

РОМАНЧУК С. М.

Інститут ботаніки імені М. Г. Холодного Національної академії наук України,  
Україна, 01004, м. Київ, вул. Терещенківська, 2, e-mail: cellbiol@ukr.net, rrrsm@ukr.net, (066) 683-51-63,  
(096) 021-17-17

### ЕКСПРЕСІЯ ГЕНА $\beta$ -ГЛЮКОЗИДАЗИ РYК 10 У ПРОРОСТКАХ *ARABIDOPSIS THALIANA* (L.) НЕУНН. ЗА УМОВ КЛІНОСТАТУВАННЯ ТА ЗА Х-ОПРОМІНЕННЯ

**Мета.** Дослідити експресію гена  $\beta$ -глюкозидази РYК 10 в проростках *Arabidopsis thaliana* (L.) Неунн. за умов клінонстатування та за Х-опромінення в дозах 0,5 Гр, 1 Гр, 2 Гр, 4 Гр, 6 Гр, 8 Гр, 10 Гр та 12 Гр. **Методи.** Проростки вирощували на живильному агаризованому середовищі. Для визначення відносної експресії гена РYК 10 використано метод ПЛР у реальному часі. **Результати.** Вперше виявлено значне підвищення експресії гена РYК 10 в проростках *A. thaliana* за умов клінонстатування та за Х-опромінення порівняно з контролем. За умов клінонстатування збільшення кількості ЕР-тілець відбувається за рахунок високої експресії гена РYК 10 та синтезу ферменту  $\beta$ -глюкозидази без збільшення його активності. Під час Х-опромінення збільшення кількості ЕР-тілець та підвищення активності  $\beta$ -глюкозидази відбувається за рахунок високої експресії гена РYК 10. За період десять діб захисні реакції клітин *A. thaliana* на дію Х-опромінення набувають адаптивного характеру, ключову роль у них виконує  $\beta$ -глюкозидаза. **Висновки.** Вперше показано роль ЕР-тілець, які містять  $\beta$ -глюкозидазу (РYК 10), в адаптації проростків *A. thaliana* на дію клінонстатування та Х-опромінення. Підвищення експресії гена РYК 10 за цих умов є частиною внутрішньої програми захисту на вплив зовнішніх чинників.

**Ключові слова:** *Arabidopsis thaliana* (L.) Неунн., ЕР-тілець,  $\beta$ -глюкозидаза, експресія гена, клінонстатування, Х-опромінення.

У зв'язку із далекосяжними планами людства щодо досліджень космосу – довгостроковими польотами у далекий космос, експедиції на Марс, побудови місячних баз – постали нагальні завдання створення біорегенеративних систем життєзабезпечення космонавтів [1, 2]. Рослини є головним компонентом автотрофної ланки таких систем, оскільки вони є джерелом кисню та поживних речовин, утилізаторами відходів і надають психологічну підтримку екіпажу.

Критерії вибору видів рослин передбачають високі показники фотосинтезу, поживну цінність, а також короткий вегетаційний період від насіння до насіння. Ще одним важливим аспектом є пошук видів із підвищеною радіорезистентністю [3]. Згідно з даними НАСА (США), на орбітальній станції в межах кабіни космічного корабля дози, які впливають на живі організми, коливаються в діапазоні від 5 до 12 мкГр за годину [4].

