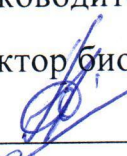


Министерство образования и науки Российской Федерации
(МИНОБРНАУКИ РОССИИ)
ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ (ТГУ)
Институт биологии, экологии, почвоведения, сельского и лесного хозяйства
Кафедра физиологии растений и биотехнологии

ДОПУСТИТЬ К ЗАЩИТЕ В ГЭК

Руководитель ООП

доктор биол. наук

 Д.С. Воробьев

« 9 » июня 2016 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ МЕДИ НА МИКРОКЛОНИРОВАНИЕ *LYCHNIS CHALCEDONICA* L. В УСЛОВИЯХ СЕЛЕКТИВНОГО СВЕТА

По основной образовательной программе подготовки бакалавров
направление подготовки

06.03.01 – БИОЛОГИЯ

Никиткина Эллина Георгиевна

Руководитель ВКР

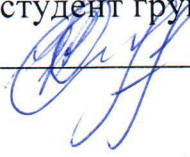
профессор, доктор биол. наук

 И. Ф. Головацкая

« 9 » июня 2016 г.

Автор работы

студент группы № 01202

 Э. Г. Никиткина

Томск 2016

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	3
1 ЗНАЧЕНИЕ ИОНОВ МЕДИ В ПРИРОДЕ.....	5
1.1 Медь в почве и растениях.....	5
1.1.1 Медь в почве	5
1.1.1.1 Общие сведения.....	5
1.1.1.2 Реакции с компонентами почв	7
1.1.1.3 Загрязнение почв	10
1.1.2 Медь в растениях	11
1.1.2.1 Биохимические функции.....	11
1.1.2.2 Поглощение и перенос.....	16
1.1.2.3. Взаимодействие с другими элементами	18
2 СВЕТ В ЖИЗНИ РАСТЕНИЯ.....	21
2.1. Общие сведения.....	21
2.2. Красный свет и растение.....	22
2.3. Синий свет и растение.....	23
2.3.1 Фоторецепция.....	23
2.3.3 Взаимодействие рецепторов.....	24
2.3.2 Структура криптохрома.....	25
3 ОБЪЕКТ И МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	27
3.1 Описание вида <i>Lychnis chalcidonica</i> L. и преимущества его использования в качестве модельного объекта	27
3.2 Методики исследования.....	27
3.2.1 Приготовление питательной среды.....	28
3.2.3 Количественное определение фотосинтетических пигментов в микрклонах <i>Lychnis chalcidonica</i> L.....	28
3.2.2 Ламинарный бокс и техника работы в нём.....	28
4 ВЛИЯНИЕ ИОНОВ МЕДИ НА МИКРОКЛОНИРОВАНИЕ <i>LYCHNIS CHALCEDONICA</i> L. В УСЛОВИЯХ СЕЛЕКТИВНОГО СВЕТА.....	31

4.1 Влияние ионов меди на морфогенез микроклонов <i>Lychnis chalcedonica</i> L. в условиях селективного света	31
4.1.1 Влияние ионов меди на развитие побега микроклонов <i>Lychnis chalcedonica</i> L. в условиях селективного света	31
4.1.2 Влияние ионов меди на развитие корневой системы микроклонов <i>Lychnis chalcedonica</i> L. в условиях селективного света	33
4.1.3. Влияние ионов меди на массу растения <i>Lychnis chalcedonica</i> L. в условиях селективного света.....	36
4.2 Влияние ионов меди на содержание фотосинтетических пигментов в микроклонах <i>Lychnis chalcedonica</i> L. в условиях селективного света.....	38
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	40
ВЫВОДЫ.....	43
Список использованной литературы.....	45

ВВЕДЕНИЕ

Медь является важным микроэлементом, определяющим рост и развитие растений. Ионы этого металла участвуют в многочисленных физиологических процессах и являются существенным кофактором многих металлопротеинов, однако, избыток меди ингибирует рост растений и ухудшает важные клеточные процессы (в т.ч. работу ЭТЦ фотосинтеза). В связи с этим в растениях развивались различные стратегии регуляции гомеостаза меди в зависимости от её уровня в окружающей среде. Такие стратегии должны предотвратить накопление металла в свободной реактивной форме (пути детоксикации металла и т.д.) и обеспечить своевременную доставку этого элемента к целевым металлопротеидам [Yruela, 2005]. Однако, механизмы, связанные с усвоением этого незаменимого микроэлемента на селективном свете, пока не были чётко определены. В связи с этим, целью нашей работы было определить влияние ионов меди на микроклонирование *Lychnis chalcidonica* в условиях селективного света.

В соответствии с целью были сформулированы следующие задачи:

- 1) Получить микроклоны *Lychnis chalcidonica* L., выращенные на свете красной и синей областей спектра ФАР;
- 2) Изучить влияние меди на рост микроклонов *Lychnis chalcidonica* L. (длина междоузлий, количество ярусов, длина и количество корней, сухая и сырая масса побега и корня) на красном и синем свете;
- 3) Определить содержание фотосинтетических пигментов в листьях микроклонов *Lychnis chalcidonica* L. в зависимости от концентрации экзогенной меди и спектрального состава света;

Работа выполнена в лаборатории биотехнологии и биоинженерии при кафедре физиологии растений и биотехнологии Биологического института ТГУ.

По результатам исследований было сделано 3 постерных доклада и опубликовано 2-3 тезисов на конференциях «Старт в науку» (Томск, 2015), «Растения в условиях глобальных и локальных природно-климатических и антропогенных воздействий» (Петрозаводск, 2016) и «Биотехнология, биоинформатика и геномика растений и микроорганизмов» (Томск, 2016). В настоящее время 1 материалы сданы для представления на Годичном собрании общества физиологов растений России г. Санкт-Петербург (июнь, 2016).

Автор работы выражает благодарность научному руководителю профессору доктору биологических наук И.Ф. Головацкой за помощь в выполнении работы и ценные советы, консультанту Ю.В. Медведевой за полезные рекомендации и предоставленный материал, а также аспиранту Е.В. Бойко за помощь в освоении методик исследования.

1 ЗНАЧЕНИЕ ИОНОВ МЕДИ В ПРИРОДЕ

1.1 Медь в почве и растениях

1.1.1 Медь в почве

1.1.1.1 Общие сведения

Среди пород земной коры повышенные содержания меди (Cu) свойственны основным и средним горным породам, а пониженные – карбонатным (табл. 1).

Таблица 1 – Медь в главных типах горных пород [Кабата-Пендиас, Пендиас, 1989]

Типы горных пород	Cu, мг/кг
<i>Магматические породы</i>	
Ультраосновные (дуниты, перидотиты, пироксениты)	10 - 40
Основные (базальты, габбро)	60 - 120
Средние (диориты, сиениты)	15-80
Кислые (граниты, гнейсы)	10 - 30
Кислые эффузивные (риолиты, трахиты, дациты)	5 - 20
<i>Осадочные породы</i>	
Глинистые осадки	40 - 60
Сланцы	40
Песчаники	5 - 30
Известняки, доломиты	2 - 10

Cu образует большое число минералов, из которых наиболее распространенные первичные минералы – простые и сложные сульфиды. Они довольно легко растворяются при выветривании и высвобождают ионы меди. Особенно характерно это для кислых сред. Поэтому Cu считается одним из наиболее подвижных тяжелых металлов в гипергенных процессах. Однако катионы меди обладают многообразными свойствами и в почвах и

Глубина, см

0 25 50 75 100

0 20 0 20 0 20 0 40 0 30 мг Си на 1 кг

Песчаная бурая выщелоченная кислая Песчаный подзол Рендзина Торфянистая почва

Тря на то, что в агрономической практике важное значение имеют подвижные, а, следовательно, подвижные и доступные формы Cu в почвах. В геохимических исследованиях основная доля получаемой информации – это валовые содержания Cu в почвах. Что касается средних валовых содержания Cu, то они колеблются в пределах 6–60 мг/кг, достигая максимума в ферралитовых почвах и минимума – в песчаных и супесчаных почвах. Закономерное в широком масштабе распределение Cu в почвах обуславливает, что ее начальным состоянием в них управляют два фактора – материнское вещество и почвообразовательные процессы (Пендиас, Пендиас, 1989).

6

экосистем показывает, что атмосферный привнос этого элемента может отчасти возмещать удаление Cu при образовании биомассы живого вещества, а в некоторых случаях даже превышать общее удаление этого металла из почв.

Таблица 2 – Годовой баланс привноса/выноса микроэлементов для почв из различных экосистем (г/(гагод)) [Кабата-Пендиас, Пендиас, 1989]

Поступление из атмосферы (суммарное)	Вынос потоком воды или поглощение растениями	Тип почвы	Экосистема
18	7	Бурый подзол	Сосновый лес, Шварцвальд (ФРГ)
224	108	Бурая кислая суглинистая	Берёзово-еловый лес, плато Золлинг (ФРГ)
20	29	Подзолистая лесная почва	Еловый лес (лизиметр), Хеспехольм (Южная Швеция)
39	18 (дренажные воды)	Подзолистая лёгкая суглинистая	Лизиметры и участки полей, Пулавы (Польша)
40	40	Бурая почва	Дубовый лес, Зволлин (Чехословакия)

Наблюдаемое ныне загрязнение почв медью может приводить к экстремально высокому ее накоплению в верхнем слое почв.

1.1.1.2 Реакции с компонентами почв

Преобладающей обычно в поверхностных средах подвижной формой меди является катион с валентностью +2, однако в почвах могут присутствовать и другие ионные формы (рис. 2).

Впрочем, ионы меди способны прочно удерживаться в обменных позициях как на неорганических, так и на органических веществах. Процессы, контролирующие фиксацию меди на восстанавливающих почву компонентах, связаны со следующими явлениями:

- 1) адсорбцией;
- 2) окклюзией и соосаждением;
- 3) образованием органических хелатов и комплексообразованием;

4) микробиологической фиксации.

