

Таким образом, в настоящем исследовании был впервые установлен механизм выхода K^+ при стрессе, состоящий в активации K^+ -каналов под действием ГР. Обнаружена одна из физиологических функций этого явления, представляющая собой индукцию ПКС в ответ на абиотические и биотические стресс-факторы (рисунок).

Помимо значимости для фундаментальной биологии растений, представленное исследование впервые объясняет на клеточно-молекулярном уровне, амелиоративное действие K^+ при внесении в почву калийных удобрений.

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ *SRG6* И *CBF3* В ПРОРОСТКАХ ЯЧМЕНЯ В УСЛОВИЯХ АБИОТИЧЕСКОГО СТРЕССА

**Доманская И.Н., Радюк М.С., Спивак Е.А., Будакова Е.А.,
Вязов Е.В.**

*Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси,
Минск, Беларусь, domanin07@mail.ru*

В растительном организме существует эффективная многокомпонентная система защиты в ответ на внешние факторы, включающая низкомолекулярные антиоксиданты, антиоксидантные ферменты, стрессовые белки, антимикробные белки и пептиды, защитные гены, что позволяет растениям адаптироваться к абиотическим и биотическим видам стресса. Важная роль в защите растений от неблагоприятного воздействия абиотических факторов внешней среды принадлежит универсальным транскрипционным факторам, под контролем которых находится большое количество стрессовых белков, синтезирующихся в ответ на тот или другой вид стресса. В частности, к таким факторам транскрипции относятся *SRG* (stress-responsive gene), под контролем которого находится синтез стрессовых белков, реагирующих на засуху [1] и *CBF* (CRT-binding factor), контролирующей синтез белков низкотемпературного стресса [2]. В настоящей работе изучена экспрессия генов *SRG6* и *CBF3* в разных сортах ячменя в условиях засухи и действия низких температур.

Зеленые проростки ярового ячменя разных сортов выращивали до 7-дневного возраста в лабораторных условиях при температуре 23°C в режиме 14 ч света и 10 ч темноты при $100 \mu E m^{-2} s^{-1}$. Затем растения подвергали низкотемпературному стрессу (-4°C, 5 ч), в ходе которого часть полностью замерзала, а другая часть оставалась неповрежденной. Вы-

жившие после низкотемпературного стресса растения использовали для ПЦР-анализа. Контролем служили растения, выращиваемые при +23°C. При моделировании условий засухи ячмень выращивали до 16 сут без полива (опыт). Контролем служили проростки сорта Гонар, которые регулярно поливали. Из контрольных и опытных образцов выделяли РНК, на их матрицах с помощью реакции обратной транскрипции синтезировали комплементарную кДНК. Для амплификации нами рассчитаны специфические праймеры для фрагментов генов *SRG6* и *CBF3*. ПЦР-анализ проводили с использованием кДНК, праймеров для фрагментов генов *SRG6* и *CBF3*, а также праймеров для гена-нормализатора *18 s-PHK* (табл.1). После проведения ПЦР-анализа продукты реакции разделяли с помощью электрофореза в 2%-ном агарозном геле и проводили количественное сравнение синтезированных фрагментов относительно гена *18 s-PHK*.

Таблица 1 – Нуклеотидная последовательность прямых (fw) и обратных (rv) праймеров

Ген	Последовательность (5'→3')
<i>HvCBF3</i> -fw	ctcctcgtcctcagtaa
<i>HvCBF3</i> -rv	gagacctcaagccatgtc
<i>SRG6</i> - fw	agaggggaggtgaagaaaa
<i>SRG6</i> - rv	cacggtatttggcaggaagt

Экспрессия гена *SRG6* в контрольных растениях не обнаружена, он активировался только в условиях засухи. При этом больше всего экспрессия гена *SRG6* увеличивалась в проростках сорта Мик-1 и меньше всего в проростках сорта Вакула. Сорта Гонар, Бровар и Якуб по уровню экспрессии гена *SRG6* занимали промежуточное положение (табл. 2).

Ранее нами показано, что сорт Бровар более устойчив к засухе по сравнению с сортом Якуб [3]. Таким образом, проведенные эксперименты указывают на существование обратной зависимости между устойчивостью к засухе и уровнем экспрессии гена *SRG6*.

