

УДК 577:58.087

РОСТ КОРНЕЙ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ *NICOTIANA TABACUM* L. С КОНСТИТУТИВНОЙ ЭКСПРЕССИЕЙ ГЕНА ГЛУТАТИОНСИНТЕТАЗЫ РАПСА *BnGSH* ПРИ ДЕЙСТВИИ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ

З.А. Бережнева¹, А.Р. Кашафутдинова², Б.Р. Кулуев¹¹Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Россия²Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы, Россия

Глутатион – жизненно важный элемент антиоксидантной системы растений, защищающий их клетки от окислительного стресса, вызванного действием различных неблагоприятных факторов внешней среды. Глутатионсинтетаза катализирует присоединение к дипептиду γ -глутамилцистеину аминокислоты глицина. Из литературных источников известно, что экспрессия генов, кодирующих глутатионсинтетазы, способствует повышению металлоустойчивости растений. Однако о роли глутатионсинтазы в регуляции и обеспечении роста растений при действии засоления и низких положительных температур известно очень мало. Исходя из этого, целью нашего исследования была оценка ростовых параметров корней трансгенных растений табака с конститутивной экспрессией гена глутатионсинтетазы рапса *BnGSH* при действии засоления, низких положительных температур и кадмия. Корни трансгенных растений табака росли лучше, чем у растений дикого типа как при выращивании в нормальных условиях, так и при действии всех трех стрессовых факторов.

Ключевые слова: *Nicotiana tabacum*, глутатион, глутатионсинтетаза, холод, солевой стресс, тяжелые металлы.

Глутатион – низкомолекулярный трипептид с высоким содержанием серы [Seth et al., 2012]. Он является одним из самых эффективных низкомолекулярных антиоксидантов и защищает растительную клетку от повреждающего действия активных форм кислорода (АФК), участвует в поддержании внутриклеточного окислительно-восстановительного потенциала и целостности мембран, участвует в клеточном сигналинге, является запасной и транспортной формами серы в клетке, участвует в детоксикации ксенобиотиков и тяжелых металлов [Zhu et al., 1999; Pietrini et al., 2003; Noctor et al., 2011]. У растений глутатион является предшественником фитохелатинов, которые участвуют в детоксикации тяжелых металлов путем их хелатирования [Cobbett, Goldsbrough, 2002].

Молекула глутатиона – пептид, состоящий из остатков трех аминокислот: цистеина, глицина и глутамина [Carcia-Gimenez et al., 2013]. Синтез глутатиона осуществляется в два этапа. Первый из них включает образование γ -глутамилцистеина из глутамата и цистеина и катализируется ферментом γ -глутамилцистеинсинтетазой (GCS). Второй этап заключается в соединении γ -глутамилцистеина с глицином и катализируется ферментом глутатионсинтетазой (GS) [Meyer, 2008; Estrella-Gomez et al., 2012]. Синтез глутатиона в растительной клетке происходит в хлоропластах и цитоплазме [Mendoza-Cozatl et al., 2002; Гришко, Сыщиков, 2012]. Синтезируясь преимущественно в листьях, он по сосудам флоэмы и ксилемы транспортируется в клетки корня и плодов [Gomez, Pallas, 2004].

Повышение активности ферментов синтеза глутатиона (GSH) коррелирует с усилением экспрессии соответствующих генов γ -GCS и GS, при этом увеличивается и количество глутатиона в клетках [Xiang, Oliver, 1998; Li et al., 2006]. Имеются сведения, что заметное усиление биосинтеза глутатиона при стрессовых воздействиях наблюдает-

ся в основном при увеличении уровня экспрессии обоих генов γ -GCS и GS [Mendoza-Cozatl, Moreno-Sanchez, 2006].

