

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ТЕРМОТОЛЕРАНТНОСТИ ХЛОРОФИЛЛЬНЫХ МУТАНТОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА

© 2010 г. Е. В. Машкина, А. В. Усатов, М. В. Скорина

Научно-исследовательский институт биологии при Южном Федеральном университете, Ростов-на-Дону, 344090; e-mail: lenmash@mail.ru

Поступила в редакцию 13.05.2008 г.

В работе исследовали влияние повышенной температуры на хлорофилльные мутанты подсолнечника. В качестве критериев устойчивости использовали уровень аберраций хромосом и митотический индекс в корневой апикальной меристеме проростков, уровень безъядерных клеток в эпидермисе семядольных листьев; интенсивность накопления хлорофиллов после действия повышенной температуры. Кроме того, анализировали частоту растений с измененным содержанием пигментов в М1 и М2. На основе полученных результатов сделано заключение, что пластомный мутант *en-chlorina-5* проявляет большую толерантность к воздействию повышенной температуры по сравнению с другими линиями подсолнечника.

Устойчивость организма к экстремальным воздействиям может зависеть от его способности контролировать интенсивность свободно-радикальных реакций и процессов перекисного окисления липидов. Участие пластид и митохондрий в контроле окислительно-восстановительного гомеостаза во многом формирует резистентность растений к действию факторов среды. Функциональная специфичность пластид и митохондрий определяет наличие повышенной концентрации свободных радикалов в этих органеллах по сравнению с ядром [1–3]. В процессе эволюции сформировался хлоропластный и митохондриальный набор генов, экспрессия которых осуществляется в условиях повышенной концентрации активных форм кислорода [3]. Это может приводить к увеличению частоты возникающих в хпДНК и мтДНК мутаций. С другой стороны, уровень экспрессии генов хпДНК и мтДНК прямо зависит от окислительного потенциала переносчиков электронов как фотосинтетических систем хлоропластов, так и ферментов дыхания [4]. Подобные условия обеспечивают зависимую от концентрации активных форм кислорода регуляцию экспрессии митохондриальных и пластидных генов, что может способствовать уменьшению продукции свободных радикалов в клетке в целом [3] и, таким образом, снизить частоту возможных мутаций в ядерном генетическом материале.

Степень устойчивости организма к экстремальным воздействиям наиболее ярко проявляется в стрессовых условиях, которые способствуют выявлению приспособительных возможностей организма. Адаптивный потенциал растительной клетки определяется тремя генетическими системами: ядерными, хлоропластными и митохондриальными генами, которые, с одной стороны,

могут повреждаться при действии экстремальных факторов, а с другой стороны, являются активными участниками стресс-реакции, могут определять резистентность или ее отсутствие к действию внешних неблагоприятных факторов [5–8]. Как ядерные, так и цитоплазматические мутации способны изменять норму реакции организма [9, 10]. Целью данной работы было провести сравнительный анализ термотолерантности трех линий подсолнечника *Helianthus annuus* L. (исходной инбредной и полученных на ее основе ядерного и пластомного мутантов) на разных стадиях развития растений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве материала исследования были использованы инбредная линия 3629 подсолнечника *Helianthus annuus* L. и полученные Ю.Д. Белецким с сотрудниками на ее основе пластомный хлорофилльный мутант *en-chlorina-5* и ядерный хлорофилльный мутант *n-chlorina-1* [11].

Для цитогенетического эксперимента семена подсолнечника замачивали в течение 18 ч, а затем проращивали в чашках Петри на влажной фильтровальной бумаге. Прорастающие семена подвергали действию повышенной температуры в режиме 47°C в течение первых четырех часов прорастания. Затем корешки фиксировали в смеси этилового спирта и ледяной уксусной кислоты (3 : 1) через 24 и 48 ч после окончания обработки. Готовили временные давленные препараты для определения митотического индекса (МИ) в корневой апикальной меристеме и уровня аберраций хромосом на стадии анафазы (не менее 8–9 корешков на вариант).

