетическая модель, связывающая наблюдаемые перестройки актинового цитоскелета с другими ранними физиологическими процессами, индуцированными солевым стрессом в клетках растения. Работа выполнена при поддержке РФФИ №№ 14-04-01624, 17-04-00862 и СПбГУ №№ 1.38.233.2014, 1.57.1157.2014, 1.42.1282.2014, 1.57.163.2015 и с использованием оборудования Ресурсного центра «Развитие молекулярных и клеточных технологий» СПбГУ.

Индукцированные фузиладом изменения содержания фотосинтетических пигментов в проростках озимой пшеницы

Пригодич К.Д., Яковец О.Г.*

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: yakovets@inbox.ru

В связи с широким влиянием различных стрессовых факторов, таких как засоление, засуха, высокие и низкие температуры, фитопатогены и некоторые другие, теряется огромная часть урожая сельскохозяйственных культур. Для того, чтобы сократить потери урожая проводятся различные агротехнические мероприятия, в частности, используются гербициды. Их применение приводит к различным неблагоприятным последствиям. В связи с этим крайне важно знать, как влияет гербицид на культурные растения. Модельным объектом наших исследований была озимая пшеница сорта Мроя, предметом – влияние гербицида фузилада (Ф) на содержание фотосинтетических пигментов (ФСП). Ф относится к гербицидам, первичный механизм действия которых состоит в ингибировании синтеза жиров. Проростки пшеницы выращивали в стеклянных сосудах с дистиллированной водой (контроль) при температуре 20 ± 2 °C в течение 11–13 дней. За 24, 48, 74 ч до определения содержания ФСП рулоны переставляли в сосуды с 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} М растворами Ф. Оценка концентрации ФСП проводилась с помощью спектрофотометрического метода определения оптической плотности ацетоновой вытяжки пигментов без их предварительного разделения. Анализ зависимости содержания ФСП в проростках озимой пшеницы сорта Мроя от концентрации и времени действия Ф показал, что содержание ФСП в пересчете на сырую и сухую массы отличается, что может свидетельствовать о влиянии данного гербицида на оводненность тканей растения. В присутствии в среде выращивания Ф в концентрации 10^{-6} М зафиксировано уменьшение содержания хл *a*, каротиноидов по сравнению с контролем *в пересчете на сырую массу*. Эффект с увеличением экспозиции усиливался. Количество хл *в* первоначально уменьшалось, а затем увеличивалось, что может свидетельствовать об индукции защитных механизмов в растительном организме. Характер действия 10^{-5} М Ф отличался тем, что первоначальный рост содержания ФСП сменялся на его уменьшение (исключение индуцируемый после 72ч выращивания рост содержания хл *в*). Ф в концентрации 10^{-4} М после 24ч экспозиции не вызывал достоверных изменений содержания ФСП. С увеличением экспозиции до 48ч наблюдалось достоверное уменьшение количества каротиноидов и суммы хл *a* и *в*; а после 72ч –

достоверный рост содержания хл *в*, суммы хлорофиллов *а* и *в*. Ф во всех концентрациях, при всех экспозициях вызывал уменьшение содержания ФСП по сравнению с контролем *в пересчете на сухую массу*. Исключение составляет его действие на содержания хл *в* после 48ч экспозиции (не выявлено достоверных изменений содержания ФСП) и после 72ч (выявлен рост в присутствии 10^{-5} М и 10^{-4} М гербицида). В присутствии 10^{-6} М фузилада эффект не зависел от времени действия гербицида: содержание хл *в* первоначально уменьшалось, а затем приблизилось к контрольным значениям. Эффект на содержание каротиноидов и суммы хл *а* и *в* усиливается. В присутствии 10^{-5} М Ф эффект на содержание хл *а*, каротиноидов и суммы хл *а* и *в* возрастал с увеличением экспозиции, на содержание хл *в* действие менялось на противоположное. В присутствии 10^{-4} М Ф было зафиксировано, что с увеличением времени экспозиции содержание хл *а*, суммы хл *а* и *в* приближается к контрольной величине, а в случае хл *в* зафиксирован рост содержания ФСП спустя 72ч экспозиции. Таким образом, можно заключить, что в большинстве случаев уменьшение количества ФСП в проростках коррелирует с увеличением концентрации гербицида. Влияние Ф на ФСА зависит от времени его действия: после 48ч зафиксировано наименьшее содержание ФСП для всех концентраций. Для 72ч экспозиции с увеличением концентрации зачастую наблюдаемые эффекты снижались и наблюдалось обратное увеличение содержания ФСП. Кроме этого зафиксированное уменьшение длины проростков после 72ч обработки гербицидом в концентрации 10^{-4} М наряду с выявленным увеличением ФСП может свидетельствовать о формировании устойчивости у данного сорта пшеницы.

Антифунгальная активность грибов рода *Trichoderma pers.*: *fr* и актиномицетов в отношении возбудителя фузариоза томата

Раткевич Е. Б., Сидорова С. Г.*

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: sg.sidorova@gmail.com

Целью работы было выявление антагонистов фитопатогенного гриба *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici*, характеризующегося внутривидовой неоднородностью, среди почвенных сапротрофных грибов р. *Trichoderma* и актиномицетов р. *Streptomyces*. Изучены культуральные особенности (скорость роста колоний, их размеры, интенсивность спороношения) трех изолятов фузариума. Установлено, что наибольший прирост колоний наблюдался в период культивирования от 4 до 8 суток. Площадь колоний изолята Т 11 увеличилась в 1,5, Fol 1 – в 2, а Т 2 – в 3 раза и колебалась в диапазоне от 40 до 50 см². Выявлена различная спороносящая активность изолятов фузариума. Для изолята Fol 1 отмечено формирование наибольшего (13×10^6 шт/см²) количества спор. Остальные изоляты характеризовались примерно одинаковым уровнем спорообразования. Исследуемые виды р. *Trichoderma* явились антагонистами тестируемых изолятов фузариума. Наибольшее (73,1 %) ингибирование изолята Fol 1 наблюдалось при культивировании с *T. koningii*. Для изолята Т 2 максимальное снижение (на 62,8%) ростовой активности отмечено при совместном посеве с *T. viride* 434. На изолят Т 11 практически все (кроме *T. polysporum* 407) виды и штаммы *Trichoderma* оказали сильное (69,8% – 75,3%) ингибирующее воздействие. Типы взаимоотношений изучаемых изолятов фузариума с антагонистами р. *Trichoderma* были

охарактеризованы как территориальный и антибиотический антагонизм. Скрининг тестируемых штаммов р. *Streptomyces* на предмет их антифузариозной активности показал, что штамм 10 оказывал ингибирующее воздействие (более 60 %) на все изучаемые изоляты фузариума. Штамм 11 явился антагонистом для изолятов Fol 1 и T 2, а штамм 20 – для изолята T 11. Результаты исследований необходимо учитывать при разработке мероприятий по защите культурных растений от микозов.

Молекулярный механизм АФК-зависимой активации K^+ -канала GORK при окислительном и солевом стрессе у высших растений

Самохина В.В., Мацкевич В.С., Соколик А.И., Демидчик В.В.*

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: dzemidchyk@bsu.by

Воздействие стресс-факторов среды приводит к утечке электролитов, основным среди которых является ион калия (K^+). Ранее считалось, что утечка электролитов является неконтролируемым спонтанным процессом, связанным с повреждением плазматической мембраны. Однако последние исследования показали, что это явление вызывается активацией K^+ -каналов наружного-выпрямления GORK под действием активных форм кислорода (АФК). Нами был идентифицирован АФК-чувствительный центр в структуре GORK (Цис-151), который может быть потенциально ответственен за активацию канала под действием АФК. Данный центр также может участвовать в инициации АФК-зависимого выхода K^+ из клеток корня, происходящей при стрессовых воздействиях. Была проведена генетическая модификация данного центра – замена аминокислоты мишени АФК – цистеина (Цис) на редокс-инертный серин (Сер). Целью работы было тестирование выхода калия из клеток корня *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. с помощью радиоактивно-меченного трейсера ($^{86}Rb^+$) и сравнение его у растений, обладающих нативным и генетически модифицированным Цис-151. Также в задачи работы входил анализ стрессоустойчивости данных растений с использованием высокоэффективной системы замены среды без переноса растений. Объектом исследования являлись корни проростков арабидопсиса 4 линий: 1) дикий тип WS-0; 2) нокаутные мутанты *gork1-1*, лишенные функционального белка GORK, кодирующего наружу-выпрямляющий K^+ -канал; 3) *gork1-1* с возмещенным нативным GORK; 4) *gork1-1*, экспрессирующие GORK с заменой Цис-151 на Сер-151 (C151S). Для ростового теста культура целых растений выращивалась в течение 4 сут. Далее производилась замена части среды на аналогичную с добавлением стрессора (NaCl, Cu^{2+} /аскорбат, H_2O_2). Измерялся ежедневный прирост главного корня. Было показано, что у растений дикого типа выход $^{86}Rb^+$ ускорялся под действием NaCl в 5 раз, Cu^{2+} /аскорбат (семь, генерирующая гидроксильные радикалы - $HO^{\bullet}$) в 3 раза, H_2O_2 в 2,5 раза. Близкие значения увеличения скорости выхода изотопа были зарегистрированы в случае растений *gork1-1* с возмещенным GORK. В то же время, скорость стресс-индуцируемого потока $^{86}Rb^+$ была в 2 раза ниже у нокаутов по K^+ -каналу *gork1-1*, а также у *gork1-1*, экспрессирующих GORK с заменой C151S. Эти данные свидетельствуют о том, что GORK напрямую вовлекается в выход K^+ в ответ на обработку NaCl, H_2O_2 и смесями, генерирующими АФК (Cu^{2+} /аскорбат). При этом сенсором выступает Цис-151. Также было протестировано влияние вышеперечисленных стрессоров, введенных в среду выращивания, на скорость роста корней арабидопсиса (опыты с заменой среды). Линии арабидопсиса *gork1-1* и

gork1-1, экспрессирующие GORK-C151S, демонстрировали пониженную чувствительность к протестированным стрессорам. Таким образом, в ходе проведенных опытов было установлено, АФК-чувствительный центр в структуре GORK (Цис-151) имеет ключевое значение в активации K^+ -каналов GORK под действием АФК при солевом и окислительном стрессе. Устранение функционального Цис-151 вызывало значительное снижение чувствительности растений к солевому и окислительному стрессу.

Воздействие наночастиц меди на флуоресценцию хлорофилла клеток хлореллы

Ханило Н.С., Демидчик В.В., Смолич И.И.*

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: smolich@bsu.by

Металл-содержащие наночастицы доминируют на рынке наноматериалов и входят в состав 90–95% всех продуктов, произведенных с использованием нанотехнологий. Они главным образом используются как биоциды, компоненты покрытий и красок, декоративного и медицинского пластика, электроники, солнцезащитных кремов и тканей. Быстрый прогресс в производстве и использовании металл-содержащих наночастиц ставит вопрос об их влиянии на окружающую среду. Водоросли классически считаются наиболее уязвимой частью биоценозов при повышении техногенной нагрузки. Они намного более чувствительны к тяжелым металлам, чем высшие растения, и могут являться биоиндикаторами загрязнения данными токсикантами. В этой связи представляло значительный интерес протестировать воздействие одного из наиболее важных классов наночастиц – наночастиц меди на функционирование фотосинтетического аппарата модельной эукариотической водоросли *Chlorella sp.* (хлорелла), имеющей значение как для естественных сообществ, так и для биотехнологических производств. В работе было исследовано влияние наночастиц меди (American Elements; США) и медного балка (<75 мкм; Sigma; США) в различных концентрациях (0,5–15 мг/л) на флуоресценцию пигментов клеток хлореллы. Культивирование микроводоросли производилось в течение 21 сут при освещении (107 мкмоль фотонов $m^{-2} s^{-1}$, 16 ч свет / 8 ч темнота). Была разработана методика спектрофлуориметрического анализа (Cary Eclipse, Varian, Австралия), позволившая охарактеризовать флуоресценцию клеток *Chlorella sp.* с активированным и деактивированным фотосинтетическим аппаратом. Исследовалось влияние наночастиц и балка меди на показатели F_0 , F_m для длин волн 685 и 740 нм. В обоих случаях наблюдалось снижение показателей фоновой и максимальной флуоресценции. Наибольшее ингибирование было продемонстрировано для концентраций 5 и 15 мг/л; при обработке наночастицами этот эффект был более выраженным, чем при обработке балком. Соотношение 740 нм/685 нм, как показатель эффективности работы фотосинтетической системы, под действием наночастиц и балка меди по отношению к контролю увеличилось незначительно, что свидетельствует о слабовыраженном влиянии изученных агентов на работу электрон-транспортных цепей фотосинтетического аппарата. Таким образом, проведенные опыты продемонстрировали, наличие эффекта влияния наночастиц меди на показатели флуоресценции хлорофилла клеток водоросли хлорелла.

Влияние кадмия и эссенциальных нанометаллов на фенольный метаболизм *Lactuca sativa* L.

Хоменко И.М.*, Косык О.И., Таран Н.Ю.

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко,
Учебно-научный центр «Институт биологии и медицины», Киев, Украина

*Email: i.m.homenko@gmail.com

Вопрос уменьшения уровня загрязнения почв и сельскохозяйственных растений тяжелыми металлами особенно актуален при интенсивном использовании нитратно-фосфорных удобрений, в составе которых присутствует кадмий. Одним из современных методов защиты растений в условиях негативного влияния среды является использование наночастиц жизненно-важных металлов. Поэтому, в нашей научной работе, мы изучали влияние 0,1 мМ Cd^{2+} (в течение недели) и смеси эссенциальных нанометаллов (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} - предпосевная обработка), а также их совместное действие на накопление суммарных фенолов (ФС) и флавоноидов (ФД) в растениях салата посевного (*Lactuca sativa* L.) с разным уровнем антоциановой окраски. Известно, что ФС – интенсивно исследуемые представители вторичных метаболитов растения, которые обладают антиоксидантными свойствами и способны к хелатированию ионов тяжелых металлов. Согласно полученным данным, влияние кадмия достоверно увеличивает накопление ФС у листьев зеленого сорта в отличие от наночастиц металлов и их совместного действия с Cd^{2+} . В то же время отмечено незначительное снижение количества ФД во всех исследуемых вариантах на третьи сутки с дальнейшим их выравниванием к значениям контроля. В корнях зеленого сорта мы также наблюдали накопление ФС в начале экспозиции, особенно у растений, обработанных ионами кадмия. В листьях красного салата мы обнаружили противоположную тенденцию. Во всех вариантах обработки, кроме нанометаллов, нами выявлено снижение уровня ФС. В течение экспозиции достоверное повышение количества ФД зафиксировано только при обработке кадмием, тогда как в корнях всех исследуемых растений наблюдалось увеличение количества как ФС, так и ФД. Результаты наших исследований указывают на повышенную устойчивость красного салата к действию тяжелых металлов, которая обусловлена адаптивными изменениями в метаболизме вторичных соединений фенольной природы.

Разработка системы выявления источников фузариоустойчивости на примере яровой пшеницы

Шашко Ю.К.

РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию», Жодино,
Беларусь. Email: Shashko_Y@tut.by

Болезни, вызываемые грибами рода *Fusarium*, становятся глобальной угрозой растениеводческой отрасли в условиях Республики Беларусь. Высокая потенциальная вредоносность данных возбудителей связана с рядом факторов: 1) отсутствие органотропности, т.е. поражаются все органы растения, от корневой системы до зерна; 2) отсутствие видоспецифичности; 3) изменение климата в сторону потепления; 4) наличие несбалансированных севооборотов с преобладанием злаковых компонентов; 5) низкая эффективность фунгицидов; 6) отсутствие больших генов устойчивости к данным возбудителям. Прямые потери урожая, вызванные фузариями связаны с гибелью растений, повреждением корневой и

проводящей системы и, в результате, снижением массы 1000 зерен. Косвенные потери связаны с выделением грибами трихтеценовых микотоксинов, которые делают пораженное зерно непригодным ни в пищу человеку, ни на корм скоту. Эти микотоксины термостабильны и не разрушаются при термической обработке. Наиболее экономически и экологически обоснованным методом борьбы с болезнями растений является создание устойчивых сортов. В ходе маршрутных обследований по территории республики нами собран инфекционный материал, из которого выделено 13 видов фузариев. Изучено распространение и вредоносность отдельных видов. На основании этих данных разработаны лабораторные и полевые методы оценки генотипов злаковых культур на устойчивость к фузариозам. Созданы искусственные инфекционные фоны для оценки и отбора устойчивых генотипов исходного и селекционного материала. В течение трех лет на инфекционном фоне оценивалась коллекция яровой пшеницы различного географического происхождения. Построена количественная модель влияния фузариоза колоса на основные признаки, определяющие урожайность культуры и выделены источники повышенной болезнеустойчивости. В результате разработана система выявления и отбора источников фузариестойчивости. Использование данной системы позволяет ежегодно оценивать до 500 генотипов яровой пшеницы и сокращает селекционный процесс по созданию новых сортов, сочетающих устойчивость с высокой урожайностью и другими селекционно-полезными признаками.

Анализ содержания фотосинтетических пигментов в проростках озимой пшеницы при разном уровне засоления и фюзиллада

Яковец О.Г.*, Адамович Т.П.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: yakovets@inbox.ru

В настоящее время все больший научный и практический интерес вызывают проблемы адаптации растений к комплексному действию повреждающих абиотических факторов природного и антропогенного происхождения, например, таких, как избыточное засоление, которому подвержено значительные территории земного шара, и гербициды, за счет использования которых, с одной стороны, достигнуто существенное увеличение урожайности сельскохозяйственных культур и, с другой стороны, – загрязнение окружающей среды. Получение и использование толерантных к действию стрессовых факторов культур невозможно без понимания физиологических основ их устойчивости. В этом плане особое место занимает исследование действия стрессоров на фотосинтетический аппарат растений, в частности, на содержание фотосинтетических пигментов (ФСП). В связи с этим нами было исследовано однокомпонентное и сочетанное действие NaCl разной концентрации и гербицидного препарата фюзиллада на содержание фотосинтетических пигментов (ФСП) в 10 дневных проростках озимой пшеницы сорта Ода, выращенных рулонным методом. Было проведено 3 серии экспериментов. В первой серии экспериментов рулоны помещали в стеклянные сосуды, содержащие растворы следующего состава: 0,1мМ CaSO₄ (контроль (К)); 0,1мМ CaSO₄, 1мМ NaCl (1); 0,1мМ CaSO₄, 5мМ NaCl (2); 0,1мМ CaSO₄, 50мМ NaCl (3); 0,1мМ CaSO₄, 150мМ NaCl (4); 0,1мМ CaSO₄, 300мМ NaCl (5). Во второй серии экспериментов рулоны первоначально помещали в стеклянные сосуды, содержащие дистиллированную воду. На 7-е, 8-е, 9-е сутки дистиллированная вода заменялась на растворы К и 5. В третьей серии экспериментов рулоны помещали в стеклянные

сосуды, содержащие растворы (К); (1); (2); (3); (4); (5). На 7-е сутки рулоны с проростками помещали в аналогичные растворы с добавлением 10^{-6} и 10^{-5} М раствора фюзилата (по д.в.). С увеличением концентрации NaCl в среде выращивания от 1 до 150 мМ зафиксирован рост содержания ФСП. При этом наблюдается увеличение отношения хл а к хл в; уменьшение отношения суммы хлорофиллов к каротиноидам; увеличение суммы вспомогательных пигментов. Все это свидетельствует о защитной роли последних при действии засоления. С увеличением времени экспозиции проростков в растворе высокой концентрации NaCl характер влияния засоления на содержание ФСП изменяется: первоначально отмечается рост количества ФСП, в последствии – снижение. Следует отметить, что обработанные в более позднем возрасте проростки озимой пшеницы сохраняли жизнеспособность в присутствии 300 мМ NaCl. Это доказывает, что чувствительность растительного организма к засолению определяется стадией его развития. После 3сут-воздействия фюзилата содержание ФСП в проростках, выращенных в контрольном растворе, возросло; в выращенных на фоне 1мМ NaCl – практически не изменялось; в выращенных на фоне 5мМ NaCl – уменьшалось (эффект с ростом концентрации гербицида усиливался); на фоне 50 и 150 мМ NaCl гербицид в концентрациях 10^{-5} и 10^{-6} М вызывал противоположные эффекты на содержание ФСП.

Оценка солеустойчивости различных сортов озимой и яровой пшеницы методом водных культур

Яковец О.Г. *, Свядковская В.С.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: yakovets@inbox.ru

Площади территорий, подверженных засолению, постоянно возрастают. Это происходит не только в связи с природной аридизацией почвы, но и за счет техногенного давления человека на окружающую среду. Использование засоленных территорий для возделывания культурных растений, прежде всего, злаковых культур, – важная сельскохозяйственная и биологическая проблема. Ее решение предполагает поиск устойчивых к засолению сортов пшеницы. В связи с этим нами ранее на основе определения энергии прорастания, всхожести семян, сырой и сухой массы была проведена оценка солеустойчивости шести сортов мягкой пшеницы: Сударыня Р1, Дарья Р1, Любава Р2, которые являются яровыми и Элегия, Мроя Р2, Ода, которые являются озимыми. Для проведения дальнейших исследований были отобраны солеустойчивые сорта Элегия и Дарья Р1, солечувствительные – Мроя Р2 и Любава Р2. Для подтверждения полученных результатов проростки выбранных сортов выращивались рулонным методом в стеклянных сосудах, содержащих растворы следующего состава: 0,1мМ CaSO_4 (контроль); 0,1мМ CaSO_4 , 200мМ NaCl. На 14 сутки определялись длина корней и побегов. На основании полученных данных можно сделать вывод, что проведенная ранее оценка солеустойчивости сортов пшеницы по ростовым тестам подтвердилась и методом водных культур.

Использование сравнительной геномики для разработки методов маркер-сопутствующей селекции овощных культур семейства *Solanaceae*

Бабак О.Г.,^{А*} Некрашевич Н.А.,^А Никитинская Т.В.,^А Яцевич К.К.,^А

Пугачева И.Г.,^Б Добродькин М.М.,^Б Кильчевский А.В.^А

^АИнститут генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

*Email: babak_olga@mail.ru

^ББелорусская государственная сельскохозяйственная академия, Горки, Беларусь

Сравнительный анализ генетических последовательностей является начальным и основным этапом разработки SCAR-маркеров для идентификации выявленного полиморфизма и скрининга растительного материала на наличие желаемых аллелей. Объектом наших исследований являются овощные культуры семейства *Solanaceae*, основу биологически активных веществ составляют каротиноиды и флавоноиды, которые, наряду с низкой калорийностью, обеспечивают их использование в качестве продуктов для функционального питания, способствующих профилактике онкологических заболеваний, а также снижению риска сердечно-сосудистых заболеваний, атеросклероза, повышению иммунитета, синтезу зрительных пигментов, активации процессов обмена веществ у человека при их употреблении. Наряду с биохимическими показателями плодов, важными являются и технологические, позволяющие сохранить высокое качество продукции длительный период путем увеличения периода созревания. В связи с этим, целью наших исследований является разработка методов молекулярного маркирования на основе выявленного полиморфизма генов, определяющих и регулирующих накопление каротиноидов и флавоноидов, для создания форм томата и перца с высокими биохимическими и технологическими качествами. На основе анализа секвенированных последовательностей генов у форм с различным проявлением признаков накопления пигментов разработаны генетические маркеры для ДНК-типирования выявленных полиморфизмов. Созданы генотипы с различным сочетанием структурных генов томата - каротиноидной изомеразы (CRTISO), хромопласт-специфической липолин-β-циклазы (CYC-B) и перца - капсантин-капспорубин синтазы (CCS), а также регуляторных генов томата и перца длительного срока созревания: *non-ripening*, *ripening-inhibitor*, увеличения числа и размеров пластид: *high pigment -1*, *high pigment -2 dark green*, нарушающих процесс разрушения хлорофилла: *green flesh*, *chlorophyll retainer*, регуляторных генов, определяющих накопление антоцианов: серия аллелей Myb-like факторов. Изучены особенности накопления каротиноидов и флавоноидов в зависимости от сочетания изучаемых аллелей качества плодов, созданы высокопродуктивные сорта и гибриды с высоким накоплением ценных биологически активных веществ.

Получение антител к вирусам растений с помощью генно-инженерных конструкций

Борзов Н.И.*, Сурат Е.В.

НИИ физико-химической биологии им. А. Н. Белозёрского МГУ, Москва, Российская Федерация. *Email: Borzovnikita@bk.ru

Одной из важнейших проблем современной вирусологии растений является идентификация вируса в растении. Зачастую инфекция протекает бессимптомно, и выявить вирус не удаётся длительное время. В некоторых случаях, как например, при заражении виридом веретеновидности клубней картофеля, симптомы можно

обнаружить только на отдельных частях растения (в данном случае – на клубнях, но не на зелёной массе), что усложняет диагностику. Существует несколько методов для диагностики вирусных заболеваний растений. В основном они основаны на иммунохимических реакциях. К таковым относятся иммуноферментный анализ (ИФА), иммуно-блоттинг, иммуно-дотинг. Но главной проблемой является получение специфичных антител с высоким титром к исследуемому вирусу, способных обнаруживать его на ранних стадиях инфекции, когда его концентрация мала. Мы работали с двумя вирусами: BOM (вирус огуречной мозаики) и YBK (Y вирус картофеля). Использовали штаммы BOM - isolate PV-018 и YBK - Y0 DSMZ PV-0324. BOM является одним из вирусов обширного семейства *Bromoviridae*, которое включает в себя большое количество морфологически схожих вирусов с очень широким перекрывающимся спектром хозяев. Отсюда ясно, что выделение вируса из растения обычным методом заражения и накопления имеет высокий риск загрязнения другими схожими видами. YBK принадлежит к не столь многочисленному семейству *Potyviridae*, однако получение специфических антител к нему является не менее важной задачей из-за того, что YBK плохо накапливается в растении, и получение чистого препарата в количествах, необходимых для иммунизации, затруднено. Вирусы были выделены с помощью ультрацентрифугирования. Вирусный препарат был охарактеризован различными физико-химическими методами. Гены БО (белок оболочки) были амплифицированы с помощью RT-PCR (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction) для создания с помощью вектора на основе тобамовируса препарата химерных вирусных частиц. Целью данной работы является получение препарата химерных вирусных частиц с помощью тобамовирусного вектора, которые экспонировали бы антигенные детерминанты, идентичные природным BOM и YBK, имея который, можно будет получить специфические антитела к данным вирусам.

Экспрессия хитиназоподобных генов в стеблях разных подвидов льна.

