УДК 633.11«324»

03.00.00 Биологические науки

60 ЛЕТ В СТРОЮ: ОСОБЕННОСТИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ СОРТА БЕЗОСТАЯ 1

Плотников Владимир Константинович
д.б.н., доцент
vkpbio21@mail.ru
ID: 3971-2200

Салфетников Анатолий Алексеевич
д.с.-х.н., профессор
Salfetnikov39@mail.ru
Кубанский государственный аграрный университет, Краснодар, Россия

Обзорная статья посвящена 60-летнему юбилею шедевра мировой селекции - сорту озимой мягкой пшеницы (Triticum aestivum L.) Безостая 1. Этот сорт инициировал и был много лет участником исследований молекулярно-биологических механизмов формирования морозоустойчивости пшеницы. В статье обобщены данные об особенностях функционирования белоксинтезирующего аппарата её проростков (колеоптилей) под влиянием закаливающей температуры (4°C): трансляционная активность полирибосом in vitro, степень полиаденилирования и стабильность суммарной мРНК и специфической мРНК субъединицы α фактора элонгации трансляции 1 (eEF-1) в сравнении с проростками ряда сортов пшеницы, ранжированными по морозоустойчивости в системе ommp (in vitro), адекватно отражающей относительную стабильность мРНК in vivo. Показано, что влияние холода и света на стабильность мРНК сортоспецифично, и, по-видимому, определяется соотношением доминантных и рецессивных генов vrn и ppd, детерминирующих количество катионов магния (Mg^{++}) в РНК. Установлено, что морозоустойчивость озимой мягкой пшеницы имеет положительную взаимосвязь с количеством РНК и ДНК и отрицательную взаимосвязь с количеством катионов магния в зрелом зерне, что может служить простым маркёром морозоустойчивости. Для сорта Безостая 1 характерна относительно узкая амплитуда изменений параметров белокситезирующего аппарата при сравнительно высоком содержании катионов магния в РНК. Полученные знания при исследовании сорта Безостая 1 способствуют пониманию молекулярно-биологических процессов, лежащих в основе селекции и определяющих её будущие успехи

Ключевые слова: ОЗИМАЯ ПШЕНИЦА, TRITICUM AESTIVUM L., СОРТ БЕЗОСТАЯ 1, ПОЛИРИБОСОМЫ, РНК,

UDC 633.11«324»

Biology

60 YEARS IN THE RANKS: FEATURES OF MOLECULAR BIOLOGY OF BEZOSTAYA 1 WINTER WHEAT VARIETY

Plotnikov Vladimir Konstantinovich
Dr.Sci.Biol., Associate Professor
vkpbio21@mail.ru

Salfetnikov Anatoliy Alexeevich
Dr.Sci.Agr., Professor
Salfetnikov39@mail.ru
Kuban State Agrarian University, Krasnodar, Russia

This review is devoted to the 60 anniversary of the winter wheat variety (Triticum aestivum L.) Bezostaya 1 – a masterpiece of world selection. This variety played a great role in increasing total grain yields in the Kuban Region. It also was an important gene source for Russian and world breeding. This variety has initiated and was for many years a party to research molecular biological mechanisms of wheat frost resistance formation. The article summarizes data about the peculiarities of functioning of protein-synthesizing system it sprouts (coleoptilies) under the influence of hardening temperature (4°C): translational activity in vitro, poliribosomts, degree of polyadenilation and stability of total mRNA and specific mRNA translational elongation factor α subunit 1 (eEF-1 α). The in vitro (ommp) system, which adequately characterizes the relative mRNA stability in vivo was used for these measurements. The effects of cooling and light on mRNA stability were shown to be cultivar-specific. The hardiness of winter wheat has a positive relationship with the amount of RNA and DNA, and a negative correlation with the amount of magnesium cations in mature grain that can serve as a simple marker of frost resistance. The main feature of the variety Bezostaya 1 is high content of magnesium ions (Mg^{++}) in RNA molecules and relatively low variation of Mg^{++}-depending molecular-physiological responses for different environmental conditions. The knowledge gained in the study of variety of Bezostaya 1 contributes to the understanding of molecular biological processes that underlie the selection and determining its future success

Keywords: WHEAT, TRITICUM AESTIVUM L., VARIETIES, BEZOSTAYA 1, POLYRIBOSOMES, RNA, FROST RESISTANCE

Введение

Селекционер зачастую отбирает из широчайшего разнообразия форм уникальные генотипы, изучение которых значительно обогатило бы фундаментальную науку. Но практика жизни нередко вынуждает его отказаться от сортов, не выдерживающих предъявляемых требований. Как в калейдоскопе, появляются редкие по красоте картины, но небольшое движение уничтожает их навсегда, так как вернуться к ним нет практической возможности. Утрачиваются великолепные объекты и возможности понять законы природы. Основной результат работы селекционера сорт – продукт «скоропортящийся». Со временем сорта утрачивают свои ценные свойства.

Исключением из этой закономерности являются сорта долгожители – шедевры селекции. Один из таких - сорт озимой мягкой пшеницы Безостая 1, созданный ровно 60 лет назад, но до сих пор не покинувший поля.

В 1955 году Павлом Пантелеймоновичем Лукьяненко и Надеждой Дмитриевной Тарасенко было получено авторское свидетельство на новый сорт озимой мягкой пшеницы Безостая 1. Таким образом, 60 лет назад выдающийся селекционер XX века дважды Герой Социалистического Труда, академик АН СССР и ВАСХНИЛ П.П. Лукьяненко создал сорт озимой мягкой пшеницы Безостая 1 – шедевр мировой селекции. Это было вершиной творчества великого селекционера, на многие годы определившее тактику и стратегию селекции озимой пшеницы и предопределившее «зелёную революцию» в селекции других культур. Академику П.П. Лукьяненко удалось отыскать в безбрежном море генетического разнообразия озимой пшеницы уникальный генотип и на его основе создать сорт, который в широких ареалах проявляет высокую

продуктивность. После внедрения этого сорта и удвоения урожаев создание более урожайного сорта представляло значительную трудность.

Озимая пшеница Безостая 1 была получена путём скрещивания сортов отдалённого эколого-географического происхождения. В создании её приняли участие 17 пшеничных сортов и гибридов, так что это была довольно длинная история.

П.П. Лукьяненко писал о происхождении Безостой 1: «При селекции устойчивых к ржавчине и полеганию сортов озимой пшеницы нами скрещивались ввезённые в СССР в 30-е годы академиком Н.И. Вавиловым аргентинские яровые пшеницы, в частности … сорт Клейн 33». От скрещиваний этого сорта с североамериканским сортом Канред Фулькастер, проведённые в 1935 году, отобраны три сорта озимой пшеницы Скороспелка 1, Скороспелка 2 и Скороспелка 3. В 1953 году на Краснодарской Госселекстанции академиком П.П. Лукьяненко был получен сорт озимой пшеницы Безостая 4, который являлся исходным для создания Безостой 1 [31].

Этот сорт оказался редким долгожителем. Таких долгожителей советской и российской селекции наберётся не более 4-5 сортов. Среди них знаменитые пшеницы: озимая Мироновская 808 и яровая Саратовская 29. Но только Безостая 1 оказалась относительно подробно исследована современными методами молекулярной биологии. Поэтому в год её 60-летнего триумфального присутствия на полях многих стран мира есть возможность и необходимость проанализировать особенности биологии этого сорта на основе сравнительных экспериментальных данных, полученных в основном на примере двух сортов озимой мягкой пшеницы Безостая 1 и Краснодарская 39 и приведших в конечном итоге к разработке основ молекулярно-биологической базы морозоустойчивости озимой мягкой пшеницы.

Выведение выдающегося по комплексу признаков сорта Безостая 1 открыло большие возможности для создания более совершенного продуктивного типа степных и лесостепных пшениц, которые обладали бы её ценными свойствами и в то же время отличались достаточно высокой зимостойкостью. Повышение потенциала продуктивности часто достигается устранением самого слабого звена в его структуре. Наиболее слабым звеном для увеличения урожайности озимой пшеницы в северной зоне Краснодарского края была недостаточно высокая зимоморозоустойчивость. Поэтому стратегической задачей селекции было создание сорта с повышенной и высокой зимоморозоустойчивостью, сохранив адаптивный и продуктивный потенциал уникального сорта Безостая 1 [30].

