

УДК 581.1

ВЛИЯНИЕ НИЗКИХ И ВЫСОКИХ ЗАКАЛИВАЮЩИХ И ПОВРЕЖДАЮЩИХ ТЕМПЕРАТУР НА УРОВЕНЬ ТРАНСКРИПТОВ ГЕНА *BI-1* У ПШЕНИЦЫ

Л. В. Топчиева, В. В. Таланова, А. Ф. Титов, И. А. Нилова,
Н. С. Репкина, Ю. В. Венжик

Институт биологии Карельского научного центра РАН

Изучена динамика содержания транскриптов антиапоптотического гена *BI-1* у растений озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Московская 39 при воздействии низких (4 и -2 °C) и высоких (37 и 43 °C) закаливающих и повреждающих температур. Показано, что под влиянием низкой закаливающей температуры (4 °C) происходит постепенное повышение холодоустойчивости листьев проростков, сопровождающееся в начальный период накоплением транскриптов гена *BI-1*. При повреждающей температуре (-2 °C) холодоустойчивость клеток и уровень мРНК гена *BI-1*, напротив, снижаются. Воздействие высокой закаливающей температуры (37 °C) приводило к повышению теплоустойчивости проростков вплоть до окончания эксперимента (третьи сутки). Содержание транскриптов гена *BI-1* в листьях при этом значительно возрастало уже в начальный период теплового воздействия, а в дальнейшем сохранялось практически неизменным. При действии на проростки высокой повреждающей температуры (43 °C) первоначально происходил быстрый рост их теплоустойчивости и многократное повышение содержания транскриптов гена *BI-1* в листьях, которые затем сменялись резким снижением этих показателей. На основании анализа холодо- и теплоустойчивости, а также уровня транскриптов гена *BI-1* в клетках листьев пшеницы **сделан вывод, что разные по интенсивности и характеру воздействия на растения (закаливающее и повреждающее) низкие и высокие температуры вызывают неодинаковые как в количественном, так и в качественном отношении изменения не только в их устойчивости, но и сопровождаются различными изменениями в экспрессии гена антиапоптотического белка BI-1.**

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L.; низкие и высокие температуры; устойчивость; экспрессия гена *BI-1*; программируемая клеточная смерть.

L. V. Topchieva, V. V. Talanova, A. F. Titov, I. A. Nilova, N. S. Repkina, Yu. V. Venzhik. EFFECT OF LOW AND HIGH HARDENING AND DAMAGING TEMPERATURES ON THE TRANSCRIPTION LEVEL OF *BI-1* GENE IN WHEAT

The dynamics of transcripts of anti-apoptotic *BI-1* gene in wheat plants (*Triticum aestivum* L.) of cv. Moscovskaya 39 subjected to low (4 and -2 °C) and high (37 and 43 °C) hardening and damaging temperatures was studied. It was shown that cold tolerance in plants was raised under the impact of low hardening temperature (4 °C), accompanied in the initial stage by the accumulation of transcripts of *BI-1* gene. In contrast, cold tolerance and *BI-1* mRNA level decreased under the impact of low damaging temperature

(-2 °C). The impact of high hardening temperature resulted in an increase of thermal stability of plants until the end of the experiment (the 3rd day). The content of *BI-1* transcripts rose significantly under the same conditions in the initial period of exposure and then remained unchanged. The influence of high damaging temperature (43 °C) led to a rapid increase in plant thermotolerance and the expression level of *BI-1* gene in the initial period of exposure, followed by a sharp decline of these indicators. The data obtained suggest that thermotolerance in plants can vary not only quantitatively and qualitatively, but the expression of anti-apoptotic *BI-1* gene changes differently as well, depending on the nature (low or high) and intensity (hardening or damaging) of temperatures.

Key words: *Triticum aestivum* L.; low and high temperatures; tolerance; expression of *BI-1* gene; programmed cell death.

Введение

В процессе эволюции у растений сформировалось большое количество разнообразных механизмов защиты от воздействия неблагоприятных факторов среды; один из них связан с системой клеточного контроля качества белка. Считается, что эта система играет важную роль в способности клеток и растения в целом адаптироваться в стрессовых условиях, и поэтому в последнее время ей уделяется особое внимание [Liu, Howell, 2010]. Система контроля качества белка очень чувствительна к действию таких биотических и абиотических факторов среды, как патогены, тепловое воздействие, засоление. При стрессовых воздействиях в клетках растений могут накапливаться неправильно синтезированные, несвернутые или неправильно свернутые белки. При этом эндоплазматический ретикулум (ЭР) может испытывать значительную перегрузку, которая усугубляется еще и тем, что в неблагоприятных условиях усиливается синтез стрессовых белков, значительная часть которых являются секреторными. Указанные процессы способствуют снижению эффективности работы системы контроля качества белка в ЭР и развитию так называемого стресса эндоплазматического ретикулума (ЭР-стресс) [Liu, Howell, 2010]. В клетках животных и растений существует механизм защиты от ЭР-стресса, названный «ответ на неупакованные белки» (UPR – unfolded protein response). Он заключается в ограничении поступления новых белков в полость ЭР, перемещении из ЭР в цитоплазму дефектных белков и последующей их деградации. Однако если этот механизм оказывается недостаточным для преодоления ЭР-стресса, в клетке могут развиваться последовательно идущие реакции, приводящие к программируемой клеточной смерти (ПКС). Установлено, что под влиянием неблагоприятных факторов среды в растениях активизируются процессы, которые могут привести к гибели клеток. Как и у животных, этот процесс может

носить организованный характер (ПКС) или осуществляться хаотично, приводя к некрозу. ПКС растений по некоторым морфологическим и биохимическим признакам напоминает апоптоз клеток животного происхождения, в связи с чем в последнее время принято обозначать этот вид разрушения растительных клеток как апоптозоподобная гибель [Ванюшин, 2001]. ПКС в растениях можно наблюдать при ксилогенезе, дифференциации ситовидных элементов флоэмы, деградации алейроновых зерен и старении [Ванюшин, 2001]. Развитие реакции сверхчувствительности (СВЧ) клеток в ответ на заражение патогенными микроорганизмами также сопровождается отмиранием клеток в очаге повреждения. Появляется все больше работ, в которых показано, что ПКС является неотъемлемым элементом при формировании ответа растений на действие различных абиотических факторов, в том числе низких положительных и отрицательных температур [Любушкина и др., 2010], высоких температур [Balk et al., 1999].