Галиновский Д.В.^{А, В*}, Подвицкий Т.А.^С, Хотылева Л.В.^А, Кильчевский А.В.^А

^АИнститут генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

*Email: galinousky@gmail.com

^ВБелорусский государственный университет, Минск, Беларусь

^СКельнский университет, Кельн, Германия

Группа хитиназоподобных генов привлекает к себе внимание в связи с возможным участием в биогенезе клеточной стенки. В геноме льна культурного идентифицировано 37 последовательностей генов, которые имеют в своем составе Pfam 00182 домен и могут быть отнесены к хитиназоподобным генам. В данной работе оценили экспрессию хитиназоподобных генов в трех подвидах льна культурного – в льне-долгунце, льне межеумке и льне прыгунце. Методом количественной ПЦР проанализированы лен-долгунец и лен прыгунец, а для льна межеумка проанализированы данные РНК секвенирования. При выравнивании и последующем бионформатическом анализе сырых данных РНК-секвенирования проекта PRJNA251268 были получены транскриптомы флоэмы и ксилемы трех фрагментов (верхушка, средняя часть и основание) стебля льна межеумка (сорт Bethune). По результатам анализа представленности транскриптов *Ctl*-генов в собранных транскриптомах установили, что большинство *Ctl*-генов не экспрессируется или экспрессируется на очень низком уровне как во флоэме, так и в

ксилеме. При этом несколько генов имеют достаточно высокий уровень экспрессии – *Ctl1*, *Ctl2*, *Ctl4*, *Ctl5*, *Ctl10*, *Ctl15* и *Ctl21*, среди которых особо выделяются гены *Ctl1*, *Ctl2*, *Ctl4*, *Ctl5*. В зрелых волокнах флоэмы отмечена экспрессия генов *Ctl10* и *Ctl21*, которую не детектировали в ксилеме. Методом количественной ПЦР с обратной транскрипцией оценили экспрессию шести *Ctl*-генов (*Ctl1*, *Ctl11*, *Ctl19*, *Ctl21*, *Ctl23* и *Ctl24*) в стебле еще двух подвидов льна – льна-долгунца (сорт Блакiт) и льна-прыгунца. Среди данных хитиназоподобных генов в стеблях трех изученных подвидов по уровню представленности транскриптов преобладает ген *Ctl1*. Кроме того, установлено, что гены *Ctl19* и *Ctl21* по-разному функционируют в стеблях трех подвидов льна. В стеблях льна-долгунца функционируют оба гена из двух указанных, в стеблях льна межулка – *Ctl21*, а в стеблях льна-прыгунца и *Ctl19*, и *Ctl21* имеют очень низкий уровень экспрессии. Мы полагаем, что гены *Ctl19* и *Ctl21* могут рассматриваться как потенциальные кандидаты, влияющие на качество формируемого льноволокна. Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ (договор Б16К-098)

Экспериментальное преобразование геномов хлебных злаков для повышения продуктивности растений

Гордей И.А.*, Люсиков О.М., Гордей И.С., Шимко В.Е.

ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси», Минск, Беларусь

*Email: I.Gordej@igc.by

Экспериментальное преобразование геномов растений на основе инбридинга, полиплоидии и межвидовых интрогрессий является важнейшей проблемой современной генетики и позволяет решать важные задачи практической селекции – перенос блоков скоординированно работающих на признак генов для предотвращения «генетической эрозии» и повышения продуктивности растений. В работе использовали коммерческие сорта и гибриды диплоидной ржи и созданные на их основе путем скрещиваний с источником генов самофертильности (sf) самофертильные линии, маркированные по S(1R)-, Z(2R)- и T(1R)-локусам совместимости с помощью молекулярных SSR- и STS-маркеров. Путем парных скрещиваний выявляли закрепители стерильности ($N_{/}^{rf}$) и восстановители фертильности ($N_{/}^{Rf}$). С использованием МС-линий на основе ЦМС Р- и G-типов, закрепителей стерильности и восстановителей фертильности создавали компоненты генетической системы ЦМС для селекции гибридных сортов. Новые формы тетраплоидной ржи получали на данном материале высокоэффективным методом зиготической (первое деление зиготы) полиплоидизации закисью азота (N_2O) под давлением (выход тетраплоидов до 85,7%, в среднем 43,5%). Проводили цитологическую идентификацию созданных тетраплоидов, молекулярно-генетическое маркирование хозяйственно-ценных генов, оценку по комплексу признаков и включали в селекционный процесс. По результатам исследований совместно с НИПЦ НАН Беларуси по земледелию создан и районирован в Беларуси первый отечественный линейно-популяционный гибридный сорт озимой ржи Плиса F₁, проходит ГСИ сорт озимой тетраплоидной ржи Камея 16, получен оригинальный генофонд перспективных образцов). Сорта и линии тетраплоидной ржи использовали в качестве исходного материала в скрещиваниях с гексаплоидными тритикале с целью синтеза нового типа ржано-пшеничных амфидиплоидов с цитоплазмой ржи (секалотритикум, $S_{/}^{RRAABB}$, $2n = 6x = 42$). Тритикале

использовали в качестве вида-посредника (bridge species) – источника геномов пшеницы и ингибитора S-PHK-аз несовместимости ржи, что позволяет преодолеть одностороннюю прогамную несовместимость ржи с пшеницей. Основу рекомбинационного потенциала секалотритикум рассматривали как максимальное сохранение генотипической специфичности гибридов F₁ и гетерогенности геномов ржи различного происхождения при однократном беккроссе. Эффект «нормализации мейоза» обуславливает у ржано-тритикальных пентаплоидных гибридов F₁ (^SRRABR, 5x = 35) формирование в условиях ржаного типа цитоплазмы полнофункциональных гамет с различным хромосомным составом за счет наличия базового RR-генома. Формирование, в том числе, частично нередуцированных RAB-гамет (3x = 21), позволяет выделять стабильные линии секалотритикум уже в F₁BC₁-поколении (^SRABR{RAB}, 5x - 7x = 35 - 49). Исследовали цитогенетические особенности мейоза у секалотритикум, определяемые типом цитоплазмы и цитогенетическими факторами, наследуемыми от генотипов ржано-тритикальных гибридов F₁. Цитологическая стабилизация первичных секалотритикум происходит к 5-7 генерации, их рекомбинационная селекция наиболее эффективна на базе ржаного типа цитоплазмы.

Исследование генетического полиморфизма сортов *Avena sativa* L. и образцов *Avena sterilis* L. и их гибридных форм с использованием SSR-маркеров

Дробот Н. И.*, Шинкаренко В.С.

ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси», Республика Беларусь, 220027, г. Минск, ул. Академическая, 27. *E-mail: n.drobot@igc.by

Овес посевной (*Avena sativa* L.) является одной из важнейших зерновых и фуражных культур в мире. Основным направлением современной селекции овса является создание высокопродуктивных устойчивых к болезням сортов. Богатым источником такой устойчивости являются дикорастущие сородичи овса. В наших исследованиях в качестве донора устойчивости к листовым болезням использован гексаплоидный вид *Avena sterilis* L. Цель: Оценить уровень генетического полиморфизма сортов *Avena sativa* и образцов *Avena sterilis*, а также полученных на их основе отдаленных гибридов. Методы исследования: Материалом для исследования послужили 15 сортов *Avena sativa* белорусской и иностранной селекции, 12 образцов *Avena sterilis* и 4 гибридные формы. Выделение ДНК осуществляли с помощью набора «Plant DNA Preparation Kit» (Jena Bioscience). Определение генетического полиморфизма рабочей коллекции осуществляли при помощи стандартного фрагментного анализа (ABI 3500) с использованием SSR-маркеров: AM1, AM3, AM4, AM5, AM7, AM15, AM22, AM83. Результаты: В ходе генотипирования коллекции было выявлено 54 аллеля в 8 SSR-локусах, количество аллелей ранжировалось от 2 до 10. В ходе проведенного исследования наиболее высокий уровень полиморфизма был отмечен для маркеров AM7, AM22, AM1 и AM3 (PIC равен 0,87; 0,82; 0,88 и 0,89 соответственно), что позволяет рекомендовать данные SSR-маркеры для включения в селекционный процесс, а также для дифференциации генетически близких генотипов овса. В то же время маркеры AM5, AM15, AM83 характеризовались низким уровнем полиморфизма (PIC составил 0,2; 0,57 и 0,58) и минимальным количеством аллелей, что делает их использование малоинформативным.

Хромосомная инженерия в селекции зерновых злаковых культур

Дубовец Н.И.*, Сычева Е.А.

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

*Email: N.I.Dubovets@igc.by

Интенсивная селекция на повышение продуктивности зерновых культур с применением современных научно обоснованных подходов привела к замене сортов, основанных на комбинировании множества различных генотипов, генетически однородными сортами. Как следствие этого, значительный резерв генетической изменчивости был утерян, и возможности дальнейшего улучшения урожайности и качества традиционными методами оказались в значительной степени лимитированными. Кроме того, генетическая эрозия спровоцировала резкое снижение устойчивости сортов к воздействиям биотических и абиотических стрессовых факторов. Выход из ситуации видится в восстановлении и обогащении утерянного генофонда, причем большие надежды в этом плане возлагаются на хромосомную инженерию. На настоящий момент наибольшее применение хромосомные технологии нашли в генетико-селекционных программах по зерновым культурам. В сообщении представлены результаты экспериментов по реконструкции кариотипа гексаплоидных тритикале и мягкой пшеницы. В качестве источника для улучшения тритикале использован генный пул D-генома *Triticum aestivum* L., тогда как в программе по пшенице нашла применение гибридизация с рожью *Secale cereale* L. Изложены закономерности стабилизации геномов с интрогрессиями чужеродного хроматина, а также данные о влиянии D(A)- и D(B)-замещений хромосом у тритикале и R(A)-, R(B)- и R(D)-замещений хромосом у мягкой пшеницы на формирование ряда важных с селекционной точки зрения признаков. Обсуждаются возможности и перспективы использования хромосомно-инженерных методов в селекции тритикале и пшеницы на повышение устойчивости и качества зерна.

Физиолого-биохимическая характеристика межродовых гибридов житняка (*Agropyron cristatum*) с райграсом пастбищным (*Lolium perenne*) с использованием геномной и клеточной биотехнологии

**Кондрацкая И.П.^{1*}, Юхимук А.Н.¹, Чижик О.В.¹, Столепченко В.А.²,
Беляй М.О.², Васько П.П.², Решетников В.Н.¹**

¹ ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси», Минск, Беларусь

*Email: ikondratskaya@mail.ru

² РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию», Жодино, Беларусь

В результате комплексной оценки созданных форм межродовых гибридов житняка (*Agropyron cristatum*) с райграсом пастбищным (*Lolium perenne*) отобраны морфотипы с высокой продуктивностью, что позволило сформировать сортопопуляции житняка с содержанием сухого вещества свыше 0,8 кг/м² за вегетацию (сортообразцы № 8, 10 и 13). Проведение учетов нарастания надземной массы растениями житняка в течение вегетации показало, что сортообразцом №8 накоплено 353 ц/га зеленой массы, №10 – 355,2 ц/га и №13 – 340,3 ц/га. В течение всей вегетации происходит образование генеративных побегов с максимальным количеством в первом укосе (380-420 шт./м²) и снижение этого показателя в последующих укосах. Показатель облиственности в одновидовых посевах житняка

увеличивался у всех изучаемых сортообразцов от начала к концу вегетации. Количественный анализ общих белков показал наибольшее содержание белка (мкг/мл) в сортообразце №13 во всех укосах. Для проведения молекулярно-генетической паспортизации исследуемых таксонов были отобраны праймеры, обладающие достаточным полиморфизмом и имеющие воспроизводимую амплификационную активность. 4 RAPD-праймера и 7 ISSR-праймеров. Для сортообразцов рода житняк было идентифицировано 157 локусов (ДНК-маркеров) - 52 для RAPD-ПЦР и 105 для ISSR-ПЦР, соответственно. Для каждого праймера был рассчитан показатель Rp, отражающий разрешающую способность праймера. Обе ПЦР техники позволили выявить достаточный уровень полиморфизма у исследуемых сортообразцов рода житняк (*Agropyron cristatum*) - в среднем 66,24%. Максимальный полиморфизм выявлен при использовании праймеров UBC-807 и UBC-808 (80,00%), минимальный - 42,86% при использовании праймера UBC-836. На основании полученных мультилокусных RAPD/ISSR-спектров для исследованных образцов составлены генетические паспорта. На основе интрогрессивной гибридизации, дупликации генома и с использованием геномной и клеточной биотехнологий создан качественно новый исходный материал житняка, обладающий высокой зимостойкостью, засухоустойчивостью, долголетием, интенсивным формированием наземной массы в начале вегетации по сравнению с райграсом пастбищным. Включение новой культуры в селекционный процесс позволит создать сорта житняка, обеспечивающие формирование продуктивных раннеспелых травостоев в условиях Республики Беларусь. Новый вид многолетних злаковых трав впервые будет внедрен в сельскохозяйственное производство республики.

Молекулярно-генетическая диагностика микобиоты фитофагов многолетних цветочных растений

**Пантелеев С.В.^{А*}, Константинов А.В.^А, Головченко Л.А.^Б, Тимофеева В.А.^Б,
Дишук Н.Г.^Б, Падутов В.Е.^А**

^АИнститут леса НАН Беларуси, Гомель, Беларусь. *Email: pukidesu@gmail.com

^БЦентральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Целью работы являлась молекулярно-генетическая диагностика видового состава микобиоты фитофагов многолетних цветочных растений. Объектами исследований явились вредители многолетних цветочных растений и их грибная микрофлора. Экспериментальный растительный материал для анализа был собран на урбанизированных территориях, питомниках ГНУ «ЦБС НАН Беларуси», а также приобретен в цветочной торговой сети г. Гомеля. В общей сложности было проанализировано более 50 образцов вредителей и около 100 образцов растений. Выделение тотальной ДНК из смывов с внешних покровов фитофагов (70% этанол, СТАВ) и их пищеварительной системы проводилось с использованием модифицированного СТАВ-метода. Для видовой идентификации выявленных фитофагов применялись праймеры LCO-1490/HCO-2198 (Folmer et al., 1994) (фрагмент гена COI мтДНК) и LR-J-13017/LR-N-13398 (Simon et al., 1995) (фрагмент гена 16S рРНК мтДНК). Диагностика грибной микрофлоры фитофагов проводилась с использованием праймеров ITS1F (Gardes & Bruns, 1993) и ITS4 (White et al., 1990). Секвенирование полученных ампликонов осуществлялось на базе генетического анализатора ABI Prism 310 (ThermoFisher, США). Видовая идентификация

проводилась в базе данных международного банка генов NCBI (США). Среди вредителей многолетних цветочных растений доминировали представители отряда Thysanoptera (Трипсы): *Heliothrips femoralis*, *Frankliniella occidentalis*, *Parthenothrips dracaenae* и *Thrips tabaci*. В меньшей степени встречались клещи *Tetranychus urticae* и *Rhizoglyphus robini*, белокрылки *Trialeurodes vaporariorum*, шведские мухи *Oscinella* sp. (вид отсутствует в базе данных NCBI), гусеницы совки *Heliothis* sp. и личинки шелкопряда *Agrotis lineatus*. У ряда трипсов на внешних покровах выявлена фитопатогенная микрофлора: виды родов *Phoma* и *Cladosporium*. В пищеварительной системе исследованных фитофагов идентифицированы фитопатогенные и потенциально патогенные микромицеты: *H. femoralis* – *Cladosporium* sp., *Talaromyces amestolkiae*; *T. urticae* – *Cladosporium* spp., *Alternaria alternata*; *R. robini* – *Penicillium* sp., *Didymella glomerata*, *P. herbarum*; *Heliothis* sp. – *A. alternata*; *Oscinella* sp. – *A. infectoria*; *A. lineatus* – *Fusarium oxysporum*. В ряде случаев аналогичный возбудитель был выявлен и в тканях пораженных вредителями растений. У исследованных особей фитофагов также выявлен генетический материал дереворазрушающих грибов родов *Gloeophyllum* и *Lentinus*, эктомикоризных грибов *Russulaceae* sp., *Clitopilus* spp., дрожжеподобных и дрожжевых симбионтов насекомых *Meyerozyma guilliermondii* и *Metschnikowia* sp.

Использование молекулярно-генетических маркеров для оценки гибридных форм люпина узколистного по устойчивости к растрескиваемости бобов и антракнозу

Романчук И.Ю., Анохина В.С.*, Саук И.Б., Карпиевич В.А.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: anokhina@tut.by

Продуктивность растений связана не только с количеством образовавшихся на растении семян и их качеством (выполненность, содержание питательных и антипитательных веществ, пораженность патогенами), но и часто с потерей семян до их уборки в связи с растрескиваемостью бобов, что актуально для люпина узколистного, особенно в условиях засушливого лета. Признак «нерастрескиваемость бобов» контролируется мутантными рецессивными генами *tardus* и *lentus*. В рамках австралийской программы селекции к ним разработаны кодоминантный праймер *TaLi* и доминантные *LeM1* и *LeM2*, использованные нами при оценке 8 межсортовых гибридов F3 и F6 люпина узколистного селекции БГУ – источников высокой продуктивности в полевых условиях, включенных в коллекцию зернобобовых культур БГУ. В поколении F3 межсортовых гибридов domestизируемый аллель гена *tardus* отмечен в геномах растений гибридных комбинаций МирД14 х Elvas и Elvas х Брянский 1121. В геномах гибридных растений от скрещивания Elvas х Эдельвейс получен результат, характерный для гетерозиготы. Генотипы растений F6 прямых и обратных гибридов от скрещивания сортов БСХА 892 и Гелена характеризовались наличием аллеля дикого типа. Бэнд гена *lentus* (праймер *LeM2*) отмечен у всех выделенных образцов. Аллели с праймером *LeM1* отмечены в геномах гибридов Гелена и БСХА 892, МирД14 х Elvas, Elvas х Брянский 1121, Elvas х Эдельвейс и Tanjil х Эдельвейс. Наличие амплификонов по 2 праймерам к гену *lentus* и по праймеру к гену *tardus* позволяет считать формы МирД14 х Elvas, Elvas х Брянский 1121 перспективными для селекции на нерастрескиваемость бобов. Существенной причиной снижения

урожайности люпина является и поражение антракнозом. Выделенные высокопродуктивные формы были оценены с использованием праймеров *AnSeq3* и *AnSeq4* к гену устойчивости к антракнозу *LanR1*. У изученных образцов отмечено наличие по 1 устойчивому и по 1 восприимчивому аллелю и лишь у генома гибрида БСХА 892 х Гелена выявлены оба аллеля резистентности при отсутствии, однако, доместизируемого аллеля гена *tardus*, детерминирующего нерастрескиваемость доместизируемых аллелей указанных генов хозяйственно ценных признаков в генотипах гибридов F6 от прямых и обратных скрещиваний сортов Гелена и БСХА 892 и гибридов F3 вариантов скрещивания МирД14 х Elvas, Elvas х Брянский 1121 и Tanjil х Эдельвейс является основой для их рекомендации в селекции люпина узколистного в условиях РБ как источников устойчивости к антракнозу и к растрескиванию бобов. Совмещение высокой продуктивности растений в полевых условиях с наличием максимального количества.

Особенности иммобилизованных в Са-альгинатный гель клеток суспензионной культуры *Althaea officinalis* L.**Бычкова Н.Ю., Дитченко Т.И.***

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: ditchenko@bsu.by

В качестве объектов биотехнологий для получения фармакологически активных соединений выступают иммобилизованные растительные клетки. Цель настоящей работы заключалась в определении отдельных физиолого-биохимических показателей включенных в Са-альгинатный гель клеток суспензионной культуры *Althaea officinalis* L. при культивировании в накопительном режиме. Суспензионную культуру (контроль) и иммобилизованные клетки культивировали в течение 30 суток на питательной среде Мурасиге и Скуга с добавлением 3% сахарозы и фитогормонов с помощью термостатируемого орбитального шейкера-инкубатора MaxQ 6000 ThermoScientific. Анализировали динамику изменения их дегидрогеназной активности по восстановлению 2,3,5-трифенилтетразолий хлорида (ТТХ) до формазана, потребления сахарозы, внутриклеточного накопления фенольных соединений (ФС) и их экскреции в среду инкубации. Установлено, что иммобилизованные клетки характеризовались более высокой способностью восстанавливать ТТХ. При увеличении продолжительности культивирования до 30 суток дегидрогеназная активность клеток в контроле существенно снижалась, в то время как у иммобилизованных поддерживалась на достаточно высоком уровне. Обнаруженный эффект, вероятно, обусловлен повышением механической устойчивости клеток, включенных в Са-альгинатный гель, а также возрастанием количества межклеточных контактов, которые способствуют лучшему обмену кофакторами и др. Свободные и иммобилизованные клетки не отличались по уровню метаболизированных сахаров, начиная с 20-х суток культивирования. При этом наблюдалось практически полное потребление сахарозы в качестве источника углерода и энергии. Иммобилизованные клетки характеризовались вдвое более высокими уровнями внутриклеточного содержания ФС по сравнению со свободными. Концентрация ФС в среде инкубации иммобилизованных в Са-альгинатный гель клеток *Althaea officinalis* L. на 10-20-е сутки была также в 2,2-2,3 раза выше относительно среды неиммобилизованных клеток. На 30-е сутки отмечалась обратная картина: содержание ФС в среде инкубации свободных клеток превышало их уровень в среде культивирования иммобилизованных клеток, что наряду с отмеченным выше снижением жизнеспособности указывает на переход культуры в стадию старения и деградаци, сопровождающийся высвобождением ФС. Таким образом, иммобилизация клеток суспензионной культуры *Althaea officinalis* L. в гранулы Са-альгинатного геля является мягким способом, который не приводит к снижению их жизнеспособности, биосинтетической активности и обеспечивает более длительное эффективное функционирование при культивировании в накопительном режиме по сравнению с неиммобилизованными клетками.

Разработка биотехнологии “*in vitro–ex vitro–in situ*” для сохранения генофонда исчезающего вида *Gentiana lutea* L.**Грицак Л.Р., Грицак В.Ю.*, Дробык Н.М.**

Тернопольский национальный педагогический университет имени Владимира Гнатюка, Тернополь, Украина. *Email: hrytsak1972@gmail.com

Новые технологии реинтродукции видов растений предусматривают использование не только традиционных, но и биотехнологических методов для получения посадочного материала. Известно, что в культуре *in vitro* растения пребывают в своеобразных условиях, вызывающих изменения их структурно-функционального состояния (Медведева, 2008). Именно с этим связана сложность адаптации растений *in vitro* к условиям *ex vitro* и *in situ*. Поэтому необходимо разработать многоступенчатую технологию культивирования растений *in vitro*, позволяющую целенаправленно влиять на их адаптационный потенциал к условиям *ex vitro* и *in situ*. Разработанная нами биотехнология «*in vitro–ex vitro–in situ*» для сохранения генофонда исчезающего вида *Gentiana lutea* L. включает несколько последовательных этапов. Первый этап предусматривает оптимизацию светового режима культивирования *in vitro*, а именно: соотношение волн синего (Эс), зеленого (Эз) и красного (Эк) диапазонов в спектральном составе света как 29,5 % : 32,5 % : 38,0 %, соответственно, интенсивность излучения в области фотосинтетической активной радиации (ФАР) – 135 Вт/м². Это позволило увеличить эффективную площадь листьев, содержание фотосинтетических пигментов, прирост биомассы растений, а также толщину листовой пластинки, площадь эпидермоцитов по сравнению с растениями контрольной группы, которые культивировали при интенсивности ФАР 44 Вт/м² и соотношении диапазонов Эс : Эз : Эк = 37,5 % : 42,5 % : 20,0 %. На втором этапе целесообразно в жидкой питательной среде МС/2 (среда МС (Murashige and Skoog, 1962) с уменьшенным вдвое содержанием макро- та микросолей) заменить сахарозу (10 г/л) на манит (3 г/л). Это способствовало утолщению в 1,6 раза листовой пластинки и внешней стенки эпидермы, уменьшению как количества устьиц на мм² и размера их щели, так и интенсивности транспирации в 2,5 раза. На третьем этапе растения культивировали в условиях *ex vitro* на среде без манита, макро- и микроэлементный состав которой соответствует усредненному химическому составу почвы с природных мест роста вида. На четвертом этапе растения высаживали в горшки с почвой. Предложенная нами биотехнология способствовала улучшению адаптации растений *G. lutea* к условиям *in situ*.

Оптимизация условий культивирования каллусной культуры *Echinacea purpurea* (L.) Moench корневого происхождения**Дитченко Т.И.*, Юрин В.М.**

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: ditchenko@bsu.by

Различное происхождение экспланта является одной из причин гетерогенности получаемой каллусной ткани, причем некоторые функциональные особенности могут сохраняться при длительном субкультивировании. В предыдущих исследованиях нами показано, что для каллусной культуры *Echinacea purpurea* (L.) Moench листового происхождения оптимизация питательной среды (содержание макроэлементов, источника углерода, фитогормонов, добавление элиситоров) позволяет существенно повысить уровни накопления таких фенолпропаноидов как

гидроксикоричные кислоты (ГКК) и их производные. В связи с этим представляло интерес исследование особенностей регуляции продукции вторичных метаболитов фенольной природы каллусной культурой *Echinacea purpurea* корневого происхождения путем варьирования состава питательной среды. Для ее инициации были использованы асептически выращенные 20-ти дневные проростки, из которых изолировали отрезки корней длиной 1-1,5 см в качестве источника эксплантов. С целью оптимизации наработки биомассы полученной каллусной культуры было протестировано 10 комбинаций синтетических ауксинов (2,4-Д, НУК) и цитокининов (кинетин, БАП) в составе среды Мурасиге и Скуга (МС), включающей 3 % сахарозы. Установлено, что для стимуляции ростовых процессов наиболее целесообразно использование равных 0,5 мг/л концентрации 2,4-Д и кинетина, либо НУК и БАП на фоне 2 мг/л ИУК. Каллусы, культивируемые на указанных вариантах питательных сред, также характеризовались наиболее высоким содержанием ГКК. Наиболее существенное возрастание биосинтетического потенциала каллусной культуры корневого происхождения было достигнуто за счет модификации минеральной основы питательной среды МС, которое заключалось в снижении вдвое концентрации нитрата и фосфата, полном исключении аммония. В этих условиях содержание ГКК в каллусах *Echinacea purpurea* корневого происхождения возрастало в среднем в 1,8-2 раза. Использование повышенной до 4 % концентрации сахарозы не приводило к стимуляции образования фенилпропаноидов в исследуемой каллусной культуре. Обнаружена способность гербицида динитроанилинового ряда оризалина в концентрациях 10^{-5} – $5 \cdot 10^{-5}$ моль/л на фоне НУК и БАП индуцировать повышение уровней накопления ГКК. Однако более чем двукратное подавление прироста биомассы в этих условиях не позволяет рекомендовать использование данного элиситора для повышения продукции фенилпропаноидов каллусной культурой *Echinacea purpurea* корневого происхождения.

Антиоксидантная система *Silybum marianum* L. в процессе культивирования Ковзунова О.В.

Государственное научное учреждение «Центральный ботанический сад НАН Беларуси», Минск, Беларусь. Email: olga-kopa@mail.ru

In vitro культуры клеток и тканей можно использовать как «фабрики» по производству биологически активных веществ. Однако широкое их использование часто лимитировано рядом факторов, один из которых – недостаток знаний о физиологии и биохимии клеточных культур растений. Цель наших исследований состояла в установлении характера изменений в антиоксидантной системе корневого и семядольно-листового каллусов расторопши пятнистой двух рас – красноцветкового сорта Золушка белорусской селекции и белоцветкового сортообразца венгерской селекции в процессе культивирования. Установлено, что в течение всего исследуемого периода культивирования каллусы от эксплантов сорта Золушка отличались от таковых сортообразца венгерской селекции по уровню накопления белка и активности ПГТ. Процесс дедифференциации клеток на эксплантах *S. marianum*, независимо от их происхождения, за исключением корневых каллусов сорта Золушка, сопровождался повышением содержания белка на начальных этапах с пиком на 2-ом либо 5-ом пассаже. Начиная с 8-го пассажа, происходило резкое снижение показателя с минимальным значением в 11-ом пассаже. В процессе каллусообразования активность ПГТ (у.е/мг белка) в

семядольно-листовом каллусе сорта Золушка резко уменьшалась от 0-го ко 2-му пассажу, далее плавно снижалась к 5-му и потом возрастала, демонстрируя максимальную активность в 11-ом. В семядольно-листовом каллусе венгерского сортообразца активность ПГТ в 0, 2 и 8-м пассажах не тестировалась, но в 11-м пассаже была на достаточно высоком уровне ($1057,56 \pm 69,687$). В корневом каллусе сорта Золушка активность ПГТ уменьшалась от 0-го к 5-му пассажу, и к 8-му пассажу возрастала до $7,197 \pm 0,26$, а к 11-му – еще в 15,3 раза. Активность ПГТ в корневом каллусе венгерского сортообразца не тестировалась на отдельных стадиях каллусогенеза (2 и 8-ой пассаж), на 0-м была на уровне $435,93 \pm 26,13$, резко падая к 5-му и возрастая к 11-му ($182 \pm 19,483$). Таким образом, процесс каллусообразования на семядольно-листовых и корневых эксплантах *S. marianum* сорта Золушка сопровождался уменьшением активности ПГТ к 5-му пассажу, увеличивался к 8-ому, достигая максимума в 11-ом. Дедифференциации клеток на эксплантах венгерского сортообразца характеризовалась отсутствием активности ПГТ на отдельных этапах, с максимальной активностью в 11 пассаже.