Благодаря своим уникальным окислительно-восстановительным и нуклеофильным свойствам глутатион играет важную роль в защите растительных клеток от токсического действия тяжелых металлов [Chen et al., 2010]. Наличие в его молекуле SH-группы, которая содержит остаток цистеина, дает возможность связывать катионы тяжелых металлов, образуя комплексы, которые затем транспортируются в вакуоли. В настоящее время доказано, что образование такого комплекса и его транспорт через тонопласт является важным механизмом, обеспечивающим детоксикацию тяжелых металлов в клетках растений [Lux et al., 2011; Mendoza-Cózatl et al., 2011]. В формировании комплекса металл-GSH участвует фермент глутатион-S-трансфераза (GST), увеличение активности которой обнаружено в присутствии тяжелых металлов, таких как кадмий, свинец, медь, ртуть, кобальт и цинк [Титов и др., 2014].

Таким образом, из анализа литературных источников следует, что глутатион и ферменты глутатионового цикла играют важную роль в механизмах детоксикации тяжелых металлов в растительных клетках. Однако о роли глутатиона и глутатионсинтазы при действии других стрессовых факторов, таких как засоление и низкие положительные температуры почти ничего неизвестно. Засоление и низкие положительные температуры наряду с тяжелыми металлами являются существенным лимитирующим фактором для роста корней. Исходя из этого, целью данной работы была оценка параметров роста корней трансгенных растений табака с конститутивной экспрессией гена глутатионсинтетазы рапса *BnGSH* не только при действии тяжелых металлов, но и при действии низких положительных температур и засоления.

Материалы и методы

Трансгенные растения табака *Nicotiana tabacum* L. сорта Petit Havana с конститутивной экспрессией гена глутатионсинтетазы рапса *BnGSH* (35S::*BnGSH*) были созданы методом агробактериальной трансформации листовых эксплантов (Kuluev et al., 2012). Ген глутатионсинтетазы *BnGSH* (XM_013788447) амплифицировали из геномной ДНК рапса при помощи HiFi

ДНК-полимеразы (Кара Biosystems, USA) с использованием праймеров 5'-TGGGCGATGGCTGCTATTCTC-3' и 5'-TAAATGTAAAGAGCTTTGTCTAG-3'. Размер амплифицированного участка ДНК генома рапса, согласно теоретическим расчетам и результатам агарозного гель-электрофореза, составил 1689 п.н. Для морфометрического анализа были отобраны

линии трансгенных растений табака под номерами 4, 6, 8, 10, 12 и 13, характеризующиеся стабильным и высоким уровнем экспрессии трансгена как в листьях, так и в корнях. Для определения уровня содержания мРНК целевого гена использовали метод количественной ОТ-ПЦР в реальном времени с использованием праймеров 5'-AATGCTTTGCTGGACTTTG-3' и 5'-ACCGCTCTGCTCGTTTATGAT-3'. В качестве стандарта использовали ген *EF-1a* (AF120093.1), уровень содержания мРНК которого принимали за 100%. Для ОТ-ПЦР гена *EF-1a* использовали праймеры 5'-GAATTGGTACTGTCCTGTT-3' / 5'-TTGCCAATCTGTCCTGAAT-3'.

Для морфометрического анализа трансгенные растения табака *N. tabacum* проращивали в климатостатах Binder (Германия) при температуре +25 °С, освещенности около 140 ммоль на кв. м в сек и фотопериоде 16/8 часов (свет/темнота) на питательной среде МС. Через 10 дней проращивания на селективной среде с гигромицином проростки с одинаковыми размерами корней

Результаты

Рост корней трансгенных растений табака при действии низких положительных температур

Способность корней расти в условиях низких положительных температур является ценным признаком для культурных растений. Особенно это актуально при выращивании теплолюбивых южных растений в умеренной зоне, к каковым относится и табак. Нами был проанализирован прирост корней трансгенных растений табака при нормальных условиях (+25 °С) и при действии таких низких положительных температур, как +12 °С и +15 °С. При температуре +25 °С наиболее существенный рост корней наблюдался у линий 4 и 13 (увеличение длины в 2 раза) и линий 6 и 10 (в 1.3 раза) по сравнению с растениями дикого типа (рис. 1а).

При действии температуры +15 °С более быстрый, чем у контроля рост корней наблюдался у 5 линий: у линий 10 и 12 произошло увеличение длины корней в 3.3 раза, у линии 6 – в 2.5 раза, у линий 4 и 8 – увеличение в 1.5 раза по сравнению с диким типом (рис. 1б).