В регуляции ЭР-зависимой ПКС, наряду с другими белками, такими как BiP, GRP94, участвует белок Вах ингибитор (BI-1) [Liu, Howell, 2010], локализованный в мембране ЭР клеток млекопитающих и растений. Название данного белка основывается на его способности ингибировать гибель клеток, вызванную повышением активности апоптотического белка Вах при развитии окислительного стресса в клетках животных и трансгенных по этому гену растений [Watanabe, Lam, 2009]. Экспрессия гена *BI-1* в растениях, в частности у *Arabidopsis thaliana*, может индуцироваться различными факторами через UPR сигнальный путь до появления видимых признаков гибели клеток [Watanabe, Lam, 2008]. Данные литературы свидетельствуют о защитной роли белка BI-1 в устойчивости растений к ЭР-стрессу, возникающему в растениях в ответ на неблагоприятные воздействия [Watanabe, Lam, 2009]. Например, в экспериментах с трансгенными

Характеристика праймеров и их последовательность

Ген	Прямой и обратный праймеры	Нуклеотидная последовательность праймера 5'...3'	Номер доступа в базе данных NCBI
<i>BI-1</i>	прямой	CCAGCGGATGGGGCTACGACT	GU564292.1
	обратный	GCGAGCATTGTCAGCATCCCG	
<i>Actin</i>	прямой	GGGACCTCACGGATAATCTAATG	AB181991
	обратный	AACCTCCACTGAGAACAACATTAC	

растениями показано, что сверхэкспрессия в клетках гена *BI-1* этого белка способствует супрессии ПКС при их обработке элиситорами и салициловой кислотой, действию высоких и низких температур [Chae et al., 2003; Matsumura et al., 2003; Kawai-Yamada et al., 2004].

Следует отметить, что роль этого белка в предотвращении повреждения клеток подтверждена главным образом в экспериментах с трансгенными растениями и на дрожжах со сверхэкспрессией гена *BI-1* животного или растительного происхождения. Однако данные по экспрессии гена *BI-1* при действии на растения неблагоприятных факторов среды с одновременным контролем устойчивости в литературе пока единичны [Isbat et al., 2009; Chen et al., 2013; Zhao et al., 2014]. Вместе с тем именно одновременное изучение уровня экспрессии генов и характера изменений устойчивости представляет собой один из наиболее эффективных подходов при оценке вклада конкретных генов и кодируемых ими белков в ответные реакции растений на те или иные неблагоприятные воздействия. Учитывая это, нами проведено сравнительное исследование динамики уровня транскриптов гена *BI-1* и устойчивости растений пшеницы при воздействии на них низких и высоких температур, вызывающих закаливающий (адаптационный) или повреждающий эффект.

Материалы и методы

Исследования проводили с проростками озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Московская 39, которые выращивали в рулонах фильтровальной бумаги на питательном растворе Кнопа (рН 6,2–6,4) в климатической камере при температуре воздуха 22 °С, его относительной влажности 60–70 %, освещенности 10 клк и фотопериоде 14 ч. По достижении недельного возраста проростки подвергали воздействию низких (4 и –2 °С) или высоких (37 и 43 °С) температур. Продолжительность воздействия составляла от 15 мин до 7 сут. Прочие условия сохраняли неизменными в течение всего эксперимента.

О холодо- и теплоустойчивости проростков судили по температуре (LT_{50}), вызывающей

гибель 50 % палисадных клеток листа после 5-минутного тестирующего промораживания в микрохолодильнике ТЖР-02/-20 («Интерм», Россия) [Балагурова и др., 1982] или прогрева в водном термостате [Александров, 1963]. Жизнеспособность клеток оценивали с помощью светового микроскопа Микмед-2 («ЛОМО», Россия) по деструкции хлоропластов и коагуляции цитоплазмы.

Для изучения экспрессии генов навеску из листьев (50 мг) фиксировали в жидком азоте. Тотальную РНК выделяли с помощью набора Extract RNA (Евроген, Россия). Количество и качество тотальной РНК определяли методом капиллярного электрофореза на системе Experion (Bio-Rad, США). Тотальную РНК обрабатывали ДНКазой (1 е.а.). кДНК синтезировали, используя набор для обратной транскрипции с M-MLV обратной транскриптазой и случайными гексапраймерами (Евроген, Россия). Количество и качество выделенной кДНК определяли спектрофотометрически на приборе SmartSpec Plus (Bio-Rad, США). Уровень экспрессии генов растений оценивали с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени на приборе iCycler с оптической приставкой iQ5 (Bio-Rad, США), используя набор для амплификации с интеркалирующим красителем SYBR Green (Евроген, Россия). Праймеры (Евроген, Россия) для проведения ПЦР представлены в табл. 1. Смесь для ПЦР объемом 25 мкл содержала 100 нг кДНК, по 1 пкМ прямого и обратного праймеров, 5 мкл реакционной смеси и 16 мкл деионизованной воды, свободной от нуклеаз. Протокол ПЦР: денатурация кДНК 5 мин при 95 °С; 40 циклов: денатурация при 95 °С 30 с; отжиг при 56 °С 30 с; элонгация при 72° 30 с. Специфичность продуктов амплификации проверяли плавлением ПЦР фрагментов. Эффективность ПЦР (98 %) оценивали по стандартной кривой. Уровень транскриптов генов вычисляли по формуле:

$$\text{Уровень транскриптов} = \Delta Ct,$$

где ΔCt – разница значений пороговых циклов контрольного и тестового образцов.