На сьогодні поглиблюються дослідження щодо механізмів адаптації рослин до мікрогравітації та іонізуючої радіації. Встановлено, що в умовах космічного польоту відбувається збереження та реалізація генетичної інформації в процесі морфогенезу вегетативних і генеративних органів рослин [5]. Основні дослідження проведені на таких видах, як *Brassica rapa*, *Triticum aestivum*, *Pisum sativum*, зокрема *Arabidopsis thaliana* [6], який разом з іншими видами рослин пройшов повний цикл онтогенезу в космічному польоті. Серед видів рослин, які використовувалися в космічних і наземних експериментах, найбільш стійкими до радіаційного випромінювання вважаються представники родини Brassicaceae, для яких описані ЕР-тілець, що є похідними гранулярного ендоплазматичного ретикулу (ЕР). ЕР-тілець в клітинах *A. thaliana* [7] вибірково накопичують фермент  $\beta$ -глюкозидазу (глюкозидглюкогідролазу, КФ 3.2.1.21 (РYК10)) [8] із сигналом утримання в ЕР [9]. Попередніми дослідженнями нами встановлено, що ЕР-тілець є чутливими до клінонстатування та дії Х-опромінення, оскільки відбувалося збільшення кількості та площі ЕР-тілець на зрізах статоцитів і клітин дистальної зони розтягу (ДЗР) кореневих апексів *A. thaliana* у середньому в два рази порівняно з контролем [10, 11]. Також нами виявлено збільшення активності  $\beta$ -глюкозидази за дії Х-опромінення в порівнянні з контролем [12]. При цьому за умов клінонстатування змін в активності  $\beta$ -глюкозидази порівняно з контролем не помічено [13].

© РОМАНЧУК С. М.

Тому ми припустили, що кліноостатування та Х-опромінення також можуть мати вплив на експресію гена  $\beta$ -глюкозидази *РУК 10* в проростках *A. thaliana*.

### Матеріали і методи

Для досліджень обрані проростки *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., екотип Columbia (Col-0), які вирощували з насіння у стерильних умовах. Стерилізацію насіння здійснювали 70 % розчином етилового спирту та 12 % розчином гіпохлориту натрію («Білизна», Україна) з п'ятиразовим промиванням стерильною дистильованою водою. Перед посівом на живильне середовище Мурасіге та Скуга насіння стратифікували за температури +4°C протягом 3 діб. Проростки вирощували в стаціонарних умовах (контроль) на повільному горизонтальному кліноостаті (2 об/хв) за температури 22–24°C та вологості 67±1 % і піддавали Х-опроміненню.

В експериментах із кліноостатування насіння висівали у скляні стаканчики висотою 90 мм по 20–30 насінин у кожний, потім їх поміщали в металеві контейнери циліндричної форми (діаметр=100 мм, довжина=100 мм) та закріплювали на кліноостаті. Частину стаканчиків залишали у вертикальному стані (контроль). Проростки росли у темряві протягом трьох, п'яти та семи діб із моменту проростання насіння.

В експериментах з Х-опромінення насіння висівали у чашки Петрі діаметром 120 мм по 100–120 насінин у кожну. Проростки росли за освітлення 93 мкмоль·м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup> із фотоперіодом 16/8 год (світло/темрява) упродовж трьох та тринадцяти діб із моменту проростання насіння. Тридобові проростки, що росли в окремих чашках Петрі, опромінювали рентгенівськими променями на приладі РУМ-17 (Росія) (потужність дози 0,43 сГр/сек) у дозах 0,5 Гр, 1 Гр, 2 Гр, 4 Гр, 6 Гр, 8 Гр, 10 Гр та 12 Гр. Для досліджень брали проростки через дві години та десять діб після Х-опромінення. Для контролю використовували три- та тринадцятидобові проростки, які не були опромінені.

Для виділення РНК використовували набір реактивів TRI-REAGENT («Sigma», Німеччина) та проводили операцію за інструкцією, наданою виробником реактивів. Для досліджу брали по 100 мг рослинного матеріалу відразу після закінчення експериментів. Для контролю якості РНК відразу після її виділення проводили

електрофорез в 1% агарозному гелі в трис-ацетатному буфері (ТАЕ). Перед синтезом кДНК для видалення слідів геномної ДНК виділену РНК обробляли ДНКазою I («Fermentas», Литва); кДНК отримували з РНК за допомогою реакції зворотної транскрипції з використанням набору реактивів «Fermentas» зі зворотною транскриптазою М-MLV («Fermentas», Литва) за інструкцією, наданою виробником реактивів, на приладі «Терцик» («ДНК-Технология», Росія).

