

УДК 581.1

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ БТШ У ПШЕНИЦЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ ВЫСОКИХ ТЕМПЕРАТУР

И. А. Нилова, Л. В. Топчиева, А. Ф. Титов

Институт биологии Карельского научного центра РАН

На недельных проростках пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Московская 39 изучали влияние высоких закаливающих (33 и 37 °С) и повреждающей (43 °С) температур на динамику теплоустойчивости клеток листьев и экспрессию генов белков теплового шока (БТШ). Показано, что под влиянием температур 33 и 37 °С теплоустойчивость клеток листьев постепенно возрастала, достигая максимума через 2 и 3 суток соответственно. Действие на проростки температуры 43 °С первоначально также вызывало быстрый рост устойчивости клеток к прогреву, который затем сменялся ее резким снижением. Повышение теплоустойчивости проростков во всех случаях сопровождалось изменением уровня экспрессии генов высокомолекулярных и низкомолекулярных БТШ: *TaHSP70*, *TaHSP90*, *TaHSP16,9* и *TaHSP19*. При этом уровень их экспрессии зависел как от интенсивности действующей на растения температуры и экспозиции, так и от принадлежности БТШ к определенному семейству белков. В частности, в начальный период действия температур 33, 37, 43 °С отмечено накопление транскриптов генов *TaHSP70*, *TaHSP90* и *TaHSP16,9*, тогда как при более длительном тепловом воздействии – транскриптов генов *TaHSP16,9* и *TaHSP19*. На основании полученных данных сделан вывод, что рост устойчивости клеток листьев пшеницы в начальный период действия высоких закаливающих и повреждающих температур связан с увеличением транскрипционной активности генов, кодирующих БТШ. Однако их относительный вклад в устойчивость может варьировать в зависимости от интенсивности и продолжительности высокотемпературного воздействия, а также от принадлежности к тому или иному семейству БТШ.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L.; теплоустойчивость; высокие температуры; изменения экспрессии генов; белки теплового шока.

I. A. Nilova, L. V. Topchieva, A. F. Titov. HSP GENE EXPRESSION IN WHEAT UNDER HEAT STRESS

The effect of hardening (33 and 37 °C) and damaging (43 °C) temperatures on thermotolerance in leaf cells and HSP gene expression was studied in one-week old wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.) of cv. Moscovskaya 39. It was shown that thermotolerance in plant cells under the temperatures 33 and 37 °C gradually rose and reached a maximum after 2 and 3 days respectively. Thermotolerance in plant cells under the temperature 43 °C first grew rapidly but then dropped sharply. The rise of thermotolerance under all studied temperatures was accompanied by changes in the level of high and low molecular weight HSPs: *TaHSP70*, *TaHSP90*, *TaHSP16,9* and *TaHSP19*. The level of expression depended both on the intensity of high temperature impact and exposure, as well as on HSP group. For example, the accumulation of *TaHSP70*, *TaHSP90* and *TaHSP16,9* was detected in the initial period of 33, 37 and 43 °C temperature impact, while the accumulation of *TaHSP16,9*, *TaHSP19* was observed during prolonged heat treatment. The data

obtained suggest that the rise of thermotolerance in leaf cells of wheat at the initial stage of exposure to high hardening and damaging temperatures was associated with an enhancement of HSP gene expression. However, the action of these genes depends on the intensity of high temperature impact and duration of exposure, as well as on HSP group.

Keywords: *Triticum aestivum* L.; thermotolerance; high temperatures; changes in gene expression; heat shock proteins.

Введение

Растения обладают широким набором защитно-приспособительных механизмов, позволяющих им сохранять жизнеспособность в самых различных неблагоприятных ситуациях [Лархер, 1978; Колупаев, Карпец, 2010; Vita, Gerats, 2013; Hasanuzzaman et al., 2013]. Один из них – синтез стрессовых белков, в частности, белков теплового шока (БТШ), которым отводится одна из главных ролей в механизмах теплоустойчивости [Al-Whaibi, 2011; Qu et al., 2013]. Как локализация, так и функции БТШ в клетках в условиях стресса весьма разнообразны. Например, они могут выступать в качестве молекулярных шаперонов, защищая от агрегации другие белки, участвуют в стабилизации мембран, протеолизе нативных белков с нарушенной структурой, предотвращают деградацию мРНК [Колупаев, Карпец, 2010]. Установлено, что у устойчивых к действию высоких температур сортов растений наблюдается более высокий уровень экспрессии генов БТШ [Gulli et al., 2007]. Показано также, что трансгенные растения с конститутивным синтезом или сверхэкспрессией некоторых низкомолекулярных БТШ (нмБТШ) более устойчивы к нагреву, чем обычные растения или растения, которым вводили вектор с бессмысловой последовательностью генов, кодирующих эти белки [Malik et al., 1999; Sun et al., 2001; Sanmiya et al., 2004; Jiang et al., 2009]. Тем не менее, несмотря на очевидную роль БТШ в защите клеток от высокотемпературного стресса, ряд аспектов их участия в повышении теплоустойчивости растений требует исследования. Так, к примеру, недостаточно изучено, как изменяется уровень экспрессии БТШ и кодирующих их генов в ответ на действие высоких температур разной интенсивности [Gulli et al., 2007; Huerta et al., 2013; Хохлова и др., 2015]. Хотя известно, что не только субповреждающие (закаливающие), но и повреждающие температуры способны вызывать повышение устойчивости растений к прогреву в начальный период своего действия [Топчиева, 1994; Титов и др., 2006]. Но при более продолжительном их действии (свыше 4 часов) теплоустойчивость

быстро снижается, а растения погибают. Какую роль в этих событиях играют БТШ, пока не до конца ясно. В литературе имеются лишь единичные сведения относительно экспрессии генов, кодирующих стрессовые белки, при действии температур, которые по их влиянию на устойчивость можно отнести к повреждающим [Федяева, 2015; Хохлова и др., 2015]. Поэтому целью нашей работы явилось сравнительное изучение содержания транскриптов генов, кодирующих высоко- и низкомолекулярные БТШ при действии на растения пшеницы высоких температур разной интенсивности.

Материалы и методы

Исследования проводили на проростках озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Московская 39, которые выращивали в рулонах фильтровальной бумаги на питательном растворе в течение 7 суток с добавлением микроэлементов (рН 6,2–6,4) в камере искусственного климата при температуре воздуха 22 °С, его относительной влажности 60–70 %, освещенности 10 клк и фотопериоде 14 ч. Затем недельные проростки подвергали воздействию температур 33, 37 и 43 °С, первые две из которых являются для них закаливающими, а последняя – повреждающей [Нилова, Титов, 2014].