Таблица 1. Уровень aberrаций хромосом и пролиферативной активности в корневой меристеме проростков подсолнечника после температурного воздействия

Вариант	Время роста, ч	Всего анафаз	АХр ± m	МИ ± m
Линия 3629				
Контроль	24	603	2.8 ± 0.45	7.4 ± 0.67
	48	598	3.2 ± 0.5	9.5 ± 0.75
47°C – 4 ч	24	593	6.2 ± 0.65***	3.2 ± 0.45***
	48	608	7.3 ± 0.7***	7.4 ± 0.63*
en-chlorina-5				
Контроль	24	613	1.7 ± 0.35	10.9 ± 0.8
	48	629	1.95 ± 0.35	10.0 ± 0.77
47°C – 4 ч	24	583	5.8 ± 0.51***	7.5 ± 0.69**
	48	600	6.2 ± 0.65***	8.2 ± 0.71
n-chlorina-1				
Контроль	24	623	2.3 ± 0.4	6.5 ± 0.64
	48	615	2.7 ± 0.45	9.1 ± 0.74
47°C – 4 ч	24	631	6.4 ± 0.65***	1.5 ± 0.03***
	48	627	6.8 ± 0.65***	3.2 ± 0.46***

Примечание. Достоверные отличия по сравнению с контролем: при * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

В нижнем эпидермисе семядольных листьев проростков подсолнечника в возрасте 8–9 дней с момента появления всходов определяли количество клеток с разрушенным ядром или без ядра после воздействия повышенной температуры. Растения выращивали в горшках, в темноте при температуре 22–25°C. Почва – обыкновенный чернозем. Этиолированные опытные образцы растений подвергали температурному (47°C и 53°C) стрессу (ТС) в течение 6 ч. После воздействия эпидермальные пленки семядольных листьев отделяли пинцетом и помещали в ацетоорсеин на 15–20 мин. Готовили временные препараты и просматривали до 3000 клеток на вариант, определяя долю клеток без ядер [12].

Для исследования влияния ТС на накопление пигментов этиолированные проростки в возрасте 8–9 дней (от момента посадки) подвергали действию повышенной температуры (47°C, 50°C, 53°C и 56°C) в темноте в течение 2 ч. Далее обработанные и контрольные проростки росли на свету в режиме 12-часового дня (освещенность 10 Вт/м²); через 24 и 48 ч после окончания температурного воздействия определяли содержание хлорофиллов и каротиноидов в семядольных листьях проростков [13].

Для полевого эксперимента семена замачивали в воде в течение 18 ч, а затем проращивали в чашках Петри при 26°C. Обработку повышенной температурой проводили в течение первых 1, 3 или 6 ч прорастания семян. В каждом варианте опыта было высажено по 150 проростков в полевых условиях в оптимальные сроки по типу селек-

ционного питомника на 10-метровых делянках с площадью питания 40 × 60 см. Определяли частоту растений с измененным содержанием пигментов в M₁ и хлорофилльных мутантов в M₂.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее было показано, что воздействие повышенной температуры (40°C) оказывает неоднозначный эффект на проростки подсолнечника исходной линии 3629 и пластомного мутанта en-chlorina-5 [14]. Это указывает на разный порог чувствительности к действию данного внешнего фактора. Воздействие более высокой температуры (47°C) в течение первых 4 ч прорастания семян достоверно увеличивает уровень перестроек хромосом в клетках как исходной инбредной линии 3629, так и полученных на ее основе пластомного и ядерного хлорофилльных мутантов (табл. 1). Повышенный уровень aberrаций хромосом сохраняется в течение 48 ч после окончания обработки.

Однако между линиями выявлены различия по интенсивности пролиферации меристематических клеток после стрессового воздействия. ТС практически полностью блокирует деление клеток корневой меристемы ядерного мутанта на протяжении 48 ч после окончания обработки; у исходной линии 3629 через 48 ч после воздействия интенсивность деления клеток восстанавливается, хотя и не достигает контрольного уровня. Пролиферативная активность клеток пластомного мутанта en-chlorina-5 через 48 ч после

Таблица 2. Уровень клеток без ядра в эпидермисе семядольных листьев подсолнечника после температурного воздействия

