
ГЕНЕТИКА И МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

GENETICS AND MOLECULAR BIOLOGY

УДК 577.21:575.113

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ *acdS*-ГЕНА БАКТЕРИЙ *PSEUDOMONAS PUTIDA* В-37 НА ТРАНСГЕННЫЕ РАСТЕНИЯ *NICOTIANA TABACUM* В УСЛОВИЯХ АБИОТИЧЕСКОГО СТРЕССА

Д. А. РУТКЕВИЧ¹⁾, Е. С. КОРОЛЕВА²⁾, Е. А. ХРАМЦОВА¹⁾

¹⁾Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

²⁾Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Беларусь

Проведен селективный отбор трансгенных растений *Nicotiana tabacum*, несущих *acdS*-ген бактерий *Pseudomonas putida* В-37. Методом полимеразной цепной реакции со специфическими праймерами доказано наличие целевого гена. Отобранные на селективной среде трансгенные растения высаживались в грунт и подвергались абиотическому стрессу, вызванному загрязнением почвы солями тяжелых металлов (15 мг/кг для Cu^{2+} и 30 мг/кг для Cr^{6+} и Pb^{2+}), а также засолением почвы (200 ммоль/л NaCl). Проведение реакции обратной транскрипции и количественной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени показало транскрипционную активность бактериального *acdS*-гена в клетках трансгенных растений на уровне с референсным геном *Ef-1a*. Определение удельной активности АЦК-деаминазы – продукта экспрессии *acdS*-гена – подтвердило формирование активного фермента в тканях трансгенных растений табака. Доказано положительное влияние *acdS*-гена бактерий *P. putida* В-37 на трансгенные растения *N. tabacum* в условиях абиотического стресса.

Ключевые слова: АЦК-деаминаза; *Nicotiana tabacum*; *acdS*-ген; *Pseudomonas putida*; абиотический стресс.

Образец цитирования:

Руткевич ДА, Королева ЕС, Храмцова ЕА. Изучение влияния *acdS*-гена бактерий *Pseudomonas putida* В-37 на трансгенные растения *Nicotiana tabacum* в условиях абиотического стресса. Журнал Белорусского государственного университета. Биология. 2020;1:39–46.
<https://doi.org/10.33581/2521-1722-2020-1-39-46>

For citation:

Rutkevich DA, Karaleva KS, Khramtsova EA. The influence of bacteria *acdS*-gene of *Pseudomonas putida* В-37 on *Nicotiana tabacum* transgenic plants under abiotic stress conditions. Journal of the Belarusian State University. Biology. 2020;1:39–46. Russian.
<https://doi.org/10.33581/2521-1722-2020-1-39-46>

Авторы:

Дарья Андреевна Руткевич – магистрант кафедры генетики биологического факультета. Научный руководитель – Е. А. Храмцова.

Екатерина Сергеевна Королева – младший научный сотрудник.

Елена Аркадьевна Храмцова – кандидат биологических наук, доцент; доцент кафедры генетики биологического факультета.

Authors:

Daria A. Rutkevich, master's degree student at the department of genetics, faculty of biology.

rutkevichd@inbox.ru

Katsiaryna S. Karaleva, junior researcher.

Elena A. Khramtsova, PhD (biology), docent; associate professor at the department of genetics, faculty of biology.

elenakhramtsova@inbox.ru

THE INFLUENCE OF BACTERIA *acdS*-GENE OF *PSEUDOMONAS PUTIDA* B-37 ON *NICOTIANA TABACUM* TRANSGENIC PLANTS UNDER ABIOTIC STRESS CONDITIONS

D. A. RUTKEVICH^a, K. S. KARALEVA^b, E. A. KHRAMTSOVA^a

^aBelarusian State University, 4 Niezaliežnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

^bInstitute of Genetics and Cytology, National Academy of Sciences of Belarus,
27 Akademičnaja Street, Minsk 220072, Belarus

Corresponding author: D. A. Rutkevich (rutkevichd@inbox.ru)

In the present work was carried out selection of transgenic plants of *Nicotiana tabacum* carrying *acdS*-gene of bacteria *Pseudomonas putida* B-37. Using polymerase chain reaction with specific primers, the presence of the target gene was proved. Transgenic plants selected on a selective medium were planted in the ground and subjected to abiotic stress caused by soil contamination with heavy metal salts (15 mg/kg for Cu²⁺ and 30 mg/kg for Cr⁶⁺ and Pb²⁺) and salinization of the soil (200 mmol/L NaCl). Reverse transcription polymerase chain reaction and real-time polymerase chain reaction were conducted and confirmed the transcriptional activity of the bacterial *acdS*-gene in transgenic plant cells at a level with the reference gene *Ef-1a*. Determination of activity of ACC-deaminase, the product of expression of the *acdS*-gene, confirmed the formation of the active enzyme in the leaf tissues of transgenic tobacco plants. The beneficial effect of the *acdS*-gene of the bacteria *P. putida* B-37 on transgenic *N. tabacum* plants under abiotic stress has been proven.

