

УДК 633.1

06.01.05 Селекция и семеноводство
сельскохозяйственных растений
(сельскохозяйственные науки)

**МОЛЕКУЛЯРНАЯ ФИЗИОЛОГИЯ ЗЕРНОВЫХ
КУЛЬТУР КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ**

Плотников Владимир Константинович
докт. биол. наук, доцент
SPIN-код РИНЦ: 3971-2200 ID: 3971-2200
vkpbio21@mail.ru
*Кубанский государственный аграрный
университет, РФ, 350044, Краснодар, Калинин, 13*

Насонов Андрей Иванович
канд. биол. наук
SPIN-код РИНЦ: 5636-6106, ID:134032
nasoan@mail.ru
*ФГБНУ Северо-кавказский федеральный научный
центр садоводства, виноградарства, виноделия,
Россия*

Салфетников Анатолий Алексеевич
докт. с.-х. наук, профессор
SPIN-код РИНЦ: 9655-3687 ID: 9677-3687
Salfetnikov39@mail.ru
*Кубанский государственный аграрный
университет, РФ, 350044, Краснодар, Калинин, 13*

Работа представляет анализ пионерских для России результатов, полученных при исследовании молекулярной физиологии зерновых культур — созревающего зерна кукурузы линии Wisconsin 64A обычной и её высоколизинового мутанта по регуляторному гену opaque-2, проростков озимых сортов пшеницы и ячменя, полученных селекционерами Краснодарского НИИ имени П.П. Лукьяненко, на уровне стабильности мРНК (время её полужизни), степени её полиаденилирования с 3'-конца и трансляционной активности полирибосом в бесклеточной системе синтеза белка *in vitro*. Показано, что тепловой шок (около 40°C) вызывает распад полирибосом и мРНК запасных белков зеринов в зерне кукурузы в первые часы его действия. Предварительная блокада транскрипции актиномицином Д предотвращала действие теплового шока. Закаливающая температура (4°C) сортоспецифически усиливала трансляционную активность полирибосом из зелёных 4-х сутокных проростков пшеницы и ячменя. При этом у мРНК проростков высокоморозоустойчивых сортов пшеницы наблюдалось сортоспецифическое соответствующее увеличение степени полиаденилирования, как усилителя трансляции. Предполагается, что усиление трансляционной активности сортов ячменя и слабозимозоустойчивых сортов пшеницы

UDC 633.1

06.01.05 Breeding and seed production of agricultural plants (agricultural sciences)

**MOLECULAR PHYSIOLOGY OF GRAIN
CROPS IN THE KRASNODAR REGION**

Plotnikov Vladimir Konstantinovich
Doctor of Sciences in Biology,
Associate Professor
RSCI SPIN-code: 3971-2200 ID: 3971-2200
vkpbio21@mail.ru
*Kuban State Agrarian University, 13, Kalinina,
Krasnodar, 350044, Russia*

Nasonov Andrei Ivanovich
Cand. Biol. Sci.
RSCI SPIN-code: 5636-6106, ID: 134032
nasoan@mail.ru
*FSBSI North Caucasian Research Institute of
horticulture, viticulture, winemaking, Russia*

Salfetnikov Anatoliy Alexeevich
Professor, Doctor of Sciences in Agriculture
RSCI SPIN-code: 9655-3687 ID: 9677-3687
Salfetnikov39@mail.ru
*Kuban State Agrarian University, 13, Kalinina,
Krasnodar, 350044, Russia*

The review article is devoted to the analysis of pioneer results obtained in Russia in the study of molecular physiology of grain crops - ripening corn of Wisconsin 64A ordinary line and its highly lysine mutant by the opaque-2 regulatory gene, seedlings of winter wheat and winter barley varieties bred in the Krasnodar Research Institute of Agriculture, on the level of mRNA stability (time of half-life), the degree of its polyadenylation from the 3'-end and the translation activity of polyribosomes in a cell-free system of protein synthesis *in vitro*. It was shown that heat shock (about 40°C) causes disintegration of polyribosomes and mRNA of zein spare proteins in maize grain during the first hours of its action. But preliminary blockade of transcription by actinomycin D prevented the effect of heat shock. Quenching temperature (4°C) varieties specifically enhanced the translation activity of polyribosomes from green 4-day-old wheat and barley seedlings. The mRNA of highly frost-resistant wheat seedlings exhibited varieties specific corresponding enhancement of its polyadenylation degree as an enhancer (amplifier) of translation. It is supposed that translation activity of barley and weakly frost-resistant wheat cultivars is intensified due to elevated ribosome activity resulting from relatively high content of magnesium cations (Mg⁺⁺) in rRNA. The variability of stability and polyadenylation of total mRNA and several protein-

происходит за счёт повышенной активности рибосом вследствие повышенного содержания ионов магния (Mg^{++}) в рРНК. Показана переменность стабильности и полиаденилирования суммарной мРНК и ряда ген-специфических мРНК под влиянием освещения и биологически активных веществ. Предложены простые лабораторные методы оценки морозоустойчивости пшеницы и ячменя. Представлены перспективы развития лабораторных молекулярно-физиологических методов оценки эффекта взаимодействия «генотип-среда»

Ключевые слова: МОЛЕКУЛЯРНАЯ ФИЗИОЛОГИЯ, КУКУРУЗА, ТЕПЛОВОЙ ШОК ПШЕНИЦА, ЯЧМЕНЬ, МОРОЗОУСТОЙЧИВОСТЬ, МАРКЕРЫ

coding RNAs under the influence of light and biologically active substances was shown. Simple laboratory methods for evaluation of wheat and barley frost resistance have been proposed. The article presents prospects for the development of laboratory molecular-physiological methods for evaluating the effect of "genotype-environment" interaction

Keywords: MOLECULAR PHYSIOLOGY, MAIZE, HEAT SHOCK, WHEAT, BARLEY, FROST RESISTANCE, MARKERS

<http://dx.doi.org/10.21515/1990-4665-178-013>

Введение

Развитие методов генной инженерии в конце XX века привело к формированию молекулярной генетики и молекулярной физиологии. При переходе на молекулярный уровень особую актуальность приобретают слова Николая Ивановича Вавилова (1887-1943): «Генетика – наука физиологическая» [20].

Молекулярная физиология — это область фундаментальных знаний, вобравшая в себя как классическую физиологию, так и молекулярную биологию, биохимию, биофизику и биоинформатику. Полученные в этом направлении знания ведут к принципиально новым перспективным технологиям, включая нанотехнологии.

Есть основания полагать, что начало молекулярной физиологии было положено работами великого русского физиолога Ивана Михайловича Сеченова (1829-1905). Он первым сформулировал постулаты о связи жизнедеятельности клетки с внешней средой и рассматривал все физиологические процессы через призму физико-химических и молекулярных идей [32].

<http://ej.kubagro.ru/2022/04/pdf/13.pdf>

В середине XX века советский физиолог Дмитрий Анатольевич Сабинин (1889-1951) отверг представление о том, что протоплазма клетки имеет постоянную застывшую субмикроскопическую структуру, и показал, что эта структура зависит от изменений в окружающей среде. Особый интерес представляют его передовые идеи, устанавливающие значение рибонуклеиновых кислот и нуклеопротеидов в развитии и росте растений. Это направление исканий Д. А. Сабинина, возникшее ещё до открытия биологической роли ДНК и РНК, во многом уже тогда связывало физиологию растений с генетикой [33].