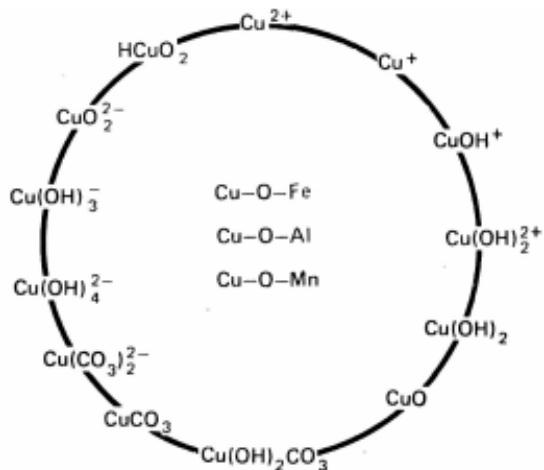


Рисунок 2 – Ионные формы, соединения и химические связи Cu, проявляющиеся в почвах [Кабата-Пендиас, Пендиас, 1989]

Все минералы почв способны адсорбировать ионы Cu из раствора. Это свойство зависит от заряда поверхности адсорбента. Поверхностный заряд строго контролируется величиной pH, следовательно, адсорбцию ионных форм Cu можно представить как функцию pH (рис. 3).

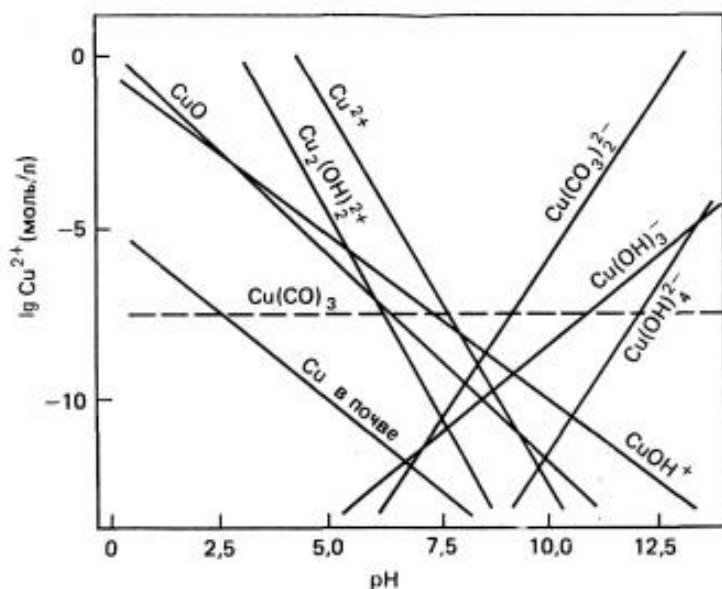


Рисунок 3 – Схематическая диаграмма растворимости ионных форм меди и медь-содержащих компонентов почв [Maliszewska, Wierzbicka, 1978; Laul et al., 1979].

Этот тип адсорбции Cu, по-видимому, самый важный в почвах с высоким содержанием минералов с переменным поверхностным зарядом [Ивлев и др., 1971].

Неспецифическая адсорбция меди включает окклюзию, соосаждение и замещение в кристаллической решетке. Фракция меди, неспособная к диффузионному переносу в почве, представляет собой Cu, заключенную в различные минеральные структуры. Некоторые почвенные минералы, такие, как гидроксиды Al и Fe, карбонаты, фосфаты, а до некоторой степени и глинистые силикаты, имеют большую склонность к связыванию Cu в неподвижные соединения, которые представляют собой наиболее устойчивую ее форму в почве. Это явление – хемосорбция – может включать в себя также образование кислородных мостиковых связей (рис. 2). Ключевые реакции, управляющие поведением Cu в большинстве почв, – хелато- и комплексообразование. Способность органических составляющих почв связывать Cu хорошо известна, и этому вопросу посвящено огромное число публикаций [Кабата-Пендиас, Пендиас, 1989].

Множество органических соединений образуют растворимые или нерастворимые комплексы с Cu, поэтому способность почв связывать Cu или содержать ее в растворенном виде сильно зависит от характера и количества органического вещества в почвах. Гуминовые и фульвокислоты способны образовывать устойчивые комплексы с Cu, когда она присутствует в малых количествах, и органическое вещество может изменять характер некоторых реакций Cu с неорганическими компонентами почв [Bloom et al., 1979; Bloomfield, 1981].

Микробиологическая фиксация играет важную роль в связывании Cu в некоторых типах почв. Количество Cu, связанной в биомассе микроорганизмов, меняется в широких пределах и зависит от многих факторов – концентрации меди, свойств почвы, сезона года (табл. 3). Микробиологическая фиксация Cu – важный этап в ее экологическом круговороте.

Таблица 3 – Аккумуляция Cu в биомассе микроорганизмов верхнего слоя почвы по сезонам года [Korkman, 1980].

Характеристика почвы	Cu	
	Почва, мг/кг	Биомасса, кг/га
С низким содержанием элемента	43	0,004a
		0,006
		0,028
С высоким содержанием элемента	270	0,60
		0,25
		0,22
Контрольная почва (чернозем)	73	0,019
		0,069
		0,059

^aВерхние строки чисел соответствуют весне, средние - лету, нижние - осени.

Хотя медь является одним из наименее подвижных тяжелых металлов в почве, ее содержание в почвенных растворах достаточно велико во всех типах почв. В заключение необходимо особо подчеркнуть, что концентрация Cu в почвенных растворах контролируется главным образом реакциями Cu с активными группами на поверхности твердой фазы и реакциями Cu со специфическими веществами.

1.1.1.3 Загрязнение почв

Загрязнение почв соединениями меди – это результат использования медьсодержащих веществ: удобрений, растворов для опрыскивания, сельскохозяйственных и коммунальных отходов, а также поступления из промышленных источников (табл. 4). Некоторые локальные аномалии Cu в почвах могут возникать в результате коррозии конструкционных материалов, содержащих сплавы меди (например, электрических проводов, труб).

Самое важное обстоятельство в загрязнении почв медью – это большая склонность поверхностного слоя почв к ее накоплению. Вследствие этого содержание Cu в почвах выросло в некоторых случаях до крайне высоких значений – около 3500 мг/кг вблизи промышленных источников загрязнения и примерно 1500 мг/кг в случае источников загрязнения агротехнического

происхождения (табл. 4). Пороговое значение в 100 мг/кг уже давно превышено во многих загрязненных почвах.

Таблица 4 – Загрязнение поверхностного слоя почв медью (мг/кг сухой массы) [Кабата-Пендиас, Пендиас, 1989]

Место опробования или источник загрязнения	Страна	Среднее или пределы колебаний
Старый рудничный район	Великобритания	13 - 129
Добыча цветных металлов	Великобритания	415 - 733
	Япония	456 - 2020
Металлообрабатывающая промышленность	Австралия	847
	Болгария	24 - 2015
	Канада	1400 - 3700 ^a
	Польша	72 - 125
Огороды, фруктовые сады и парки в пределах города	Австралия	210
	Канада	11 - 130
	Япония	31 - 300
	Польша	12 - 240
	США	3 - 140
	СССР	50 - 83 ^б
Орошение стоками, мелиорируемые или удобряемые сельскохозяйственные угодья	Нидерланды	265
	Польша	80 - 1600
	США	90
	ФРГ	187 - 280
Применение фунгицидов	ФРГ	273 - 522

^a На расстоянии 3 - 6,3 км от металлургического завода. ^б Виноградник.

Методы обезвреживания почв, основанные главным образом на внесении извести, торфа (в качестве органического вещества) и фосфатов, оказывают различное действие в зависимости от особенностей почв и растительности. Следует учитывать, что медь, сохраняющаяся в поверхностном слое, влияет на биологическую активность почвы и может становиться доступной для растений в самых различных условиях [Кабата-Пендиас, Пендиас, 1989].

1.1.2 Медь в растениях

1.1.2.1 Биохимические функции меди

Считается, что первыми обосновали необходимость меди для высших растений в 1931 г. С. Липман и Ж. Мак-Кинней [Marschner, 1997]. Медь способна образовывать стабильные комплексы и изменять валентность ($\text{Cu}^{2+} \leftrightarrow \text{Cu}^{+}$). Одновалентная медь, в отличие от двухвалентной, нестабильна. В растениях до 98 – 99% меди содержится в виде комплексных форм,

концентрация свободных ионов Cu^{2+} и Cu^+ предельно низкая [Marschner, 1997]. Более 50% меди, локализованной в хлоропластах, связано с пластоцианином. Медь характеризуется большим сродством к аминокислотам, чем к органическим кислотам, и средней мобильностью во флоэме.

Большинство функций меди как микроэлемента связано с ее участием в ферментативных окислительно-восстановительных реакциях. Выделено несколько групп белков [Sandmann, Böger, 1983]:

- 1) белки голубого цвета, не обладающие оксидазной активностью (пластоцианин), участвующие в передаче одного электрона;
- 2) белки (пероксидазы), участвующие в окислении монофенолов до дифенолов;
- 3) белки, содержащие, по меньшей мере, четыре атома меди на молекулу, действующие как оксидазы (аскорбатоксидаза, дифенолоксидаза).

Далее приведена характеристика важнейших Cu-ферментов.

Пластоцианин. Более 50% меди, локализованной в хлоропластах, связано с пластоцианином [Marschner, 1997]. Этот голубой белок содержит по одному атому меди на каждую молекулу. Медь координирована двумя молекулами гистидина, одной молекулой цистеина и одной молекулой метионина в тетраэдрической конфигурации. Как правило, на 1000 молекул хлорофилла приходится три-четыре молекулы пластоцианина [Sigfridsson, 1998]. Осуществляет функции цитохром *f*-ФС 1-оксидоредуктазы; в связи с этим в условиях дефицита меди активность ФС 1 снижается значительно больше, чем активность ФС 2 [Henriques, 1989]. Пластоцианин невелик по массе (около 10,5 кД); как переносчик он должен легко диффундировать внутри тилакоида [Sigfridsson, 1998].