Keywords: ACC-deaminase; *Nicotiana tabacum*; *acdS*-gene; *Pseudomonas putida*; abiotic stress.

Введение

Этилен – фитогормон, обладающий сильным морфогенетическим действием. Он стимулирует рост самого растения и всех его частей, активизирует созревание плодов и семян [1–3]. Однако при произрастании растений в стрессовых условиях концентрация этилена может увеличиваться на несколько порядков («стрессовый этилен»), что впоследствии обычно приводит к ускорению процессов старения, пожелтения и опадения листьев, остановке роста и гибели растения [4].

Одним из способов снижения уровня стрессового этилена является использование фермента АЦК-деаминазы, синтезируемого некоторыми ризобактериями. Данный фермент разлагает предшественника этилена – АЦК – до аммиака и α -кетобутирата [5].

В последние годы особое внимание уделяется исследованиям, направленным на разработку методов защиты растений от стрессового этилена путем создания и использования трансгенных форм, которые приобретают устойчивость к стрессовому этилену благодаря введению в их геном бактериальных генов, кодирующих АЦК-деаминазу.

В настоящее время известно, что экспрессия *acdS*-гена бактерий в растениях приводит к усиленной деградации стрессового этилена в корневой зоне и снятию негативного эффекта его действия [6; 7].

Создание новых трансгенных растений, синтезирующих бактериальную АЦК-деаминазу и обладающих повышенной устойчивостью к абиотическим стрессам, является высокоактуальным в связи с постоянно усиливающимся техногенным воздействием на природные сообщества.

Цель данного исследования – анализ экспрессии *acdS*-гена бактерий *P. putida* B-37 в трансгенных растениях *N. tabacum* в условиях абиотического стресса, вызванного засолением почвы и загрязнением ее солями тяжелых металлов.

Материалы и методы исследования

Объект исследования. В качестве основного объекта исследования использовались полученные ранее трансгенные растения *N. tabacum*. Отбор растений производился на селективной среде Мурасиге – Скуга, содержащей канамицин.

Культивирование семян *N. tabacum*. Проростки табака переносили на среду для корнеобразования и выращивали при 16-часовом световом дне и температуре (20 ± 0,5) °С. Сформированные растения высаживали в грунт.

Создание условий абиотического стресса. Для создания стрессовых условий, вызванных загрязнением почвы солями тяжелых металлов, производили однократный полив растений растворами $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ (по 5 мл) в концентрации 15 мг на 1 кг почвы для Cu^{2+} и 30 мг на 1 кг почвы для Cr^{6+} и Pb^{2+} соответственно.

Для создания стрессовых условий, вызванных засолением почвы, проводили полив растений раствором NaCl до достижения в почве концентрации 200 ммоль/л по методике, предложенной в статье [8].

Выделение тотальной ДНК из растений. Растительный материал помещали в пробирку, добавляли жидкий азот и выдерживали несколько секунд до его испарения, затем быстро растирали листовую ткань в порошок. Далее вводили буфер для выделения ДНК до объема 750 мкл, ресуспендировали и инкубировали пробу при 65 °C 10 мин. Добавляли 200 мкл ацетата калия (5 моль/л) и энергично встряхивали пробирку. Инкубировали пробу на ледяной бане 20 мин, после чего центрифугировали при 12 000 об/мин в течение 10 мин при комнатной температуре. Супернатант переносили в новую пробирку, добавляли равный объем изопропанола, перемешивали и центрифугировали 2 мин при 12 000 об/мин. Удаляли жидкую фазу и ресуспендировали осадок в равном объеме 80 % этанола. Затем убирали супернатант, подсушивали осадок. Растворяли ДНК в 50 мкл ТЕ-буфера и хранили при –20 °C.

Проведение полимеразной цепной реакции (ПЦР). Реакцию осуществляли по заданной программе с помощью аппарата C1000 Touch™ Thermal Cycler фирмы Bio-Rad Laboratories (США). При постановке ПЦР использовали реактивы компании Thermo Fisher Scientific (Литва): Taq-полимеразу, 10-кратный Taq-буфер для ПЦР, смесь дНТФ и деионизированную H_2O в концентрациях, предложенных производителем. Результаты ПЦР визуализировали посредством электрофореза в агарозном геле.