Продолжительность воздействия составляла от 15 мин до 3 суток. Начальный период действия неблагоприятных температур составлял интервал от 15 мин до 2 ч. Теплоустойчивость растений оценивали по температуре (ЛТ₅₀), вызывающей гибель 50 % палисадных клеток листа после 5-минутного прогрева листовых высевок в водном термостате [Александров, 1963].

Для изучения уровня транскриптов генов (*TaHSP70*, *TaHSP90*, *TaHSP16,9* и *TaHSP19*) 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.). Первую цепь кДНК синтезировали, используя набор для обратной транскрипции с M-MLV обратной

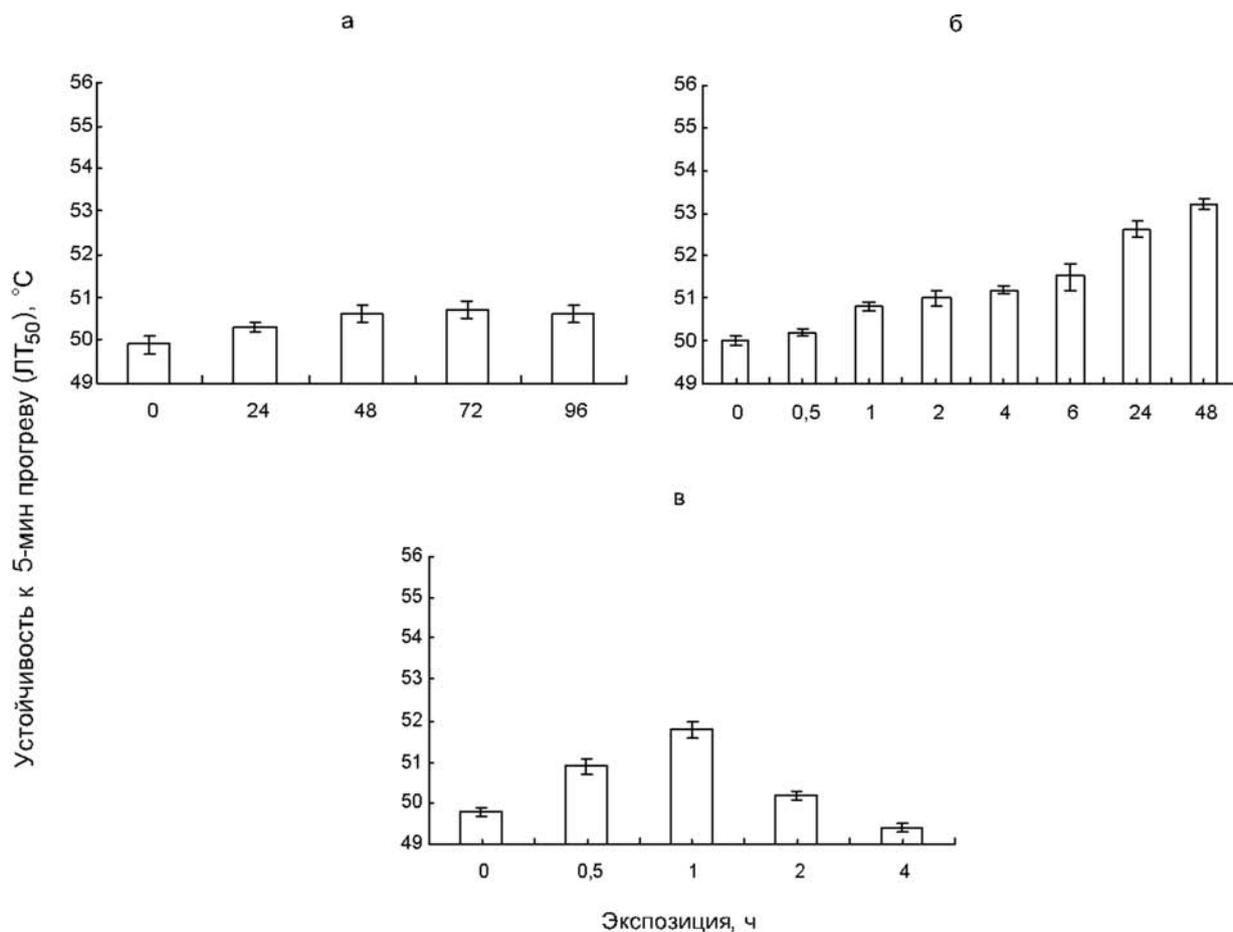


Рис. 1. Динамика теплоустойчивости растений пшеницы при действии температур разной интенсивности (а – 33 °С; б – 37 °С; в – 43 °С)

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 таблице. 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 58 °С 30 с; элонгация при 72° 30 с. Специфичность продуктов амплификации проверяли плавлением ПЦР фрагментов. Эффективность ПЦР (98 %) оценивали по стандартной кривой. Относительный уровень экспрессии генов вычисляли по формуле:

$$\text{Относительный уровень экспрессии} = \frac{2^{-\Delta C_t}}{2^{-C_{t(\text{контрольный})}}}$$

где C_t – значение пороговых циклов.

В качестве контрольных образцов были выбраны кДНК, выделенные из растений, не подвергнутых неблагоприятному воздействию. В качестве референсного гена использовали актин.

Повторность в пределах одного опыта 2–6-кратная, а каждый опыт повторяли не менее 2–3 раз. О достоверности различий между вариантами судили с помощью критерия Стьюдента при $P < 0,05$.

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

Результаты

Воздействие температуры 33 °С на проростки пшеницы вызывало достоверное повышение