Цитохромоксидаза. Представляет собой оксидазу митохондриальной ЭТЦ, содержит два атома меди и два атома железа в гемовой конфигурации. Атомы меди (Cu_A) принимают участие в транспорте электрона от цитохрома *c* к гему a_3 а затем к биядерному центру, состоящему из гема a_3 и атома меди

(Cu₃), где происходит связывание и восстановление кислорода [Ferguson-Miller, Babcock, 1996; Michel, 1998]. В условиях недостатка меди активность фермента снижается [Ayala, Sandmann, 1988].

Полифенолоксидаза. Катализирует перенос электронов от ряда фенолов (гидрохинон, пирокатехин, пирогаллол) на молекулярный кислород (рис. 4)

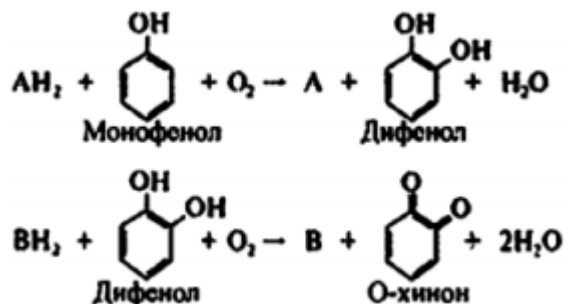


Рисунок 4 – Катализирующее действие полифенолоксидазы [Битюцкий, 2011].

Фермент включен в биосинтез лигнина, алкалоидов, меланинов, иногда формирующихся при ранении растительных тканей (яблоки, клубни картофеля). Эти вещества способны ингибировать прорастание спор и рост грибов. В условиях недостатка меди активность фермента коррелирует с аккумуляцией в растениях фенолов и меланиновых веществ. При нормальном снабжении медью споры *Aspergillus niger* черного цвета, при незначительном дефиците – светло-коричневого, а при полном дефиците – белого. Снижение полифенолоксидазной активности, обусловленное недостатком меди, отмечается как одна из причин нарушений в цветении растений [Marschner, 1997].

Супероксиддисмутаза. Изофермент СОД (CuZnСОД) молекулярной массой около 32 кД, содержит по одному атому меди и цинка, соединенных общим азотом гистидина. Играет важную роль в детоксикации супероксидного радикала O₂⁻.

Аскорбатоксидаза. Катализирует окисление аскорбиновой кислоты до дегидроаскорбиновой (рис.5).

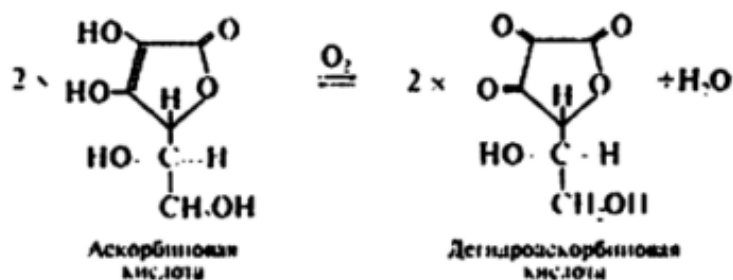


Рисунок 5— Катализирующее действие аскорбиновой кислоты [Битюцкий, 2011].

Содержит по четыре атома меди на молекулу, обеспечивающих восстановление кислорода до воды. Локализована в клеточных стенках и цитоплазме. Может работать как терминальная дыхательная оксидаза или в комбинации с полифенолоксидазой, используя молекулярный кислород в качестве акцептора электронов. При недостатке меди активность фермента снижается и потому используется как показатель обеспеченности растений медью [Marschner, 1997].

Аскорбиновая кислота – важный компонент антиоксидантной системы, ответственной за трансформацию H_2O_2 [Noctor, Foyer, 1998]. Активность аскорбатоксидазы контролируется ауксином, что обеспечивает связь между метаболизмом аскорбиновой кислоты и формированием корней [Esaka et al., 1992].

Аминоксидаза. Содержащая медь аминоксидаза относится к большому классу оксидаз, катализирующих окислительное дезаминирование аминов. Эти ферменты обнаружены у различных организмов: бактерий, растений, млекопитающих [Brazeau et al., 2004]. В растениях Cu-изоформа аминоксидазы принимает участие в защитных реакциях растений и в многочисленных процессах развития, включая лигнификацию и отложение суберина в ходе формирования пробковой ткани [Moller, McPherson, 1998; Rea et al., 2002].

Выделенный из различных организмов белок фермента состоит из двух субъединиц, содержащих по одному атому меди. В молекуле фермента медь координирована тремя остатками гистидина и двумя молекулами воды (в

аксиальном и экваториальном по отношению к атому меди положении). Кроме участия в образовании комплексов, медь задействована в активации молекулярного кислорода [MacPherson, Murphy, 2007]. Фермент локализован главным образом в апопласте эпидермиса и ксилемы зрелых растительных тканей. Функционирование фермента сопровождается высвобождением H_2O_2 – субстрата для пероксидазы в процессах лигнификации и суберинизации [Angelini et al., 1990]. В условиях дефицита меди активность энзима понижена [Marschner, 1997].

Лигнификация. Заметно влияние меди на формирование и химический состав клеточных стенок. По крайней мере, два фермента, содержащих медь, – полифенолоксидаза и диаминоксидаза – участвуют в синтезе лигнина. В условиях недостатка меди происходит уменьшение отношения массы материала клеточных стенок к общей сухой массе растений, а также содержания лигнина. Причем, нарушения в лигнификации обнаруживаются даже при незначительном недостатке меди [Robson et al., 1981].

Формы нахождения и поведение меди в растениях изучаются очень интенсивно. Все данные, опубликованные в ряде работ, можно суммировать следующим образом:

1. Cu присутствует в основном в комплексных соединениях с низкомолекулярными органическими веществами и протеинами.
2. Cu присутствует как в составе энзимов, имеющих жизненно важные функции для метаболизма растений, так и в веществах с неизвестными функциями.
3. Cu играет значительную роль в некоторых физиологических процессах – фотосинтезе, дыхании, перераспределении углеводов, восстановлении и фиксации азота, метаболизме протеинов и клеточных стенок.
4. Cu влияет на проницаемость сосудов ксилемы для воды и таким образом контролирует баланс влаги.

5. Cu контролирует образование ДНК и РНК, и ее дефицит заметно тормозит репродукцию растений (уменьшает образование зерен, приводит к стерильности спор).

6. Cu оказывает влияние на механизмы, определяющие устойчивость к заболеваниям.

Как показал Басслер [Bussler, 1979], в большинстве процессов, на которые влияет дефицит Cu, ее недостаточность проявляется косвенно.

Главные симптомы отравления медью показывают, что наиболее обычными из них являются: темно-зеленый цвет листьев; толстые, короткие или похожие на колючую проволоку корни, угнетение образования побегов.

Последствия интоксикации Cu^+ и Cu^{2+} , как правило, таковы:

- 1) повреждение тканей, вытянутость клеток корней;
- 2) изменение проницаемости мембран, вызывающее потерю корнями ионов (например, K^+ и PO_4^{3-}) и растворенных веществ;
- 3) переокисление липидов в мембранах хлоропластов и ингибирование переноса электронов при фотосинтезе;
- 4) иммобилизация Cu на стенках и в вакуолях клеток и в виде неспособных к диффузии Cu-протеиновых комплексов.

Таким образом, как дефицит, так и избыток ионов меди влияет на физиологические процессы, а, следовательно, и на устойчивость и продуктивность растительного организма.

1.1.2.2 Поглощение и перенос меди

В интервале токсичных содержаний меди в растворах преобладает пассивная абсорбция. В тканях корней Cu почти целиком присутствует в комплексных формах, однако наиболее вероятно, что в клетки корневой системы она проникает в диссоциированных формах. Было установлено [Gorlach Gorlach, 1976], что скорости абсорбции Cu корневыми системами высших растений сравнимы с наименьшими, полученными для жизненно важных элементов, и изменялись от пикомолей до микромолей в час на

грамм сухой массы корней при физиологически нормальных концентрациях меди (0,01– 20 мкмоль/л).

Несмотря на большую сложность механизмов абсорбции, между концентрациями меди, измеренными в питательных или почвенных растворах, и концентрациями в растениях можно наблюдать взаимосвязь, особенно в области токсичных содержаний (рис. 6)

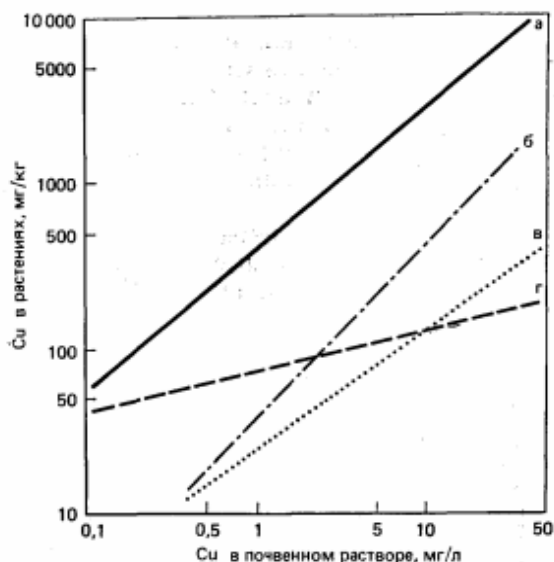


Рисунок 6 – Соотношения между содержаниями Cu в растениях и почвенных растворах, полученные на загрязненных медью почвах [Jonson, Pehrson, 1980].

Примечание: а – корни кукурузы; б – гречиха; в – конский боб; г – стебли кукурузы (x 10).