Аmplification acdS-гена. Используемые праймеры:

- прямой (Fatg) – 5'-TCCGGATCCATGAACCTGAATCGTTTTRAACGTTATC-3';
- обратный (Rtga) – 5'-TCCGGATCCTCAGCCGTTGCGRAACARGAAG-3'.

Параметры циклов амплификации: 5 мин при 94 °C – 1 цикл; 30 с при 94 °C, 30 с при 54 °C, 1,5 мин при 72 °C – 35 циклов; 30 с при 72 °C – 1 цикл.

Электрофорез в агарозном геле. Электрофорез проводили с использованием ТАЕ-буфера согласно методическим указаниям, изложенным в пособии [9].

Выделение растительной РНК. Растительный материал растирали тонким металлическим шпателем. Добавляли 500 мкл буфера для экстракции, центрифугировали 10 мин при 12 000 об/мин. Отбирали водную фазу, добавляли к ней равный объем 4 моль/л LiCl . Центрифугировали 30 мин при 10 000 об/мин, добавляли к осадку 250 мкл H_2O , 25 мкл ацетата натрия (3 моль/л, pH 5,2) и 550 мкл 96 % этанола. Пробы центрифугировали 30 мин при 12 000 об/мин. Осадок промывали 1 мл 70 % этанола. Образцы центрифугировали 5 мин при 10 000 об/мин. Удаляли супернатант, подсушивали осадок и растворяли его в 40 мкл H_2O .

Синтез кДНК. В стерильный эппендорф на льду вводили в следующем порядке реактивы: мРНК – 0,1–5,0 нг, праймеры – 0,5 мкг, ДЕПК-вода – до 12,5 мкл, 5-кратный буфер для реакции – 4 мкл, ингибитор РНКазы – 0,5 мкл, смесь нуклеотидов – 2 мкл, обратная транскриптаза – 1 мкл. Инкубировали 10 мин при 25 °C, 60 мин при 42 °C. Ингибировали реакцию нагреванием до 70 °C в течение 10 мин.

Для синтеза кДНК использовали обратную транскриптазу Revert Aid™ Premium Reverse Transcriptase, произведенную фирмой Fermentas (США).

Постановка количественной ПЦР в режиме реального времени (РВ-ПЦР). Смесь реагентов для проведения одной реакции составляли следующим образом: 2-кратный ПЦР-буфер Maxima SYBR Green qPCR Master Mix (Thermo Scientific, США) – 12,5 мкл, прямой праймер – 0,5 мкл, обратный праймер – 0,6 мкл, образец кДНК (20 нг/мкл) – 2 мкл. Конечный объем доводили H_2O до 25 мкл. Программа амплификации была такой: 2 мин при 50 °C – 1 цикл; 10 мин при 95 °C – 1 цикл; 15 с при 95 °C, 30 с при 55 °C, 1 мин при 60 °C – 40 циклов.

Используемые праймеры:

- прямой (RT-ATG-For1) – 5'-ATGAACCTGAATCGTTTGAACGTTATC-3';
- обратный (RT-ATG-Rev1) – 5'-CACTGTTGCACTCTTCACGTTTG-3'.

Определение содержания белка в растительных гомогенатах. Количество белка определяли биуретовым методом [10].

Определение ферментативной активности АЦК-деаминазы [11]. Пробу, содержащую 200 мкл клеточного экстракта и 16 мг АЦК, инкубировали в 0,2 мл Tris-буфера (1 моль/л) при 30 °C в течение 60 мин. Останавливали реакцию добавлением 1,8 мл 0,56 н HCl , после чего вносили 0,3 мл 0,1 % раствора 2,4-динитрофенилгидразина в 2 н HCl и повторно выдерживали при 30 °C 15 мин. Реакцию останавливали, добавляя 2 мл 2 н NaOH .

Реакционную смесь переносили в кювету и измеряли оптическую плотность образовавшегося в результате реакции α -кетобутирата ($\lambda = 540$ нм). Спектрофотометрический анализ проводили с использованием спектрофотометра Cary 50 Scan (Varian, Австралия).

Удельную активность АЦК-деаминазы определяли по формуле

$$A = \Delta OP / (C \cdot V \cdot t),$$

где A – удельная активность АЦК-деаминазы; $\Delta OP = OP_{\text{проба}} - OP_{\text{контроль}}$ (изменение адсорбции); C – количество белка в реакции, мг/мл; V – объем вносимого клеточного экстракта, мл; t – время реакции, мин.

Удельную активность фермента выражали в наномолях на 1 мг белка в минуту.