Было установлено, что при действии +12 °С рост корней как у дикого типа, так и у трансгенных растений замедлялся еще более существенно. Отметим, что у линий 8 и 10 скорость роста корней при действии данной температуры была выше, чем у контроля в 1.6 раза (рис. 1в). В целом у линии 10 наблюдалось наиболее существенное увеличение длины корней при действии холода по сравнению с другими линиями трансгенных растений.

Рост корней трансгенных растений табака при действии NaCl

Засоление почвы – распространенное явление, которое отрицательно сказывается на росте и урожайности растений. Так как NaCl содержится в почве, то этот стрессовый фактор оказывает свой отрицательный эффект, прежде всего, на рост корней растений. При нормальных условиях достоверное увеличение длины корней по сравнению с диким типом было выявлено у линий 4, 6, 10, 13, как и при экспериментах с выращиванием растений при низких положительных температурах. У линии 4 наблюдалось увеличение длины корней в 2 раза, у линии 13 – в 1.75 раза, у линий 6 и 10 – в 1.3 раза по сравнению с растениями дикого типа (рис. 2а).

При выращивании на среде с 50 мМ NaCl улучшенные по сравнению с диким типом скорости роста корней были обнаружены у линий 6, 10, 12, 13. У линии 13 наблюда-

переносили на вертикально-ориентированные чашки Петри со средой МС и по прошествии 10 дней с помощью миллиметровой линейки определяли прирост корней (изменение длины) при норме (контроль), действии 50 мМ и 100 мМ NaCl, 100 мкМ, 200 мкМ и 400 мкМ ацетата кадмия; а также низких положительных температур +12 °С и +15 °С. Эксперименты, моделирующие солевой стресс и действие токсичного иона металла кадмия проводились при температуре +25 °С. В качестве контроля использовали нетрансгенные растения табака *N. tabacum* сорта Petit Havana линии SR1 дикого типа, выращенные в тех же условиях, как и трансгенные растения табака, только без добавления в среду МС гигромицина. Результаты исследований представляли в виде гистограмм со средними значениями выборки. Барами обозначали стандартную ошибку среднего. Достоверность различий во всех экспериментах оценивали при помощи *U*-критерия Манна-Уитни.

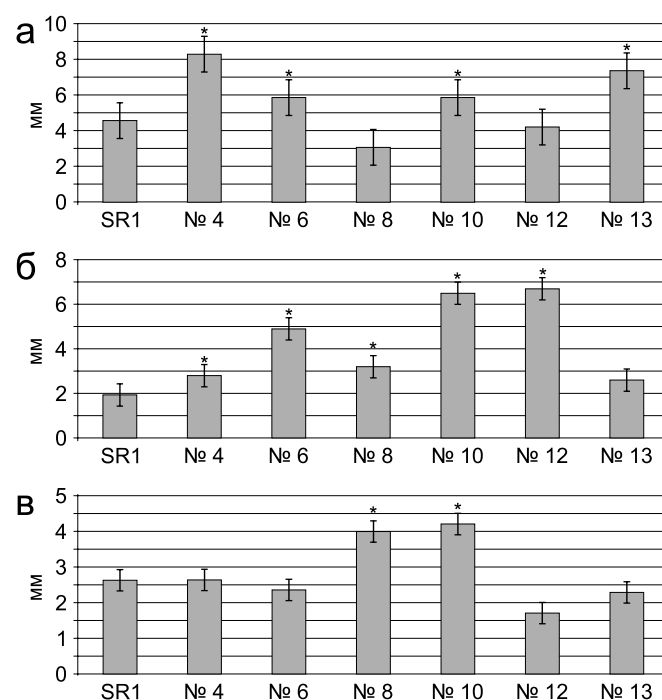


Рисунок 1. Удлинение корней трансгенных растений табака с конститутивной экспрессией гена глутатионсинтетазы рапса *BnGSH* при выращивании в течение 10 дней на вертикально ориентированных чашках Петри при различных температурах: а) +25 °С, б) +15 °С, в) +12 °С. SR1 – дикий тип, №4 – 13 – линии трансгенных растений табака.