В качестве контрольных образцов были выбраны кДНК, выделенные из растений, не подвергнутых воздействию стресс-факторов.

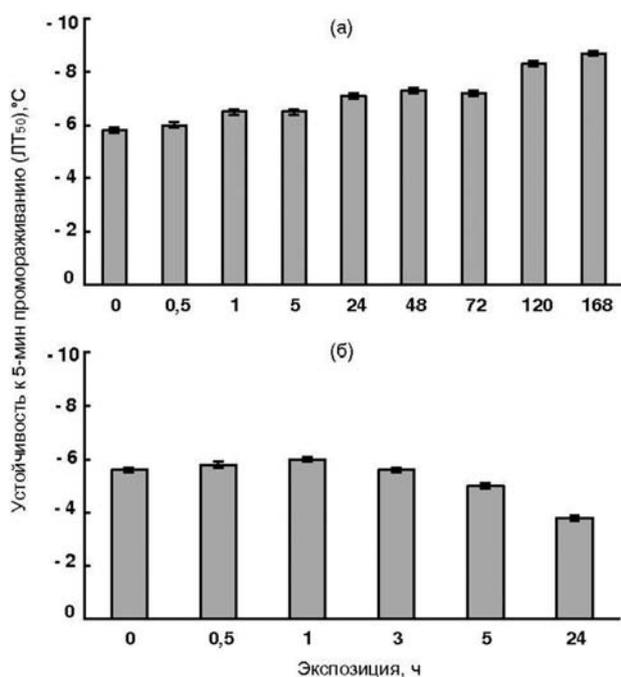


Рис. 1. Динамика устойчивости к промораживанию клеток листьев проростков пшеницы при воздействии температуры 4 °С (а) и –2 °С (б)

В качестве референсного гена использовали актин.

Повторность в пределах каждого варианта отдельного опыта при анализе устойчивости – 6-кратная, при анализе экспрессии генов – 3-кратная. Каждый опыт повторяли не менее 2–3 раз. О достоверности различий судили с помощью критерия Стьюдента при $p < 0,05$. На рисунках приведены средние арифметические значения и их стандартные ошибки.

Исследования выполнены на научном оборудовании ЦКП НО Института биологии КарНЦ РАН «Комплексные фундаментальные и прикладные исследования особенностей функционирования живых систем в условиях Севера».

Результаты

*Влияние низких температур на морозоустойчивость проростков пшеницы и уровень транскриптов гена *BI-1* в их листьях*

Воздействие на проростки пшеницы температуры 4 °С вызывало постепенное повышение устойчивости листьев к краткосрочному промораживанию: с –5,8 (исходное значение) до –8,7 °С (на 7-е сутки воздействия) (рис. 1, а).

В начальный период действия (0,5–1 ч) на проростки температуры –2 °С также наблюдали небольшое, но достоверное повышение

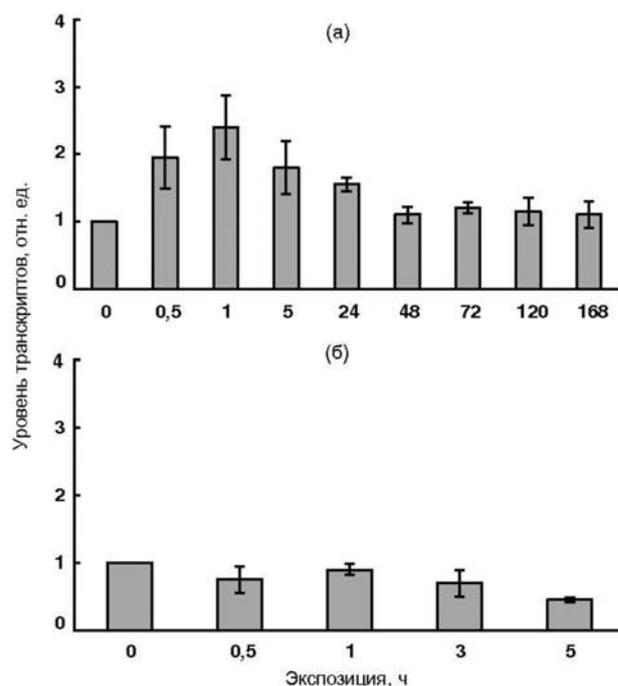


Рис. 2. Динамика уровня транскриптов гена *BI-1* в клетках листьев проростков пшеницы при воздействии температуры 4 °С (а) и –2 °С (б). Здесь и на рис. 4 содержание транскриптов гена *BI-1* при 22 °С принято за единицу

устойчивости клеток листьев к промораживанию (рис. 1, б). Однако с увеличением экспозиции растений в этих условиях устойчивость начинала снижаться, и уже через 1 сут она была заметно ниже исходного уровня. Следовательно, действие на проростки пшеницы температуры –2 °С носило повреждающий характер.

Наряду с ростом морозоустойчивости в ответ на действие температуры 4 °С в клетках листьев пшеницы происходило быстрое (уже через 30 мин) повышение уровня транскриптов гена *BI-1* (рис. 2, а). Максимальный уровень транскриптов этого гена (почти двухкратное его повышение по сравнению с исходным уровнем) зарегистрирован через 1 ч от начала холодного закаливания. К концу первых суток действия температуры 4 °С содержание транскриптов гена *BI-1* несколько уменьшалось, при более длительном воздействии оно продолжало снижаться и через 3–7 сут было близким к исходному значению.

В отличие от этого при действии температуры –2 °С в листьях пшеницы отмечено снижение содержания мРНК гена *BI-1* по сравнению с исходным уровнем (рис. 2, б). Таким образом, кратковременное повышение устойчивости листьев проростков пшеницы в начальный период действия отрицательной температуры не сопровождалось увеличением в их клетках уровня транскриптов гена *BI-1*.