Результаты и их обсуждение

Семена от полученных ранее трансгенных растений проращивали на селективной среде Мурасиге – Скуга с добавлением канамицина. Проростки переносили на среду для корнеобразования. После завершения формирования корневой системы растения высаживали в грунт для укоренения и постановки эксперимента.

Разработка схемы эксперимента. Укоренившиеся растения разбивались на несколько выборок: трансгенные растения *N. tabacum*, выращиваемые в условиях загрязнения почвы солями тяжелых металлов и в условиях засоления почвы. В качестве контрольных выборок были высажены нетрансгенные растения табака, подвергавшиеся аналогичным стрессовым воздействиям, а также нетрансгенные и трансгенные образцы, культивируемые в отсутствие абиотического стресса.

*Подтверждение наличия бактериального *acdS*-гена в геноме трансгенных растений *N. tabacum*.* Одним из необходимых этапов работы было выделение тотальной растительной ДНК трансгенных растений табака. Выделенная ДНК служила матрицей при постановке ПЦР со специфическими праймерами к *acdS*-гену. В качестве положительного контроля использовалась рекомбинантная плазмида pBI121/*acdS*-B37, несущая *acdS*-ген бактерий *P. putida* B-37, в качестве негативного – продукт ПЦР на матрице ДНК нетрансгенных растений табака. Результаты представлены на рис. 1.

В ходе ПЦР получен фрагмент около 1000 пар нуклеотидов (п. н.), соответствующий размеру *acdS*-гена бактерий *P. putida* B-37. Таким образом, было доказано наличие бактериального *acdS*-гена в трансгенных растениях *N. tabacum*.

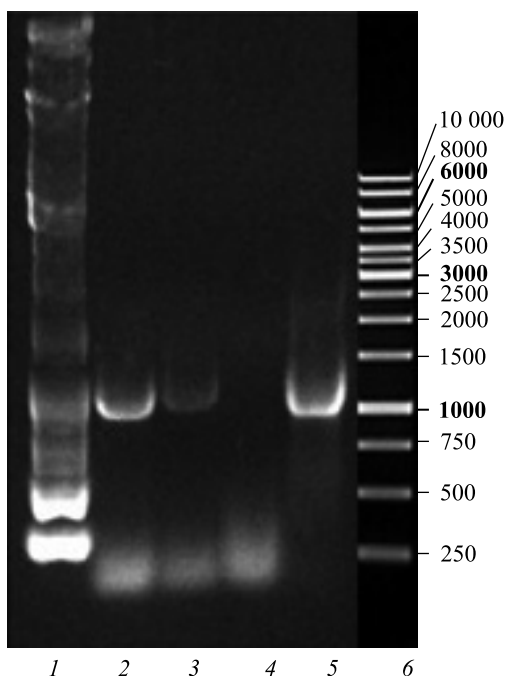


Рис. 1. Электрофореграмма продуктов ПЦР на матрице ДНК:
1, 6 – 1 kb DNA Ladder; 2, 3 – фрагменты (~1000 п. н.), соответствующие *acdS*-гену;
4 – негативный контроль; 5 – положительный контроль

Fig. 1. Electrophoregram of PCR products on the DNA matrix:
1, 6 – 1 kb DNA Ladder; 2, 3 – fragments (~1000 bp) corresponding to the *acdS*-gene;
4 – negative control; 5 – positive control

Анализ экспрессии гетерологичного гена в трансгенных растениях табака. Постановку реакции обратной транскрипции (ОТ-ПЦР) и РВ-ПЦР можно назвать одним из ключевых этапов изучения влияния бактериального *acdS*-гена на трансгенные растения в условиях абиотического стресса. Следует учесть и тот факт, что уровень транскрипционной активности *acdS*-гена будет определяться местом его интеграции в хромосому. Другой механизм регуляции транскрипционной активности целевого гена может заключаться в наличии внутренних систем интерференции у растений [3; 12].

Выделенная клеточная РНК выступала матрицей при построении кДНК. Полученную кДНК использовали при постановке ОТ-ПЦР (рис. 2) со специфическими праймерами к *acdS*-гену и специфическими праймерами к референс-гену *Ef-1a*. В качестве положительного контроля были взяты рекомбинантная плазмида рВ1121/*acdS*-B37 и *GAPDH*-ген домашнего хозяйства, предоставленный вместе с набором для построения кДНК, в качестве негативного контроля – пробы, не содержащие обратной транскриптазы.

Для постановки РВ-ПЦР использовались пробы, содержащие синтезированную ранее кДНК трансгенных растений табака, выращенных в условиях описанного абиотического стресса. Негативным контролем выступали пробы, не содержащие ревертазы. В качестве референсного гена был взят ген домашнего хозяйства *Ef-1a*.