На этом пути важным этапом явилось создание сорта Краснодарская 39 (Лютесценс 39). Этот сорт дал начало целому направлению в селекции. Морозоустойчивость его на уровне сортов Саратовская 3, Одесская 16 и выше Мироновской 808 [30]. Этот сорт был получен под руководством академика П.П. Лукьяненко путём скрещивания Саратовской 3 (пшенично-ржаной гибрид), выведенной научно-исследовательским институтом сельского хозяйства Юго-Востока (г. Саратов), с Безостой 1. Одна линия из гибридов этого скрещивания и получила название Краснодарская 39.

Сорт Краснодарская 39 отличается очень большой амплитудой физиологических реакций по сравнению с другими сортами пшеницы и в целом с другими биологическими объектами. Сравнительные исследования этого сорта позволили увидеть новые молекулярно-биологические аспекты в регуляции экспрессии генов эукариот, которые в течение 20-ти лет ускользали от внимания исследователей [22].

Венцом селекции зимоморозоустойчивых сортов было создание сорта Зимородок. По комплексу положительных биологических и хозяйственных признаков ему нет равных.

В фундаментальных науках всегда большое значение имел объект исследования. Удачность выбора объекта (или случай) определяет скорость и эффективность исследований, обширность и глубину полученной информации. Большое значение при этом имеет контрастность объектов для сравнения изучаемых свойств и параметров. Таковой контрастной по свойствам белоксинтезирующего аппарата клетки оказалась пара сортов озимой мягкой пшеницы: Безостая 1 и Краснодарская 39 (Зимородок).

Биосинтез белка – основной молекулярный механизм реализации экспрессии генов в клетках эукариот

Нормальный рост и развитие эукариот, а также способность адекватно отвечать на изменение условий внешней среды требуют точной и оперативной регуляции экспрессии многих генов. Количество мРНК в клетке зависит как от частоты транскрипции гена, так и от нормы распада мРНК в цитоплазме. У эукариот наиболее лабильным компонентом системы регуляции экспрессии генов является изменение стабильности мРНК, зависящей от гена, которому она принадлежит, и от условий окружающей среды. Методы генной инженерии в последние 30 лет позволили многое узнать о структурных различиях стабильных и нестабильных молекул мРНК [14, 27, 32, 33].

Однако широкое изучение самого феномена изменения стабильности мРНК под влиянием факторов внешней среды и в онтогенезе существенно сдерживалось отсутствием простого метода оценки относительной стабильности мРНК, который был бы достаточно адекватен, точен, воспроизводим и не зависел от основного клеточного метаболизма.

Система оттр. В ходе работ по выделению полиаденилированной мРНК из проростков озимой пшеницы сорта Краснодарская 39 с помощью

двуциклической аффинной хроматографии на колонке поли-У-сефарозы была отмечена закономерная Mg^{2+}-зависимая вариабельность выхода мРНК второго цикла очистки в процентном отношении к мРНК первого цикла, т.е. % поли$(A)^{++}$ от поли$(A)^{+}$. Эта расчетная величина получила название индекса стабильности (ИС) мРНК [15, 16, 35].

Отмеченная закономерность состоит в том, что вариабельность ИС определяется генотипом и условиями роста растения (температура, свет и др.). Этот факт послужил отправной точкой для развития простейшей системы для изучения дифференциальной стабильности мРНК [23, 27], которая получила название *omm* от латинского выражения *«omnia mea mecum porto»* – «все свое несу с собой», предложенного академиком А.С. Спириным для характеристики мРНК как особого, самодостаточного во многих отношениях, компартамента клетки [36].

В 1972 году был разработан метод выделения поли-(А)-содержащей мРНК при помощи аффинной хроматографии [34]. Эта работа открыла новую главу в молекулярной биологии. Сорт озимой пшеницы Краснодарская 39 позволил увидеть новые возможности этого метода в экспериментах по оценке степени полиаденилирования мРНК её зелёных 4-х суточных проростков (колеоптелей) методом термальной ступенчатой аффинной хроматографии мРНК на колонке с поли-(У)-сефарозой. При этом выяснилось, что при элюции с колонки поли-(А)-содержащей мРНК происходит её Mg^{++}-зависимый распад по тем же закономерностям, как и в живой клетке [1, 15-21, 23, 25, 35].

Зелёные проростки выращивали при температуре 20°C, но опытные проростки последние 8 часов подвергали воздействию закаливающей температуры (+4°C). Контрольные и опытные значительно различались по степени полиаденилирования и стабильности мРНК. Закаливающая температура вызывала усиление полиаденилирования мРНК и повышала её стабильность [2, 15, 18, 27].

Поскольку степень полиаденилирования мРНК не только определяет стабильность мРНК, но и является энхансером (усилителем) трансляционной активности мРНК, т.е. её способности образовывать полирибосомы, полученные результаты позволили понять феномен усиления трансляционной активности полирибосом в бесклеточной системе синтеза белка (in vitro) при закалке проростков пшеницы [5].

Трансляционная активность полирибосом in vitro. В научной литературе многими авторами было отмечено, что адаптация растений к стрессам непосредственно связана с работой белоксинтезирующего аппарата. Действие закаливающей низкой положительной температуры (0-5°) не вызывает распада полисом, а наоборот, увеличивает их количество в цитоплазме по сравнению с контрольными растениями, выращиваемыми при 20°. Одновременно происходит активация трансляционной активности полисом, наблюдаемая *in vitro* [27].

Данные о приросте трансляционной активности полисом под действием закаливающей температуры у контрастных по морозоустойчивости сортов озимой мягкой приведены в таблице 1. Очевидно, что у более морозоустойчивых сортов наблюдался более высокий прирост трансляционной активности полисом.

Таблица 1. Сортоспецифичность прироста *in vitro* трансляционной активности полисом проростков озимой мягкой пшеницы под действием закаливающей температуры (4°С, 8часов) [5, 18, 27]

Сорт по мере снижения морозоустойчивости, по данным прямого промораживания	Активность полисом, (% от контроля, 20°С)
Краснодарская 39	206 ± 4
Краснодарская 57	144 ± 4
Олимпия	127 ± 5
Безостая-1	124 ± 4
Краснодарская 70	98 ± 3
Колос	75 ± 3

В животных и растительных клетках идентифицировано много частиц и предшественников (информосом), которые содержат запасную мРНК и

синтез белка регулируется упорядоченным превращением предшественников в активные полисомы. Возможно, этому процессу способствует также снижение концентрации в клетке или удаление под влиянием закаливающих температур специфического ингибитора, препятствующего связыванию мРНК с рибосомами: увеличение степени полиаденилирования мРНК или в результате изменений в самих рибосомах, благодаря которым они приобретают способность связываться с РНК [5, 27, 29].

По-видимому, большое значение здесь имеет параллельная регуляция метаболизма при помощи каскада серин/треониновых протеинкиназ (mTOR), определяющих активацию РНК-полимераз (POL), усиливающих синтез белков рибосом, что приводит к стимуляции биогенеза рибосом. За последние годы был достигнут значительный прогресс в исследовании системы протеин-киназ у животных, получившей название mTOR (mammalian target of rapamycin), и в понимании молекулярных механизмов, путём которых факторы среды контролируют синтез и обмен мРНК. Аналогичная система протеинкиназ позднее найдена и у растений, так что mTOR – это историческое название протеинкиназной системы эукариот, участвующей в ответе организма на стрессовые условия среды [33]. Поэтому в настоящее время mTOR расшифровывается как «mechanic target of rapamycin".

Модуляция индекса стабильности специфической мРНК фактора элонгации трансляции eEF-1α проростков пшеницы под влиянием закаливающих температур

Увеличение трансляционной активности полисом под влиянием закаливающей температуры связано с возрастанием доли тяжелых полисом. Вместе с тем, стимуляция трансляционной активности полисом *in vitro* при поранении, холоде и гипоксии коррелирует с усилением экспрессии гена субъединицы α фактора элонгации трансляции eEF-1 и его

соответствующим накоплением в растительной клетке. Этот фактор играет центральную роль в элонгации полипетидных цепей эукариотических клеток, катализируя связывание аминоацил-тРНК с сайтом А на рибосоме, в ходе которого расходуется ГТФ. Помимо этого, для eEF-1α показаны ассоциация с цитоскелетом, связь с эндоплазматическим ретикулумом, участие в распаде белков и в организации митотического аппарата клетки.