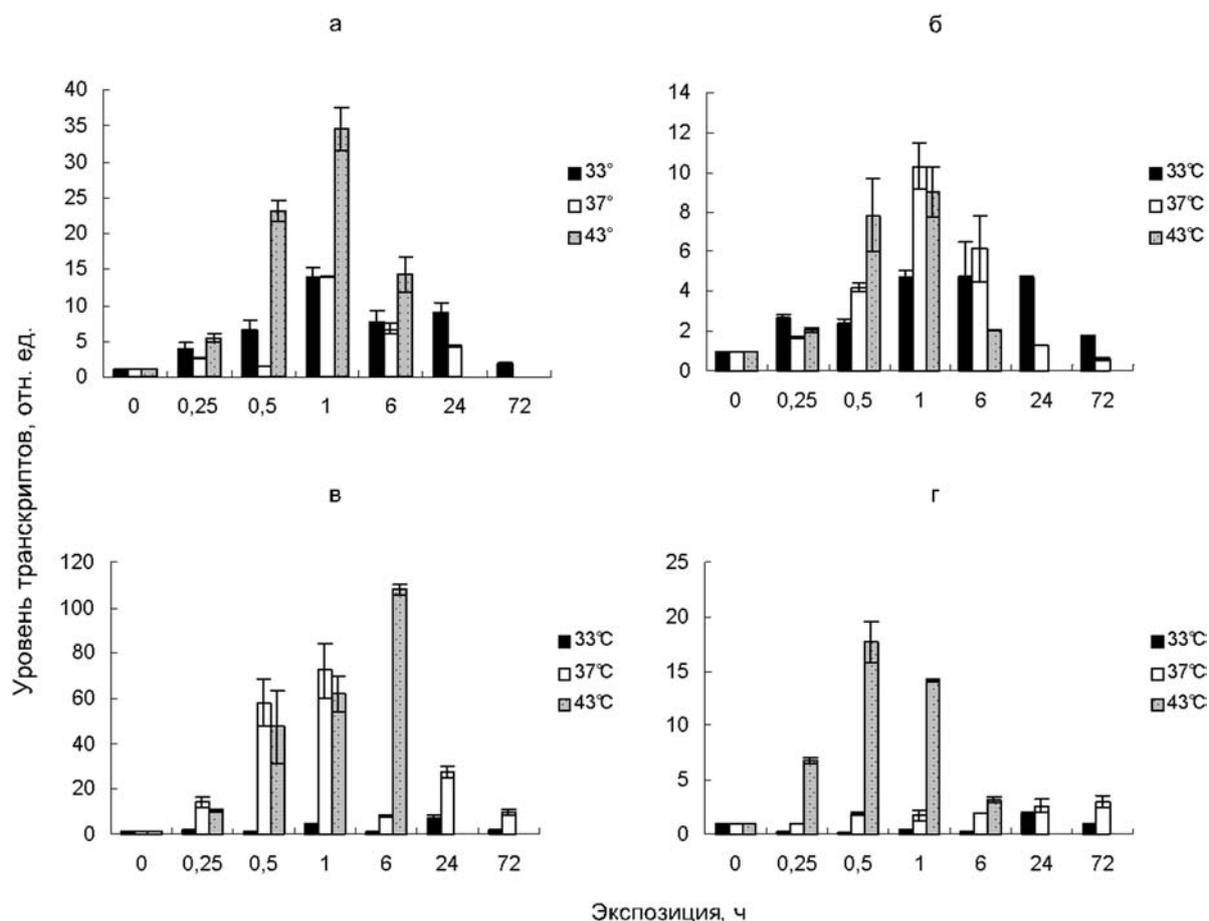


Рис. 2. Динамика экспрессии генов БТШ (а – *TaHSP70*; б – *TaHSP90*; в – *TaHSP16,9*; г – *TaHSP19*) при действии температуры разной интенсивности

их теплоустойчивости через сутки, а через двое суток она достигала максимума и в дальнейшем не изменялась (рис. 1, а). В отличие от этого температура 37 °С уже через 1 час от начала действия индуцировала рост теплоустойчивости листьев, который затем в течение трех суток продолжался, в результате чего она достигала значительно более высокого уровня, чем при 33 °С (рис. 1, б). Под влиянием температуры 43 °С также был зафиксирован быстрый рост теплоустойчивости, причем уже в первые минуты воздействия (рис. 1, в), но уже через 1 час наблюдали снижение устойчивости листьев к прогреву, а затем и гибель растений.

Динамика экспрессии генов, кодирующих БТШ с молекулярной массой 70, 90 и 16,9 (*TaHSP70*, *TaHSP90* и *TaHSP16,9*), при действии на растения температур 33, 37 и 43 °С в целом была схожа (рис. 2, а, б, в). В частности, отмечено увеличение содержания транскриптов указанных генов уже в первые минуты теплового воздействия, а затем – постепенное их снижение. Характер накопления транскриптов гена *TaHSP70* в листьях проростков при 33° был аналогичен таковому при

37 °С (см. рис. 2, а). В обоих случаях увеличение содержания мРНК этого гена наблюдали уже через 15 минут от начала теплового воздействия. Но после достижения максимального уровня через 1 час происходило его снижение. При температуре 43 °С уровень транскриптов данного гена постепенно увеличивался уже с первых минут эксперимента, достигая максимума через 2 часа, а затем также снижался. При этом экспрессия *TaHSP70* была многократно выше при 43 °С, чем при 33 и 37 °С.

Действие температуры 33 °С вызывало небольшое повышение содержания транскриптов гена *TaHSP90* уже через 15 минут от начала воздействия (см. рис. 2, б). Через 1 час был отмечен их максимальный уровень, а затем его снижение. При температуре 37 °С изменения в содержании мРНК этого гена также происходили через 15 мин от начала эксперимента. Максимальный уровень транскриптов при 37 °С наблюдали после часовой экспозиции проростков. При более продолжительном действии данной температуры содержание мРНК гена *TaHSP90* в листьях проростков снижалось, достигая через сутки исходных значений. Следует отметить, что при

температуре 37 °С максимальный уровень экспрессии гена был в 2 раза выше, чем при температуре 33 °С. При температуре 43 °С накопление транскриптов этого гена также происходило уже в первые минуты эксперимента. Максимум экспрессии гена *TaHSP90* в листьях проростков зафиксирован уже через 30 минут от начала эксперимента. Причем он был приблизительно равен максимальному уровню транскриптов при температуре 37 °С.

Температура 33 °С индуцировала накопление транскриптов гена *TaHSP16,9* уже через 15 мин от начала эксперимента (см. рис. 2, в). Максимальное содержание мРНК *TaHSP16,9* в листьях отмечено после суточной экспозиции проростков в этих условиях. Закаливание растений пшеницы при 37 °С также способствовало повышению экспрессии этого гена уже в первые минуты опыта. При действии температуры 37 °С максимальный уровень транскриптов гена *TaHSP16,9* был зафиксирован у проростков, находившихся всего лишь 1 ч в этих условиях, т. е. намного быстрее, чем у растений, испытывающих действие температуры 33 °С. К тому же он был значительно больше. Однако после 6 часов теплового закаливания независимо от используемой температуры (33 или 37 °С) в клетках листьев наблюдали понижение уровня транскриптов гена *TaHSP16,9*, за которым вновь следовало его повышение. У растений, находившихся при температуре 43 °С, наблюдали значительное повышение содержания транскриптов *TaHSP16,9*, с максимумом через 2 часа от начала теплового воздействия. Интересно, что уровень экспрессии гена *TaHSP16,9* в листьях проростков при температуре 43 °С в сотни раз превышал таковой, наблюдаемый при других тепловых воздействиях.