ПЛР у реальному часі проводили з використанням набору реактивів «Maxima Sybr Green Real Time» («Fermentas», Литва) за інструкцією, наданою виробником реактивів, на приладі «Real-Time PCR IQ-Cycler» («BioRad», США). Використовували праймери з бази даних NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Праймери до гена  $\beta$ -глюкозидази *A. thaliana РУК 10* (*At3g09260*) були такими:

прямий: 5'-AGGATTGTGAAGGATTTCCGAGA-3';  
зворотний: 5'-AGAAGAGCAACGACCAGGTG-3'.

Для контролю використовували праймери до генів, рівень експресії яких залишається незмінним за різних умов росту проростків, а саме: убіквітин 5 (*Ubq 5* (*At3g62250*)):

прямий 5'-AAC CCT TGA GGT TGA ATC CCGA -3';

зворотний 5'-GTC CTT CTT TCT AAA CGT -3';  
та тубулін 9 (*Tub 9* (*At4g20890*)):

прямий 5'-GTA CCT TGA AGC TTG СТА ATC СТА -3';

зворотний 5'-GTT CTG GAC GTT CAT CAT CTG TTC -3'.

У кожну мікропробірку вносили готову суміш для ПЛР Maxima Sybr Green Real Time PCR 2 x Master Mix 0,5 мкг/мл, яка містила буфер для ПЛР, MgCl<sub>2</sub> суміш дезоксинуклеотидів, Таq-ДНК-полімераза, а також прямий та зворотний праймери і пробу кДНК 0,05 мкг/мл. Кінцева концентрація праймерів у готовому розчині становила 5 пМ; реакційний об'єм – 20 мкл. Інтенсивність флуоресценції вимірювали за температури 77–79 °С, криву плавлення – у діапазоні 60–94 °С з інтервалом 0,5 °С. Час вимірювання становив 10 с. Одержані результати аналізували за допомогою програмного забезпечення приладу. Рівень відносної експресії виражали в умовних одиницях – у. о.

Усі дослідження проводили не менш ніж у трьох біологічних та трьох аналітичних повторях. Статистичну обробку даних здійснювали за

критерієм Стьюдента (T-test) ( $p \leq 5\%$ ) та з використанням дисперсійного аналізу (ANOVA). Побудову діаграм було проведено у програмі Excel пакету Microsoft Office 2010.

### Результати та обговорення

На діаграмі (рис. 1) відображено відносну експресію мРНК *PYK 10* в етіологованих три-, п'яти- та семидобових проростках *A. thaliana* у контролі та за умов клінонотатування.

Значно підвищену відносну експресію гена *PYK 10* за умов клінонотатування порівняно з контролем спостерігали в кожному варіанті експерименту. Найбільше значення відносної експресії *PYK 10* помічено у етіологованих тридобових клінонотатованих проростках, вона була вищою у порівнянні з контролем у 5,5 раза. У п'яти- та семидобових проростках експресія *PYK 10* була вищою від контролю у 3,2 та 3,1 раза відповідно.

Раніше нами встановлено, що за умов клінонотатування відбувається збільшення кількості та площі ЕР-тілець на зрізах статоцитів і клітин ДЗР корневих апексів проростків *A. thaliana* у середньому в два рази порівняно з контролем [10]. Водночас із цим нами встановлено, що за умов клінонотатування активність  $\beta$ -глюкозидази, яка є основним високоспецифічним компонентом ЕР-тілець, суттєво не змінювалася щодо контролю [13]. Тому вперше отримані результати ПЛР у реальному часі засвідчують, що за умов клінонотатування збільшення

кількості ЕР-тілець відбувається за рахунок високої експресії гена  $\beta$ -глюкозидази *PYK 10* та синтезу ферменту  $\beta$ -глюкозидази без збільшення його активності.

Відносну експресію мРНК *PYK 10* в тридобових проростках *A. thaliana* у контролі та через дві години після Х-опромінення в дозах 0,5 Гр, 1 Гр, 2 Гр, 4 Гр, 6 Гр, 8 Гр, 10 Гр та 12 Гр відображено на діаграмі (рис. 2).