Перемещение Cu между различными частями растения играет главную роль в ее утилизации. Была обнаружена способность корневых тканей удерживать Cu от переноса в побеги как в условиях ее дефицита, так и избытка. Эти процессы еще не совсем понятны, однако в работах Линсона и Сандермана [Linzon, 1970; Sunderman, 1980] сделан вывод о том, что выделение Cu из клеток корней в соки ксилемы и флоэмы, где Cu находится в подвижных формах, – ключевой процесс питания растения медью.

Распределение меди в растении очень изменчиво. Cu имеет меньшую подвижность в растениях по сравнению с другими элементами. Большая ее доля, вероятно, остается в тканях корней и листьев, пока они не отомрут, и

только малые количества могут переместиться в молодые органы. Вследствие этого именно с молодых органов растения обычно развиваются симптомы дефицита меди. В корнях Cu связана в основном с клеточными стенками и крайне малоподвижна. В ростках наибольшие концентрации меди обнаруживаются всегда в фазе интенсивного роста при оптимальном уровне ее поступления [Кабата-Пендиас, Пендиас, 1989].

1.1.2.3. Взаимодействие с другими элементами

Для нормального развития растения необходимы не только оптимальный уровень активности меди в клетках, но и правильное соотношение химических элементов. Из-за важной роли меди в энзимах и ее переменной валентности другие ионы, обладающие таким же, как Cu, сродством к протеинам и прочим соединениям, могут проявлять антагонистическое действие. Во многих случаях установлены сложные взаимосвязи Cu с другими элементами в растительных тканях. Это наблюдается в средах, где находятся корни, и особенно в процессах поглощения и переноса [Кабата-Пендиас, Пендиас, 1989].

Так, Cu и Zn выступают в роли антагонистов, так как имеют сходный механизм поглощения, и каждый из них может вследствие взаимной конкуренции ингибировать поглощение другого корневой системой.

Антагонизм Cu и Fe проявляется как Cu-индуцированный хлороз. Высокий уровень Cu в растении снижает содержание Fe в хлоропластах [Preer, 1980]. Токсическое действие Cu может быть снижено при внесении Fe.

Взаимодействие Cu-Mo тесно связано с метаболическим циклом азота. Cu мешает участию Mo в энзиматическом восстановлении NO_3^- . Взаимный антагонизм, существующий между этими элементами, сильно зависит от вида растений и типа азотного питания. Cu обостряет дефицит молибдена в растениях, особенно в потребляющих азот в виде NO_3^- , ибо мешает энзиматическому восстановлению NO_3^- с участием Mo.

Взаимодействие Cu-Cd при поступлении этих элементов в корневую систему, по сообщениям разных авторов, бывает как антагонистическим, так и синергическим. Синергизм может быть вторичным эффектом повреждения мембран, вызванного несбалансированным соотношением этих элементов. Взаимодействие Cu-Se проявляется главным образом в ингибировании потребления Cu при высоком уровне содержаний Se. Взаимодействие Cu-Mn в процессах потребления их растениями также может быть как синергическим, так и антагонистическим в зависимости от условий и величины концентраций. Синергизм Cu-Ni наблюдается в тех же условиях, что и для Cu-Mn. Антагонизм Cu-Al ведет к ослаблению поступления Cu в корневую систему при токсичных уровнях содержаний Al, особенно в кислых почвах [Кабата-Пендиас, Пендиас, 1989].

Взаимосвязи Cu и Cr могут проявляться как в растительных тканях, так и в среде, окружающей корни. Антагонистические реакции, видимо, связаны с переменной валентностью хрома.

Наиболее сильно в питании растений взаимодействуют Cu и N. Концентрации этих двух элементов сильно коррелируют в ростках широкого круга видов, что связано с образованием прочных комплексов Cu с протеинами. С другой стороны, у растений с высоким уровнем содержания азота вследствие быстрого роста легко проявляются симптомы дефицита Cu.

Антагонизм между Cu и P существует в корневой среде, поскольку фосфаты способны к адсорбции Cu. Высокий уровень содержания фосфатов в почве также понижает абсорбцию Cu микоризой. Избыток меди, напротив, ингибирует активность фосфатазы, вследствие чего уменьшается доступность P для растений [Tiffin, 1972].

Взаимоотношения Cu с Ca очень сложны и могут меняться на противоположные в зависимости от pH среды. Как правило, к дефициту Cu в почвах с щелочной средой или содержащих свободный CaCO_3 , приводит склонность карбонатов к осаждению Cu. Для восстановления загрязненных медью почв чаще всего применяется известкование. Частые случаи

понижения содержания Си в растениях, получающих усиленное питание, нередко связаны с вторичным эффектом – разбавлением Си вследствие повышенной скорости роста растений [Кабата-Пендиас, Пендиас, 1989].

2 СВЕТ В ЖИЗНИ РАСТЕНИЯ

2.1. Общие сведения

Свет является важнейшим фактором жизнедеятельности и продуктивности зеленых растений. Интенсивность света, его спектральный состав, периодичность освещения проявляются морфогенетическими изменениями в системе целого растения. Адаптация к световому режиму затрагивает различные уровни организации автотрофного организма, конечным результатом которой может быть оптимизация всей деятельности растений [Карначук и др., 1987]. Поглощение растениями лучистой энергии зависит от содержания хлорофилла, биосинтез и разрушение которого постоянно происходит в растении. У высших растений на свету происходит образование хлорофилла [Велит и др., 2004]. Кроме использования света как источника энергии, фотосинтетические организмы имеют фоторегуляторные системы, которые могут использовать свет различной длины волны как регуляторные сигналы для многих метаболических процессов [Воскресенская, 1975]. Свет контролирует рост и развитие растений через фотоинформационные низкоэнергетические реакции, включаемые регуляторными пигментами. Известно, что рост некоторых видов двудольных и однодольных растений при длительной адаптации к свету разного спектрального состава зависит от качества света, что особенно отчетливо проявлялось для медленно растущих видов [Карначук, 1987].

Регуляторная роль света зависит от его спектрального состава и реализуется через многочисленные рецепторы, активируемые красным / дальним красным светом (фитохромы), синим светом / УФ-А (криптохромы), синим светом (фототропины), красным / синим светом (суперхромы) [Ефимова, 2010].

2.2. Красный свет и растение

Регуляция жизни растений красным светом осуществляется фоторецептором, называемым фитохромом (от *phyton* – растение и *chroma* – цвет, окраска) [Волотовский, 1992].

Фитохромная система, представленная в растении несколькими фитохромами (ФХ), каждый из которых может находиться в двух взаимопревращающихся под действием света формах ($\text{ФХ}_\text{к} \xrightleftharpoons[\text{ДК}]{\text{К}}$ $\text{ФХ}_\text{дк}$), позволяет растению улавливать изменения спектрального состава света (соотношения в нем красного и дальнего красного света) и реагировать на это изменение соответствующими ростовыми и формообразующими процессами, определяющими фотоморфогенез. Фотоморфогенез играет важную приспособительную роль в жизни растения. Так, при действии красного света вытягиваются черешки листьев, снижается число устьиц, а клетки меняют свою форму, становясь более округлыми [Terreman et al., 2006]. В клетках таких растений меняется размер вакуолей, локализация и размер хлоропластов [Trouwborst et al., 2010]. При этом сухая масса растений, выросших на красном узкополосном свете, меньше, чем у контрольных растений, выросших на белом свете [Brazaityte et al., 2010]. Фитохромная система позволяет растению реагировать на свет крайне низкой интенсивности и в некоторых случаях секундной продолжительности.

Фитохромная система контролирует прорастание семян, перестройку ростовых процессов, связанную с выходом проростка из почвы на свет (деэтиоляция), обеспечивает растению оптимальную адаптацию к условиям освещения, необходимую для его фотосинтетической активности, участвует в регуляции цветения и многих других процессов в жизни растений [Кулаева, 2001].

Красные лучи, спектр которых находится в пределах от 600 до 720 нм, наиболее значимы для жизни растения [Дорофеев и др., 2011]. Для образования хлорофилла необходимы именно эти световые волны. Эта часть

спектра является основным поставщиком энергии для фотосинтеза и влияет на процессы, связанные с изменением скорости развития растения. Вместе с тем избыток красной части спектра задерживает процессы образования генеративных органов [Коломиец и др., 2013]. В настоящее время показано, что красный свет стимулирует развитие цветочных почек у побегов табака в условиях *in vitro* [Константинова и др., 1998]

На основании экспериментальных данных выявлены основные закономерности действия досветки красным светом на фотосинтетический аппарат и некоторые метаболические процессы в растениях, показана зависимость структуры и роста фотосинтезирующей поверхности от качества света. Досветка красным светом увеличивает площадь листовой поверхности 6–9-го ярусов микроклона, обеспечивает наибольший прирост сухой массы побега.

В процессе адаптации к качеству света изменяется содержание фотосинтетических пигментов в единице массы листа: досветка красным светом увеличивает уровень хлорофилла *a*, хлорофилла *b* и каротиноидов по сравнению с уровнем пигментов на белом свете [Головацкая и др., 2013].

2.3. Синий свет и растение

2.3.1 Фоторецепция

Другой важной группой фоторецепторов является криптохром, возбуждаемый синим светом [Smith H., 1984]. Криптохром содержит две хромофорные группы: птерин и ФАД. Птерин (метенилтетрагидрофолат) служит как светособирающий хромофор. При попадании синего кванта света возбуждение передается в «реакционный центр» криптохрома – на молекулу флавинадениндинуклеотида (ФАД). Флавины и цитохромы, так же способны поглощать эту область спектра (рис. 7).

Оптические свойства этих фоторецепторов отражают особенности спектра солнца, связанные со скачками интенсивности в синей (430 нм) и на границе видимой и ультрафиолетовой области (400 нм).