лось увеличение длины корней в 2.2 раза, у линии 10 – в 1.6 раз, у линий 6 и 12 – в 1.3 раза (рис. 2б) по сравнению с длиной корней растений дикого типа.

При действии 100 мМ NaCl более быстрыми, чем у контроля темпами роста корней характеризовались линии 4, 8, 12 и 13. У линии 8 длина корней трансгенных растений увеличилась в 1.5 раза, а у линий 4, 12, 13 – в 1.25 раза. Остальные линии трансгенных растений не отличались по длине корней от растений дикого типа (рис. 2в).

Рост корней трансгенных растений табака при действии ацетата кадмия

Среди тяжелых металлов кадмий является одним из наиболее токсичных и распространенных элементов, оказывающих негативное воздействие на важнейшие физиологические и биохимические процессы жизнедея-

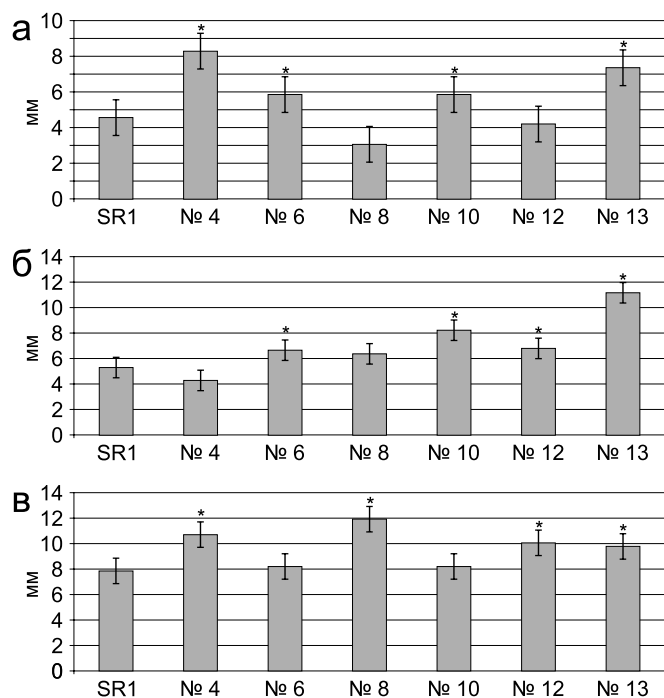


Рисунок 2. Удлинение корней трансгенных растений табака с конститутивной экспрессией гена глутатионсинтетазы рапса *BnGSH* при выращивании в течение 10 дней на вертикально ориентированных чашках Петри при различных концентрациях NaCl: а) 0 мМ, б) 50 мМ, в) 100 мМ.

тельности растений. В связи с этим представлял большой интерес изучение прироста корней трансгенных растений табака при добавлении ацетата кадмия в среду МС.

При добавлении ацетата кадмия в концентрации 100 мкМ, увеличенная по сравнению с контролем длина корней была характерна только для линий 4 (в 2 раза) и 6 (в 1.3 раза). При этом у остальных линий трансгенных растений длина корней сохранялась на уровне растений дикого типа (рис. 3а).

Результаты опыта показали, что при концентрации ацетата кадмия 200 мкМ увеличение длины корней по срав-

нению с контролем происходило у 5-ти линий. Для линии 10 было характерно увеличение длины корней в 8 раз, у линий 13 и 6 происходило увеличение длины корней в 4.4 и 3.8 раз соответственно, у линии 8 и 12 – в 2.5 раза по сравнению с длиной корней дикого типа (рис. 3б).

При действии 400 мкМ ацетата кадмия более быстрыми темпами роста корней, чем у дикого типа, характеризовались линии 4, 8, 10, 12 и 13. У линии 4 наблюдалось увеличение длины корней в 2 раза, у линии 12 – в 1.7 раза, у линии 6 и 10 – в 1.5 раза, у линии 13 в 1.3 раза по сравнению с длиной корней растений дикого типа (рис. 3в).