Несомненно, фактор элонгации EF-1α играет важную роль в регуляции синтеза белка и изменение его содержания в той или иной ткани свидетельствует об изменении интенсивности синтеза белка [2, 27].

Известно, что стабильность мРНК определяется цис- и транс-факторами. Нестабильные мРНК имеют в составе молекулы (чаще всего в 3'-нетранслируемой области) последовательности нуклеотидов, определяющие их нестабильность (цис-фактор). К цис-факторам относится и длина поли-(А)-хвоста на 3'-конце мРНК. Транс-факторами выступают специфические РНКазы и другие белки, определяющие стабильность мРНК, в основном, через изменение цис-фактора - длины поли-(А)-хвоста. Есть основания полагать, что транс-факторами в *omtp* системе выступают магний-зависимые РНКазы ассоциированные с мРНК и устойчивые к действию традиционных депротеинизирующих агентов. С равной вероятностью, можно полагать, что таковыми факторами являются магний-зависимые рибозимные свойства самой РНК [23, 27].

Изменение стабильности некоторых мРНК в стрессовых условиях свидетельствует о широком диапазоне взаимного влияния цис- и транс-факторов. Была изучена степень полиаденилирования мРНК термальной ступенчатой хроматографией с колонки поли(У)-сефарозы и динамика эффективности молекулярной гибридизации поли-$(A)^+$мРНК eEF-1α сортов озимой пшеницы Зимородок - высокоморозоустойчивый сорт и

Безостая 1 - среднеморозоустойчивый сорт, в зависимости от времени инкубации в *оттр* системе водного препарата Mg^{++}-содержащей РНК.

Сорт Безостая 1 имеет высокополиаденилированную и стабильную мРНК eEF-1α у контрольных проростков, растущих при 20°С. Закаливающая температура (4°С) вызывала у этого сорта деаденилирование (уменьшение на 40 % фракции длиннохвостовых молекул мРНК eEF-1α) и дестабилизацию мРНК проростков.

У сорта Зимородок наблюдалась обратная картина: контрольные проростки имели относительно нестабильную мРНК eEF-1α, которая резко стабилизировалась под действием закаливающей температуры и увеличивалась степень ее полиаденилирования (фракция мРНК eEF-1α с длинными поли(А)-последовательностями увеличивалась на 50 %) [2, 27].

По-видимому, эти факты во многом объясняют разницу в морозоустойчивости этих двух сортов: под влиянием закаливающих температур у морозоустойчивого сорта Зимородок резко увеличивается степень полиаденилирования мРНК фактора элонгации трансляции eEF-1α и ее стабильность, и как следствие этого возрастает синтез белка, что обеспечивает форсированное создание веществ и структур, обеспечивающих морозоустойчивость; сорт Безостая 1, по всей видимости, не способен к такой мобилизации белоксинтезирующего аппарата.

Поскольку эти данные имеют принципиальное значение исследования были расширены. Для этого оценку количества мРНК eEF-1α осуществляли тремя различными методами : гибридиацией олигодезоксирибонуклеотидного зонда, меченого радиоактивно (^{33}P) - 1) на колонке поли(У)-сефарозы (сэндвич-гибридизация); 2) в растворе и 3) методом ОТ-ПЦР с применением различных праймеров к кДНК этой ген-специфической мРНК. Все три метода дали вполне сопоставимые результаты (табл. 2).

Наибольшую разницу между двумя сравниваемыми сортами наблюдали при помощи метода сэндвич-гибридизации. Эффективность метода ОТ-ПЦР зависела от праймеров, взятых в исследование: использование праймеров с координатами ближе к 3'-концу молекулы мРНК повышало разрешающую способность метода определения стабильности в системе *omtp* с помощью ОТ-ПЦР.

Таким образом, представляется вполне обоснованным предположение о том, что ключевым моментом в молекулярном механизме адаптации растений к изменяющимся условиям среды являются процессы полиаденилирования и деаденилирования мРНК. Все экологические факторы: свет, температура, влажность и др. обуславливают изменения степени полиаденилирования мРНК в зависимости от генетической предрасположенности той или иной культуры, того или иного сорта. Несомненно, этот вывод требует обстоятельных доказательств, с привлечением самых современных средств изучения процесса полиаденилирования мРНК.

Таблица 2. Стабильность мРНК eEF-1α проростков пшеницы, определённая различными методами [27].

Сорт	Темпе-ратура, °C при которой росли колеоптили	Гибридизация		ОТ-ПЦР ИС, %			
		поли(A)$^+$ мРНК на поли(У)-сефарозе ИС, %	мРНК в растворе ИС, %	Синтез кДНК с oligo-d(T)12		Синтез кДНК с праймерами LR RR	
				Праймеры LL/RL	RL/RR	LL/LR	LL/RR
Зимородок (высокая морозоустойчивость)	20	90	99	62	83	89	109
	4	284	134	70	202	97	95
Безостая 1 (средняя морозостойчивость)	20	230	124	85	126	240	-
	4	85	85	63	71	124	-

Распад мРНК в системе omtp и особенности биологии проростков пшеницы

Самым интересным фактом при наблюдении распада мРНК в системе *оттр* было то, что изменения ИС оказались не случайными, а отражали такие биологические особенности генотипа растений как стрессоустойчивость и фотопериодическая реакция. Это и навело впервые на мысль, что в ходе Mg^{++}-зависимого распада в системе *оттр* с мРНК происходят превращения, подобные тем, что имеют место в живой растительной клетке.

Известно, что начальные этапы развития проростка, его фотосинтетическая деятельность тесно связаны с функцией фитогормонов и ингибиторов. Для этого периода важны физиологические данные по устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды, способности адаптироваться к ним, фотопериодическая реакция. На примере ряда озимых и яровых сортов пшеницы и ячменя установлено, что величина ИС мРНК прямо пропорциональна интенсивности роста проростков в оптимальных условиях роста [15, 18, 21, 27]. В дальнейшем было показано, что и для животных характерна такая же взаимосвязь между ростом и стабильностью мРНК [32, 33].

В частности, в таблице 3 представлены результаты исследования процентного выхода поли-$(A)^{++}$мРНК из проростков озимых сортов пшеницы, которые росли при разных температурных режимах. Минимальный выход у всех сортов наблюдался при 20°С. При этом наблюдалось строгое соответствие величины индекса стабильности мРНК и интенсивности роста: сорт Безостая 1 лидировал по росту при этой температуре, сорт Краснодарская 39 замыкал

Таблица 3. Индекс стабильности мРНК четырехсуточных зелёных проростков озимой пшеницы при разных температурных условиях произрастания [15, 18, 27].

Сорт по мере снижения морозоустойчивости и увеличения интенсивности роста	Температура в последние 8 часов вегетации проростков, выращенных при 20°С			
	4°С	20°С	23°С	26°С
Краснодарская 39	60 ± 3	14 ± 1	36 ± 2	75 ± 2
Олимпия	55 ± 3	18 ± 2	33 ± 2	73 ± 2
Безостая 1	44 ± 1	25 ± 1	31 ± 2	49 ± 1

ряд. Отклонение от этой температуры приводило к увеличению процентного выхода поли-$(A)^{++}$мРНК (увеличению индекса стабильности ИС). Интенсивность роста проростков увеличивалась с повышением температуры и была пропорциональна ИС. Т.е. при 26°С сорт Безостая 1 замыкал ряд по интенсивности роста, а возглавлял его сорт Краснодарская 39. Следовательно, и в этом случае увеличение ИС мРНК имело положительную взаимосвязь с ростом растений.

Исключением из этой закономерности являлось увеличение ИС суммарной мРНК, как и ген-специфической мРНК eEF-1α (табл. 2), при 4°С, когда проростки росли менее интенсивно, чем при 20°С. Увеличение процентного выхода поли-$(A)^{++}$мРНК (повышение стабильности мРНК) в стрессовых условиях у проростков пшениц, вероятно, связано с тем , что наряду с торможением роста, необходимо поддержание относительно высокого уровня биосинтеза метаболитов для перестройки структуры клеток, обеспечивающей их устойчивость к стрессу.