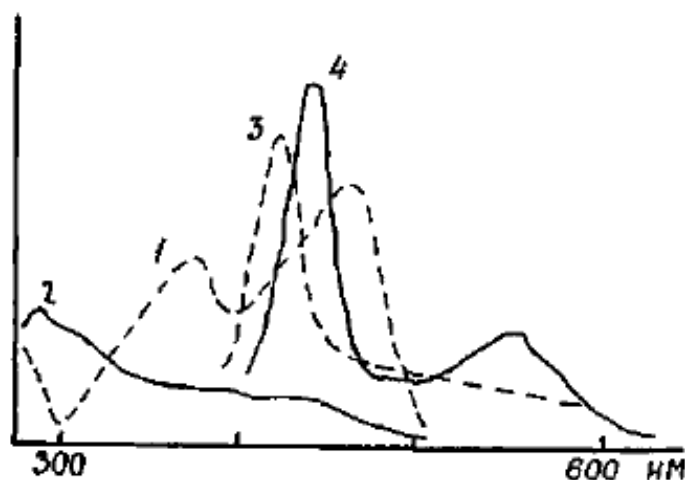


Рис. 7. Спектры поглощения флавина (1, 2) и цитохрома (3, 4). 1, 3 – окисленные формы. 2, 4 – восстановленные формы [Каневский В.А., Сиваш А.А., 1988].

2.3.2 Структура криптохрома

Наиболее изучена криптохромная система у *Arabidopsis thaliana* L.. Она представлена двумя белковыми комплексами: белками CRY 1 и CRY 2.

Показано, что CRY 1 может связываться с фитохромом А, после чего криптохром фосфорилируется. По-видимому, без фосфорного остатка криптохром не активен. Фитохром А, получив из окружающей среды сигнал, фосфорилирует криптохром. Возможно, запуск каскада фосфорилирования/дефосфорилирования является одним из механизмов передачи сигнала. ФАД в составе CRY 1 находится в стабильной частично восстановленной форме. В таком состоянии ФАД может поглощать не только в синей, но частично – в зеленой части спектра. Поэтому физиологический ответ можно вызвать не только синим, но и интенсивным зеленым светом. CRY 2 пока еще недостаточно изучен. По-видимому, как и в системе фитохромов, у криптохромов есть разделение по функциям: CRY 1 дает «приблизительный» сигнал о наличии большого количества света в синей и зеленой областях, а CRY 2 сигнализирует более точно об интенсивности

света. Криптохромы обладают консервативным участком с двумя карманами для хромофорных группировок и дополнительным участком на С-конце (рис. 8).

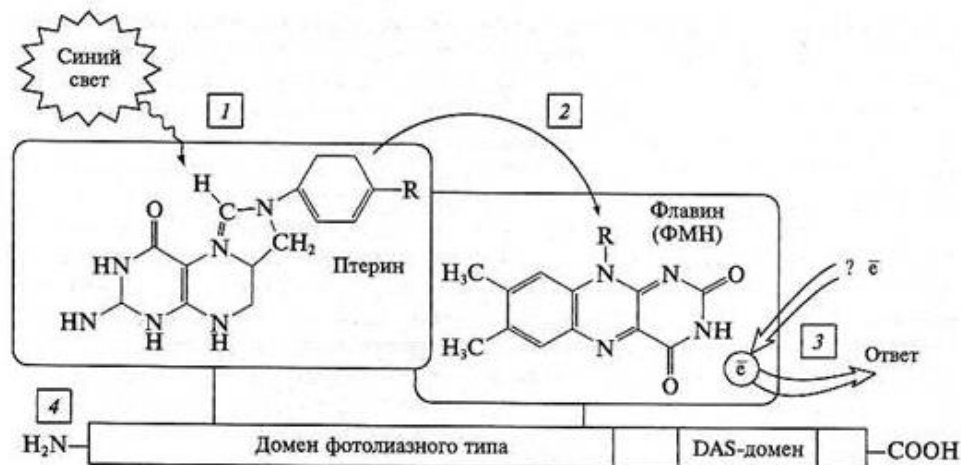


Рис. 8. Структура криптохрома [Алехина Н. Д. и др., 2005]

1 – получение кванта синего света птериновым ядром; 2 – передача возбуждения на ядро флавина; 3 – ответ в форме редокс-реакции; 4 – функциональные домены белковой части криптохрома

2.3.3 Взаимодействие рецепторов

Активно затрагивается вопрос о взаимодействии фоторецепторов. Некоторые авторы предполагают, что эффекты синего света могут быть опосредованы и фитохромом за счёт переноса энергии в комплексе флавин – фитохром [Song P.S., 1981; Lagarias J., 1985]. Совместное действие фитохрома и пигмента синего света, скорее всего, предусмотрено эволюцией наземных растений при их адаптации к физиологически активной радиации солнечного спектра. Однако другие авторы в своих экспериментах не обнаруживают переноса энергии с веществ, поглощающих в синей области спектра, на хромофор фитохрома [Синещёков В.А., Синещёков А.В., 1987].

Синие и фиолетовые (380–490 нм) лучи, как и красная составляющая, принимают непосредственное участие в фотосинтезе, стимулируют образование белков и регулируют скорость развития растения [Белоус и др.,

2012]. При синем свете формируются листья с большим содержанием хлорофилла. Данная область спектра характеризуется как основной компонент морфогенеза [Катаева, Аветисов, 1981]. Известно, что различные спектры света могут вызывать у растений и различные процессы морфогенеза. В настоящее время показано, что синий свет усиливает закладку вегетативных почек у побегов табака в условиях *in vitro* [Константинова и др., 1998].

3 ОБЪЕКТ И МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ

Глава 3 (стр. 27–30) содержит результаты интеллектуальной деятельности в научной сфере, изъята из выпускной квалификационной работы в соответствии с пунктом 3.2. «Регламента размещения текстов выпускных квалификационных работ в электронной библиотеке Научной библиотеки НИ ТГУ» Приказ №413/ОД от 24.05.2016 г.

3.1 Описание вида *Lychnis chalcidonica* L. и преимущества его использования в качестве модельного объекта

Раздел 3.1 (стр. 27) содержит результаты интеллектуальной деятельности в научной сфере, изъят из выпускной квалификационной работы в соответствии с пунктом 3.2. «Регламента размещения текстов выпускных квалификационных работ в электронной библиотеке Научной библиотеки НИ ТГУ» Приказ №413/ОД от 24.05.2016 г.

3.2 Методики исследования

Раздел 3.2 (стр. 28–30) содержит результаты интеллектуальной деятельности в научной сфере, изъят из выпускной квалификационной работы в соответствии с пунктом 3.2. «Регламента размещения текстов выпускных квалификационных работ в электронной библиотеке Научной библиотеки НИ ТГУ» Приказ №413/ОД от 24.05.2016 г.

3.2.1 Приготовление питательной среды

Раздел 3.2.1 (стр. 28) содержит результаты интеллектуальной деятельности в научной сфере, изъят из выпускной квалификационной работы в соответствии с пунктом 3.2. «Регламента размещения текстов выпускных квалификационных работ в электронной библиотеке Научной библиотеки НИ ТГУ» Приказ №413/ОД от 24.05.2016 г.

3.2.2 Ламинарный бокс и техника работы в нём

Раздел 3.2.2 (стр. 28–29) содержит результаты интеллектуальной деятельности в научной сфере, изъят из выпускной квалификационной работы в соответствии с пунктом 3.2. «Регламента размещения текстов выпускных квалификационных работ в электронной библиотеке Научной библиотеки НИ ТГУ» Приказ №413/ОД от 24.05.2016 г.

Раздел 3.2.2 (стр. 28–29) содержит результаты интеллектуальной деятельности в научной сфере, изъят из выпускной квалификационной работы в соответствии с пунктом 3.2. «Регламента размещения текстов выпускных квалификационных работ в электронной библиотеке Научной библиотеки НИ ТГУ» Приказ №413/ОД от 24.05.2016 г.

3.2.3 Количественное определение фотосинтетических пигментов в микроклонах *Lychnis chalcidonica* L.

Раздел 3.2.3 (стр. 29–30) содержит результаты интеллектуальной деятельности в научной сфере, изъят из выпускной квалификационной работы в соответствии с пунктом 3.2. «Регламента размещения текстов выпускных квалификационных работ в электронной библиотеке Научной библиотеки НИ ТГУ» Приказ №413/ОД от 24.05.2016 г.

Раздел 3.2.3 (стр. 29–30) содержит результаты интеллектуальной деятельности в научной сфере, изъят из выпускной квалификационной работы в соответствии с пунктом 3.2. «Регламента размещения текстов выпускных квалификационных работ в электронной библиотеке Научной библиотеки НИ ТГУ» Приказ №413/ОД от 24.05.2016 г.

4 ВЛИЯНИЕ ИОНОВ МЕДИ НА МИКРОКЛОНИРОВАНИЕ *LYCHNIS CHALCEDONICA* L. В УСЛОВИЯХ СЕЛЕКТИВНОГО СВЕТА

Глава 4 (стр. 31–39) содержит результаты интеллектуальной деятельности в научной сфере, изъята из выпускной квалификационной работы в соответствии с пунктом 3.2. «Регламента размещения текстов выпускных квалификационных работ в электронной библиотеке Научной библиотеки НИ ТГУ» Приказ №413/ОД от 24.05.2016 г.

4.1 Влияние ионов меди на морфогенез микроклонов *Lychnis chalcidonica* L. в условиях селективного света

Раздел 4.1 (стр. 31–38) содержит результаты интеллектуальной деятельности в научной сфере, изъят из выпускной квалификационной работы в соответствии с пунктом 3.2. «Регламента размещения текстов выпускных квалификационных работ в электронной библиотеке Научной библиотеки НИ ТГУ» Приказ №413/ОД от 24.05.2016 г.