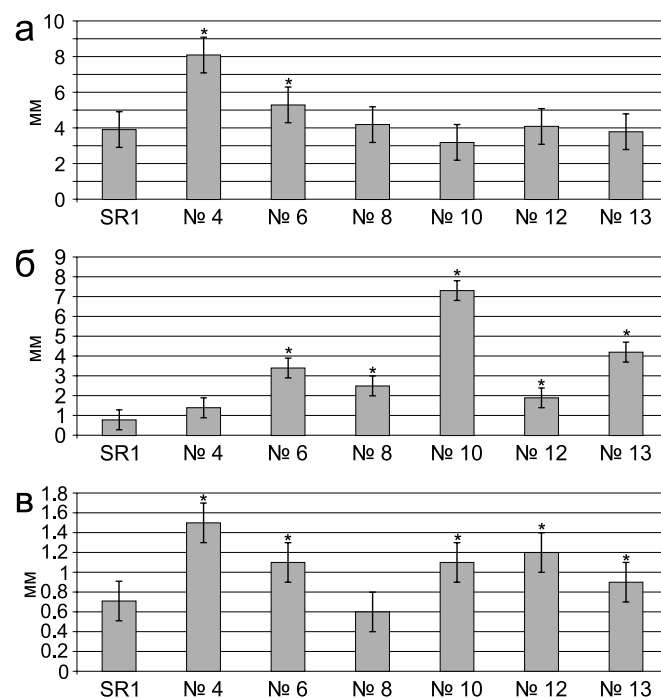


Рисунок 3. Удлинение корней трансгенных растений табака с конститутивной экспрессией гена глутатионсинтетазы рапса *BnGSH* при выращивании в течение 10 дней на вертикально ориентированных чашках Петри при различных концентрациях ацетата кадмия: а) 100 мкМ, б) 200 мкМ, в) 400 мкМ.

Обсуждение

Ген *BnGSH* кодирует одну из глутатионсинтетаз рапса, участвующих в биосинтезе важнейшего антиоксиданта клетки – глутатиона. Нами были созданы трансгенные растения табака с конститутивной экспрессией гена *BnGSH*. Для морфометрического анализа корней были отобраны линии трансгенных растений с высоким и примерно одинаковым уровнем экспрессии целевого гена.

При выращивании в условиях низких положительных температур более быстрые темпы роста корней трансгенных растений табака обнаруживались при +12°C у линий 8 и 10, а при +15°C – у линий 10 и 12. В целом большинство линий трансгенных растений, несмотря на высокий уровень экспрессии гена *BnGSH*, характеризовались меньшей длиной корней, чем растения дикого типа, при действии температуры +12°C. В то же время при температуре +15°C длина корней всех линий трансгенных растений увеличивалась по сравнению с растениями дикого типа. Исходя из этого, можно предполагать, что продукт гена *BnGSH* оказывает положительное влияние на рост растений в условиях умеренно низких положительных температур, таких как +15°C. Вероятнее всего +12°C для

корней табака является настолько низкой, что один лишь повышенный уровень экспрессии глутатионсинтетазы не может способствовать улучшению роста этого органа. В литературе имеются сведения о связи генов различных глутатион-зависимых ферментов с холодовым стрессом [Vijayakumar et al., 2016], однако что касается глутатионсинтетаз, такие сведения до наших исследований не обобщались. Итак, судя по нашим данным, глутатионсинтетазы могут играть положительную роль при росте корней в условиях небольшого уменьшения температуры грунта.

Совокупность всех полученных данных при выращивании трансгенных растений табака в условиях засоления позволяют делать вывод, что продукт гена *BnGSH* способствует повышению солеустойчивости. Улучшенными параметрами роста корней характеризовались линии 8 (при 100 мМ NaCl) и 13 (при 50 мМ NaCl). В литературе имеется информация как о том, что солеустойчивость может быть обусловлена повышением содержания в клетках глутатиона [Cheng et al., 2015], так и о том, что повышенная экспрессия генов глутатионсинтетаз может приводить к увеличению содержания глутатиона в клетках [Flocco et

al., 2004]. Исходя из этих данных, можно предположить, что изученные нами трансгенные растения табака характеризуются повышенным содержанием глутатиона. Однако, для подтверждения этого предположения требуются дополнительные исследования.