Нами также отмечено различное влияние температур 33, 37 и 43 °С на уровень транскриптов гена *TaHSP19*. В первые часы экспозиции проростков при 33 °С в листьях регистрировали уменьшение содержания мРНК гена *TaHSP19* (рис. 2, г). Через сутки наблюдали увеличение уровня его экспрессии, а через трое суток – снижение до исходного значения. При действии температуры 37 °С через 30 минут от начала опыта в листьях проростков пшеницы отмечен постепенный рост уровня экспрессии данного гена. Температура 43 °С вызывала быстрое накопление транскриптов гена *TaHSP19* с максимумом уже через 30 мин от начала эксперимента. Транскрипционная активность этого гена была высокой на протяжении 4 часов теплового воздействия, а затем снижалась.

Обсуждение

Полученные нами результаты показали, что в ответ на действие высоких субповреждающих (закаливающих) и повреждающей температур в клетках растений пшеницы изменяется транскрипционная активность генов, кодирующих БТШ с молекулярной массой 70, 90, 16,9 и 19 кДа. Важно, что изменение транскрипционной активности этих генов в начальный период действия температур 33, 37 и 43° происходило на фоне повышения устойчивости клеток листьев пшеницы к прогреву. Отметим, что изменение накопления мРНК генов, кодирующих нмБТШ (*TaHSP16,9*, *TaHSP19*) в клетках листьев проростков пшеницы, как правило, можно наблюдать не только в начальный период действия температур 33, 37, 43 °С, но и при их продолжительном воздействии. Это может свидетельствовать об участии БТШ16,9 и БТШ19 в ответной реакции растений на высокие температуры, как в начальный период их действия, так и при более продолжительном их воздействии.

Интересно, что динамика и уровень накопления мРНК четырех изученных нами генов зависели не только от интенсивности и продолжительности высокотемпературного воздействия на растения, но и от принадлежности БТШ к определенному семейству белков. Так, в начальный период действия (1–2 ч) температур 33, 37 и 43 °С в листьях проростков происходило повышение уровня транскриптов генов *TaHSP70*, *TaHSP90*. В дальнейшем при этих температурах устойчивость проростков к прогреву продолжала расти, тогда как уровень транскриптов этих генов снижался. Уменьшение экспрессии генов *TaHSP70*, *TaHSP90* может быть связано с тем, что в клетках листа к этому моменту накапливалось достаточное количество соответствующих белков для обеспечения присущей им функции. Синтез *de novo* белков в клетке является энергетически высокотратным процессом, поэтому чрезмерное накопление стрессовых белков может только усугубить негативный эффект неблагоприятной температуры. С другой стороны, следует иметь в виду и то обстоятельство, что отдельные БТШ могут заметно различаться по продолжительности жизни. Одни из них являются короткоживущими, а другие долгоживущими. Возможно, БТШ70 и БТШ90, кодируемые генами *TaHSP70* и *TaHSP90*, имеют достаточно большой период жизни, и дополнительного их синтеза при пролонгированном тепловом воздействии не требуется.

Характеристика праймеров и их последовательность

Ген	Прямой и обратный праймеры	Нуклеотидная последовательность праймера 5'.....3'	Номер доступа в базе данных NCBI
<i>TaHSP16,9</i>	прямой	TCCTACCTGCGGTCCGATAC	JQ809331.1
	обратный	AGGCGTCTCCTTCCAGTCCA	
<i>TaHSP19</i>	прямой	CCCCGTTCGGTAAGTCCTCG	AM422845.1
	обратный	CCAGCATCTGCCGCATCGTC	
<i>TaHSP70</i>	прямой	AGGAGGAGATTGAGAAGATGGTGC	AF005993.1
	обратный	GTCGTCTTGACCGTGTTC	
<i>TaHSP90</i>	прямой	TCCGACCTCGTCAACAACC	DQ270237.1
	обратный	ACACCGAACTGCCCAATCA	
<i>Actin</i>	прямой	GGGACCTCACGGATAATCTAATG	AB18199
	обратный	AACCTCCACTGAGAACAACATTAC	

В отличие от динамики транскриптов генов, кодирующих высокомолекулярные БТШ, изменение содержания мРНК гена *TaHSP16,9* в условиях теплового закаливания (33, 37 °С) носило двухфазный характер. Первое усиление транскрипционной активности этого гена наблюдали в начальный период действия указанных температур, второе – через сутки. Согласно литературным данным, динамика синтеза различных БТШ неодинакова. Синтез одних БТШ происходит на протяжении всего периода теплового воздействия, тогда как других – только в начальный период теплового закаливания [Neschi et al., 1987; Титов и др., 2006]. Возможно, такой характер изменения транскрипционной активности гена *TaHSP16,9* позволяет кодируемому им белку участвовать не только в быстрой защите внутриклеточных структур и других белков, но и в восстановлении и поддержании нормального метаболизма клеток в условиях пролонгированного стресса. Не исключено, что двухфазность синтеза транскриптов указанного гена связана также и с небольшим временем жизни кодируемого им белка. По имеющимся данным, время жизни разных низкомолекулярных БТШ может заметно варьировать. Например, время полураспада БТШ17,8 у *Arabidopsis thaliana* составляет примерно 6 ч, БТШ22 у кукурузы – 4 ч [Lund et al., 1998; Kim et al., 2011], у гороха время жизни БТШ18,1 – 40 ч, а хлоропластного БТШ21 – более 52 ч [Chen et al., 1990; DeRocher et al., 1991]. Вероятно, для осуществления защиты клеток растений пшеницы в ходе пролонгированного высокотемпературного стресса требуется дополнительный синтез БТШ16,9. Накопление транскриптов гена *TaHSP19*, индуцируемое высокими температурами, также характеризовалось некоторыми особенностями. В частности, в начальный период действия температуры 33 °С наблюдалось снижение экспрессии этого гена, а значительно позже – ее увеличение. К тому же при температурах 37 и 43 °С повышение уровня

транскриптов гена *TaHSP19* было постепенным, происходило раньше и было более выражено в количественном отношении, чем при 33 °С.

В целом полученные нами результаты согласуются с данными литературы о том, что экспрессия БТШ, как правило, усиливается уже в первые минуты теплового воздействия, достигает максимума через 2–4 часа и снижается при более продолжительном воздействии [Li et al., 1999, 2014; Huerta et al., 2013; Kumar et al., 2014; Park et al., 2013; Guo et al., 2014]. На основании этого можно предположить, что ранний (первичный) ответ растений пшеницы на действие высоких температур, проявляющийся в повышении устойчивости листьев к прогреву, связан с увеличением транскрипционной активности изученных нами генов и, соответственно, с усилением синтеза кодируемых ими белков. Тем не менее только их накопления, очевидно, недостаточно для сохранения жизнеспособности растений при пролонгированном действии повреждающей температуры, о чем свидетельствует снижение теплоустойчивости проростков уже после часового прогрева растений при 43 °С, а затем и их гибель.