Настоящая статья посвящена становлению и развитию молекулярной физиологии зерновых культур в России на основе результатов исследований лаборатории молекулярной биологии Краснодарского НИИ сельского хозяйства имени П.П. Лукьяненко (КНИИСХ), в которой были проведены работы по исследованию белоксинтезирующего аппарата (полирибосомы, мРНК, катионы магния) созревающего зерна обычной кукурузы и мутантной формы ораце- 2 с высоким содержанием лизина, проростков озимых форм мягкой пшеницы и ячменя при различных условиях и воздействиях (тепловой шок, биологически активные вещества, закалывающая температура и световой режим).

Стабильность мРНК как основа молекулярной физиологии растений

Среди известных многочисленных и многообразных возможностей регуляции экспрессии генов, а, следовательно, формирования особенностей метаболизма в соответствии с условиями внешней среды наиболее перспективным направлением в молекулярной физиологии представляются исследования стабильности мРНК, зависящей с одной стороны от кодирующего её гена, а с другой от условий окружающей среды.

У высших эукариот большинство кодирующих белок матричных РНК трансформируются по 3'-концу путём множественного ферментативного добавления остатков аденина. Соответствующий этап созревания молекулы получил название полиаденилирования. Концевая полиадениловая последовательность мРНК обеспечивает поддержание её стабильности, повышение эффективности трансляции, а также участвует в транспорте информационной молекулы из ядра в цитоплазму. В значительной мере это детерминируется вариабельностью степени полиаденилирования 3'-конца большинства молекул мРНК эукариот, определяющей закономерности взаимодействия «генотип-среда», так как именно длина поли-А-конца определяется генотипом, но может изменяться в ответ на варьирование условий окружающей среды. Таким образом, уровень полиаденилирования информационной молекулы находится в прямой зависимости от её стабильности (времени полужизни) и способности инициировать синтез белка на полирибосомах (энхансер трансляции). В процессе трансляции поли-А-хвост укорачивается и, когда от поли-А-фрагмента остаётся всего 50 нуклеотидов, мРНК подвергается деградации. Время жизни отдельных мРНК существенно варьируют и может изменяться у эукариот в диапазоне от нескольких минут до недель. В свою очередь стабильность конкретных ген-специфических мРНК изменяется в ходе роста и развития растения и его взаимодействия с окружающей средой [1, 10, 11, 13-17, 41, 48].

Среди известных на сегодняшний день молекулярных механизмов и структур, определяющих стабильность мРНК, вариации в длине её поли-А-хвоста являются наиболее функциональными. Сейчас известно ряд методов оценки длины этого поли-А-сегмента. Все они имеют свои достоинства и недостатки [41]. Нами был разработан собственный метод, основанный на особенностях физико-химических различий в устойчивости поли-А-последовательности и предшествующей ей в молекуле мРНК

олиго-У-последовательности к кратковременному щелочному гидролизу с последующей оценкой длины поли-А-хвоста по гиперхромному эффекту в условиях 50% этилового спирта. Этот метод позволил получить чёткие результаты по изменению поли-А-хвоста мРНК под влиянием закаливающей температуры у проростков сортов озимой пшеницы, различающихся по морозоустойчивости [35].

Таким образом, изменение стабильности мРНК можно рассматривать как центральный объект исследований в молекулярной физиологии. Методические работы в этом направлении были начаты в КНИИСХ на созревающем зерне кукурузы во второй половине 70-х годов XX столетия. Это было продиктовано необходимостью понять действия мутации регуляторного гена *opaque-2*, определяющей повышенный уровень содержания незаменимой аминокислоты – лизина. С этой мутацией академик ВАСХНИЛ Михаил Иванович Хаджинов (1899-1980) связывал надежды на кардинальное улучшение кормовой базы животноводства в СССР.

В частности, в ходе этих работ был использован метод термального ступенчатого элюирования мРНК на колонке поли-У-сефарозы, предложенный в 1978-1979 гг. в научной литературе для оценки длины поли-А-хвоста мРНК эукариот. Суть метода состоит в том, что полиаденилированная мРНК элюируется с колонки сначала при 25°C, а затем при 50°C, что позволяет относительно просто установить соотношение соответственно мРНК с относительно короткими хвостами и относительно длинными. Этот метод позволил установить, что мРНК из созревающего зерна высоколизинового мутанта кукурузы *opaque-2* обогащена мРНК с относительно короткими поли-А-хвостами по сравнению с мРНК из зерна кукурузы дикого типа [16, 17, 20].

Сравнительное изучение трансляционной активности полирибосом созревающего зерна сравниваемых форм кукурузы в бесклеточной системе

синтеза белка (*in vitro*) показало, что мутант действительно отличается пониженной трансляционной активностью полирибосом, соответственно относительно низкой степени полиаденилирования мРНК [9].

В дальнейшем этот метод успешно был применён для изучения влияния факторов окружающей среды на степень полиаденилирования мРНК проростков пшеницы и ячменя [1, 15, 20]. Информативность метода возрастала при комбинации его с обработкой растений циклогексимидом *in vivo* или целитом *in vitro* [29].

По сути, это была молекулярно-генетическая работа [22]. Но в ходе исследований появилась рабочая гипотеза о том, что изменение в зерне состава белков и аминокислот определяется повышенным уровнем активности фермента рибонуклеазы (РНК-азы) в мутантном эндосперме. Ряд экспериментальных данных свидетельствовали в пользу этой гипотезы [20].

Изучение научной литературы показало, что повышенный уровень РНК-азы имеет место в клетках растений как неспецифический ответ на различные виды стрессовых воздействий. Так возникло положение о сходстве «высоколизинового» и «адаптационного» синдромов [20]. Предполагалось, что уничтожение короткоживущих мРНК, среди которых были и регуляторные, определяющие снижение стабильности других мРНК, в условиях повышенного уровня активности РНК-азы приводит к стабилизации умеренно и долгоживущих мРНК растительной клетки и перестройки метаболизма в адаптационном плане, т. е. активировались молекулярные механизмы неспецифической устойчивости растений к стрессам. Это и определило начало молекулярно-физиологических исследований в КНИИСХ.

Тепловой шок

Тепловой шок (ТШ) в 80-е годы XX века являлся наиболее изученным стрессирующим фактором, который приводит к дестабилизации ряда мРНК в тканях растений и в то же время стабилизирует специфические мРНК белков ТШ. Причины стабилизации одних и дестабилизации других мало изучены [38].

С точки зрения исследований неспецифического адаптационного синдрома, несомненно, представлял интерес молекулярный механизм действия ТШ, так как рядом исследователей было показано, что ТШ вызывает закаливающий эффект как к последующему воздействию высокой температуры, так и к действию других стрессирующих факторов [20].

Созревающий початок кукурузы для исследований является объектом как сложным в связи со своей кратковременности доступа для исследователя, так и очень перспективным. Введение в ножку и основание созревающего початка (чаще всего на 20-й или 30-й день после опыления) радиоактивно меченых аминокислот и нуклеотидов приводило к их эффективному встраиванию их - соответственно в белки и нуклеиновые кислоты созревающего зерна. Также эффективно «принимал» початок и различные ингибиторы синтеза белка и нуклеиновых кислот, а также ингибиторы РНКаз: гепарин, смесь нуклеотидов и соли. Для остановки транскрипции генома использовали актиномицин Д. Для блокады синтеза белка применяли циклогексимид и аналог аминокислоты аргинина – канаванин [20]. Весь этот набор методов ингибиторного анализа использовался для изучения молекулярных основ влияния мутации *opaque-2* [22].

