

Полученные данные хорошо согласуются с имеющимися в литературе сведениями. В работе Евсеевой Н.В. с соавт. [3] было отмечено резкое увеличение количества пролиферативного антигена инициальных клеток (ПАИ) в апикальной меристеме проростков пшеницы у неустойчивого сорта после воздействия осмотического стресса. Это увеличение, по-видимому, отражает нарушение регуляции процесса вступления отдельных субпопуляций клеток меристемы в пролиферацию.

Таким образом, в работе показана возможность использования цитологического маркера (митотического индекса в клетках меристемы корешков проростков) для дифференцировки образцов люпина узколистного по устойчивости к засолению.

1. Анохина В. С., Тимошенко М. К., Саук И. Б., Куницкая М. П. Скрининг коллекции люпина на устойчивость к солевому стрессу // Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы. Минск, 2012. С. 37.

2. Давыдова Г. В. Методические указания по определению солеустойчивости зерновых бобовых культур. Л., 1979. 14 с.

3. Молекулярные маркеры морфогенеза в исследовании устойчивости растений к экстремальным факторам внешней среды / Евсеева Н. В. и др. // Стрессовые белки растений. Иркутск, 2004. С. 44-47.

4. Паушева З. П. Практикум по цитологии растений. М., 1988. 277 с.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТОВ ФИЛЬТРАТА КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ ФИТОПАТОГЕННОГО ГРИБА *F. CULMORUM* НА РАСТИТЕЛЬНЫЕ МЕМБРАНЫ

Левченко В. И., Соколик А. И.

Белорусский государственный университет, г. Минск
sokolik@bsu.by

Клеточные мембраны являются первичной мишенью действия большинства факторов внешней среды, включая абиотические и биотические. Исследователями давно установлен факт, что развитие картины фитопатогенеза во многих случаях связано с нарушением функций клеточных мембран, в частности, избирательного транспорта веществ и нарушения концентрационных градиентов. Кроме того, более поздние исследования указали также на ключевую роль плазматической мембраны в инициации и формировании защитных реакций растительных клеток при атаке фитопатогенов. Детальное исследование процессов, происходящих на мембране при патогенезе или формировании защитной реакции, и ставящее задачей установление конкретных молекулярных мишеней и компонентов, участвующих в этих процессах, предполагает ис-

пользование современных электрофизиологических подходов. Непременным условием исследования электрофизиологических параметров мембраны в режиме фиксации потенциала является электрическая изолированность клетки (т.е. отсутствие цитоплазматических контактов), что естественным образом ограничивает число возможных экспериментальных объектов [1].

В проведенном нами исследовании использовалось несколько модельных объектов, как хорошо изученных с точки зрения мембранного транспорта, так и установленных в нашей лаборатории заново. На начальном этапе экспериментальной работы мембранотропные эффекты исследовались на клетках гигантской пресноводной харовой водоросли *Nitella flexilis*, являющейся классическим объектом исследований. Было установлено, что добавление в среду культуральной жидкости (КЖ) патогенного гриба *Fusarium culmorum* приводит к смещению порога активации наружу выпрямляющих K^+ -каналов плазматической мембраны в направлении гиперполяризации, сопровождающемся гиперполяризацией мембраны.

На следующем этапе эксперименты проводились с доступными нам клетками суспензионных культур высших растений – кализии душистой и пшеницы сорта Тома. По имеющейся в литературе информации, клетки суспензионных культур не подвергались специальному электрофизиологическому исследованию в других лабораториях, таким образом, некоторые их характеристики, описанные нами, были представлены впервые [1]. Несмотря на некоторые отличия параметров мембранных токов, измеренных в контрольных условиях, добавление фильтрата КЖ вызывало в обоих объектах одинаковую реакцию, идентичную наблюдаемой в клетках харовой водоросли.

Одним из важных сигнальных соединений, участвующих в протекании защитных реакций растительных клеток является перекись водорода. Характерно, что добавление H_2O_2 к клеткам суспензионной культуры вызывало сильную гиперполяризацию мембраны, сопровождающуюся смещением порога потенциалзависимой активации наружу выпрямляющих K^+ -каналов плазматической мембраны. Сходство эффектов, оказываемых КЖ фитопатогенного гриба и H_2O_2 , предполагает сделать вывод, что действие КЖ *F. culmorum* на плазматическую мембрану, по-видимому, опосредовано участием активных форм кислорода. Интересно отметить, что добавление H_2O_2 к клеткам *Nitella* не вызывало типичного для клеток высших растений гиперполяризационного ответа мембраны, что, по-видимому, связано с отсутствием в клеточных стенках водорослей ферментных комплексов, необходимых для конвертации

H₂O₂ в гидроксильные радикалы, присутствующие в апопласте высших растений [2].