Перед постановкой опытов растения выдерживали при освещении не менее 12 часов и опыт проводили на свету, так как наличие или отсутствие, а также длительность освещения сильно влияли на процентный выход поли-$(A)^{++}$мРНК. Под воздействием света индекс стабильности мРНК Краснодарской 39, изначально более высокий, снижался в 3 раза, в то время как у Безостой 1 только в 1,2 раза (табл. 4).

Известно, что свет регулирует темп онтогенеза. Для озимой пшеницы характерна задержка роста под влиянием света, в то время как для яровой пшеницы это проявляется лишь в слабой степени. Важно подчеркнуть, что тип развития и продолжительность вегетационного периода неяровизированных растений определяется их реакцией на свет именно в начальный период жизни, т.е. на стадии проростков.

Таблица 4. Влияние света на индекс стабильности мРНК четырехсуточных зеленых проростков озимых сортов пшеницы при 20°С [27].

Сорта	Индекс стабильности поли(А)мРНК	
	Без освещения 12 часов	Освещение 6 часов
Краснодарская 39	75 ± 2,0	25 ± 0,6
Безостая 1	41 ± 1,1	33 ± 0,8

Изменение скорости роста и развития влияет на такие важные свойства растений, как зимостойкость, засухоустойчивость, длину вегетационного периода (скороспелость и позднеспелость), неполегаемость, отзывчивость на удобрения и полив, величина урожая и его качество. Был отмечен важный факт: ранжировка селекционерами сортов озимой и яровой пшеницы по холодоустойчивости и засухоустойчивости в полевых условиях совпадают с оценкой, основанной на изучении изменения выхода поли-$(A)^{++}$ мРНК из проростков, в лабораторных условиях [16, 27].

По-видимому, ИС мРНК отражает общие закономерности ростового метаболизма, характерные для как проростков, так и для взрослых растений. Изменение ИС мРНК коррелирровало с комплексной неспецифической устойчивостью растений к стрессам (табл. 5). Аналогичные закономерности для этих сортов и этих стрессов были описаны ранее по признаку увеличения прироста трансляционной активности полирибосом *in vitro* [5].

По-видимому, эти два явления объединяет третий фактор – дифференциальное, сортоспецифическое изменение длины поли-(А)-последовательности мРНК под влиянием света и закаливающей температуры. Эксперименты по сравнительному изучению трансляционной активности поли-(А)-содержащей мРНК с различной длиной терминальной поли-(А)-последовательности подтверждают это предположение – чем длиннее поли-(А)-хвост, тем выше трансляционная активность мРНК *in vitro* [27, 32, 33].

Таблица 5. Влияние холода, обезвоживания (ПЭГ) и засоления на индекс стабильности мРНК четырёхсуточных проростков озимой пшеницы [27]

Сорт	Индекс стабильности поли-(А)-мРНК, %		
	4°С, 8 ч	12% ПЭГ*, 3 ч	2% NaCl, 3 ч
Краснодарская 39	45±2,1	57±4,5	30±2,8
Безостая 1	14±1,2	5±1,1	19±2,3

*ПЭГ – полиэтиленгликоль 6000

Оценка изменений относительной степени полиаденилирования мРНК под влиянием закаливающей температуры при помощи двух методов - термальной ступенчатой аффинной хроматографии на колонке поли-(У)-сефарозы (табл. 6) и по степени гиперхромного эффекта отсечённого щёлочью от мРНК поли-(А)-хвоста (табл. 7) – показала существенное сортоспецифическое различие по этому параметру: резкое увеличение степени полиаденилирования мРНК у проростков сорта Краснодарская 39 и весьма незначительные (иногда обратные) изменения у Безостой 1.

Таблица 6. Влияние холода (4°С, 8 часов) на степень полиаденилироания мРНК проростков озимой пшеницы по результатам двух экспериментов методом термальной ступенчатой хроматографии на поли(У)-сефарозе [2, 27]

Сорта	$(A)_n65°/(A)_n35°$	
	20° С	4° С
Краснодарская 39	1,1	2,0
	1,3	1,6
Безостая 1	1,5	0,9
	1,1	0,8

$(A)_n65°/(A)_n35°$ - соотношение длинно и коротко хвостовых молекул

Таблица 7. Оценка длины поли-(А)-хвостов мРНК проростков пшеницы, полученных щелочным методом, по гиперхромному эффекту в опытах по влиянию низкой положительной температуры [7, 8, 27].

Сорт	Температура, °С	Гиперхр. эффект, %
Зимородок	20	45
(высокоморозоустойчивый)	4	85
Безостая 1	20	42
(среднеморозоустойчивый)	4	47

Фактор времени имеет нередко решающее значение в жизни растения, продлевая работу одних генетических систем и задерживая смену их другими и, наоборот, ускоряя этот процесс. Изменение скорости роста и развития определяет такие свойства как стрессоустойчивость и фотопериодизм. Известно, что на практике имеют превосходство по морозоустойчивости те сорта озимой пшеницы, закалка которых происходит сравнительно быстро [2, 27].

Важно отметить особенности реакции проростков пшеницы на закаливующую температуру (4°С) по изменению общей РНКазной активности: по мере увеличения морозостойкости сорта активность РНКаз снижалась в проростках сортов озимой пшеницы: так у Безостой 1 она составляла – 121 единиц, а у Краснодарской 39 - только 80 [12].

Таким образом, влияние света и закаливающей температуры на стабильность мРНК в системе *omtp* также сортоспецифично. Вполне вероятно, что это определяется соотношением в геноме доминантных и рецессивных генов, ответственных за яровизацию *(vrn)* и за фотопериодическую реакцию (*ppd)* растения.

Взаимосвязь морозоустойчивости озимой мягкой пшеницы, содержания в зрелом зерне нуклеиновых кислот, катионов магния и электрофоретических характеристик долгоживущей рРНК

Кратковременный щелочной гидролиз, при отсечении поли–(А)–сегмента мРНК, осуществлялся в суммарном препарате высокополимерной РНК (табл. 7). При этом выяснилось, что рРНК, составляющая основную часть суммарной РНК, гидролизуется определённым образом в зависимости от сорта и физиологического состояния растения. Вместе с тем, в ходе этих экспериментов визуально наблюдалось дифференциальное выпадение осадков, предположительно гидрата окиси магния, по тем же особенностям генетики и физиологии проростков пшеницы. Поэтому возникло предположение, что важным фактором сортоспецифических особенностей как мРНК, так и рРНК является вариабельность в содержании молекулами РНК катионов магния (Mg^{++}), которые с одной стороны стабилизируют молекулы РНК, а с другой - определяют рибозимные свойства РНК [7, 6, 24, 27].

Изучение препарата высокополимерной РНК из зелёных проростков сортов озимой мягкой пшеницы, выращенных при 20°С и контрастно различающихся по морозоустойчивости, показало, что содержание магния в РНК разных сортов различно и имеет довольно чёткую отрицательную связь с морозоустойчивостью взятых в исследование сортов пшеницы. Минимальное содержание магния в РНК было у высокоморозостойкого сорта Зимородок, а максимальное - у среднеморозостойкого сорта Безостая 1 (табл. 8).

Поскольку рРНК составляет основную массу РНК клетки, было логично предположить, что разницу в содержании катионов магния между сравниваемыми сортами можно увидеть, не выделяя РНК, а подвергнув озолению высушенные проростки соответствующих сортов. Эксперимент показал справедливость такого предположения: содержание магния в золе

проростков этих сортов пшеницы также было различным и имело отрицательную связь с морозоустойчивостью сортов (табл. 8).

Так как зерно проращивали на дистиллированной воде, то единственным источником магния являлась прорастающая зерновка. Анализ РНК и золы сухого зерна показал, что и здесь содержание магния и морозоустойчивость сорта имеют обратную зависимость (табл. 8).

