Биохимия

Biochemistry

УДК 577.13:581.192

АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ И АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ В ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЯХ *NICOTIANA TABACUM*, ВЫРАЩЕННЫХ В УСЛОВИЯХ АБИОТИЧЕСКОГО СТРЕССА

***К. В. ПРИСТУПА*[1)], *Т. А. КУКУЛЯНСКАЯ*[1)], *Е. А. ХРАМЦОВА*[1)]**

[1)]*Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь*

Проведен сравнительный анализ ряда биохимических показателей нетрансгенных и трансгенных растений *Nicotiana tabacum*, выращенных в почве с повышенной концентрацией солей тяжелых металлов. Трансгенные растения несли в своем геноме бактериальный *acdS*-ген, кодирующий фермент 1-аминоциклопропан-1-карбоксилат-дезаминазу (АЦК-дезаминазу). Обработка почвы ионами меди, хрома и свинца в концентрациях, превышающих предельно допустимые, способствовала индукции экспрессии *acdS*-гена и увеличению активности АЦК-дезаминазы в трансгенных растениях. Также показано, что в условиях абиотического стресса у исследуемых образцов возрастало содержание фенольных соединений (в частности, флавоноидов) и аскорбиновой кислоты, повышалась общая антиоксидантная активность.

Ключевые слова: антиоксидантная система; низкомолекулярные антиоксиданты; *acdS*-ген; *Nicotiana tabacum*.

Образец цитирования:
Приступа КВ, Кукулянская ТА, Храмцова ЕА. Анализ содержания фенольных антиоксидантов и аскорбиновой кислоты в трансгенных растениях *Nicotiana tabacum*, выращенных в условиях абиотического стресса. *Журнал Белорусского государственного университета. Биология.* 2020;1:20–26.
https://doi.org/10.33581/2521-1722-2020-1-20-26

For citation:
Pristupa KV, Kukulianskaya TA, Khramtsova EA. Analysis of the low-molecular weight antioxidants of transgenic plants *Nicotiana tabacum* under abiotic stress conditions. *Journal of the Belarusian State University. Biology.* 2020;1:20–26. Russian.
https://doi.org/10.33581/2521-1722-2020-1-20-26

Авторы:
Кристина Владимировна Приступа – аспирантка кафедры биохимии биологического факультета. Научный руководитель – Т. А. Кукулянская.
Татьяна Александровна Кукулянская – кандидат биологических наук, доцент; доцент кафедры биохимии биологического факультета.
Елена Аркадьевна Храмцова – кандидат биологических наук, доцент; доцент кафедры генетики биологического факультета.

Authors:
Kristina V. Pristupa, postgraduate student at the department of biochemistry, faculty of biology.
kristina.pristupa@mail.ru
https://orcid.org/0000-0003-1977-4949
Tatsiana A. Kukulianskaya, PhD (biology), docent; associate professor at the department of biochemistry, faculty of biology.
tak14@tut.by
https://orcid.org/0000-0002-4204-658X
Elena A. Khramtsova, PhD (biology), docent; associate professor at the department of genetics, faculty of biology.
elena_khramtsova@inbox.ru

ANALYSIS OF THE LOW-MOLECULAR WEIGHT ANTIOXIDANTS OF TRANSGENIC PLANTS *NICOTIANA TABACUM* UNDER ABIOTIC STRESS CONDITIONS

***K. V. PRISTUPA*[a], *T. A. KUKULIANSKAYA*[a], *E. A. KHRAMTSOVA*[a]**

[a]*Belarusian State University, 4 Niezaliežnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus*
Corresponding author: K. V. Pristupa (kristina.pristupa@mail.ru)

We conducted a comparative analysis of biochemical parameters of non-transgenic and transgenic *Nicotiana tabacum*, plants cultivated in heavy metal polluted soils. Transgenic plants had in their genome a bacterial *acdS*-gene encoding the 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase (ACC-deaminase) enzyme. The introduction of elevated concentrations of copper, chromium, and lead ions into the soil promotes induction of the *acdS*-gene expression and an increase in ACC-deaminase activity in transgenic plants. It was shown that the content of phenolic compounds (flavonoids), ascorbic acid, the total antioxidant activity of plants increased under abiotic stress.

