

Показано, что после инкубирования в течение суток количество каротиноидов в листьях увеличивалось по сравнению с контролем. Это связано с тем, что ионы кадмия индуцируют образование АФК, приводя к сильным окислительным процессам в растительных тканях. В свою очередь, известно, что каротиноиды могут действовать как «ловушки» радикалов. Этим можно объяснить тот факт, что после трех суток произошло снижение интенсивности ПОЛ в варианте Cd^{2+} (1 мг/л) по сравнению с этим же вариантом через одни сутки. Содержание каротиноидов снижалось после трехдневной инкубации во всех вариантах по сравнению с их количеством через одни сутки.

Таким образом, ионы кадмия в повышенных концентрациях вызывают максимальные повреждения мембран, активизируется антиоксидантная система защиты растений. При этом содержание каротиноидов возрастает, приводя к уменьшению интенсивности ПОЛ. Это подтверждает их способность к снижению генерации АФК. После трехдневной инкубации, очевидно, наступает фаза адаптации.

Литература

1. Гавриленко В. Ф., Жигалова Т. В. Большой практикум по фотосинтезу. М., 2003. 256 с.
2. Chance B., Maehly A. C. Assay catalase and peroxidase. *Methods in Enzymology*. N. Y.: Academic Press, 1955. P. 764–775.
3. Uchiyama M., Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test // *Anal. Biochem.* 1978. Vol. 86. P. 287–297.

THE ACTION OF CADMIUM IONS IN A CONCENTRATION GRADIENT ON THE PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF *CERATOPHYLLUM DEMERSUM* L.

К. А. РОМОРТСЕВА

Ural Federal University, Yekaterinburg

Summary. Studies have been performed to assess the response of *Ceratophyllum demersum* L. to the impact of cadmium sulphate in a concentration gradient (0.1; 1.0; 10 mg/L Cd^{2+}). We have determined the lipid peroxidation intensity, peroxidase activity and the content of photosynthetic pigments in plants. Observed changes (after 72 h) can be defined as the adaptation phase.

ПОДХОДЫ К ИЗУЧЕНИЮ МЕХАНИЗМОВ АНТИГРИБНОГО ДЕЙСТВИЯ ХАРПИНО-ПОДОБНЫХ ЗАЩИТНЫХ ПЕПТИДОВ РАСТЕНИЙ

Е. А. РОГОЖИН¹, А. С. ВАСИЛЬЧЕНКО^{2,3}, С. К. ЗАВРИЕВ¹

¹Институт биоорганической химии РАН, Москва

²Оренбургский государственный университет

Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург

E-mail: rea21@list.ru

Болезни растений, вызываемые различными патогенными микроорганизмами, приносят значительный экономический ущерб при сельскохозяйственном производстве во многих странах. В связи с этим отдельного внимания заслуживают разработка и совершенствование новых эффективных систем защиты растений от болезней, в частности с применением биологически активных соединений природного происхождения. При этом немаловажный интерес представляет

изучение молекулярных механизмов действия таких соединений на патогенные микроорганизмы-мишени.

Объектом наших исследований является пептид ЕсАМР1, ранее выделенный из семян ежевника (*E. crusgalli*), принадлежащего к семейству харпино-подобных защитных пептидов растений, для которого показано наличие выраженных антифунгальных свойств, а также способность подавлять рост бактериальных колоний *in vitro*. В рамках проведенной работы было проведено более детальное исследование взаимодействия харпино-подобного антимикробного пептида ЕсАМР1 семян ежевника с конидиями фитопатогенного гриба *F. solani*. Ранее было показано, что данный пептид обладает достаточно широкой специфичностью антифунгального действия против большого спектра видов грибов-микромитозов из различных родов и биоэкологических групп.

На первом этапе была установлена степень выраженности проявляемого эффекта пептида на структуры гриба при различных действующих концентрациях (до 64 мкМ). Так, было установлено, что только при «сверхвысоких» концентрациях ЕсАМР1 (более 32 мкМ) проявляется наличие морфологических изменений структур конидий, которые могут являться следствием гипернакопления пептида на оболочке (предположительно за счет связывания с углеводными компонентами клеточной стенки), что в конечном итоге влияет на биохимические процессы морфогенеза – биосинтез углеводов, их полимеризацию или на подавление ферментативного комплекса, задействованного в данном процессе.