Вариант	Количество клеток без ядра, % $\pm m$	
	эпидермальных	устьичных
Линия 3629		
Контроль	8.7 \pm 1.1	1.8 \pm 1.2
47°C – 6 ч	14.0 \pm 1.3**	5.0 \pm 1.9
53°C – 6 ч	20.8 \pm 1.5***	14.5 \pm 3.1***
en-chlorina-5		
Контроль	6.7 \pm 0.9	2.5 \pm 1.4
47°C – 6 ч	9.2 \pm 1.1	5.8 \pm 2.5
53°C – 6 ч	19.8 \pm 1.4***	11.6 \pm 2.9*
n-chlorina-1		
Контроль	7.3 \pm 0.9	8.8 \pm 2.4 ^
47°C – 6 ч	23.4 \pm 1.62*** ^^	17.5 \pm 3.3* ^^
53°C – 6 ч	29.4 \pm 1.4*** ^^	23.8 \pm 3.7***

Примечание. Достоверные отличия по сравнению с контролем: при * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. Достоверные отличия по сравнению с линией 3629: при ^ $P < 0.05$, ^^ $P < 0.001$.

окончания обработки не отличается от контрольных значений (табл. 1). Таким образом, реакция ядерного генетического материала клеток корневой меристемы проростков подсолнечника трех линий на действие ТС одинакова. Однако пластомный мутант en-chlorina-5 даже на стадии проростка имеет более стабильный клеточный цикл.

В качестве следующего критерия устойчивости клеток подсолнечника к действию ТС мы использовали уровень безъядерных клеток эпидермиса этиолированных семядольных листьев после ТС. Как видно из табл. 2, в контроле в эпидермисе семядольных листьев линии 3629 уровень эпидермальных клеток без ядра составляет 8.7%, а среди устьичных клеток только 1.8% лишены ядра. Сходные результаты получены для пластомного мутанта en-chlorina-5. У ядерного мутанта n-chlorina-1 уровень клеток без ядра в устьицах в 5 раз выше по сравнению с исходной линией 3629.

После воздействия ТС у всех линий подсолнечника повреждение ядер в большей степени происходит в эпидермальных клетках, содержащих только митохондрии, в то время как устьичные клетки с хлоропластами проявляют большую устойчивость к действию данного фактора. У клеток линии 3629 и пластомного мутанта реакция на действие ТС сходна. Однако устьичные клетки с функционально активными хлоропластами у пластомного мутанта в меньшей степени подвержены действию повреждающего фактора по сравнению с линией 3629 (табл. 2). У ядерного мутанта n-chlorina-1 уровень как эпидермальных, так и устьичных клеток, лишенных ядра, достоверно

повышен уже после воздействия 47°C. Таким образом, действие ТС индуцирует увеличение количества клеток без ядер в семядольных листьях. Однако если у исходной линии и ядерного мутанта пороговой является температура в 47°C, то у пластомного мутанта увеличение доли безъядерных клеток наблюдается после действия 53°C.

Толерантность растений на стадии прорастания минимальна и не всегда соответствует общей толерантности взрослого организма. Однако стрессовое воздействие на ранних этапах вегетации оказывает влияние на сравнительно небольшое количество клеточных органелл, что повышает вероятность фенотипического проявления генетической гетерогенности цитоплазматических ДНК-содержащих органелл [15–17]. Стрессовое воздействие обеспечивает эффективную рассортировку органелл и возникновение тканей, органов и организмов с измененной нормой реакции. При действии экстремальных факторов среды получают преимущества те клетки, в которых пластиды и митохондрии адаптированы к более высоким концентрациям свободно-радикальных продуктов. Исследуемые линии подсолнечника различаются по активности антиоксидантных ферментов и интенсивности процессов перекисного окисления липидов [18].