Keywords: antioxidant system; low-molecular weight antioxidants; *acdS*-gene; *Nicotiana tabacum*.

Введение

Повышение устойчивости сельскохозяйственных культур к неблагоприятным факторам окружающей среды является одной из важнейших задач, стоящих перед учеными. Растения, которые произрастают в сложных условиях, подвергаются абиотическому стрессовому воздействию, что может быть обусловлено засолением или загрязнением почв тяжелыми металлами, засухой и т. д. [1; 2].

При стрессовых воздействиях содержание активных форм кислорода (АФК) в растительных клетках начинает быстро увеличиваться и, как следствие, значительно повышается интенсивность свободнорадикальных окислительных процессов. АФК подавляют активность ферментов, вызывают деградацию клеточных биополимеров, нарушают проницаемость биологических мембран, останавливают клеточный цикл и приводят к развитию апоптоза. В ответ на усиление генерации АФК, как правило, происходит активация ферментативных и неферментативных элементов антиоксидантной защитной системы растений. К ключевым неферментативным антиоксидантам относятся аскорбиновая кислота, фенольные соединения (в частности, флавоноиды), α-токоферол и др. [3; 4].

Развитие абиотического стресса сопровождается образованием избыточного количества этилена в растениях. Этилен представляет собой фитогормон, который участвует в регуляции прорастания семян, роста корней и стеблей, образования цветков, созревания плодов. Однако его чрезмерное накопление приводит к изменению параметров роста и развития растений.

Одним из современных способов снижения избыточного количества этилена в растениях является создание трансгенных форм, которые несут в своем геноме бактериальный *acdS*-ген, кодирующий АЦК-дезаминазу. Данный фермент катализирует разложение предшественника этилена – АЦК – до аммиака и α-кетобутирата [5–7].

Устойчивость растений к неблагоприятным условиям, вызывающим стресс, в значительной степени обеспечивается активным функционированием антиоксидантной системы. Во многих странах мира проводится изучение антиоксидантной активности растений под влиянием стрессовых воздействий, создаются трансгенные растения, которые характеризуются сверхэкспрессией генов, кодирующих ферменты антиоксидантной защиты [8]. Данные об изменении состояния и эффективности антистрессового действия антиоксидантной системы получены также для ряда растений, инокулированных бактериями, которые имеют *acdS*-ген [9]. Однако исследование состояния антиоксидантной системы трансгенных растений, несущих этот ген, в условиях абиотического стресса не проводилось.

Целью настоящей работы является анализ влияния тяжелых металлов, внесенных в почву, на общую антиоксидантную активность, а также содержание неферментативных антиоксидантов в нетрансгенных и трансгенных растениях *Nicotiana tabacum*, несущих *acdS*-ген бактерий *Pseudomonas putida* B-37.

Материалы и методы исследования

В качестве объектов исследования выступали нетрансгенные и трансгенные растения *Nicotiana tabacum*, несущие *acdS*-ген бактерий *Pseudomonas putida* B-37. Предметом исследования являлись общая антиоксидантная активность данных растений и содержание в них низкомолекулярных антиоксидантов (аскорбиновой кислоты и фенольных соединений, в частности флавоноидов).

Создание трансгенных растений осуществлялось согласно методике, описанной А. А. Мельниковой и соавторами [10].

Растения были разделены на четыре группы:

- контрольная серия (без обработки почвы тяжелыми металлами);
- 1-я серия (обработка $CuSO_4$ в концентрации 30 мг на 1 кг почвы);
- 2-я серия (обработка $K_2Cr_2O_7$ в концентрации 15 мг на 1 кг почвы);
- 3-я серия (обработка $Pb(CH_3COO)_2$ в концентрации 15 мг на 1 кг почвы).