Когда же актиномицин Д был применён при изучении влияния теплового шока (40°C) на созревающее зерно кукурузы, выяснилось, что в первые часы теплового шока происходил распад как свободных, так и

связанных с мембранами полирибосом. Но, если до теплового шока в початок был введён ингибитор транскрипции актиномицин Д, дезинтеграции комплексов рибосом под действием теплового шока не происходило. Это свидетельствовало о том, что деградация полисом определяется не непосредственно физическим фактором (температурой), а ТШ включает некий генетически предопределённый молекулярный механизм разрушения полирибосом [9]. Этот феномен в дальнейшем был подтверждён при исследовании мРНК запасного белка зерна кукурузы – зеина, т.е. распад полирибосом был следствием дезинтеграции мРНК. Аналогичные наблюдения описаны в научной литературе и на других организмах [10].

Эти исследования были первыми работами в СССР по молекулярной физиологии созревающего зерна.

Специфика развития морозоустойчивости озимых форм культурных злаков

Наиболее актуальными проблемами для практики являются исследования молекулярных механизмов морозоустойчивости озимых сортов мягкой пшеницы и ячменя. Поэтому в дальнейшем объектом исследования стали полирибосомы и мРНК из проростков этих культур в условиях закаливающей температуры (4°C) [1, 12, 17].

Большинство стрессовых факторов внешней среды в закаливающей области определяют усиление мощности белоксинтезирующего аппарата клетки, что можно наблюдать при повышении трансляционной активности полирибосом *in vitro* в условиях бесклеточной белоксинтезирующей системы [6, 20]. Так как стойкость сельскохозяйственных культур к стрессорам зависит от скорости разворачивания адаптационных процессов в закаливающей области стресса, представляется, что феномен увеличения

трансляционной активности полирибосом может быть центральным компонентом неспецифической устойчивости.

Было показано, что в закалывающей зоне стресса увеличение трансляционной активности полирибосом проростков озимой мягкой пшеницы и озимого ячменя в бесклеточной системе синтеза белка происходит сортоспецифично: чем выше прирост трансляционной активности, тем выше морозоустойчивость сорта [6, 20]. Но у пшеницы это коррелирует с удлинением терминальной поли-А-последовательности мРНК, как усилителя трансляции [1, 25], а у ячменя, по-видимому, связано с высоким содержанием катионов магния (Mg^{++}) в рРНК рибосом [30].

К началу 90-х годов XX века накопилось большое количество экспериментальных данных, говорящих о том, что трансляционная активность полирибосом определяется степенью полиаденилирования мРНК, а, следовательно, степенью её стабильности [40, 47]. Так синтез белка полифенилаланина на полиуридиловой матрице на рибосомах зародышей пшеницы в условиях *in vitro* был тем активнее, чем выше было содержание магния в рРНК. Для этого использовали конкурентные отношения двухвалентных катионов магния (Mg^{++}) и поливалентных катионов полиаминов – спермин ($NH_2(CH_2)_3NH(CH_2)_4NH_2$) и спермидин ($NH_2(CH_2)_3NH(CH_2)_4NH(CH_2)_3NH_2$), которые также содержатся в составе рибосом и играют важную роль в процессах биосинтеза белка и роста. Постепенно вытесняя катионы магния из состава рРНК полиаминами, исследователи выяснили, что степень синтеза белка в бесклеточной системе прямо пропорциональна содержанию магния в рРНК [49].

Зерно шедевра селекции пшеницы, долгожителя на полях разных стран, среднеморозоустойчивого сорта Безостая 1 превосходит по содержанию катионов магния высокоморозоустойчивые сорта [25], т. е. морозоустойчивость сорта Безостая 1 реализуется по молекулярному механизму, характерному больше для формирования морозоустойчивости

озимого ячменя. Это позволяет предполагать, что только для высоморозоустойчивых сортов озимой мягкой пшеницы характерен молекулярный механизм морозоустойчивости, основанный на изменении полиаденилирования мРНК. Для сортов озимой пшеницы уровня морозоустойчивости Безостая 1 и ниже, возможно, характерен молекулярный механизм «ячменного» типа, т.е. усиление синтеза белка в стрессовых условиях среды по причине более высокого содержания катионов магния в рРНК.

Этим исследованиям поспособствовало открытие в лаборатории сходства магний-опосредованного распада мРНК *in vivo*, при блокировании процесса транскрипции актиномицином Д, и *in vitro*, при инкубировании препаратов РНК [1, 17, 20].

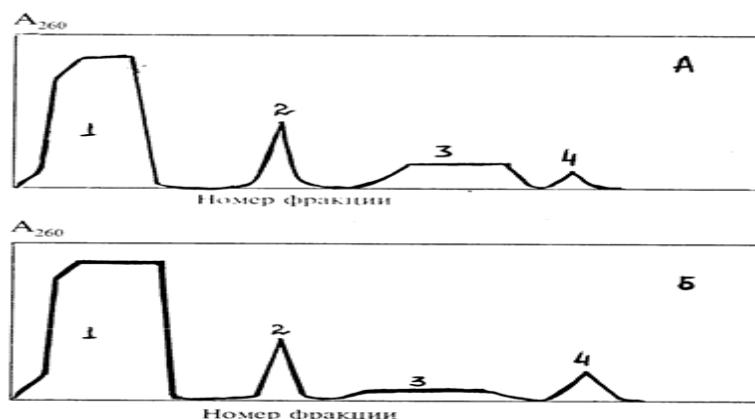
Для этого метода оценки относительной стабильности мРНК было предложено название *оттп*-система, в основу которого положена латинская максима «*omnia tua tecum porto*», что переводится как «все свое ношу с собой» [20].

В основе функционирования этого метода лежит постулат о принципиальном сходстве механизмов высокоспецифического и неспецифического, катализируемого ионами двухвалентных металлов, гидролиза РНК, аналогичного щелочной и кислотной деструкции РНК [19].

В процессе получения полиаденилированных мРНК из проростков пшеницы, ячменя и созревающего зерна кукурузы были зафиксированы повторяющиеся изменения относительного выхода поли-(А)⁺⁺ фракции мРНК от количества поли-(А)⁺ фракции мРНК, отражавшие как генотип, так и физиологический статус растения. Этот показатель получил название индекса стабильности мРНК (ИС мРНК), (рис. 1).

Впоследствии для нескольких специфических мРНК было выявлено сходство между деградацией мРНК *in vivo* (при воздействии актиномицина Д на транскрипцию) и *in vitro* (в процессе инкубирования препаратов РНК)

на тех же объектах злаковых культур [17, 20]. Эти предпосылки открыли путь для разработки молекулярно-кинетических маркёров, позволяющих количественно оценивать эффекты системы «генотип-среда», то есть, норму реакции организма, варьирование которой является главной целью селекции.



Примечание: А – проростки пшеницы при 20°C; кукуруза линии W64A+/+;
 Б – проростки пшеницы при 4°C; кукуруза линии W64Ao₂/o₂;
 1 - рРНК; 2 – поли-(А)⁺мРНК; 3 - рРНК и продукты деградации мРНК; 4 – поли-(А)⁺⁺мРНК; A₂₆₀ - поглощение при 260 нм.

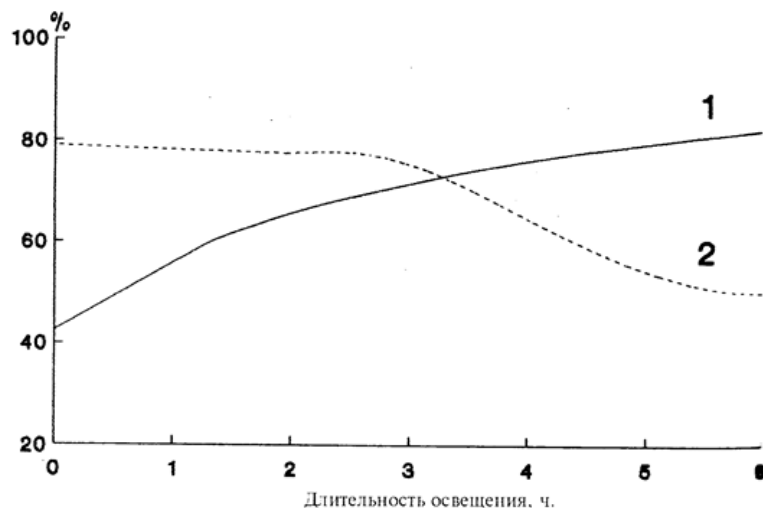
Рис. 1 – Схема аффинной хроматографии магнийсодержащей РНК из проростков озимой мягкой пшеницы сорта Краснодарская 39 и созревающего зерна двух линий кукурузы W64A [21]

Можно предположить, что магний-опосредованный распад мРНК в системе отпр связан со взаимодействием её молекул и полиаденилированных интерферирующих РНК (RNAi) [30].

