

Значение генерации и взаимопревращений АФК на рыльце *Nicotiana tabacum* L. для прорастания пыльцы *in vivo*

Научный руководитель – Брейгина Мария Александровна

Щекалева Ольга Игоревна

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра физиологии растений, Москва, Россия

E-mail: anny.shirly.ganbatte@gmail.com

Взаимодействие между мужским гаметофитом и женскими тканями спорофита в програмной фазе оплодотворения является важным аспектом репродуктивной биологии растений. Рецептивная жидкость, образующаяся на спорофите, помимо углеводов, служащих для питания пыльцевого зерна, содержит низкомолекулярные соединения, которые могут играть важную сигнальную роль во взаимодействиях с пыльцой. В нашей работе внимание было сосредоточено на анализе динамики и взаимопревращений АФК в рыльцевом экссудате табака и их роли в прорастании пыльцы *in vivo*.

На первом этапе работы с помощью метода электронного парамагнитного резонанса были получены полуколичественные данные о генерации супероксид анион-радикала на разных стадиях развития цветка. Также мы количественно оценили содержание H_2O_2 в рыльцевом экссудате, собранном с пестиков на разных стадиях развития. При изучении динамики было установлено, что в процессе созревания рыльца, а особенно после опыления уровень генерации $O_2^{\bullet -}$ снижается, такая же динамика наблюдается в количестве пероксида в экссудате. Образование и взаимопревращение АФК обеспечивают ферменты редокс-метаболизма, основными из которых на рыльце являются НАДФН-оксидаза и супероксиддисмутаза (СОД).

С помощью ингибиторного анализа было показано значение этих ферментов для скорости и эффективности прорастания пыльцевых зёрен и роста трубок *in vivo*, при этом мы использовали флуоресцентную микроскопию и подсчёт семян. Мы установили, что по сравнению с контрольными цветками за 30 минут после опыления ингибитор НАДФН-оксидазы снижает скорость прорастания примерно в 4 раза, а после обработки ингибитором СОД трубки не прорастают. На эффективность оплодотворения ингибитор СОД также оказывает заметное влияние, снижая ее в 1.5 раза.

Зимографическое определение активности супероксиддисмутазы в рыльцах табака на разных стадиях развития пестика и в опыленных цветках после нативного электрофореза позволило изучить динамику активности фермента. Показано, что в ювенильных цветках она ниже, чем на более поздних стадиях развития.

Мы можем заключить, что содержание АФК в рецептивных жидкостях является важным фактором для взаимодействия мужского гаметофита и женских тканей спорофита, влияющим на скорость и эффективность прорастания пыльцевых трубок. Кроме того, полученные данные демонстрируют наличие динамики в содержании АФК и активности СОД на разных этапах развития цветка и после опыления.