Обработку почвы ионами тяжелых металлов проводили однократно с учетом их предельно допустимой концентрации (ПДК): вносимое количество должно было превышать ПДК в 5 раз.

Каждая серия включала по 5 трансгенных растений линий 4-12 и 10-38, а также 5 нетрансгенных растений *Nicotiana tabacum*.

Семена стерильно высевали на увлажненные фильтры и в течение 2 сут выдерживали при температуре (20,0 ± 0,5) °С в темноте для прорастания. Затем проростки помещали в климатокамеру с температурой (20,0 ± 0,5) °С и 16-часовым световым днем. Через 14 сут растения пересаживали в стаканчики со стерильной почвой (50 г). Дальнейшее культивирование производили при температуре (20,0 ± 0,5) °С, влажности 70–80 %, 16-часовом световом дне на протяжении 8 нед.

Растительный материал (0,5 г) гомогенизировали в 0,1 моль/л калий-фосфатном буфере (pH 7,8), затем объем доводили до 10 мл. Полученные гомогенаты трижды по 15 с подвергали ультразвуковому воздействию при частоте 11 кГц с помощью дезинтегратора УЗДН-2Т (НПП «Академприбор», Россия), после чего центрифугировали в течение 15 мин при 10 000 об/мин. Все процедуры производили на холоде (4 °С). Клеточные экстракты использовали для определения общей антиоксидантной активности, а также содержания низкомолекулярных антиоксидантов и белка в растениях.

Общую антиоксидантную активность растительных экстрактов оценивали по степени ингибирования окисления парафенилендиамина пероксидом водорода с применением спектрофотометрического метода при длине волны 530 нм [11].

Общее содержание фенольных соединений в растительных экстрактах определяли спектрофотометрически по методу *Singleton* при длине волны 765 нм [12].

Общее содержание флавоноидов в растительных экстрактах измеряли спектрофотометрически по методу *Quettier* при длине волны 415 нм [13].

Содержание аскорбиновой кислоты устанавливали спектрофотометрически с использованием метода *Das*, который основан на способности фосфомолибдата восстанавливаться данной кислотой до молибдата синего цвета. Измерение проводили при длине волны 660 нм [14].

Содержание белка в растительных экстрактах определяли биуретовым методом при длине волны 540 нм [15].

Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью лицензионного пакета программ *Statistica 6.0*. Оценку достоверности различий средних арифметических проводили на основании коэффициента Стьюдента. Различия между группами считали достоверными при двустороннем уровне значимости $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Развитие стресса у растений сопровождается активацией свободнорадикальных окислительных процессов в клетке [3]. Нами была определена общая антиоксидантная активность всех серий растений, которая выражается степенью инактивации антиоксидантами растений окисления парафенилендиамина пероксидом водорода (табл. 1).

Таблица 1

Общая антиоксидантная активность нетрансгенных и трансгенных растений *Nicotiana tabacum*, %

Table 1

The total antioxidant activity of non-transgenic and transgenic plants *Nicotiana tabacum*, %

Серия	Нетрансгенные растения	Трансгенные растения	
		Линия 4-12	Линия 10-38
Без обработки почвы тяжелыми металлами	60,0 ± 1,5	56,0 ± 1,4	54,0 ± 1,4
Обработка почвы Cu^{2+} в концентрации 5 × ПДК	77,0 ± 1,8*	63,0 ± 1,5*	60,0 ± 1,6*

Окончание табл. 1
Ending table 1

Серия	Нетрансгенные растения	Трансгенные растения	
		Линия 4-12	Линия 10-38
Обработка почвы Cr^{6+} в концентрации 5 × ПДК	83,0 ± 2,1*	68,0 ± 1,7*	65,0 ± 2,2*
Обработка почвы Pb^{2+} в концентрации 5 × ПДК	73,0 ± 1,7*	59,0 ± 1,4*	58,0 ± 1,5*

*Различия между контрольной и опытными сериями достоверны при уровне значимости $p \leq 0,05$.