Таблица 8. Относительное содержание катионов магния (Mg^{++}) в зерне, проростках и РНК двух сортов озимой мягкой пшеницы, различающихся морозоустойчивостью, % [25, 27]

Сорт (по мере убывания морозо устойчивости)	Зрелое зерно		Этиолированные 4-х суточные проростки		
	Зерно	высоко-полимерная РНК	проростки	Суммарная высокополимерная РНК	поли(А)-мРНК
Зимородок	100	100	100	100	100
Безостая 1	146±5	169±7	133±4	164±5	134±6

Важно отметить, что в ходе выделения РНК в присутствии катионов магния, но с осаждением РНК концентрированной солью (LiCl), происходит потеря 90% катионов магния РНК. Предположительно, в РНК остаются только так называемые сайт-специфические катионы магния, относительно прочно связанные с молекулой РНК в отличие от диффузных катионов магния, легко теряемых при выделении. Поэтому принципиально важными представляются данные о содержании катионов магния в золе зерна, отражающие общее содержание катионов магния, в значительной мере связанных с РНК. Известно, что сотни ферментов содержат катион магния как кофактор, но высокополимерная РНК, по-видимому, содержит большую часть катионов магния в клетке (например, более 100 катионов магния приходится на одну молекулу 23S рРНК [7-9, 27]).

В целом зрелое зерно слабо морозоустойчивых сортов содержало на 25-40% больше катионов магния по сравнению с сильно морозоустойчивыми сортами озимой мягкой пшеницы.

Известно, что недостаток магния приводит к уменьшению содержания фосфора в растениях, даже если фосфаты в достаточном количестве имеются в питательном субстрате. Весьма существенно, что при недостатке магния в

клетках растений накапливаются моносахариды, т.е. тормозится превращение их в полисахариды [27], что, как известно, является важным фактором формирования морозоустойчивости.

Сорта Зимородок и Безостая 1 при расчете содержания катионов магния на 1 мг золы различаются на 20%, при расчете на одну зерновку - на 46%, а в пересчёте на единицу РНК - на 69%. Вместе с тем, зрелое зерно этих сортов существенно различается по содержению РНК: 0,54 мг на г шрота у Зимородка и 0,43 мг на г шрота у Безостой 1 [27]. Эту закономерность далее исследовали подробно на примере зрелого зерна ряда сортов озимой мягкой пшеницы (табл. 9).

Таблица 9. Содержание суммарной РНК, ДНК и катионов магния (Mg^{++}) в шроте зрелых сухих зерновок сортов озимой мягкой пшеницы, ранжированных по морозоустойчивости [7, 8, 27].

Сорта по мере снижения морозоустойчивости	РНК мкг/мг	ДНК мкг/мг	$[Mg^{++}]$; мкг/мг золы
Альбидум 114	4,25±0,15	1,47±0,105	145
Кинельская	4,08±0,39	1,28±0,036	146
Победа 50	3,48±0,18	0,847±0,028	166
Крошка	3,51±0,24	0,978±0,032	180
Дея	3,42±0,15	0,890±0,039	182
Безостая 1	3,03±0,27	0,875±0,049	190
Русса	3,60±0,06	1,078±0,066	195
Ласточка	2,82±0,27	0,735±0,056	192

В литературе имеются сходные данные по сравнительному изучению содержания нуклеиновых кислот в зародышах семян разных сортов пшеницы [13]: было показано, что среднеморозоустойчивый сорт Безостая 1 как РНК, так и ДНК накапливает меньше, чем высокоморозоустойчивый сорт Мироновская 808, а абсолютное содержание нуклеиновых кислот у яровых сортов пшеницы выше, чем у озимых.

Оценка количества долгоживущей РНК в шроте зрелых семян нескольких десятков сортов озимой мягкой пшеницы модифицированным методом Шмидта и Тангаузера показала, что повышение морозоустойчивости сорта сопряжено с увеличением количества РНК в зрелом зерне. Данные позволяют предполагать, что стабильность мРНК и стабильность рРНК под влиянием катионов магния изменяются в противоположных направлениях: увеличение количества Mg^{++} приводит к стабилизации рРНК, но дестабилизирует мРНК. Таким образом, морозоустойчивость сортов озимой мягкой пшеницы прямо пропорциональна содержанию РНК в зрелом зерне и обратно пропорциональна содержанию катионов магния [3, 6-8, 26, 27].

Количественная оценка содержания РНК и ДНК модифицированным методом Шмидта и Тангаузера самый простой метод в химии и биохимии нуклеиновых кислот и требует лишь наличия гидрата окиси калия и хлорной кислоты, а из лабораторных приборов: центрифуга и спектрофотометр.

Эту закономерность исследовали более широко на примере зрелого зерна сортов озимой мягкой пшеницы, морозоустойчивость которых была ранжирована селекционерами методом прямого промораживания (табл. 10). Всего было изучено около 100 сортов. При этом была обнаружена сортоспецифическая вариабельность в содержании РНК, ДНК и катионов магния, коррелирующая с морозоустойчивостью изученных сортов озимой

мягкой пшеницы (коэффициенты корреляции для содержания РНК - +0,88, для ДНК - +0,80, для магния - -0,51).

Таким образом, морозоустойчивость сортов озимой мягкой пшеницы прямо пропорциональна содержанию РНК и ДНК в зрелом зерне и обратно пропорциональна содержанию катионов магния. Слабоморозостойкие сорта также могут иметь высокое содержание РНК в зрелом зерне, но это наблюдается на фоне высокого содержания катионов магния, что определяет иные качественные характеристики РНК (табл. 10).

Эта принципиально важная закономерность была проверена на разных видах злаков. В ряду по мере возрастания морозоустойчивости: *озимая мягкая пшеница – тритикале – рожь*- показана прямо пропорциональная связь морозоустойчивости культуры и содержания долгоживущей РНК в зрелом зерне (таблица 11).

Подобная закономерность обнаружена и у сортов ярового и зимующего гороха (табл. 12).

Аналогичные результаты получены и на рисе: холодостойкость его сортов положительно коррелирует с содержанием РНК в зародыше зрелого зерна [7].

Таблица 10. Содержание катионов магния (Mg^{++}) и РНК в зрелом зерне различных сортов озимой мягкой пшеницы, ранжированных по морозоустойчивости [26, 27].

Группы сортов, ранжированных по морозостойкости	Среднее значение % Mg в золе	Среднее значение содержания РНК, мкг/г
Высокая морозоустойчивость:		
Зимородок ПалПич Московская 39 Девиз Станичная Арфа Одесская 200 Зарница Крыжинка	15,2	3716
Морозоустойчивость средняя и выше средней		
Безостая1 Русса Buck Palenque Крошка Краснодарская 99 Дельта Красота	15,9	3518
Морозоустойчивость слабая и ниже средней		
Петровчанка Немчиновская 24 SG – RU 8069 Степнячка	17,8	3563
Суперслабая морозоустойчивость		
КК 185/91-2 SG-S 1787-01 Антониус Пегас КК 737/92-2 7591–2	20,3	3907

Таблица 11. Содержание долгоживущей РНК в шроте зрелого зерна ржи, тритикале и пшеницы (среднее из четырёх измерений, мкг/мг) [6]

Культура (сорт)	Происхождение	РНК
Рожь (Саратовская 7)		5,40
Тритикале (Валентин)	Озимое тритикале × яровое тритикале	4,16
Тритикале (Хонгор)	Тритикале × озимая мягкая пшеница	4,03
Тритикале (АД зелёный)	Твёрдая пшеница × рожь	3,55
Озимая мягкая пшеница (Половчанка)	С блоком глиадина 1В3, ответственным за адаптацию к стрессам	3,09

Таблица 12. Содержание долгоживущей РНК в шроте зрелого зерна яровых и зимующих сортов гороха, мкг/мг [6]

Сорт	Характеристика сорта	РНК
Статус	Яровой	4,78±0,10
Лавр	«-«	5,20±0,22
Ареал	«-«	4,81±0,17
Легион	Двуручка	4,99±0,15
Агрий	Зимующий	5,72±0,45
Спутник	«-«	5,70±0,48
Фаэтон	«-«	6,04±0,36

Таблица 13. Относительные величины содержания катионов магния (Mg^{++}), долгоживущей РНК и электрофоретической характеристики (25S/18S) её рРНК в зрелом зерне сортов озимой мягкой пшеницы, различающихся по морозоустойчивости, % [7, 8, 11, 27]

Сорта по мере снижения морозоустойчивости	25SpРНК/18S рРНК	Mg^{++}, в золе шрота	РНК, в шроте
Московская 39	100	100	100
Безостая 1	110±2	90±1	75±2
Немчиновская 24	122±3	95±2	63±1
Антониус	133±3	110±2	42±1

Исследования электрофоретического спектра рРНК зрелого зерна показали, что морозоустойчивость сортов озимой мягкой пшеницы прямо пропорциональна величине 25S/18S (табл. 13). Изменения в соотношении

25S/18S рРНК в основном связаны с варьированием в спектре количества 25S рРНК.

