

## НАКОПЛЕНИЕ ПРОЛИНА И УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА *Dhn7* В РАСТЕНИЯХ ЯЧМЕНЯ С РАЗНОЙ ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТЬЮ

Спивак Е.А., Шалыго Н.В.

*ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»,  
Минск, Беларусь, spivak\_e@inbox.ru*

Белки дегидрины и аминокислота пролин являются важными компонентами системы осморегуляции растений.

Целью настоящей работы явилось изучение накопления пролина и уровня экспрессии гена *Dhn7*, отвечающего за синтез дегидрина, в проростках ячменя, обладающих разной засухоустойчивостью.

Предварительно определяли продолжительность засухи и величину водного дефицита (ВД), при которых происходит индукция работы системы осморегуляции. С этой целью изучали содержание пролина и уровень экспрессии гена *Dhn7* в проростках ячменя (*Hordeum vulgare* L.) сорта *Гонар* в условиях засухи. Проростки выращивали в почве. Для моделирования почвенной засухи опытные растения не поливали с момента высадки в грунт. Пробы для анализа отбирали через 7, 10, 13, 16 и 19 сут после посадки и определяли в них относительное содержание воды (ОСВ), после чего рассчитывали величину ВД в листьях (Табл. 1).

Анализ показал, что у 7–10-дневных опытных проростков ячменя ОСВ и количество пролина (Рис. 1, А) не отличались от контроля, ВД поддерживался на уровне, соответствующем оптимальной оводненности растительной ткани. Увеличение содержания пролина наблюдали у растений, выращиваемых в условиях почвенной засухи в течение 13 сут, при снижении ОСВ до  $90,9 \pm 0,3\%$  и ВД  $19,4 \pm 0,4\%$ . Максимальное количество пролина накапливалось в 16-дневных опытных проростках и превышало контрольный уровень в 40 раз. К 19 сут содержание пролина в растениях, выращиваемых в условиях засухи, снижалось, оставаясь при этом выше контроля. Анализ экспрессии *Dhn7* показал, что ПЦР-продукт вышеуказанного гена не регистрировался в контроле, а также в опытных проростках ячменя на 7-10 сутки после посадки. Экспрессия гена *Dhn7* впервые обнаруживалась у 13-дневных проростков. При этом количество ПЦР-продукта гена *Dhn7* возрастало по мере увеличения интенсивности стрессового воздействия. Так, у 19-дневных проростков ячменя уровень экспрессии гена *Dhn7* был на 17% выше, чем у 16-дневных, при этом относительное содержание воды в листьях к 19 сут снижалось (Рис. 1, Б).

Таблица 1 – Относительное содержание воды (ОСВ) и водный дефицит (ВД) в листьях проростков ячменя в условиях почвенной засухи разной продолжительности

Возраст проростков		7 суток	10 суток	13 суток	16 суток	19 суток
ОСВ, %	<i>Контроль</i>	91,8±0,6	93,3±0,2	92,9±0,2	92,7±0,2	93,4±0,4
	<i>Засуха</i>	92,5±0,4	92,7±0,2	90,9±0,3	85,4±0,1	76,2±4,4
ВД, %	<i>Засуха</i>	2,5±0,2	6,3±0,4	19,4±0,4	44,8±1,7	68,4±0,5

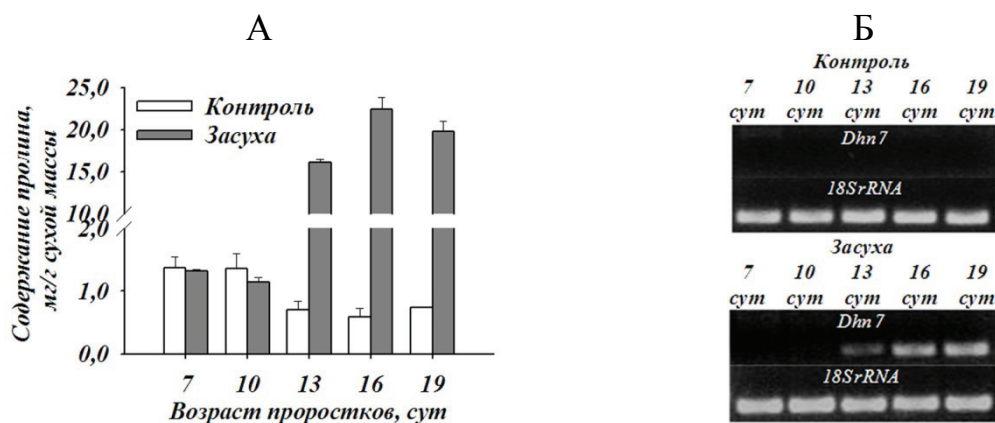


Рисунок 1 – Содержание пролина (А) и уровень экспрессии гена *Dhn7* (Б) в проростках ячменя сорта *Гонар*, выращиваемого в условиях постоянного полива (*Контроль*) и при засухе (*Засуха*)

Полученные результаты указывают на то, что индукция работы системы осмопротекции наблюдается у 13-дневных проростков ячменя при снижении ОСВ до 90,9±0,3% и ВД 19,4±0,4%.