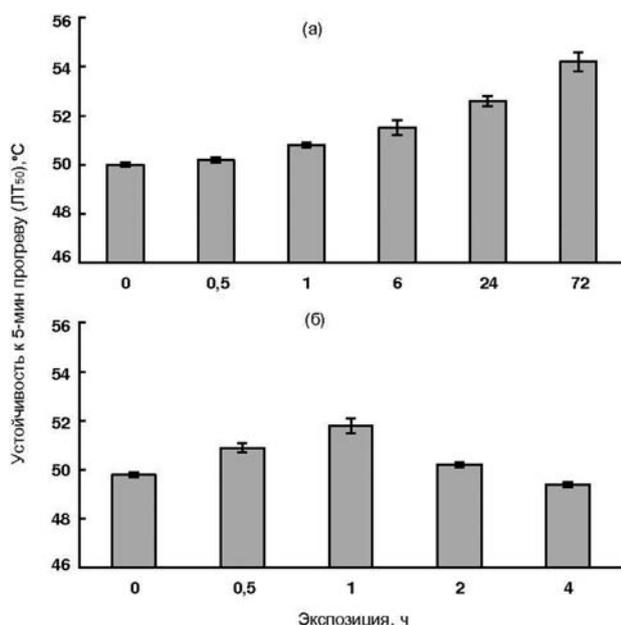


Рис. 3. Динамика теплоустойчивости проростков пшеницы при воздействии температуры 37 °С (а) и 43 °С (б)

*Влияние высоких температур на теплоустойчивость проростков пшеницы и уровень транскриптов гена *BI-1* в их листьях*

Под влиянием температуры 37 °С теплоустойчивость клеток листьев пшеницы заметно возрастала уже через 1 ч, затем она продолжала быстро повышаться. На третьи сутки теплоустойчивость листьев превосходила исходное значение более чем на 4 градуса (рис. 3, а).

Температура 43 °С оказывала иное воздействие на теплоустойчивость пшеницы. В этом случае отмечен быстрый (уже через 30 мин) рост устойчивости к прогреву, продолжающийся в течение 1 ч. Однако через 2 ч наблюдали резкое снижение теплоустойчивости, в результате чего спустя 4 ч она была ниже исходного уровня (рис. 3, б).

Воздействие высоких температур на проростки пшеницы приводило к значительному увеличению содержания транскриптов *BI-1* в клетках листьев. При температуре 37 °С уже через 0,5 ч происходило повышение содержания транскриптов гена *BI-1* до максимального уровня (примерно в 3 раза), который в дальнейшем сохранялся практически неизменным в течение всего периода теплового воздействия (рис. 4, а).

Под влиянием температуры 43 °С через 0,5 ч происходило десятикратное повышение уровня транскриптов гена *BI-1* (рис. 4, б).

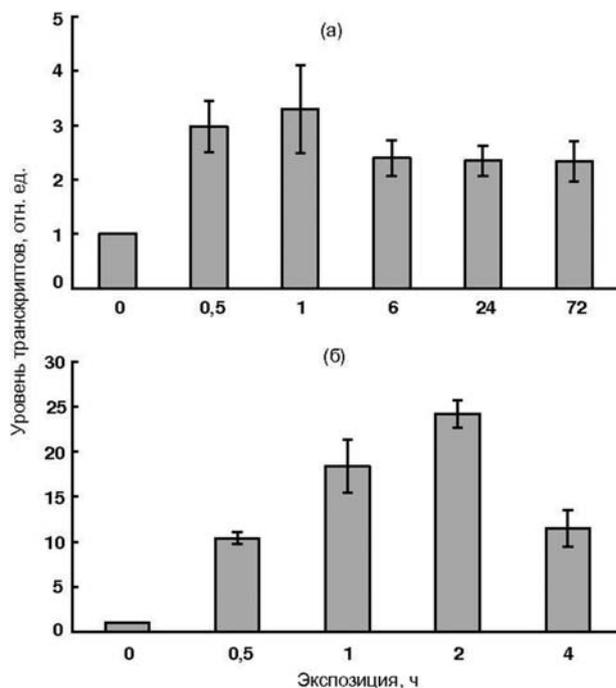


Рис. 4. Уровень транскриптов гена *BI-1* в листьях проростков пшеницы при воздействии температуры 37 °С (а) и 43 °С (б)

В последующие 2 ч высокотемпературного воздействия содержание транскриптов этого гена увеличивалось почти в 25 раз, затем оно резко снижалось относительно максимума, но все равно было выше исходного уровня.

Обсуждение

Результаты проведенных исследований показали, что характер реакции растений пшеницы зависит от интенсивности низких и высоких температур, точнее, от того, является ли действующая на растения температура закалывающей или повреждающей. Так, под влиянием температуры 4 °С происходило постепенное повышение холодоустойчивости, а при –2 °С сначала небольшое ее повышение, а затем снижение. При температуре 37 °С теплоустойчивость увеличивалась вплоть до конца эксперимента, в то время как при температуре 43 °С она вначале быстро возрастала, а затем резко снижалась. Важно и то, что максимальный уровень устойчивости к прогреву, достигаемый при действии на проростки повреждающей температуры, заметно уступал ее максимальному значению при закаливании в условиях температуры 37 °С.

Сопоставление динамики теплоустойчивости и уровня транскриптов гена *BI-1* позволяет сделать предположение о вовлечении этого гена и кодируемого им белка *BI-1* в реакцию

проростков пшеницы на действие и низких, и высоких закаливающих температур. Об этом свидетельствует тот факт, что рост устойчивости проростков пшеницы в начальный период холодого закаливания сопровождается увеличением экспрессии гена *BI-1*. Напротив, в ответ на действие низкой повреждающей температуры, когда повышение устойчивости проростков незначительно и носит кратковременный характер, в клетках листьев проростков отмечено не повышение, а снижение экспрессии гена *BI-1*. Следует также отметить, что первоначальное увеличение уровня транскриптов гена *BI-1* при действии температуры 37 °С наблюдали уже в первые 30 мин от его начала, что предшествовало повышению теплоустойчивости растений. При более высокой температуре (43 °С) характер изменения устойчивости и содержания кДНК гена в клетках листьев совпадали.