Значне зростання відносної експресії гена *PYK 10* через дві години після Х-опромінення порівняно з контролем спостерігали за кожної дози опромінення. Найбільше значення відносної експресії гена *PYK 10* зафіксовано за доз 0,5 Гр та 8 Гр, вона була вищою порівняно з контролем у 5,4 та 5,5 раза відповідно. Відносний рівень мРНК за дії Х-опромінення в дозах 1 Гр, 2 Гр, 4 Гр, 6 Гр, 10 Гр та 12 Гр мав схожу тенденцію та між цими дозами не виявляв достовірної різниці відносної експресії гена *PYK 10*. Значення відносної експресії гена *PYK 10* було вищим від контролю за доз Х-опромінення 1 Гр та 6 Гр у 4,6 раза, за доз 2 Гр та 12 Гр – у 4,7 раза, за доз 4 Гр – у 4,4 раза, за доз 10 Гр – у 4,5 раза.

Відносну експресію мРНК *PYK 10* в тринадцятидобових проростках *A. thaliana* контролю та через десять діб після Х-опромінення тридобових проростків у дозах 0,5 Гр, 1 Гр, 2 Гр, 4 Гр, 6 Гр, 8 Гр, 10 Гр та 12 Гр відображено на діаграмі (рис. 3).

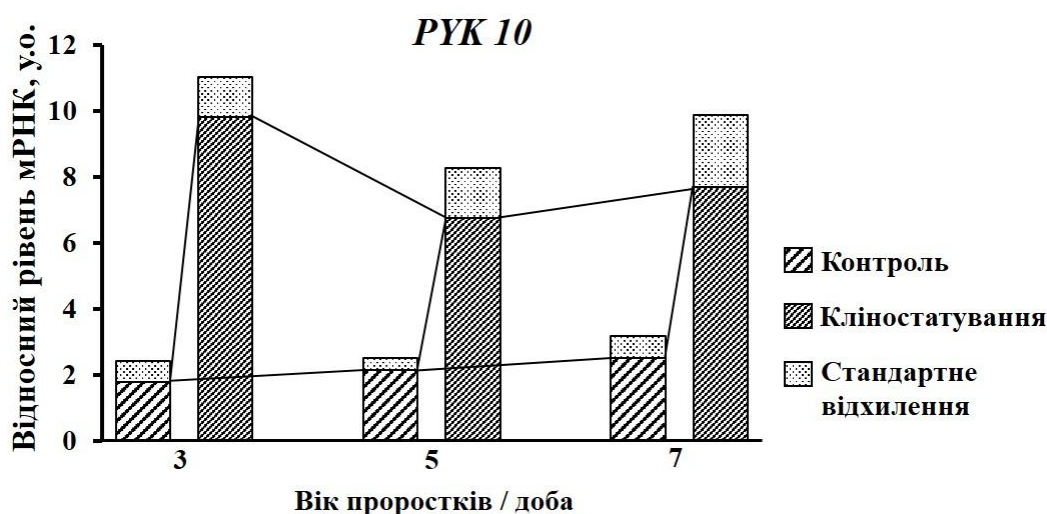


Рис. 1. Відносна експресія гена  $\beta$ -глюкозидази *PYK 10* у етіологованих проростках *A. thaliana* у контролі та за умов клінонотатування.