В отдельной серии экспериментов проводили сравнительный анализ содержания пролина и уровня экспрессии *Dhn7* в ячмене с разной засухоустойчивостью. В опытах использовали 16-дневные проростки ячменя сортов *Бровар*, *Вакула*, *Якуб*, *Adagio* и *Мик-1*. В качестве эталона засухоустойчивости использовали проростки ячменя сорта *Гонар*.

Показано, что уровень пролина в ячмене эталонного сорта *Гонар*, достигал 28,2±1,6 мг/г сухой массы. Такое же количество пролина зарегистрировано в сортах *Вакула* и *Якуб*, в то время как в растениях сорта *Бровар* содержание пролина было в среднем на 20 % ниже, а в ячмене сортов *Adagio* и *Мик-1* – в 3-3,8 раза выше, чем в эталонном сорте (Рис. 2, А). То же наблюдали при анализе уровня экспрессии гена *Dhn7*. Уровень экспрессии *Dhn7* в ячмене сортов *Вакула* и *Якуб* был сравним с

уровнем экспрессии вышеуказанного гена в эталонном сорте *Гонар*. Наименьший уровень экспрессии *Dhn7* был у ячменя сорта *Бровар* и составлял 26% от контрольного уровня. Уровень экспрессии *Dhn7* у проростков ячменя сортов *Adagio* и *Мик-1* был на 50 и 60% выше, чем у сорта *Гонар*, соответственно (Рис. 2, Б).

Известно, что наиболее засухоустойчивым из исследованных сортов является *Бровар*, наименее засухоустойчивы сорта *Adagio* и *Мик-1*, а сорта *Гонар*, *Вакула* и *Якуб* занимают промежуточное положение [1].

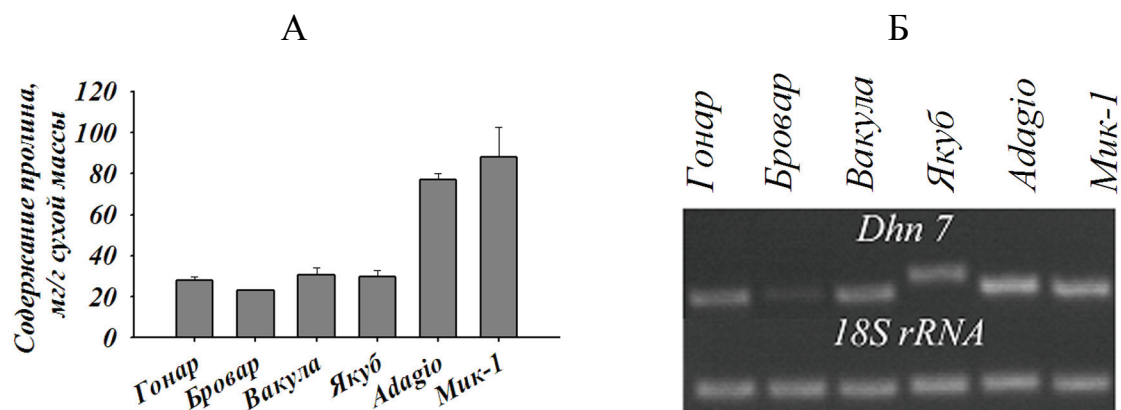


Рисунок 2 – Содержание пролина (А) и уровень экспрессии гена *Dhn7* (Б) в 16-дневных опытных проростках ячменя сортов *Гонар*, *Бровар*, *Вакула*, *Якуб*, *Adagio* и *Мик-1*

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что при равной продолжительности действия стрессового фактора в растениях, обладающих большей устойчивостью к засухе, система осмопротекции менее активна, чем в незасухоустойчивых растениях. Выявленная корреляция может быть использована в селекционном процессе для направленного выведения сортов растений, устойчивых к засухе.

### Литература

1. Доманская И.Н., Самович Т.В., Будакова Е.А., Спивак Е.А., Филипенко С.В., Шалыго Н.В. Уровень экспрессии генов защитной антиоксидантной системы как показатель устойчивости растений ячменя к почвенной засухе // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем: Междунар. науч. конф.; Девятый съезд белорусского общественного объединения фотобиологов и биофизиков, 23-25 июня 2010 г., Минск, Беларусь. – Мн.: Изд. центр БГУ, 2010. – 347 с.