Как видно из табл. 1, нетрансгенные растения *Nicotiana tabacum* отличаются более высокой антиоксидантной активностью, чем трансгенные. Установлено, что при обработке почвы солями тяжелых металлов общая антиоксидантная активность исследуемых образцов увеличивается. Причем и у нетрансгенных, и у трансгенных форм максимальная ее величина обнаружена при внесении в почву 5-кратной ПДК Cr^{6+}: в первом случае антиоксидантная активность возросла на 40 % по сравнению с контрольной серией, во втором – на 20 %.

Вероятно, в трансгенных растениях, несущих бактериальный *acdS*-ген, образуется меньше АФК, следовательно, они имеют более низкую интенсивность свободнорадикальных окислительных процессов, чем нетрансгенные. Поэтому в трансгенных растениях в меньшей степени происходит активация элементов антиоксидантной защиты, что, возможно, обусловливает более низкую общую антиоксидантную активность трансгенных форм по сравнению с нетрансгенными.

Приведенные нами данные коррелируют с полученными ранее результатами, согласно которым трансгенные растения имели более низкую активность ферментативных антиоксидантов (пероксидазы, каталазы, супероксиддисмутазы), а также более низкую интенсивность процессов перекисного окисления липидов, чем нетрансгенные [16].

Одними из наиболее активных низкомолекулярных антиоксидантов являются фенольные соединения, в частности флавоноиды. Поэтому нами было определено общее содержание фенольных соединений в исследуемых растениях (табл. 2). Оно выражается количеством танина (в микрограммах) на 1 г растительного экстракта.

Таблица 2

Общее содержание фенольных соединений в экстрактах нетрансгенных и трансгенных растений *Nicotiana tabacum*, мкг/г

Table 2

The total content of phenolic compounds in extracts of non-transgenic and transgenic plants *Nicotiana tabacum*, μg/g

Серия	Нетрансгенные растения	Трансгенные растения	
		Линия 4-12	Линия 10-38
Без обработки почвы тяжелыми металлами	59,0 ± 2,9	75,0 ± 3,6	69,0 ± 3,1
Обработка почвы Cu^{2+} в концентрации 5 × ПДК	84,0 ± 4,1*	122,0 ± 6,1*	150,0 ± 7,2*
Обработка почвы Cr^{6+} в концентрации 5 × ПДК	106,0 ± 5,5*	131,0 ± 6,6*	161,0 ± 7,8*
Обработка почвы Pb^{2+} в концентрации 5 × ПДК	80,0 ± 4,0*	88,0 ± 4,1*	104,0 ± 4,8*

*Различия между контрольной и опытными сериями достоверны при уровне значимости $p \leq 0,05$.

Как видно из табл. 2, исходное количество фенольных соединений в трансгенных растениях было на 15–25 % выше, чем в нетрансгенных формах. При обработке почвы ионами тяжелых металлов содержание фенольных соединений увеличилось и в трансгенных, и в нетрансгенных растениях. В результате внесения в почву 5-кратной ПДК ионов меди(II), хрома(VI) и свинца(II) в трансгенных образцах оно выросло на 40; 80 и 35 % соответственно по сравнению с контрольной серией, а в нетрансгенных – на 120; 130 и 50 %.

Возможно, это связано с тем, что в условиях абиотического стресса в трансгенных растениях образующийся АЦК подвергается не только ферментативному разрушению АЦК-дезаминазой, но также может превращаться в ряд конденсированных соединений (например, жасмонил-АЦК), которые содержат в своем составе ароматические кольца, необходимые для синтеза вторичных метаболитов в растениях, в том числе и фенольных соединений.