Клеточные технологии получения фармакологически ценных вторичных метаболитов растений семейства *Arosupaceae*

Молчан О.В.^{А*}, Юрин В.М.^Б

^АГНУ «Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф.Купревича НАН Беларуси»

Минск, Беларусь. *Email: olga_molchan@mail.ru

^ББелорусский Государственный Университет, Минск, Беларусь

Среди лекарственных растений семейства *Arosupaceae*, следует выделить *Catharanthus roseus* G.Don и некоторые виды рода *Vinca* L., содержащие фармакологически ценные терпеновые индольные алкалоиды (ТИА). Винбластин и винкристин, с противоопухолевой активностью, применяют при химиотерапии онкологических заболеваний. Аймалицин и винкамин - для лечения гипертонии, неврогенной тахикардии и т.д. Катарантин и виндолин обладают диуретической активностью. Сегодня очевидно, что развитие фармацевтической промышленности связано с производством препаратов из растительного сырья. Поэтому культивирование клеток *in vitro* – технология эффективной эксплуатации возобновляемых ресурсов и устойчивого производства биомассы, а также целевых продуктов, в том числе и высокоценных вторичных метаболитов – является важнейшим элементом современной экономики. Биотехнология растений может решить многие проблемы, связанные с повышением эффективности производства, качества растительных препаратов, сохранением редких и исчезающих видов и т.д. Среди первоочередных задач - изучение свойств клеточных культур, как альтернативного источника фармакологически ценных соединений, улучшение их функциональных характеристик, позволяющих снизить потребление сырья, оптимизировать биосинтез, накопление и кинетику высвобождения целевых продуктов. Эти задачи в известной степени решались в данной работе выявлением наиболее подходящих видов и сортов растений для получения эксплантов, концентраций фитогормонов, необходимых для получения и длительного культивирования каллусных и суспензионных культур. Показано, что в культурах *in vitro* могут синтезироваться фармакологически ценные ТИА. Установлены режимы LED-освещения, оптимальные для накопления биомассы и синтеза вторичных метаболитов клеточными культурами. Изучено влияние углеродных и

полисахаридных наночастиц на ростовые и биосинтетические параметры культивируемых клеток. Продемонстрирована эффективность использования химического мутагенеза и отбора клеточных линий на селективных средах для повышения уровня накопления фармакологически ценных ТИА. Показано также, что доноры NO (SNP и GSNO) и L-аргинин регулируют активность триптофандекарбоксилазы и накопление триптамина – первичные этапы биосинтеза ТИА, стимулируют рост и накопление винкамина. Эффекты SNP, GSNO и L-аргинина ингибировались сРТИО. Наблюдаемая активация ТДК под действием ДБ-цГМФ, и ингибиторов Ca^{2+} -каналов также позволяет предположить участие цГМФ и Ca^{2+} в регуляции биосинтеза ТИА. Таким образом, наши данные показывают, что NO, Ca^{2+} и цГМФ, возможно, являются вторичными медиаторами, участвующими в процессах сигнальной трансдукции, связанных с регуляцией биосинтеза ТИА внешними стимулами.

Влияние элизиторов *Fusarium culmorum* на образование фенольных соединений в клетках суспензионной культуры *Althaea officinalis*

Остапчик В.С.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Email: ostapchi_v@mail.ru

Использование элизиторов микроорганизмов является одной из стратегий для повышения синтеза вторичных метаболитов в культурах растительных клеток. Эффективность их воздействия зависит от концентрации, продолжительности экспозиции, физиологического состояния растительных клеток и др. В связи с этим целью настоящей работы явилось получение концентрационных и временных зависимостей уровней накопления вторичных метаболитов фенольной природы в клетках суспензионной культуры *Althaea officinalis* L. в результате обработки препаратом элизиторов, полученным из фитопатогенного гриба *Fusarium culmorum* (Wm.G.Sm.) Sacc. Для глубинного культивирования клеток *Althaea officinalis* использовали питательную среду Мурасиге и Скута с добавлением 3% сахарозы и фитогормонов, в случае *Fusarium culmorum* – картофельно-глюкозную среду. Препарат элизиторов из мицелия гриба получали путем экстракции водой при кипячении с обратным холодильником и добавляли в среду инкубации клеток исследуемой суспензионной культуры в конце фазы логарифмического роста. Продолжительность его воздействия в диапазоне концентраций 1–5% составляла от 1 до 5 суток. Установлено, что достоверный рост уровней накопления суммы фенольных соединений в клетках суспензионной культуры *Althaea officinalis* наблюдался, начиная с 1%-ной концентрации препарата элизиторов. При увеличении его концентрации до 3% отмечалось возрастание стимулирующего эффекта. Дальнейший рост не приводил к усилению биосинтеза исследуемых вторичных метаболитов. Аналогичная картина имела место при анализе содержания флавоноидов как отдельной группы фенольного комплекса *Althaea officinalis*. При количественном определении содержания фенолокислот было выявлено, что наиболее выраженная стимуляция их образования отмечалась в присутствии 2%-го экстракта из мицелия *Fusarium culmorum*. Для повышения суммарного содержания фенольных соединений, в т.ч. флавоноидов, в качестве наиболее оптимальной продолжительности воздействия следует отметить 3 суточную экспозицию. Наиболее высокое по отношению к контролю содержание фенолокислот

зарегистрировано в присутствии 2%-го препарата элиситоров в результате 2-х суточной обработки. Однако степень стимулирующего воздействия была менее выраженной по сравнению с усилением синтеза флавоноидов. Полученные результаты позволяют сделать вывод о достаточно высокой эффективности использования препарата элиситоров из мицелия *Fusarium culmorum* для повышения уровней накопления флавоноидов в клетках суспензионной культуры *Althaea officinalis*.

Клетки микроводоросли *Eustigmatos* sp. штамм IPPAS H-242 способны к накоплению необычных гексадекадиеновых жирных кислот
Стариков А.Ю., Медведева А.С., Сидоров Р.А.*, Синетова М.А.

Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева РАН,
Москва, Российская Федерация. *Email: roman.sidorov@mail.ru

Ранее, при изучении биотехнологического потенциала микроводоросли *Eustigmatos* sp. IPPAS H-242 (класс Eustigmatophyceae филум Ochrophyta), мы обнаружили, что в интенсивной культуре при действии солевого стресса в суммарных липидах клеток появлялись необычные жирные кислоты. Их масс-спектры были практически полностью идентичны между собой и, согласно результатам автоматического поиска по библиотекам масс-спектров NIST, более чем на 98% совпадали с масс-спектрами метиловых эфиров гексадекадиеновых кислот – $\Delta 7,10$ -16:2 и $\Delta 9,12$ -16:2, однако, времена удерживания этих неизвестных ЖК *резко* отличались от аналогичного параметра упомянутых ЖК, и находились в диапазоне 19,88–20,88 мин, против 18,105 и 18,407 мин соответственно. Содержание пяти обнаруженных изомеров необычных кислот, как правило, не превышало 15% от суммы жирных кислот исследуемого объекта. При этом, количества индивидуальных ЖК с временами удерживания 19,88, 19,99, 20,13 и 20,23 мин были примерно одинаковыми и составляли 0,15-0,22% от суммы ЖК, а содержание необычной гексадекадиеновой ЖК с $RT=20,88$ мин могло достигать 15%, а в отдельных экспериментах и 25% от суммы ЖК суммарных липидов. На основании предварительного анализа никотиниловых эфиров, полученных из метиловых эфиров ЖК суммарных липидов клеток *Eustigmatos* sp. IPPAS H-242, удалось установить, что ЖК с $RT=20,88$ мин действительно относится к гексадекадиеновым кислотам, однако отличается крайне необычным для живых организмов положением этиленовых связей – при 9 и 10 атомах алифатической цепи – т.е. имеет алленовую конфигурацию двойных связей. Для выяснения структуры остальных четырёх минорных изомеров этой кислоты (с $RT=19,88$ –20,29 мин) мы применили предварительную их концентрацию методом препаративной ВЭЖХ. В условиях обращенно-фазной ВЭЖХ (колонка Zorbax C18, 250×4,6 мм, 5 мкм) в режиме изократического элюирования ацетонитрилом, эти ЖК эффективно отделялись от других ЖК смеси по величине эквивалентного углеродного числа, которое было близко к 10,0. Выяснению их структуры методами масс-спектрометрии и спектроскопии ядерного магнитного резонанса, а также обсуждению условий их образования в клетках микроводорослей и их возможных функций и будет посвящён доклад. Работа выполнена при поддержке Российского Научного Фонда, грант № 14-14-00904.

Пермеабиллизация клеток суспензионных культур *Echinacea pallida* (nutt.) Nutt. и *Echinacea purpurea* (L.) Moench с помощью диметилсульфоксида Федорова А.П., Дитченко Т.И.*

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: ditchenko@bsu.by

Для разработки непрерывного процесса получения продуктов вторичного метаболизма на основе культур растительных клеток в большинстве случаев требуется проведение процедуры их пермеабиллизации. Экскреция вторичных метаболитов (ВМ) в инкубационную среду может быть индуцирована с помощью химических соединений (детергентов, некоторых антибиотиков и органических растворителей) либо физических воздействий (температурный шок, ультразвуковая обработка и др.), которые повышают проницаемость клеточных мембран, но при этом не оказывают негативного влияния на жизнеспособность и биосинтетическую активность культивируемых клеток. Данный прием находит широкое применение, как для суспензионных культур, так и клеток, иммобилизованных с помощью различных носителей. Целью настоящей работы явилось изучение особенностей пермеабиллизации свободных и иммобилизованных в Са-альгинатный гель клеток суспензионных культур *Echinacea pallida* (nutt.) Nutt. и *Echinacea purpurea* (L.) Moench с помощью диметилсульфоксида (ДМСО). Для их культивирования использовали питательную среду Мурасиге и Скуга с добавлением 3% сахарозы и фитогормонов. Пермеабиллизацию свободных и иммобилизованных клеток осуществляли с помощью 5% раствора ДМСО в течение 30 минут. После его удаления из инкубационной среды анализировали экскрецию фенольных соединений (ФС) в течение 3 суток, а также оценивали жизнеспособность клеток. Более высокое содержание ФС обнаружено в среде инкубации иммобилизованных клеток обеих культур, что, вероятно, связано с усилением их биосинтеза. В результате обработки ДМСО клеток суспензионной культуры *E. pallida* экскреция ФС возрастала в 1,5-2 раза, иммобилизованных клеток – в среднем в 1,3 раза. В случае иммобилизованных клеток суспензионной культуры *E. purpurea* степень пермеабилзирующего эффекта ДМСО практически не отличалась от результатов, полученных для неиммобилизованных клеток. Определение жизнеспособности через 3 суток после обработки ДМСО показало, что и свободные, и иммобилизованные клетки *E. pallida* и *E. purpurea* характеризовались хорошо выраженной способностью к восстановлению 2,3,5-трифенилтетразолий хлорида до формазана, что свидетельствует о сохранении их метаболической активности. Полученные результаты свидетельствуют об эффективности использования ДМСО для усиления экскреции ФС клеточными культурами *E. pallida* и *E. purpurea* и могут быть использованы для разработки технологии периодически индуцируемой пермеабиллизации иммобилизованных в Са-альгинатный гель клеток данных культур в качестве продуцентов ВМ фенольной природы.

Модифицирующее воздействие наночастиц меди и кинетина на биопродуктивность каллусной культуры *Catharanthus roseus* (L.) G. Don
Филиппова С.Н.*, Вэй Ч., Демидчик В.В.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: svetlan_rom@mail.ru

Проблема загрязнения окружающей среды синтетическими наноматериалами в настоящее время становится все более актуальной. Наночастицы (НЧ) неорганических материалов являются самыми распространенными, благодаря их широкому использованию в сельскохозяйственной отрасли, легкой промышленности, микроэлектронике, оптике, медицине и других областях науки. Благодаря уникальным физико-химическим свойствам наноразмерные материалы обладают высоким потенциалом их использования. Однако, несмотря на ряд положительных эффектов, НЧ также могут обладать и токсическими эффектами. Преимущественно, отрицательный эффект на биологические объекты наблюдается при использовании наноматериалов в высоких концентрациях. Исследование защитных механизмов действия внутренних систем клеток на воздействие НЧ неорганических материалов, а также поиск препаратов, способных нивелировать их токсические эффекты, представляется весьма актуальным. Природные фитогормоны – цитокинины являются важнейшим классом метаболитов, регулирующим ряд ключевых процессов в жизни растений. Учитывая полифункциональность данных соединений, заключающуюся, например, в аттрагирующем эффекте, участии в процессах деления, старения, дифференцировке клеток и т.д., можно предположить, что изменение баланса цитокининов в клетках растений при стрессовом воздействии должно влиять на адаптивные способности растительных организмов. Целью настоящей работы являлось изучение модифицирующего действия кинетина в концентрациях 0,5-3,5 мг/л на ростовые параметры, содержание флавоноидов и суммы фенольных соединений в гетеротрофной каллусной культуре *Catharanthus roseus* (L.) G. Don в условиях повышенной концентрации НЧ меди в среде культивирования (25 мг/л). В результате проведенных исследований было показано, что присутствие НЧ меди в концентрации 25 мг/л в среде инкубации каллусной ткани *C. roseus* приводит к ингибированию ростовых процессов на 60% по сравнению с контрольным вариантом. Включение кинетина в среду культивирования нивелировало данный токсический эффект. Так, в присутствии кинетина в концентрации 2,5 мг/л и НЧ в среде инкубации прирост биомассы клеток культуры был сравним с контрольным вариантом. Добавление исследуемого фитогормона в концентрациях 0,5; 1,5 и 3,5 мг/л снижало ингибирующий эффект НЧ на 25-37%. Анализ накопления флавоноидов в каллусной ткани *C. roseus* при сочетанном влиянии НЧ меди и кинетина, используемого в различных концентрациях, показал сходную закономерность. В данном случае эффект полного нивелирования стрессового воздействия НЧ меди наблюдался при включении кинетина в концентрациях 2,5 и 3,5 мг/л. При анализе содержания суммы фенольных соединений, было выявлено, что НЧ меди в исследуемых концентрациях не оказывают статистически достоверного влияния на данный параметр по сравнению с контрольным вариантом. Более того, сочетанное воздействие НЧ и кинетина в концентрациях 2,5 и 3,5 мг/л приводило к повышению накопления фенольных соединений на 28 и 12%, соответственно, по сравнению с контролем. Результаты данной работы могут указывать на особый нивелирующий эффект экзогенно

вносимых цитокининов при стрессовом воздействии наночастиц меди в гетеротрофной каллусной культуре *Catharanthus roseus* (L.) G. Don.

Исследование содержания фитостероидов в культуре клеток *Ajuga turkestanica*

Харитонов Т.Д.^{А*}, Титова М.В.^А, Соболева Г.И.^А, Чернобутова Е.И.^Б,
Заварзин И.В.^Б, Носов А.М.^А

^АИнститут физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН,
Москва, Российская Федерация. *Email: Khartimur@mail.ru

^БИнститут органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, Москва,
Российская Федерация

Фитостероиды – широко известная группа природных нетоксичных полиоксистероидов (группа полигидроксированных стероидных соединений). Фитостероиды обладают высокой биологической активностью и выполняют функции гормонов линьки и метаморфоза насекомых. Научным прорывом стало обнаружение этого класса веществ в растениях. В связи с тем, что стероиды широко распространены в мировой флоре, интерес к ним не уменьшается и в настоящее время. Побеги живучки туркестанской (*Ajuga turkestanica*) применяются в спортивной медицине и косметологии благодаря наличию в них специфического фитостероида – туркестерона, который по анаболическому эффекту не уступает синтетическим препаратам, не являясь при этом допингом. Туркестерон не токсичен, проявляет тонизирующее действие, стимулирует работоспособность, предохраняет от негативного воздействия различных стрессорных факторов. Живучка туркестанская является источником разнообразных фитостероидов. В связи с этим большой интерес представляет разработка биотехнологического способа получения стероидов с использованием культур клеток *Ajuga turkestanica*. Каллусные и суспензионные культуры были получены в Институте физиологии растений РАН. Культуры *Ajuga turkestanica* выращивали на модифицированной среде Мурасиге и Скуга с добавлением фитогормонов. На первом этапе работы было проведено изучение влияния различных условий экстракции на извлечение стероидов из лиофилизированной биомассы культуры клеток *Ajuga turkestanica*. Также была проведена оптимизация методики очистки полученных экстрактов. Очищенные экстракты анализировали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). В результате был разработан метод количественного определения содержания стероидов в биомассе каллусных и суспензионных культур клеток *Ajuga turkestanica* методом ВЭЖХ. Показано, что в некоторых линиях каллусных и суспензионных культур клеток *Ajuga turkestanica* содержатся туркестерон и стерон, при этом в ряде случаев их содержание может быть сопоставимо с интактным растением.

Влияние культуральной жидкости почвенных цианобактерий рода *Nostoc* на рост и развитие семян пшеницы

Бачура Ю.М.*, Ганжур Е.Н.

Гомельский государственный университет им. Ф.Скорины, Гомель, Беларусь

*Email: julia_bachura@mail.ru

Все большую актуальность приобретает использование биопрепаратов, среди которых устойчивое положение занимают фотосинтезирующие микроорганизмы – микроводоросли и цианобактерии, представляющие собой возобновляемый сырьевой ресурс. Они обогащают почву фосфором, калием, азотом, микроэлементами; могут изменять pH почвенного раствора в сторону нейтральной реакции среды и повышать водоудерживающую способность почвы; выделяют биологически активные вещества, ускоряющие рост корней и стимулирующие жизнедеятельность полезных микроорганизмов почвы; пополняют альгоцианобактериальную микрофлору. Цель работы – изучение влияния культуральной жидкости цианобактерий рода *Nostoc* на рост и развитие проростков пшеницы (*Triticum aestivum* L.). При проведении эксперимента были заложены следующие варианты опыта: 1) контроль I (основная среда Болда (Bold basal medium – BBM)), 2) опыт I (культура *Nostoc* sp. исходная), 3) опыт II (культура *Nostoc* sp., разбавленная 1:1 средой Болда). Семена пшеницы отбирали по размерам, замачивали на 60 минут в жидкостях в соответствии с вариантами опыта и выращивали на фильтровальной бумаге с добавлением 5 мл жидкости в день постановки эксперимента и 2 мл жидкости на 4 и 8 сутки эксперимента. Оценку и учет проросших семян при определении энергии прорастания и всхожести проводили в соответствии с ГОСТом 12038-84. Результаты эксперимента снимали на десятые сутки. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программ Excel и Statistica 7.0. Энергия прорастания семян варьировала в пределах 84-90 %, всхожесть семян – 84-100 %. По результатам эксперимента в порядке убывания значений были составлены: ряд средних длин корней проростков пшеницы: *Nostoc* разб. > *Nostoc* исх. > BBM; ряд средних длин побегов проростков пшеницы: *Nostoc* разб. > *Nostoc* исх. > BBM; ряд средней массы проростков пшеницы: *Nostoc* исх. > BBM > *Nostoc* разб. Таким образом, установлено стимулирующее действие культуральной жидкости цианобактерий рода *Nostoc* на длину корней и побегов проростков пшеницы; противоречивы оказались данные по массе проростков. Ведется дальнейшее исследование.

Влияние мутантного штамма *Pseudomonas.mendocina* 9-40, на засухоустойчивость растений томата сорта «Раница»

Жардецкий С.С.*, Храмцова Е.А.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: shar-gen1313@mail.ru

Этилен регулирует многие процессы развития растений, такие как прорастание семян, цветение и созревание плодов. Оптимальная концентрация этилена для нормального роста и развития растений составляет около 10 г/л⁻¹, однако при более высокой концентрации (25 г/л⁻¹) он индуцирует дефолиацию, ингибирует удлинение корня, старение листьев, разрушение хлорофилла и эпинастию. Повышенный уровень этилена образуется в ответ на ряд биотических и абиотических стрессовых факторов, таких как засоление почвы, загрязнение ее солями тяжелых металлов и

ароматическими углеводородами, засуху, затопление, поражение фитопатогенами, механическое ранение и др. Одним из главных механизмов, которые используются бактериями для стимуляции роста растений, является снижение уровня растительного гормона этилена путем дезаминирования непосредственного предшественника этилена 1-аминоциклопропан-1-карбоксилата (АЦК). Эту реакцию осуществляет фермент АЦК-деаминаза, обнаруженный у многих почвенных и ризосферных бактерий. На основе АЦК-синтезирующих бактерий *Pseudomonas mendocina* получен мутантный штамм *P.mendocina* 9-40, способный к сверхсинтезу индол-3-уксусной кислоты и обладающий выраженной ростостимулирующей активностью. Ранее было показано, что обработка растений суспензией штамма *P.mendocina* 9-40 повышает их устойчивость к таким видам абиотического стресса как засоление почвы и загрязнению ее солями тяжелых металлов. Целью данного исследования было исследование способности данного штамма повышать устойчивость растений томата к абиотическому стрессу, вызванному засухой. Высаженные в грунт проростки томатов однократно обрабатывались суспензией клеток *P.mendocina* 9-40. Контрольные растения поливались водой. Количество вносимой влаги было одинаково. После пяти суток роста полив не проводился. Показано, что у контрольных растений первые признаки увядания появились на 5 сутки, в то время как у растений в опыте только на 8 сутки. Через 12 суток наблюдалась гибель всех контрольных растений, в то время как среди опытной группы гибель была отмечена в 20% случаев. Полученные данные свидетельствуют о том, что обработка растений суспензией штамма *P.mendocina* 9-40 обеспечивает не только стимуляцию роста и развития растений, но и повышает их засухоустойчивость.

Эффект иммуномодулирующих препаратов на структурно-функциональное состояние растений томата (*Solanum lycopersicum* L.) при фузариозном увядании

Кабашникова Л.Ф.*, Абрамчик Л.М., Доманская И.Н., Шибытко Н.Л.

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

*Email: kabashnikova@ibp.org.by

К объективным причинам значительного снижения урожая важнейших овощных культур, выращиваемых в защищенном грунте, можно отнести заражение возбудителями грибных болезней. В этой связи изучение клеточных механизмов формирования устойчивости растений к фитопатогенам, включая врожденный и приобретенный иммунный ответ, представляет важный этап познания природы фитоиммунитета и создания высокоэффективных технологий защиты. Изучено действие препаратов, содержащих водорастворимый полимер ВРП-3 и одно из соединений: салициловую кислоту (СК), β -аминоасляную кислоту (АМК), β -1,3-глюкан (ГК), а также их смесь. Растения томата сорта Тамара выращивали в почвогрунте «Овощное изобилие» в климатокамере при температуре 24°C и освещенности $100 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ с фотопериодом 14 ч на протяжении 2,5 месяцев, затем переносили на водопроводную воду. После акклиматизации в течение 2 суток растения опрыскивали иммуномодуляторами, а через 48 ч инфицировали *Fusarium oxysporum* sp. путем внесения суспензионной культуры (10^6 спор/мл) через корни в воду из расчета 50 мл/растение. Анализ листьев верхнего яруса проводили через 72 ч после инокуляции патогеном. Иммуномодуляторы оказывали защитное действие на

процессы биосинтеза пигментов в условиях патогенеза, которое выражалось в повышении содержания хлорофилла и некоторых каротиноидов (за исключением антероксантина и виолоксантина) по отношению к инфицированному контролю. При этом наблюдали восстановление потенциального квантового выхода фотохимических реакций (F_v/F_m), усиление фотохимической утилизации поглощенных квантов света (qP) и снижение величины безызлучательной диссипации поглощенной энергии возбуждения (qN) инфицированных растений. АМК и смесь иммуномодуляторов индуцировали синтез антоцианов в инфицированных листьях томата, а ГК и СК стабилизировали уровень фенольных соединений, что, создает определенный барьер для распространения фузариозной инфекции. Под действием новых препаратов окислительные процессы в инфицированных патогеном листьях томата протекали менее активно, чем в контрольных. При этом отмечено снижение генерации H_2O_2 под действием АМК и смеси модулирующих агентов, тогда как ГК и СК поддерживали величину H_2O_2 на уровне инфицированного контроля. Полученные данные позволяют сделать заключение о высокой активности изученных препаратов против фузариозного увядания томатов и создают научную основу для их использования в новых биотехнологиях защиты овощной культуры.

Влияние радиоволновых обработок семян кукурузы на сохранение их жизнеспособности при хранении в оптимальных и неблагоприятных условиях и биохимические параметры проростков

Калацкая Ж.Н.^{А*}, Ламан Н.А.^А, Фролова Т.В.^А, Минкова В.В.^А, Филатова И.И.^Б, Люшкевич В.А.^Б

^А Институт экспериментальной ботаники НАН Беларуси, Минск, Беларусь

*Email: kalatskayaj@mail.ru

^Б Институт физики НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Изучено влияние обработки семян кукурузы (*Zea mays* L.), гибрид F1 Полесский 212 СВ высокочастотным электромагнитным полем, возбуждаемом на частоте 5,28 МГц, и плазмой высокочастотного разряда на сохранение жизнеспособности семян при хранении в контролируемых оптимальных и неблагоприятных условиях и физиолого-биохимические параметры формирующихся из них проростков. Методом электронного парамагнитного резонанса исследована концентрация свободных радикалов в семенах до и после их обработки. Показано, что плазменно-радиоволновое воздействие приводит к изменению концентрации парамагнитных центров (активных кислородных комплексов) в семенах. На основании исследований морфологии и контактных свойств поверхности плодовой и семенной оболочек зерновки после плазменной обработки установлено, что плазмохимическое травление и увеличение гидрофильности оболочек являются одним из факторов, стимулирующих прорастание. Установлено, что обработка высокочастотным электромагнитным полем обеспечивает сохранение физиологического качества семян при хранении их в неблагоприятных условиях, что проявляется в поддержании на более высоком по сравнению с контролем уровне скорости роста проростков и накопления ими биомассы. Повышение устойчивости проростков кукурузы сопровождается увеличением в них содержания антоцианов, эндогенной перекиси водорода, активности антиоксидантных и протеолитических ферментов, при этом содержание пролина, растворимых углеводов и продуктов перекисного

окисления липидов сохраняется на уровне оптимального контроля. Выдвинута гипотеза о том, что при исследованных режимах воздействие электромагнитного поля воспринимается растительным организмом как «нелетальный» умеренный повреждающий фактор, обеспечивающий формирование стресс-толерантных проростков. Работа поддержана грантом БРФФИ №Б16РА-014.

Влияние иммуномодуляторов на структурно-функциональное состояние мембран ячменя при инфицировании *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem. Кондратьева В.В.*, Кабашникова Л.Ф.