С использованием этого метода были получены важные результаты по влиянию температуры [1, 20], освещения [18] и биологически активных веществ [1, 8] на стабильность мРНК проростков пшеницы и ячменя.

Метод позволил провести сравнительные исследования изменения стабильности мРНК под влиянием освещения у ряда сортов озимой пшеницы и озимого ячменя и показал различную реакцию на свет озимых и яровых сортов пшеницы, а также различных сортов озимого ячменя [12, 13, 20].

На рисунке 2 можно видеть изменение доли поли(А)⁺⁺ фракции мРНК из этиолированных и зелёных проростков озимой пшеницы сорта Краснодарская 39. Освещение этиолированных проростков вызвало снижение, а затемнение зелёных проростков – увеличение выхода второй фракции полиаденилированной мРНК.



Примечание: 1 – затемнение зелёных проростков;
2 – освещение этиолированных проростков

Рис. 2 – Изменение выхода поли(А)⁺⁺ фракции мРНК из четырехсуточных проростков пшеницы сорта Краснодарская 39 в зависимости от условий освещения, % от поли(А)⁺ фракции мРНК [20]

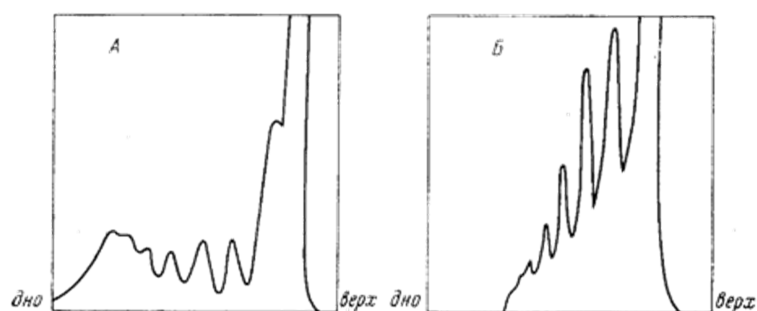
При этом, интенсивность роста проростков в темноте была выше, чем при освещении. Следовательно, как и в ряде других случаев, здесь наблюдалась прямо пропорциональная зависимость между интенсивностью роста и стабильностью суммарной мРНК.

Некоторые методические аспекты

Трис(гидроксиметил)метиламин как ингибитор активности РНКаз. Спустя годы после публикации вышеприведённых результатов исследований в журналах «Plant Molecular Biology» [48], «Генетика» [13-15], «Физиология растений» [2, 16, 34], обзорной статьи в журнале «Успехи современной биологии» [17], патента на способ оценки физиологического

состояния растений [12] некоторые оппоненты стали высказывать суждения о том, что в описываемых нами методических условиях невозможно выделить нативный препарат РНК. Это объяснялось, по-видимому, тем, что многие исследователи к настоящему времени уже выделяли РНК только в присутствии реагента Тризол, действующим веществом которого был изотиоцианат натрия – мощнейший ингибитор активности рибонуклеаз (РНК-аз). При этом мало кто уже помнит, что химическое соединение Трис – (трис(гидроксиметил)метиламин), который присутствовал в нашем экстрагирующем трис-НСl-буфере (рН 8,5-9,0) в высокой концентрации (0,2 М), тоже эффективно подавляет активность этих ферментов. Впервые это было показано исследователями из США в первой половине семидесятых годов XX века [37, 43, 44].

По данным лаборатории молекулярной биологии КНИИСХ, при фракционировании полирибосом созревающего зерна кукурузы ультрацентрифугированием в градиенте плотности сахарозы, тяжёлые полирибосомы исчезали при концентрации триса 0,05М, но вполне сохранялись при концентрации 0,2 М (рис. 3).



Примечания: А - экстрагирующий буфер А (основа: 200 мМ трис-НСl, рН 8,5 - подавляющая активность РНКаз); Б - экстрагирующий буфер Б (основа: 50 мМ трис НСl, рН 8,5 - активность РНКаз приводит к исчезновению тяжёлых полирибосом)

Рис. 3 – Седиментационный анализ полирибосом созревающего зерна кукурузы (на двадцатые сутки после опыления) в градиенте концентрации сахарозы при разных составах экстрагирующего буфера [20, 21]

В этом аспекте в лаборатории были проведены относительно широкие исследования влияния концентрации триса (0,05M; 0,2M; 0,5M) на электрофоретические профили долгоживущей рибосомной РНК зрелого зерна озимого ячменя.

Исследования экспрессии генов с использованием таких методов, как ОТ-ПЦР, количественная ОТ-ПЦР и микрочипы, в настоящее время широко проводятся во многих областях молекулярной физиологии. Важной предпосылкой для этих исследований является успешное выделение РНК, которое обычно осложняется ее высокой лабильностью, вызванной присутствием рибонуклеаз (РНКаз) в образце, а также в окружающей среде.

По этой причине деградация РНК может быть серьезной проблемой, и, таким образом, целостность извлеченной РНК обычно определяют перед ее применением в упомянутых выше исследованиях. Гель-электрофорез и визуализация главных полос РНК (рРНК) является наиболее распространенным методом оценки целостности экстрагированной РНК. В частности, анализируются большие рРНК, обозначенные у растений как 18S и 25S. Высококачественный образец обычно определяется как имеющий четкие электрофоретические полосы для обоих этих крупных видов рРНК. Хотя целостность рРНК не обязательно может быть точной мерой качества мРНК [46], но она, безусловно, полезна как легкодоступный индикатор общего состояния очищенной РНК. В наших исследованиях концентрация 0,2 М трис была оптимальной. На рисунках 4 и 5 хорошо видно, что при концентрации триса 0,05 М высокомолекулярная 25S рРНК отсутствует полностью и на профиле только один пик, соответствующей примерно положению 18S рРНК. Концентрация 0,2М трис сохраняла в целостности оба компонента рРНК (рис. 4, 5). В дальнейшем для выделения РНК экстрагирующий буфер с

содержанием трис в концентрации 0,2М успешно применили и к другим растительным объектам [46].

Долгоживущая РНК зрелых семян. Косвенные исследования долгоживущей мРНК проводили при помощи проращивание семян на растворе ингибитора транскрипции актиномицина Д с последующим изучением роста корней и coleoptилей.

При этом было отмечено неожиданное действие актиномицина Д: при концентрации 20 мкг/мл он не только не останавливал удлинение coleoptилей пшеницы (тоже могло касаться корней), но даже стимулировал [20]. Такой же эффект, но при концентрации антибиотика в два раза выше, наблюдался у coleoptилей ячменя [24].

