

приспособительных реакций. Табакокурение повышает уровень психоэмоционального напряжения, снижает психологическую адаптацию к воздействию внешних условий.

Целью работы явилось изучение степени табакокурения среди молодых здоровых мужчин и женщин с непсихотическими пограничными состояниями (НПС).

Исследование вошло 130 здоровых мужчин и женщин молодого возраста (средний возраст 19 лет, без отягощенного психосоматического анамнеза. Факт никотиновой зависимости определялся анамнестическим способом, причем, все обследованные лица были ранжированы на «многокурящих» (выкуривающих более 10 сигарет в день), «малокурящих» (менее 10-ти сигарет) и «некурящих».

Результаты исследования. Полученные результаты показали, что среди мужчин и жен-

щин без НПС имели примерно равный процент курильщиков табака (35,8% и 33,4% соответственно). На основании комплексного клинико-психопатологического исследования у 34,1% мужчин и 33,3% здоровых женщин были выявлены различные НПС. У мужчин в структуре НПС преобладала соматоформная вегетативная дисфункция и наблюдалось увеличение числа лиц курящих табак, а у женщин – тревожная и депрессивная реакция, обусловленная расстройством адаптации и, наоборот, уменьшение лиц с никотиновой зависимостью ($p \leq 0,05$), в отличие от мужчин и женщин без НПС. Возможно, данный факт связан с тем, что мужчины и женщины с различными НПС используют разное «копинг-поведение» для коррекции своих психоэмоциональных нарушений, что требует дополнительного исследования.

Сельскохозяйственные науки

РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК И ТКАНЕЙ ПШЕНИЦЫ IN VITRO

Лобачев Ю.В., Ткаченко О.В.

*ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ им. Н.И. Вавилова»,
Саратов, e-mail: lobachevuyuv@gmail.com*

В селекции многих сельскохозяйственных культур все шире применяются биотехнологические приемы, в том числе методы клеточной селекции, андроклинии и генетической трансформации клеток. Однако до сих пор не создана надежной технологии массового производства линий-регенерантов любых генотипов на основе клеточных и тканевых культур *in vitro*. Основной проблемой остается высокая степень зависимости результативности тех или иных методик от генотипа донорных растений. До сих пор не удалось установить генетическую детерминацию морфогенетических процессов *in vitro* и разработать на этой основе универсальные приемы оптимизации метода культивирования соматических тканей.

В течение полутора десятков лет в Саратовском госагроуниверситете им. Н.И. Вавилова ведутся исследования по поиску эффективных методов культивирования клеток и тканей растений *in vitro*, в том числе мягкой и твердой пшеницы.

Основной задачей изучения является поиск эффективных генов, способных повышать морфогенетическую активность и регенерационную способность клеток и тканей *in vitro*. Для этого исследуются эффекты генов короткостебельности на процессы, протекающие в культуре соматических тканей и пыльников мягкой и твердой пшеницы. Проводили скрининг набора почти изогенных сестринских линий, альтернативных по генам Rht-B1b, Rht-B1c, Rht-14, s1, Q.

В результате проведенных исследований установлено, что в культуре пыльников *in vitro*

гены системы Rht, а также s1 и Q в генофоне сорта мягкой пшеницы Саратовская 29 могут оказывать существенное влияние на формирование морфогенных пыльников, гаплоидных новообразований и растений-регенерантов (Tkachenko O.V., Djatchouk T.I., Lobachev Yu.V., 2000). Среди взятых в изучение линий во все годы изучения достоверное превышение изучаемых показателей отмечалось у линий с генами Rht-B1c и Q. Линии с этими генами достоверно превышали соответствующие высокорослые сибы по следующим показателям: выход морфогенных пыльников, выход гаплоидных новообразований, выход растений-регенерантов, в % от общего количества инокулированных пыльников. Положительное влияние на все этапы гаплопродукции также отмечалось у линии с геном Rht 14, но статистически достоверные отличия обнаружены не во всех экспериментах.

У линии с геном s1 отмечалось снижение выхода морфогенных пыльников и новообразований. На регенерацию растений данный ген существенного влияния не оказывал. Линия с геном Rht-B1b ни в одном эксперименте существенно не отличалась от своего высокорослого сиба ни по одному показателю.

В то же время, сравнительное изучение влияния гена Rht-B1b на этапы культивирования пыльников трех сортов твердой пшеницы показало достоверное снижение эффективности культивирования гаплоидных структур в генофоне двух из них.

Анализ соматических каллусных культур, полученных из незрелых зародышей, показал, что при внесении в генофон сорта мягкой пшеницы Саратовская 29 гены короткостебельности могут оказывать существенное влияние на формирование меристематических очагов в тканях и способность к сохранению регенерационной активности в процессе длительного культивирования каллусов (Tkachenko O.V. and Lobachev

Yu.V., 2008). Выявлены гены Rht-B1c и Rht14, обладающие сильным положительным эффектом на формирование морфогенных каллусов и сохранение регенерационной способности в процессе пассирования. При этом гены s1 и Q достоверно тормозили морфогенетические процессы в каллусах. Ген Rht-B1b в двух генотипах из трех также снижал эффективность закладки меристематических очагов и регенерации растений.

