

ходе апробации праймеров к ДНК-локусам генов, кодирующих белки дегидрины, была продемонстрирована их высокая специфичность, поскольку полученные ПЦР продукты при постановке горизонтального гель-электрофореза имели ожидаемую массу по отношению к стандартному ДНК маркеру молекулярного веса 100 bp (Праймтех, Беларусь).

Дегидрины представляют собой семейство мультифункциональных протекторов, способных защищать растение от множества абиотических стрессоров, не только подавляя активность АФК, но и предотвращая их образование в растительных клетках. Разработанные праймеры для ДНК-маркеров *DHN1* и *DHN2* в дальнейшем могут быть использованы для изучения изменения активности экспрессии генов, кодирующих дегидрины, при действии стресс-факторов, что позволит селекционерам создавать и отбирать наиболее устойчивые к неблагоприятным условиям среды генотипы *B. vulgaris*.

Библиографические ссылки

1. Вклад дегидринов в антиоксидантную защиту растений / Ч.Р. Аллагулова, Ф.М. Шакирова // Молекулярные аспекты редокс-метаболизма растений. Роль активных форм кислорода в жизни растений: Материалы II Международного симпозиума и международной научной школы, Уфа, 26 июня – 01 июля 2017 года / Редактор И.В. Максимов [и др.] – Уфа: ООО «Первая типография», 2017. – С. 48-51.

2. Дегидрины растений / Боровский Г.Б., Коротаева Н.Е., Уколова И.В. // ББК 28.58 Ф18. – 2016. – С. 16-18.

3. Перспективы генетической трансформации древесных растений генами дегидринов с целью очистки почв от тяжёлых металлов / Скороходова К.В. [и др.] // Биоразнообразие, состояние и динамика природных и антропогенных экосистем России. – 2021. – С. 293-297.

Изменения в антиоксидантной системе корней трансгенных растений табака со сверхэкспрессией гена ксилоглюканэндотрансгликозилазы *PtrXTH1* в условиях кадмиевого стресса

Бережнева З. А.^{А*}, Мусин Х. Г.^А, Кулуев Б. Р.^А

^А Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, лаборатория геномики растений, Уфа, Россия. *E-mail: berezhneva-z@yandex.ru

Ксилоглюканэндотрансгликозилазы (XTHs) являются апопластическими гидролитическими ферментами, осуществляющими реакции трансгликозилирования и расщепления связующих гликанов (ксилоглюканов), что способствует разрыхлению клеточной стенки корневой системы растений, что необходимо для роста клеток, особенно в условиях дефицита

влаги [1]. Абиотические стресс-факторы, такие как засоление, гипотермия и тяжелые металлы негативно влияют на растения из-за увеличения уровня окислительного стресса, образования активных форм кислорода (АФК) в клетках, которые могут разрушать структуру и компоненты растительной клетки. Белковые продукты генов *XTHs* выполняют важную роль в обеспечении роста растений при воздействии абиотических стресс-факторов, а также оказывают положительный эффект на устойчивость растений в данных условиях [2]. Однако молекулярные механизмы защитного эффекта *XTHs* на растения остаются малоизученной. Ген *PtrXTH1* кодирует одну из ксилоглюканэндотрансгликозилаз *Populus tremula* L., продукт которого участвует в адаптации растений к абиотическим стресс-факторам, таким как засуха и засоление [3].

Целью исследования являлась оценка состояния компонентов антиоксидантной системы корней трансгенных растений табака со сверхэкспрессией гена *PtrXTH1* в условиях кадмиевого стресса. Трансгенные растения табака с геном *PtrXTH1* были получены ранее в нашей лаборатории. В настоящем исследовании трансгенные растения проращивались в камерах роста Binder при температуре 25 °C, освещенности 140 мкмоль/(м²с) и фотопериоде 16/8 часов на среде Мурасиге-Скуга. После 10 дней проращивания на питательной среде с антибиотиком гигромицином проростки с одинаковыми размерами корней переносили на вертикально-ориентированные чашки Петри со средой МС при нормальных условиях и с добавлением 200 мкМ ацетата кадмия. Через 10 дней эксперимента был проведен анализ компонентов антиоксидантной системы корней и определено содержание общего растворимого белка.