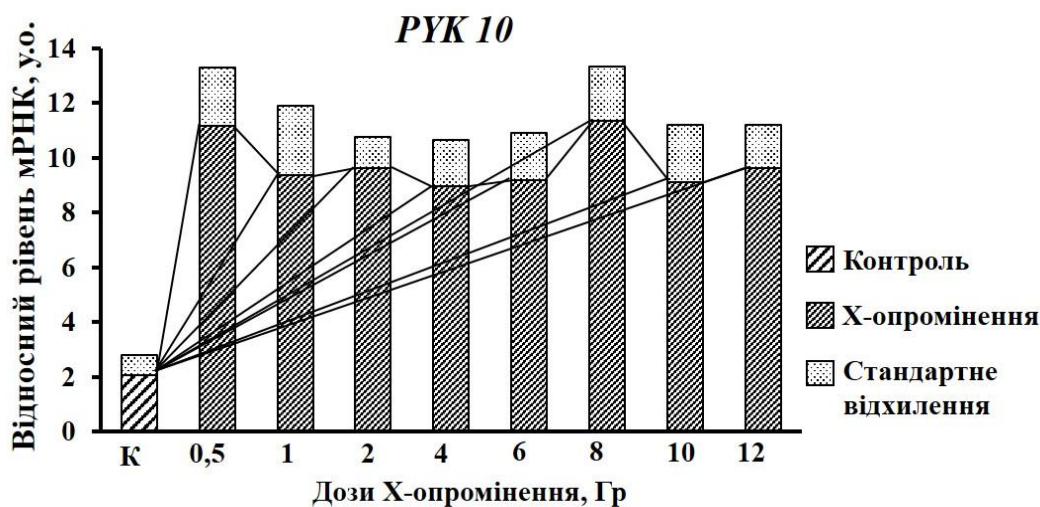


Рис. 2. Відносна експресія гена  $\beta$ -глюкозидази *PYK 10* у тридобових проростках *A. thaliana* у контролі та через дві години після X-опромінення в різних дозах. К – контроль, Гр – Грей.

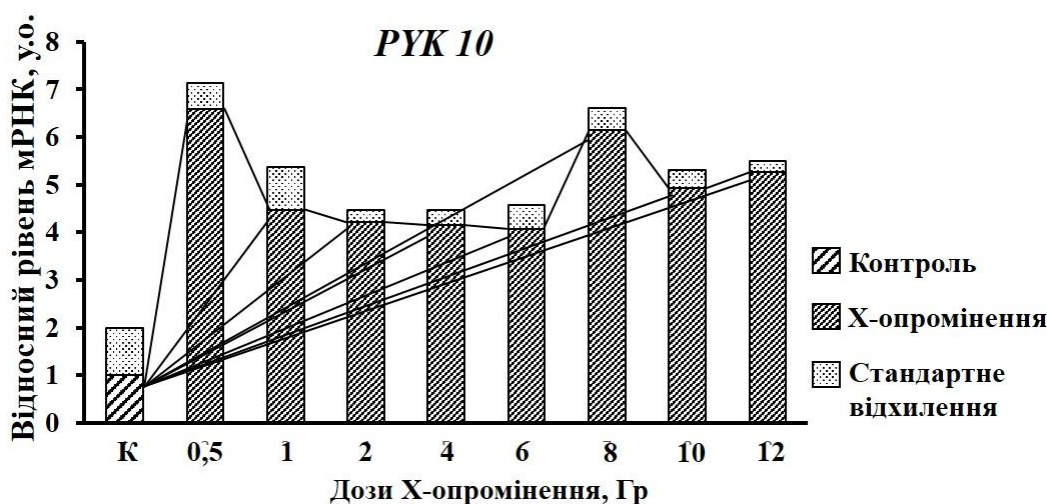


Рис. 3. Відносна експресія гена  $\beta$ -глюкозидази *PYK 10* у проростках *A. thaliana* в контролі та через десять днів після X-опромінення тридобових проростків у різних дозах. Вік проростків тринадцять днів. К – контроль, Гр – Грей.

Через десять днів після X-опромінення спостерігали значне зростання відносної експресії гена *PYK 10* за кожної дози опромінення порівняно з контролем. Найбільше значення відносної експресії гена *PYK 10* зафіксовано за доз 0,5 Гр та 8 Гр, вона була вищою від контролю у 6,6 та 6,2 раза відповідно. Відносний рівень мРНК за дії X-опромінення в дозах 1 Гр, 2 Гр, 4 Гр та 6 Гр мав схожу тенденцію та між цими дозами не виявляв достовірної різниці відносної експресії гена *PYK 10*. Значення відносної експресії гена *PYK 10* було вищим стосовно контролю за X-опромінення в дозі 1 Гр у 4,5 раза, за доз 2 Гр та 4 Гр – у 4,2 раза, за дози

6 Гр – у 4,1 раза. За доз 10 Гр та 12 Гр відносна експресія гена *PYK 10* мала середні значення між дозами 0,5 Гр і 8 Гр та дозами від 1 Гр до 6 Гр. За X-опромінення в дозі 10 Гр відносна експресія гена *PYK 10* була вищою від контролю у 4,9 раза, за дози 12 Гр – у 5,3 раза.