Клетки суспензионных культур, будучи удобным с точки зрения электрофизиологического исследования объектом, тем не менее, не вызывают особого интереса у физиологов растений. Такая ситуация объясняется функциональной недифференцированностью этих клеток, и вытекающей отсюда неопределенностью при интерпретации тех или иных регистрируемых физиологических реакций. Иными словами, например, эмбриональные растительные клетки (какими являются клетки суспензионной культуры) всегда расположены в глубине ткани и в непосредственный контакт с патогеном не вступают.

Для выяснения этого момента нами была предпринята серия экспериментов с интактными клетками нативных растений – отслаивающимися одиночными клетками корневого чехлика проростков пшеницы. Клетки корневого чехлика пшеницы оказались не самым удачным объектом, ввиду очень малого размера, однако в ряде случаев оказывалось возможным производить успешные электрофизиологические регистрации на этом объекте достаточно длительное время, до 1 часа. Добавление КЖ *F.culmorum* вызывало мембранную реакцию, сходную с наблюдавшейся ранее в клетках *Nitella* и суспензионных культурах, указывая, таким образом, на то, что данная реакция, по-видимому является универсальной для большого числа типов растительных клеток и тканей.

По данным литературы [3] при описании мембранотропных эффектов, вызываемых сырыми компонентами фитопатогенов либо конкретными очищенными компонентами, типичной реакцией растительных клеток является мембранная деполяризация, т.е. дезэнергизация мембраны, способствующая нарушению устанавливаемого системами активного транспорта градиента концентраций веществ и выхода их из клеток. Единственным исключением является эффект токсина гриба *Fusicoccum*, который также вызывает гиперполяризацию мембран. Однако, данная стратегия используется грибом для косвенных целей – принудительного открытия устьиц растений с целью облегчения инвазивного процесса. Таким образом, зарегистрированная нами нетипичная реакция, вероятно, может рассматриваться как потенциальная защитная реакция растения, направленная на предотвращение потери клетками калия и других питательных компонентов при патогенной атаке.

Участие активных форм кислорода в регуляции активности наружу выпрямляющих K⁺-каналов было недавно показано в клетках эпидермиса корня растений *Arabidopsis* [4]. Зарегистрированные нами эффекты, таким образом, могут являться одной из неизвестных ранее форм защитных реакций растительных клеток при патогенной атаке.

1. Левченко В. И., Булатова А. А., Шапчиц М. П., Соколик А. И.. Исследование электрофизиологических характеристик плазматической мембраны клеток суспензионных растительных культур // Труды БГУ. 2012. Т.7. № 1. С. 163–172.
2. Левченко В. И., Соколик А. И. Исследование эффектов внеклеточных компонентов фитопатогенного гриба *Fusarium culmorum* и перекиси водорода в клетках суспензионных культур растений // Клеточные механизмы взаимодействия растения и патогена: тезисы междунар. научн.-практ. конф.: «Клеточная биология и биотехнология растений» Минск, 2013. С. 127.
3. Tattar T. A. Electrophysiological research in plant pathology // Annual Reviews of Phytopathology. 1976. Vol. 14 P. 309 – 325.
4. Demidchik V., Cuin T. A., Svistunenko D., Smith S. J. et al. Arabidopsis root K^+ -efflux conductance activated by hydroxyl radicals: single-channel properties, genetic basis and involvement in stress-induced cell death // Journal of Cell Sciences. 2010. Vol. 123. P. 1468-1479.

НАКОПЛЕНИЕ БИОМАССЫ И ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В КАЛЛУСАХ ПАЖИТНИКА ГРЕЧЕСКОГО ПРИ ВАРЬИРОВАНИИ КОНЦЕНТРАЦИИ ФРУКТОЗЫ В СРЕДЕ

Логвина А. О., Закревская Т. Н., Дитченко Т. И., Юрин В. М.
Белорусский государственный университет, Минск
hanna.lohvina@gmail.com

Пажитник греческий (*Trigonella foenum-graecum* L.) является одним из древнейших культивируемых лекарственных растений [1]. Представляет собой перспективный источник широкого спектра биологически активных соединений, в частности, метаболитов фенольной природы. Присутствие данных веществ обуславливает многие терапевтические свойства пажитника греческого, среди которых гепатопротекторная, иммуномодулирующая, противовоспалительная, ранозаживляющая и антиоксидантная активности [4]. Альтернативным способом получения фитомассы пажитника греческого, в больших объемах необходимой для производства полифенолсодержащих лекарственных субстанций, может стать применение биотехнологического приема культуры клеток и тканей растений *in vitro*. Для того, чтобы применение клеточных культур в промышленных масштабах было экономически оправданным, они должны одновременно характеризоваться высокой активностью роста и синтеза целевых биологически активных веществ. Это достигается соблюдением определенных, оптимальных для каждой конкретной культуры, условий выращивания. Экзогенный источник углерода, как правило, является фактором, лимитирующим рост клеточных культур, так как замедление ростовых процессов или полное их прекращение на-