Степень чувствительности растительных клеток к действию ТС может быть оценена и по уровню хлорофиллов [19, 20]. Анализ уровня фотосинтетических пигментов у двух линий пшеницы *Triticum durum* Desf показал, что в условиях засухи растения линии Adamello характеризуются сниженным уровнем Хл а, снижением отношения Хл

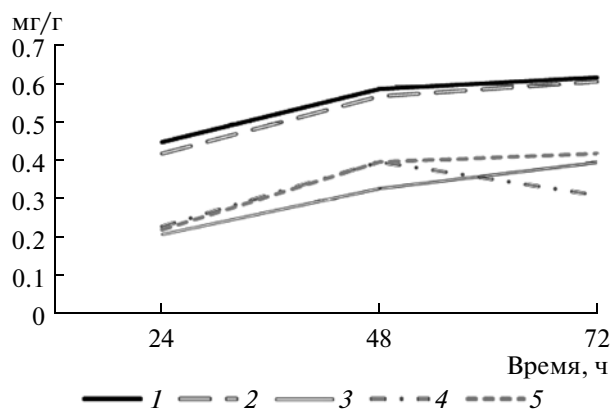


Рис. 1. Динамика накопления хлорофиллов в семядольных листьях проростков подсолнечника линии 3629 после воздействия повышенной температуры. 1 – контроль, 2 – 47°C, 3 – 50°C, 4 – 53°C, 5 – 56°C.

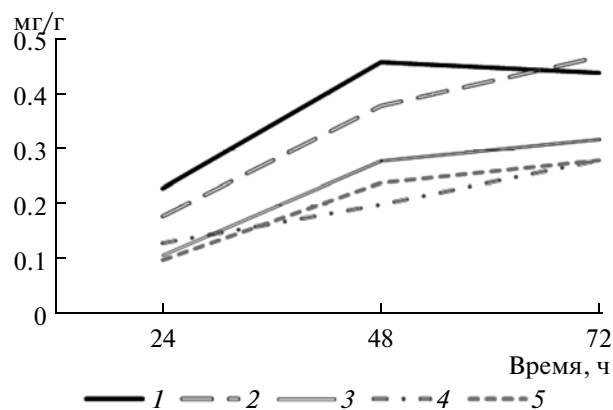


Рис. 2. Динамика накопления хлорофиллов в семядольных листьях проростков ядерного мутанта *n-chlorina-1* после воздействия повышенной температуры. 1 – контроль, 2 – 47°C, 3 – 50°C, 4 – 53°C, 5 – 56°C.

a/b и пониженным содержанием каротиноидов. В то же время в тканях растений засухоустойчивой линии *Ofanto* не обнаружено изменений в уровне пигментов и их составе [21].

Степень влияния ТС на формирование фотосинтетического аппарата у трех линий подсолнечника различна. Мы провели сравнительный анализ содержания и накопления фотосинтетических пигментов в этиолированных семядольных листьях трех исследуемых линий. В течение 72 ч роста на свету в семядолях проростков линии 3629 происходит постепенное накопление хлорофиллов (рис. 1). Содержание пигментов в семядолях ядерного мутанта *n-chlorina-1* после 48 ч роста на свету снижено по сравнению с линией 3629 (рис. 2). Семядоли проростков пластомного мутанта *ep-chlorina-5*, выращенных при искусственном освещении, по контрольному содержанию хлорофиллов превосходят другие линии (рис. 3).

Воздействие ТС (47°C – 2 ч) на этиолированные проростки линии 3629 не влияет на последующее накопление фотосинтетических пигментов (рис. 1). ТС в режиме 50°C – 2 ч достоверно снижает суммарное содержание Хл a + b; воздействие более высокой температуры (53 и 56°C) вызывает сходный эффект. Таким образом, можно заключить, что для проростков подсолнечника линии 3629 температура 50°C является пороговой, нарушающей нормальное формирование фотосинтетического аппарата.

Изменения в накоплении пигментов в этиолированных семядолях мутанта *n-chlorina-1* так же, как и для линии 3629, отмечены при температуре не ниже 50°C (рис. 2). Но после действия температуры 53°C и 56°C до 30% проростков линии *n-chlorina-1* погибли в течение 48 ч после окончания обработки. В целом, сравнивая действие ТС на этиолированные проростки линий 3629 и *n-chlorina-1*, можно отметить одинаковую на-

правленность изменений в содержании пигментов. Однако у данного мутанта эти изменения носят более глубокий характер.