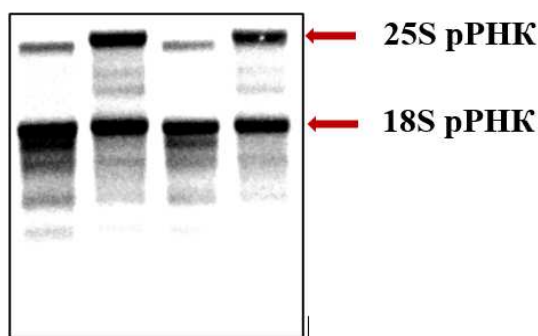
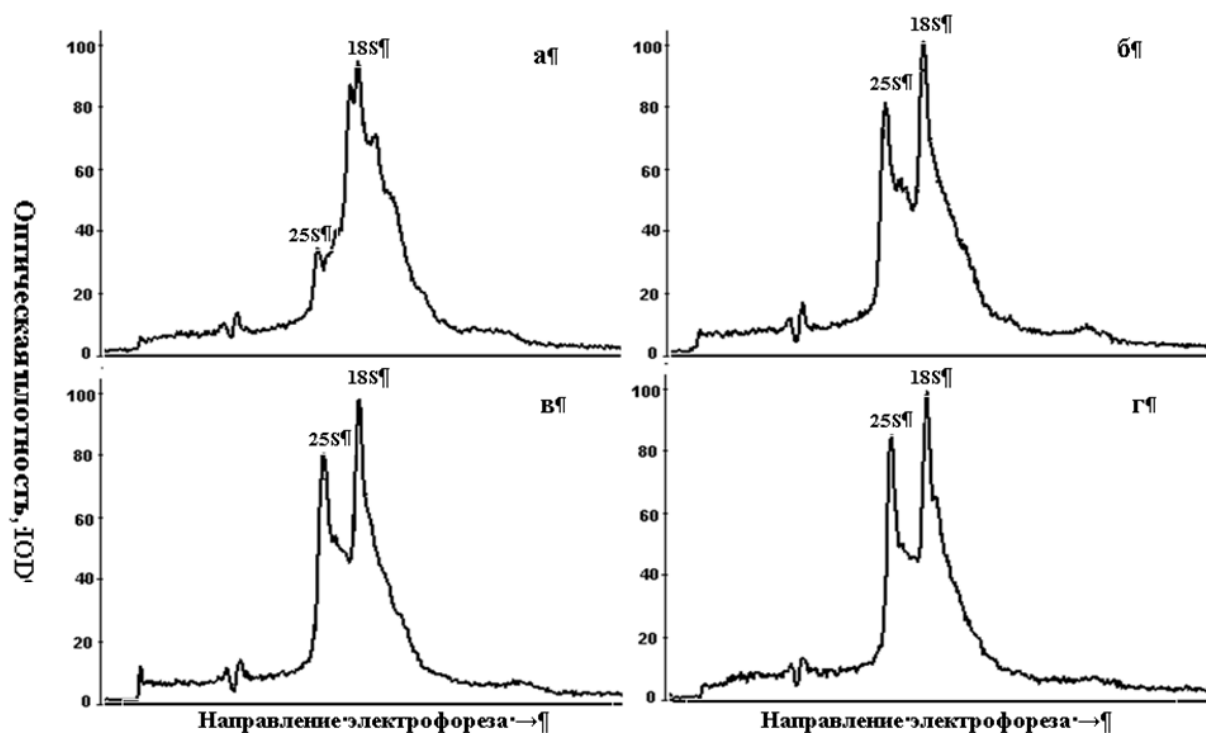


Рис. 4 – Электрофорез в агарозном геле долгоживущей рибосомной РНК зрелого зерна озимого ячменя при разных составах экстрагирующего буфера (см. рис. 5)



Примечание: а - 50 мМ трис HCl, активность РНКаз приводит к исчезновению 25S рРНК; б - 200 мМ трис-HCl, подавление активности РНКаз; в и г — 300 и 500 мМ трис, соответственно; рН экстрагирующего буфера во всех вариантах 8,5.

Рис. 5. Электрофоретический профиль рибосомной РНК зрелого зерна озимого ячменя при различной концентрации компонента трис экстрагирующего буфера

Предполагается, что при этих концентрациях актиномицина Д распадается мРНК неких ингибиторов роста. Этот эффект любопытен с позиции сочетания регуляции экспрессии генов и регуляции роста растений, с которым связаны все основные биологические особенности растения: стрессоустойчивость, фотопериодичность и др.

Биологические эффекты наночастиц золота на службе физиологии растений. Достижения нанотехнологий [19] были успешно применены для оценки количества ген-специфических мРНК [45], получив предварительные, но вполне перспективные результаты [2].

В дальнейшем внимание привлекли исследования влияния наночастиц металлов и их оксидов на физиологию культурных растений [5, 36]. Проблема поиска адаптогенов, способных увеличивать

стрессоустойчивость растений, является одной из важнейших в молекулярной физиологии, применительно к сельскому хозяйству. Возрастающий интерес к действию наночастиц на живые организмы открыли большие перспективы для использования наноматериалов в этом направлении. Золотые наночастицы (ЗНЧ) обладают уникальными физическими, оптическими и химическими свойствами, благодаря которым легко проникают в растительный организм и перемещаются внутри него, накапливаясь в клетках и тканях. Известно также, что ЗНЧ усиливают водный обмен, интенсивность фотосинтеза и скорость электронного транспорта, увеличивают содержание фотосинтетических пигментов и активность антиоксидантных ферментов, а также влияют на экспрессию генов, ответственных за рост и развитие растений [3].

В ходе подобных работ было показано, что ЗНЧ в низких концентрациях стимулируют прорастание семян и ростовые процессы озимого ячменя [27]. Развитие этих исследований показало, что обработка семян озимой пшеницы наночастицами золота увеличивает устойчивость проростков к низкой температуре [4]. Вместе с тем, наночастицы окиси магния (MgO) увеличивают количество и длину (биомассу) корней пшеницы; а также поднимают урожайность зерна максимально на 63% [5].

Таким образом, наночастицы металлов могут рассматриваться в качестве перспективных новых адаптогенов, эффективность и молекулярные механизмы действия которых требуют дальнейшего изучения.

Заключение

Основным результатом селекции является изменение нормы реакции организма на факторы окружающей среды. Представленные в настоящей статье данные свидетельствуют о том, что исследование молекулярно-физиологических закономерностей формирования эффекта взаимодействия "генотип-среда" наиболее целесообразно на основе изучения центрального

и самого лабильного компонента посттранскрипционной регуляции экспрессии генов - дифференциальной стабильности мРНК различных генов растений и её вариабельности в зависимости от условий окружающей среды по оценке изменения поли-А-хвоста мРНК или с использованием системы *omtp*, позволяющей относительно просто *in vitro* оценивать время полужизни мРНК и амплитуду её изменчивости.

Эти исследования привели к ряду простых практических выводов:

а) Выяснилось, что степень морозоустойчивости озимой пшеницы определяется содержанием долгоживущих нуклеиновых кислот в зрелом зерне – чем выше содержание, тем выше морозоустойчивость. Такая же закономерность характерна для риса и зимующего гороха [20]. Вероятно, это связано со степенью полиплоидизации запасающей ткани зерна, как это наблюдается у семядолей яблони [7].

б) Озимый ячмень отличается от озимой пшеницы по молекулярно-физиологическому механизму морозоустойчивости. Степень его морозоустойчивости может быть определена по оценке гигроскопичности зерна [21], предварительно обработанного раствором KNO_3 , $ZnSO_4$ или гиббереловой кислотой для стимуляции сортоспецифического синтеза растворимого крахмала (бета-глюканов) [31].

Дальнейшие исследования стабильности мРНК зерновых культур как центрального звена их молекулярной физиологии должны быть направлены на формирование молекулярно-кинетических маркёров, позволяющих в лабораторных условиях и в относительно простых экспериментах оценивать характер и амплитуду эффекта взаимодействия «генотип-среда» [1,12, 17, 20].