Вероятно, особенности рРНК зерна определяют не только морозоустойчивость, но в целом - неспецифическую устойчивость растений к неблагоприятным условиям среды, так как ранее было показано, что магний-зависимые процессы синтеза белка в бесклеточной системе синтеза белка (*in vitro*), а также закономерности магний-зависимого распада суммарной поли(А)-содержащей мРНК и ряда ген-специфических мРНК отражают сортовую неспецифическую устойчивость.

Катионы магния (Mg^{++}) являются существенным компонентом белоксинтезирующей системы живой клетки, они играют значительную роль в образовании рибосом и полирибосом, в формировании структуры всех видов РНК. Эффективный процесс синтеза белка, а также эффективный процесс распада РНК как *in vivo*, так и *in vitro* невозможны в отсутствие Mg^{++}. Вероятно, неспецифическая реакция на стресс, молекулярный механизм которой осуществляется через влияние катионов Mg^{++} на дифференциальную стабильность мРНК и рРНК зрелого зерна, определяет энергию прорастания зерна и особенности всего онтогенеза растения.

Есть основания предполагать, что катионы Mg^{++} стимулируют укорочение терминальной поли-А-последовательности, определяющей стабильность и трансляционную активность мРНК, через усиление прочности определённых структур (например, шпилька в 3'-нетранслируемой области мРНК), с которыми связываются белки, определяющие деаденилирование молекулы мРНК. Таким образом, морозоустойчивость озимой мягкой пшеницы, вероятно, прямо пропорциональна периоду полужизни мРНК и 25S рРНК, но обратно пропорциональна периоду полужизни 18S рРНК и содержанию катионов

Mg^{++} в РНК Возможно, стабилизация мРНК вызывает ускорение обмена рРНК, что необходимо для эффективного функционирования рибосом [27, 28].

В ряду сельскохозяйственных злаков по мере увеличения морозоустойчивости озимая мягкая пшеница занимает среднее место: *озимый ячмень – озимая мягкая пшеница – рожь*. Аналогичный ряд выстраивается по мере снижения содержания катионов магния в зрелом зерне: *озимый ячмень – озимая мягкая пшеница – рожь* [10, 28]. Косвенно это свидетельствует в пользу вывода о том, что морозоустойчивость сортов озимой мягкой пшеницы обратно пропорциональна содержанию катионов магния в зрелом зерне.

Заключение

Итак, норма реакции сорта Безостая 1 на молекулярном уровне относительно узка по всем компонентам белоксинтезирующей системы - от амплитуды изменения трансляционной активности полирибосом, длины поли-(А)-хвоста мРНК, стабильности мРНК до амплитуды колебаний электрофоретического спектра рРНК [25, 27]. Это соответствует относительно высокому содержанию катионов магния в зерне Безостой 1 и реальному районированию сортов: Краснодарская 39 способна давать урожай вплоть до Самарской области, в то время как Безостая 1 давала и даёт великолепные урожаи, но в относительно узкой южной полосе.

Особенности сорта Безостая 1 образно можно представить как глухонемого человека в группе пахарей. Товарищи отвлекаются на различные развлекательные и опасные аспекты жизни, а глухонемой пашет и пашет. Поэтому в конечном итоге выясняется, что он вспахал больше всех. Но это только при условии относительно благоприятных обстоятельств.

Этот вывод позволяет объективно понять природу феномена сорта Безостая 1 и, отталкиваясь от этих знаний, заложить основу понимания

сакральных молекулярно-биологических процессов, лежащих в основе селекции и определяющих её будущие успехи.

Фундаментальные исследования молекулярной биологии сорта Безостая 1 привели к прикладным исследованиям, способствовали формированию элементов молекулярных основ теории морозоустойчивости и возможности разработки простых методов оценки морозоустойчивости сортов озимой мягкой пшеницы по содержанию нуклеиновых кислот и катионов магния в зрелом зерне [3, 27, 28].

В фундаментальном плане, эти исследования привели к открытию закономерностей Mg^{++}-зависимого распада мРНК и рРНК *in vitro* (система *omtp*) [11, 15, 23, 27]. Это событие в методологии способствовало созданию фундамента для развития новой главы в молекулярной физиологии сельскохозяйственных растений, так как новые шаги в методологии, как правило, ведут за собой длинную цепь новых фактов, которые дополняют и изменяют научное мировоззрение, предоставляют принципиально новые возможности для практики.

Литература

1) Алексеенко Ж.В. Дифференциальный распад мРНК злаков *in vitro* как молекулярно-кинетический маркёр эффекта взаимодействия «генотип-среда» // Автореф. дис. на соиск. степени канд. биол. наук. Краснодар. Кубанский агроуниверситет. 2003. 27с.

2) Бакалдина Н.Б., Алексеенко Ж.В., Плотников В.К. Холодоиндуцированные изменения стабильности мРНК субъединицы альфа фактора элонгации трансляции 1 у проростков пшеницы и ячменя // Физиология растений. 2001. т. 48, № 6. С. 879-885.

3) Евтушенко Я.Ю., Насонов А.И., Букреева Г.И., Плотников В.К. Содержание долгоживущих нуклеиновых кислот в зрелом зерне как молекулярный маркёр морозостойкости озимой мягкой пшеницы //Материалы Всероссийского симпозиума с международным участием, посвящённого 85-летию со дня рождения В.А. Кумакова «Физиолого-биохимические основы продукционного процесса у культивируемых растений», Саратов, 2010, с.26-28.

4) Иваненко Е.Е., Скаженник М.А. Идентификация подвидов риса *Indica* и *Japonica* при помощи молекулярно-физиологических признаков // Зерновое хозяйство России.2013, Т. 27, № 3,С. 11-17.

5) Киль В.И., Бибишев В.А., Плотников В.К. Неспецифический прирост трансляционной активности полисом проростков пшеницы и ячменя под действием стрессов // Физиология растений, 1991, т. 38, вып. 4, С.730-735.

6) Мельникова Е.Е., Евтушенко Я.Ю., Букреева Г.И., Насонов А.И., Плотников В.К. Содержание нуклеиновых кислот в зрелом зерне озимой мягкой пшеницы и зимующего гороха как молекулярный маркёр морозостойкости сортов // Материалы 11-ой молодёжной научной крнференции «Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и ветеренарии», Москва, 2011, с.42.

7) Насонов А.И. Гетерогенность свойств основных РНК-компонентов белоксинтезирующей системы клетки в связи с биологическими особенностями зерновых культур. Дисс. ... канд. биол. наук, Саратов, ИБФРМ РАН, 2008. 145 с.

8) Насонов А.И. Гетерогенность свойств РНК зерновых культур. Связь с биологическими особенностями линий и сортов, Saarbruken, LAP Lambert Academic Publishing, 2010. 190 с.

9) Насонов А.И., Полежаев С.Л., Радуль А.П., Рядчиков В.Г., Плотников В.К. Взаимосвязь содержания катионов магния (Mg^{++}), стабильности РНК и интенсивности метаболизма в клетках эукариот // Труды Кубанского государственного аграрного университета, 2008, № 2(11), С.104-110.

10) Насонов А.И., Евтушенко Я.Ю., Серкин Н.В., Плотников В.К. Особенности состава зерна среднеморозоустойчивых сортов ячменя // Труды Кубанского государственного аграрного университета, 2012, Т. 1, № 38, с. 104 – 106.

11) Насонов А.И., Степанов И.В., Евтушенко Я.Ю., Плотников В.К. Дифференциальная стабильность 25S и 18S рибосомной РНК растений // Труды Кубанского аграрного университета, 2012, т. 1., № 38, С. 121-125.

12) Новиков Б.Н. Генетико-биохимическая гетерогенность рибонуклеаз злаковых культур в связи с разработкой новых методов отбора в селекционном процессе // Автореферат диссертации на соискание учёной степени кандидата биологических наук, Краснодар. 2000. 23 с.

13) Овчаров К.Е. Физиология формирования и прорастания семян. - М.: Колос, 1976. 255 с.

14) Плотников В.К. Стабильность мРНК как фактор регуляции экспрессии генов в клетках эукариот//Успехи современной биологии, 1992, т. 112, вып. 2, с. 186-199.