ТС, независимо от режима, не оказывал влияния на интенсивность накопления пигментов в этиолированных семядолях проростков пластомного мутанта *ep-chlorina-5* (рис. 3). Таким образом, линия, несущая мутацию в цитоплазматической ДНК, проявила устойчивость к ТС по интенсивности синтеза и накоплению пигментов фотосинтеза. Неизменный после ТС уровень хлорофиллов a + b в семядольных листьях предполагает целостность ферментативных систем, участвующих в биосинтезе хлорофилла и его предшественников, в формировании ультраструктуры хлоропластов.

Известно, что уровень термотолерантности является видовым признаком. На *Rhamnaceae*

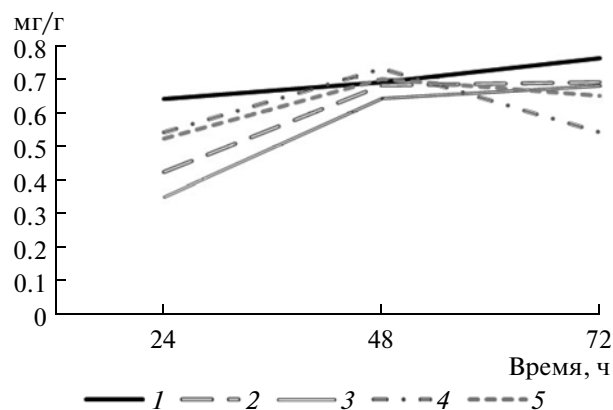


Рис. 3. Динамика накопления хлорофиллов в семядольных листьях проростков пластомного мутанта *ep-chlorina-5* после воздействия повышенной температуры. 1 – контроль, 2 – 47°C, 3 – 50°C, 4 – 53°C, 5 – 56°C.

показаны видовые различия в экспрессии низкомолекулярных хлоропластных БТШ после теплового шока (45°C) [22]. ТС в режиме 55°C – 1.5 ч является летальным для 80% проростков *Sinapis alba* L. [23]. Авторы объясняют гибель проростков активацией процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Ранее нами было показано, что ТС не активирует процессы перекисного окисления липидов в тканях подсолнечника [18] в отличие от других видов растений [24–26]. Синтез и накопление пигментов в этиолированных проростках подсолнечника также могут осуществляться при температурах, которые значительно превышают пороговые значения для других видов. Так, на этиолированных проростках арабидопсиса показано, что воздействие температуры 48 или 50°C в течение 30 мин полностью блокирует накопление хлорофилла и приводит к гибели проростков [27]. В то же время установлено, что предварительный нагрев при 38°C индуцирует формирование “приобретенной термотолерантности” к последующему воздействию более высокой температуры.

Воздействие ТС в первые часы прорастания семян подсолнечника влияет на их всхожесть (рис. 4). ТС в режиме 40°C – 6 ч практически не снижает всхожести семян линии 3629 и пластомного мутанта. Всхожесть семян ядерного мутанта достоверно снижена (рис. 4). При повышении температуры до 45°C показатели всхожести семян у всех линий резко снижаются. Однако, если у пластомного мутанта прорастает каждая 4-я семянка, то у исходной линии 3629 – каждая 6-я, а у ядерного мутанта – одна семянка из 130. Более

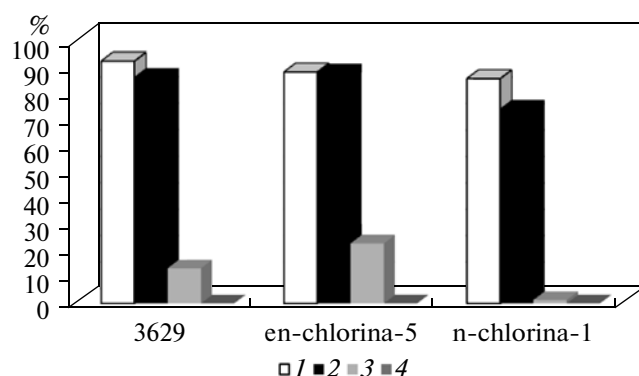


Рис. 4. Всхожесть (%) семян подсолнечника после воздействия повышенной температуры. 1 – контроль, 2 – ТС (40°C – 6 ч), 3 – ТС (45°C – 6 ч), 4 – ТС (50°C – 6 ч).