По результатам оценки содержания общего растворимого белка (рис. 1а) выявлено, что в корнях трансгенных растений происходит большее его накопление при действии кадмиевого стресса, чем у дикого типа. В корнях трансгенных растений обнаружена повышенная по сравнению с диким типом общая антиоксидантная способность (рис. 1б), как при нормальных условиях, так и при воздействии кадмия. Активность супероксиддисмутазы (рис. 1в) была меньше у трансгенных растений по сравнению с диким типом, как при нормальных условиях, так и при действии стресса. При нормальных условиях каталазная активность (рис. 1г) была выше у трансгенных растений по сравнению с диким типом, а при стрессе существенно не отличалась. Активность аскорбатпероксидаз (рис. 1д) была больше в трансгенных растениях как при нормальных условиях, так и при кадмиевом стрессе по сравнению с диким типом. Активность гваяколпероксидазы (рис. 1е) как при нормальных условиях, так и при действии стрессовых факторов в корнях трансгенных растений находилась на уровне дикого типа.

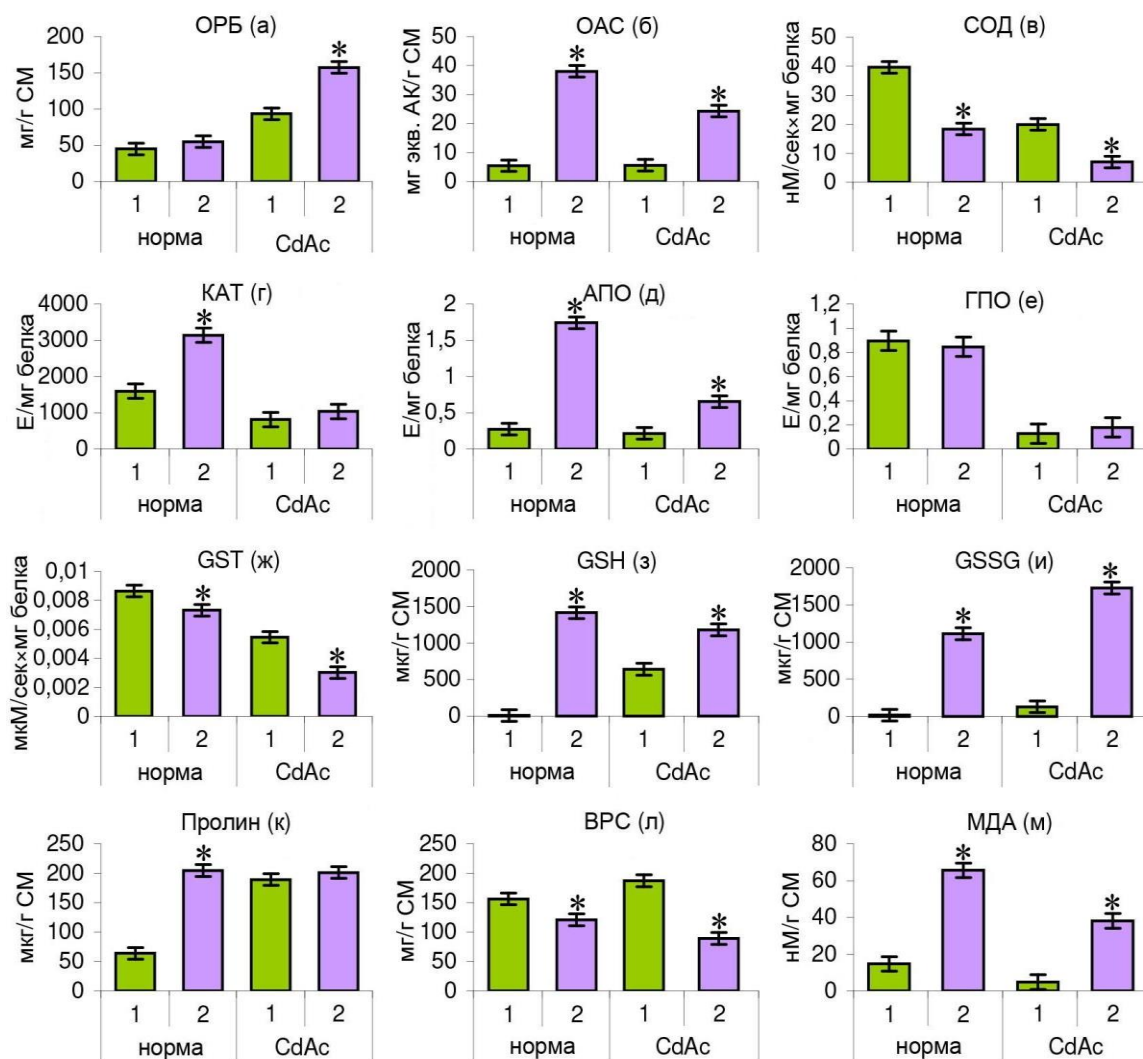


Рис. 1. Анализ компонентов антиоксидантной системы в корнях табака дикого типа и трансгенных растений со сверхэкспрессией гена *PtrXTH1* при нормальных условиях и при воздействии кадмиевого стресса (200 мкМ CdAc) через 10 дней после начала опыта на вертикально-ориентированных чашках Петри: а – содержание общего растворимого белка; б – общая антиоксидантная способность; в – активность супероксиддисмутазы; г – активность каталазы; д – активность аскорбатпероксидазы; е – активность гваяколпероксидазы; ж – активность глутатион-S-трансферазы; з – содержание восстановленного глутатиона; и – содержание окисленного глутатиона; к – содержание пролина; л – содержание водорастворимых сахаров; м – содержание малонового диальдегида. 1 – дикий тип, 2 – трансгенные растения со сверхэкспрессией гена *PtrXTH1*

Примечание: СМ – сырая масса. n =15. Норма – нормальные условия, CdAc – добавление 200 мкМ ацетата кадмия. Звездочками (*) обозначены достоверно различающиеся результаты после статистического анализа согласно тесту Duncan ($P \leq 0.05$)

Активность глутатион-S-трансферазы (рис. 1ж) в трансгенных растениях табака при нормальных условиях и при влиянии стресса в корнях трансгенных растений была существенно ниже, чем у дикого типа. При