Интересно также отметить, что характер изменения содержания транскриптов этого гена при действии низких и высоких температур различался. Если при холодом закаливании накопление транскриптов гена *BI-1* происходило в его начале, то при действии высоких температур – в течение всего эксперимента. Более того, максимальный уровень транскриптов этого гена при действии температуры 43 °С значительно превышал таковой при действии холода.

Следует также отметить, что хотя имеются и некоторые отличия в динамике накопления транскриптов гена *BI-1* при низкой и высокой закаливающей температуре, в обоих случаях нами зарегистрировано повышение транскрипционной активности гена в листьях проростков пшеницы. Такую общность в характере изменения уровня экспрессии гена *BI-1* при данных воздействиях можно объяснить тем, что как низкие, так и высокие температуры способны индуцировать в клетках растений окислительный стресс, сопровождающийся резким увеличением концентрации активных форм кислорода [Miller et al., 2008]. Последние могут участвовать в трансдукции сигнала, запускающего процессы, ведущие как к повышению устойчивости клеток к неблагоприятным температурам, так и к гибели клеток в зависимости от интенсивности воздействия. Оказалось, что в клетках трансгенных растений с повышенной экспрессией белка *BI-1* концентрация активных форм кислорода практически не изменялась в ответ на действие факторов, индуцирующих окислительный стресс [Kawai-Yamada et al., 2004]. Это может свидетельствовать о вовлечении данного белка в защиту клеток от чрезмерного накопления этих молекул и АФК-зависимой ПКС.

Об участии гена *BI-1* и кодируемого им белка *BI-1* в устойчивости растений к разного вида биотическим и абиотическим неблагоприятным факторам говорят также и данные литературы. Как уже отмечалось, основная функция кодируемого геном *BI-1* антиапоптотического белка *BI-1* – ингибирование ПКС. Неблагоприятные температуры, так же как и другие абиотические факторы среды, например высокое содержание в почве солей, тяжелых металлов, способны индуцировать гибель клеток растений [Isbat et al., 2009]. Повышение уровня экспрессии гена *BI-1* у трансгенных растений способствует подавлению развития ПКС, индуцированной различными стрессорами [Kawai et al., 1999; Kawai-Yamada et al., 2004; Wang et al., 2012]. Напротив, нокаут этого гена приводит к ускорению процессов, приводящих к клеточной смерти. Например, у растений *Arabidopsis thaliana*, у которых отсутствует экспрессия гена *BI-1*, в ответ на обработку грибным токсином фумонизином или высокими температурами регистрировали ускоренное развитие признаков апоптозоподобной деградации клеток [Watanabe, Lam, 2006].

Как в растительных, так и в животных клетках в запуске ПКС могут участвовать различные клеточные компартменты. Один из них – ЭР, играющий важную роль в контроле за качеством клеточных белков [Liu, Howell, 2010]. Как уже отмечалось, при избыточном накоплении в его полости аномальных белков развивается ЭР-стресс. При этом инициируются сигналы, которые могут быть направлены как на активацию защитного механизма, названного «ответ на неупакованные белки», так и на индукцию ПКС. Направленность этих сигналов, вероятнее всего, определяется силой и длительностью действующего на растения фактора [Lisbona et al., 2009].

BI-1 является трансмембранным белком, локализованным в мембране ЭР. Вероятнее всего, данный белок проявляет свои защитные функции через участие в контроле за качеством белков при развитии ЭР-стресса. Предполагается, что *BI-1* влияет на гомеостаз ионов, в том числе катионов кальция, в ЭР [Ihara-Ohori et al., 2007]. Известно, что ионы кальция являются универсальными мессенджерами, которые вовлечены в клеточный сигналинг. Изменение потока кальция между ЭР, цитоплазмой и митохондриями может служить сигналом для запуска ПКС. Белок *BI-1*, вероятно, может регулировать этот поток, участвуя таким образом в подавлении ПКС. Так, сверхэкспрессия белка *Bcl-2*, подобного *BI-1*, снижает уровень Ca^{2+} в ЭР клеток млекопитающих [Foyouzi-Youssefi et al., 2000]. Повышение экспрессии апоптотического белка *Bax*,

вызванное различными факторами, приводит к усилению продукции АФК в клетках растений, разрушению органелл и выходу ионов из клеток [Baek et al., 2004]. В клетках трансгенных растений *Arabidopsis thaliana* со сверхэкспрессией генов, кодирующих Вах и BI-1, наблюдали увеличение содержания АФК без изменения ионной проницаемости клеточных мембран [Kawai-Yamada et al., 2004]. Хотя BI-1 ингибирует действие апоптотического белка Вах, он с ним не связан напрямую. Контроль за ПКС, скорее всего, этот белок осуществляет через регуляцию потоков внутриклеточного кальция [Kawai-Yamada et al., 2004].

Возможны и другие пути вовлечения антиапоптотического белка BI-1 в контроль за качеством белков и развитием клеточной смерти. В частности, он может образовывать комплекс с цитохромом b5 и гидроксилазой жирных кислот FАН и вовлекаться в 2-гидроксилирование сфинголипидов [Nagano et al., 2009]. Например, у трансгенных растений *Arabidopsis thaliana* со сверхэкспрессией BI-1 наблюдали увеличение уровня длинноцепочечных 2-гидрокси-жирных кислот [Nagano et al., 2009]. Следовательно, этот белок может участвовать в модификации липидного спектра растений в условиях стресса и модулировать сфинголипид-ассоциированный путь ПКС у растений. Также обнаружено, что BI-1 может взаимодействовать с белком IRE1- α , который играет одну из ключевых ролей в восприятии и развитии ЭР-стресса [Lisbona et al., 2009]. Этот факт свидетельствует об участии BI-1 в IRE1- α зависимом ответе на неупакованные белки, т. е. в механизме, обеспечивающем белковый гомеостаз ЭР.