того, единичные взошедшие растения ядерного мутанта погибли на ранних этапах вегетации. Как было показано ранее, воздействие повышенной температуры (45°C) замедляет рост растений вплоть до стадии развития 3–4-й пары листьев [28]. Температура 50°C (в течение 6 ч) полностью ингибирует прорастание семян подсолнечника.

Воздействие ТС на ранних этапах вегетации индуцирует хлорофилльные мутации у подсолнечника. Результаты анализа генетического эффекта ТС (40°C) представлены в табл. 3. Действие ТС в первые часы прорастания семян подсолнечника индуцирует появление в M1 растений с измененным содержанием пигментов у всех трех линий. У ядерного мутанта n-chlorina-1 ТС инду-

Таблица 3. Частота хлорофилльных аномалий у растений M1 и M2 после действия повышенной температуры (40°C)

Вариант	Растения M1 с измененным содержанием пигментов, %	Растения M2 с измененным содержанием пигментов, %			
		пестролистные	летали	chlorina	зеленые
Линия 3629					
Контроль	0	0	0	0	
ТС (0–1 ч)	3.7	0	0	0	
ТС (0–3 ч)	1.5	0.64±0.45	0.32±0.31	35.2±2.70	
ТС (0–6 ч)	0.8	2.8±1.37	0	0	
en-chlorina-5					
Контроль	0	0	0		0
ТС (0–1 ч)	2.6	0.45±0.45	0		0
ТС (0–3 ч)	0.8	0.9±0.87	0		0.9±0.87
ТС (0–6 ч)	3.8	0	0		0
n-chlorina-1					
Контроль	0	0	0		0
ТС (0–1 ч)	7.0	1.9±1.09	3.8±1.52		0
ТС (0–3 ч)	4.0	1.5±1.04	0		0
ТС (0–6 ч)	7.2	0	0		0

цирует появление помимо пестролистных форм большого количества леталей (до 50% от общего числа растений с измененным содержанием пигментов). В то же время у пластомного мутанта *ep-chlorina-5* не зафиксировано ни одной летальной формы.

Анализ растений M2 показал, что воздействие ТС в течение первого часа прорастания не индуцирует хлорофильных мутантов у линии 3629 (табл. 3): все пестролистные формы M1 оказались морфозами и в M2 дали нормальное зеленое потомство. Более длительное температурное воздействие (3 или 6 ч) индуцирует появление в M2 хлорофильных мутантов типа *variegated* и *chlorina*. Необходимо отметить, что ТС не индуцирует появления летальных форм у линии 3629. Летали в M2 в варианте 3-часового ТС появились в потомстве после самоопыления пестролистной формы из M1. Все мутанты типа *chlorina* из M2 принадлежат одной семье, являются потомством пестролистной формы из M1. В данной семье растения типа *chlorina* в M3 не расщеплялись и давали только светло-зеленое потомство, что может указывать на ядерную природу мутации.

У пластомного мутанта *ep-chlorina-5* большая часть индуцированных ТС в M1 пестролистных форм оказались морфозами. В M2 выявлены единичные пестролистные хлорины и растения-ревертанты с зеленой окраской листьев (табл. 3). Пестролистные хлорины после самоопыления расщеплялись в потомстве на растения типа *chlorina* и *variegated chlorina* (в M3 и M4). Зеленые ревертантные формы также расщеплялись в потомстве на хлорины и зеленые растения.

Наибольшее число хлорофильных мутантов в M2 выявлено у ядерной *n-chlorina-1* (табл. 3). Данные мутации представлены пестролистными и летальными формами. При этом отмечено, что с увеличением продолжительности температурного воздействия уменьшаются частота возникновения хлорофильных аномалий в M1 и частота мутаций в M2.

Обобщая полученные результаты, можно заключить, что пластомный мутант *ep-chlorina-5* проявляет большую толерантность к воздействию ТС по сравнению с другими линиями подсолнечника. Данный пластомный мутант характеризуется изменением жирнокислотного состава липидов, активности антиоксидантных ферментов и уровня продуктов ПОЛ как в корневой меристеме, так и в тканях листа [18, 29]. Это служит основой для повышения стабильности клеточного цикла в апикальных клетках корня, резистентности клеток эпидермиса семядолей к действию ТС, для повышения стабильности ферментативных комплексов, формирующих фотосинтетический аппарат растительной клетки.