4.1.1 Влияние ионов меди на развитие побега микроклонов *Lychnis chalcidonica* L. в условиях селективного света

Раздел 4.1.1 (стр. 31–33) содержит результаты интеллектуальной деятельности в научной сфере, изъят из выпускной квалификационной работы в соответствии с пунктом 3.2. «Регламента размещения текстов выпускных квалификационных работ в электронной библиотеке Научной библиотеки НИ ТГУ» Приказ №413/ОД от 24.05.2016 г.

Раздел 4.1.1 (стр. 31–33) содержит результаты интеллектуальной деятельности в научной сфере, изъят из выпускной квалификационной работы в соответствии с пунктом 3.2. «Регламента размещения текстов выпускных квалификационных работ в электронной библиотеке Научной библиотеки НИ ТГУ» Приказ №413/ОД от 24.05.2016 г.

Раздел 4.1.1 (стр. 31–33) содержит результаты интеллектуальной деятельности в научной сфере, изъят из выпускной квалификационной работы в соответствии с пунктом 3.2. «Регламента размещения текстов выпускных квалификационных работ в электронной библиотеке Научной библиотеки НИ ТГУ» Приказ №413/ОД от 24.05.2016 г.

4.1.2 Влияние ионов меди на развитие корневой системы микроклонов *Lychnis chalcidonica* L. в условиях селективного света

Раздел 4.1.2 (стр. 33–35) содержит результаты интеллектуальной деятельности в научной сфере, изъят из выпускной квалификационной работы в соответствии с пунктом 3.2. «Регламента размещения текстов выпускных квалификационных работ в электронной библиотеке Научной библиотеки НИ ТГУ» Приказ №413/ОД от 24.05.2016 г.

Раздел 4.1.2 (стр. 33–35) содержит результаты интеллектуальной деятельности в научной сфере, изъят из выпускной квалификационной работы в соответствии с пунктом 3.2. «Регламента размещения текстов выпускных квалификационных работ в электронной библиотеке Научной библиотеки НИ ТГУ» Приказ №413/ОД от 24.05.2016 г.

Раздел 4.1.2 (стр. 33–35) содержит результаты интеллектуальной деятельности в научной сфере, изъят из выпускной квалификационной работы в соответствии с пунктом 3.2. «Регламента размещения текстов выпускных квалификационных работ в электронной библиотеке Научной библиотеки НИ ТГУ» Приказ №413/ОД от 24.05.2016 г.

4.1.3. Влияние ионов меди на массу растения *Lychnis chalconica* L. в условиях селективного света

Раздел 4.1.3 (стр. 36–38) содержит результаты интеллектуальной деятельности в научной сфере, изъят из выпускной квалификационной работы в соответствии с пунктом 3.2. «Регламента размещения текстов выпускных квалификационных работ в электронной библиотеке Научной библиотеки НИ ТГУ» Приказ №413/ОД от 24.05.2016 г.

Раздел 4.1.3 (стр. 36–38) содержит результаты интеллектуальной деятельности в научной сфере, изъяты из выпускной квалификационной работы в соответствии с пунктом 3.2. «Регламента размещения текстов выпускных квалификационных работ в электронной библиотеке Научной библиотеки НИ ТГУ» Приказ №413/ОД от 24.05.2016 г.

Раздел 4.1.3 (стр. 36–38) содержит результаты интеллектуальной деятельности в научной сфере, изъят из выпускной квалификационной работы в соответствии с пунктом 3.2. «Регламента размещения текстов выпускных квалификационных работ в электронной библиотеке Научной библиотеки НИ ТГУ» Приказ №413/ОД от 24.05.2016 г.

4.2 Влияние ионов меди на содержание фотосинтетических пигментов в микроклонах *Lychnis chalcidonica* L. в условиях селективного света

Раздел 4.2 (стр. 38–39) содержит результаты интеллектуальной деятельности в научной сфере, изъят из выпускной квалификационной работы в соответствии с пунктом 3.2. «Регламента размещения текстов выпускных квалификационных работ в электронной библиотеке Научной библиотеки НИ ТГУ» Приказ №413/ОД от 24.05.2016 г.

Раздел 4.2 (стр. 38–39) содержит результаты интеллектуальной деятельности в научной сфере, изъят из выпускной квалификационной работы в соответствии с пунктом 3.2. «Регламента размещения текстов выпускных квалификационных работ в электронной библиотеке Научной библиотеки НИ ТГУ» Приказ №413/ОД от 24.05.2016 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При сравнении полученных результатов наших экспериментов становится очевидным, что накопление сырой массы микроклонами *L. chalconica* на красном свете в условиях избытка меди было в среднем ниже на 30–35%, чем на синем (рис. 23). Наибольшие изменения затронули корневую систему.

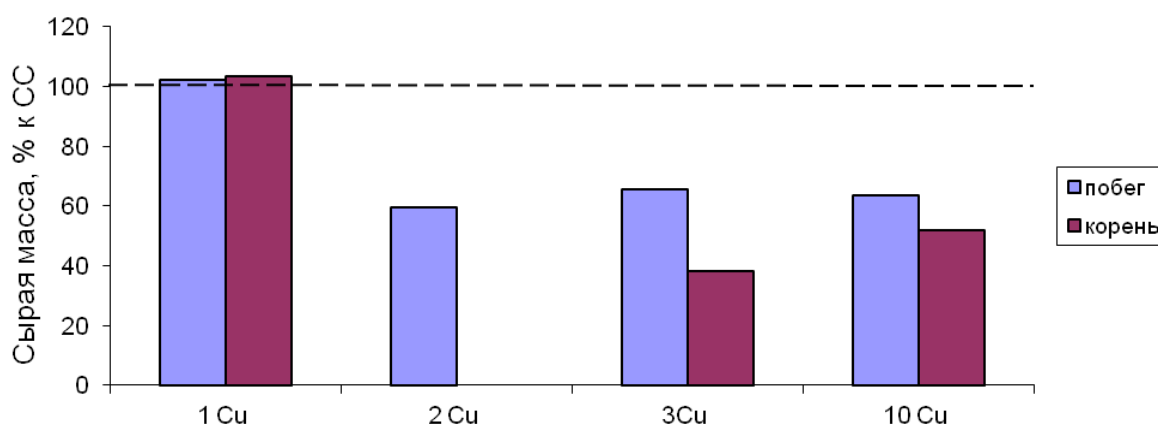


Рисунок 23 – Влияние меди на сырую массу побега и корня микроклона *L. chalconica* при сравнении условий красного и синего света.

Примечание: 100% – уровень сырой массы на синем свете, взятый за контроль для сравнения.

В то же время нами отмечено, что накопление воздушно-сухой массы стимулировалось красным светом и было максимальным при тройной концентрации меди в среде МС. Происходило увеличение сухой массы побега и корня, соответственно в 2,5 и 4 раза, относительно параметров микроклонов на синем свете (рис. 24). Эти данные свидетельствовали о том, что синий свет способствовал увеличению обводнённости растения, а красный – стимулировал синтетические процессы. В тоже время различия могли быть связаны с разным количеством и качеством образующихся веществ. Например, известно, что синий свет стимулирует образование белков, а красный – углеводов [Воскресенская, 1975].

Аналогичный диапазон концентраций меди в наших опытах с проростками *Lychnis chalconica* [Головацкая, Хиониди (Никиткина) и др.,

2015] оказывал положительное действие на их ростовые и синтетические процессы на красном свете, что противоречит полученным нами результатам на микроклонах растений этого вида, демонстрирующим угнетение данных показателей с повышением концентрации меди.

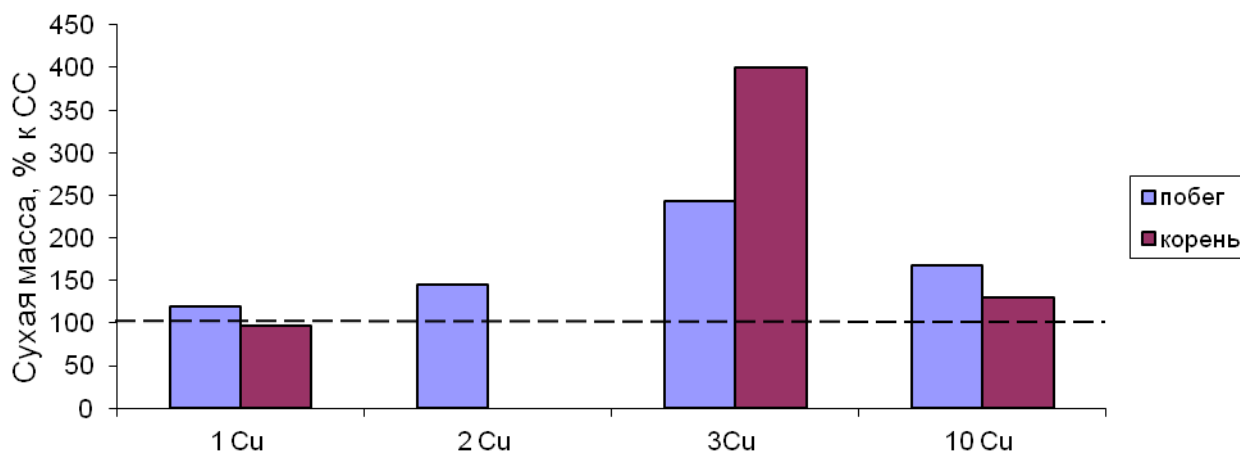


Рисунок 24 – Влияние меди на сухую массу побега и корня микроклона *L. chalcidonica* при сравнении условий красного и синего света.

Примечание: 100% – уровень сухой массы на синем свете, взятый за контроль для сравнения.

Согласно данным, полученным учёными Томского государственного университета [Окладникова, 2007], досветка синим светом способствует наибольшему накоплению флавоноидов в побеге растения. Предполагается, что благодаря способности поглощать ультрафиолетовое излучение (330–350 нм) и часть видимого света (520–560 нм) они защищают растительные ткани от избыточной радиации. Возможно, это обуславливает меньшую чувствительность к неблагоприятным факторам микроклонов лихниса, выращенных на синем свете. Следует также отметить, что большую роль в фоторегуляции процессов растений играют регуляторные фоторецепторы: криптохромы, фототропины и фитохромы. Собственно с их активностью могут быть связаны различные ответные реакции на действие спектрального состава света.