На рис. 3 и 4 представлены результаты анализа уровня экспрессии бактериального *acdS*-гена в трансгенных растениях табака первого поколения (*N. tabacum* T1), выращенных в условиях загрязнения почвы хромом (30 мг/кг) и засоления почвы (200 ммоль/л NaCl). Аналогичные результаты были получены при загрязнении почвы солями меди (15 мг/кг) и свинца (30 мг/кг).

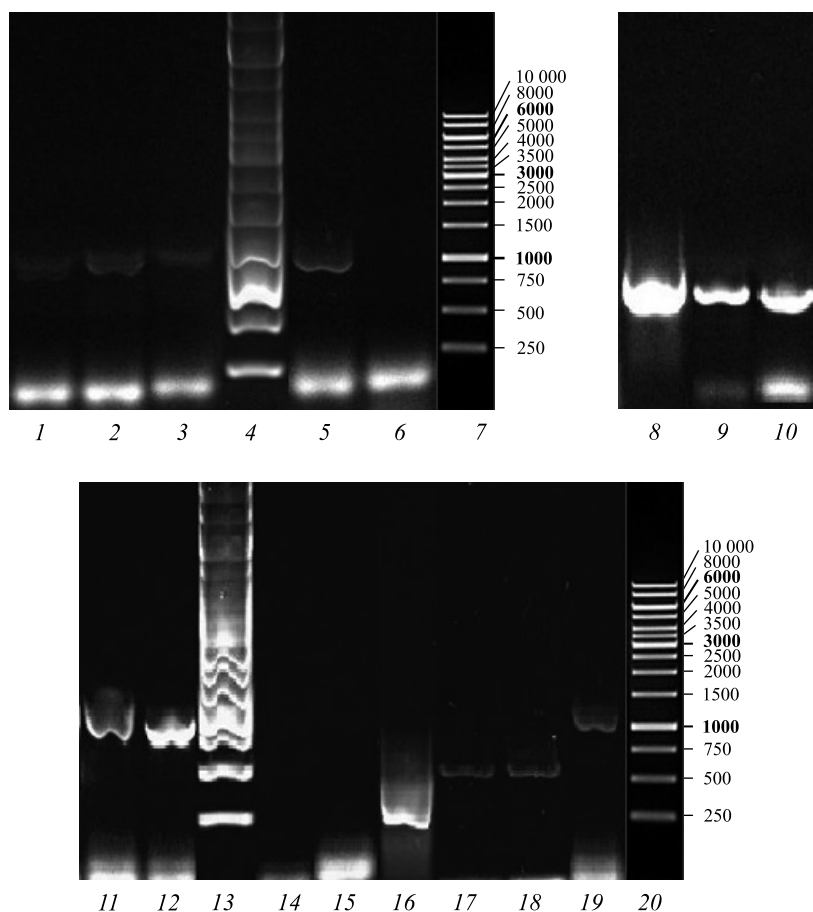


Рис. 2. Продукты ПЦР на матрице кДНК:
1–3, 11, 12 – фрагменты (~1000 п. н.), соответствующие *acdS*-гену (1 – Cu²⁺; 2 – Cr⁶⁺; 3 – Pb²⁺;
11, 12 – 200 ммоль/л NaCl); 4, 7, 13, 20 – 1 kb DNA Ladder; 5, 19 – pBI121/*acdS*-B37;
6, 14, 15 – негативный контроль; 8–10, 17, 18 – фрагменты (~500 п. н.), соответствующие
гену *Ef-1a* (8 – Cu²⁺; 9 – Cr⁶⁺; 10 – Pb²⁺; 17, 18 – 200 ммоль/л NaCl); 16 – *GAPDH*

Fig. 2. PCR products on the cDNA matrix:
1–3, 11, 12 – fragments (~1000 bp) corresponding to the *acdS*-gene (1 – Cu²⁺; 2 – Cr⁶⁺; 3 – Pb²⁺;
11, 12 – 200 mmol/L NaCl); 4, 7, 13, 20 – 1 kb DNA Ladder; 5, 19 – pBI121/*acdS*-B37;
6, 14, 15 – negative control; 8–10, 17, 18 – fragments (~500 bp) corresponding
to the gene *Ef-1a* (8 – Cu²⁺; 9 – Cr⁶⁺; 10 – Pb²⁺; 17, 18 – 200 mmol/L NaCl); 16 – *GAPDH*