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь
*Email: vislika@mai.ru

Перспективным направлением в борьбе за урожай и экологию в настоящее время является повышение общей неспецифической устойчивости растений (иммунного статуса) к неблагоприятным факторам биотической природы путем индукции природных защитных механизмов с помощью разнообразных индукторов. Вместе с тем, практическое использование почти всех известных защитных веществ опережает или идет параллельно с раскрытием механизмов их действия. Клеточные мембраны являются главной мишенью атаки грибных патогенов, что приводит к реализации иммунного ответа через сигнальные системы растительной клетки. В этой связи их структурно-функциональное состояние является важным критерием оценки устойчивости растений при биотическом стрессе. Проведен анализ проницаемости мембран клеток мезофилла проростков ячменя при инфицировании грибным патогеном *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem. и обработке двумя иммуномодуляторами: β -аминоасляной кислотой (АМК, 10^{-4} М) и β -1,3-глюканом (ГК, 0,01%). Проростки выращивали в климатикамере на водопроводной воде при температуре 24°C и освещенности $100 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ с фотопериодом 14 ч. В 4-дневном возрасте растения обрабатывали АМК или ГК методом опрыскивания, а через 24 ч инфицировали суспензионной культурой гриба (10^6 спор/мл). Анализ проводили через 48 ч после инокуляции патогена. Для оценки проницаемости мембран для свободных нуклеотидов отрезки листьев инкубировали в течение 1 ч при температуре 20°C в дистиллированной воде. Выход нуклеотидов оценивали по величине оптической плотности инкубационной среды на спектрофотометре «Shimadzu, UV-2401PC» при 260 нм. Установлено, что инфицирование проростков ячменя патогеном приводит к возрастанию проницаемости клеточных мембран для свободных нуклеотидов в среднем на 16% относительно контроля. В АМК- и ГК-обработанных листьях обнаружено снижение проницаемости клеточных мембран в среднем на 20% по сравнению с контрольными. В то время как применение иммуномодуляторов перед инфицированием растений приводило к нормализации выхода низкомолекулярных метаболитов из клеток ячменя, активированного атакой фитопатогена. Полученные результаты позволяют сделать заключение о том, что судя по изученному параметру АМК и ГК не оказывают выраженного отрицательного действия на структурно-функциональное состояние клеточных мембран в листьях ячменя, но способствуют его стабилизации в условиях инфицирования грибным патогеном *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem.

Активация прорастания семян клевера красного препаратом водоросли *Chlorella sp.*

Котяш А.Ф.*, Смолич И.И.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: andrewko146@gmail.com

Применение водорослей и цианобактерий в качестве биоудобрений при выращивании сельскохозяйственных культур позволит существенным образом улучшить экологические аспекты ведения современного сельскохозяйственного производства и улучшения состояния окружающей среды. Имеющиеся в настоящее время наблюдения указывают, что использование биоудобрений на основе водорослей может улучшать состояние почвы, ее физико-химические свойства, улучшать и менять, обогащая его состав минеральных элементов и т.д. Также известно о ряде биологических активностей водорослей по отношению к росту и развитию растений. В этой связи нами проведены эксперименты по влиянию клеток водоросли *Chlorella sp.* на прорастание семян клевера красного (*Trifolium pratense*). Показано, что процент проросших на 6 сутки семян клевера достоверно выше при обработке отмытыми от культуральной среды клетками суспензионной культуры водоросли хлорелла. Количество клеток в препарате оценивалось в двух вариантах обработок в $10 \cdot 10^5$ и $15 \cdot 10^5$ клеток/мл. Также показано, что в наилучшей степени обработка препаратом клеток хлорелла активируются «состаренные» семена клевера, повышая процент проросших семян с 31 % в контроле до 52. На основании полученных схем экспериментов проведена предварительная оценка влияния обработок препаратом хлореллы на прорастание семян тимopheвки и моркови сорта «Тушон». Таким образом, показана активация прорастания семян под влиянием препарата хлореллы, что может быть использовано для повышения всхожести некачественных семян.

Влияние комплекса вторичных метаболитов в составе культуральной жидкости вешенки устричной и кальвазии гигантской на прорастание семян **Поликсенова В.Д.*, Желудевич И.З., Антонович А.О.**

^АБелорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: polyksenova@gmail.com

Грибы, как и растения, являются источниками целого ряда биологически активных веществ: белков, липидов, полисахаридов, органических кислот, ферментов, витаминов и др. Установлено, что плодовые тела некоторых базидиомицетов обладают антибактериальной активностью. Нами показано, что подобного рода биологической активностью обладают также и продукты вторичного метаболизма, выделяемые вешенкой устричной и кальвазией гигантской при культивировании в жидкую питательную среду. Вместе с тем в литературе крайне ограничены сведения о характере влияния метаболитов грибов на растения. В связи с этим нами проведена оценка влияния комплекса метаболитов в составе отфильтрованной двухнедельной культуральной жидкости на прорастание семян растений из разных ботанических семейств. В эксперименте использовали выращенные на жидкой картофельно-глюкозной среде чистые культуры трех штаммов вешенки устричной и изолята кальвазии гигантской, а также сортовые семена гороха (сем. Бобовые), редиса (сем. Крестоцветные), томата и перца (сем. Пасленовые), огурца (сем. Тыквенные), шпината (сем. Маревые), салата (сем. Сложноцветные), пшеницы (сем. Злаки).

Культуральную жидкость разводили до концентрации 45% – 35% – 25% – 5%, контроль – вода. Семена (30 шт. в 3-кратной повторности) замачивали в течение 24 ч., затем размещали в чашки Петри на увлажненной фильтровальной бумаге. Результаты эксперимента показали, что культуральная жидкость всех штаммов вешенки в малых концентрациях 15% и 5% стабильно повышает энергию прорастания семян овощных растений на 20% по сравнению с контролем. Кроме того, обработка стимулирует рост молодого корешка, приводя к увеличению его длины в 1,5 (перец) – 2 (томат, горох) – 4 (редис) раза. Наиболее отзывчивыми на стимулирующее действие культуральной жидкости вешенки оказались семена редиса. Что касается культуральной жидкости кальвазии гигантской, то она не оказала никакого влияния на прорастание семян растений. Таким образом, базидиальные грибы обладают избирательной биологической активностью по отношению к растениям, что, вероятно, обусловлено характером эволюционно сложившихся межвидовых отношений.

Влияние водных экстрактов из листьев и корневищ золотарника канадского (*Solidago canadensis* L.) на рост проростков тест-культур

Прохоров В.Н.*, Ламан Н.А., Росоленко С.И., Бабков А.В., Сак М.М.

ГНУ «Институт экспериментальной ботаники им.В.Ф. Купревича НАН Беларуси»

*Email: prohoroff1960@mail.ru

В настоящее время большинство инвазионных видов, в виду их слабой изученности, практически не используется в народном хозяйстве. В последние годы на территории Беларуси особенно агрессивно внедряется в естественные экосистемы золотарник канадский, что в значительной степени связано с его высокой аллелопатической активностью [Прохоров, 2018]. В этой связи, изучение аллелопатической активности растений золотарника канадского для поиска путей ограничения его распространения и использования в хозяйственных целях является актуальной задачей. Аллелопатическую активность определяли путем изучения влияния водных экстрактов, полученных из листьев и корней золотарника канадского на разных фазах развития растений, на рост проростков тест-культур (кресс-салата, редиса посевного). Водный экстракт (на примере 10%-ного) готовили следующим образом: 10 г сухого сырья заливали 100 мл кипятка и настаивали 1 час, затем процеживали и помещали в холодильник. В опытах полученный настой разбавляли до нужной концентрации (0,001%, 0,01%, 0,1%, 1%, 10%). В чашки Петри вносили по 2 мл водного экстракта. Установлено, что водный экстракт в высокой концентрации (10%) из листьев золотарника канадского, отобранных на разных фазах вегетации оказывает сильное ингибирующее влияние на рост проростков кресс-салата (длина проростков составляла от 34,9 до 54,3% в сравнении с контрольными растениями). В малых концентрациях (0,1%-0,001%), наблюдается достоверное увеличение линейного роста проростков кресс-салата (до 116,1%), а при 1%-ной концентрации, отмечали незначительное снижение (83,5-98,1%) этого показателя в сравнении с контролем. Высокие концентрации (10%) экстрактов из корневищ золотарника оказывали меньшее ингибирующее влияние на тест-культуры (65,6-78,5%), а концентрации от 0,001% до 1 %, в сравнении с экстрактами из листьев во всех вариантах оказывали небольшое стимулирующее влияние (102,5-110,3%).

Влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения на активность гидролитических ферментов и накопления веществ неспециализированного обмена в растениях *Fagopyrum sagittatum* Gilib

Суша О.А.^{А*}, Мазец Ж.Э.^А, Калацкая Ж.Н.^Б

^АБелорусский государственный педагогический университет имени Максима Танка, Минск, Беларусь

^БГНУ «Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси, Минск, Беларусь. *Email: olgasusha2013@mail.ru

Заметный интерес представляет исследование активности гидролитических ферментов и накопления веществ неспециализированного обмена как маркеров первичной стрессовой реакции растений на низкоинтенсивное электромагнитное излучение (ЭМИ). В качестве объекта исследования была выбрана гречиха посевная (*Fagopyrum sagittatum* Gilib) диплоидных сортов Аметист, Купава и Феникс, семена которых были обработаны ЭМИ в двух режимах (Р) Р2 и Р2.1 в НИИ «Ядерных проблем БГУ» при одной частоте времени воздействия 20 и 12 минут соответственно. Контролем служили необработанные семена. Повторность опыта 3-х кратная. Оценка активности амилазы в 4-х и 7-ми дневных проростках проводилась по Ермакову А.И. с нашими модификациями. Содержание свободного пролина определяли в 7-ми дневных проростках гречихи с помощью кислого нингидринового реактива по методу Bates et al. (1973). На 7-ой день оценивалось влияние ЭМИ на характер ростовых процессов. В ходе исследований установлены сортоспецифичные сдвиги в активности общей амилазы и ее α и β -форм, уровне пролина под влиянием режимов ЭМИ у изучаемых диплоидных сортов гречихи. Отмечено, что Р2 повышал активность амилолитических ферментов у сорта Купава, но снижал уровень пролина и длину растений, тогда как Р2.1 на этом сорте снижал все обсуждаемые параметры. Выявлено, что Р2 существенно повышал активность α -амилазы, но резко тормозил активность β -амилазы относительно контроля у сорта Аметист, повышая уровень пролина и снижая рост растений. Сдвиги под влиянием Р2.1 в активности амилаз и содержании пролина у сорта Аметист были менее существенные по сравнению с Р2, но активизировали рост растений. Изменения у сорта Феникс носили промежуточный характер. Сдвиги в обсуждаемых параметрах гречихи посевной можно расценивать как проявление стрессовой реакции, определяющей, характер адаптационных изменений на ЭМИ.

Синтез и анализ элиситорного действия олигопептида Csp15 на бобовые растения в условиях оксидативного стресса

Филиппова Г.Г.^{А*}, Макаревич Н.М.^А, Лущик А.Я.^Б, Соколов Ю.А.^Б

^АБелорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: filiptsova@bsu.by

^БИнститут биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Одной из перспективных экологически безопасных технологий защиты сельскохозяйственных культур от фитопатогенов и вредителей является использование веществ-элиситоров, активирующих естественные защитные механизмы растений. Источником элиситоров могут выступать патогенные или непатогенные микроорганизмы, содержащие метаболиты различной химической природы, способные индуцировать каскад защитных реакций, приводящих к развитию неспецифической устойчивости растений. Элиситорную активность

проявляют некоторые белки холодового шока бактерий (CSP – Cold Shock Protein), придающие устойчивость ряду однодольных и двудольных растений к широкому спектру фитопатогенных грибов и вирусов. Известно, что элиситорная активность белка холодового шока из бактерии *Micrococcus luteus* обусловлена пептидом, состоящим из 15 аминокислотных остатков VKWFNAEKGFGR и названным Csp15. Была разработана методика и осуществлен химический синтез данного олигопептида, исследовано его действие на различные виды бобовых культур (сою, горох, вигну). Установлено, что синтетический пептид Csp15 проявляет элиситорную активность в концентрациях 10^{-11} – 10^{-12} М, причем отзывчивость исследованных культур на обработку пептидом различна. Защитный эффект пептида выявлен для проростков сои сорта Припять. Показано, что обработка надземной части проростков сои пептидом в концентрации 10^{-12} М приводит к минимизации негативного действия окислительного стресса на морфометрические характеристики проростков. Более высокие концентрации пептида не оказывают защитного действия, а в некоторых случаях даже усиливают действие стресса. Предстрессовая обработка растений синтетическим пептидом Csp15 во всех исследованных концентрациях не оказывает выраженного защитного действия на надземную часть проростков гороха и вигны, лишь незначительно снижает негативное действие стресса на корневую систему. Установлено, что обработка проростков сои пептидом приводит к уменьшению уровня первичных продуктов перекисного окисления липидов, что свидетельствует о снижении скорости окислительных процессов в растениях, подвергнутых окислительному стрессу. При этом пептид не оказывает существенного влияния на исследованные процессы в растениях гороха и вигны.

Физиолого-биохимические механизмы формирования неспецифической устойчивости растений под действием синтетических пептидных элиситоров
Филиппова Г.Г.*, Юрин В.М.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: filipstova@bsu.by

В процессе онтогенеза растения подвергаются действию разнообразных стрессовых факторов как биотической, так и абиотической природы. Повышение неспецифической устойчивости растений к действию стрессоров может быть достигнуто благодаря использованию веществ-элиситоров, запускающих каскад защитных сигналов и приводящих к индукции фитоиммунитета. Элиситорными свойствами обладают вещества различной химической природы, одной из важнейших групп таких соединений являются пептидные элиситоры. В настоящее время убедительно доказана их роль в формировании механизмов устойчивости растений к фитопатогенам и насекомым-вредителям, однако данные об участии пептидных элиситоров в устойчивости растений к абиотическим стрессорам ограничены. Целью данной работы было исследование влияния синтетических пептидных элиситоров AtPer и SubPer на физиолого-биохимические показатели бобовых растений, подвергнутых окислительному стрессу. Установлено, что синтетические пептиды AtPer и SubPer проявляют элиситорные свойства в концентрациях 10^{-9} – 10^{-10} М. Обработка надземной части проростков пептидами приводит к быстрому (в течение 2 часов) увеличению уровня АФК в листьях. С увеличением времени воздействия пептидов до 48 часов наблюдается снижение данного показателя до контрольного значения, что коррелирует с увеличением

активности антиоксидантных ферментов пероксидазы и супероксиддисмутазы, в результате чего уменьшается скорость окислительных процессов. Показано, что предстрессовая обработка растений синтетическими пептидами приводит к снижению уровня первичных продуктов перекисного окисления липидов в листьях проростков сои и гороха, подвергнутых оксидативному стрессу. Анализ морфометрических характеристик проростков (сырая и сухая масса надземной части и корней, площадь листьев) показал, что пептиды увеличивают устойчивость исследованных культур к действию оксидативного стресса. При этом синтетический пептид AtPer оказывает максимальный защитный эффект на проростки гороха, а SubPer – на проростки вигны. На основании полученных результатов можно сделать заключение, что экзогенная обработка надземной части бобовых культур синтетическими пептидами AtPer и SubPer вызывает индукцию механизмов антиоксидантной защиты, в результате чего снижается скорость окислительных процессов и, как следствие, увеличивается устойчивость растений к стрессовым воздействиям, в том числе абиотической природы.

Выявление ретардантных свойств протравителей фунгицидного типа в зависимости от температуры среды

Шашко Ю.К.

РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию», Жодино, Беларусь. Email: Shashko_Y@tut.by

В литературе имеются данные, что действующие вещества из класса триазолов могут нарушать синтез гиббереллинов в растении и действовать как регуляторы роста, т.е. обладают ретардантным эффектом. Поэтому целью данной работы было: определить наличие ретардантных эффектов у современных протравителей и изучить влияние на них температурного фактора. Для изучения были отобраны 4 современных протравителя фунгицидного типа, в состав каждого из которых входит д.в. из класса триазолов, кроме того, в два из них входили стробилурины и в двух д.в. из классов фенилпирролы и имидазолы. Все протравители были применены в максимальных разрешенных нормах расхода. Опыт закладывался на семена яровой пшеницы сорта Любава. Протравливание проводилось вручную в прозрачных целлофановых пакетах для контроля качества. Проращивание обработанных семян проводили в рулонах, руководствуясь методикой ГОСТ 12044-93 «Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения зараженности болезнями». Рулоны помещали в термостате с тремя режимами температуры: 22, 12 и 4⁰C. Снижение температуры в процессе прорастания влияет на скорость прорастания яровой пшеницы, однако не влияет на всхожесть семян. Изученные протравители фунгицидного типа, содержащие д.в. из класса триазолов обладают ретардантными свойствами, которые проявляются в большей степени при низкой положительной температуре; этот факт необходимо учитывать при планировании экспериментов с протравителями и при возделывании зерновых культур. Наиболее выраженным ретардантным эффектом обладал протравитель Максим Форте, наименее выраженным – Иншур Перформ. Добавление к триазолам д.в. из класса стробилуринов не может компенсировать их ингибирующий эффект.

Влияние иммуномодулирующих препаратов на фотосинтетический аппарат и окислительный статус растений томата (*Solanum lycopersicum* L.) в условиях малообъемной культуры защищенного грунта

Шпилевский С.Н.*, Кабашникова Л.Ф.

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

*Email: metanova@mail.ru

В условиях УП «Минский парниково-тепличный комбинат» на томатах сорта Тореро F1 изучена биологическая эффективность препарата «Иммунакт, ВКС», содержащего β -1,3-глюкан, и стандартного регулятора роста «Экосил, ВЭ». Обработка 2-х месячных растений проведена в фазу образования 1-ой цветочной кисти методом опрыскивания рабочими растворами из расчета 200 л/га препарата «Иммунакт» и 300 л/га препарата «Экосил». Анализ проведен на листьях 3-го яруса через 8 дней после обработки. Контролем служили растения, выращенные в условиях стандартных защитных мероприятий. Оценка содержания фотосинтетических пигментов показала, что рабочие растворы препаратов «Иммунакт» и «Экосил» незначительно повышали суммарное содержание хлорофилловых пигментов – на 9% и 10%, а каротиноидов – на 4% и 14% соответственно относительно контроля. Обнаружено двукратное увеличение количества полифенольных соединений после обработки растений томата препаратом «Экосил», тогда как препарат «Иммунакт» не оказывал заметного действия на биосинтез полифенолов. Выявлено повышение функциональной активности фотосистемы 2 (ФС 2) фотосинтеза под действием изученных препаратов, что выражалось в увеличении эффективного квантового выхода фотохимических реакций ФС2 ($\phi_{\text{ФС2}}$) при обработке препаратом «Иммунакт» – на 24% %, «Экосил» – на 27%% по сравнению с контролем. Отмечено также повышение эффективности электронного транспорта (ETR): под действием препарата «Иммунакт» – на 17%, препарата Экосил – на 27%, что сопровождалось повышением величины фотохимического тушения флуоресценции хлорофилла (qP) при значительном снижении показателя нефотохимического тушения (qN), характеризующего безызлучательную диссипацию поглощенных квантов света в форме тепла. Установлено, что изученные препараты способствовали повышению общего уровня активных форм кислорода (АФК) на фоне снижения генерации пероксида водорода под действием препарата «Иммунакт» и его неизменного уровня при использовании препарата «Экосил». Содержание малонового диальдегида (МДА), характеризующего интенсивность перекисного окисления мембранных липидов, снижалось под действием препарата «Экосил» на 20% по отношению к контролю, а препарат «Иммунакт» не оказывали влияния на активность перекисления липидов в листьях томата. Полученные данные свидетельствуют о высокой эффективности действия иммуномодулирующих препаратов на фотосинтетический аппарат и окислительный статус растений томата в условиях малообъемной культуры защищенного грунта.

Действие индукторов устойчивости на защитные системы картофеля против X-, Y-вирусов

**Янчевская Т.Г.^А, Гриц А.В.^А, Макарова Т.Б.^А, Ольшаникова А.Л.^А,
Карасева Е.Н.^А, Филиппик Е.А.^В, Каляга Т.Г.^В, Шалыго Н.В.^В**

^АИнститут экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси,
Минск, Беларусь

^ВИнститут биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Проведен анализ окислительного потенциала – общего уровня активных форм кислорода (АФК), в том числе содержания пероксида водорода (H_2O_2), анализ активности антиоксидантной системы, включающий определение количества низкомолекулярных антиоксидантов (аскорбата и глутатиона), а также активность антиоксидантных ферментов – аскорбатпероксидазы (АПР) и глутатионредуктазы (ГР), при выращивании рассады на ионообменных субстратах, содержащих индукторы устойчивости в корнеобитаемой среде – салициловую кислоту (СК) и α -токоферол (ТФ). В опытах использовали выровненные по размеру ($4,9 \pm 0,5$ см) и массе ($0,65 \pm 0,04$ г) укорененные регенеранты картофеля (16- и 30-дневная рассада) сорта *Уладар* белорусской селекции в емкостях ($9 \times 9 \times 9$ см) с высотой субстратного слоя – 4 см. Опыты закладывали в 3-х кратной повторности в 3-х разных ионообменных субстратах: субстрат №1 (С1) – Триона (контроль); субстрат №2 (С2), в состав которого входил катионит С-100 и анионит А2ХМП; субстрат №3 (С3), содержащий катионит Dowex monosphere и анионит IRA-402. Каждый вариант субстрата содержал СК в концентрациях 10^{-8} М и 10^{-5} М (контроль без СК), а также ТФ в концентрациях 10^{-7} М, 10^{-4} М (контроль без ТФ). Для освещения использованы лампы ДНАТ-400 в сочетании со светодиодными источниками «Светозар» с пиками излучения в синей (420–499 нм), желто-оранжевой (500–564 нм) и красной (600–699 нм) областях ФАР и суммарной мощностью 4,35 Вт. Длительность фотопериода – 16 часов. Установлено, что окислительный потенциал зависит от возраста растений, субстрата, на котором выращиваются растения, а также концентрации и химической природы индуктора устойчивости в субстрате. Показано, что в 30-дневной рассаде картофеля, выращиваемой в С2 и С3, уровень АФК был значительно выше по сравнению с количеством АФК, зарегистрированным в 16-дневных растениях, а в 30-дневной рассаде, выращиваемой в С1 (контроль), содержание АФК, напротив, было ниже. Содержание H_2O_2 в опытных образцах с использованием СК или ТФ было, как правило, снижено по сравнению с контролем и коррелировало с повышенной активностью АПР, ГР, более высоким содержанием аскорбата и глутатиона. Полученные результаты свидетельствуют о высокой активности α -токоферола и салициловой кислоты в качестве индукторов устойчивости растений по критериям «степень окислительных процессов» и «активность аскорбат-глутатионового цикла».

Влияние предобработки семян аминокислотами на содержание фотосинтетических пигментов в выращенных при засолении проростках озимой пшеницы

Яковец О.Г.*, Зинович А.П.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: yakovets@inbox.ru

Известно, что высокие концентрации солей прямо или косвенно подавляют синтез белка, разрушают структуру и ингибируют активность ферментов первичной

ассимиляции азота. Экзогенное внесение аминокислот в растения при стрессовых условиях способствует повышению их устойчивости к стрессорам. В связи с этим нами было исследовано влияние предобработки семян в течение 1 суток 1% растворами аминокислот (метионин, серин, треонин) на содержание фотосинтетических пигментов (ФСП) в 10 дневных проростках озимой пшеницы сорта Элегия, выращенных при последующем засолении (150 и 300 мМ NaCl). Сравнивая действие протестированных аминокислот между собой, можно заключить, что среди них наибольшим защитным действием обладает треонин: предобработка этой аминокислотой повышает устойчивость проростков озимой пшеницы к последующему засолению. Причем, на 2 сут действия 150 мМ NaCl зафиксирован достоверный рост содержания ФСП, при увеличении экспозиции в растворе этой концентрации до 3 сут не выявлено достоверных изменений содержания ФСП. Более того, при действии NaCl высокой концентрации (300 мМ) уровень ФСП не отличался от контрольной величины. На второе место по протекторным свойствам можно поставить аминокислоту серин. Предобработка ею семян пшеницы оказывала защитное действие на проростки, обработанные 150 мМ NaCl: выявлено достоверное увеличение содержания ФСП после 2 сут-экспозиции в растворе соли и не зафиксировано достоверных различий в количестве пигментов по сравнению с контролем после 3сут-экспозиции. Протекторный эффект метионина проявился только при действии 150 мМ NaCl в течение 3 сут.

Разработка технологии распознавания изображений высших растений с использованием методов машинного обучения

Бондаренко В.Ю., Барковский А.В., Шашко А.Ю., Демидчик В.В.*

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: dzemidchyk@bsu.by

Создание современных методов фенотипирования высших растений требует внедрения наиболее инновационных подходов информатики и анализа изображений. Одним из перспективных подходов в этой области является использование так называемых технологий машинного обучения, представляющих собой класс методов искусственного интеллекта. Данные методы позволяют производить обучение системы на примерах с различной степенью проявления признака, связанных с какой-либо заранее неизвестной закономерностью. При этом определяются математические правила, с помощью которых пример относится к той или иной категории согласно значению признака. Наибольшая точность при решении задач фенотипирования растений и других биологических систем на сегодняшний день достигается при использовании «свёрточных» нейронных сетей (Convolutional Neural Network). Автоматическая обработка изображений при помощи нейронных сетей может использоваться для классификации растений по виду или физиологическому состоянию, присутствию симптомов болезней, изменению морфологических параметров под действием внешних и внутренних факторов. Целью настоящей работы являлось создание аппаратно-программного комплекса для получения и распознавания изображений высших растений с использованием методов машинного обучения. Для разработки нейронной сети была использована архитектура MobileNet (Google), которая имеет ряд преимуществ, таких как низкая требовательность к ресурсам и мощности операционной системы, короткий период обучения сети, высокая точность распознавания объектов, небольшое количество параметров, снижающее тенденцию сети к переобучению и др. В ходе разработки нейронной сети тестировались различные вспомогательные методы, позволяющие улучшить точность результатов анализа и достичь более быстрой сходимости при обучении. Среди них были ReLU (rectified linear unit), Xavier Initialization, Batch Normalization, обрезание градиента, аугментация тренировочных данных, добавление в loss-функцию зависящего от весов нейронов коэффициента и стандартный стохастический градиентный спуск (RMSprop, Adagrad, AdaDelta, Adam). При реализации модели на основе MobileNet были использованы библиотеки TensorFlow и Keras, облегчающие описание, обучение и эксплуатацию нейронных сетей. Для обучения свёрточной нейронной сети была создана база данных паттернов высших растений таких видов, как туя западная (*Thuja occidentalis* L.), форзиция средняя (*Forsythia intermedia* Vahl), гейхера мелкоцветковая (*Heuchera micrantha* Douglas ex Lindl.), сирень обыкновенная (*Syringa vulgaris* L.), орхидея (*Phalaenopsis* × *hybridum* Blume). Для обеспечения высококачественной съемки объектов была разработана система, включающая в себя фенотипный бокс синего цвета (2х2х3 м), осветительные системы с возможностью регулировки количества света и пять камер (NIKON D3400 Kit AF-P 18-55 mm VR) на дистанционном управлении, расположенных с четырёх сторон и сверху от изучаемого объекта. Реализована возможность распознавания растений, определения их физиологического состояния, выявления поражённых зон. При этом коэффициент детерминации R^2 равен 0,662, что близко к показателю

специалиста ($R^2 \approx 0,85$), и имеется возможность повышения точности анализа изображений.