Как известно, высокомолекулярные и низкомолекулярные БТШ обладают разнообразными свойствами, позволяющими им участвовать в защите клеточных структур и молекул от негативного действия высоких температур. К примеру, БТШ70 и БТШ90 – это большая группа высококонсервативных белков, присутствующая почти всем живым организмам [Broorsten et al., 1994; Usman et al., 2014], содержание которых в клетках даже при отсутствии стресса относительно велико (1–2 % от суммы всех цитозольных белков) [Козеко, 2010; Usman et al., 2014]. В условиях стресса эти белки выступают в качестве молекулярных шаперонов, т. е. участвуют в предотвращении агрегации частично денатурированных белковых молекул, в протеолитической деградаци

необратимо поврежденных белков и их транспорте к лизосомам и протеосомам [Колупаев, Карпец, 2010]. При отсутствии стресса они образуют неактивный комплекс с факторами теплового шока (ФТШ), который при наступлении неблагоприятных условий разрушается, в результате чего освобождаются ФТШ. Последние транспортируются в ядро и дополнительно активируют экспрессию БТШ [Mittler, 2012; Рихванов и др., 2014]. Очевидно, благодаря этому БТШ70 и БТШ90 способны участвовать в защите растительных клеток от негативного действия неблагоприятных температур [Sung et al., 2001; Al-Whaibi, 2011], засухи [Cho, Hong, 2006; Song et al., 2014], засоления [Song et al., 2014] и окислительного стресса [Scarpeci et al., 2008; Montero-Barrientos et al., 2010]. Хотя сам механизм защитного действия этих белков изучен не до конца [Usman et al., 2014].

БТШ16,9 является одним из представителей семейства нмБТШ. БТШ16,9 относится к нмБТШ второго (цитозольного) класса [Basha et al., 2012]. Считается, что в вегетативных тканях растений в обычных условиях нмБТШ не синтезируются, но они появляются при действии различных стрессоров и во время некоторых фаз развития растений [Waters et al., 1996]. Предполагается, что эти белки участвуют в формировании повышенной устойчивости [Yen et al., 1997]. На это, в частности, указывает тот факт, что трансгенные растения с повышенной экспрессией гена, кодирующего БТШ16, характеризуются более высоким уровнем не только теплоустойчивости, но и устойчивости к другим стресс-факторам [Mu et al., 2013]. БТШ16,9 обладают функциями шаперонов, т. е. могут связываться с частично денатурированными белками независимым от АТФ способом и тем самым предотвращать их агрегацию [Панасенко и др., 2003; Колупаев, Карпец, 2010].

Что касается БТШ19, то конкретных данных относительно кодирующего его гена практически нет. Предполагается, что он участвует в процессе развития растений [Sarkar et al., 2009]. Как показали наши исследования, ген *TaHSP19* также может принимать участие в повышении теплоустойчивости, по крайней мере, при продолжительном действии температуры 37 °С, а также в начальный период действия температуры 43 °С.

Заключение

Результаты проведенного нами исследования показали, что действие высоких закаливающих (33 и 37 °С) и повреждающей (43 °С) температур в начальный период их действия

приводит не только к росту теплоустойчивости растений пшеницы, но и к изменению экспрессии ряда генов, кодирующих БТШ. В частности, в начальный период действия этих температур происходит накопление транскриптов генов *TaHSP70*, *TaHSP90* и *TaHSP16,9*. Увеличение экспозиции в условиях высоких закаливающих температур (33 и 37 °С) приводило к дальнейшему росту теплоустойчивости и одновременному усилению экспрессии генов *TaHSP16,9* и *TaHSP19*. Эти результаты говорят о том, что синтез БТШ вовлечен не только в первичную реакцию растений на действие высоких закаливающих и повреждающих температур, но и в процесс их адаптации при продолжительном нахождении в условиях теплового закаливания. Очевидно, ответная реакция растений пшеницы на действие высоких температур направлена на повышение теплоустойчивости и носит многокомпонентный характер. Судя по полученным данным, в ее формировании наряду с другими структурно-функциональными изменениями активно участвуют различные стрессовые белки (БТШ), соотносительный вклад которых в устойчивость может варьировать не только в зависимости от интенсивности и продолжительности высокотемпературного воздействия, но и от принадлежности конкретного белка к тому или иному семейству БТШ.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания (тема № 51.2, № г. р. 01201358737).

Литература

- Александров В. Я. Цитофизиологические и цитозологические исследования устойчивости растительных клеток к действию высоких температур // Тр. Ботан. ин-та АН СССР. 1963. Т. 4. С. 234–280.
- Козеко Л. Е. Белки теплового шока 90 КДа: разнообразие, структура и функции // Цитология. 2010. Т. 52, № 11. С. 893–910.
- Колупаев Ю. Е., Карпец Ю. В. Формирование адаптивных реакций растений на действие абиотических стрессоров. Киев: Основа, 2010. 351 с.
- Лархер В. Экология растений. М.: Мир, 1978. 384 с.
- Нилова И. А., Титов А. Ф. Динамика теплоустойчивости проростков пшеницы в зависимости от интенсивности высокотемпературного воздействия // Труды КарНЦ РАН. 2014. № 5. С. 214–217.
- Панасенко О. О., Ким М. В., Гусев Н. Б. Структура и свойства малых белков теплового шока // Успехи биологической химии. 2003. Т. 43. С. 59–98.
- Рихванов Е. Г., Федосеева И. В., Пятрикас Д. В. и др. Механизм функционирования кальциевой сигнальной системы у растений при действии теплового

стресса. Роль митохондрий в этом процессе // Физиология растений. 2014. Т. 61, № 2. С. 155–169. doi: 10.7868/S0015330314020134.

Титов А. Ф., Акимова Т. В., Таланова В. В., Топчиева Л. В. Устойчивость растений в начальный период действия неблагоприятных температур. М.: Наука, 2006. 143 с.

Топчиева Л. В. Сравнительное изучение реакции растений на действие высоких закалывающих и повреждающих температур: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Петрозаводск, 1994. 19 с.

Федяева А. В. Продукция активных форм кислорода и митохондриальный потенциал при температурном воздействии в клетках растений и дрожжей: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Иркутск, 2015. 23 с.

Хохлова Л. П., Валиуллина Р. Н., Мидер Д. Р., Акберова Н. И. Термостабильность мембран и экспрессия генов низкомолекулярных белков теплового шока (мБТШ) при действии на растения повышенных температур и водного дефицита // Биологические мембраны. 2015. Т. 32, № 1. С. 59–71. doi: 10.7868150233475515010065.

Al-Whaibi M. H. Plant heat-shock proteins: A mini review // Journal of King Saud University – Science. 2011. No 23. P. 139–150. doi: 10.1016/j.jksus.2010.06.002.

Basha E., O'Neill H., Vierling E. Small heat shock proteins and α -crystallins: dynamic proteins with flexible functions // Trends Biochem. Sci. 2012. Vol. 37. P. 106–117.