При выращивании трансгенных растений в условиях избытка тяжелых металлов повышенная стрессоустойчивость наблюдалась у линий 4 (100 мкМ и 400 мкМ ацетата кадмия) и 10 (200 мкМ ацетата кадмия). В целом большинство трансгенных растений при концентрациях 200 и 400 мкМ ацетата кадмия характеризовались более высокой устойчивостью к тяжелым металлам.

Торможение роста является одним из самых важных и наиболее легко регистрируемых проявлений токсичности тяжелых металлов в отношении растений [Ivanov et al., 2003; Титов и др., 2007]. Под влиянием тяжелых металлов у растений уменьшаются линейные размеры корней и побегов, снижается накопление биомассы. Наибольшее число исследований в этом направлении посвящено действию на растения кадмия, как одного из наиболее токсичных тяжелых металлов. Механизм воздействия тяжелых металлов на растяжение клеток связан, в первую очередь,

со снижением эластичности клеточных стенок, причинами которого являются образование ионами металлов прочных связей с SH-группами белков, входящих в ее состав, с повреждением структуры микротрубочек и нарушением водного режима клеток [Ivanov et al., 2003; Seregin, Kozhevnikova, 2004; Villiers et al., 2011]. Положительное действие глутатиона при кадмиевом стрессе может объясняться не только обезвреживанием АФК, но и тем, что глутатион непосредственно связывает ионы тяжелых металлов [Pilon-Smits, 2005]. Более того, глутатион является предшественником фитохелатинов, специфическая функция которых заключается в хелатировании и детоксикации тяжелых металлов [Postrigan, 2012; 2013].

Итак, в данной работе нами было показано, что ген *BnGSH* рапса может быть использован для улучшения роста корней при действии умеренно низких положительных температур, засоления и тяжелых металлов. Совокупность полученных нами результатов позволяет делать вывод о вовлеченности гена глутатионсинтетазы рапса *BnGSH* в регуляцию роста корней, как при нормальных условиях, так и при действии стрессовых факторов.