Использованные источники

1) 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.

2) Богатырев В.А., Дыкман Л.А., Краснов Я.М., Плотников В.К., Хлебцов Н.Г. Метод дифференциальной спектроскопии рассеянного света для исследования биоспецифических реакций в системах конъюгатов золотых наночастиц с белками или олигонуклеотидами // Коллоидный журнал, 2002, т. 64, № 6, с. 745-755.

3) Венжик Ю. В., Мошков И. Е., Дыкман Л. А. Наночастицы в физиологии растений: основные эффекты и перспективы использования // Физиология растений, 2021, т. 68, № 3, с. 245–257.

4) Венжик Ю. В., Дерябин А. Н., Попов В. Н., Дыкман Л. А., Титов А. Ф., Мошков И. Е. Влияние наночастиц золота на устойчивость пшеницы к низкой температуре // Доклады РАН, 2022, т. 502, с. 10–14.

5) Дыкман Л.А., Богатырёв В.А., Соколов О.И., Плотников В.К., Репко Н.В., Салфетников А.А. Взаимодействие наночастиц золота, серебра и магния с растительными объектами // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета, 2016, № 120, с. 675-705.

6) 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.

7) Мишко А.Е., Плотников В.К., Ненько Н. И., Ульяновская Е.В. Сравнительный анализ физиолого-биохимических показателей сортов яблони разной плоидности // Плодоводство и виноградарство юга России, 2021 № 67 (1), с. 151-161.

8) Ненько Н.И., Плотников В.К., Кузембаева Н.А., Гаража В.Н., Суркова Е.В., Насонов А.И., Поспелова Ю.С., Малюга Н.Г. Влияние препарата фурулан на физиолого-биохимические характеристики созревающего зерна озимой пшеницы // Прикладная биохимия и микробиология, 2007, № 6, с. 715-721.

9) Плотников В.К., Киль В.И., Бибишев В.А., Новиков Б.Н. Влияние теплового шока на белоксинтезирующий аппарат зерна обычной и opak-2 кукурузы // Физиология растений, 1990, т. 37, вып. 2, с. 302-307.

10) Плотников В.К., Бакалдина Н.Б., Ефимов В.А. Стабильность мРНК зеина кукурузы в условиях нормальной и высокой температур // Физиология растений, 1991, т. 38, вып. 5, с. 981-990.

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

12) Плотников В.К., Бакалдина Н.Б., Бибишев В.А. Патент на изобретение RU 2084133 С1, 20.07.1997. «Способ диагностики физиологического состояния зерновых культур» от 20 июля 1997. Заявка № 93032022/13 от 17.06.1993.

13) 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.

14) 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.

15) 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.

16) 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.

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

18) 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, № 2, с. 89-92.

19) Плотников В.К. Нанобиотехнологические методы исследования нуклеиновых кислот и перспективы их практического применения // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии, Москва, 2009, № 4, с. 58-70.

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

21) Плотников В.К., Евтушенко Я.Ю., Серкин Н.В. Сравнительный анализ морозоустойчивости сортов озимого ячменя по результатам промораживания и по гигроскопичности зрелого зерна // Физиология растений, 2012, т. 59, № 2, с. 316-319.

22) Плотников В.К., Рядчиков В.Г. Биохимическое действие мутации регуляторного гена *opaque-2* в зерне высоколизиновой кукурузы: 50 лет исследований // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета, 2014, №98 (4), с. 213-219.

23) 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 // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета, 2014, № 104, с. 1855-1887.

24) Плотников В.К., Репко Н.В., Салфетников А.А. Цикличность влияния актиномицина Д на рост колеоптилей ячменя // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета, 2015, № 107 (03), с. 1352-1371.

25) Плотников В.К., Салфетников А.А. 60 лет в строю: особенности молекулярной биологии озимой мягкой пшеницы сорта Безостая 1 // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета, 2016, № 118, с. 627-657.

26) Плотников В.К., Смирнова Е.В., Репко Н.В., Салфетников А.А. Сортоспецифичность действия трилона Б на прорастания семян озимого ячменя // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета, 2016, № 120, с. 706-729.

27) Плотников В.К., Салфетников А.А., Голубев А.А., Дыкман Л.А. Влияние наночастиц золота на прорастание семян озимого ячменя // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета, 2017, № 127 (03), с. 295-307.

28) Плотников В.К., Салфетников А.А. Концепция «Мир РНК»: теория и практика // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета, 2017, № 128 (04), с. 741-771.

29) Плотников В.К., Яблонская Е.К., Салфетников А.А., Ненько Н.И. Стабилизация мРНК злаков *in vitro* под влиянием кремния // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета, 2017, № 132 (08), с. 741-771.

30) Плотников В.К., Салфетников А.А., Насонов А.И., Ненько Н.И. Молекулярные маркёры эффекта взаимодействия «генотип-среда» у растений на основе закономерностей распада мРНК *in vivo* (РНК-интерференция) и *in vitro* (ommp-система) // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета, 2018, № 141 (07), с. 41-64.

31) Плотников В.К. Салфетников А.А., Ненько Н.И. Гигроскопичность зрелого зерна как маркер морозоустойчивости озимого ячменя и подсолнечника // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета, 2019, № 145 (01), с. 7-30.

32) Плотников В. К., Салфетников А. А., Косовский Г. Ю., Глазко В. И. К 150-летию открытия ДНК // Вестник РАН, 2020, № 1, С. 74-85.

33) Реймерс Ф. Э. Д. А. Сабинин и его творческое наследие (по воспоминаниям современников), Издательство «Наука» Сибирское отделение, Новосибирск, 1981, 240 с.

34) Сметанин Д.В., Онуфриенко В.В., Плотников В.К., Бакалдина Н.Б., Рядчиков В.Г. Модуляция стабильности мРНК зеинов в процессе развития зерна кукурузы // Физиология растений, 2000, т. 47, № 4, с. 555-561.

35) Сметанин Д.В., Плотников В.К. Теоретические и экспериментальные предпосылки создания нового метода оценки относительной длины терминального поли(А)-сегмента мРНК проростков пшеницы // Сб. науч. тр. КНИИСХ им. П.П. Лукьяненко, Краснодар, 2000, с. 220-224.

36) AliAhmad, Syed SalmanHashmi, Palma M., Corpas F. J. Influence of metallic, metallic oxide, and organic nanoparticles on plant physiology // Chemosphere, 2021, Available online 16 December 2021, 133329

37) Davies B.A. Polyribosomes from peas. An improved method for their isolation in the absence of ribonuclease inhibitors. *Plant Physiol.*, 1972, v.50, p.581-584.

38) Duke E.R. Doehlert D.C. Effects of heat stress on enzyme activities and transcript levels in developing maize kernels grown in culture // *Environmental and Experimental Botany*, 1996, v. 36, № 2, p. 199-208.

39) Fialcowitz E.J., Brewer B.Y., Keenan B.P., Wilson G.M. A Hairpin-like Structure within an AU-rich mRNA-destabilizing Element Regulates trans-Factor Binding Selectivity and mRNA Decay Kinetics // *J. Biol. Chem.*, 2005, v. 280, p. 22406 – 22417.

40) Jackson R.J., Standart N. Do the poly(A)tail and 3'-untranslation region control mRNA translation, *Cell*, 1990, v. 62, p.15-24.