Bita C. E., Gerats T. Plant tolerance to high temperature in changing environment: scientific fundamentals and production of heat stress-tolerant crops // J. Frontiers in plant science. Crop science and horticulture. 2013. Vol. 4. P. 1–18. doi: 10.3389/fpls.2013.00273.

Boorstein W. R., Ziegelhoffer Th., Craig E. A. Molecular evolution of the HSP70 multigene family // J. Mol. Evol. 1994. P. 1–17.

Chen Q., Lauzon L. M., DeRocher A. E., Vierling E. Accumulation, stability, and localization of a major chloroplast heat-shock protein // J. Cell. Biol. 1990. Vol. 110, No 6. P. 1873–1883.

Cho E. K., Hong Ch. B. Over-expression of tobacco NtHSP70–1 contributes to drought-stress tolerance in plants // Physiology and biochemistry. 2006. P. 349–358. doi: 10.1007/s00299-005-0093-2.

DeRocher A. E., Helm K. W., Lauzon L. M., Vierling E. Expression of a conserved family of cytoplasmic low molecular weight heat stress proteins during heat stress and recovery // Plant Physiol. 1991. Vol. 96, No 4. P. 1038–1047.

Gou M., Zhai Yu., Lu Ji. et al. Characterization of *CaHsp70–1*, a Pepper heat-shock protein gene in response to heat stress and some regulation exogenous substances in *Capsicum annuum* L. // Int. J. Mol. Sci. 2014. P. 19741–19759. doi: 10.3390/ijms151119741.

Gulli M., Corradi M., Rampino P. et al. Four members of the HSP101 gene family are differently regulated in *Triticum durum* Desf. // FEBS letters. 2007. P. 4841–4849. doi: 10.1016/j.febslet.2007.09.010.

Hasanuzzaman M., Nahar K., Alam M. M. et al. Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of

heat stress tolerance in plants // Int. J. Mol. Sci. 2013. P. 9643–9684. doi: 10.3390/ijms14059643.

Huerta C., Freire M., Cardemil L. Expression of *hsp70*, *hsp100* and *ubiquitin* in *Aloe barbadensis* Miller under direct heat stress and under temperature acclimation conditions // Plant cell Rep. 2013. P. 293–307. doi: 10.1007/s00299-012-1363-4.

Jiang C., Xu J., Zhang H. et al. A cytosolic class I small heat shock protein, RcHSP17.8, of *Rosa chinensis* confers resistance to a variety of stresses to *Escherichia coli*, yeast and *Arabidopsis thaliana* // Plant Cell Environ. 2009. Vol. 32. P. 1046–1059. doi: 10.1111/j.1365-3040.2009.01987.x.

Kim D. H., Xu Z.-Y., Na Y. J. et al. Small heat shock protein Hsp17.8 functions as an AKR2A cofactor in the targeting of chloroplast outer membrane proteins in *Arabidopsis* // Plant Physiol. 2011. Vol. 157. P. 132–146. doi: 10.1104/pp.111.178681.

Kumar R. R., Singh G. P., Goswami S. et al. Proteome analysis of wheat (*Triticum aestivum* L.) for the identification of differentially expressed heat-responsive proteins // AJCS. 2014. P. 973–986.

Li J., Wang Zh., Peng H., Liu Zh. A MITE insertion into the 3'-UTR regulates the transcription of *TaHSP16.9* in common wheat // The Crop Journal. 2014. P. 381–387. doi: 10.16/j.cj.2014.07.001.

Li Q. B., Haskell D. W., Guy Ch. L. Coordinate and non-coordinate expression of the stress 70 family and other molecular chaperones at high and low temperature in spinach and tomato // Plant Molecular Biology. 1999. P. 21–34.

Lund A. A., Blum P. H., Bhattaramakki D., Elthon T. E. Heat-Stress response of maize mitochondria // Plant Physiol. 1998. Vol. 116. P. 1097–1110.

Malik M. K., Slovin J. P., Hwang C. H., Zimmerman J. L. Modified expression of a carrot small heat shock protein gene, *hsp17.7*, results in increased or decreased thermotolerance // Plant J. 1999. Vol. 20. P. 89–99.

Mittler R., Finka A., Goloubinoff P. How plants feel the heat? // Trends in Biochemical Science. 2012. Vol. 37, No 3. doi: 10.16/j.tibs.2011.11.007.

Montero-Barrientos M., Hermosa R., Cardoza R. E. et al. Transgenic expression of the *Trichoderma harzianum hsp70* gene increases *Arabidopsis* resistance to heat and other abiotic stress // Journal of Plant Physiology. 2010. P. 659–665. doi: 10.1016/j.jplph.2009.11.012.

Mu Ch., Zhang Sh., Yu G. et al. Overexpression of small heat shock protein LimHSP16.45 in *Arabidopsis* enhances tolerance to abiotic stresses // PLOS ONE. 2013. Vol. 8. doi: 10.1371/journal.pone.0082264.

Necchi A., Pogna N. E., Mapelli J. Early and late heat shock proteins in wheats and other cereal species // Plant Physiol. 1987. Vol. 84, No 4. P. 1378–1384.

Park H. J., Jung W. Yo., Lee S. S. et al. Use of stress responsive gene expression levels for early selection of heat tolerant cabbage (*Brassica oleracea* L.) // J. Mol. Sci. 2013. P. 1187–11894. doi: 10.3390/ijms140611871.

Qu A., Ding Y., Jiang Q., Zhu Ch. Molecular mechanisms of the plant heat stress response // Biochemical and biophysical research communications. 2013. P. 203–207.

Sanmiya K., Suzuki K., Egawa Y., Shono M. Mitochondrial small heat shock protein enhances thermotolerance in tobacco plants // *FEBS Lett.* 2004. Vol. 557. P. 265–268.

Sarkar N. K., Kim Y. K., Grover A. Rice sHsp genes: genomic organization and expression profiling under stress and development // *BMC Genomics.* 2009. doi: 10.1186/1471-2164-10-393.

Scarpeci E. T., Zanor M. I., Valle E. M. Investigation the role of plant heat shock proteins during oxidative stress // *Plant signaling and behavior.* 2008. Vol. 3. P. 856–857. doi: 10.1007/s11103-007-9274-4.

Song A., Zhu X., Chen F. et al. A Chrysanthemum heat shock protein confers tolerance to abiotic stress // *Int. J. Mol. Sci.* 2014. P. 5063–5078. doi: 10.3390/ijms15035063.

Sun W. N., Bernard C., van de Cotte B. et al. At-HSP17.6A, encoding a small heat-shock protein in Arabidopsis, can enhance osmotolerance upon overexpression // *Plant J.* 2001. Vol. 27. P. 407–415.