Для повної оцінки впливу X-опромінення в дозах 0,5 Гр, 1 Гр, 2 Гр, 4 Гр, 6 Гр, 8 Гр, 10 Гр та 12 Гр на проростки *A. thaliana* порівнювали значення відносної експресії гена *PYK 10* через дві години та через десять днів після X-опромінення тридобових проростків. Так, через дві години після X-опромінення в різних дозах у тридобових проростків відносна експресія гена

*РУК 10* зростала порівняно з контролем у середньому в 4,9 раза, тоді як відносна експресія гена *РУК 10* через десять діб після Х-опромінення щодо тридобових проростків контролю була вищою в середньому у 2,4 раза. Такі результати показали, що відносна експресія *РУК 10* через дві години після Х-опромінення була значно вищою у порівнянні з такими ж значеннями через десять діб після Х-опромінення, а саме: за дози 0,5 Гр – вищою на 69,8 %, 1 Гр – на 109,1 %, 2 Гр – на 128 %, 4 Гр – на 116,1 %, 6 Гр – на 125,6 %, 8 Гр – на 84,1 %, 10 Гр – на 85,2 %, 12 Гр – на 82,9 %.

Вперше отримані нами результати щодо підвищення відносної експресії гена  $\beta$ -глюкозидази *РУК 10* в проростках *A. thaliana* за Х-опромінення в дозах 0,5 Гр, 1 Гр, 2 Гр, 4 Гр, 6 Гр, 8 Гр, 10 Гр та 12 Гр щодо контролю узгоджуються з результатами, отриманими під час дослідження ультраструктури ЕР-тілець, головним компонентом яких є  $\beta$ -глюкозидаза, оскільки їхня кількість та площа на зрізах статочитів і клітин ДЗР кореневих апексів *A. thaliana* також збільшувалася за Х-опромінення порівняно з контролем більш ніж у два рази [11]. Також ці результати узгоджуються з результатами, отриманими у ході визначення активності  $\beta$ -глюкозидази через дві години та десять діб після Х-опромінення в дозах від 0,5 Гр до 12 Гр [12]. Експресія гена *РУК 10*, як і активність  $\beta$ -глюкозидази, була в рази вищою порівняно з контролем. Таким чином, результати ПЛП у реальному часі засвідчують, що за Х-опроміненні збільшення кількості ЕР-тілець та підвищення активності  $\beta$ -глюкозидази відбувається за раху-

нок високої експресії гена *РУК 10*. Також нами встановлено, що експресія гена *РУК 10* як і активність  $\beta$ -глюкозидази через десять діб після Х-опромінення були меншими порівняно з такими через дві години після Х-опромінення. Цей факт може свідчити про те, що за період десять діб захисні реакції клітин *A. thaliana* на дію іонізуючої радіації набувають адаптивного характеру, ключову роль у них виконує  $\beta$ -глюкозидаза.

Отже, нами вивчено відносну експресію гена  $\beta$ -глюкозидази *РУК 10* в проростках *A. thaliana* та вперше встановлено її підвищення за всіх строків клінонотатування та за всіх доз Х-опромінення, зазначених вище. Результати багатьох експериментів інших дослідників свідчать про те, що за дії на проростки *A. thaliana* зовнішніх впливів, зокрема таких, як механічне пошкодження поверхневих тканин рослини [14, 15], дія гормонів [14, 16], колонізація коренів рослини ендofітними грибами та бактеріями [17, 18], зростала експресія гена  $\beta$ -глюкозидази *РУК 10* порівняно з контролем. Отримані нами результати в повній мірі підтверджують літературні відомості щодо накопичення мРНК  $\beta$ -глюкозидази (*РУК 10*) в проростках *A. thaliana* за дії зовнішніх чинників.