Следует также подчеркнуть, что в литературе имеются указания на то, что BI-1 способен супрессировать развитие ЭР-стресса и гибель клеток растений в условиях так называемого «мягкого» стресса [Lisbona et al., 2009], с которым, по-видимому, сходен стресс, который испытывали растения пшеницы в наших экспериментах при холодовом и тепловом закаливании. При действии на растения неблагоприятных факторов более сильной напряженности BI-1 теряет такую способность. Это вполне согласуется с нашими данными, полученными при изучении экспрессии гена *BI-1* в листьях проростков пшеницы при действии отрицательной температуры. Исходя из представленных в данной работе результатов и анализа литературы, можно предположить, что высокий уровень *BI-1* в клетках является важным фактором для адаптации и повышения выживаемости растений в неблагоприятных температурных условиях.

В целом можно заключить, что разные по интенсивности и характеру воздействия на растения (закаливающее или повреждающее) низкие и высокие температуры вызывают неодинаковые как в количественном, так и в качественном отношении изменения их холодо- и теплоустойчивости. По нашему мнению, эти различия при умеренном (мягком) и сильном (жестком) температурном стрессе обусловлены проявлением разных защитно-приспособительных реакций и функционированием различных адаптационных механизмов, в том числе связанных с экспрессией гена антиапоптотического белка BI-1.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания (тема № 0221-2014-0002).

Литература

- Александров В. Я. Цитофизиологические и цитозекологические исследования устойчивости растительных клеток к действию высоких температур // Тр. Ботан. ин-та АН СССР. 1963. Т. 4. С. 234–280.
- Балагурова Н. И., Дроздов С. Н., Хилков Н. И. Метод определения устойчивости растительных тканей к промораживанию. Петрозаводск: Карельск. филиал АН СССР, 1982. 6 с.
- Ванюшин Б. Ф. Апоптоз у растений // Успехи биологической химии. 2001. Т. 41. С. 3–38.
- Любушкина И. В., Грабельных О. И., Побежимова Т. П. и др. Развитие программируемой клеточной гибели в суспензионной культуре клеток озимой пшеницы *Triticum aestivum* (L.) при действии низкой положительной и отрицательной температур // Известия Иркутского государственного университета. Серия Биология. Экология. 2010. Т. 3, № 4. С. 10–18.
- Baek D., Nam J., Koo Y. D. et al. Вах-induced cell death of *Arabidopsis* is mediated through reactive oxygen-dependent and independent processes // Plant Mol. Biol. 2004. Vol. 56. P. 15–27. doi: 10.1007/s11103-004-3096-4.
- Balk J., Leaver C. J., McCabe P. F. Translocation of cytochrome c from the mitochondria to the cytosol occurs during heat-induced programmed cell death in cucumber plants // FEBS Lett. 1999. Vol. 463. P. 151–154. doi: 10.1016/S0014-5793(99)01611-7.
- Chae H. J., Ke N., Kim H. R. et al. Evolutionarily conserved cytoprotection provided by BAX Inhibitor-1 homologues from animals, plants, and yeast // Gene. 2003. Vol. 323. P. 101–113. doi: 10.1016/j.gene.2003.09.011.
- Chen X. H., Yu H., Deng H. J. et al. Cucumber BAX inhibitor-1, a conserved cell death suppressor and a negative programmed cell death regulator under cold stress // Biol. Plant. 2013. Vol. 47. P. 684–690. doi: 10.1007/s10535-013-0347-8.
- Foyouzi-Youssefi R., Arnoudeau S., Borner C. et al. Bcl-2 decreases the free Ca²⁺ concentration within the

endoplasmic reticulum // PNAS. 2000. Vol. 97. P. 5723–5728. doi: 10.1073/pnas.97.11.5723.

Ihara-Ohori Y., Nagano M., Muto S. et al. Cell death suppressor Arabidopsis Bax inhibitor-1 is associated with calmodulin binding and ion homeostasis // Plant Physiol. 2007. Vol. 143. P. 650–660. doi: 10.1104/pp.106.090878.

Isbat M., Zeba N., Kim S. R., Hong C. B. A BAX Inhibitor-1 gene in *Capsicum annum* is induced under various abiotic stresses and endows multi-tolerance in transgenic tobacco // J. Plant. Physiol. 2009. Vol. 166. P. 1685–1693. doi: 10.1016/j.jplph.2009.04.017.

Kawai M., Pan L., Reed J. C., Uchimiya H. Evolutionally conserved plant homologue of the Bax Inhibitor-1 (BI-1) gene capable of suppressing Bax-induced cell death in yeast // FFEBS Letters. 1999. Vol. 464. P. 143–147. doi: 10.1016/S0014-5793(99)01695-6.

Kawai-Yamada M., Ohori Y., Uchimiya H. Dissection of Arabidopsis Bax inhibitor-1 suppressing Bax-, hydrogen peroxide-, and salicylic acid-induced cell death // Plant. Cell. 2004. Vol. 16. P. 21–32. doi: 10.1105/tpc.014613.

Lisbona F., Rojas-Rivera D., Thielen P. et al. BAX Inhibitor-1 is a negative regulator of the ER stress sensor IRE1 α // Mol. Cell. 2009. Vol. 33. P. 679–691. doi: 10.1016/j.molcel.2009.02.017.

Liu J. X., Howell S. H. Endoplasmic reticulum protein quality control and its relationship to environmental stress responses in plants // Plant Cell. 2010. Vol. 22. P. 2930–2942. doi: 10.1105/tpc.110.078154.