Sung D. Y., Vierling E., Guy Ch. L. Comprehensive expression profile analysis of the Arabidopsis Hsp70 gene family // *Plant Physiology.* 2001. Vol. 126. P. 789–800.

Usman M. G., Rafii M. Y., Ismail M. R. et al. Heat shock proteins: functions and response against heat stress in plants // *IJSTR.* 2014. Vol. 3, iss. 11. P. 204–218.

Wahid A., Gelani S., Ashraf M., Foolad M. R. Heat tolerance in plants: An overview // *J. Environmental and Experimental Botany.* 2007. Vol. 61. P. 199–223.

Waters E. R., Lee G. J., Vierling E. Evolution, structure and function of the small heat shock proteins in plants // *Journal of experimental botany.* 1996. Vol. 47. No 296. P. 325–338.

Yen Ch. H., Chang P. F. L., Yen K. W. et al. Expression of a gene encoding a 16.9-kDa heat-shock protein Oshsp16.9, in *Escherichia coli* enhance thermotolerance // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997. Vol. 94. P. 10967–10972.

Поступила в редакцию 11.09.2015

References

Aleksandrov V. Ja. Citofiziologicheskie i citojekologicheskie issledovaniya 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.

Kozeko L. E. Belki teplovogo shoka 90 kDa: raznobraziye struktura i funkcii [Heat shock proteins 90 kDa: diversity, structure, functions]. *Citologija.* 2010. Vol. 52, No 11. P. 893–910.

Kolupaev Ju. E., Karpec Ju. V. Formirovanie adaptivnyh reakcij rastenij na dejstvie abioticheskikh stressorov [Formation of plants adaptive reaction to abiotic stressors influence]. Kiev: Osнова, 2010. 351 p.

Larher V. Jekologija rastenij [Plant ecology]. Moscow: Mir, 1978. 384 p.

Nilova I. A., Titov A. F. Dinamika teploustojchivosti prorostkov pshenicy v zavisimosti ot intensivnosti vysokotemperaturnogo vozdejstviya [The dynamics of thermotolerance in wheat plants depending on the intensity of high temperature influence]. *Trudy KarNC RAN [Transactions of KarRC RAS]*. 2014. No 5. P. 214–217.

Panasenko O. O., Kim M. V., Gusev N. B. Struktura i svojstva malyh belkov teplovogo shoka [Structure and properties of small heat shock proteins]. *Uspehi biologicheskoy himii [Biochemistry. Spec. Iss. Biological Chem. Rev.]*. 2003. Vol. 43. P. 59–98.

Rihvanov E. G., Fedoseeva I. V., Pjatrikas D. V., Borovskij G. B., Vojnikov V. K. Mehanizm funkcionirovaniya kal'cievoj signal'noj sistemy u rastenij pri dejstvii teplovogo stressa. Rol' mitohondrii v jetom processe [Role of mitochondria in the operation of calcium signaling system in heat-stressed plants]. *Fiziologija rastenij [Russ. J. Plant Physiol.]*. 2014. Vol. 61, No 2. P. 155–169. doi: 10.7868/S0015330314020134.

Titov A. F., Akimova T. V., Talanova V. V., Topchieva L. V. Ustojchivost' rastenij v nachal'nyj period dejstviya neblagoprijatnyh temperatur [Plant resistance in

the initial period of unfavourable temperatures effects]. Moscow: Nauka, 2006. 143 p.

Topchieva L. V. Sravnitel'noe izuchenie reakcii rastenij na dejstvie vysokih zakalivajushih i povrezhdajushih temperature [Comparative study of the response of plants to the effects of high hardening and damaging temperatures]: PhD Diss. (Biol.). Petrozavodsk, 1994. 19 p.

Fedjaeva A. V. Produkcija aktivnyh form kisloroda i mitohondrial'nyj potencial pri temperaturnom vozdejstvii v kletkah rastenij i drozhzhej [Production of reactive oxygen and mitochondrial membrane potential in plant cells and yeast under temperature effects]: PhD Diss. (Biol.). Irkutsk, 2015. 23 p.

Hohlova L. P., Valiullina R. N., Mider D. R., Akberova N. I. Termostabil'nost' membran i jekspressija genov nizkomolekuljarnyh belkov teplovogo shoka (mB-TSh) pri dejstvii na rastenija povyshennyh temperatur i vodnogo deficita [Membrane thermostability and gene expression of small heat shock protein (sHSP) in wheat shoots exposed to elevated temperatures and water deficiency]. *Biologicheskie membrany [Biological membranes]*. 2015. Vol. 32, No 1. P. 59–71. doi: 10.7868150233475515010065.

Al-Whaibi M. H. Plant heat-shock proteins: A mini review. *Journal of King Saud University – Science.* 2011. No 23. P. 139–150. doi: 10.1016/j.jksus.2010.06.002.

Basha E., O'Neill H., Vierling E. Small heat shock proteins and α -crystallins: dynamic proteins with flexible functions. *Trends Biochem. Sci.* 2012. Vol. 37. P. 106–117.

Bitá C. E., Gerats T. Plant tolerance to high temperature in changing environment: scientific fundamentals and production of heat stress-tolerant crops. *J. Frontiers in plant science. Crop science and horticulture.* 2013. Vol. 4. P. 1–18. doi: 10.3389/fpls.2013.00273.

Boorstein W. R., Ziegelhoffer Th., Craig E. A. Molecular evolution of the HSP70 multigene family. *J. Mol. Evol.* 1994. P. 1–17.