Отмеченный нами эффект красного света на повышение чувствительности микроклонов к меди, связанный с большим угнетением их ростовых и синтетических процессов относительно синего света, вероятно обусловлен функционированием регуляторных фоторецепторов – фитохромов.

Известно, что избыток серы препятствует усвоению меди [Куражовский, Чуйков, 2011]. Так как в опыте нами использовался CuSO_4 , возможно, ионы сульфата этой соли препятствовали усвоению меди растением при повышенных их концентрациях в среде, что обуславливало отсутствие симптомов отравления медью у микроклонов лихниса.

ВЫВОДЫ

1. При пробирочном микроклонировании в питательной среде растения *L. chalcidonica* росли до 48-суточного возраста, увеличение их ростовых параметров продолжалось в течение всего времени культивирования, что свидетельствовало о достаточном количестве минеральных компонентов среды для жизнедеятельности микроклонов.

2. Наблюдали тенденцию к снижению количества ярусов и длины побега, количества и длины корней *L. chalcidonica* с увеличением концентрации CuSO_4 в питательной среде. Наибольший ингибирующий эффект развития корневой системы оказала двойная доза меди. Двойная и тройная концентрации меди ингибировали накопление сухой и сырой массы побега, хотя наибольшая (десятикратная) доза меди обладала подобным эффектом в меньшей степени. В соответствии с полученными данными можно предположить, что все исследуемые нами концентрации соли меди являются физиологически допустимыми для роста и развития микроклонов на фоне минеральных компонентов среды Мурасиге-Скуга.

3. Синий свет способствовал незначительному уменьшению количества ярусов побега, но сильному (в пять раз) уменьшению общей длины побега микроклонов относительно красного света. Это свидетельствует об ингибировании растяжения междоузлий светом коротковолновой области спектра ФАР. Длина корней не зависела от спектрального состава света, однако, наблюдалось увеличение количества корней микроклонов, выращенных на синем свету.

4. Анализ содержания фотосинтетических пигментов в листьях 2 яруса лихниса (рис. 17, 18) показал, что на синем свету уровень пигментов был ниже на 50% относительно красного света. На красном свету увеличение содержания меди в 2 раза способствовало повышению уровня пигментов микроклонов, тогда как 10-кратное увеличение меди снижало уровень всех фотосинтетических пигментов в два раза. На синем свету увеличение меди в

2 раза не изменяло уровень пигментов, тогда как 3- и 10-кратное увеличение снижало уровень пигментов на 30%.

Отмечено, что красный свет повышал чувствительность микроклона к увеличению концентрации меди, что проявлялось в большем угнетении ростовых и синтетических процессов относительно синего света.

Список использованной литературы

1. Angelini R., Manes F., Federico R. Spatial and functional correlation between diamine-oxidase and peroxidase activities and their dependence upon deetiolation and wounding in chickpea stems // *Plants*. 1990. Vol. 182. P. 89–96.
2. Ayala M. B., Sandmann G. The role of Cu in respiration of pea plants and heterotrophically growing *Scenedesmus* cells // *Z. Naturforsch.* 1988b. H. 43. P. 438–442.
3. Ayala M. B., Sandmann G. Activities of Cu-containing proteins in Cu-depleted pea leaves // *Physiol. Plant.* 1988a. Vol. 72. P. 801–806.
4. Bloom P. R., McBride M. B. Metal ion binding and exchange with hydrogen ions in acid-washed peat // *Soil Sci. Soc. Am. J.* 1979. Vol. 687. P. 43.
5. Bloomfield C., The translocation of metals in soils // *The Chemistry of Soil Processes*. New York: John Wiley & Sons. 1981. Vol. 463.
6. Brazaityte A., Duchovskis P., Urbonaviciute A. et al. The effect of light-emitting diodes lighting on the growth of tomato transplants // *Agriculture*. 2010. Vol. 97. P. 89–98.
7. Brazeau B. J., Johnson B. J., Wilmot C. M. Copper-containing amine oxidases. Biogenesis and catalysis: a structural perspective // *Arch. Biochem. Biophys.* 2004. Vol. 428. P. 22–31.
8. Bussler W. Microscopical possibilities for the diagnosis of trace element stress in plants // *Int. Symp. Trace Element Stress in Plants*. Los Angeles. November 6, 1979. P. 36.
9. Esaka M., Fujisawa K., Goto M., Kisu Y. Regulation of ascorbate oxidase expression by auxine and copper // *Plant Physiol.* 1992. Vol. 100. P. 231–237.
10. Evans G. W. New aspects of the biochemistry and metabolism of copper // *Zinc and copper in clinical medicine*. – New York – London, 1978. Vol. 2. P. 113–118.

11. Ferguson-Miller S., Babcock G. T. Heme/copper terminal oxidases // *Chcin. Rev.* 1996. Vol. 96 (7). P. 2889 – 2906.
12. Gorlach K. The effect of liming on the solubility of molybdenum in the soil // *Acta Agrar Silvestria.* 1976. Vol. 20. P. 16.
13. Henkin R. I., Foster D. M., Aamodt R. L., Berman M. Zinc metabolism in adrenal cortical insufficiency: effects of carbohydrate-active steroids // *Metabolism.* 1984. Vol. 33, №6. P. 491–501.
14. Henriques F. S. Effect of copper deficiency on the photosynthetic apparatus of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) // *Plant Physiol.* 1989. Vol. 135. P. 453–458.
15. Jonson G, Pehrson B. Selenium – a trace element of great significance for the health of livestock // *Geochemical Aspects in Present and Future Research.* Oslo: Universitetsforlaget. 1980. P. 103.
16. Korkman J. The effect of selenium fertilizers on the selenium content of barley, spring wheat and potatoes // *J. Sci. Agric. Soc. Finland.* 1980. Vol. 495. P. 52.
17. Lagarias J. Progress in the molecular analysis of phytochrome // *Photochem. Photobiol.* 1985. – V. 42. № 6. – P. 811 – 825.
18. Laul J. C, Weimer W. C, Rancitelli L. A. Biogeochemical distribution of rare earths and other trace elements in plants and soils // *Origin and Distribution of the Elements.* Oxford: Pergamon Press. 1979. Vol. 11. P. 819.
19. Lichtenthaler H. K. Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic biomembranes / H.K. Lichtenthaler // *Methods on Enzymology* – 1987. – Vol. 148. – P. 350–382.
20. Linzon S. N. Fluoride effects on vegetation in Ontario, paper presented at 2nd Int. // Clean Air Congr., Washington, D.C., December 6, 1970.
21. MacPherson I. S., Murphy M. E. Type-2 copper-containing enzymes // *Cell. Mol. Life Sci.* 2007. Vol. 64. P. 2887–2899.
22. Maliszewska W., Wierzbicka H. The influence of lead, zinc, and copper on the development and activity of microorganisms in soils // *Proc. Effects*

of Trace Element Pollutants on Agric. Environ. Quality, Volume I; Kabata-Pendias A., Ed, IUNG, Pulawy, Poland. 1978. P. 135.

23. Marschner H. Mineral plant nutrition of higher plants. London: Acad. Press. 1997. 889 p.

24. Michel H. The mechanism of proton pumping by cytochrome c oxidase // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1998. Vol. 95 (22). P. 12819–12824.

25. Moller S. G., McPherson M. Developmental expression and biochemical analysis of the *Arabidopsis* atao1 gene encoding an H₂O₂-generating diamine oxidase // Plant J. 1998. Vol. 13. P. 781–791.

26. Noctor G., Foyer C. H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control // Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 1998. Vol. 49. P. 249–279.

27. Preer J. R., Sekhon H. S, Weeks L, Stephens B. R. Heavy metals in garden soil and vegetables in Washington // Trace Subst. Environ. Health. Columbia: University of Missouri. 1980. Vol.14. P. 516.

28. Rea G., Metoui O., Infantino A., Federico R., Angetini R. Copper amine oxidase expression in defense responses to wounding and *Ascochyta rabiei* invasion // Plant Phys. 2002. Vol. 128. P. 865–875.

29. Robson A. D. Hartley R. D., Jarvis S. C. Effect of copper deficiency on phenolic and other constituents of wheat cell walls // New. Phytol. 1981. Vol. 89. P. 361– 373.

30. Sandmann G., Böger P. The enzymatological function of heavy metals and their role in electron transfer processes of plants // Encyclopedia of plant physiology. New series. 1983. Vol. 15A. Berlin: Springer Verlag. P. 563–596.

31. Sigfridsson K. Plastocyanin, an electron-transfer protein // Photosynth. Res. 1998. Vol. 57. P. 1–28.

32. Smith H. How plants sense light // Spectrum. 1984. – V. 136. – P.68.

33. Song P.S., Sarkar H., Kim J.S. et al. Primary photoprocesses of undegraded phytochrome excited with red and blue light at 77K // Biochim, et biophys. acta. 1981. – V.635, №. 2. – P.369 – 330.