Matsumura H., Nirasawa S., Kiba A. et al. Overexpression of Bax-inhibitor suppresses the fungal

elicitor-induced cell death in rice (*Oryza sativa* L.) cells // Plant J. 2003. Vol. 33. P. 425–434.

Miller G., Shulaev V., Mittler R. Reactive oxygen signaling and abiotic stress // Physiol. Plant. 2008. Vol. 133. P. 481–489. doi: 10.1111/j.1399-3054.2008.01090.x.

Nagano M., Ihara-Ohori Y., Imai H. et al. Functional association of cell death suppressor, Arabidopsis Bax inhibitor-1, with fatty acid 2-hydroxylation through cytochrome b5 // Plant J. 2009. Vol. 58. P. 122–134. doi:10.1111/j.1365-313X.2008.03765.x.

Wang X., Tang C., Huang X. et al. Wheat BAX Inhibitor-1 contributes to wheat resistance to *Puccinia striiformis* // J. Exp. Biol. 2012. Vol. 63. P. 4571–4584. doi: 10.1093/jxb/ers140.

Watanabe N., Lam E. Arabidopsis BAX Inhibitor-1 functions as an attenuator of biotic and abiotic type of cell death // Plant J. 2006. Vol. 45. P. 884–894.

Watanabe N., Lam E. Bax inhibitor-1 modulates endoplasmic reticulum-mediated programmed cell death in Arabidopsis // J. Biol. Chem. 2008. Vol. 283. P. 3200–3210.

Watanabe N., Lam E. Bax inhibitor-1, a conserved cell death suppressor, is a key molecular switch downstream from a variety of biotic and abiotic stress signals in plants // Int. J. Mol. Sci. 2009. Vol. 10. P. 3149–3167. doi: 10.3390/ijms10073149.

Zhao Y., Chen J., Tao X. et al. The possible role of BAX and BI-1 genes in chilling-induced cell death in cucumber fruit // Acta Physiol. Plant. 2014. Vol. 36. P. 1345–1351. doi: 10.1007/s11738-014-1513-0.

Поступила в редакцию 10.09.2015

References

Aleksandrov V. Ja. Citofiziologicheskie i citojekologicheskie issledovanija ustojchivosti rastitel'nyh kletok k dejstvuju vysokih temperature [Cytophysiological and cytoecological study of plant cells tolerance to high temperatures]. Tr. Botan. in-ta AN SSSR [Proc. Botan. Inst. Acad. Sci. USSR]. 1963. Vol. 4. P. 234–280.

Balagurova N. I., Drozdov S. N., Hilkov N. I. Metod opredelenija ustojchivosti rastitel'nyh tkanej k promorazhivaniju [Method for determination of the resistance of plant tissues to freezing]. Petrozavodsk: Kar. filial AN SSSR. 1982. 6 p.

Ljubushkina I. V., Grabel'nyh O. I., Pobezhimova T. P., Fedoseeva I. V., Stepanov A. V., Fedjaeva A. V., Pavlovskaja N. S., Koroleva N. A., Vojnikov V. K. Razvitiie programmiruemoj kletочноj gibeli v suspenzionnoj kul'ture kletok ozimoi pshenicy *Triticum aestivum* (L.) pri dejstvii nizkoj polozhitel'noj i otricatel'noj temperature [The programmed cell death in suspension cell culture of winter wheat *Triticum aestivum* (L.) under low and subzero temperature]. Izvestija Irkutskogo Gosudarstvennogo Universiteta. Serija Biologija. Jekologija [The Bulletin of Irkutsk State University. Ser. Biology. Ecology]. 2010. Vol. 3, No 4. P. 10–18.

Vanjushin B. F. Apoptoz u rastenij [Apoptosis in plants]. Uspehi biologicheskoi himii [Biochemistry. Spec. Iss. Biological Chem. Rev.]. 2001. Vol. 41. P. 3–38.

Baek D., Nam J., Koo Y. D., Kim D. H., Lee J., Jeong J. C., Kwak S. S., Chung W. S., Lim C. O., Bahk J. D., Hong J. C., Lee S. Y., Kawai-Yamada M., Uchimiya H., Yun D. J. Bax-induced cell death of Arabidopsis is mediated through reactive oxygen-dependent and independent processes. Plant Mol. Biol. 2004. Vol. 56. P. 15–27. doi: 10.1007/s11103-004-3096-4.

Balk J., Leaver C. J., McCabe P. F. Translocation of cytochrome c from the mitochondria to the cytosol occurs during heat-induced programmed cell death in cucumber plants. FEBS Lett. 1999. Vol. 463. P. 151–154. doi: 10.1016/S0014-5793(99)01611-7.

Chae H. J., Ke N., Kim H. R., Chen S., Godzik A., Dickman M., Reed J. C. Evolutionarily conserved cytoprotection provided by BAX Inhibitor-1 homologues from animals, plants, and yeast. Gene. 2003. Vol. 323. P. 101–113. doi: 10.1016/j.gene.2003.09.011.

Chen X. H., Yu H., Deng H. J., Chen J. X., Mi H. B., Mao L. C. Cucumber BAX inhibitor-1, a conserved cell death suppressor and a negative programmed cell death regulator under cold stress. Biol. Plant. 2013. Vol. 47. P. 684–690. doi: 10.1007/s10535-013-0347-8.

Foyouzi-Youssefi R., Arnoudeau S., Borner C., Kelley W. L., Tschopp J., Lew D. P., Demaurex N., Krause K. H. Bcl-2 decreases the free Ca²⁺ concentration

within the endoplasmic reticulum. *PNAS*. 2000. Vol. 97. P. 5723–5728. doi: 10.1073/pnas.97.11.5723.