Динамика суточного роста листьев томата и перца

Коломиец О.О., Глушен С.В.*

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: sglush@mail.ru

Процесс роста растений представляет собой необратимое увеличение размеров растения в ходе таких процессов как деление, растяжение и дифференцировка клеток. Закономерности роста растения зависят от его видовой принадлежности, стадии развития и условий произрастания. Темпы роста на различных уровнях организации растения отражают возможности его функционирования в условиях постоянных флуктуаций факторов внешней среды. В частности, отобранные по темпам роста генотипы, могут давать максимальный конечный урожай в таких неоптимальных условиях как засуха, засоленность и низкие температуры. У двудольных растений имеются два типа суточного роста. Для первого характерен максимальный рост листьев рано утром. К нему, в частности, относятся такие виды как клевер, табак и арабидопсис. Ко второму типу принадлежат растения с максимальным ростом листьев в конце дня или начале ночи, например, тополь дельтовидный, кипарисовик и соя. Цель данной работы заключалась в исследовании суточного роста таких широко распространенных овощных культур как томаты и сладкий перец. Суточный мониторинг роста растений проводили методом DISP (digital image sequence processing). Культивируемые в лабораторных условиях растения фотографировали с помощью фотокамеры Nikon D40 под управлением программы, которая обеспечивает получение снимков каждые 3 минуты в течение суток. Установлено, что у перца пик прироста наблюдается в начале ночи (0-2 часа). У томатов максимум прироста приходится на вторую половину ночи и раннее утро (3-8 часов). Таким образом, томат относится к первому типу суточного роста двудольных растений, тогда как сладкий перец – ко второму типу. Четкие кривые прироста листьев получены при режиме «день-ночь» 12:12. При круглосуточном освещении отмечена высокая вариабельность кривых прироста. Это свидетельствует, что режим освещения играет, вероятно, ведущую роль в синхронизации процессов пролиферации и дифференцировки клеток мезофилла листа. В целом можно заключить, что применение метода DISP открывает новые возможности в изучении влияния на рост и развитие растений генетических, физиологических и экологических факторов.

Синтез наночастиц серебра на основе технологий «зеленого» наносинтеза и анализ их фунгицидной активности

Лукашевич В.А., Лещенко Ю.В., Ветошкин А.А., Пржевальская Д.А.,

Соколик А.И., Демидчик В.В.*

^АБелорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: dzemidchyk@bsu.by

Наночастицы находят широкое применение в различных сферах жизни человека, от микроэлектроники до медицины и гигиены, в связи с чем производство наночастиц постоянно растет. Возникает проблема необходимости введения наночастиц в биологические системы, что требует промышленного получения биосовместимых,

экологически безопасных частиц, обладающих широким спектром биологических активностей. Подобное производство возможно обеспечить развитием техники «зеленого» наносинтеза, суть которого заключается в использовании растительных экстрактов в качестве системы восстановления и стабилизации металлических наночастиц. Стабилизирующая оболочка органического происхождения, получаемая в ходе так-называемого «зеленого» наносинтеза, придает наночастицам специфические свойства, связанные с уникальным биохимическим составом растительного экстракта и режимом проведения реакции наносинтеза. Целью настоящей работы являлось создание методики «зеленого» синтеза серебряных наночастиц, обладающих высокой биоцидной активностью. Для достижения поставленной цели решались следующие задачи: 1) подобрать условия наносинтеза, апробировать различные растительные экстракты в качестве систем восстановления и стабилизации наносеребра и методы первичной спектрофотометрической детекции наночастиц; 2) разработать подходы анализа физических параметров серебряных наночастиц, полученных методом «зеленого» наносинтеза, на основе атомно-силовой и электронной микроскопии; 3) установить характер воздействия наночастиц серебра, полученных методами «зеленого» наносинтеза, на развитие инфекций *Septoria nodorum* и *Fusarium culmorum*; сравнить их биоцидную активность с ионами серебра. В работе использовалась стандартная техника холодного наносинтеза. Протоколы получения и введение экстрактов в растворы с ионами серебра подбирались опытным путем в результате рутинного тестирования спектрофотометрических показателей полученных суспензий. Появление пика соответствующего характеристического пика поглощения в 400 нм являлось маркером синтеза наночастиц. Проводилась оценка экстрактов четырех видов растений (ели европейской, хвои сосны обыкновенной, корнеплода моркови посевной и клубня картофеля посевного). В дальнейшем после верификации наносинтеза суспензии наночастиц проходили детальное тестирование с использованием атомно-силовой (АСМ) и сканирующей электронной микроскопии. Биоцидная активность тестировалась путем протравливания зараженных семян или обработки зараженных листьев яровой пшеницы (*Triticum aestivum*); источником инфекции служили плесневые грибы *Fusarium culmorum* и *Septoria nodorum*. В результате проведенных опытов было показано наличие наночастиц в полученных на основе четырех растительных экстрактов суспензиях серебряных наночастиц, о чем свидетельствовало появление пика поглощения в области 400 нм. Результаты тестов с использованием АСМ-микроскопии продемонстрировали наличие в растительных экстрактах большого числа наночастиц органического происхождения; устранение данной фракции возможно при помощи центрифугирования экстракта до соединения его с ионами серебра. При заражении семян *Septoria nodorum* высокие показатели всхожести отмечались для проростков, полученных из семян, протравленных суспензией серебряных наночастиц, полученных на основе экстракта хвои (ели европейской). В случае заражения семян *Fusarium culmorum* наночастицы серебра, синтезированные на основе экстрактов моркови посевной и ели европейской, повышали всхожесть на 97% и 89%, соответственно, относительно контрольных образцов (без протравливания); по данным биоцидным показателям «зеленые» наночастицы превосходили ионы серебра и наночастицы серебра, синтезированные химическим путем. Бензимидазольный тест показал высокую эффективность наночастиц, синтезированных при помощи техники

«зеленого» наносинтеза на основе экстрактов сосны обыкновенной, или европейской и моркови посевной, по отношению к распространению *Fusarium culmorum* и *Septoria nodorum*. Полученные данные указывают на целесообразность разработки препаратов на основе серебряных наночастиц, полученных методами «зеленого» наносинтеза в качестве эффективных биоцидных агентов при борьбе с *Fusarium culmorum* и *Septoria nodorum*.

**Влияние фуллеренола на фотосинтетические параметры проростков ячменя
Молчан О.В.*, Запрудская Е.В., Куделина Т.Н., Зубей Е.С.**

Институт экспериментальной ботаники НАН Беларуси, Минск, Беларусь

*Email: olga_molchan@mail.ru

Фуллеренол – углеродные наночастицы диаметром около 1 нм с симметрично расположенными на сфере C_{60} гидроксильными группами. Важной особенностью фуллеренолов являются фотосенсибилизирующие свойства и способность связывать свободные радикалы. Так, с одной стороны, фуллеренолы могут продуцировать активные формы кислорода при возбуждении видимым и ультрафиолетовым светом. С другой – установлена их антирадикальная активность. В работах последних лет показано, что высокая стабильность и уникальные физико-химические свойства углеродных наноматериалов потенциально позволяют использовать их для улучшения функциональных характеристик фотосинтетического аппарата растений. Не исключено, что такими свойствами могут обладать и фуллеренолы. Цель данной работы – исследование влияния фуллеренола $[C_{60}(OH)_{24-26}]$ на фотосинтетические параметры проростков ячменя. В результате проведенных исследований было установлено, что фуллеренол в концентрации 1-100 мг/л стимулирует рост проростков ячменя с более выраженным эффектом низких (1-2 мг/л) концентраций наночастиц. Такая стимуляция могла быть обусловлена, как активацией прорастания семян, так и более эффективным ростом проростка. Одним из параметров, характеризующих физиологическое состояние растения, является удельная поверхностная плотность листа (УППЛ), косвенно характеризующая толщину листа и долю в нем сухого вещества. Этот параметр обычно положительно коррелирует с интенсивностью фотосинтеза, как в генотипическом плане, так и при варьировании условий выращивания. В данной работе были обнаружены стимулирующие эффекты фуллеренола в концентрации 1-2 мг/л на величину УППЛ 7-дневного листа проростка. Важно отметить, что под действием фуллеренола во всех исследованных концентрациях не наблюдалось существенных изменений содержания фотосинтетических пигментов. При этом, фуллеренол в концентрации 1-10 мг/л вызывал снижение интенсивности флуоресценции хлорофилла и увеличение значений параметров Fv (переменная флуоресценция - разница в интенсивности флуоресценции хлорофилла при закрытых и открытых РЦ фотосистем) и Rfd (отношение переменной флуоресценции к ее максимальному значению, величина, которая хорошо коррелирует с фотосинтетической продуктивностью клеток). Таким образом, можно предположить, что под влиянием фуллеренола изменяется функционирование ССА и РЦ фотосинтеза и это непосредственно отражается на фотосинтетической продуктивности растений. Предполагается также, что наблюдаемые изменения могут быть обусловлены модификацией антиоксидантных систем под действием наночастиц фуллеренола.

Воздействие наночастиц серебра, полученных на основе «зеленого» наносинтеза, на развитие корневой системы микроклонов *Salix fragilis* L. и контаминация патогенными грибами в культуре *in vitro*

Пржевальская Д.А.^{А*}, Черныш М.А.^А, Костень А.А.^А, Горский И.А.^А,
Уснич С.Л.^А, Колбанов Д.В.^Б, Шашко А.Ю.^А, Смолич И.И.^А, Демидчик В.В.^А

^АБелорусский Государственный Университет, Минск, Беларусь

*Email: daryaprzhevalskaia@gmail.com

^БРеспубликанское учебно-опытное унитарное предприятие БГУ «Щемяслица»,
Минск, Беларусь

Наносеребро, полученное при помощи «зеленого» наносинтеза и с использованием биосовместимых реагентов, обладает рядом свойств, имеющих значительный интерес как с точки зрения фундаментальной науки, так и для прикладных разработок. Одним из направлений использования серебряных наночастиц, полученных с применением таких технологий является разработка новых регуляторов роста растений. Наши результаты (Sosan *et al.*, 2016, Plant Journal) и некоторые литературные данные указывают на росто- и иммуностимулирующую активность серебряных наночастиц, введенных в среду выращивания в очень низких концентрациях. Имеется также большое число работ, демонстрирующих биоцидную активность серебряных наночастиц для различных видов бактерий и грибов. Рассматривая данные свойства серебряных наночастиц нами была выдвинута гипотеза, согласно которой они могут являться эффективным средством для повышения уровня жизнеспособности и укоренения черенков древесных растений, а также в качестве биоцидного препарата против контаминирующих инфекций, повреждающих растения в условиях *in vitro*. Таким образом, целью настоящей работы являлось установить характер воздействия наночастиц серебра на формирование и рост корневой системы древесных растений в условиях *in vitro* при параллельном анализе их биоцидной активности по отношению к ключевым контаминирующим грибным инфекциям, таким как *Penicillium sp.* и *Aspergillus sp.*. Объектом исследования являлась культура *in vitro* *Salix fragilis* L., культивируемая на 100% среде Woody Plant Medium (WPM; Duchefa) с добавлением 0,3-300 мг/л наночастиц серебра. Для синтеза наночастиц серебра использовались методы «зеленого» наносинтеза. В качестве восстановителя использовались L-аскорбиновая кислота и экстракт ели. Поливинилпирролидон (ПВП), полимер, отличающийся высокой биосовместимостью, использовался в качестве стабилизатора наночастиц. Было испытано несколько протоколов наносинтеза, отобранные наиболее эффективные. На средах с введенными наночастицами в различных концентрациях анализировалось изменение длины корней и побегов, а также диаметр колоний грибов *Penicillium sp.* и *Aspergillus sp.*, контаминирующих культуру при нарушении стерильных условий (на 14 сут). Было продемонстрировано, что наночастицы, приготовленные на основе L-аскорбиновой кислоты, в концентрации 3 мг/л стимулируют рост корней и побегов *Salix fragilis* L. и индуцируют корневое ветвление. Для наночастиц, полученных с помощью экстракта ели наблюдались схожие результаты. Выраженное фунгицидное действие проявлялось на средах, содержащих 100 и 300 мг/л наночастиц, полученных на основе L-аскорбиновой кислоты, и 300 мг/л наночастиц, полученных на основе экстракта ели. Таким образом, в ходе проведенных исследований можно сделать следующие выводы: серебряные наночастицы, полученные с использованием методов «зеленого»

синтеза, оказывают стимулирующее действие на рост корневой системы древесных растений в условиях *in vitro*, а также индуцируют корневое ветвление в концентрации 0,3-3 мг/л; высокие концентрации серебряных наночастиц 100-300 мг/л обладают фунгицидной активностью по отношению к плесневым грибам *Penicillium sp.* и *Aspergillus sp.*.

Получение пектинов из плодов *Malus* и *Pirum* и определение их физико-химических свойств

Стжалковская Д.А.*, Куделько С.Н., Токунова Д.А., Гундарь Е.В.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: dasha.stzhalkovskaja@mail.ru

Пектин – полисахарид природного происхождения, благодаря своим уникальным свойствам применяется в различных отраслях: пищевой и фармацевтической промышленности, косметологии, медицине. Благодаря широкой сфере использования, спрос на пектин с каждым годом увеличивается. Массовое применение базируется на двух основных свойствах пектина: структурообразующей способности, а также способности образовывать комплексы с тяжелыми металлами. Несмотря на то, что с момента открытия пектиновых веществ прошло более двухсот лет, химическое строение этих соединений стало изучаться только в последние десятилетия, потому что возникают большие трудности получения чистых препаратов пектиновых веществ в нативном состоянии из-за того, что пектиновые вещества сверхчувствительны к различным химическим и термическим воздействиям. Начиная с середины XIX в. была открыта и экспериментально подтверждена способность пектина (первоначально яблочного) связывать ионы тяжелых металлов, что позволило использовать его в качестве детоксиканта при отравлениях солями свинца и ртути. Известно, что пектиновые вещества встречаются во всех частях растений: в корнях, в стеблях, в соцветиях, в листьях и главным образом – в плодах и овощах. В настоящее время известны различные способы экстракции пектина из пектин-содержащего сырья. Эти способы основаны на важнейших процессах, таких как: экстракции измельченного высушенного сырья горячей водой, растворами органических и неорганических кислот, фильтрации, вакуумном упаривании экстракта, осаждении пектина из упаренного экстракта этанолом или ацетоном с последующим отделением или сушкой. Основными факторами, определяющими экстракционный процесс, помимо вида используемого сырья, являются: применяемый экстрагент, технологические параметры ведения процесса гидролиза-экстракции пектина (*pH* реакционной среды, температура и время обработки). Целью данной работы было выделение и определение сорбционных свойств пектина, выделенного из плодов *Malus* и *Pirum*. В качестве объекта исследования нами был выбран яблочный пектин из высушенных плодов *Malus* и *Pirum*. Для определения сорбционных свойств полученного пектина, проводили исследования комплексометрическим методом с использованием метода Оствальда. Установлено, что наибольший выход пектиновых веществ из плодов *Malus* наблюдается при использовании в качестве гидролизующей смеси соляной кислоты в концентрации 20%, оптимальное время процесса экстракции – 1 час, а температура процесса 70°C, а из плодов *Pirum* – 2 часа при температуре 70°C. Для определения возможности связывать ионы тяжёлых металлов было установлено содержание свободных кислотных групп, которое составляет –

74,67±5,33 % и его сорбционная способность – 207,96±5,21 мг Рb²⁺/г пектина). По полученным экспериментальным данным можно сделать вывод, что выделенный пектин из плодов *Malus* и *Pirum* обладает достаточно высокими сорбционными свойствами.

Влияние наночастиц меди на ростовые характеристики и содержание фенольных соединений в свободных и иммобилизованных в кальций альгинатном геле клетках *Catharanthus roseus* (L.) G. Don
Филиппова С.Н.*, Потороченко О.В., Демидчик В.В., Юрин В.М.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: svetlan_rom@mail.ru

Наночастицы (НЧ) неорганических материалов представляют собой перспективные агенты для использования в развитии инновационных методов в современной биотехнологии. Они обладают измененными структурными и физико-химическими свойствами по сравнению с данными характеристиками тех же веществ в ионной форме, либо в форме дисперсий частиц более крупного размера. Это обуславливает их специфическое биологическое действие. В силу этого, наноматериалы находят широкое применение в сельском хозяйстве, фармакологии, медицине и других отраслях производства. Однако данные агенты могут обладать и токсическими эффектами. Поэтому исследование влияния НЧ на физиологические характеристики живых систем представляется весьма актуальным. Уникальными объектами для изучения ответов клеток на воздействие различных экзогенных факторов являются растительные клеточные культуры *in vitro*. Среди перспективных биотехнологических приемов, позволяющих регулировать биосинтетическую продуктивность в культурах растений, можно выделить иммобилизацию клеток в кальций-альгинатных гелях. Целью настоящей работы являлось изучение действия НЧ меди в концентрациях 1, 5 и 25 мг/л на ростовые параметры, содержание суммы фенольных соединений (ФС) и флавоноидов (ФЛ) в свободных и иммобилизованных в кальций-альгинатном геле клетках и среде инкубации суспензионной культуры *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. В результате проведенных исследований было показано, что присутствие наночастиц меди во всех исследуемых концентрациях в среде инкубации свободных клеток приводило к существенному уменьшению прироста их биомассы. Максимальный ингибирующий эффект (91%) наблюдался при включении в среду культивирования наночастиц в концентрации 25 мг/л. При добавлении НЧ в данной концентрации в среду инкубации иммобилизованных клеток ингибирующий эффект по сравнению со свободными клетками составлял 63%, а по сравнению с контрольными иммобилизованными клетками – 47%. Внесение наночастиц меди в среду культивирования свободных клеток культуры *C. roseus* также приводило к снижению накопления суммы ФС и ФЛ в клетках. Однако на фоне высокой концентрации наночастиц меди (25 мг/л), внесенных в среду инкубации, в иммобилизованных клетках наблюдалось повышение накопления суммы ФС по сравнению со свободными и иммобилизованными клетками на 223 и 139%, соответственно. Также было выявлено, что добавление наночастиц меди в концентрациях 5 и 25 мг/л в среду культивирования иммобилизованных клеток *C. roseus* приводит к стимуляции спонтанной экскреции суммы ФС и ФЛ в среду инкубации по сравнению с индивидуальным действием иммобилизации в кальций альгинатном геле. Таким образом, при сочетанном воздействии иммобилизации и

наночастиц меди в концентрациях 5-25 мг/л на клетки суспензионной культуры *C. roseus*, вероятно, запускаются специфические ответные реакции клеток, приводящие к повышенной продукции соединений фенольного ряда.

Влияние хитозана и альгината натрия на ростовые параметры и содержание флавоноидов в клетках суспензионной культуры *Vinca minor* L.

Филиппова С.Н.*, Наборовская А.М.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: svetlan_rom@mail.ru

Vinca minor (L.) является ценным лекарственным растением. В его состав входят фармакологически активные терпеновые индольные алкалоиды, а также широкий спектр соединений фенольной природы. Препараты, полученные на основе сырья *V. minor*, являются активаторами церебрального метаболизма и, также, предполагается их антинеопластическая активность. Среди фенольных соединений особое значение имеют флавоноиды, обладающие антиоксидантными, ангишемическими и другими биологически-активными свойствами. Однако содержание вторичных метаболитов (ВМ) в лекарственных растениях может существенно варьировать в зависимости от экологических условий их произрастания и других экзогенных факторов. Это может вести к недостаточному уровню их накопления. В связи с этим, возникает потребность в поиске регуляторных приемов стимуляции накопления ценных ВМ в растительных организмах. Культуры *in vitro* являются уникальными объектами для исследования процессов регуляции биосинтеза и накопления биологически активных веществ. Среди перспективных природных фиторегуляторов можно выделить соединения биополимерной природы – хитозан и альгинат натрия. Рядом авторов была продемонстрирована их ростостимулирующая, элиситорная и другие типы активностей. В настоящее время влияние хитозана и альгината натрия на физиолого-биохимические характеристики клеток суспензионных культур лекарственных растений изучено недостаточно. Поэтому целью работы являлось изучение регуляторного действия биополимеров – альгината натрия и хитозана в концентрациях 0,003, 0,03 и 0,3% на ростовые параметры и содержание флавоноидов в суспензионной культуре *V. minor*. В результате проведенных исследований было установлено, что добавление альгината натрия в концентрациях 0,003-0,3% в среду культивирования суспензионной культуры *V. minor* приводило к стимуляции прироста биомассы на 21-55% по сравнению с контрольным вариантом. Максимальный стимулирующий эффект наблюдался при использовании данного биополимера в минимальной концентрации. В то время как включение хитозана в среду инкубации суспензионных клеток, напротив, приводило к ингибированию процессов роста. Так, хитозан в концентрации 0,003% незначительно ингибировал прирост биомассы клеток исследуемого растения, а в более высоких концентрациях – замедлял процессы роста на 89-94% по сравнению с контролем. При изучении влияния альгината натрия на накопление флавоноидов в суспензионной культуре *V. minor* было установлено, что присутствие данного биополимера в среде культивирования приводит к стимуляции содержания исследуемых ВМ. Максимальное накопление флавоноидов (5,8 мг/г сух. ткани) в клетках культуры было показано при использовании альгината натрия в концентрации 0,3%. При этом в контроле данный показатель составлял 1,7 мг/г сух. ткани. Добавление указанного биополимера в концентрации 0,3% также приводило к

повышению экскреции флавоноидов в среду культивирования. Включение хитозана в концентрации 0,003% в среду инкубации клеток исследуемого растения приводило к стимуляции накопления флавоноидов в клетках *V. minor* на 29% по сравнению с контролем. При этом данный биополимер в других концентрациях оказывал ингибирующее действие на содержание указанных ВМ в клетках суспензионной культуры. С другой стороны, при исследовании экскретируемых ВМ, было установлено, что хитозан в концентрации 0,3% приводил к повышению накопления флавоноидов в среде культивирования на 103% по сравнению с контрольным вариантом. Таким образом, было выявлено специфическое регуляторное действие хитозана и альгината натрия на ростовые параметры и содержание флавоноидов в суспензионной культуре *V. minor*.

Разработка технологии биовосстановления ионов серебра в наночастицы с использованием экстрактов лекарственных растений

Чижик О.В.*, Ковзунова О.В., Мазур Т.В.

Государственное научное учреждение «Центральный ботанический сад НАН Беларуси», Минск, Беларусь. *Email: chizhikolga17@gmail.com

В настоящее время бурно развивается область нанотехнологий, связанная с получением, изучением и применением частиц чистых элементов и их соединений. Наночастицы обладают высокой биологической активностью, а благодаря сверхмалым размерам способны проходить мембранные барьеры живых организмов, что нашло широкое применение в медицине, биологии и промышленности. При разработке технологии биогенного синтеза наночастиц с использованием растений важным этапом является выбор кандидатур на роль «биофабрик» и поставщиков восстанавливающих агентов. В качестве восстановителя ионов металлов в наночастицы могут выступать растительные фенольные соединения, обладающие сильными окислительно-восстановительными свойствами. Большое влияние на формирование наночастиц оказывают pH и температура растительного экстракта. Изменение pH приводит к изменению заряда природных фитореагентов в составе экстракта, что влияет на их способность связывать и восстанавливать катионы и анионы металлов в процессе синтеза наночастиц, а это, в свою очередь, может влиять на их форму, размер и выход. Повышение температуры способствует увеличению скорости реакции и эффективности синтеза наночастиц. Цель исследований – установить условия биогенного синтеза наночастиц серебра с использованием экстрактов *in vitro* культур из коллекции отдела биохимии и биотехнологии растений ЦБС. Показано, что наименьшее время, необходимое для формирования максимально возможного количества наночастиц серебра, характерно для экстрактов из *in vitro* культур *Agastache rugosa* (10 мин) и *Silybum marianum* (13 мин). Полученные данные коррелируют с высоким содержанием восстанавливающих агентов в этих экстрактах, особенно из каллуса *Agastache rugosa*. При этом наибольшее количество наночастиц серебра образовалось из 1×10^{-2} моль/л водного раствора AgNO_3 с использованием экстракта из корневого каллуса *Silybum marianum*. Также нами оценивалось биовосстановление наночастиц серебра при различных значениях pH экстракта: 1,3,5,7,9 и 11. Показано, что для образования наночастиц серебра оптимальным является щелочное значение pH, с максимумом при pH 9 и 11. Нами установлены первичные условия биогенного синтеза наночастиц серебра с использованием различных экстрактов лекарственных

растений. Максимальный выход наночастиц серебра показан для реакционной смеси экстракта из каллусной культуры *Silybum marianum* и водного раствора AgNO_3 в концентрации 1×10^{-3} моль/л, инкубированных при pH 9 и $t=18^\circ\text{C}$.

Разработка системы фенотипирования декоративных древесных растений на основе HSV-анализа

Шашко А.Ю., Михальченко А.А., Краснопрошин В.В., Вальвачев А.Н., Абламейко С.В., Демидчик В.В.*

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: dzemidchyk@bsu.by

Феномика растений – область биологии, связанная с анализом феномов – физических и биохимических черт организмов, отражающих динамику изменений фенотипа растений. Собственные феномные платформы развиты во многих странах мира (Германия – LemnaTec, Канада – Qubit, Нидерланды – Phenospex, Чехия – Photon Systems и др.); их ключевой характеристикой является возможность одновременного автоматического анализа большого числа образцов как в лабораторных, так и в полевых условиях по целому спектру параметров. Развитие технологий феномного анализа для создания собственной феномной платформы представляется целесообразным как с точки зрения фундаментальной науки, так и для получения экономической выгоды. Целью настоящей работы являлось создание пилотного образца феномной платформы на базе HSV-анализа. В качестве примеров, важного с точки зрения биотехнологии растений использовались черенки туи западной (*Thuja occidentalis* L.), укореняемые в лабораторных условиях. Растения культивировались в нестерильных условиях на субстрате, содержащем вермикулит и верховой торф (1:1). Был разработан и собран специализированный феномный бокс (2х2х3 м) из синего пластика. Для обеспечения оптимальных условий фотосъемки были разработаны и апробированы осветительные системы на основе листа алюминиевого (30х60 см) с возможностью одновременного включения 4 или 8 светодиодных ламп. Фотосъемка производилась пятью стационарно расположенными камерами (NIKON D3400 Kit AF-P 18-55 mm VR) на дистанционном управлении. Обработка полученных изображений осуществлялась при помощи программного обеспечения, написанного на основе открытых библиотек алгоритмов компьютерного зрения OpenCV. Разработанный комбинированный алгоритм дает возможность качественно и быстро выделить необходимые цветные характеристики за счет использования преобразований изображений: удаление шумов, определение и улучшение цветовой маски, фильтрация областей маски, извлечение и обработка числовых характеристик.