41) Jalkanen A.L., Coleman S.J., Wilusz J. Determinants and implications of mRNA Poly(A) Tail Size – Does this Protein Make My Tail Look Big? // *Semin Cell Dev Biol.* 2014; 0; p. 24-32. Published online 2014 Jun 5, doi: 10.1016/j.semobdb.2014.05.018

42) Jan A.U., Hadi F. Analysis of frost resistance of sunflower varieties by comparing freezing survival of whole plants and the hygroscopicity of mature seeds // *Intern. Conf. of Botany, Chitral, Pakistan*, March 29 – April 2, 2018. p. 1-9.

43) Larkins B.A., Dalby A. In Vitro Synthesis of Zein like Protein by Maize Polyribosomes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1975, v. 66, N 3, p.1048-1054.

44) Larkins B.A., Davies E. Polyribosomes from peas. V. An Attempt to characterize the total free and membrane-bound polysomal population. *Plant Physiol.*, 1975, v.55, N 4, p.749-756.

45) Mirkin Ch. A., Letsinger R.L., Mucic R.C., Storhoff J.J. A DNA-based method for rationally assembling nanoparticles into macroscopic materials // *Nature*, 1996, v. 382. p. 607-609.

46) Mishko A., Sundryeva M., Stepanov I., Efimenko S., Plotnikov V., Nenko N. Isolation of high-quality RNA from plant seeds // *Biological Communications*, 2021, v. 66, № 2, p. 144-150.

47) Munroe D., Jacobson A.A. Tales of poly (A), *Gene*, 1990; v. 91, p. 151-158

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

49) Sperrazza J.M., Spremulli L.L. Quantitation of cation binding to wheat germ ribosomes: influences on subunit association equilibria and ribosome activity // *Nucleic Acids Research.*, 1983, v. 11, № 9, p. 2665–2679.

References

1) Bakaldina N.B., Alekseenko ZH.V., Plotnikov V.K. Holodoinducirovannye izmeneniya stabil'nosti mRNK sub"edinicy al'fa faktora elongacii translyacii 1 u prorstkov pshenicy i yachmenya // *Fiziologiya rastenij*, 2001, t. 48, № 6, s. 879–885.

2) Bogatyrev V.A., Dykman L.A., Krasnov YA.M., Plotnikov V.K., Hlebcov N.G. Metod differencial'noj spektroskopii rasseyannogo sveta dlya issledovaniya biospecificheskih reakcij v sistemah kon"yugatov zolotykh nanochastic s belkami ili oligonukleotidami // *Kolloidnyj zhurnal*, 2002, t. 64, № 6, s. 745-755.

3) Venzhik YU. V., Moshkov I. E., Dykman L. A. Nanochasticy v fiziologii rastenij: osnovnye efekty i perspektivy ispol'zovaniya // *Fiziologiya rastenij*, 2021, t. 68, № 3, s. 245–257.

4) Venzhik YU. V., Deryabin A. N., Popov V. N., Dykman L. A., Titov A. F., Moshkov I. E. Vliyanie nanochastic zolota na ustojchivost' pshenicy k nizkoj temperature // *Doklady RAN*, 2022, t. 502, s. 10–14.

5) Dykman L.A., Bogatyryov V.A., Sokolov O.I., Plotnikov V.K., Repko N.V., Salfetnikov A.A. Vzaimodejstvie nanochastic zolota, srebra i magniya s rastitel'nymi ob"ektami // *Politematicheskij setевой elektronnyj nauchnyj zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*, 2016, № 120, s. 675-705.

6) Kil' V.I., Bibishev V.A., Plotnikov V.K. Nespecificheskij prirost translyacionnoj aktivnosti polisom prorstkov pshenicy i yachmenya pod dejstviem stressov // *Fiziologiya rastenij*, 1991, t. 38, vyp. 4, s. 730-735.

7) Mishko A.E., Plotnikov V.K., Nen'ko N. I. , Ul'yanovskaya E.V. Sravnitel'nyj analiz fiziologo-biohimicheskikh pokazatelej sortov yabloni raznoj ploidnosti // *Plodovodstvo i vinogradorstvo yuga Rossii*, 2021 № 67 (1), s. 151-161.

8) Nen'ko N.I., Plotnikov V.K., Kuzembaeva N.A., Garazha V.N., Surkova E.V., Nasonov A.I., Pospelova YU.S., Malyuga N.G. Vliyanie preparata furolan na fiziologo-biohimicheskie harakteristiki sozrevayushchego zerna ozimoy pshenicy // *Prikladnaya biohimiya i mikrobiologiya*, 2007, № 6, s. 715-721.

9) Plotnikov V.K., Kil' V.I., Bibishev V.A., Novikov B.N. Vliyanie teplovogo shoka na beloksinteziruyushchij apparat zerna obychnoj i opak-2 kukuruzy // *Fiziologiya rastenij*, 1990, t. 37, vyp. 2, s. 302-307.

10) Plotnikov V.K., Bakaldina N.B., Efimov V.A. Stabil'nost' mRNK zeina kukuruzy v usloviyah normal'noj i vysokoj temperatur // *Fiziologiya rastenij*, 1991, t. 38, vyp. 5, s. 981-990.

11) Plotnikov V.K. Stabil'nost' mRNK kak faktor regulyacii ekspressii genov v kletkah eukariot // *Uspekhi sovremennoj biologii*, 1992, t. 112, vyp. 2, s. 186-199.

12) Plotnikov V.K., Bakaldina N.B., Bibishev V.A. Patent na izobretenie RU 2084133 C1, 20.07.1997. «Sposob diagnostiki fiziologicheskogo sostoyaniya zernovykh kul'tur» ot 20 iyulya 1997. Zayavka № 93032022/13 ot 17.06.1993.

13) Plotnikov V.K., Bakaldina N.B. Posttranskripcionnaya regulyaciya ekspressii genov: izuchenie differencial'nogo raspada mRNK rastenij in vivo i in vitro // *Genetika*, 1997, t. 33, № 3, s. 343-349.

14) Plotnikov V.K., Bakaldina N.B., Novikov B.N., Alekseenko ZH.V. Posttranskripcionnaya regulyaciya ekspressii genov rastenij: ryady indeksov stabil'nosti specificheskih mRNK in vivo i in vitro // *Genetika*, 1998, t.34, № 7, s. 869-875.

15) Plotnikov V.K., Bakaldina N.B., Novikov B.N., Alekseenko ZH.V., Bibishev V.A., Polezhaev S.L., Ryadchikov V.G. Posttranskripcionnaya regulyaciya ekspressii genov eukariot: vliyanie stressov na stabil'nost' mRNK in vitro // *Genetika*, 1998, t. 34, № 9, s. 1205-1211.

16) Plotnikov V.K., Bakaldina N.B., Smetanin D.V. Fotoinducirovannaya modulyaciya stabil'nosti mRNK fitohroma A u prorostkov pshenicy i yachmenya // *Fiziologiya rastenij*, 2000, t. 47, № 2, s. 203-209.

17) Plotnikov V.K. Genetiko-fiziologicheskaya determinaciya raspada mRNK zlakov in vitro // *Uspekhi sovremennoj biologii*, 2003, t. 123, № 1, s. 98-109.

18) Plotnikov V.K., Nasonov A.I., Ivanenko E.E., Kuzembaeva N.A., Bukreeva G.I., Kalenich V.I. Vzaimosvyaz' morozostojkosti ozimoy myagkoj pshenicy s sodержaniem kationov magniya v RNK // *Izvestiya Timiryazevskoj sel'skohozyajstvennoj akademii*, Moskva, 2008, № 2, s. 89-92.

19) Plotnikov V.K. Nanobiotehnologicheskie metody issledovaniya nukleinovykh kislot i perspektivy ih prakticheskogo primeneniya // *Izvestiya Timiryazevskoj sel'skohozyajstvennoj akademii*, Moskva, 2009, № 4, s. 58-70.