Экспрессия гена *HvCBF3* в контрольных растениях не зарегистрирована. В яровом ячмене она индуцировалась холодной обработкой (5 ч при -4°C) и практически полностью подавлялась при переносе растений в первоначальные условия выращивания. Выявление генотипических различий экспрессии гена фактора транскрипции *HvCBF3* при

низкотемпературном стрессе проводили с использованием ячменя сортов Бровар, Мик-1, Вакула и Якуб. Установлено, что значительная экспрессия гена *HvCBF3* после низкотемпературного стресса регистрировалась во всех изученных сортах. При этом менее морозоустойчивые сорта Якуб и Мик-1 показали более высокий уровень экспрессии, чем более холодостойкие Бровар и Вакула (табл. 3), что указывает на обратную корреляцию между устойчивостью различных сортов ячменя к низкой температуре и степенью экспрессии фактора транскрипции *CBF3*.

Таблица 2 – Уровень экспрессии гена фактора транскрипции *SRG6* в проростках ярового ячменя разных сортов в условиях засухи

Варианты	Уровень экспрессии гена <i>SRG6</i> , % к контролю	
Гонар, контроль	100	-
Гонар, опыт	223	100
Бровар, опыт	192	186
Вакула, опыт	108	48
Якуб, опыт	215	96
Мик-1, опыт	319	143

Таблица 3 – Уровень экспрессии гена *CBF3* в проростках ярового ячменя в условиях низкотемпературного стресса

Сорт ячменя	Уровень экспрессии гена <i>CBF3</i>
Бровар	100%
Вакула	96%
Мик 1	120%
Якуб	127%

Полученные результаты указывает на сортовые особенности экспрессии генов *CBF3* при низкотемпературном стрессе и *SRG6* при засухе. При этом устойчивость растений к засухе и низким температурам находится в обратной зависимости от уровня экспрессии генов, кодирующих факторы транскрипции *SRG6* и *CBF3* соответственно.

Литература

1. Malatrasi M, Close TJ, Marmioli N. Identification and mapping of a putative stress response regulator gene in barley // Plant Molecular Biology. 2002. Vol. 50. P. 143-152.
2. Choi D.-W., Rodriguez E. M., Close T. J. Barley *Cbf3* gene identification, expression pattern and map location // Plant Physiology. 2002. Vol. 129, N 4. P. 1781-1787.

3. Доманская И.Н., Самович Т.В., Будакова Е.А., Спивак Е.А., Филиппенко С.В., Шалыго Н.В. Уровень экспрессии генов защитной антиоксидантной системы как показатель устойчивости ячменя к почвенной засухе // 9 съезд БООФИБ, Минск, 2010, С.141-143.

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ЗАЩИТНЫХ БЕЛКОВ МИТОХОНДРИЙ В ПРОРОСТКАХ ЯЧМЕНЯ (*HORDEUM VULGARE*) ПРИ СОВМЕСТНОМ ДЕЙСТВИИ НИЗКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ И ОВОДНЕНИЯ

Дремук И.А., Шалыго Н.В.

*ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии
НАН Беларуси», Минск, Беларусь*

В условиях абиотического стресса в клетках растений реализуется программа избирательной экспрессии генов, в регуляции которой непосредственное участие принимают митохондрии [1]. Известно, что низкотемпературный стресс приводит к изменениям липидного состава митохондриальных мембран, нарушению функционирования электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) и увеличению уровня экспрессии генов защитных белков, в частности, альтернативной оксидазы (АО) и АТФ/АДФ-антипортера, участвующих в защите клетки от окислительного стресса [2,3]. Имеются данные о снижении уровня экспрессии генов АО в условиях гипоксии [1]. Целью нашей работы явилось изучение влияния совместного действия низкой температуры (НТ) и оводнения, т.е. избыточного увлажнения (ИУ) на уровень экспрессии генов митохондриальных белков - АТФ/АДФ-антипортера (*ANT*) и АО (*AOX1*), в зеленых проростках ячменя.

В качестве объекта исследования использовали зеленые проростки ячменя (*Hordeum vulgare* L.) сорта Гонар, выращенные при температуре +23°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) в режиме 14 ч света интенсивностью 150 мкмоль квантов/(м²·с) и 10 ч темноты. Для моделирования совместного действия низкотемпературного стресса и оводнения 5-дневные растения ячменя на 3-е суток помещали в холодильную камеру с температурой +4°C (стрессовый период) и указанным выше фотопериодом и заливали водой до середины coleoptilia, после чего растения возвращали на 3-е суток в нормальные условия выращивания (постстрессовый период). Пробы для исследования брали через 24 и 72 ч после начала действия стресса, а также