### Висновки

Вперше з'ясовано роль ЕР-тілець, які містять  $\beta$ -глюкозидазу (*РУК 10*), в адаптації проростків *A. thaliana* на дію клінонотатування та Х-опромінення. Підвищення експресії гена *РУК 10* за цих умов є частиною внутрішньої програми захисту на вплив зовнішніх чинників.

### References

1. Sychev V.N., Levinskikh M.A., Podolsky I.G. Biological component of life support systems for a crew in long-duration space expeditions. *Acta Astronaut.* 2008. Vol. 63. P. 1119–1125. doi: 10.1016/j.actaastro.2008.01.001.
2. Karoliussen I.B.E., Kittang A.I. Will plants grow on Moon or Mars? *Curr. Biotechnol.* 2013. Vol. 2. P. 235–243. doi: 10.2174/22115501113029990019.
3. De Micco V., Arena C., Pignalosa D., Durante M. Effects of sparsely and densely ionizing radiation on plants. *Radiation and Environmental Biophysics.* 2011. Vol. 50 (1). P. 1–19. doi: 10.1007/s00411-010-0343-8.
4. International Space Station Internal Radiation Monitoring (ISS Internal Radiation Monitoring) – 05.04.2017. URL: [https://www.nasa.gov/mission\\_pages/station/research/experiments/1043.html](https://www.nasa.gov/mission_pages/station/research/experiments/1043.html).
5. Kordyum E.L. Plant cell gravisensitivity and adaptation to microgravity. *Plant Biology.* 2014. Vol. 16 (Suppl. 1). P. 79–90. doi: 10.1111/plb.12047.
6. Link B.M., Durst S.J., Zhou W., Stankovic B. Seed-to-seed growth of *Arabidopsis thaliana* on the International Space Station. *Adv Space Res.* 2003. Vol. 31 (10). P. 2237–2243. doi: 10.1016/S0273-1177(03)00250-3.
7. Hayashi Y., Yamada K., Shimada T., Matsushima R., Nishizawa N.K., Nishimura M., Hara-Nishimura I. A proteinase storing body that prepares for cell death or stresses in the epidermal cells of *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol.* 2001. Vol. 42. P. 894–899. doi: 10.1093/pcp/pce144.
8. Ketudat Cairns J.R., Esen A.  $\beta$ -glucosidases. *Cell Mol Life Sci.* 2010. Vol. 67 (20). P. 3389–3405. doi: 10.1007/s00018-010-0399-2.
9. Matsushima R., Kondo M., Nishimura M., Hara-Nishimura I. A novel ER-derived compartment, the ER body, selectively accumulates a  $\beta$ -glucosidase with an ER retention signal in *Arabidopsis*. *Plant J.* 2003. Vol. 33. P. 493–502. doi: 10.1046/j.1365-313X.2003.01636.x.