20) Plotnikov V.K. *Biologiya RNK zernovykh kul'tur*, Krasnodar, Izdatel'stvo «EDVI», 2009, 375 s.

21) Plotnikov V.K., Evtushenko YA.YU., Serkin N.V. Sravnitel'nyj analiz morozoustojchivosti sortov ozimogo yachmenya po rezul'tatam promorazhivaniya i po gigroskopichnosti zrelogo zerna // *Fiziologiya rastenij*, 2012, t. 59, № 2, s. 316-319.

22) Plotnikov V.K., Ryadchikov V.G. Biohimicheskoe dejstvie mutacii regulyatornogo gena opaque-2 v zerne vysokolizinovoj kukuruzy: 50 let issledovanij // *Politematicheskij setевой elektronnyj nauchnyj zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*, 2014, №98 (4), s. 213-219.

23) Plotnikov V.K., Evtushenko YA.YU., Salfetnikov A.A., Repko N.V., Nasonov A.I. Biologicheskie markery dlya selekcii na morozoustojchivost' ozimyh form myagkoj pshenicy i yachmenya // *Politematicheskij setевой elektronnyj nauchnyj zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*, 2014, № 104, s. 1855-1887.

24) Plotnikov V.K., Repko N.V., Salfetnikov A.A. Ciklichnost' vliyaniya aktinomicina D na rost koleoptilej yachmenya // *Politematicheskij setевой elektronnyj nauchnyj zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*, 2015, № 107 (03), s. 1352-1371.

25) Plotnikov V.K., Salfetnikov A.A. 60 let v stroyu: osobennosti molekulyarnoj biologii ozimoy myagkoj pshenicy sorta Bezostaya 1 // *Politematicheskij setевой elektronnyj nauchnyj zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*, 2016, № 118, s. 627-657.

26) Plotnikov V.K., Smirnova E.V., Repko N.V., Salfetnikov A.A. Sortospecifichnost' dejstviya trilona B na prorastaniya semyan ozimogo yachmenya // *Politematicheskij setевой elektronnyj nauchnyj zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*, 2016, № 120, s. 706-729.

27) Plotnikov V.K., Salfetnikov A.A., Golubev A.A., Dykman L.A. Vliyanie nanochastic zolota na prorastanie semyan ozimogo yachmenya // *Politematicheskij setевой elektronnyj nauchnyj zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*, 2017, № 127 (03), s. 295-307.

28) Plotnikov V.K., Salfetnikov A.A. Konceptsiya «Mir RNK»: teoriya i praktika // *Politematicheskij setевой elektronnyj nauchnyj zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*, 2017, № 128 (04), s. 741-771.

29) Plotnikov V.K., Yablonskaya E.K., Salfetnikov A.A., Nen'ko N.I. Stabilizaciya mRNK zlakov in vitro pod vliyaniem kremniya // *Politematicheskij setевой elektronnyj*

nauchnyj zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta, 2017, № 132 (08), s. 741-771.

30) Plotnikov V.K., Salfetnikov A.A., Nasonov A.I., Nen'ko N.I. Molekulyarnye markyory effekta vzaimodejstviya «genotip-sreda» u rastenij na osnove zakonomernostej raspada mRNK in vivo (RNK-interferenciya) i in vitro (ommp-sistema) // Politematicheskij setевой elektronnyj nauchnyj zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta, 2018, № 141 (07), s. 41-64.

31) Plotnikov V.K. Salfetnikov A.A., Nen'ko N.I. Gigroskopichnost' zrelogo zerna kak markyor morozoustojchivosti ozimogo yachmenya i podsolnechnika // Politematicheskij setевой elektronnyj nauchnyj zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta, 2019, № 145 (01), s. 7-30.

32) Plotnikov V. K., Salfetnikov A. A., Kosovskij G. YU., Glazko V. I. K 150-letiyu otkrytiya DNK // Vestnik RAEN, 2020, № 1, S. 74-85.

33) Rejmers F. E. (p/r) D. A. Sabinin i ego tvorcheskoe nasledie (po vospominaniem sovremennikov), Izdatel'stvo «Nauka» Sibirskoe otdelenie, Novosibirsk, 1981, 240 s.

34) Smetanin D.V., Onufrienko V.V., Plotnikov V.K., Bakaldina N.B., Ryadchikov V.G. Modulyaciya stabil'nosti mRNK zeinov v processe razvitiya zerna kukuruzy // Fiziologiya rastenij, 2000, t. 47, № 4, s. 555-561.

35) Smetanin D.V., Plotnikov V.K. Teoreticheskie i eksperimental'nye predposylki sozdaniya novogo metoda ocenki odnositel'noj dliny terminal'nogo poli(A)-segmenta mRNK prorostkov pshenicy // Sb. nauch. tr. KNIISKH im. P.P. Luk'yanenko, Krasnodar, 2000, s. 220-224.

36) AliAhmad, Syed SalmanHashmi, Palma M., Corpas F. J. Influence of metallic, metallic oxide, and organic nanoparticles on plant physiology // Chemosphere, 2021, Available online 16 December 2021, 133329

37) Davies B.A. Polyribosomes from peas. An improved method for their isolation in the absence of ribonuclease inhibitors. *Plant Physiol.*, 1972, v.50, p.581-584.

38) Duke E.R. Doehlert D.C. Effects of heat stress on enzyme activities and transcript levels in developing maize kernels grown in culture // *Environmental and Experimental Botany*, 1996, v. 36, № 2, p. 199-208.

39) Fialcowitz E.J., Brewer B.Y., Keenan B.P., Wilson G.M. A Hairpin-like Structure within an AU-rich mRNA-destabilizing Element Regulates trans-Factor Binding Selectivity and mRNA Decay Kinetics // *J. Biol. Chem.*, 2005, v. 280, p. 22406 – 22417.

40) Jackson R.J., Standart N. Do the poly(A)tail and 3'-untranslation region control mRNA translation, *Cell*, 1990, v. 62, p.15-24.

41) Jalkanen A.L., Coleman S.J., Wilusz J. Determinants and implications of mRNA Poly(A) Tail Size – Does this Protein Make My Tail Look Big? // *Semin Cell Dev Biol.* 2014; 0; p. 24-32. Published online 2014 Jun 5, doi: 10.1016/j.semobdb.2014.05.018

42) Jan A.U., Hadi F. Analysis of frost resistance of sunflower varieties by comparing freezing survival of whole plants and the hygroscopicity of mature seeds // *Intern. Conf. of Botany, Chitral, Pakistan, March 29 – April 2, 2018.* p. 1-9.

43) Larkins B.A., Dalby A. In Vitro Synthesis of Zein like Protein by Maize Polyribosomes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1975, v. 66, N 3, p.1048-1054.

44) Larkins B.A., Davies E. Polyribosomes from peas. V. An Attempt to characterize the total free and membrane-bound polysomal population. *Plant Physiol.*, 1975, v.55, N 4, p.749-756.

45) Mirkin Ch. A., Letsinger R.L., Mucic R.C., Storhoff J.J. A DNA-based method for rationally assembling nanoparticles into macroscopic materials // *Nature*, 1996, v. 382. p. 607-609.

46) Mishko A., Sundryeva M., Stepanov I., Efimenko S., Plotnikov V., Nenko N. Isolation of high-quality RNA from plant seeds // *Biological Communications*, 2021, v. 66, № 2, p. 144-150.

47) Munroe D., Jacobson A.A. Tales of poly (A), *Gene*, 1990; v. 91, p. 151-158

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

49) Sperrazza J.M., Spemulli L.L. Quantitation of cation binding to wheat germ ribosomes: influences on subunit association equilibria and ribosome activity // *Nucleic Acids Research.*, 1983, v. 11, № 9, p. 2665–2679.