Помимо этого, нами было определено общее содержание флавоноидов в исследуемых растениях (табл. 3). Оно выражается количеством рутина (в микрограммах) на 1 г растительного экстракта.

Таблица 3

Общее содержание флавоноидов в экстрактах нетрансгенных и трансгенных растений *Nicotiana tabacum*, мкг/г

Table 3

The total content of flavonoids in extracts of non-transgenic and transgenic plants *Nicotiana tabacum*, μg/g

Серия	Нетрансгенные растения	Трансгенные растения	
		Линия 4-12	Линия 10-38
Без обработки почвы тяжелыми металлами	34,0 ± 1,6	42,0 ± 1,9	40,0 ± 1,8
Обработка почвы Cu^{2+} в концентрации 5 × ПДК	64,0 ± 3,0*	78,0 ± 3,5*	82,0 ± 3,9*
Обработка почвы Cr^{6+} в концентрации 5 × ПДК	86,0 ± 4,5*	102,0 ± 4,1*	112,0 ± 4,7*
Обработка почвы Pb^{2+} в концентрации 5 × ПДК	53,0 ± 2,7*	68,0 ± 3,2*	75,0 ± 3,6*

*Различия между контрольной и опытными сериями достоверны при уровне значимости $p \leq 0,05$.

Из приведенных в табл. 3 результатов следует, что при обработке почвы 5-кратной ПДК ионов тяжелых металлов количество флавоноидов увеличилось и в трансгенных, и в нетрансгенных растениях. При внесении в почву ионов меди(II), хрома(VI) и свинца(II) общее содержание флавоноидов в нетрансгенных образцах составило 190; 250 и 155 % соответственно по сравнению с контрольной серией, а в трансгенных – 210; 280 и 190 %.

Также в ходе работы было определено содержание аскорбиновой кислоты во всех сериях в расчете на 1 г растительного материала (табл. 4).

Таблица 4

Содержание аскорбиновой кислоты в нетрансгенных и трансгенных растениях *Nicotiana tabacum*, мкг/г

Table 4

The content of ascorbic acid in non-transgenic and transgenic plants *Nicotiana tabacum*, μg/g

Серия	Нетрансгенные растения	Трансгенные растения	
		Линия 4-12	Линия 10-38
Без обработки почвы тяжелыми металлами	0,73 ± 0,015	0,81 ± 0,016	0,78 ± 0,015
Обработка почвы Cu^{2+} в концентрации 5 × ПДК	0,96 ± 0,018*	0,99 ± 0,020*	1,07 ± 0,019*
Обработка почвы Cr^{6+} в концентрации 5 × ПДК	1,38 ± 0,027*	1,53 ± 0,031*	1,74 ± 0,037*
Обработка почвы Pb^{2+} в концентрации 5 × ПДК	0,75 ± 0,016*	0,88 ± 0,018*	0,88 ± 0,017*

*Различия между контрольной и опытными сериями достоверны при уровне значимости $p \leq 0,05$.

Исходя из данных табл. 4, можно сделать вывод, что при обработке почвы солями тяжелых металлов содержание аскорбиновой кислоты повышается как в нетрансгенных, так и в трансгенных образцах. При этом трансгенные растения *Nicotiana tabacum* отличаются несколько большим увеличением

количества аскорбиновой кислоты, чем нетрансгенные формы. Так, при внесении в почву ионов Cr^{6+} у нетрансгенных растений содержание витамина С выросло в 1,9 раза, а у трансгенных – в 2,2 раза по сравнению с контрольной серией.