Библиографический список

- Гришко В.Н., Сыщиков Д.В. Функционирование глутатионзависимой антиоксидантной системы и устойчивость растений при действии тяжелых металлов и фтора. Киев: Наук. думка, 2012. 238 с.
- Титов А.Ф., Казнина Н.М., Таланова В.В. Тяжелые металлы и растения. Монография. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2014. 194 с.
- Титов А.Ф., Таланова В.В., Казнина Н.М., Лайдинен Г.Ф. Устойчивость растений к тяжелым металлам. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2007. 170 с.
- Carcia-Gimenez J.L. Nuclear glutathione / Carcia-Gimenez J.L., Markovic J., Dasi F. / Biochem. Biophys. Acta. 2013. N. 1830. P. 3304–3316.
- Chen F. Modulation of exogenous glutathione in antioxidant defense system against Cd stress in two barley genotypes differing in Cd tolerance / Chen F., Wang F., Wu F. / Plant Physiol. Biochem. 2010. N. 48. P. 6636–6672.
- Cheng M.C. Increased glutathione contributes to stress tolerance and global translational changes in Arabidopsis / Cheng M.C., Ko K., Chang W.L., Kuo W.C., Chen G.H., Lin T.P. / Plant J. 2015. N. 83. P. 926–939.
- Cobbett C. Phytochelatin and metallothioneins: roles in heavy metal detoxification and homeostasis / Cobbett C., Goldsbrough P. / Annu. Rev. Plant Biol. 2002. N. 53. P. 159–182.
- Estrella-Gomez N.E. Glutathione plays a role in protecting leaves of Sedium minima from Pb²⁺ damage associated with changes in the expression of SmGS genes and increased activity of GS / Estrella-Gomez N.E., Sauri-Duch E., Zapata-Perez O., Santamaria J.M. / Environ. Exp. Bot. 2012. N. 75. P. 188–194.
- Flocco C.G. Overexpression of enzymes involved in glutathione synthesis enhances tolerance to organic pollutants in *Brassica juncea* / Flocco C.G., Lindblom S.D., Smits E.A. / Int J Phytoremediation. 2004. N. 6. P. 289–304.
- Gomez G. A long distance translocatable phloem protein from cucumber forms a ribonucleoprotein complex in vivo with Hop stunt viroid RNA / Gomez G., Pallas V. / J. Virol. 2004. N. 78. P. 10104–10110.
- Ivanov V.B. Comparative impacts of heavy metals on root growth as related to their specificity and selectivity / Ivanov V.B., Bystrova E.I., Seregin I.V. / Russ J Plant Physiol. 2003. N. 50 (3). P. 445–454.
- Kuluev B.R. Obtaining transgenic tobacco plants expressing conserved regions of the *AINTEGUMENTA* gene in antisense orientation / Kuluev B.R., Knyazev A.V., Lebedev Ya.P., Postrigan B.N., Chemeris A.V. / Russ J Plant Physiol. 2012. N. 59. P. 307–317.
- Li Y. The shoot-specific expression of γ -glutamylcysteine synthetase directs the long-distance transport of thiolpeptides to roots conferring tolerance to mercury and arsenic / Li Y., Dhankher O.P., Carreira L. / Plant Physiol. 2006. N. 141. P. 288–298.
- Lux A. Root responses to cadmium in the rhizosphere: a review / Lux A., Martinka M., Vaculik M., White P.J. / J. Exp. Bot. 2011. N. 62 (1). P. 21–37.
- Mendoza-Cozatl D. G. Cadmium accumulation in the chloroplast of *Euglena gracilis* / Mendoza-Cozatl D. G., Devars S., Loza-Tavera H., Moreno-Sanchez R. / Physiol. Plant. 2002. N. 115. P. 276–283.
- Mendoza-Cozatl D.G. Longdistance transport, vacuolar sequestration, tolerance, and transcriptional responses induced by cadmium and arsenic / Mendoza-Cozatl D.G., Jobe T.O., Hauser F., Schroeder J.I. / Curr. Opin. Plant Biol. 2011. N. 14. P. 554–562.
- Mendoza-Cozatl D.G. Control of glutathione and phytochelatin synthesis under cadmium stress. Pathway modeling for plants / Mendoza-Cozatl D.G., Moreno-Sanchez R. / J. Theor. Biol. 2006. N. 238 (4). P. 919–936.
- Meyer A.J. The integration of glutathione homeostasis and redox signaling / J. Plant Physiol. 2008. N. 165. P. 1390–1403.
- Noctor G. Glutathione / Noctor G., Queval G., Mhamdi A. / The Arabidopsis Book 9. 2011. P. 1–42.
- Pietrini F. Interaction of cadmium with glutathione and photosynthesis in developing leaves and chloroplasts of *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steudel. / Pietrini F., Iannelli M. A., Pasqualini S., Massacci A. / Plant Physiol. 2003. N. 133 (2). P. 829–937.
- Pilon-Smits E. Phytoremediation / Annu. Rev. Plant Biol. 2005. N. 56. P. 15–39.
- Postrigan B.N. Effect of cadmium on promoter activity of rice phytochelatin synthase gene in transgenic tobacco plants / Postrigan B.N., Knyazev A.V., Kuluev B.R., Chemeris A.V. / Russ J Plant Physiol. 2013. N. 60. P. 701–705.
- Postrigan B.N. Expression of the synthetic phytochelatin gene in tobacco / Postrigan B.N., Knyazev A.V., Kuluev B.R., Yakhin O.I., Chemeris A.V. / Russ J Plant Physiol. 2012. N. 59. P. 275–280.
- Seregin I.V. Physiological role of nickel and its toxic effects on higher plants / Seregin I.V., Kozhevnikova A.D. / Russ J Plant Physiol. 2006. N. 53. P. 285–308.
- Seth C.S. Phytoextraction of toxic metals: a central role for glutathione / Seth C.S., Remans T., Keunen E. / Plant Cell Environ. 2012. N. 35. P. 334–346.
- Vijayakumar H., Glutathione transferases superfamily: cold-inducible expression of distinct *GST* genes in *Brassica oleracea* / Vijayakumar H., Thamilarasan S.K., Shanmugam A., Natarajan S., Jung H.J., Park J.I., Kim H., Chung M.Y., Nou I.S. / Int J Mol Sci. 2016. N. 17.
- Villiers F. Investigating the plant response to cadmium exposure by proteomic and metabolomic approaches / Villiers F., Ducruix C., Hugouvieux V. / Proteomics. 2011. N. 11. P. 1650–1663.
- Xiang C. Glutathione metabolic genes coordinately respond to heavy metals and jasmonic acid in Arabidopsis / Xiang C., Oliver D.J. / Plant Cell. 1998. N. 10. P. 1539–1550.
- Zhu Y.L. Overexpression of glutathione synthetase in Indian mustard enhances cadmium accumulation and tolerance / Zhu Y.L., Pilon-Smits E.A.H., Jouanin L., Terry N. / Plant Physiol. 1999. N. 119 (1). P. 73–79.