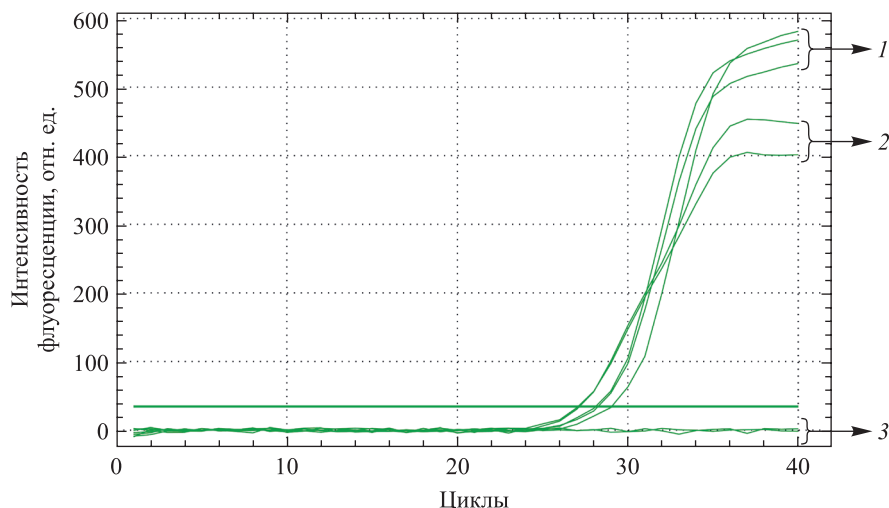


Рис. 3. Уровень экспрессии бактериального *acdS*-гена в растениях *N. tabacum* T1, выращенных в условиях загрязнения почвы Cr^{6+} (перед постановкой РВ-ПЦР пробы были разведены в 4 раза): 1 – экспрессия бактериального *acdS*-гена; 2 – экспрессия гена домашнего хозяйства *Ef-1a*; 3 – негативный контроль (RT–)

Fig. 3. The level of expression of the bacterial *acdS*-gene in *N. tabacum* T1 under Cr^{6+} soil pollution: 1 – expression of the bacterial *acdS*-gene; 2 – expression of the household gene *Ef-1a*; 3 – negative control (RT–)

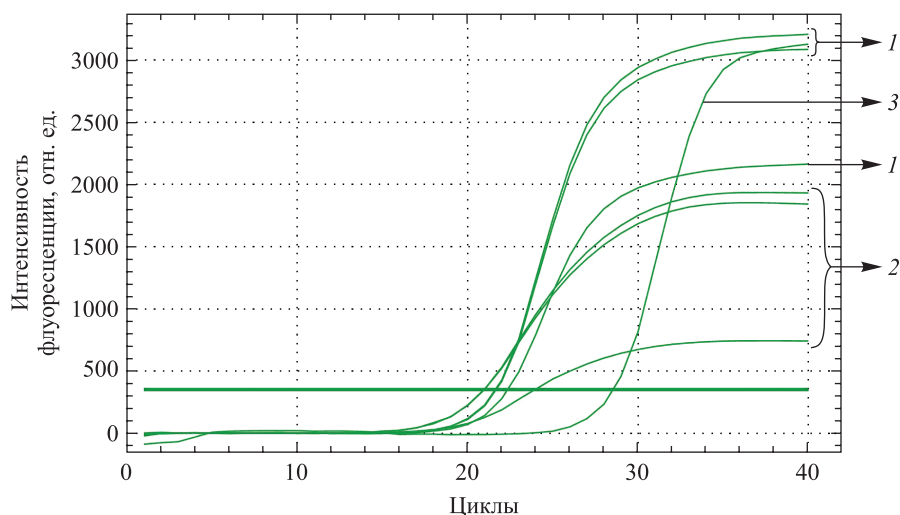


Рис. 4. Уровень экспрессии бактериального *acdS*-гена в растениях *N. tabacum* T1, выращенных в условиях засоления почвы: 1 – экспрессия бактериального *acdS*-гена; 2 – экспрессия гена домашнего хозяйства *Ef-1a*; 3 – негативный контроль (RT–)

Fig. 4. The level of expression of the bacterial *acdS*-gene in *N. tabacum* T1 under solinity stress condition: 1 – expression of the bacterial *acdS*-gene; 2 – expression of the household gene *Ef-1a*; 3 – negative control (RT–)

Таким образом, была доказана эффективная экспрессия бактериального *acdS*-гена в трансгенных растениях табака первого поколения в условиях абиотического стресса, вызванного загрязнением почвы тяжелыми металлами и засолением почвы, на уровне с геном домашнего хозяйства *Ef-1a*.