Полученные нами результаты показывают, что общая антиоксидантная активность у нетрансгенных растений в условиях стресса в среднем на 25 % выше, чем у трансгенных форм. При этом содержание фенольных соединений и аскорбиновой кислоты выше в трансгенных растениях *Nicotiana tabacum*. Значительное увеличение общей антиоксидантной активности может быть связано с возрастанием содержания общего пула низкомолекулярных антиоксидантов, таких как глутатион, токоферолы, пролин и ряд других, количество которых в данной работе не оценивалось. Помимо этого, фенольные производные, в частности флавоноиды, могут проявлять прооксидантную активность, что способствует снижению интенсивности антиоксидантной защиты [17; 18].

Заключение

Таким образом, трансгенные растения, несущие в своем геноме бактериальный *acdS*-ген и способные синтезировать АЦК-дезаминазу [16], в меньшей степени подвержены воздействию повышенных концентраций ионов тяжелых металлов, присутствующих в почве. Следует отметить, что трансгенные растения *Nicotiana tabacum*, которые выращивались на загрязненной почве, имели лучшие ростовые характеристики (бóльшая длина стебля, корня) и более высокую биомассу, чем нетрансгенные образцы [10].

Полученные результаты свидетельствуют об увеличении активности антиоксидантной системы в условиях абиотического стресса, вызванного обработкой почвы ионами Cu^{2+}, Cr^{6+}, Pb^{2+}. Показано, что наименьшая чувствительность растений к загрязнению почвы солями тяжелых металлов отмечалась при внесении в почву солей свинца(II).

Практическая значимость данного исследования связана с использованием трансгенных растений, экспрессирующих бактериальный ген АЦК-дезаминазы (*acdS*) и обладающих повышенной устойчивостью к неблагоприятным воздействиям окружающей среды.

Библиографические ссылки

1. Glick BR. Bacterial ACC deaminase and the alleviation of plant stress. *Advances in Applied Microbiology.* 2004;56:291–312. DOI: 10.1016/S0065-2164(04)56009-4.

2. Grichko VP, Glick BR. Amelioration of flooding stress by ACC deaminase containing plant growth promoting bacteria. *Plant Physiology and Biochemistry.* 2001;39(1):11–17. DOI: 10.1016/S0981-9428(00)01212-2.

3. Matés JM. Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology.* 2000; 153(1–3):83–104. DOI: 10.1016/S0300-483X(00)00306-1.

4. Ahmad P, Sarwat M, Sharma S. Reactive oxygen species, antioxidants and signaling in plants. *Journal of Plant Biology.* 2008; 51(3):167–173. DOI: 10.1007/BF03030694.

5. Hontzeas N, Hontzeas CE, Glick BR. Reaction mechanisms of the bacterial enzyme 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase. *Biotechnology Advances.* 2006;24(4):420–426. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2006.01.006.

6. Grichko VP, Filby B, Glick BR. Increased ability of transgenic plants expressing the bacterial enzyme ACC deaminase to accumulate Cd, Co, Cu, Ni, Pb and Zn. *Journal of Biotechnology.* 2000;81(1):45–53. DOI: 10.1016/S0168-1656(00)00270-4.

7. Sergeeva E, Shah S, Glick BR. Growth of transgenic canola (*Brassica napus* cv. Westar) expressing a bacterial 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase gene on high concentrations of salt. *World Journal of Microbiology and Biotechnology.* 2006; 22(3):277–282. DOI: 10.1007/s11274-005-9032-1.

8. Lee Y-P, Kim S-H, Bang J-W, Lee H-S, Kwak S-S, Kwon S-Y. Enhanced tolerance to oxidative stress in transgenic tobacco plants expressing three antioxidant enzymes in chloroplasts. *Plant Cell Reports.* 2007;26(5):591–598. DOI: 10.1007/s00299-006-0253-z.

9. Vurukonda SSKP, Vardharajula S, Shrivastava M, SkZ A. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. *Microbiological Research.* 2016;184:13–24. DOI: 10.1016/j.micres.2015.12.003.