15) Плотников В.К., Бакалдина Н.Б., Бибишев В.А., Алексеенко Ж.В. Дифференциальная стабильность мРНК как молекулярно-генетический маркер интенсивности роста пшеницы // Сб. науч. тр. КНИИСХ к 95-летию академика ВАСХНИЛ П.П. Лукьяненко, 1996, с. 253-260.

16) Плотников В.К., Бакалдина Н.Б., Бибишев В.А. Российский патент № 2084133 на изобретение «Способ диагностики физиологического состояния зерновых культур» от 20 июля 1997.

17) Плотников В.К., Бакалдина Н.Б. Посттранскрипционная регуляция экспрессии генов: изучение дифференциального распада мРНК растений in vivo и in vitro // Генетика, 1997, т. 33, № 3, С.343-349.

18) Плотников В.К. Биохимические признаки стабильности мРНК в связи с регуляцией синтеза белка в клетках злаков и их устойчивостью к стрессам с целью создания новых методов селекции. Автореф. дис. на соиск. уч. степени докт. биол. наук. - Краснодар, 1997. 42 с.

19) Плотников В.К., Бакалдина Н.Б., Новиков Б.Н., Алексеенко Ж.В. Посттранскрипционная регуляция экспрессии генов растений: ряды индексов стабильности специфических мРНК in vivo и in vitro // Генетика, 1998, т.34., № 7, С.869-875.

20) Плотников В.К., Бакалдина Н.Б., Новиков Б.Н., Алексеенко Ж.В., Бибишев В.А., Полежаев С.Л., Рядчиков В.Г. Посттранскрипционная регуляция экспрессии генов

эукариот: влияние стрессов на стабильность мРНК in vitro // Генетика, 1998, т. 34, № 9, С. 1205-1211.

21) Плотников В.К., Бакалдина Н.Б., Сметанин Д.В. Фотоиндуцированная модуляция стабильности мРНК фитохрома А у проростков пшеницы и ячменя // Физиология растений, 2000, т. 47, № 2, С. 203-209.

22) Плотников В.К. Сорт озимой пшеницы «Краснодарская-39» – источник открытий в молекулярной биологии растений// Сб. науч. тр. КНИИСХ, посвящённый 100-летию академика П.П.Лукьяненко «Пшеница и тритикале», Краснодар, 2001, с. 611-616.

23) Плотников В.К. Генетико-физиологическая детерминация распада мРНК злаков in vitro//Успехи современной биологии, 2003, Т. 123, № 1, с. 98-109.

24) Плотников В.К., НасоновА.И., Ладатко А.Г. Вариабельность содержания катионов магния (Mg^{++}) в РНК проростков озимой мягкой пшеницы //Сборник статей по материалам конференции «Аминокислотное питание животных и проблема белковых ресурсов», (23 марта, 2004, Краснодар) Краснодар, 2005, с.349 - 352.

25) Плотников В.К., Насонов А.И., Кузембаева Н.А., Букреева Г.И., Каленич В.И., Беспалова Л.А. Особенности молекулярной физиологии озимой мягкой пшеницы сорта Безостая 1 // Сб. материалов международной конференции «Безостая 1 – 50 лет триумфа», Краснодар, 2005, с.212 - 220.

26) Плотников В.К., Насонов А.И., Иваненко Е.Е., Кузембаева Н.А., Букреева Г.И., Каленич В.И. Взаимосвязь морозостойкости озимой мягкой пшеницы с содержанием катионов магния в РНК // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии, Москва, 2008, Вып. 2, С. 89-92.

27) Плотников В.К. Биология РНК зерновых культур, Краснодар, Издательство «Эдви», 2009, 375 с.

28) Плотников В.К., Евтушенко Я.Ю., Салфетников А.А., Репко Н.В., Насонов А.И. Биологические маркёры для селекции на морозоустойчивость озимых форм мягкой пшеницы и ячменя // Научный журнал КубГау, 2014, № 104, С. 1855-1887.

29) Плотников В.К., Репко Н.В., Салфетников А.А. Цикличность влияния актиномицина Д на рост колеоптилей ячменя // Научный журнал КубГау, 2015, № 107 (03), С. 1352-1371.

30) Пучков Ю.М., Набоков Г.Д., Фоменко Н.П. Роль сорта Безостая 1 в повышении продуктивности зимостойких сортов озимой пшеницы в Краснодарском НИИСХ им. П.П. Лукьяненко // Сб. материалов международной конференции «Безостая 1 – 50 лет триумфа», Краснодар, 2005, с.14-30.

31) Романенко А.А. Безостая 1 – триумф науки и искусства // Сб. материалов международной конференции «Безостая 1 – 50 лет триумфа», Краснодар, 2005, с.8-13.

32) Рядчиков В.Г., Плотников В.К., Полежаев С.Л., Омаров М.О. Молекулярно-биологические механизмы адаптации белоксинтезирующей системы животных к имбалансу аминокислот // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета , 2013, Т. 88 , 2013, № 2, с. 433-472.

33) Рядчиков В.Г., Плотников В.К. Экспрессия генов эукариот при аминокислотном имбалансе, 2014, Краснодар, КубГАУ, 375 с.

34) Aviv H., Leder P. Purification of biologically active globin messenger RNA by chromatography on oligothymidilic acid-cellulose // Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 1972. V. 69. P. 1408-1412.

35) Plotnikov V.K., Bakaldina N.B. Differential stability of zein mRNA in developing corn kernel // Plant Molecular Biology, 1996, V.31., P.507-515.

36) Spirin A.S. Eukaryotic messenger RNA and informosomes. *Omnia mea mecum porto* // FEBS Lett. 1978. V. 88. P. 15-17.

References

1) Alekseenko Zh.V. Differencial'nyj raspad mRNK zlakov in vitro kak molekuljarno-kineticheskij markjor jeffekta vzaimodejstvija «genotip-sreda» // Avtoref. dis. na soisk. stepeni kand. biol. nauk. Krasnodar. Kubanskij agrouniversitet. 2003. 27s.

2) Bakaldina N.B., Alekseenko Zh.V., Plotnikov V.K. Holodoinducirovannye izmenenija stabil'nosti mRNK sub#edinicy al'fa faktora jelongacii transljacii 1 u prorostkov pshenicy i jachmenja // Fiziologija rastenij. 2001. t. 48, № 6. C. 879-885.

3) Evtushenko Ja.Ju., Nasonov A.I., Bukreeva G.I., Plotnikov V.K. Soderzhanie dolgozhivushhih nukleinovyh kislot v zrelom zerne kak molekuljarnyj markjor morozostojkosti ozimoj mjagkoj pshenicy //Materialy Vserossijskogo simpoziuma s mezhdunarodnym uchastiem, posvjashhjonnogo 85-letiju so dnja rozhdenija V.A. Kumakova «Fiziologo-biohimicheskie osnovy produkcionnogo processa u kul'tiviruemyh rastenij», Saratov, 2010, s.26-28.

4) Ivanenko E.E., Skazhennik M.A. Identifikacija podvidov risa Indica i Japonica pri pomoshhi molekuljarno-fiziologicheskih priznakov // Zernovoe hozjajstvo Rossii.2013, T. 27, № 3,S. 11-17.

5) Kil' V.I., Bibishev V.A., Plotnikov V.K. Nespecificheskij prirost transljacionnoj aktivnosti polisom prorostkov pshenicy i jachmenja pod dejstviem stressov // Fiziologija rastenij, 1991, t. 38, vyp. 4, S.730-735.

6) Mel'nikova E.E., Evtushenko Ja.Ju., Bukreeva G.I., Nasonov A.I., Plotnikov V.K. Soderzhanie nukleinovyh kislot v zrelom zerne ozimoj mjagkoj pshenicy i zimujushhego goroha kak molekuljarnyj markjor morozostojkosti sortov // Materialy 11-oj molodjozhnoj nauchnoj krnferencii «Biotehnologija v rastenievodstve, zhivotnovodstve i veterenarii», Moskva, 2011, s.42.

7) Nasonov A.I. Geterogennost' svojstv osnovnyh RNK-komponentov beloksintezirujushhej sistemy kletki v svjazi s biologicheskimi osobennostjami zernovyh kul'tur. Diss. ... kand. biol. nauk, Saratov, IBFRM RAN, 2008. 145 s.