Ihara-Ohori Y., Nagano M., Muto S., Uchimiya H., Kawai-Yamada M. Cell death suppressor Arabidopsis Bax inhibitor-1 is associated with calmodulin binding and ion homeostasis. *Plant Physiol*. 2007. Vol. 143. P. 650–660. doi: 10.1104/pp.106.090878.

Isbat M., Zeba N., Kim S. R., Hong C. B. A BAX Inhibitor-1 gene in *Capsicum annum* is induced under various abiotic stresses and endows multi-tolerance in transgenic tobacco. *J. Plant. Physiol*. 2009. Vol. 166. P. 1685–1693. doi: 10.1016/j.jplph.2009.04.017.

Kawai M., Pan L., Reed J. C., Uchimiya H. Evolutionally conserved plant homologue of the Bax Inhibitor-1 (BI-1) gene capable of suppressing Bax-induced cell death in yeast. *FEBS Letters*. 1999. Vol. 464. P. 143–147. doi: 10.1016/S0014-5793(99)01695-6.

Kawai-Yamada M., Ohori Y., Uchimiya H. Dissection of Arabidopsis Bax inhibitor-1 suppressing Bax-, hydrogen peroxide-, and salicylic acid-induced cell death. *Plant. Cell*. 2004. Vol. 16. P. 21–32. doi: 10.1105/tpc.014613.

Lisbona F., Rojas-Rivera D., Thielen P., Zamorano S., Todd D., Martinon F., Glavic A., Kress C., Lin J. H., Walter P., Reed J. C., Climcher L. H., Helz C. BAX Inhibitor-1 is a negative regulator of the ER stress sensor IRE1 α . *Mol. Cell*. 2009. Vol. 33. P. 679–691. doi: 10.1016/j.molcel.2009.02.017.

Liu J. X., Howell S. H. Endoplasmic reticulum protein quality control and its relationship to environmental stress responses in plants. *Plant Cell*. 2010. Vol. 22. P. 2930–2942. doi: 10.1105/tpc.110.078154.

Matsumura H., Nirasawa S., Kiba A., Urasaki N., Saitoh H., Ito M., Kawai-Yamada M., Uchimiya H.,

Terauchi R. Overexpression of Bax-inhibitor suppresses the fungal elicitor-induced cell death in rice (*Oryza sativa* L.) cells. *Plant J*. 2003. Vol. 33. P. 425–434.

Miller G., Shulaev V., Mittler R. Reactive oxygen signaling and abiotic stress. *Physiol. Plant*. 2008. Vol. 133. P. 481–489. doi: 10.1111/j.1399-3054.2008.01090.x.

Nagano M., Ihara-Ohori Y., Imai H., Inada N., Fujimoto M., Tsutsumi N., Uchimiya H., Kawai-Yamada M. Functional association of cell death suppressor, Arabidopsis Bax inhibitor-1, with fatty acid 2-hydroxylation through cytochrome b5. *Plant J*. 2009. Vol. 58. P. 122–134. doi: 10.1111/j.1365-313X.2008.03765.x.

Wang X., Tang C., Huang X., Li F., Chen X., Zhang G., Sun Y., Han D., Kang Z. Wheat BAX Inhibitor-1 contributes to wheat resistance to *Puccinia striiformis*. *J. Exp. Biol*. 2012. Vol. 63. P. 4571–4584. doi: 10.1093/jxb/ers140.

Watanabe N., Lam E. Arabidopsis BAX Inhibitor-1 functions as an attenuator of biotic and abiotic type of cell death. *Plant J*. 2006. Vol. 45. P. 884–894.

Watanabe N., Lam E. Bax inhibitor-1 modulates endoplasmic reticulum-mediated programmed cell death in Arabidopsis. *J. Biol. Chem*. 2008. Vol. 283. P. 3200–3210.

Watanabe N., Lam E. Bax inhibitor-1, a conserved cell death suppressor, is a key molecular switch downstream from a variety of biotic and abiotic stress signals in plants. *Int. J. Mol. Sci*. 2009. Vol. 10. P. 3149–3167. doi: 10.3390/ijms10073149.

Zhao Y., Chen J., Tao X., Zheng X., Mao L. The possible role of BAX and BI-1 genes in chilling-induced cell death in cucumber fruit. *Acta Physiol. Plant*. 2014. Vol. 36. P. 1345–1351. doi: 10.1007/s11738-014-1513-0.

Received September 10, 2015

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Топчиева Людмила Владимировна

ведущий научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: topchieva67@mail.ru
тел.: (8142) 769810

Таланова Вера Викторовна

главный научный сотрудник, д. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: talanova@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 762712

Титов Александр Федорович

председатель КарНЦ РАН, руководитель лаб. экологической физиологии растений, чл.-корр. РАН, д. б. н., проф.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: titov@krc.karelia.ru

CONTRIBUTORS:

Topchieva, Lyudmila

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk,
Karelia, Russia
e-mail: topchieva67@mail.ru
tel.: (8142) 769810

Talanova, Vera

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk,
Karelia, Russia
e-mail: talanova@krc.karelia.ru
tel.: (8142) 762712

Titov, Alexandr

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk,
Karelia, Russia
e-mail: titov@krc.karelia.ru

Нилова Ирина Александровна

младший научный сотрудник
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: im-ira@mail.ru
тел.: (8142) 762712

Репкина Наталья Сергеевна

научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: nrt9@ya.ru
тел.: (8142) 762712

Венжик Юлия Валерьевна

старший научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: Jul.Venzhik@gmail.com
тел.: (8142) 762712

Nilova, Irina

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk,
Karelia, Russia
e-mail: im-ira@mail.ru
tel.: (8142) 762712

Repkina, Natalia

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk,
Karelia, Russia
e-mail: nrt9@ya.ru
tel.: (8142) 762712

Venzhik, Yuliya

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk,
Karelia, Russia
e-mail: Jul.Venzhik@gmail.com
tel.: (8142) 762712