10. Мельникова АА, Храмцова ЕА, Королева ЕС, Руткевич ДА, Кукулянская ТА. Анализ экспрессии *acdS*-гена бактерий *Pseudomonas putida* В-37 в трансгенных растениях *Nicotiana tabacum*. *Журнал Белорусского государственного университета. Биология.* 2019;1:45–53. DOI: 10.33581/2521-1722-2019-1-45-53.

11. Dávalos A, Gómez-Cordovés C, Bartolomé B. Extending applicability of the oxygen radical absorbance capacity (ORAC-fluorescein) assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2004;52(1):48–54.

12. Ainsworth EA, Gillespie KM. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin – Ciocalteu reagent. *Nature Protocols.* 2007;2(4):875–877. DOI: 10.1038/nprot.2007.102.

13. Quettier-Deleu C, Gressier B, Vasseur J, Dine T, Brunet C, Luyckx M, et al. Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *Journal of Ethnopharmacology.* 2000;72(1–2):35–42. DOI: 10.1016/S0378-8741(00)00196-3.

14. Das N, Misra M, Misra AN. Sodium chloride salt stress induced metabolic changes in callus cultures of pearl millet (*Pennisetum americanum* L. Leeke): free solute accumulation. *Journal of Plant Physiology.* 1990;137(2):244–246. DOI: 10.1016/S0176-1617(11)80090-8.

15. Семак ИВ, Зырянова ТН, Губич ОИ. *Биохимия белков.* Минск: БГУ; 2007. 49 с.

16. Приступа КВ, Королева ЕС, Кукулянская ТА, Руткевич ДА. Оценка состояния антиоксидантной системы трансгенных растений *Nicotiana tabacum* в условиях абиотического стресса. В: *Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии: сборник тезисов докладов 19-й Всероссийской конференции молодых ученых, посвященной памяти академика РАСХН Георгия Сергеевича Муромцева; 15–16 апреля 2019 г.; Москва, Россия.* Москва: Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии; 2019. с. 55–56.

17. Yordi EG, Pérez EM, Matos MJ, Villares EU. Antioxidant and pro-oxidant effects of polyphenolic compounds and structure-activity relationship evidence. In: Bouayed J, Bohn T, editors. *Nutrition, well-being and health.* Rijeka: InTech; 2012. p. 23–48. DOI: 10.5772/29471.

18. Cao G, Sofic E, Prior RL. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. *Free Radical Biology and Medicine.* 1997;22(5):749–760. DOI: 10.1016/s0891-5849(96)00351-6.

References

1. Glick BR. Bacterial ACC deaminase and the alleviation of plant stress. *Advances in Applied Microbiology.* 2004;56:291–312. DOI: 10.1016/S0065-2164(04)56009-4.

2. Grichko VP, Glick BR. Amelioration of flooding stress by ACC deaminase containing plant growth promoting bacteria. *Plant Physiology and Biochemistry.* 2001;39(1):11–17. DOI: 10.1016/S0981-9428(00)01212-2.

3. Matés JM. Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology.* 2000; 153(1–3):83–104. DOI: 10.1016/S0300-483X(00)00306-1.

4. Ahmad P, Sarwat M, Sharma S. Reactive oxygen species, antioxidants and signaling in plants. *Journal of Plant Biology.* 2008; 51(3):167–173. DOI: 10.1007/BF03030694.

5. Hontzeas N, Hontzeas CE, Glick BR. Reaction mechanisms of the bacterial enzyme 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase. *Biotechnology Advances.* 2006;24(4):420–426. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2006.01.006.

6. Grichko VP, Filby B, Glick BR. Increased ability of transgenic plants expressing the bacterial enzyme ACC deaminase to accumulate Cd, Co, Cu, Ni, Pb and Zn. *Journal of Biotechnology.* 2000;81(1):45–53. DOI: 10.1016/S0168-1656(00)00270-4.