На втором этапе исследований была изучена степень выраженности проявляемого эффекта пептидом на конидии гриба, находящиеся в различном физиологическом состоянии (стадия проросших и непроросших клеток), а также в зависимости от времени экспозиции. При детальном рассмотрении данных, полученных с добавлением ЕсАМР1, можно видеть, что действие пептида на проросшие в течение 24 ч конидии является статистически более выраженным. Полученные данные позволяют предположить, что данный пептид с большей эффективностью способен действовать на молодые гифы, чем на относительно устойчивые конидии, некоторые типы которых в частности предназначены для сохранения организма при действии неблагоприятных факторов окружающей среды.

На третьем этапе исследований была определена динамика накопления и перераспределения ЕсАМР1 в клетках конидий по времени с применением методов лазерной флуоресцентной микроскопии. Измерения, проведенные с разрешением 130 нм, показали, что пептид распределен по оболочке равномерно. При инкубации грибов с пептидом в течение 1–6 ч признаков неоднородного связывания ЕсАМР1 на оболочке не обнаружено. Это позволяет предположить, что на оболочке споры присутствует большое число центров связывания пептида, распределенных однородно.

Четвертый этап исследований был связан с определением ряда физических параметров клеточной поверхности грибных конидий после инкубирования с разными концентрациями ЕсАМР1. Использование метода атомно-силовой микроскопии (АСМ) для решения данных задач в последнее время является одним из основных инструментов для количественного определения результатов воздействия разнообразных соединений на грибные споры. С использованием метода

АСМ была изучена способность пептида EcAMP1 изменять физические свойства поверхности грибных спор. Пептиды тестировали в диапазоне действующих концентраций 4–32 мкМ. В рамках данной работы была установлена прямая зависимость между возрастанием его действующей концентрации и степенью нарушения (разрушения, разрыхления) поверхности грибных спор путем экспериментального определения среднеквадратичной шероховатости поверхности. Так, при концентрации 4 и 8 мкМ данное значение составляло 2,69 и 2,96 относительных единиц (отн. ед.), что выше контроля соответственно на 16 и 27 %. При увеличении действующих концентраций EcAMP1 до 16 и 32 мкМ данный параметр возрастал до 3,9 и 6,31 отн. ед., что превышало контрольное значение в 1,7 и 2,7 раза. Таким образом, существует корреляция между нарушением структуры грибных конидий под воздействием изучаемого пептида и наличием морфологических изменений, которые детектируются визуальным методом оптической микроскопии при концентрации более 20 мкМ.

В заключение хотелось бы подчеркнуть, что в рамках данной работы была проведена серия исследований по изучению взаимодействия антимикробного харпино-подобного пептида EcAMP1 семян ежевника (*E. crusgalli*) с фитопатогенным грибом *F. solani* на клеточном уровне. Впервые показано, что изучаемый пептид может обладать специфичностью действия, которая может заключаться в реализации особого механизма действия, что в конечном итоге приводит к проявлению фунгистатического эффекта.

APPROACHES TO STUDYING OF PLANT HAIRPIN-LIKE DEFENSE PEPTIDES' MODE OF ANTIFUNGAL ACTION

E. A. ROGOZHIN¹, A. S. VASILCHENKO^{2,3}, S. K. ZAVRIEV¹

¹*Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow*

²*Department of Microbiology, Orenburg State University, Orenburg*

³*Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Russian Academy of Sciences, Orenburg*
E-mail: rea21@list.ru

Summary. An interaction of hairpin-like cationic peptide EcAMP1 from barnyard grass (*Echinochloa crusgalli* L.) with conidia of plant pathogenic fungus *Fusarium solani* at the cellular level was studied by combination of optical, laser scanning fluorescence and atomic force microscopy. As result, a direct relationship between hyphal growth inhibition and increasing of peptide active concentration, time of incubation and fungal physiological condition has been determined. A dynamics of accumulation and redistribution of the peptide studied on fungal cellular cover and inside the conidia cells depending on time of coupling has been shown, also a dissimilarity of EcAMP1 binding with fungal cover, and its stepwise accumulation and diffuse localization in cytoplasm. A correlation between structural disruption of fungal conidia under influence of peptide high concentrations and presence of morphological changes at concentration above 32 μ M has been also found.