Влияния спектрального состава LED-источников на активность редокс-ферментов в листьях винограда при адаптации *ex vitro* на ионообменных субстратах

Янчевская Т.Г.^А, Гриц А.Н.^{А*}, Олешук Е.Н.^А, Никонович Т.Г.^В

^А ГНУ «Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купrevича НАН Беларуси», Минск, Беларусь

^В УП БГСХА г. Горки, Беларусь. *Email: griz_-64@mail.ru

Проведены исследования по оценке влияния света различного спектрального состава на адаптацию и развитие саженцев винограда, полученных микроклональным путем,

при адаптации их в асептические условия *ex vitro*. Как известно, устойчивые и неустойчивые генотипы растений проявляют различный ответ на действие биотического и абиотического стресса, реакция которого обусловлена генетическими особенностями сорта (его сортоспецифичностью). Нивелирование последствий стресса происходит за счет активации специфических ферментов из группы оксидоредуктаз (изоферменты пероксидазы и СОД). Для оценки активности пероксидазы в листьях винограда за основу взята методика, модифицированная для древесных растений с высоким содержанием лигнина в листьях. Показано участие пероксидазы и СОД по детоксикации АФК при культивации в условиях с недостаточно оптимизированным по спектральному составу ФАР освещенностью (с преобладанием синего или красного диапазона спектра). Согласно данным нативного электрофореза у сортов активируются анионные изоферменты пероксидазы. При абиотическом стрессе вследствие низкого коэффициента ФАР и разбалансированностью освещения по соотношению диапазона красного и синего света, (R/B, красный/синий) активность пероксидазы как правило, изменяется в сторону увеличения. При этом их активность различна и обусловлена сортоспецифичностью винограда. Высокая активность пероксидазы может быть обусловлена увеличением концентрации H_2O_2 (как одной из АФК) в примембранном пространстве или в цитоплазме вследствие стресса. Наличие перекиси, как и ответная активация изопероксидаз, обычно находятся в динамическом равновесии, но высокая активность пероксидазы косвенно свидетельствует, что сорт обладает высоким уровнем стрессоустойчивости и способно к реализации антиоксидантной защиты. Переход из приграничного состояния устойчивого равновесия ведет к нарушению редокс-статуса клетки, которое индуцирует активацию ферментов из группы оксидоредуктаз в листьях вегетирующих растений. Установлена высокая адаптивность саженцев американских сортов *Маркетт* и *Маршал Фош*, которые достаточно легко приспосабливаются к условиям культивации при недостатке ФАР. Выявлена значительная стрессоустойчивость биологически пластичного универсального *с.Маркетт*, который при различном спектральном составе LED-источников (соотношении R/B) быстро прошел стадию адаптации и возобновил рост и развитие. Высокая исходная активность пероксидазы у *с.Маркетт* свидетельствует о его высокой потенциальной устойчивости к абиотическим и биотическим стрессовым воздействиям. Столовые сорта (*Аладдин*, *Красотка*, *Чарли*) ввиду меньшей стрессоустойчивости, обусловленной генетически, выявили незначительную пластичность, что привело к выпадению саженцев при их адаптации *ex vitro* (до 48–64 % в зависимости от сорта). Представленные исследования позволяют сделать вывод, что такой параметр как активность пероксидазы и состав ее изоформ может быть использован для выявления активации стрессо-защитных механизмов растений винограда экспресс-методом. По комплексу физиолого-биохимических критериев оценки, выделены адаптивные биологически пластичные сорта винограда *Маркетт* и *Маршал Фош*, наиболее перспективные для интродукции в природно-климатических условиях Беларуси. Работа выполнена при поддержке БРФФИ по гранту № Б17-155 от 18.04. 2017 г.

The application of brassinosteroids in tree rooting technologies

Demidchik V.^{1*}, Przhevalskaya D.¹, Charnysh M.¹, Gorsky I., Usnich S.¹, Smolich I.¹, Kolbanov D.¹, Zhabinskii V.N.², Khripach V.A.², Sokolik A.¹

¹Department of Plant Cell Biology and Bioengineering, Biological Faculty, Belarusian State University, 220030, 4 Independence Ave., Minsk, Belarus

*Email: dzemidchyk@bsu.by

²Institute of Bioorganic Chemistry NASB, Minsk, Belarus

Plant propagation techniques using seeds or *in vitro* cloning are still not available for most ornamental cultivars of woody plants. Trees can lose their unique phenotypes when transferred to *in vitro* systems. Thus development based on the classical rooting technologies with green cuttings is crucial for improvement of propagation of green cuttings (shoot cuttings). To induce rhizogenes in green cuttings, ornamental horticulturists mainly use auxins, such as indole-3-butyric acid (IBA) or indole-3-acetic acid (IAA). However other hormones can also potentially be applied for rooting. Recent studies have shown that brassinosteroids (BRs) can act as synergists of auxins. Here we tested the hypothesis that these substances can also stimulate rhizogenes in trees and shrubs. We have examined the ornamental woody plants. These methods have low effectiveness but they make it possible to cultivate very high quality elite plant clones. Bioengineering approaches used for vegetative propagation of ornamental plants should rely on new techniques for increasing rate of rooting and survival of effect of epibrassinolide (EB), homobrassinolide (HB) and epicastasterone (EC) on rooting of green cuttings of *Thuja occidentalis* L. (Smaragd), *Picea abies* L. (Nidiformis), *Juniperus scopulorum* Sarg. (Blue Arrow), *Berberis thunbergii* DC (Dart's Red Lady), *Cotoneaster lucidus* Schlecht., *Acer platanoides* L. (Drummondii) *Crataegus x media* (Paul's Scarlet) and *Forsythia x intermedia* (Golden Time). We also compared effects of BRs with the action of auxins and substances with combined BR/auxin structures, such as tetraindolbrassinolide (TIBR), tetraindolcastasterone (TICS) and indolcastasterone (ICS). Obtained results have demonstrated that, in control group (treated with water), the rate of rooting was very low (10-20%). Treatment with of BRs increased rooting rate by two- to five-fold. Very similar results were obtained for auxins, however, in some cases, auxins were less effective as BRs. Response to BRs varied in different species suggesting significant complexity and evolutionary divergence in BR action on rooting of woody plants. *Picea abies* L., *Juniperus scopulorum* Sarg. and *Berberis thunbergii* DC demonstrated highest rooting rate after treatment by BRs. Intriguingly, EC was the most effective stimulator for some woody plants with much greater effect than other BRs and auxins. TIBR, TICS and ICS demonstrated less pronounced effects on rooting however they also caused some stimulation. Overall, these data demonstrated that BRs act as stimulators of formation of root system in woody plants and can be used commercially for root growth stimulation in plant biotechnology and ornamental horticulture.

Гормональная регуляция органогенеза орхидей при клональном микроразмножении *in vitro*

Большакова Е.В., Емельянова И.С., Лукаткин А.С.*

Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, Саранск, Российская Федерация. *Email: aslukatkin@yandex.ru

Орхидеи – интересная группа растений, многие из которых являются редкими и внесены в списки исчезающих видов. Одним из возможных путей сохранения

орхидных является их искусственное размножение в культуре *in vitro* с последующим введением в практику цветоводства как высокодекоративных растений, либо возвращением в естественную среду обитания. Для решения проблемы сохранения редких и исчезающих видов, увеличения количества посадочного материала растений широко используются биотехнологические методы, в том числе клональное микроразмножение (КМР) растений. Важнейшим параметром при КМР является грамотно подобранный состав питательной среды, особенно соотношение и концентрация регуляторов роста (РР) в ней. В работе анализировали влияние различных концентраций цитокининов (6-бензиламинопурина (6-БАП), тиадазурона, кинетина) в совокупности с 0,5 мг/л индолилуксусной кислоты (ИУК) в среде Мурашиге-Скуга (МС) на органогенез растений-регенерантов орхидей ванды гибридной (*Vanda hybrida*), анектохилуса Роксбурга (*Anectochilus roxburghii* Wall.) и липариса Лёзеля (*Liparis loeselii* L.). Растения культивировали в условиях постоянного освещения белыми люминесцентными лампами при температуре 20–24°C. Ежедневно учитывали количество и длину листьев и побегов, образование и длину корней. Для ванды гибридной наиболее эффективными в плане органогенеза оказалась среда с кинетином (2,5 мг/л), позволившая получить максимальные значения по ряду измеренных параметров. При культивировании растений-регенерантов анектохилуса Роксбурга максимальные длины побегов и количество корней отмечены при выращивании на среде МС с добавлением кинетина (2,0 мг/л) + 0,5 мг/л ИУК. При культивировании липариса Лёзеля также лучшим оказался вариант среды МС с добавлением кинетина (2,0 мг/л) + 0,5 мг/л ИУК, где выявлены пиковые значения по длине и количеству побегов и листьев. Однако на ризогенез липариса изученные РР оказали негативное воздействие. Таким образом, вид и концентрация внесенных РР оказывают существенное влияние на формирование и рост побегов, корней и листьев растений-регенерантов орхидей в культуре *in vitro*. Авторы выражают благодарность сотрудникам Лаборатории клеточной биотехнологии Центрального ботанического сада НАН Республики Беларусь за любезно предоставленные для исследования пробирочные растения орхидей.

Разработка методики акклиматизации регенерантов некоторых декоративных аквариумных растений

Константинов А.В.^{А*}, Грищенко И.В.^Б

^АИнститут леса НАН Беларуси, Гомель, Беларусь. *Email: avkonstantinof@mail.ru

^БГомельский государственный университет им. Ф. Скорины, Гомель, Беларусь

Мировая практика показала безусловную эффективность биотехнологических методов размножения декоративных водных растений. Вместе с тем существует ряд особенностей их акклиматизации в аквариумах, связанную со специфическими условиями культивирования *in vitro*, что ограничивает широкую коммерциализацию и требует оптимизации технологии. В качестве экспериментального материала использовали регенеранты *Alternanthera reineckii* Griseb. и *Staurogyne repens* (Nees) Kuntze из коллекции культур *in vitro*, пролиферируемые после 1 месяца культивирования на среде MS, дополненной регуляторами роста цитокининовой (6-ВАР, 0,5 мг·л⁻¹) и ауксиновой (NAA, 0,1 мг·л⁻¹) природы. В почвенные условия переводили микропобеги альтернантеры и стаурогина со средней длиной 6,1±1,9 см и 4,9±1,7 см соответственно. Культивирование растений *ex vitro* проводили в

адаптационном помещении при температуре $22\pm 3^{\circ}\text{C}$, интенсивности освещения 3,0–4,0 тыс. люкс и фотопериоде 16/8 ч. Выращивание проводили в полимерных горшочках объемом 100–150 мл, помещенных в емкости с водопроводной водой, накрытые стеклом. В качестве субстрата применяли только крупнозернистый речной песок или песок с питательной подложкой из низинного торфа. Растения высаживали непосредственно из питательной среды либо после предадаптации (последняя неделя пассажа) в водопроводной воде (100 мл), вносимой нестерильно. Использование субстрата с питательной подложкой определило более интенсивный рост саженцев альтернантеры, средняя длина акклиматизированных побегов составила $8,8\pm 2,6$ см, отмечалось преимущественное развитие главного побега и формирование крупных листовых пластинок. Выращивание в песке приводило к некоторому угнетению роста ($7,3\pm 1,6$ см), вытягиванию и истончению побегов. В то же время растения стаурогина отличались интенсивным кущением (до 6 побегов на саженец) и невысоким темпом роста как на песке ($6,2\pm 0,9$ см), так и при добавлении торфа ($6,6\pm 1,3$ см), однако в первом случае были отмечены признаки хлороза листьев, что говорит о недостатке минерального питания. Приживаемость предадаптированных растений изучаемых видов после 1 месяца культивирования достигала 96–100%, в то время как при непосредственной пересадке из агаризованной среды отпад составлял 13–27%. В результате экспериментов показана эффективность применения приема предадаптации и способа акклиматизации растений изученных видов на питательной подложке из низинного торфа.

Индукция побегообразования и ризогенеза на эксплантах ясеня обыкновенного ценных селекционных генотипов

Константинов А.В.*, Пантелеев С.В.

Институт леса НАН Беларуси, Гомель, Беларусь. *Email: avkonstantinof@mail.ru

Спелые древостои с высоким долевым участием ясеня обыкновенного занимают в Беларуси всего около 0,4% лесопокрытой площади. В то же время надежные методы его черенкования отсутствуют, а прививки малоэффективны в производственных условиях. Успешное сохранение лесных генетических ресурсов и массовое размножение селекционно-отобранных форм ясеня требует применения методов культуры тканей и изучения морфофизиологических особенностей культивирования *in vitro*. Экспериментальную работу проводили с использованием растительного материала из коллекции культур тканей (5 клонов). Базовыми служили среды MS, QL и модифицированная WPM, с полным или редуцированным составом макросолей, дополненные фитогормонами (цитокинины (6-BAP, TDZ), ауксины (IBA, NAA)) и углеводами (сахароза, глюкоза) в различных концентрациях. Условия выращивания: температура $23\pm 1^{\circ}\text{C}$ и постоянное освещение интенсивностью 3,5–4,5 тыс. люкс (лампы Osram типов Daylight и Fluora с участием 1:1). После микрочеренкования растений на одно-, двухузловые фрагменты, проводили культивирование эксплантов в сосудах объемом 300 мл по 10–15 шт. Продолжительность пассажа составляла 4 недели. Достоверных различий морфометрических показателей регенерантов на этапе мультипликации при использовании минеральных основ сред MS и QL не отмечалось. Показано, что сочетание фитогормонов 6-BAP ($1,0\text{--}2,0\text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$) и NAA ($0,1\text{--}0,5\text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$) в питательных средах позволяет инициировать морфогенез на 92–100% эксплантов и улучшает ростовые показатели микропобегов (до $4,4\pm 1,8$ см – средняя высота и $5,0\pm 1,5$ шт. –

среднее количество междоузлий). Отсутствие ауксинов в среде сказывалось негативно, отмечалась витрификация микрорастений. Использование тидиазулона ($0,1 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$) приводило к формированию плотного светло-зеленого базального каллуса и 1-4 шт. укороченных адвентивных побегов (средняя высота около $2,8 \pm 1,2 \text{ см}$), однако повышение коэффициента мультипликации за их счет неэффективно, так как в этом случае возрастает вероятность нарушения генетической стабильности материала. Коэффициент укоренения до 90-95% получали на средах WPM и MS с половинной концентрацией макросолей, с $10 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ сахарозы и α -нафтилуксусной кислотой ($0,5 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$). Введение в среду для ризогенеза 1,5-2 г/л активированного угля, способствовало усилению развития корней. На основании анализа факторов, влияющих на эффективность регенерации побегов и корнеобразования, нами были подобраны питательные среды для культивирования ясеня *in vitro*.

Морфогенез растений-регенерантов сортов винограда в культуре *in vitro* при использовании 6-бензиладенина, кинетина и тидиазулона

Красинская Т.А.^{А,Б*}, Шокель М.В.^Б, Змушко А.А.^А

^АРУП «Институт плодородства», ул. Ковалева, 2, а.г. Самохваловичи, Минский район, 223013, Беларусь

^БМГЭИ им. А.Д. Сахарова БГУ, ул. Долгобродская, 23, г. Минск, 220070, Беларусь.

*E-mail: krasinskaya@tut.by

Для улучшения морфогенеза и активации геммогенеза на этапе микроразмножения сортов винограда используют различные биологически активные вещества: 6-бензиладенин (БАП), тидиазурон (TDZ), зеатин, 2iP и кинетин. Цитокинины могут проявлять свою активность либо при добавлении в питательную среду по отдельности, либо в комбинации. Цель исследования – изучить влияние 6-бензиладенина, тидиазулона и кинетина на морфогенез растений-регенерантов сортов винограда Агат донской и Mars на этапе микроразмножения. Объекты исследований – межвидовые гибриды рода *Vitis* L. – Агат донской и Mars. Растения-регенеранты культивировали на модифицированной питательной среде Мурасиге-Скуга (MS), содержащей 6-БА, кинетин в концентрациях 1,1; 1,5 и 2 мг/л и тидиазурон (TDZ) в концентрациях 0,22; 1,1 и 2 мг/л. Эффективность этапа микроразмножения оценивали по следующим показателям: коэффициент размножения, доля витрифицированных растений, %, доля каллусообразования, %, доля растений с корнями, %. Длительность культивирования на пассаже – 28 дней. Исследования проводили на 4 и 5 пассажах. Анализ данных позволил отметить, что эффективность этапа микроразмножения с высокой степенью достоверности ($p < 0,001$) определялась генотипом растения, выбранной концентрацией и видом биологически активных веществ в питательной среде. Наибольшим потенциалом к геммогенезу обладал сорт Mars. Данная тенденция сохранялась на протяжении двух изучаемых пассажей. Влияние генотипа отмечалось на морфогенез растений-регенерантов при воздействии в среде различных биологически активных веществ – 6-БА, тидиазулона и кинетина. У сорта Mars на средах с кинетином отмечалось образование корней, на среде с 0,22 мг/л TDZ – покраснение стеблей и листьев. У сорта Агат донской на средах с TDZ у основания конгломератов образовывался каллус (4,2%). TDZ и кинетин вызывали увеличение доли витрифицированных растений у обоих сортов, что является негативным явлением при

микроразмножении. На изучаемых пассажах модифицированная питательная среда MS с добавлением 6-БА в концентрации 1 и 1,5 мг/л способствовала получению большего количества нормально развитых растений-регенерантов, без негативных явлений, отмечающихся при использовании TDZ и кинетина. В среднем, для изучаемых сортов использование модифицированной питательной среды MS с 1,1 и 1,5 мг/л 6-БА способствовало активации геммогенеза и коэффициент размножения составил 4,3 и 4,7.

Оценка эффективности действия 24-эпибрассинолида на индукцию побегообразования у эксплантов сортовой ежевики (*Rubus L.*) при асептическом введении *in vitro*

Кудряшова О.А., Волотович А.А.*

Учреждение «Республиканский лесной селекционно-семеноводческий центр»,
Минский р-н, Беларусь. *E-mail: volant777@tut.by

Ежевика является ценной ягодной культурой. Ее плоды по биохимическому составу близки к малине, а по содержанию биофлавоноидов и пектина превосходят их. Самый эффективный способ получения здорового посадочного материала со 100%-ной сортовой чистотой – микроклональное размножение *in vitro*. Процедура асептического введения в культуру *in vitro* является сильным стрессом для растений. 24-эпибрассинолид (ЭБ) успешно зарекомендовал себя как стимулятор роста и стрессоустойчивости растений. Исследование проводилось на сортах ежевики *Rubus fruticosus* agg. 'Natchez' (Натчез) и *Rubus fruticosus* agg. 'Loch Maree' (Лох Мери), которые являются сложными гибридами европейских и американских видов ежевик. Асептическое введение в культуру *in vitro* проводили по разработанному ранее для голубики высокой и запатентованному способу (патент РБ, BY 18431). После стерилизации и отмывки экспланты высаживали по одному в пробирки с питательной агаризованной средой ½ МС (Мурасиге-Скуга), дополненной зеатином (Z) в концентрации 0,5 мг/л или 24-эпибрассинолидом (ЭБ) в концентрации 0,75 мг/л, совместно с 0,5 мг/л Z. Для асептического введения в культуру *in vitro* ежевики ЭБ использовали впервые. В течение трех недель после высадки первичных эксплантов проводился учет инфицированных, окисленных, стерильных и активно регенерирующих эксплантов. Наибольшее количество стерильных, активно регенерирующих эксплантов (66,7% для сорта Натчез и 25,1% для сорта Лох Мери) отмечено на среде ½ МС с 0,75 мг/л 24-эпибрассинолидом (ЭБ), совместно с 0,5 мг/л Z. Наблюдались различия между сортами ежевики и по коэффициенту размножения (КР): у сорта Натчез КР=2,5, у сорта Лох Мери КР=1,2.

Инновационная технология производства оригинального семенного топинамбура *Helianthus tuberosus* L. с использованием культуры *in vitro*

Купцов Н.С., Попов Е.Г., Веевник А.А.*, Титок В.В.

ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Беларусь

*Email: A.Veyevnik@cbg.org.by

В период 2013-2017 гг. в ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси» разработана и освоена в производственных условиях опорного хозяйства «Бортники-агро» Молодечненского района инновационная технология производства оригинальных семян топинамбура. Оригинальное семеноводство топинамбура, осуществляемое по инновационной технологии, включает формирование и

поддержание банка здоровых сортов топинамбура, получение и производство здорового (неинфицированного) исходного материала (микрорастения, микро- и миниклубни, базовые клоны), выращивание 1-го полевого поколения из микро- и миниклубней в питомнике предварительного размножения, с последующим производством супер-суперэлитного топинамбура. Введены в культуру *in vitro* и клонированы растения внесённых в Госреестр Республики Беларусь сортов *Десертный*, *Сиреники 1*, *Находка*, а также образцов *Доминика*, *Бортниковский* и др. Введение в культуру *in vitro* и дальнейшее размножение этого материала ускорило развёртывание в стране оригинального семеноводства топинамбура, что способствовало выведению интенсивного короткостебельного сорта *Анастас* (свидетельство № 0005759 с датой приоритета 22.12.2016) и зелёноукосно-клубневого сорта *Доминика*, переданного в Госсортоиспытание на 2018 год. В хозяйстве «Бортники-агро» в 2016 г. получен урожай оригинальных семян в питомниках размножения сортов *Находка* – 40 т и *Десертный* – 120 т. Урожай оригинальных семян в питомнике размножения составил по сортам: *Анастас* и *Доминика* – 0,2 и 3 т, соответственно. В 2017 г. урожай оригинальных семян топинамбура составил по сортам *Находка* – 9 т, *Доминика* – 45 т, *Десертный* – 130 т.

**Получение в культуре *in vitro* корнесобственных саженцев *Prunus L.*
Кухарчик Н.В.*, Кастрницкая М.С.**

РУП «Институт плодородства», ул. Ковалева, 2, а.г. Самохваловичи, Минский район, 223013, Беларусь. *E-mail: nkykhartchyk@gmail.com

Исследования проведены в отделе биотехнологии РУП «Институт плодородства» в 2015 – 2017 годах. Объекты исследований: районированные сорта сливы (Венгерка белорусская, Даликатная, Комета, Лама, Лодва). Изучены типы эксплантов, методы стерилизации, питательные среды для этапов инициации и микроразмножения, способы адаптации *ex vitro*. При использовании вегетативных почек в период вегетации для сорта Венгерка белорусская количество регенерировавших эксплантов составило 30,0 %, для сорта Даликатная – 10,0 %, Комета – 35,0%. Подобраны питательные среды для различных этапов культивирования *in vitro* и определены морфологические параметры растений-регенерантов сортов сливы и алычи. На этапе микроразмножения использовали питательную среду МС с витаминами В₆ В₁ РР по 0,5 мг/л, С 1,0 мг/л; БАВ – 6-БА – 0,5 мг/л, ГК – 1,0 мг/л; сахарозой 30 г/л, рН 5,7. На 2 – 3 пассажах размножения использовали среды МС и Лепуавра. После стабилизации культуры *in vitro* коэффициенты размножения сортов сливы (Венгерка белорусская, Даликатная) и алычи. Комета составляли 1,5 – 3, сортов алычи Лодва и Лама имели коэффициент размножения меньше единицы. Оптимальное укоренение сортов сливы отмечено при использовании ИМК в концентрации 1,0 мг/л (56,7 %) в темноте. При укоренении *ex vitro* не отмечено образования корней у растений-регенерантов, *in vitro* на свету – единичные укорененные растения. На этапе адаптации укорененных растений-регенерантов сортов сливы максимальное количество прижившихся растений получено на ионообменном субстрате БИОНА-112, у сорта Венгерка белорусская 90,0 %, сорта сливы Даликатная – 83,0 %. Субстрат БИОНА-112 способствовал интенсификации роста надземной части и корневой системы растений-регенерантов, к концу адаптации длина стебля и длина корней были более чем в два раза выше, чем на субстрате торф Двина + перлит.

Воздействие стероидных фитогормонов на ростовые процессы и анатомическую структуру протокормов *Phalaenopsis* × *hybridum* Blume в условиях *in vitro*

Черныш М.А.^А, Пржевальская Д.А.^А, Горский И.А.^А, Цыбульская Л.А.^А, Жабинский В.Н.^Б, Хрипач В.А.^Б, Демидчик В.В.^{А*}

^АБелорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: Dzemidchyk@bsu.by

^БИнститут биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Ключевым фактором, осуществляющим контроль роста и развития растений при культивировании *in vitro*, является содержание в среде определенных фитогормонов и их соотношение. Наиболее часто для биотехнологических манипуляций *in vitro* используются ауксины и цитокинины. В последнее время появились работы, указывающие на высокую эффективность брассиностероидов в качестве регуляторов роста и стрессоустойчивости растений, однако возможность применения данных фитогормонов для управления ростовыми процессами в условиях *in vitro* исследована недостаточно. Крупнейшим семейством покрытосеменных растений является семейство Орхидных (Orchidaceae). Декоративные орхидеи, такие как *Phalaenopsis* × *hybridum* Blume, размножаются коммерчески с использованием подходов *in vitro*. Для культур *in vitro* орхидных влияние брассиностероидов (БС) к настоящему времени не исследовано. Целью настоящей работы было выявление характера воздействия на ростовые процессы стерильной культуры протокормов *Phalaenopsis* × *hybridum* Blume 6 основных БС: брассинолида (БЛ), кастастерона (КС), 24-эпикастастерона (ЭК), 28-гомокастастерона (ГК), 24-эпибрассинолида (ЭБ) и 28-гомобрассинолида (ГБ) в диапазоне концентраций 10^{-10} – 10^{-6} М. Культура протокормов была получена из семян *Phalaenopsis* × *hybridum* Blume с использованием асептических подходов. Протокормы, полученные из первичной культуры, переносились на среды, содержащие различные концентрации БС. Анализировалось изменение ростовых параметров протокормов на 100 сут после переноса на среды с тестируемыми гормонами. Введение в среду БС вызывало усиление ростовых процессов, что выражалось в значительном увеличении длины протокормов и приросте их массы. Наибольший стимулирующий эффект на длину растений наблюдался при культивировании в присутствии БЛ. При концентрации БЛ 10^{-7} М наблюдалось двукратное увеличение длины протокормов по сравнению с контрольными образцами. Схожее влияние БЛ оказывал на массу растений. Наибольшим стимулирующим воздействием на прирост биомассы обладал ЭБ. При концентрации 10^{-7} М данного фитогормона в среде масса растения увеличивалась в 2,7 раза по сравнению с контролем. ЭБ демонстрировал также высокую эффективность по отношению к длине растений. ЭК вызывал значительную, но более слабую стимуляцию, ростовых процессов, чем ЭБ и БЛ. ГБ вызывал наименьшую стимуляцию роста по сравнению с другими исследуемыми БС. Таким образом, полученные данные указывают на возможность использования БС при культивировании декоративных орхидей *Phalaenopsis* × *hybridum* Blume в условиях *in vitro*. Также были проведены исследования, направленные на установление особенностей модификации анатомического строения протокормов *Phalaenopsis* × *hybridum* Blume под действием БС. На поперечном срезе протокормов *Phalaenopsis* × *hybridum* Blume были идентифицированы два типа тканей: наружная эпидермальная, состоящая из 4-5 слоев мелких, близких к прямоугольной форме клеток, не

содержащих хлорофилла, и внутренняя – паренхимная, состоящая из крупных клеток округлой формы, включающих несколько десятков хлоропластов. На внешних слоях эпидермальных клеток выявлены колбовидные выросты – протокормовые волоски, представляющие собой одноклеточные структуры, схожие с трихобластами корней наземных покрытосеменных растений. Важным признаком отличия корневой системы от листа является более низкое содержание солей и метаболитов. Осмоляльность корня у большинства цветковых растений составляет 250-400 мОсм кг^{-1} , листа - 400-800 мОсм кг^{-1} . Измеренная в настоящей работе осмоляльность паренхимных клеток протокормов составила 400-450 мОсм кг^{-1} , что является промежуточным значением между типичными корнями и листьями наземных покрытосеменных растений; она ближе к значениям, полученным для корней.