34. Sunderman F. W. Chelation therapy in nickel poisoning // Proc. Nickel Symp. Jena: Friedrich-Schiller University. 1980. Vol. 359.
35. Tepperman J., Hwang Y., Quail P. PhyA dominates in transduction of red-light signals to rapidly responding genes at the initiation of Arabidopsis seedling deetiolation // The Plant Journal. 2006. Vol. 48. P. 728–742.
36. Tiffin L. O. Translocation of micronutrients in plants // Micronutrients in Agriculture. 1972. P. 199.
37. Trouwborst G., Oosterkamp J., Hogewoning S., Harbinson J., Ieperen W. The responses of light interception, photosynthesis and fruit yield of cucumber to LED-lighting withing the canopy // Physiologia Plantarum. 2010. Vol. 138. P. 289–300.
38. Underwood E. G. Trace elements in human and animal nutrition // 4rd Ed – New York: Acad. Press, 1977. 402 p.
39. Yruela I. Copper in plants // Brazilian Journal of Plant Physiology. 2005. Vol. 17. P. 145–156.
40. Zibareva L., Volodin V., Saatov Z., Savchenko T., Whiting P., Lafont R., Dinan L. Distribution of phytoecdysteroids in the Caryophyllaceae // Phytochemistry. 2004. Vol. 64, № 2. P. 499–517.
41. Авцын А. П., Жаворонков А. А., Риш М. А., Строчкова Л. С. Микроэлементы человека. М.: Медицина, 1991. 496 с.
42. Алехина Н. Д., Балнокин Ю. В., Гавриленко В. Ф. и др. Под ред. И.П. Ермакова Физиология растений: Учебник для студ. вузов // – М.: Издательский центр «Академия», 2005. – С. 640.
43. Белоус О.Г., Маляровская В.И., Коломиец Т.М. Effect of spectral composition of light on growth of *Chrysanthemum morifolium in vitro*// Nauka i Studia: Przemysł, 2012. - № 10 (55). – P. 30–35.
44. Битюцкий Н. П. Микроэлементы и растение. Спб.: Из-во С.-Петербургского ун-та, 2011. 368 с.

45. Велит И. А., Бондарь П. И., Сахно Т. В., Кожушко Г. М. Влияние спектрального состава света на содержание пигментов в листьях томата // Физиология и биохимия культурных растений. 2004. Т.36, №4. С. 349–355.
46. Видершпан А.Н., Бойко Е.В. Индукция каллусогенеза *Lychnis chalconica* L. *in vitro* // Материалы LXIV научной студенческой конференции Биологического института «Старт в науку». Томск, 20–27 апреля 2015 г. – Томск, 2015 г. – 156 с.
47. Вологовский, И. Д. Фитохром – регуляторный фоторецептор растений. – Минск: Навука і тэхніка, 1992. С. 151–167.
48. Воскресенская Н. П. Принципы фоторегулирования метаболизма растений и регуляторное действие красного и синего света // Фоторегуляция метаболизма и морфогенеза растений / Под ред. Курсанова А. Л. и др. – М.: Наука, 1975. – С. 16–36.
49. Воскресенская Н.П. Принципы фоторегулирования метаболизма растений и регуляторное действие красного и синего света на фотосинтез // Фоторегуляция метаболизма и морфогенеза растений / под ред. А.Л. Курсанова, Н.П. Воскресенской. М.: Наука, 1975. С. 16-36
50. Головацкая И. Ф., Дорофеев В. Ю., Медведева Ю. В., Никифоров П. Е., Карначук Р. А. Оптимизация условий освещения при культивировании микроклонов *Solanum tuberosum* L. сорта Луговской *in vitro* // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2013. № 4 (24). С. 133–144.
51. Головацкая И.Ф., Хиониди (Никиткина) Э.Г., Никиткин В.А., Бойко Е.В. Влияние ионов меди на ростовые и синтетические процессы в проростках *Lychnis chalconica* L. на красном свете // VIII съезд Общества физиологов России. Растения в условиях глобальных и локальных природно-климатических и антропогенных воздействий: тезисы докладов Всероссийской научной конференции с международным участием и школы для молодых учёных (21–26 сентября 2015 г.). Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2015. 656 с.

52. Дорофеев В.Ю., Медведева Ю.В., Карначук Р.А. Оптимизация светового режима при культивировании оздоровленных растений картофеля *in vitro* с целью повышения продукционного процесса // Материалы VI Московского международного конгресса, часть 1 (Москва, 21-25 марта, 2011 г.). – М.: ЗАО «Экспо-биохим-технологии», РХТУ им. Д.И. Менделеева, 2011. С. 238–239.

53. Ефимова М. В. Физиологическая роль brassinosteroidов в развитии проростков *Arabidopsis thaliana* L. Heynh на селективном свете // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2010. Т. 12, № 4. С. 105–115.

54. Ивлев А. М., Тен-Хак-Мун, Збруева А. И. О биогеохимии марганца в южной части Сахалина // Биогеохимия зоны гипергенеза. – М.: Наука, 1971. С. 92–103.

55. Кабата-Пендиас А., Пендиас Х. Микроэлементы в почвах и растениях. М.: Мир, 1989. 439 с.

56. Каневский В. А., Сиваш А. А. Структура солнечного спектра и механизмы фоторегуляции в биологии // – Препр. Киев: АН СССР. Ин-т ботан., 1988. – С. 29.

57. Карначук Р. А., Протасова Н. Н., Добровольский М. В., Ревина Т. А., Ничипорович А. А. Физиологическая адаптация листа левзеи к спектральному составу света // Физиология растений. 1987. – Т. 34, № 1. – С. 51–59.

58. Карначук Р. А. Регуляторное влияние зеленого света на рост и фотосинтез листьев // Физиология растений. – 1987. – Т. 34, № 4. – С. 765–773.

59. Катаева Н.В., Аветисов В.А. Клональное размножение в культуре ткани // Культура клеток растений. М.: Наука, 1981. С.137–149.

60. Коломиец Т. М., Соколов Р. Н., Самарина Л. С. Влияние спектрального состава света на рост и развитие *Lilium caucasicum* в условиях культуры *in vitro* // Научный журнал КубГАУ. 2013. № 94 (10). 11 с.

61. Константинова Т.Н., Аксенова Н.П., Сергеева Л.И., Чайлахян М.Х. Взаимное влияние света и гормонов на регуляцию морфогенетических процессов в культуре *in vitro* // Физиология растений. 1998. Т. 34, № 4. С. 795–802.
62. Кулаева О. Н. Как свет регулирует жизнь растений // Сорковский образовательный журнал. 2001. Т. 7, № 4. 12 с.
63. Куражовский Ю.Н., Чуйков Ю.С. Экологические основы природопользования // Астраханский вестник экологического образования. 2011. №2. С. 74.
64. Никиткина Э. Г., Никиткин В.А., Головацкая И.Ф. Влияние ионов меди на микроклонирование *Lychnis chalcidonica* L. в условиях селективного света // Биотехнология, биоинформатика и геномика растений и микроорганизмов: материалы Всероссийской молодежной научной конференции с международным участием. Томск, 26–28 апреля 2016 г. / под ред. О.В. Карначук. – Томск: Издательский Дом Томского государственного университета, 2016. – 140 с.
65. Окладникова Н. Н. Влияние света различного спектрального состава на накопление флавоноидов шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis* Georgi) // Современные наукоемкие технологии. 2007. №2. С. 69.
66. Риш М. А. Геохимическая экология животных и проблемы генетики // Биологическая роль микроэлементов. – М., 1983. – С. 17–28.
67. Селиверстова А. А., Зибарева Л. Н., Еремина В. И. Закономерности распространения экидистероидов в растениях секции *Otites* *Oth* рода *Silene* L.: хемотаксономический подход // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2014. № 3 (27). С. 101–114.
68. Синещёков В. А., Синещёков А. В. Флуоресцентные и абсорбционные исследования фитохрома в клетке // Физиология растений. 1987. – Т. 34, №4. – С.730 – 741.
69. Шапошников А. М. и др. Медь // БМЭ. – 3е изд. 1980. Т. 4. С 460–463.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Приложение 1. *Lychnis chalcidonica* L.



Приложение 2. Питательная среда по Мурасиге и Скугу

Компоненты питательной среды	Концентрация, мг/л
Макросоли	
KNO_3	1900
NH_4NO_3	1650
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	370
KH_2PO_4	170
Хелат-железа	
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.8
$\text{Na}_2\text{ЭДТА} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	37.3
Микросоли	
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22.3
$\text{ZnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	8.6
H_3BO_3	6.2
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025
Кальций	
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440

Приложение 3. Ламинарный бокс



Уважаемый пользователь! Обращаем ваше внимание, что система «Антиплагиат» отвечает на вопрос, является ли тот или иной фрагмент текста заимствованным или нет. Ответ на вопрос, является ли заимствованный фрагмент именно плагиатом, а не законной цитатой, система оставляет на ваше усмотрение.

Отчет о проверке № 1

дата загрузки: 10.06.2016 07:06:21
пользователь: viktor_nikitkin@mail.ru / ID: 3074018
отчет предоставлен сервисом «Антиплагиат»
на сайте <http://www.antiplagiat.ru>

Информация о документе

№ документа: 18
Имя исходного файла: Диплом Никиткина Э.Г..doc
Размер текста: 2261 кБ
Тип документа: Прочее
Символов в тексте: 64163
Слов в тексте: 8031
Число предложений: 436

Информация об отчете

Дата: Отчет от 10.06.2016 07:06:21 - Последний готовый отчет
Комментарии: не указано
Оценка оригинальности: 76.78%
Заимствования: 23.22%
Цитирование: 0%



Оригинальность: 76.78%
Заимствования: 23.22%
Цитирование: 0%

Источники

Доля в тексте	Источник	Ссылка	Дата	Найдено в
4.74%	[1] Динамика распределения тяжелых металлов в торфяных низинных почвах в зависимости от их фосфатного уровня	http://lib.ua-ru.net	раньше 2011 года	Модуль поиска Интернет
2.95%	[2] РОЛЬ СЕЛЕКТИВНОГО СВЕТА В МОРФОГЕНЕЗЕ И СОДЕРЖАНИИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ ПРОРОСТКОВ CUMBIDIUMHYBRIDUM НА НАЧАЛЬНЫХ ЭТАПАХ ОНТОГЕНЕЗА - тема научной статьи по биологии, читайте бесплатно текст научно-исследовательской работы в электронной библиотек...	http://cyberleninka.ru	01.12.2014	Модуль поиска Интернет
2.93%	[3] .doc (zip, 246 кБ)	http://ej.kubagro.ru	08.08.2014	Модуль поиска Интернет