Определение удельной активности АЦК-деаминазы в трансгенных растениях *N. tabacum* в условиях абиотического стресса. Представленные этапы дают понятие о транскрипционной активности гена. Для доказательства наличия функционально активного продукта *acdS*-гена – АЦК-деаминазы – был проведен анализ активности фермента в растениях табака, выращенных в условиях абиотического стресса и в его отсутствие. Активность АЦК-деаминазы определялась методом измерения оптической плотности по образовавшемуся в результате реакции α -кетобутирату. Полученные результаты представлены в табл. 1.

Таблица 1

Активность фермента АЦК-деаминазы в тканях листьев
трансгенного табака, наномолей на 1 мг белка в минуту

Table 1

The activity of ACC-deaminase in the leaf tissue of transgenic tobacco,
nanomoles per 1 mg of protein per minute

Серия	Контроль (нетрансгенные растения)	Трансгенные растения
Без обработки почвы тяжелыми металлами и NaCl	0,017 ± 0,006*	0,072 ± 0,003*
Обработка Cu ²⁺ в концентрации 5 × ПДК	0,020 ± 0,005*	0,60 ± 0,027*
Обработка Cr ⁶⁺ в концентрации 5 × ПДК	0,022 ± 0,007*	0,82 ± 0,034*
Обработка Pb ²⁺ в концентрации 5 × ПДК	0,021 ± 0,006*	0,69 ± 0,032*
Обработка 200 ммоль/л NaCl	0,022 ± 0,007*	0,81 ± 0,033*

*Результаты достоверны при уровне значимости $p < 0,05$.

Данные табл. 1 свидетельствуют о возрастании активности АЦК-деаминазы в условиях абиотического стресса: в среднем она увеличилась в 11 раз по сравнению с контрольными растениями *N. tabacum* T1, выращенными в отсутствие стресса. Полученные результаты согласуются с литературными данными [6].

Анализ активности фермента показал, что в условиях абиотического стресса в трансгенных растениях табака формируется активный фермент – АЦК-деаминаза.

Оценка ростовых характеристик растений. Следующим этапом эксперимента было выполнение оценки ростовых характеристик растений из опытных и контрольных выборок. В рамках проведенного опыта по прошествии 3 мес. определены длина корня, стебля и биомасса. В результате контрольных измерений отмечено увеличение длины корня и стебля трансгенных растений из опытной выборки относительно нетрансгенных растений из контрольной выборки в 1,42–2,47 и 1,93–1,97 раза соответственно. Значения биомассы растений из опытных и контрольных выборок приведены в табл. 2.

Таблица 2

Средние значения биомассы трансгенных растений *N. tabacum*

Table 2

The average biomass of *N. tabacum* transgenic plants

Серия растений	Условия обработки				
	H ₂ O	Cu ²⁺	Cr ⁶⁺	Pb ²⁺	NaCl
Нетрансгенные растения <i>N. tabacum</i>	17,95 ± 0,11*	7,79 ± 0,06*	6,67 ± 0,06*	7,12 ± 0,08*	7,0 ± 0,25*
Трансгенные растения <i>N. tabacum</i> T1	23,2 ± 0,06*	16,68 ± 0,07*	11,4 ± 0,032*	12,4 ± 0,04*	10,75 ± 0,55*

*Результаты достоверны при уровне значимости $p < 0,05$.

Данные, представленные в табл. 2, отображают увеличение биомассы трансгенных растений табака, выращенных в условиях загрязнения почвы солями тяжелых металлов и засоления почвы, относительно нетрансгенных растений, выращенных в аналогичных условиях, в 1,21–2,14 раза.

Таким образом, было отмечено положительное влияние *acdS*-гена бактерий *P. putida* В-37 на трансгенные растения табака, культивируемые в условиях абиотического стресса.

Заключение

В ходе эксперимента подтверждено наличие *acdS*-гена в трансгенных растениях табака первого поколения. Методом ОТ-ПЦР и РВ-ПЦР доказана эффективная транскрипционная активность целевого гена в растениях *N. tabacum* T1 на уровне с референсным геном. Полученные в результате биохимического

анализа данные об активности фермента свидетельствуют о формировании активного продукта бактериального *acdS*-гена – АЦК-деаминазы – в тканях листьев трансгенных растений. Также отмечено положительное влияние *acdS*-гена на растения *N. tabacum* T1, выращенные в условиях абиотического стресса, вызванного загрязнением почвы солями тяжелых металлов и засолением почвы.