Развитие лесных биотехнологий в России

Ветчинникова Л.В.^{А*}, Титов А.Ф.^Б

^АИнститут леса КарНЦ РАН, Петрозаводск, Российская Федерация

*Email: vetchin@krc.karelia.ru

^БИнститут биологии КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН»,
Петрозаводск, Российская Федерация

В России, как и во всем мире, появление и активное развитие лесных биотехнологий связано с последними десятилетиями 20-го века. Главные задачи в этой области первоначально были обусловлены необходимостью ускорения селекционного процесса с древесными породами и массовым размножением наиболее ценных генотипов. С того момента прошло почти 50 лет и условно весь этот период можно разделить на четыре этапа. *На первом этапе* (70-е годы) основная цель заключалась в исследовании возможностей выращивания изолированных органов, тканей и клеток древесных растений *in vitro* (Быченкова, 1967, 1978; Скрипаченко, 1992). *На втором этапе* (80–90-е годы) в связи с достижениями в области изучения механизмов действия фитогормонов (Кулаева, 1982) ставились и решались задачи разработки методик (протоколов) культивирования тканей, позволяющих инициировать *in vitro* морфо- и органогенез трудноукореняемых видов древесных растений с сохранением их генетических особенностей и ценных свойств. *Третий этап* (начало 21-го века) был направлен на сохранение генетического разнообразия редких видов древесных растений или отдельных наиболее ценных генотипов (в том числе полученных в результате селекции) путем создания коллекций клонов *in vitro* и разработки криотехнологий для длительного хранения растительного материала. К настоящему времени в России коллекции клонов *in vitro*, например, осины, гибридных тополей и ив созданы во ВНИИЛГИСбиотех (Воронеж), редких представителей сем. *Betulaceae* – в ИЛ КарНЦ РАН (Петрозаводск), триплоидной осины и березы – в СПбНИИЛХ (Санкт-Петербург), ясени, осины, березы – в ИБХ РАН (Пущино), хвойных пород – в ИЛ СО РАН (Красноярск). Современный (*четвертый этап*) нацеливает на решение следующих задач: а) использование лесных биотехнологий для массового производства посадочного материала в целях создания культур плантационного типа, б) определение генетической чистоты полученных регенерантов с помощью ДНК-маркеров (Политов, 2007; Жигунов, 2013), в) применение методов геномной инженерии для модификации генома древесных растений с целью ускорения их роста, повышения устойчивости и усиления экономически ценных признаков и свойств (Лебедев, Шестибратов, 2015).

Development of forest biotechnology in Russia

Vetchinnikova L.^{А*}, Titov A.^Б

^АForest Research Institute of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russian Federation. *Email vetchin@krc.karelia.ru

^БInstitute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russian Federation

Active development and advancement of forest biotechnology in Russia, like in the rest of the world, is associated with the last decades of the 20th century. Originally, the main driving force of these developments was the demand for an expedited selective breeding of woody species and large-scope propagation of the most valuable genotypes. Nearly 50 years have passed since then, and this period can be conventionally divided into four

stages. *At the first stage* (1970's), the principal objective was to investigate the possibilities of growing isolated organs, tissues and cells of woody plants *in vitro* (Bychenkova, 1967, 1978; Skripachenko, 1992). *At the second stage* (1980's–90's), owing to advancements in the study of the mechanisms behind phytohormonal effects (Kulayeva, 1982), the tasks set and handled were to work out tissue culture techniques (protocols) permitting to initiate *in vitro* morpho- and organogenesis in hard-to-root woody species without losing their genetic characteristics and valuable properties. *The third stage* (beginning of the 21st century) pursued the aim to preserve the genetic diversity of rare woody species or individual, most valuable genotypes (including products of selective breeding) by establishing collections of *in vitro* clones and developing cryotechnologies for long-term storage of plant material. In Russia, collections of *in vitro* clones have been established, for example for aspen, hybrid poplars and willows at the Research Institute of Forest Genetics, Breeding and Biotechnology (Voronezh), for rare members of the family *Betulaceae* at the Forest Research Institute of the Karelian Research Centre RAS (Petrozavodsk), for triploid aspen and birch at St. Petersburg Forestry Research Institute (St. Petersburg), for ash, aspen and birch at the Institute of Bioorganic Chemistry (Pushchino), for conifers at Sukachev Institute of Forest of the Siberian Branch RAS (Krasnoyarsk). The current (*fourth*) stage aims to address the following tasks: a) application of forest biotechnology for mass-scope production of planting stock, b) determination of the genetic purity of regenerant plants by DNA markers (Politov, 2007; Zhigunov, 2013), c) genome modification of woody plants by genetic engineering to accelerate their growth, enhance resistance, and intensify economically valuable traits and properties (Lebedev & Shestibratov, 2015).

Оценка активности лигнинолитического ферментного комплекса некоторых ксилотрофных базидиальных грибов

Кондратюк Д.М., Шевелева О.А.*

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: sheveleva_l@list.ru

При изучении ферментного потенциала высших базидиальных грибов особое внимание уделяется ксилотрофным грибам. Известно, что данная группа грибов имеет в своем арсенале комплексы лигнин- и целлюлолитических ферментных систем. Лигнинолитический комплекс включает различные фенолоксидазы, такие как лакказы, Mn-пероксидазы (MnP) и лигнин-пероксидазы (LiP). Лакказы представляют наибольший интерес, т.к. имеют низкую субстратную специфичность, в связи с чем способны катализировать окисление широкого спектра фенольных соединений и ароматических аминов, что может быть использовано для решения ряда проблем загрязнения окружающей среды. Объектами исследования явились выделенные нами в чистую культуру 2 штамма базидиальных грибов, возбудителей белой гнили древесины: *Trametes versicolor* (L.) Lloyd и *Daedaleopsis confragosa* (Bolton) J. Schott., а также штамм *T.versicolor* (BIM F-209) из коллекции ГНУ «Институт микробиологии» НАН Беларуси. Данные штаммы были проверены на способность утилизировать ряд соединений фенольной природы (α -нафтол, резорцин, таннин) и некоторых азокрасителей (тартразин, Конго красный). Культуры выращивались на плотных и жидких питательных средах (КГА) с добавлением указанных веществ. О способности утилизировать данные соединения судили по появлению (фенольные соединения) или по обесцвечиванию (азокрасители) окраски.

Установлено, что оба штамма *T. versicolor* способны утилизировать все исследуемые соединения, причем выделенный из природы штамм оказался эффективнее. Для *D. confragosa* была показана способность утилизировать соединения фенольной природы, тогда как относительно азокрасителей такая способность отсутствовала. Кроме того, было установлено, что при превышении оптимальных концентраций некоторых из исследуемых веществ (Конго красный, танин, резорцин) происходило значительное угнетение роста всех тестируемых культур.

Морфоорганогенез эксплантов *Betula pendula* Roth. и *Betula pubescens* Ehrh. на питательных средах дополненных активированным углем и ростовыми веществами негормональной природы

Константинов А.В.*

Институт леса НАН Беларуси, Гомель, Беларусь. *Email: avkonstantinof@mail.ru

Сохранение в культуре тканей и клональное микроразмножение хозяйственно ценных генотипов древесных растений определяет необходимость разработки методик, минимизирующих риск соматической вариабельности, в частности использования негормональных биологически активных веществ. Микроклональные растения селекционных форм березы повислой и березы пушистой предварительно культивировали три месяца на модифицированной среде WPM без фитогормонов. После микрочеренкования экспланты субкультивировали на среду аналогичного состава (контроль), дополненные активированным углем ($2,0 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$), гидролизатом казеина или дрожжевым экстрактом ($1,0 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$) в зависимости от варианта опыта. Эксперимент ставили в трех повторностях по 60 эксплантов для каждого клона. Культивировали два месяца при температуре $23 \pm 1^\circ \text{C}$ и постоянном освещении интенсивностью 3,5–4,5 тыс. люкс, после чего проводили учет морфометрических параметров. Регенеранты березы повислой в контроле достигали средней высоты $35,1 \pm 9,2$ мм (клон бб31) и $47,1 \pm 13,4$ мм (клон 66-150/10), количество междоузлий составляло $4,0 \pm 1,2$ шт. и $5,6 \pm 1,2$ шт. соответственно. Средняя высота побегов березы пушистой (клон бп3ф1) отмечена на уровне $54,1 \pm 17,6$ мм, а количество междоузлий – $4,0 \pm 1,5$ шт. При этом на среде с гидролизатом казеина высота побегов микрорастений клона бб31 достигала $52,5 \pm 19,0$ мм ($4,3 \pm 1,1$ шт. междоузлий). Для регенерантов клона 66-150/10 изучаемый показатель составил $62,2 \pm 15,2$ мм ($6,7 \pm 1,4$ шт. междоузлий). Большая высота побегов при отсутствии достоверных различий количества междоузлий говорит о росте за счет вытягивания, а не формирования новых метамеров. В то же время выявлено достоверное превышение обоих показателей микропобегов березы пушистой: высота $73,2 \pm 19,6$ мм, $6,1 \pm 1,2$ шт. междоузлий. Внесение активированного угля существенным образом влияло на интенсивность укоренения растений, так регенеранты клона 66-150/10 формировали корни, средняя длина которых ($52,1 \pm 14,3$ мм) превосходила контрольные показатели ($22,4 \pm 11,7$ мм) в 2,7 раза. Средняя длина корней микрорастений березы пушистой составляла $7,2 \pm 1,3$ мм и в 1,5 раза превышала контрольный показатель ($4,8 \pm 1,8$ мм). Дрожжевой экстракт не оказал выраженного стимулирующего воздействия на ростовые параметры, однако сформировавшиеся побеги имели насыщенно зеленый цвет, а листовые пластинки были визуальнее крупнее. В результате экспериментов показано стимулирующее влияние добавок и негормональных стимуляторов роста на развитие микроклональных растений березы.

Использование культур *in vitro* для сохранения генетического разнообразия при создании насаждений дуба черешчатого в Беларуси

Кулагин Д.В.*, Константинов А.В., Падутов В.Е.

Институт леса НАН Беларуси, Гомель, Беларусь. *Email: aqua32@mail.ru

Применение методов *ex situ* и *in situ* для сохранения генетического разнообразия является наиболее эффективным при их совместной реализации. Использование результатов селекционного семеноводства для получения побеговых культур *in vitro* и клональное микроразмножение материала различных генотипов с высокими наследственными свойствами позволяет выращивать посадочный материал для создания устойчивых насаждений. Исходным материалом служили побеги двух-трехмесячных сеянцев дуба, которые разрезали на фрагменты размером 5–10 см, промывали 30 минут в 2%-ном растворе «Domestos» и ополаскивали водопроводной водой. Стерилизация в ламинар-боксе включала обработку 70% этиловым спиртом (3 минуты) и 0,1% сулемой (HgCl_2) с добавлением детергента «Твин-20» (6 минут) с трехкратным промыванием стерильной дистиллированной водой. Фрагменты стеблей разделяли на экспланты, содержащие, по крайней мере, один узел и помещали на питательную среду WPM, содержащую 6-BAР в концентрации 0,2–0,5 мг·л⁻¹. Верхушечные и пазушные побеги отделяли от эксплантов по мере развития и субкультивировали на среды аналогичного состава (этап мультипликации). Укоренение проводили на среде ½WPM, дополненной 0,3 мг·л⁻¹ ИВА и 0,1 мг·л⁻¹ NAA. Адаптацию микрорастений осуществляли на торфо-перлитном субстрате (соотношение 3:1 по объёму). Продолжительность пассажа 1 месяц. Общее количество использованных эксплантов во всех сериях опытов – 684 шт. Указанная схема стерилизации обеспечила достаточно низкий уровень микробной контаминации материала, по истечении трёх недель он составил 7,8–22,4%. Доля жизнеспособных эксплантов (с развивающимися почками) составила 74,5–90,2%. Значительное влияние на жизнеспособность вновь образованных побегов оказывали время их отделения от исходных эксплантов и отсутствие признаков некротических процессов на них. Наибольшей приживаемостью отличались микропобеги, прекратившие рост в длину. Средний коэффициент мультипликации составлял 2,2–4,5 в зависимости от генотипа. На этапе укоренения ризогенез наблюдали на 15–75% эксплантов. Формирование корней происходило на 7–25 сутки культивирования. Отмечен интенсивный рост главного корня (до 5–7 см в течение 3–7 дней), приживаемость микрорастений *ex vitro* составляла 80–90%. Таким образом, нами была разработана технология микрклонального размножения ювенильного (происходящего от сеянцев) материала дуба черешчатого и установлены некоторые его морфогенетические особенности на различных этапах культивирования *in vitro*.

Выявление генов, ассоциированных с устойчивостью к фитопатогенным микроорганизмам у проростков сосны обыкновенной, на основании данных высокопроизводительного секвенирования

Можаровская Л.В.

ГНУ «Институт леса НАН Беларуси», Гомель, Беларусь

*Email: milamozh@yandex.ru

Одним из негативных факторов, оказывающим влияние на морфометрические и физиологические показатели выращиваемых в лесных питомниках сеянцев сосны обыкновенной, являются инфекционные болезни. Исходя из литературных данных,

возбудителями фитозаболеваний, в подавляющем большинстве, выступают грибные организмы (более 96%), реже бактерии и вирусы. Для противодействия патогенной инвазии у растения, в ходе эволюции, была сформирована сложная и многоуровневая система прямых и косвенных защитных механизмов, индуцируемая посредством веществ белковой природы: рецепторных белков, распознающих эффекторные молекулы паразита; белков, связанных с образованием сигнальных молекул; а также белков ассоциированных с процессами патогенеза. Эффективность реализации защитных механизмов во многом определяется способностью растительного организма изменять уровень экспрессионной активности генов, детерминирующих ответные реакции по отношению к фитопатогенным микроорганизмам. Исходя из всего вышесказанного, целью данной работы являлся анализ экспрессионной активности генов ассоциированных с устойчивостью к возбудителям инфекционных заболеваний семян сосны обыкновенной. Объектом исследований являлись проростки сосны обыкновенной ($n=14$), выращенные в лабораторных условиях при температуре воздуха 22 °C и фотопериоде 10 ч в течение 14 суток. Препараты мРНК получали из корня и гипокотыля проростков *P. sylvestris*. Высокопроизводительное секвенирование препаратов двухцепочечной кДНК выполнялось на полногеномном анализаторе Ion PGM Torrent (Thermo Scientific, США). В результате проведенного высокопроизводительного секвенирования транскриптов проростков сосны обыкновенной были отобраны EST-маркеры, характеризующиеся наибольшим уровнем экспрессионной активности. Последующий анализ полученных результатов в базе данных GenBank NCBI позволил идентифицировать в транскриптом семейства генов, ассоциированных с устойчивостью к фитопатогенным микроорганизмам: гликозилгидролазы (GH19), белков теплового шока Hsp70 и Hsp90, антимикробных полипептидов (AMP), кальций-связывающих белков (CBP); ингибиторов альфа-амилазы, липид-транспортирующих белков, запасных белков семян (AAI-LTSS). Также, были идентифицированы два EST-маркера с неустановленной функцией, характеризующиеся высоким уровнем сходства с последовательностями ранее описанных генов устойчивости PsACRE и полипептидов, обладающих антигрибковой активностью (SS/AF). На основе полученных данных разработан набор праймеров для проведения скрининга экспрессии локусов, ассоциированных с устойчивостью к инфекционным заболеваниям семян сосны обыкновенной.

Разработка метода анализа системы скрещивания на лесосеменных плантациях второго порядка сосны обыкновенной

Падутов А.В.*, Падутов В.Е.

ГНУ «Институт леса НАН Беларуси», Гомель, Беларусь. *Email: apadutov@yandex.by
При разработке и осуществлении комплексных программ по сохранению и воспроизводству лесных ресурсов с использованием в качестве лесосеменной базы клоновых лесосеменных плантаций (ЛСП), необходимым условием является наличие информации о генетических и селекционных параметрах семенного материала, получаемого на данных объектах. Это связано как с необходимостью введения генетического мониторинга на начальных этапах мероприятий по лесовосстановлению с целью формирования генетической структуры насаждений, в наибольшей степени соответствующей актуализированным эколого-климатическим условиям, так и получением и накоплением экспериментальных данных для

разработки методологических подходов и принципов по организации объектов постоянной лесосеменной базы с контролируемой генетической структурой. Генотипирование семенного потомства в условиях открытого опыления позволяет установить не только особенности репродуктивной структуры плантации (перечень клонов, непосредственно участвующих в образовании пыльцы и семян), но и выявить факторы, оказывающие наибольшее влияние на процессы опыления и эмбриогенеза. Анализ генетической структуры пыльцевого пула, совместимости и превалирования различных вариантов генотипических комбинаций позволяет установить их репродуктивную сочетаемость и как следствие оптимизировать клоновую структуру ЛСП. Сбор семян для исследований проводился на ЛСП сосны обыкновенной II поколения, расположенной на территории Старо-Дятловичского лесничества Гомельского лесхоза. На изученном участке для исследований были выбраны пять клонов, представленные в трех повторностях, расположенных на равном удалении друг от друга. С целью увеличения объема доступного биологического материала для выделения ДНК, перед проведением генетического анализа, семена проращивались в контролируемых условиях. С каждого проростка было иссечено по 2 фрагмента (L=5 мм) в области гипокотилия, для проведения группового (с одного дерева) и индивидуального генотипирования. В качестве ДНК-маркеров были использованы пять вариабельных микросателлитных локусов ядерной ДНК: Pttx 4001, Pttx 3116, Psyl 17, Psyl 36, Psyl44. В результате работы апробирован подход к групповому анализу семенного материала, позволяющий проводить суммарную оценку генетических характеристик потомства, включая определение степени генетической дифференциации между семенными выборками, рассчитывать генотип материнского растения и генетическую структуру пыльцевого пула. Установлено, что максимально допустимым количеством одновременно анализируемых гаплотипов является 20п, что позволяет выявлять аллели с частотой встречаемости $\geq 5\%$.

Влияние ауксинов и брассиностероидов на прорастание семян *Thuja occidentalis* Linn.

**Пржевальская Д.А.^{А*}, Черныш М.А.^А, Шашко А.Ю.^А, Полугодкова А.В.^А,
Шлапакова К.А.^А, Колбанов Д.В.^В, Жабинский В.В.^В, Хрипач В.А.^В,
Демидчик В.В.^А**

^АБелорусский Государственный Университет, Минск, Беларусь

*Email: daryarprzhevalskaya@gmail.com

^ВУнитарное предприятие БГУ «Щемяслица», Минск, Беларусь

^ВИнститут биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Хвойные растения являются перспективными для ландшафтного озеленения, поддержания и восстановления лесов. Проблемы массового размножения хвойных связаны с их продолжительным жизненным циклом, медленным развитием корневой системы при вегетативном размножении, низкой жизнеспособностью семян, а также поражением патогенами. Наиболее широко используемым в озеленении городов хвойным растением в нашей стране и многих странах Европы является туя западная (*Thuja occidentalis* Linn.). Семенное размножение позволяет получить большое количество растений туи, однако ее семена отличаются низкой всхожестью. Для улучшения прорастания семян и дальнейшего улучшения ростовых показателей посадочного материала может быть использована обработка семян регуляторами

роста, такими как фитогормоны, в частности, ауксины. Тем не менее, в последние годы большое внимание уделяется и другим классам соединений, таким как брассиностероиды, которые обладают не только ауксиноподобным, но и стресс-протекторным влиянием. Для семян туи западной систематического анализа обработок брассиностероидами и ауксинами ранее проведено не было. В этой связи целью настоящей работы было проанализировать воздействие на всхожесть и жизнеспособность семян туи западной важнейших ауксинов и брассиностероидов. В работе были протестированы эффекты 25 мг/л индолил-3-масляной кислоты (ИМК), нафтил-3-уксусной кислоты (НУК), индолил-3-уксусной кислоты (ИУК), а также влияние 10^{-8} М 28-гомобрасинолида (ГБ), 24-эпибрасинолида (ЭБ) и 24-эпикастерона (ЭК). Для каждого варианта было протестировано 70 семян, которые в течение 24 ч выдерживались в растворах с указанными фитогормонами. В качестве контроля использовались семена, выдержанные в растворе без фитогормонов. После обработки семена высаживались в парники с грунтом, содержащим торф, песок и вермикулит в соотношении 1:1:1. Проводилось измерение прорастания семян на 14 и 21 сут. На 14 сут максимальный эффект оказывал ЭК – всхожесть семян 1,62%. В остальных вариантах обработок процент всхожести семян был ниже, чем в контрольном варианте, который составил 0,82%. На 21 сут культивирования ЭК оказывал максимальное стимулирующее действие среди протестированных БС (3,06%). Ауксины также повышали всхожесть семян туи; семена, обработанные ИМК и ИУК, на 21 сут давали 2,65% и 2,4% прорастания, соответственно (0,82% в контроле). Таким образом, полученные данные указывают на ранее неизвестное стимулирующее действие обработок брассиностероидами, которое в ряде случаев превосходит схожие эффекты классических корнестимуляторов (ауксинов).

Влияние типов и концентраций ауксинов на развитие побегов и ризогенез некоторых сортов *Rhododendron* в условиях *in vitro*

Сиволобова Я.С., Козлова О.Н., Чижик О.В.

ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси», Минск, Беларусь

*Email: lembovich.yana@mail.ru

Рододендрон (*Rhododendron*, сем. *Ericaceae*) – декоративно цветущий кустарник. Растения широко используются в озеленении, образуя красивые, обильно цветущие пятна в композициях и прекрасно сочетаются с хвойными породами. Рододендроны относятся к трудно укореняемым растениям, поэтому вегетативное размножение не может служить основой для массового производства качественного посадочного материала. Биотехнологические методы культуры *in vitro* позволяют преодолеть трудности традиционных способов размножения, позволяя получить качественный посадочный материал, а также решить проблему сохранения редких видов. Реализация того или иного пути морфогенеза в системах *in vitro* определяется соотношением концентраций экзогенных регуляторов роста в питательной среде. Это соотношение имеет видоспецифичный характер. Для получения укорененных побегов *Rhododendron* х *hybridum* сортов PJM Elite и Blutoria, трех-четырёх узловых черенки с апикальной почкой высаживали на среду WPM с половинной концентрацией макро- и микро солей в следующих модификациях: $\frac{1}{2}$ WPM + 1 мг/л ИУК, $\frac{1}{2}$ WPM + 1 мг/л ИМК. Длительность субкультивирования составила 8 недель. В результате проведенных экспериментов установлено, что частота регенерации

корней (% побегов с корнями) была выше на среде с добавлением 1 мг/л ИМК. По этому показателю получена достоверная разница для обоих исследуемых сортов рододендрона. Длина побега растений сорта PJM Elite не зависела от типа используемого ауксина, а для сорта Blutoria этот показатель был достоверно выше на среде с добавлением 1мг/л ИМК. На среде с ИМК наблюдалось образование каллуса. Однако укореняемость и длина побегов на среде с ИМК были выше, и, несмотря на образование каллуса у основания побега, использование данного ауксина более эффективно при получении микросаженцев *Rhododendron* исследуемых сортов. Таким образом, при получении укорененных побегов *Rhododendron hybr* в культуре *in vitro* предпочтительно использование макро- и микросолей в половинной концентрации (1/2 WPM) с добавлением в среду ИМК в качестве индуктора корнеобразования (концентрация 0,5-1 мг/л).

**Биотехнология видовой сирени реферируемой коллекции
Центрального ботанического сада НАН Беларуси для озеленения и получения
лекарственного сырья**

Спиридович Е.В.*, Власова А.Б., Хотляник Н.В., Зубарев А.В., Решетников В.Н.
ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси», Минск, Беларусь
*Email: a.spirydovich@gmail.com

Взросший в последние годы интерес к сирени не только как красивоцветущему декоративному кустарнику, но и как к объекту получения ценных продуктов вторичного метаболизма, таких как сирингин, выдвинул на первый план вопрос сохранения и омоложения реферируемой коллекции видовой сирени ЦБС, которая насчитывает около 23 таксонов. Фитохимические исследования представителей рода *Syringa* L. позволили идентифицировать в них более 140 вторичных метаболитов, в том числе иридоиды, лигнаны, фенилпропаноиды, органические кислоты и эфирные масла. Из коры *Syringa vulgaris* L. выделены различные вещества фенольной природы. Одним из основных является фенилпропаноид сирингин (элеутерозид В), который входит в состав противомикробных, жаропонижающих и противовирусных препаратов. Некоторые растения, представленные в коллекции видовой сирени, являются по происхождению эндемиками Китая; некоторые виды появились в саду более 80-ти лет назад (*Syringa reticulate* subsp. *Amurensis*, *Syringa emodi*, *Syringa tomentella*). Все эти факты являются основанием для применения биотехнологических методов для сохранения, размножения и получения лекарственного сырья. Для каждого из 23 таксонов коллекции ЦБС, принадлежащих к роду *Syringa* L., определяли содержание сирингина и сухих веществ в коре, а также долю коры в побеге. Хроматографический анализ экстрактов коры показал, что содержание сирингина в образцах колеблется в пределах от 0,88 до 12,67 мг/г сухой коры. Минимальное значение 0,88 определено у таксона *Syringa tomentella* Bureau & Franch.; максимальное значение сирингина – 12,67 мг/г сухого веса выявлено у растения *Syringa villosa* ssp. *wolfii* (C.K. Schneid.) Jin Y. Chen & D.Y. Hong. Доля коры в побеге находится в пределах от 29,28 ± 4,69 до 48,74 ± 5,22 мас. %, наибольшим данный показатель был у сиреней волосистых *Syringa villosa* Vahl. Содержание сухого вещества в коре различных видов сирени изменяется от 31,9 ± 2,0 до 51,2 ± 6,8 мас. %. Максимальное значение показано для *Syringa josikaea* J.Jacq. ex Rchb.f. Исходя из трех показателей для каждого изученного таксона был вычислен показатель комплексной продуктивности на основе трех полученных

характеристик. Максимальная комплексная продуктивность была выявлена для *Syringa oblata* Lindl. – 2,090 кг сирингина/т сырья. Эти виды вводились в культуру *in vitro*. В качестве первичных эксплантов для введения в культуру использовали молодые побеги с пазушными почками, полученные выгонкой в лабораторных условиях (срезка веток с материнских растений коллекции проводилась в период с января по март). В качестве стерилизующих агентов использовались: хозяйственное мыло, 0,4 %-й раствор фунгицида «Ридомил – Голд» (экспозиция - 7 мин.), 0,06%-й раствор «Хлороцида» (Бел Асептика) (экспозиция 30 мин.). Для введения в культуру *in vitro* использовали модифицированную питательную среду Murashige & Skoog с полуторным содержанием макросолей, добавлением 1 мг/л 2-ип; источник углерода - сахара (20 г/л), уплотнитель – агар (Sigma) (7 мг/л) Экспланты культивировали при стандартных условиях выращивания *in vitro*: температура 24±1°C, 16/8-часовой фотопериод, интенсивность освещения 3-4 клк. В процессе работы выявлено, что на этапе введения в культуру наблюдается выраженная видоспецифичность различных видов сирени. Наилучшие показатели морфогенетического потенциала проявили виды *S. villosa* Vahl. (сирень волосистая) и *S. vulgaris* L. (сирень обыкновенная), самый низкий – *S. Reticulata* subsp. *pekinensis* (Rupr.) P.S.Green&M.C.Chang (сирень пекинская). Проводится подбор сред для культивирования и депонирования редких и эндемичных видов растений рода *Syringa*, в том числе лекарственных. Семена и меристемы некоторых редких видов растений передаются в криобанк Института физиологии растений им. К. А. Тимирязева РАН на долгосрочное хранение. Исходя из актуальных задач сохранения коллекции, была разработана эффективная маркерная RAPD-ISSR система для рода *Syringa* на внутривидовом уровне и применена для дифференциации и сертификации видов и сортов сирени в коллекции ЦБС, а также подтверждения или выяснения родословной сортов и филогенетических связей между ними. септические и ДНК-коллекции для долгосрочного хранения сформированы преимущественно из редких, эндемичных и уникальных по биосинтетическим характеристикам видов растений рода Сирень с проведением предварительной молекулярно-генетической паспортизации, Собранные в коллекциях образцы в дальнейшем могут быть использованы для сохранения генофонда в генетических банках при обеспечении их эффективного средне- и долгосрочного хранения (в том числе в криобанке), а также для озеленения микроклональными растениями, плантационного выращивания, получения возобновляемого лекарственного сырья. Данные о растениях регистрируются в информационно-поисковой системе Hortus Botanicus Centralis – Info.