Translation of Russian References

Grishko V.N., Syshchikov D.V. Functioning of glutathione-dependant antioxidant system and resistance of plants at effect of heavy metals and fluorine. Kiev: Nauk. dumka, 2012. 238 p.

Titov A.F., Kaznina N.M., Talanova V.V. Heavy metals and plants. Monograph. Petrozavodsk: KarNTs RAN, 2014. 194 p.

Titov A.F., Talanova V.V., Kaznina N.M., Laidinen G.F. Plant resistance to heavy metals. Petrozavodsk: KarNTs RAN, 2007. 170 p.

Plant Protection News, 2017, 3(93), p. 55–59

ROOT GROWTH IN *NICOTIANA TABACUM* TRANSGENIC PLANTS
WITH OVEREXPRESSION OF BNGSH GENE OF OILSEED RAPE GLUTATHIONE
SYNTHETASE UNDER STRESS FACTORS

Z.A. Berezhneva¹, A.R. Kashafutdinova², B.R. Kuluev¹

¹*Institute of Biochemistry and Genetics USC RAS, Ufa, Russia;*

²*Bashkir State Pedagogical University, Ufa, Russia*

Glutathione is a vital component of the antioxidant system of plants. It protects the cells from oxidative stress caused by various adverse environmental factors. Glutathione synthetase catalyzes the addition of the amino acid glycine to the dipeptide γ -glutamylcysteine. It is known that the expression of genes encoding the glutathione synthetase contributes to the improvement of heavy metal tolerance of plants. However, very little is known about the role of glutathione synthetase in regulation of plant growth under salinity and low positive temperatures. On this basis, the aim of our study was to assess the root growth parameters of transgenic tobacco plants with constitutive expression of the BnGSH gene of oilseed rape glutathione synthetase under salinity stress, low positive temperatures and cadmium. In the transgenic tobacco plants, we observed better root growth than this in wild type plants, both in normal conditions and under the influence of all three types of stressors.

Keywords: *Nicotiana tabacum*; glutathione synthetase; cold; salt stress; heavy metals.

Сведения об авторах

Институт биохимии и генетики УНЦ РАН,
г. Уфа, ул. Проспект Октября, 71, 450054.

*Бережнева Зоя Александровна. Аспирант,
e-mail: berezhneva-z@yandex.ru

Кулueв Булат Разяпович. Старший научный сотрудник,
доктор биологических наук, e-mail: kuluev@bk.ru

Башкирский государственный педагогический университет им.
М.Акумуллы, г. Уфа, ул. Октябрьской революции, 3а, 450008

Кашафутдинова Алия Ринатовна. Студент,
e-mail: kashafutdinova.aliya@mail.ru

Information about the authors

Institute of Biochemistry and Genetics USC RAS,
Prospekt Oktyabrya, 71, 450054, Ufa, Russia

*Berezhneva Zoya Aleksandrovna. PhD Student,
e-mail: berezhneva-z@yandex.ru

Kuluev Bulat Razyapovich. Senior Researcher, DSc in Biology,
e-mail: kuluev@bk.ru

Bashkir State Pedagogical University,
ul. Oktyabr'skoi revolyutsii, 3a, 450008, Ufa, Russia

Kashafutdinova Aliya Rinatovna. Student,
e-mail: kashafutdinova.aliya@mail.ru

* Ответственный за переписку

* Responsible for correspondence