В результате проведенных исследований установлено, что гены, основным эффектом которых *in vivo* является снижение высоты растений, в культуре клеток и тканей *in vitro* оказывают различное качественное и количественное влияние на отдельные морфогенетические процессы. Выявлены гены, обладающие достоверным положительным эффектом на формирование каллусов с зонами меристематической активности и растений регенерантов.

Другим направлением исследований являлось изучение влияния различных химических веществ на эффективность этапов культивирования клеток и тканей пшеницы *in vitro* и регенерацию целых растений. В процессе совместных исследований с сотрудниками кафедры химии Саратовского госагроуниверситета было изучено несколько новых веществ и у одного из них обнаружена росторегулирующая и морфогенетическая активность при введении в культуру *in vitro*. Данная разработка защищена в 2002 г. патентом РФ № 2186768.

Следующим направлением исследований, проводимых в настоящее время, является изучение влияния живых ассоциативных организмов, а именно бактерий рода *Azospirillum* на каллусные ткани и растения-регенеранты в культуре *in vitro*. Обнаружено, что не только сами бактерии, но и отдельные компоненты их клеточных стенок – липополисахариды способны стимулировать морфогенетические процессы в каллусах пшеницы (Tkachenko O.V. et al., 2012).

Еще одним направлением исследований стала разработка методов контроля процессов, протекающих в культуре клеток и тканей *in vitro*. Совместно с учеными Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН методом иммуноферментного анализа была установлена связь между морфогенетическими процессами в каллусе и накоплением особого белкового компонента – пролиферативного антигена инициальных клеток меристем (ПАИ) (Евсеева Н.В. и др., 2007). Установлено, что клеточные культуры, несущие ген Rht-B1c накапливают ПАИ интенсивнее, что отражает повышенную морфогенетическую активность этих линий. Кроме того, была установлена общая закономерность динамики содержания ПАИ в соматических каллусах пшеницы, заключающаяся в снижении уровня его содержания в процессе каллусогенеза и повышении уровня его содер-

жания при вторичной дифференциации клеток до определенного максимального уровня в процессе регенерации растений. Было определено уравнение для кривой линии, описывающей этот процесс. В результате был предложен новый молекулярный маркер, отражающий интенсивность процессов дифференциации клеток и формирования очагов меристематической активности, приводящей к регенерации растений *in vitro*.

Таким образом, проведенные исследования открыли новые пути оптимизации существующих на сегодняшний день методов культивирования клеток и тканей растений *in vitro*, в том числе мягкой и твердой пшеницы, что позволит более эффективно применять биотехнологии в селекции сельскохозяйственных культур, в том числе пшеницы.

Список литературы

1. Евсеева Н.В., Ткаченко О.В., Лобачев Ю.В., Фалеева И.Ю., Щеголев С.Ю. Биохимическая оценка морфогенетического потенциала каллусных клеток пшеницы *in vitro* // Физиология растений. – 2007. – Т. 54. – № 2 – С. 306-311.
2. Tkachenko O.V., Djatchouk T.I., Lobachev Yu.V. Genes Rht Influence on an Androgenesis *in vitro* of Spring Bread Wheat and Durum Wheat lines // Journal of Huazhong Agricultural University. – 2000. – V. 19. – № 3. – P. 219-222.
3. Tkachenko O.V., Lobachev Yu.V. Using isogenic analysis to study genotype effect in *in vitro* cell and tissue culture of wheat // Annual Wheat Newsletter. – USA, KSU. – 2008. – V. 54. – P. 122.
4. Tkachenko O.V., Lobachev Y.V., Matora L.Yu., Evseeva N.V., Dmitrienko V.V., Burygin G.L., Shchyogolev S.Yu. Bacterial lipopolysaccharides in a culture of wheat calli // Annual Wheat Newsletter. – USA, KSU. – 2012. – V. 58. – P. 214.

ВЛИЯНИЕ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ БАКТЕРИЙ НА ЭМБРИОГЕННУЮ СПОСОБНОСТЬ КАЛЛУСОВ ПШЕНИЦЫ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

¹Лобачев Ю.В., ¹Ткаченко О.В., ²Евсеева Н.В.,
²Матора Л.Ю., ²Бурьгин Г.Л., ²Щеголев С.Ю.

¹ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ им.
Н.И. Вавилова», Саратов;

²Институт биохимии и физиологии растений
и микроорганизмов РАН, Саратов,
e-mail: lobachevyuv@gmail.com

С использованием генетической модели, включающей две альтернативные по гену короткостебельности RhtB1c и контрастные по эмбриогенности почти изогенные линии пшеницы сорта Саратовская 29, проведено сравнительное исследование влияния липополисахаридов (ЛПС) ассоциативных ростстимулирующих бактерий штамма *Azospirillum brasilense* Sp245 и энтеробактерий штамма *Escherichia coli* K12 на морфогенетические показатели соматических каллусов яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) в культуре *in vitro*. Каллусы были получены на среде Линсмайера-Скуга с 2 мг/л 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д) из незрелых четырнадцати суточных зародышей пшеницы. В опытных вариантах в стандартную