Генерация активных форм кислорода в корнях микроклонов

***Forsythia*×*intermedia* при их выведении *ex vitro*: регистрация, анализ влияния антиоксидантов и роль в укоренении**

Уснич С.Л., Мацкевич В.С., Пржевальская Д.А., Черныш М.А., Горский И.А., Шашко А.Ю., Колбанов Д.В., Демидчик В.В.*

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: dzemidchyk@bsu.by

Микроклональное размножение *in vitro* является одним из основных биотехнологических приемов, используемых при массовом воспроизводстве декоративных древесных растений. Высокая смертность молодых клонов на этапе выведения в условия *ex vitro* является глобальной проблемой данной методики. При

переносе растений из условий *in vitro*, в которых корневая система сформирована в компактном объеме в гелевой среде, а устьичная система недоразвита из-за высокой влажности внутри герметичных культивационных сосудов, в условия *ex vitro* (почвенный субстрат, открытый атмосферный газообмен и т.д.) наблюдается потеря жизнеспособности и гибель части растений. Потери растений на этой стадии могут составлять до 90-95%. Решение данной проблемы возможно только при глубоком понимании механизмов, лежащих в основе механического повреждения и развитии технологий, повышающих стрессоустойчивость растений на стадии выведения *ex vitro*. Ослабленные растения также поражаются патогенами, что дополнительно снижает выход жизнеспособных саженцев. Все виды стрессовых воздействий, наблюдающихся при выведении растений в условия *ex vitro*, вызывают окислительный стресс в результате активации НАДФН-оксидаз, пероксидаз класса III, повреждения работы электрон-транспортных цепей в органеллах и некоторых других механизмов. Окислительный стресс, проявляющийся в дисбалансе между произведенными и детоксицированными активными формами кислорода (АФК), является основным повреждающим фактором при механическом повреждении и резком изменении осмolarityности. Механизмы генерации АФК при переносе растений в условиях *ex vitro* у древесных растений на сегодняшний день практически не изучены. Целью настоящего исследования являлось установление закономерностей развития окислительного стресса при механическом повреждении в ходе переноса в нестерильные условия клонов модельных декоративных растений форзиции (*Forsythia × intermedia*), полученных методом вегетативного клонирования в условиях *in vitro*. Измерение динамики генерации АФК у микроклонов форзиции, подверженных воздействию механического и осмотического стрессов, производилось при помощи стандартной эпифлуоресцентной микроскопии, среды анализа изображений ImageJ в комбинации с флуоресцентным зондом для $O_2^{\cdot -}$ -дигидроэтидиум (ДГЭ, Sigma, США). Для выявления качественного состава формирующихся АФК использовались супероксиддисмутаза (600 ед.), каталаза (1000 ед.), тиомочевина (1 мМ), диметилсульфоксид (0,3%); для анализа вовлечения системы стрессовой Ca^{2+} -сигнализации применялись блокаторы Ca^{2+} -проницаемых катионных каналов Gd^{3+} (0,3 мМ $GdCl_3$) и La^{3+} (0,3 мМ $LaCl_3$). Флуоресцентный сигнал ДГЭ, отражающий генерацию АФК, в клетках корня форзиции значительно увеличивался при механическом и осмотическом стрессе, достигая максимума через 60 мин. Обработки блокаторами катионных каналов (Gd^{3+} и La^{3+}) снижали интенсивность флуоресценции ДГЭ на 15%, ферментативными антиоксидантами до 30%. Максимальное ингибирующее действие имела обработка тиомочевинной (40%), которая не чувствительна к $O_2^{\cdot -}$, но активно устраняет гидроксильные радикалы ($HO^{\cdot}$) и некоторые другие наиболее реакционно-способные АФК. Эффект осмотического стресса был исследован при использовании изоосмотических условий. Было показано, что генерация АФК при этом не отличается от вызванной совместным механическим и осмотическим воздействием. Это указывает на то, что основной причиной генерации АФК и последующего окислительного стресса является механическое повреждение при извлечении растений из гелевой среды и переносе в новые условия. Отдельно были проведены опыты по анализу укореняемости растений при обработке тиомочевинной перед высадкой в почвенный субстрат (результаты регистрировались через 30 сут после высадки). Было показано, что обработка тиомочевинной увеличивает выживаемость, стимулирует набор

биомассы и рост корневой системы адаптирующихся к условиям *ex vitro* растений. Соответственно, защита от окислительного повреждения, вероятно, является эффективным орудием для улучшения укоренения микроклонов древесных растений при их выведении в условия *ex vitro*. Таким образом, полученные в работе результаты позволяют сделать следующие выводы: 1) механический стресс вызывает генерацию АФК, среди которых доминируют формы, устраняемые тиомочевинной, такие как гидроксильные радикалы; 2) осмотический стресс при выведении в условия *ex vitro* не играет существенной роли для индукции генерации АФК; 3) обработка молодых растений тиомочевинной значительно увеличивает жизнеспособность молодых древесных растений при переводе их из условий *in vitro* в почвенные субстраты и открытый атмосферный газообмен.

Курс «Клеточная биология» в программе подготовки студентов магистратуры Белорусского государственного университета

Демидчик В.В.*, **Мацкевич В.С.**, **Самохина В.В.**, **Звонарев С.А.**, **Черныш М.А.**, **Войтехович М.А.**, **Дитченко Т.И.**, **Филиппова Г.Г.**, **Смолич И.И.**, **Яковец О.Г.**

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: dzemidchyk@bsu.by

Биология клетки (англ. «Cell Biology») – фундаментальная дисциплина, занимающая центральное положение при подготовке биологов практически во всех университетах мира. Клеточная биология рассматривает процессы в клетке и тканях с точки зрения их структурной основы, функциональной роли и физиологического значения. Клеточные явления наблюдаются и описываются как в кратковременной динамике, так и в ходе онтогенеза. Важным аспектом также является рассмотрение вопросов прикладной биологии на уровне клеточных механизмов. Данная дисциплина дополняет классические «цитологию» и «гистологию» механизмами взаимосвязи динамической клеточных явлений, их структурной основой на уровне взаимодействия функциональных групп и трехмерных моделей. Достижения современной клеточной биологии важны для развития всех разделов биологии, а также таких важных ее прикладных разделов как медицина, растениеводство, животноводство, экология и биотехнологии. Реакции на уровне клетки определяют физиологические процессы в организме, контролируют здоровье человека и продуктивность растений. Изучение клеточной биологии – важный компонент подготовки специалистов-биологов. В связи с этим кафедрой клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета Белорусского государственного университета в 2017/2018 учебном году в программу подготовки студентов магистратуры была введена учебная дисциплина «Клеточная биология», учебная программа по которой составлена в соответствии с требованиями образовательного стандарта высшего образования II ступени по специальности 1-31 80 01 Биология. Программа вводится в БГУ впервые и базируется на классических мировых примерах, таких как Лодиш с соавторами (1986–2016 гг.; 10 редакций), Карп с соавторами (1996–2017 гг., 8 редакций) и Альбертс с соавторами (1983–2017 гг.; 5 редакций). Учебная дисциплина «Клеточная биология» относится к государственному компоненту цикла дисциплин специальной подготовки учебного плана. Студенты магистратуры при изучении данного курса знакомятся с общей структурной и функциональной организацией клетки, молекулярными основами важнейших физиолого-биохимических процессов клетки; работой и регуляцией генетического аппарата, системами биосинтеза, посттрансляционной модификацией и транспортом белков, молекулярными механизмами регуляции клеточного цикла; механизмами клеточной сигнализации, полярности, программируемой клеточной гибели, дифференциации и координации функций клеток, а также клеточными механизмами канцерогенеза и повышения урожайности высших растений.

Клеточный подход как магистральное направление подготовки специалистов биологического профиля

Сидоров А. В.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь. Email: sidorov@bsu.by
В рамках подготовки специалистов биологического профиля, осуществляющейся на биологическом факультете БГУ, предполагается введение в образовательную

практику второй ступени получения высшего образования курса «Нейробиология». Его программа основана на объеме в 126 часов, из них 46 – лекционные часы, 24 – лабораторные занятия, 56 – самостоятельная работа студентов. Цель курса – подготовить обучаемого к самостоятельной работе в области нейробиологии, сформировать у него систему современных представлений о физиологии нервных клеток. В связи с этим, основными задачами курса являются: (i) знакомство студентов с современными представлениями о структурно-функциональной организации нервной системы на анатомическом, гистологическом, клеточном уровнях; (ii) развитие у них представлений о клеточных и молекулярных механизмах, обеспечивающих передачу информацией между клетками; (iii) знакомство с основными интегративными механизмами в центральной нервной системе и (iv) методическими приёмами и подходами, применяемыми при исследовании функций нервной системы в организме позвоночных и беспозвоночных животных. Несложно видеть, что клеточный подход является преобладающим для понимания основ функционирования нейронов мозга, в том числе и в случаях их объединения в крупные ассоциации – нервные центры. Во многом такое положение дел отражает тенденции последних десятилетий в современном естествознании, связанных с возрастанием доли комплексных исследований, использующих для решения поставленных задач методические приёмы самых разнообразных дисциплин. Так, для изучения функций нервной системы используются не только сведения классических дисциплин физиологического профиля (анатомии, гистологии, цитологии, эмбриологии, физиологии, биофизики), но и генетики, биохимии, молекулярной биологии. Очевидно, что разработка и апробация комплекта образовательных ресурсов (учебные пособия, методические указания, практикумы, электронные ресурсы, в том числе и дистанционного обучения и контроля знаний) будет определяющим фактором при формировании у студентов теоретических и практических навыков для исследования функций мозга. При этом использование различных модельных организмов, позволяющих проводить манипуляции с отдельными, в идеале идентифицированными, клетками видится тем минимумом, который должен стать наполнение лабораторных практикумов по новым разрабатываемым курсам для студентов биологического профиля. Работа выполнена в рамках ГПНИ «Конвергенция–2020» (задание 3.10).

Использование молекулярных подходов в ботаническом образовании

Тихомиров В.Н., Поликсенова В.Д., Грушечкая З.Е., Дзюбан О.В.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: Tikhomirov_v_n@list.ru

В настоящее время все больше проблем, стоящих перед современной ботаникой, решаются с использованием молекулярно-биологических методов исследований. Это установление естественных филогенетических связей в различных группах растений и грибов, изучение их полиморфизма на внутри- и межпопуляционном уровнях, изучение закономерностей современного распространения различных видов и установление путей их расселения, совершенствование механизмов охраны редких видов. Эти методы также широко применяют в таких экспериментальных направлениях, как селекционно-генетические, биотехнологические исследования, диагностика заболеваний, выявление, картирование и маркирование определенных

генов и др. Для того, чтобы обеспечить современный уровень подготовки, в учебный план студентов, проходящих специализацию на кафедре ботаники, введен специальный курс «Молекулярная систематика». Он знакомит студентов с фундаментальными и прикладными аспектами ДНК-идентификации живых организмов, а также с принципами эволюционного анализа генетической информации. Кроме того, в спецпрактикум введен раздел «Молекулярные маркеры». В ходе его проработки студенты знакомятся с особенностями применения различных типов ДНК-маркеров в ботанических исследованиях; принципами проведения полимеразной цепной реакции; программными и статистическими инструментами для анализа молекулярно-генетических данных, полученных с использованием различных типов ДНК-маркеров. Они овладевают навыками выделения тотальной ДНК из живого и фиксированного материала, проведения ПЦР и электрофоретического разделения ее продуктов в агарозном геле, навыками работы на соответствующем лабораторном оборудовании. Студенты также учатся интерпретировать полученные результаты ПЦР-анализа с помощью пакета статистических программ (определение генетических дистанций, построение кладограмм). Введение в программу обучения блока молекулярно-биологических исследований позволило вывести подготовку специализирующихся студентов на новый теоретический и практический уровень. В 2016-2018 гг. на базе кафедры ботаники выполнено более 20 дипломных и курсовых работ, в которых студенты самостоятельно применяли молекулярно-генетические методы исследования. Владение специализирующимися студентами наряду с классическими ботаническими методами исследований также методами молекулярно-генетического анализа позволяет включить их в область своих компетенций и, помимо повышения общего уровня квалификации, позволяет повысить конкурентоспособность при дальнейшем трудоустройстве выпускников.

Ксенонанозология – развивающееся направление экологии

Юрин В.М.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь. Email: yurin@bsu.by
Ранее нами были проведены обширные исследования по действию различных классов ксенобиотиков (макросоединений) на функционирование основных транспортных системы (калиевые и кальциевые каналы, протонная помпа, переносчики аммония) плазматической мембраны растительные клетки, в частности клетки харовой водоросли *Nitella flexilis*. Были выявлены механизмы их мембранотропного действия и разработана система электроальгологического мониторинга водной среды. В связи с развитием и внедрением нанотехнологий особую остроту приобретают проблемы, связанные с возможным воздействием техногенных наночастиц на экосистемы и жизнедеятельность входящих в нее живых организмов. Техногенные наноматериалы – чужеродные живым организмам вещества, т.е. их следует относить к ксенобиотикам. В этой связи представляется целесообразным и адекватным использование терминов «ксенонанобиотики» и «ксенонанозология». Вещества при переходе в наносостояние приобретают новые биологические свойства: способность проникать через биологические мембраны внутрь клеточных и субклеточных структур и, более того, они обретают большую каталитическую активность. В настоящее время окружающая среда становится объектом положительных и отрицательных воздействий нанотехнологий. В этой

связи настоящим требованием времени является развитие новой отрасли экологической науки – ксенонаноэкологии. Ксенонаноэкология – новый раздел экологических исследований, предметом которых являются выявление потенциала и рисков, внешних и внутренних эффектов наноиндустриализации для окружающей среды и на входящие в экосистему организмы в целях разработки эффективных нормативов и стандартов для целенаправленной защиты биосферы. Разработка нормативных документов, например, установление предельно-допустимых концентраций, идет медленными темпами и требует больших затрат. Поэтому оценка безопасности наноматериалов и нанотехнологий на первых этапах должна проводиться на основе использования методов биотестирования, включающих тест-объекты разных уровней организации. Особое место в разработке оценки рисков ксенонаноматериалов должно занимать высоко качественное естественно-научное образование, позволяющее осуществить подготовку кадров для данной отрасли.

Именной указатель

A–Y

Angelis K.J. 60
Balcke Gerd U. 33, 34
Bilova T. E. 33, 34
Birkemeyer Claudia 33
Brandt Wolfgang 33
Bronnikova L. 56
Chantseva V.V. 34
Charnysh M. 18, 119
Demidchik V. 18, 46, 119
Frolov A. A. 33, 34
Frolova N. 33
Galinousky D. 33
Gorshkova T. 33
Gorsky I. 18, 119
Grishina T.V. 34
Hoehenwarter W. 33
Hryvusevich P. 18, 46
Ihling C. 33, 34
Isayenkov S.V. 47
Khotyleva L. 33
Khripach V.A. 18, 119
Kilchevsky A. 33
Kim Ahyoung 33
Kisnieriene V. 48
Kolbanov D. 18, 119
Lapeikaite I. 48
Lukasheva E. 33, 34
Mackievic V. 46
Mamontova T. V. 33, 34
Mavrupolo-Stolyarenko G.R. 34
Medvedev Sergei 33, 46
Milkowski C. 34
Mokshina N. 33
Navaselsky I. 18, 46
Osmolovskaya N.G. 34
Paudel G. 34
Pozhvanov G. 46
Pupkis V. 48
Przhevalskaya D. 18, 119
Samokhina V. 46
Sautkina O. 33
Sergeeva L. 56
Shulik V.V. 56

Sinz A. 33, 34
Smolich I. 18, 1189
Smolikova G. 33, 456
Sokolik A. 18, 46, 119
Straltsova D. 18, 46
Svistunenko D. 46
Tissier A. 33
Titov A. 21, 127
Usnich S. 18, 119
Vaitsiakhovich M. 46
Vetchinnikova L. 21, 127
Vogt Thomas 33
Wessjohann L. A. 33, 34
Zhabinskii V.N. 18, 119

A

Абламейко С.В. 117
Абрамчик Л.М. 97
Аверина Н.Г. 38, 57
Авксентьева О.А. 24
Адамович Т.П. 77
Андала Т.С. 54
Анохина В.С. 85
Антонович А.О. 100
Архипов Д.В. 27
Астрамович В.А. 58

Б

Бабак О.Г. 79
Бабков А.В. 101
Бадалян О.А. 51, 69
Бакакина Ю.С. 48
Банкин М.П. 35
Баранов О.Ю. 24
Барковский А.В. 108
Бачище Т.С. 19
Бачура Ю.М. 96
Беляй М.О. 83
Берестовой М.А. 36
Билова Т.Е. 35, 37
Большакова Е.В. 119
Бондаренко В.Ю. 108
Борзов Н.И. 79

Буко А.С. 58
Бычкова Н.Ю. 87

В

Вальвачев А.Н. 117
Василевская В.А. 20
Васько П.П. 83
Ведяшкина О.А. 65
Веевник А.А. 123
Ветошкин А.А. 109
Ветчинникова Л.В. 21, 127
Виноградова Г.Ю. 30
Виссенберг К. 71
Власова А.Б. 134
Войтехович М.А. 49, 50, 138
Волотович А.А. 123
Воронова Н.В. 58
Вэй Ч. 94

Г

Гаврилова В.А. 35
Галиновский Д.В. 80
Ганжур Е.Н. 96
Глушен С.В. 109
Гоголев Ю.В. 69
Гоголева Н.Е. 69
Голденкова-Павлова И.В. 28, 36, 39, 42, 45
Головченко Л.А. 84
Гончарик Р.Г. 57
Гордей И.А. 81
Гордей И.С. 81
Горский И.А. 112, 125, 135
Гра О.А. 45
Гриусевич П.В. 49, 50, 52, 53
Гриц А.В. 106, 117
Грицак В.Ю. 88
Грицак Л.Р. 88
Гришина Т.В. 37
Грищенко И.В. 120
Грушецкая З.Е. 139
Гундарь Е.В. 113

Д

Демидчик В.В. 29, 49, 50, 52, 53, 60, 63, 66, 67, 71, 74, 75, 94, 108, 109, 112, 114, 117, 125, 132, 135, 138
Демченко К.Н. 22
Дерябин А.Н. 23
Дзюбан О.В. 139
Дитченко Т.И. 87, 88, 93, 138
Дишук Н.Г. 84
Добродькин М.М. 79
Долгих Е.А. 30
Доманская И.Н. 97
Дробот Н.И. 82
Дробык Н.М. 88
Дубовец Н.И. 83
Дубовская А.Г. 35
Дубовская Л.В. 48
Дюбо Ю.В. 59

Е

Емельянова А.В. 38
Емельянова И.С. 119

Ж

Жабинский В.Н. 53, 125, 132
Жардецкий С.С. 96
Желудевич И.З. 100
Жуков В.А. 37
Жукова А.А. 44

З

Заварзин И.В. 95
Запрудская Е.В. 111
Захарова Е.В. 25
Заяц М.Ф. 38
Звонарёв С.Н. 60, 138
Зинович А.П. 106
Зинц А. 37
Змушко А.А. 122
Зорина А.А. 70
Зубарев А.В. 134
Зубей Е.С. 111
Зубрич А.И. 24

И

Игнатенко А.А. 61
Илинг К. 37
Ильина Е.Л. 22

К

Кабардаева К.В. 39, 45
Кабашникова Л.Ф. 97, 99, 105
Каган Д.И. 24, 40
Казнина Н.М. 62
Калацкая Ж.Н. 98, 102
Каляга Т.Г. 106
Карасева Е.Н. 106
Карпиевич В.А. 85
Карташов А.В. 52
Кастрицкая М.С. 124
Кильчевский А.В. 79, 80
Кирисюк Ю.В. 63
Кирюшкин А.С. 22
Клаус А.А. 52
Ковалев Я.В. 58
Ковалева Л.В. 25
Ковзунова О.В. 89, 116
Козел Н.В. 57
Козлова О.Н. 133
Колбанов Д.В. 29, 112, 132, 135
Коломиец О.О. 109
Колубако А.В. 51
Кондратьева В.В. 99
Кондратюк Д. М. 128
Кондрацкая И.П. 83
Константинов А.В. 84, 120, 121, 129, 130
Копылова Н.А. 41
Костень А.А. 112
Косык О.И. 76
Котяш А.Ф. 100
Кравченко У.А. 64
Красинская Т.А. 122
Краснопрошин В.В. 117
Крук А.Н. 64
Крыгынская Е.Н. 20
Куделина Т.Н. 111
Куделько С.Н. 113
Кудряшова О.А. 123
Кузнецов В.В. 52

Кузнецова Н.А. 66, 67
Кулагин Д.В. 130
Купцов Н.С. 123
Кухарчик Н.В. 124

Л

Ламан Н.А. 41, 98, 101
Леппянен И.В. 30
Лещенко Ю.В. 109
Литягина С.В. 28
Ломин С.Н. 27
Лукаткин А.С. 65, 119
Лукашева Е.М. 37
Лукашевич В.А. 109
Лукшина Т.А. 65
Луцник А.Я. 102
Лысенко Е.А. 52
Люсиков О.М. 81
Люшкевич В.А. 98

М

Мазец Ж.Э. 102
Мазур Т.В. 116
Макаревич Н.М. 102
Макарова Т.Б. 106
Мамонтова Т.В. 37
Мананкина Е.Е. 57
Маркевич Т.С. 40
Мацкевич В.С. 60, 66, 67, 74, 135, 138
Медведев С.С. 26, 30, 35, 71
Медведева А.С. 92
Минкина Ю.В. 25
Минкова В.В. 98
Миронов К.С. 70
Михальченко А.А. 117
Можаровская Л.В. 24, 130
Молчан О.В. 43, 90, 111
Мошков И.Е. 70
Мустафаев О.Н. 28, 39, 42
Мякушина Ю.А. 27

Н

Наборовская А.М. 115
Наталин П.Б. 42
Некрашевич Н.А. 79

Никитинская Т.В. 79
Николайчик Е.А. 51, 59, 64, 69
Никонович Т.Г. 117
Нилова И. А. 69
Новикова Г.В. 70
Новосельский И.Ю. 49, 50, 52
Носов А.М. 70, 95

О

Обручева Н.В. 28
Обуховская Л.В. 38
Олешук Е.Н. 117
Ольшаникова А.Л. 106
Остапчик В.С. 91

П

Павленко О.С. 28, 36, 39, 45
Падутов А.В. 131
Падутов В.Е. 24, 40, 84, 130, 131
Пантелеев С.В. 24, 84, 121
Подвицкий Т.А. 80
Пожванов Г.А. 71
Поликсенова В.Д. 100, 139
Полугодкова А.В. 29, 132
Попов Е.Г. 123
Потороченко О.В. 114
Пржевальская Д.А. 29, 109, 112, 125, 132, 135
Пригодич К.Д. 72
Прохоров В.Н. 41, 101
Пугачева И.Г. 79
Пишибытко Н.Л. 97

Р

Радюк М.С. 57
Раткевич Е.Б. 73
Репкина Н.С. 61
Решетников В.Н. 83, 134
Романов Г.А. 27
Романовская Е.В. 37
Романчук И.Ю. 85
Росоленко С.И. 101

С

Савченко Г.Е. 19
Савчук А.Л. 53
Садовская Н.С. 28, 42
Сак М.М. 101
Самохина В.В. 49, 66, 67, 74, 138
Саук И.Б. 85
Свадковская В.С. 78
Свиридов И.А. 38
Сиволобова Я.С. 133
Сидоров А.В. 138
Сидоров Р.А. 28, 36, 92
Сидорова С.Г. 73
Синетова М.А. 92
Синькевич И.А. 28
Скуратович Т.А. 43
Смоликова Г.Н. 30, 35
Смолич И.И. 58, 75, 100, 112, 138
Смольская О.С. 44
Соболькова Г.И. 95
Соколик А.И. 50, 52, 53, 74, 109
Соколов Ю.А. 102
Спиридович Е.В. 134
Стариков А.Ю. 92
Стжалковская Д.А. 113
Столепченко В.А. 83
Стрельцова Д.Е. 53
Сурат Е.В. 79
Суша О.А. 102
Сычева Е.А. 83

Т

Таланова В.В. 61
Таран Н.Ю. 76
Тимофеева В.А. 84
Тимофеева Г.В. 25
Титов А.Ф. 21, 61, 62, 127
Титова Г.Е. 30
Титова М.В. 95
Титок В.В. 123
Тихомиров В.Н. 139
Тихонович И.А. 37
Токунова Д.А. 113
Топчиева Л.В. 69
Тюрин А.А. 36, 39, 42, 45

У

Уснич С.Л. 112, 135

Ф

Фадеев В.С. 45
Фатыхова С.А. 43
Федорова А.П. 93
Филатова И.И. 98
Филиппова С.Н. 94, 114, 115
Филиппова Г.Г. 102, 103, 138
Филипчик Е.А. 106
Фоменков А.А. 70
Фролов А.А. 35, 37
Фролова Т.В. 98

Х

Ханило Н.С. 75
Харитонов Т.Д. 95
Холощева Е.С. 61
Хоменко И.М. 76
Хотляник Н.В. 134
Хотылева Л.В. 80
Храмцова Е.А. 96
Хрипач В.А. 53, 125, 132

Ц

Цыбульская Л.А. 125

Ч

Чанцева В.В. 37
Чекина А.А. 37
Чернобурова Е.И. 95
Черныш М.А. 29, 112, 125, 132, 135, 138
Чижик О.В. 83, 116, 133

Ш

Шабуня П.С. 43
Шалыго Н.В. 57, 106
Шашко А.Ю. 29, 108, 112, 117, 132, 135
Шашко Ю.К. 76, 104

Шевелева О.А. 128
Шевченко Г.В. 31
Шимко В.Е. 81
Шинкаренко В.С. 82
Широглазова О.В. 30
Шлапакова К.А. 29, 132
Шокель М.В. 122
Шпилевский С.Н. 105
Шулинский Р.С. 58
Шумилина Ю.С. 37

Щ

Щербаков Р.А. 57

Ю

Юрин В.М. 88, 90, 103, 114, 140
Юхимук А.Н. 83

Я

Яковец О.Г. 54, 72, 77, 78, 106, 138
Яковлева О.В. 30
Янчевская Т.Г. 106, 117
Яцевич К.К. 79

Научное издание

КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

**Тезисы докладов
II Международной научно-практической конференции**

**Республика Беларусь
Минск, 28-31 мая 2018 г.**

В авторской редакции

Ответственный за выпуск *И. И. Смолич*

Подписано в печать 18.05.2018. Формат 60×84/16. Бумага офсетная.
Ризография. Усл. печ. л. 8,6. Уч.-изд. л. 11,96. Тираж 135 экз. Заказ 247.

Белорусский государственный университет.
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/270 от 03.04.2014.
Пр. Независимости, 4, 220030, Минск.

Республиканское унитарное предприятие
«Издательский центр Белорусского государственного университета».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 12/63 от 19.03.2014.
Ул. Красноармейская, 6, 220030, Минск.