Возможно, что возникновение мутации в хлоропластной ДНК повышает разнородность гене-

тической системы клетки, что служит основой для увеличения адаптивных возможностей за счет отбора ДНК-содержащих цитоплазматических органелл, способных не только эффективно функционировать при отклонении условий от "нормальных", но и обеспечивать жизнедеятельность всей сложной иерархической системы растительной клетки в целом.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Fridovich I.* Superoxide dismutase // *Adv. Enzymol. Relat. Areas Molec. Biol.* 1986. 58. P. 61–97.
2. *Raven J., Johnston A., Parsons R., Kubler J.* The influence of natural and experimental high O₂ concentrations on O₂-evolving phototrophs // *Biol. Rev.* 1994. V. 69. P. 61–94.
3. *Allen J., Raven J.* Free-radical-induced mutation vs redox regulation: costs and benefits of genes in organelles // *J. Mol. Evol.* 1996. V. 42. P. 482–492.
4. *Allen J.* Control of gene expression by redox potential and the requirement for chloroplast and mitochondrial genomes // *J. Theor. Biol.* 1993. V. 165. P. 609–631.
5. *Шевякова Н.И.* Солеустойчивость пластомных хлорофильных мутантов подсолнечника // *Физиология растений.* 1982. № 2. С. 317–324.
6. *Atak C., Alikamanoglu S., Acik L., Canbolat Y.* Induced of plastid mutations in soybean plant (*Glycine max* L., Merrill) with gamma radiation and determination with RAPD // *Mutat. Res.* 2004. V. 556. № 1–2. P. 35–44.
7. *Rosellini D., LaFayette P.R., Barone P. et al.* Kanamycin-resistant alfalfa has a point mutation in the 16S plastid rRNA // *Plant Cell Rep.* 2004. V. 22. № 10. P. 774–779.
8. *Balk J., Leaver C., McCabe P.* Translocation of cytochrome c from the mitochondria to the cytosol occurs during heat-induced programmed cell death in cucumber plants // *FEBS Lett.* 1999. V. 463. № 1–2. P. 151–154.
9. *Усатов А.В., Машкина Е.В., Маркин Н.В., Гуськов Е.П.* Мутагенный эффект нитрозометилмочевины, модифицированный тепловым шоком на ранних этапах развития проростков подсолнечника // *Генетика.* 2001. Т. 37. № 12. С. 1650–1656.
10. *Усатов А.В., Разорителева Е.К., Машкина Е.В., Улитчева И.И.* Спонтанные и индуцированные нитрозометилмочевинной реверсии пластомных хлорофильных мутантов подсолнечника *Helianthus annuus* L. // *Генетика.* 2004. Т. 40. № 2. С. 248–255.
11. *Разорителева Е.К., Белецкий Ю.Д., Жданов Ю.А.* Генетическая природа мутаций подсолнечника, индуцированных N-нитрозо-N-метилмочевинной. II. Мутации *chlorina* // *Генетика.* 1970. Т. 6. № 10. С. 43–48.
12. *Самуилов В.Д., Лагунова Е.Н., Дзюбинская Е.В.* Участие хлоропластов в программируемой гибели клеток у растений // *Биохимия.* 2002. Т. 64. Вып. 6. С. 757–765.

