

**ЭФФЕКТЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО
ИЗЛУЧЕНИЯ НИЗКОГО УРОВНЯ МОЩНОСТИ НА
HAIRY ROOTS ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *SILENE* L.**

Ковзунова Ольга Викторовна, к.б.н., научный сотрудник

ГНУ «Центральный ботанический сад

Национальной академии наук Беларуси»

Эрст Анна Алексеевна, к.б.н., старший научный сотрудник

Центрального сибирского ботанического сада СО РАН

Решетников Владимир Николаевич, академик, заведующий

отделом биохимии и биотехнологии растений

ГНУ «Центральный ботанический сад

Национальной академии наук Беларуси»

Вторичные метаболиты растений представляют собой богатейший источник полезных для человека веществ, прежде всего медицинского назначения. Получить низкомолекулярные биорегуляторы в промышленных масштабах не всегда возможно из-за их низкого содержания, а также вследствие ограниченной доступности самих растений. Использование современных биотехнологических подходов может решить проблему доступности природных соединений для практического использования в промышленности нашей республики. Культура генетически трансформированных корней представителей рода смолевка — перспективный источник ценных вторичных метаболитов, в частности фитоэкдистероидов, обладающих высокой гормональной активностью[1]. В последние годы активно исследуется воздействие КВЧ-излучения фактора на фотосинтезирующие организмы. Выдвинут ряд гипотез относительно первичных механизмов действия

КВЧ–излучения на биологические объекты. Тамбиев А.Х с коллегами, суммируя существующие на настоящий момент данные, считают, что наиболее вероятная причина, влияющая на метаболизм облученных клеток и на проявление стимулирующих эффектов, – это изменение транспортной функции мембран, связанное, возможно, с развитием самоускоряющихся механизмов, имеющих место в их липидной фазе в присутствии кислорода [2].

Изначальной задачей был подбор оптимального режима обработки, при котором наблюдалось бы максимальное увеличение содержания БАВ. Основываясь на работах [3, 4] нами были выбраны 3 режима, при которых наблюдалось максимальное повышение исследуемых метаболитов в каллусах. В качестве основных режимов обработки был выбран миллиметровый диапазон: 1). 65–71 ГГц время воздействия 10 минут; 2). 65–71 ГГц время воздействия 20 минут; 3). 64–66 ГГц время воздействия 20 минут.

Анализ содержания флавоноидов и оксикоричных кислот в генетически трансформированных корнях трех представителей рода Смолевка показал, что ЭМП СВЧ оказывает положительный стимулирующий эффект на биосинтез исследуемых БАВ в hairy roots. Наибольший же стимулирующий эффект наблюдался при обработке в миллиметровом диапазоне 65–71 ГГц и времени воздействия 20 во всех исследуемых образцах.

Так, содержание флавоноидов и оксикоричных кислот при режиме 1 в *S. linicola* увеличивалось на ~114 % по сравнению с контролем, а *S. sendtneri* и *S. frivaldszkyana* — на 117 %. Тенденция к увеличению содержания исследуемых веществ наблюдалась и при обработке режимом 3 (64–66 ГГц – 20 мин). Содержание флавоноидов в *S. frivaldszkyana* возросло на 117 % , в *S. linicola* — на 113 %, а в *S. sendtneri* — на 114,5%. При анализе содержания оксикоричных кислот наблюдалась сходная ситуация: в *S. frivaldszkyana* содержание увеличивалось на 133 %, а в *S. linicola* и *S. sendtneri* — не происходило увеличение содержания исследуемого вещества.

При обработке генетически трансформированных корней режимом 3 содержание флавоноидов в *S. linicola*, *S. sendtneri* и *S. frivaldszkyana* увеличилось на 142,65 и 153% по отношению к контролю соответственно. Также наблюдалось увеличение содержания оксикоричных кислот: наибольшее в *S. sendtneri* – на 150%, в *S. frivaldszkyana* на 133%, а у *S. linicola* на 120%.

Как видно, ЭМП СВЧ при всех режимах физического воздействия стимулировал биосинтез БАВ в асептических культурах hairy roots представителей рода *Silene*. Наиболее «отзывчивыми» оказались корни *S. sendtneri*. Возможно, это связано с «начальным» уровнем содержания вторичных метаболитов, т.е. чем меньше содержание, тем больше «ответ».

Были выделены общие пулы белков из генетически трансформированных корней трех представителей рода смолевка, асептически выращенных на среде МС растений рода *Silene* L., а также корней, обработанных электромагнитным излучением миллиметрового диапазона низкого уровня мощности (ЭМП СВЧ) в диапазоне 65–71 ГГц и времени воздействия 10 и

20 минут. Методом 1 D–электрофореза были получены протеомные карты «hairy roots» при воздействии ЭМП СВЧ и проведен их сравнительный анализ.

Обнаружены зоны, в которых присутствуют дифференциально экспрессируемые белки, претендующие на роль белков–маркеров функционального состояния различных представителей рода Смолевка. Были выявлены белки с молекулярной массой от 1224,3 до 8,2 кДа наблюдаемые у всех представителей рода Смолевка. Экспрессия белков с одинаковой молекулярной массой у разных видов значительно отличалась.