- Chen Q., Lauzon L. M., DeRocher A. E., Vierling E. Accumulation, stability, and localization of a major chloroplast heat-shock protein. *J. Cell Biol.* 1990. Vol. 110, No 6. P. 1873–1883.
- Cho E. K., Hong Ch. B. Over-expression of tobacco NtHSP70–1 contributes to drought-stress tolerance in plants. *Physiology and Biochemistry.* 2006. P. 349–358. doi: 10.1007/s00299-005-0093-2.
- DeRocher A. E., Helm K. W., Lauzon L. M., Vierling E. Expression of a conserved family of cytoplasmic low molecular weight heat stress proteins during heat stress and recovery. *Plant Physiol.* 1991. Vol. 96, No 4. P. 1038–1047.
- Gou M., Zhai Yu., Lu Ji., Chai L., Chai W., Gong Zh., Lu M. Characterization of *CaHsp70–1*, a Pepper heat-shock protein gene in response to heat stress and some regulation exogenous substances in *Capsicum annuum* L. *Int. J. Mol. Sci.* 2014. P. 19741–19759. doi: 10.3390/ijms151119741.
- Gulli M., Corradi M., Rampino P., Marmioli N., Perrotta C. Four members of the HSP101 gene family are differently regulated in *Triticum durum* Desf. *FEBS letters.* 2007. P. 4841–4849. doi: 10.1016/j.febslet.2007.09.010.
- Hasanuzzaman M., Nahar K., Alam M. M., Roychowdhury R., Fujita M. Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants. *Int. J. Mol. Sci.* 2013. P. 9643–9684. doi: 10.3390/ijms14059643.
- Huerta C., Freire M., Cardemil L. Expression of *hsp70*, *hsp100* and *ubiquitin* in *Aloe barbadensis* Miller under direct heat stress and under temperature acclimation conditions. *Plant Cell Rep.* 2013. P. 293–307. doi: 10.1007/s00299-012-1363-4.
- Jiang C., Xu J., Zhang H., Zhang X., Shi J., Li M., Ming F. A cytosolic class I small heat shock protein, RcHSP17.8, of *Rosa chinensis* confers resistance to a variety of stresses to *Escherichia coli*, yeast and *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Environ.* 2009. Vol. 32. P. 1046–1059. doi: 10.1111/j.1365-3040.2009.01987.x.
- Kim D. H., Xu Z.-Y., Na Y. J., Yoo Y.-J., Lee J., Sohn E.-J., Hwang I. Small heat shock protein Hsp17.8 functions as an AKR2A cofactor in the targeting of chloroplast outer membrane proteins in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 2011. Vol. 157. P. 132–146. doi: 10.1104/pp.111.178681.
- Kumar R. R., Singh G. P., Goswami S., Pathak H., Rai R. D. Proteome analysis of wheat (*Triticum aestivum* L.) for the identification of differentially expressed heat-responsive proteins. *AJCS.* 2014. P. 973–986.
- Li J., Wang Zh., Peng H., Liu Zh. A MITE insertion into the 3'-UTR regulates the transcription of *TaHSP16.9* in common wheat. *The Crop Journal.* 2014. P. 381–387. doi: 10.16/j.cj.2014.07.001.
- Li Q. B., Haskell D. W., Guy Ch. L. Coordinate and non-coordinate expression of the stress 70 family and other molecular chaperones at high and low temperature in spinach and tomato. *Plant Molecular Biology.* 1999. P. 21–34.
- Lund A. A., Blum P. H., Bhatramakki D., Elthon T. E. Heat-Stress response of maize mitochondria. *Plant Physiol.* 1998. Vol. 116. P. 1097–1110.
- Malik M. K., Slovin J. P., Hwang C. H., Zimmerman J. L. Modified expression of a carrot small heat shock protein gene, *hsp17.7*, results in increased or decreased thermotolerance. *Plant J.* 1999. Vol. 20. P. 89–99.
- Mittler R., Finka A., Goloubinoff P. How plants feel the heat? *Trends in Biochemical Science.* 2012. Vol. 37, No 3. doi: 10.1016/j.tibs.2011.11.007.
- Montero-Barrientos M., Hermosa R., Cardoza R. E., Gutierrez S., Nicolas C., Monte E. Transgenic expression of the *Trichoderma harzianum hsp70* gene increases *Arabidopsis* resistance to heat and other abiotic stress. *Journal of Plant Physiology.* 2010. P. 659–665. doi: 10.1016/j.jplph.2009.11.012.
- Mu Ch., Zhang Sh., Yu G., Ni Ch., Li X., Liu H. Over-expression of small heat shock protein LimHSP16.45 in *Arabidopsis* enhances tolerance to abiotic stresses. *PLOS ONE.* 2013. Vol. 8. doi: 10.1371/journal.pone.0082264.
- Necchi A., Pogna N. E., Mapelli J. Early and late heat shock proteins in wheats and other cereal species. *Plant Physiol.* 1987. Vol. 84, No 4. P. 1378–1384.
- Park H. J., Jung W. Yo., Lee S. S., Song J. H., Kwon S., Kim H., Kim Ch., Ahn J. Ch., Cho H. S. Use of stress responsive gene expression levels for early selection of heat tolerant cabbage (*Brassica oleracea* L.). *J. Mol. Sci.* 2013. P. 1187–11894. doi: 10.3390/ijms140611871.
- Qu A., Ding Y., Jiang Q., Zhu Ch. Molecular mechanisms of the plant heat stress response. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 2013. P. 203–207.
- Sanmiya K., Suzuki K., Egawa Y., Shono M. Mitochondrial small heat shock protein enhances thermotolerance in tobacco plants. *FEBS Lett.* 2004. Vol. 557. P. 265–268.
- Sarkar N. K., Kim Y. K., Grover A. Rice sHsp genes: genomic organization and expression profiling under stress and development. *BMC Genomics.* 2009. doi: 10.1186/1471-2164-10-393.
- Scarpeci E. T., Zanol M. I., Valle E. M. Investigation the role of plant heat shock proteins during oxidative stress. *Plant signaling and behavior.* 2008. Vol. 3. P. 856–857. doi: 10.1007/s11103-007-9274-4.
- Song A., Zhu X., Chen F., Gao H., Jiang Ji., Chen S. A Chrysanthemum heat shock protein confers tolerance to abiotic stress. *Int. J. Mol. Sci.* 2014. P. 5063–5078. doi: 10.3390/ijms15035063.
- Sun W. N., Bernard C., van de Cotte B., Van Montagu M., Verbruggen N. At-HSP17.6A, encoding a small heat-shock protein in *Arabidopsis*, can enhance osmotolerance upon overexpression. *Plant J.* 2001. Vol. 27. P. 407–415.
- Sung D. Y., Vierling E., Guy Ch. L. Comprehensive expression profile analysis of the *Arabidopsis* Hsp70 gene family. *Plant Physiology.* 2001. Vol. 126. P. 789–800.
- Usman M. G., Rafii M. Y., Ismail M. R., Malek M. A., Latif M. Ab., Oladosu Yu. Heat shock proteins: functions and response against heat stress in plants. *IJSTR.* 2014. Vol. 3, iss. 11. P. 204–218.
- Wahid A., Gelani S., Ashraf M., Floodad M. R. Heat tolerance in plants: An overview. *J. Environmental and Experimental Botany.* 2007. Vol. 61. P. 199–223.
- Waters E. R., Lee G. J., Vierling E. Evolution, structure and function of the small heat shock proteins in

plants. *Journal of Experimental Botany*. 1996. Vol. 47, No. 296. P. 325–338.

Yen Ch. H., Chang P. F. L., Yen K. W., Lin W. Ch., Chen Y. M., Lin Ch. Yu. Expression of a gene encoding a 16.9-kDa heat-shock protein Oshsp16.9, in

Escherichia coli enhance thermotolerance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1997. Vol. 94. P. 10967–10972.

Received September 11, 2015

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

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

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

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:

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

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

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