7. Sergeeva E, Shah S, Glick BR. Growth of transgenic canola (*Brassica napus* cv. Westar) expressing a bacterial 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase gene on high concentrations of salt. *World Journal of Microbiology and Biotechnology.* 2006; 22(3):277–282. DOI: 10.1007/s11274-005-9032-1.

8. Lee Y-P, Kim S-H, Bang J-W, Lee H-S, Kwak S-S, Kwon S-Y. Enhanced tolerance to oxidative stress in transgenic tobacco plants expressing three antioxidant enzymes in chloroplasts. *Plant Cell Reports.* 2007;26(5):591–598. DOI: 10.1007/s00299-006-0253-z.

9. Vurukonda SSKP, Vardharajula S, Shrivastava M, SkZ A. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. *Microbiological Research.* 2016;184:13–24. DOI: 10.1016/j.micres.2015.12.003.

10. Melnikava AA, Khramtsova AA, Karaleva KS, Rutkevich DA, Kukulianskaya TA. Expression analysis of *acdS*-gene of *Pseudomonas putida* B-37 in transgenic plants *Nicotiana tabacum*. *Journal of the Belarusian State University. Biology.* 2019;1:45–53. Russian. DOI: 10.33581/2521-1722-2019-1-45-53.

11. Dávalos A, Gómez-Cordovés C, Bartolomé B. Extending applicability of the oxygen radical absorbance capacity (ORAC-fluorescein) assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2004;52(1):48–54.

12. Ainsworth EA, Gillespie KM. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin – Ciocalteu reagent. *Nature Protocols.* 2007;2(4):875–877. DOI: 10.1038/nprot.2007.102.

13. Quettier-Deleu C, Gressier B, Vasseur J, Dine T, Brunet C, Luyckx M, et al. Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *Journal of Ethnopharmacology.* 2000;72(1–2):35–42. DOI: 10.1016/S0378-8741(00)00196-3.

14. Das N, Misra M, Misra AN. Sodium chloride salt stress induced metabolic changes in callus cultures of pearl millet (*Pennisetum americanum* L. Leeke): free solute accumulation. *Journal of Plant Physiology.* 1990;137(2):244–246. DOI: 10.1016/S0176-1617(11)80090-8.

15. Semak IV, Zyryanova TN, Gubich OI. *Biokhimiya belkov* [Biochemistry of proteins]. Minsk: Belarusian State University; 2007. 49 p. Russian.

16. Pristupa KV, Karaleva KS, Kukulianskaya TA, Rutkevich DA. [Assessment status of the antioxidant system transgenic plants *Nicotiana tabacum* under abiotic stress]. In: *Biotekhnologiya v rastenievodstve, zhivotnovodstve i sel'skokhozyaistvennoi mikrobiologii: sbornik tezisov dokladov 19-i Vserossiiskoi konferentsii molodykh uchenykh, posvyashchennoi pamyati akademika RASKhN Georgiya Sergeevicha Muromtseva; 15–16 aprelya 2019 g.; Moskva, Rossiya* [Biotechnology in crop production, animal husbandry and agricultural microbiology: a collection of abstracts of the 19th All-Russian conference of young scientists dedicated to the memory of academician of the Russian Academy of Agricultural Sciences Georgy Sergeyevich Muromtsev; 2019 April 15–16; Moscow, Russia]. Moscow: All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology; 2019. p. 55–56. Russian.

17. Yordi EG, Pérez EM, Matos MJ, Villares EU. Antioxidant and pro-oxidant effects of polyphenolic compounds and structure-activity relationship evidence. In: Bouayed J, Bohn T, editors. *Nutrition, well-being and health.* Rijeka: InTech; 2012. p. 23–48. DOI: 10.5772/29471.

18. Cao G, Sofic E, Prior RL. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. *Free Radical Biology and Medicine.* 1997;22(5):749–760. DOI: 10.1016/s0891-5849(96)00351-6.

Статья поступила в редколлегию 16.12.2019.
Received by editorial board 16.12.2019.