Протеомный анализ общего пула клеточных белков генетически трансформированных корней представителя рода Смолевка при воздействии электромагнитного излучения миллиметрового диапазона низкого уровня мощности выявил белки–маркеры, не характерных для hairy roots без обработки и при различной экспозиции.

Для вида *S. linicola* было выявлено 15 белков, не экспрессируемые в корнях, культивируемых без обработки ЭМП СВЧ. Так, обработка в диапазоне 57–71 Гц и экспозиции 10 минут вызвало экспрессию 2 белков–маркеров с Mr 45,9; 22,2 и 20,8 . А при экспозиции 20 минут выявлены белки с Mr 144,4; 98,2; 39,5; 13,2 и 12,1, которые можно считать маркерными белками. Белки с молекулярной массой 180,4; 133,6; 59,1; 30,9; и 20,5 также синтезировались при воздействии ЭМП СВЧ у представителей вида *S. frivaldszkyana* . Эти белки можно расценивать как белки–маркеры повышенного синтеза целевых БАВ hairy roots *S. linicola* при воздействии ЭМП СВЧ.

Также была выявлена группа белков, которые синтезируются в рRi корнях вида *S. sendtneri*, при обработке электромагнитным излучением. Вот белки с Mr 89,7; 24,8; и 9,2 характерны при экспозиции 10 минут, а белки с Mr 48,6; 43,5; и 33,8 при экспозиции 20 минут. Также было выявлено 3 белка, синтезируемые при обработке как в 10, так и 20 минут: 93,2; 73,8 и 17,8 кДа, которые можно считать белками–маркерами hairy roots *S. sendtneri* при воздействии ЭМП. 13 белков с молекулярными массами 125,7; 113,0; 109,5; 85,6; 68,6; 12,1 и 9,7 встречаются также при обработке ЭМП СВЧ у представителей рода *S. frivaldszkyana*, а белки 98,2; 64,8; 57,5; 56,3; 49,8; 18,8 для представителей рода *S. linicola*. Все эти белки можно рассматривать как белки, возможно, отвечающие за повышенный биосинтез БАВ. 9 белков, идентифицируемых при электрофорезе: 104,7; 75,2; 64,8; 51,5; 39,7; 35,7; 20,4; 18,8 и 17,4 кДа, синтезируются в контрольных (без обработки) генетически трансформированных корнях. Для *S. frivaldszkyana* маркерными белками можно считать 13 белков с Mr 74,9; 70,5 при времени обработки 20 минут и 38,7; 17,3 и 8,2 при времени обработки 10 минут. А также белки, экспрессируемые у данного представителя рода смолевки в ответ на обработку: 41,8; 40,9 и 24,8 кДа. Белки с молекулярной массой 54,6; 51,5; 17,9 и 16,5 кДа отмечены у представителей вида *S. frivaldszkyana* как при обработке корней, так и в контрольных (без обработки) образцах.

Таким образом, можно сделать заключение о том, что обработка ЭМП СВЧ может выступать в качестве физического модификатора метабо-

лизма биологически активных веществ в культурах генетически трансформированных рRi корней представителей рода *Silene*. Оптимальным режимом является миллиметровая обработка в диапазоне 5–71 ГГц и времени экспозиции 20 минут, при котором содержание вторичных метаболитов увеличивается на 33%. Протеомный анализ общего пула клеточных белков выявил белки–маркеры, экспрессия которых сопровождается повышенным биосинтезом вторичных метаболитов.

Список использованных источников

1. Лафон, Р. Фитоэкдистероиды и мировая флора: разнообразие, распределение, биосинтез и эволюция / Р. Лафон // Физиология растений. — 1998. — Т. 45. — № 3. — С. 326 – 346.
2. Physiological criterion of cyanobacterium growth stimulation / А. Н. Tambiev [et al.] // Proceedings of the 8th International Biotechnology Symposium, Paris, France, 17–22 Juli 1988: abstr. book. – Paris, 1988. – P. 245.
3. Воздействие электромагнитного поля сверхвысоких частот низкого уровня мощности на биосинтез биологически активных веществ в клеточных культурах *Silybum marianum* L. / О. В. Копач [и др.] // Вест. НАН Беларуси. Сер. біял. навук. – 2015. – № 2. – С. 5–8.
4. Копач, О. В. Воздействие электромагнитного поля на биосинтез БАВ в клеточных культурах *Silybum marianum* / О. В. Копач, Н. В. Пушкина // Гидробиология и общая экология: тез. докл. XXII Междунар. конф. студентов, аспирантов, и молодых ученых, Москва, 13–17 апр. 2015 г. / Моск. гос. ун–т им. М. В. Ломоносова. – М., 2015. – С. 340–341.

Авторы выражают благодарность научному сотруднику института «Ядерных проблем» БГУ Н.В. Пушкиной за помощь в обработке культур ЭМП СВЧ.