Библиографические ссылки

1. Полевой ВВ. *Физиология растений*. Москва: Высшая школа; 1989. 464 с.
2. Glick BR. Modulation of plant ethylene levels by the bacterial enzyme ACC deaminase. *FEMS Microbiology Letters*. 2005; 251(1):1–7. DOI: 10.1016/j.femsle.2005.07.030.
3. Tuteja N, Gill SS, editors. *Plant acclimation to environmental stress*. New York: Springer-Verlag; 2013. XXII, 494 p.
4. Титов АФ, Таланова ВВ, Казнина НМ, Лайдинен ГФ. *Устойчивость растений к тяжелым металлам*. Немова НН, редактор. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН; 2007. 172 с.
5. Jha CK. Biochemical and molecular biology of ACC deaminase production. In: *Isolation characterization and development of consortia of PGPB for the growth of Jatropha curcas: thesis submitted for the award of the degree of doctor of philosophy in microbiology*. Gujarat: Gujarat University; 2011. p. 124–175.
6. Gontia-Mishra I, Sasidharan S, Tiwari S. Recent developments in use of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase for conferring tolerance to biotic and abiotic stress. *Biotechnology Letters*. 2014;36(5):889–898. DOI: 10.1007/s10529-014-1458-9.
7. Glick BR. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research*. 2014; 169(1):30–39. DOI: 10.1016/j.micres.2013.09.009.
8. Mayak S, Tirosh T, Glick BR. Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2004;42(6):565–572. DOI: 10.1016/j.plaphy.2004.05.009.
9. Храмова ЕА, Максимов Н.П. *Генетика*. Минск: БГУ; 2002. 22 с.
10. Семак ИВ, Зырянова ТН, Губич ОИ. *Биохимия белков*. Минск: БГУ; 2007. 49 с.
11. Honma M, Shimomura T. Metabolism of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. *Agricultural and Biological Chemistry*. 1978;42(10):1825–1831. DOI: 10.1271/bbb1961.42.1825.
12. Sahu PP, Pandey G, Sharma N, Puranik S, Muthamilarasan M, Prasad M. Epigenetic mechanisms of plant stress responses and adaptation. *Plant Cell Reports*. 2013;32(8):1151–1159. DOI: 10.1007/s00299-013-1462-x.

References

1. Polevoi VV. *Fiziologiya rastenii* [Plant physiology]. Moscow: Vysshaya shkola; 1989. 464 p. Russian.
2. Glick BR. Modulation of plant ethylene levels by the bacterial enzyme ACC deaminase. *FEMS Microbiology Letters*. 2005; 251(1):1–7. DOI: 10.1016/j.femsle.2005.07.030.
3. Tuteja N, Gill SS, editors. *Plant acclimation to environmental stress*. New York: Springer-Verlag; 2013. XXII, 494 p.
4. Titov AF, Talanova VV, Kaznina NM, Laidinen GF. *Ustoichivost' rastenii k tyazhelym metallam* [Plant resistance to heavy metals]. Nemova NN, editor. Petrozavodsk: Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences; 2007. 172 p. Russian.
5. Jha CK. Biochemical and molecular biology of ACC deaminase production. In: *Isolation characterization and development of consortia of PGPB for the growth of Jatropha curcas: thesis submitted for the award of the degree of doctor of philosophy in microbiology*. Gujarat: Gujarat University; 2011. p. 124–175.
6. Gontia-Mishra I, Sasidharan S, Tiwari S. Recent developments in use of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase for conferring tolerance to biotic and abiotic stress. *Biotechnology Letters*. 2014;36(5):889–898. DOI: 10.1007/s10529-014-1458-9.
7. Glick BR. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research*. 2014; 169(1):30–39. DOI: 10.1016/j.micres.2013.09.009.
8. Mayak S, Tirosh T, Glick BR. Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2004;42(6):565–572. DOI: 10.1016/j.plaphy.2004.05.009.
9. Khrantsova EA, Maksimova NP. *Genetika* [Genetics]. Minsk: Belarusian State University; 2002. 22 p. Russian.
10. Semak IV, Zyryanova TN, Gubich OI. *Biokhimiya belkov* [Biochemistry of proteins]. Minsk: Belarusian State University; 2007. 49 p. Russian.
11. Honma M, Shimomura T. Metabolism of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. *Agricultural and Biological Chemistry*. 1978;42(10):1825–1831. DOI: 10.1271/bbb1961.42.1825.
12. Sahu PP, Pandey G, Sharma N, Puranik S, Muthamilarasan M, Prasad M. Epigenetic mechanisms of plant stress responses and adaptation. *Plant Cell Reports*. 2013;32(8):1151–1159. DOI: 10.1007/s00299-013-1462-x.

Статья поступила в редколлегию 05.11.2019.
Received by editorial board 05.11.2019.