8) Nasonov A.I. Geterogennost' svojstv RNK zernovyh kul'tur. Svjaz' s biologicheskimi osobennostjami linij i sortov, Saarbruken, LAP Lambert Academic Publishing, 2010. 190 s.

9) Nasonov A.I., Polezhaev S.L., Radul' A.P., Rjadchikov V.G., Plotnikov V.K. Vzaimosvjaz' soderzhanija kationov magnija (Mg++), stabil'nosti RNK i intensivnosti metabolizma v kletkah jeukariot // Trudy Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta, 2008, № 2(11), S.104-110.

10) Nasonov A.I., Evtushenko Ja.Ju., Serkin N.V., Plotnikov V.K. Osobennosti sostava zerna srednemorozoustojchivyh sortov jachmenja // Trudy Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta, 2012, T. 1, № 38, s. 104 – 106.

11) Nasonov A.I., Stepanov I.V., Evtushenko Ja.Ju., Plotnikov V.K. Differencial'naja stabil'nost' 25S i 18S ribosomnoj RNK rastenij // Trudy Kubanskogo agrarnogo universiteta, 2012, t. 1., № 38, S. 121-125.

12) Novikov B.N. Genetiko-biohimicheskaja geterogennost' ribonukleaz zlakovyh kul'tur v svjazi s razrabotkoj novyh metodov otbora v selekcionnom processe // Avtoreferat dissertacii na soiskanie uchjonoj stepeni kandidata biologicheskih nauk, Krasnodar. 2000. 23 s.

13) Ovcharov K.E. Fiziologija formirovanija i prorastanija semjan. - M.: Kolos, 1976. 255 s.

14) Plotnikov V.K. Stabil'nost' mRNK kak faktor reguljacii jekspressii genov v kletkah jeukariot//Uspehi sovremennoj biologii, 1992, t. 112, vyp. 2, s. 186-199.

15) Plotnikov V.K., Bakaldina N.B., Bibishev V.A., Alekseenko Zh.V. Differencial'naja stabil'nost' mRNK kak molekuljarno-geneticheskij marker intensivnosti rosta pshenicy // Sb. nauch. tr. KNIISH k 95-letiju akademika VASHNIL P.P. Luk'janenko, 1996, s. 253-260.

16) Plotnikov V.K., Bakaldina N.B., Bibishev V.A. Rossijskij patent № 2084133 na izobretenie «Sposob diagnostiki fiziologicheskogo sostojanija zernovyh kul'tur» ot 20 ijulja 1997.

17) Plotnikov V.K., Bakaldina N.B. Posttranskripcionnaja reguljacija jekspressii genov: izuchenie differencial'nogo raspada mRNK rastenij in vivo i in vitro // Genetika, 1997, t. 33, № 3, S.343-349.

18) Plotnikov V.K. Biohimicheskie priznaki stabil'nosti mRNK v svjazi s reguljaciej sinteza belka v kletkah zlakov i ih ustojchivost'ju k stressam s cel'ju sozdanija novyh metodov selekcii. Avtoref. dis. na soisk. uch. stepeni dokt. biol. nauk. - Krasnodar, 1997. 42 s.

19) Plotnikov V.K., Bakaldina N.B., Novikov B.N., Alekseenko Zh.V. Posttranskripcionnaja reguljacija jekspressii genov rastenij: rjady indeksov stabil'nosti specificheskih mRNK in vivo i in vitro // Genetika, 1998, t.34., № 7, S.869-875.

20) Plotnikov V.K., Bakaldina N.B., Novikov B.N., Alekseenko Zh.V., Bibishev V.A., Polezhaev S.L., Rjadchikov V.G. Posttranskripcionnaja reguljacija jekspressii genov jeukariot: vlijanie stressov na stabil'nost' mRNK in vitro // Genetika, 1998, t. 34, № 9, S. 1205-1211.

21) Plotnikov V.K., Bakaldina N.B., Smetanin D.V. Fotoinducirovannaja moduljacija stabil'nosti mRNK fitohroma A u prorostkov pshenicy i jachmenja // Fiziologija rastenij, 2000, t. 47, № 2, S. 203-209.

22) Plotnikov V.K. Sort ozimoj pshenicy «Krasnodarskaja-39» – istochnik otkrytij v molekuljarnoj biologii rastenij// Sb. nauch. tr. KNIISH, posvjashhjonnyj 100-letiju akademika P.P.Luk'janenko «Pshenica i tritikale», Krasnodar, 2001, s. 611-616.

23) Plotnikov V.K. Genetiko-fiziologicheskaja determinacija raspada mRNK zlakov in vitro//Uspehi sovremennoj biologii, 2003, T. 123, № 1, s. 98-109.

24) Plotnikov V.K., NasonovA.I., Ladatko A.G. Variabel'nost' soderzhanija kationov magnija (Mg++) v RNK prorostkov ozimoj mjagkoj pshenicy //Sbornik statej po materialam konferencii «Aminokislotnoe pitanie zhivotnyh i problema belkovyh resursov», (23 marta, 2004, Krasnodar) Krasnodar, 2005, s.349 - 352.

25) Plotnikov V.K., Nasonov A.I., Kuzembaeva N.A., Bukreeva G.I., Kalenich V.I., Bespalova L.A. Osobennosti molekuljarnoj fiziologii ozimoj mjagkoj pshenicy sorta Bezostaja 1 // Sb. materialov mezhdunarodnoj konferencii «Bezostaja 1 – 50 let triumfa», Krasnodar, 2005, s.212 - 220.

26) Plotnikov V.K., Nasonov A.I., Ivanenko E.E., Kuzembaeva N.A., Bukreeva G.I., Kalenich V.I. Vzaimosvjaz' morozostojkosti ozimoj mjagkoj pshenicy s soderzhaniem kationov magnija v RNK // Izvestija Timirjazevskoj sel'skohozjajstvennoj akademii, Moskva, 2008, Vyp. 2, S. 89-92.

27) Plotnikov V.K. Biologija RNK zernovyh kul'tur, Krasnodar, Izdatel'stvo «Jedvi», 2009, 375 s.

28) Plotnikov V.K., Evtushenko Ja.Ju., Salfetnikov A.A., Repko N.V., Nasonov A.I. Biologicheskie markjory dlja selekcii na morozoustojchivost' ozimyh form mjagkoj pshenicy i jachmenja // Nauchnyj zhurnal KubGau, 2014, № 104, S. 1855-1887.

29) Plotnikov V.K., Repko N.V., Salfetnikov A.A. Ciklichnost' vlijanija aktinomicina D na rost koleoptilej jachmenja // Nauchnyj zhurnal KubGau, 2015, № 107 (03), S. 1352-1371.

30) Puchkov Ju.M., Nabokov G.D., Fomenko N.P. Rol' sorta Bezostaja 1 v povyshenii produktivnosti zimostojkih sortov ozimoj pshenicy v Krasnodarskom NIISH im. P.P.

Luk'janenko // Sb. materialov mezhdunarodnoj konferencii «Bezostaja 1 – 50 let triumfa», Krasnodar, 2005, s.14-30.

31) Romanenko A.A. Bezostaja 1 – triumf nauki i iskusstva // Sb. materialov mezhdunarodnoj konferencii «Bezostaja 1 – 50 let triumfa», Krasnodar, 2005, s.8-13.

32) Rjadchikov V.G., Plotnikov V.K., Polezhaev S.L., Omarov M.O. Molekuljarno-biologicheskie mehanizmy adaptacii beloksintezirujushhej sistemy zhivotnyh k imbalansu aminokislot // Politematicheskij setevoj jelektronnyj nauchnyj zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta , 2013, T. 88 , 2013, № 2, s. 433-472.

33) Rjadchikov V.G., Plotnikov V.K. Jekspressija genov jeukariot pri aminokislotnom imbalanse, 2014, Krasnodar, KubGAU, 375 s.

34) Aviv H., Leder P. Purification of biologically active globin messenger RNA by chromatography on oligothymidilic acid-cellulose // Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 1972. V. 69. P. 1408-1412.

35) Plotnikov V.K., Bakaldina N.B. Differential stability of zein mRNA in developing corn kernel // Plant Molecular Biology, 1996, V.31., P.507-515.

36) Spirin A.S. Eukaryotic messenger RNA and informosomes. *Omnia mea mecum porto* // FEBS Lett. 1978. V. 88. P. 15-17.