

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 ($\cdot OH$), 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 двуниевых разрывов и щелочной Comet assay, который чувствителен к однонитевым 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 компарментов. Внутриклеточные механизмы металлоустойчивости изучены к настоящему времени гораздо лучше, однако и здесь остается немало нерешенных вопросов. Например, слабо изучены механизмы, обеспечивающие