нормальных условиях и при действии ацетата кадмия содержание восстановленного (рис. 1з) и окисленного (рис. 1и) глутатиона в корнях трансгенных растений было намного выше, чем у дикого типа. Содержание пролина (рис. 1к) было выше в трансгенных растениях со сверхэкспрессией гена *PtrXTH1* при нормальных условиях по сравнению с диким типом. При действии ацетата кадмия содержание пролина в корнях трансгенных растений существенно не отличалось от содержания пролина в корнях дикого типа. При нормальных условиях и при действии кадмиевого стресса содержание водорастворимых сахаров (рис. 1л) в трансгенных растениях табака было меньше по сравнению с диким типом. Содержание малонового диальдегида (рис. 1м) при нормальных условиях было в 4 раза больше в корнях трансгенных растений табака по сравнению с диким типом. При воздействии кадмия содержание малонового диальдегида в трансгенных растениях становится меньше, чем при нормальных условиях, но оставалось высоким по сравнению с диким типом при тех же стрессовых условиях.

Сверхэкспрессия гена *PtrXTH1* при действии кадмиевого стресса способствовала увеличению в корнях общей антиоксидантной способности, активности аскорбатпероксидазы, содержания окисленного и восстановленного глутатиона. Трансген *PtrXTH1* оказывал положительное влияние на активность компонентов антиоксидантной системы в корнях растений табака *Nicotiana tabacum* L. при нормальных условиях и действии кадмия. Ген *PtrXTH1* может быть рекомендован для создания трансгенных растений с повышенной устойчивостью к тяжелым металлам.

Библиографические ссылки

1. Van Sandt V.S., Suslov D., Verbelen J.P., Vissenberg K. Xyloglucan endotransglucosylase activity loosens a plant cell wall // *Annals of Botany* 100. 2007. PP. 1467-1473.
2. Бережнева З.А., Мусин Х.Г., Кулуев Б.Р. Рост корней трансгенных растений табака со сверхэкспрессией генов экспансинов и ксилоглюканэндотрансгликозилаз в условиях кадмиевого стресса // *Физиология растений*. 2022. Т. 69. № 5. С. 522-530.
3. Кулуев Б.Р., Бережнева З.А., Князев А.В., Никоноров Ю.М., Чемерис А.В. Участие генов ксилоглюканэндотрансгликозилаз *PtrXTH1* и *PnXTH1* в регуляции роста и адаптации растений к стресс-факторам // *Физиология растений*. – 2018, Т. 65, № 1. – С. 34-45.