13. Гавриленко В.Ф., Ладыгина М.Е., Хандобина Л.М. Большой практикум по физиологии растений. М.: Высш. Шк., 1975. 392 с.
14. Машкина Е.В., Гуськов Е.П. Цитогенетический эффект воздействия температурного фактора на линии подсолнечника // Цитология. 2002. Т. 44. № 12. С. 1220–1226.
15. Joshi C., Klueveva N., Morrow K., Nguyen H. Expression of a unique plastid localized heat shock protein is genetically linked to acquired thermotolerance in wheat // Theor. Appl. Genet. 1997. V. 95. P. 834–841.
16. Kumar G., Krishnaprasad B., Savitha M. et al. Enhanced expression of heat shock proteins in thermotolerant lines of sunflower and their progenies selected on the basis of temperature induction response // Theor. Appl. Genetics. 1999. V. 99. P. 359–367.
17. Burke J. Identification of genetic diversity and mutations in higher plant acquired thermotolerance // Physiol. Plantarum. 2001. V. 112. P. 167–170.
18. Машкина Е.В., Маркин Н.В., Усатов А.В., Гуськов Е.П. Реакция мутантных линий подсолнечника на тепловой шок // Физиология растений. 2001. Т. 48. № 6. С. 788–792.
19. Burke J., Ditto C., Arntzen C. Involvement of the light-harvesting complex in cation regulation of excitation energy distribution in chloroplast // J. Arch. Biochem. Biophys. 1978. V. 187. P. 252–263.
20. Burke J., Oliver M. Optimal thermal environments for plant metabolic processes (*Cucumis sativus* L.): light-harvesting chlorophyll a/b pigment-protein complex of photosystem II and seedling establishment in cucumber // Plant Physiol. 1993. V. 102. P. 295–302.
21. Loggini B., Scartazza A., Brugnoli E., Navari-Izzo F. Antioxidative defense system, pigment composition, and photosynthetic efficiency in two wheat cultivars subjected to drought // Plant Physiol. 1999. V. 119. P. 1091–1100.
22. Knight C., Ackerly D. Correlated evolution of chloroplast heat shock protein expression in closely related plant species // Amer. J. Bot. 2001. V. 88 (3). P. 411–418.
23. Dat J., Lopez-Delgado H., Foyer C., Scott I. Parallel changes in H₂O₂ and catalase during thermotolerance induced by salicylic acid or heat acclimation in mustard seedlings // Plant Physiol. 1998. V. 116. P. 1351–1357.
24. Feierabend J., Schaan C., Hertwig B. Photoinactivation of catalase occurs under both high- and low-temperature stress conditions and accompanies photoinhibition of photosystem II // Plant Physiol. 1992. V. 100. P. 1554–1561.
25. Foyer C., Lopez-Delgado H., Dat J., Scott I. Hydrogen peroxide- and glutathione-associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signaling // Physiol. Plant. 1997. V. 100. P. 241–254.
26. Курганова Л.Н., Веселов А.П., Сеницына Ю.В., Еликова Е.А. Продукты перекисного окисления липидов как возможные посредники между воздействием повышенной температуры и развитием стресс-реакции у растений // Физиология растений. 1999. Т. 46. С. 218–222.
27. Burke J., O'Mahony P., Oliver M. Isolation of *Arabidopsis* mutants lacking components of acquired thermotolerance // Plant Physiol. 2000. V. 123. P. 575–588.
28. Машкина Е., Усатов А., Даниленко В. и др. Реакция хлорофильных мутантов подсолнечника на действие повышенной температуры и окислительного стресса // Физиология растений. 2006. Т. 53. № 2. С. 227–234.
29. Лысенко В.С. Биохимические особенности формирования хлоридно-натриевой солеустойчивости у подсолнечника: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Ростов-на-Дону, 1993. 24 с.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ТЕРМОТОЛЕРАНТНОСТИ ХЛОРОФИЛЛЬНЫХ МУТАНТОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА

© 2010 г. Е. В. Машкина, А. В. Усатов, М. В. Скорина

Научно-исследовательский институт биологии при Южном Федеральном университете, Ростов-на-Дону, 344090;
e-mail: lenmash@mail.ru

Поступила в редакцию 13.05.2008 г.

В работе исследовали влияние повышенной температуры на хлорофильные мутанты подсолнечника. В качестве критериев устойчивости использовали уровень аббераций хромосом и митотический индекс в корневой апикальной меристеме проростков, уровень безъядерных клеток в эпидермисе семядольных листьев; интенсивность накопления хлорофиллов после действия повышенной температуры. Кроме того, анализировали частоту растений с измененным содержанием пигментов в M1 и M2. На основе полученных результатов сделано заключение, что пластомный мутант ep:chlorigina-5 проявляет большую толерантность к воздействию повышенной температуры по сравнению с другими линиями подсолнечника.