10. Romanchuk S.M. Ul'trastruktura statocitiv ta klitin distal'noї zoni roztiagu v *Arabidopsis thaliana* za umov klinostatuvannia. *Citologija i genetika*. 2010. T. 44, № 6. S. 3–8. [in Ukrainian] / Романчук С.М. Ультраструктура статоцитів та клітин дистальної зони розтягу в *Arabidopsis thaliana* за умов кліностатування. *Цитологія і генетика*. 2010. Т. 44, № 6. С. 3–8. doi: 10.3103/S0095452710060010.
11. Romanchuk S. ER bodies in *Arabidopsis thaliana* root apices under clinorotation and after X-Ray irradiation. *Cracow-Plant-Stress Conference Series No. 9 (problem issues)*. The F. Gorski Institute of Plant Physiology, PAS, Cracow, Poland, 2013. P. 185–192.
12. Romanchuk S.M. Aktivnist' β-gliukozidazi v prorostrakh *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh pri дії ionizuiuchogo viprominiuvannia. *Visnik Kharkivs'kogo nacional'nogo universitetu imeni V.N. Karazina. Serija «Biologija»*. 2017. Vip. 29. S. 103–108. [in Ukrainian] / Романчук С.М. Активність β-глюкозидази в проростках *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh при дії іонізуючого випромінювання. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія «Біологія»*. 2017. Вип. 29. С. 103–108. doi: 10.26565/2075-5457-2017-29-13.
13. Romanchuk S.M. Aktivnist' β-gliukozidazi iak pokaznik zakhisnoї sistemi roslin Brassicaceae Juss. pri klinostatuvanni. *Aktual'ni problemi botaniki ta ekologiji: materiali mizhnarodnoї konferenciji molodikh uchenikh (Berezne, Rivnens'ka oblast', Ukraїna, 9–13 serpnia 2011 r.)*. Kіiv: TOV «Veles», 2011. S. 195–196. [in Ukrainian] / Романчук С.М. Активність β-глюкозидази як показник захисної системи рослин *Brassicaceae* Juss. при кліностатуванні. *Актуальні проблеми ботаніки та екології: матеріали міжнародної конференції молодих учених (Березне, Рівненська область, Україна, 9–13 серпня 2011 р.)*. К.: ТОВ «Велес», 2011. С. 195–196.
14. Matsushima R., Hayashi Y., Kondo M., Shimada T., Nishimura M., Hara-Nishimura I. An endoplasmic reticulum derived structure that is induced under stress conditions in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*. 2002. Vol. 130. P. 1807–1814. doi: 10.1104/pp.009464.
15. Ogasawara K., Yamada K., Christeller J.T., Kondo M., Hatsugai N., Hara-Nishimura I., Nishimura M. Constitutive and inducible ER bodies of *Arabidopsis thaliana* accumulate distinct β-glucosidases. *Plant Cell Physiol*. 2009. Vol. 50 (3). P. 480–488. doi: 10.1093/pcp/pcp007.
16. Matsushima R., Fukao Y., Nishimura M., Hara-Nishimura I. NAI1 gene that encodes a basic-helix-loop-helix-type putative transcription factor that regulates the formation of a novel ER-derived structure, the ER body. *Plant Cell*. 2004. Vol. 16. P. 1536–1549. doi: 10.1105/tpc.021154.
17. Nitz I., Berkefeld H., Puzio P.S., Grundler F.M.W. Pyk10, a seedling and root specific gene and promoter from *Arabidopsis thaliana*. *Plant Sci*. 2001. Vol. 161. P. 337–346. doi: 10.1016/S0168-9452(01)00412-5.
18. Sherameti I., Venus Y., Drzewiecki C., Tripathi S., Dan V.M., Nitz I., Varma A., Grundler F.M., Oelmüller R. PYK10, a β-glucosidase located in the endoplasmic reticulum, is crucial for the beneficial interaction between *Arabidopsis thaliana* and the endophytic fungus *Piriformospora indica*. *Plant J*. 2008. Vol. 54. P. 428–439. doi: 10.1111/j.1365-313X.2008.03424.x.

#### ROMANCHUK S. M.

*M. G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine, Ukraine, 01004, Kyiv, Tereshchenkivska str., 2, e-mail: cellbiol@ukr.net*

#### β-GLUCOSIDASE *PYK 10* GENE EXPRESSION IN *ARABIDOPSIS THALIANA* (L.) HEYNH. SEEDLINGS UNDER CLINOROTATION AND X-RADIATION

**Aim.** Among plants used in spaceflight experiments, species of family Brassicaceae are considered as the most resistant to radiation exposure. It is supposed that ER-bodies, which are derivative of granular endoplasmic reticulum and selectively accumulate an enzyme β-glucosidase, may be responsible for this resistance. We firstly investigated expression of β-glucosidase *PYK10* gene in *A. thaliana* seedlings under slow horizontal clinorotation and X-radiation of doses 0.5 Gy, 1 Gy, 2 Gy, 4 Gy, 6 Gy, 8 Gy, 10 Gy, and 12 Gy. **Methods.** Seedlings were grown on agar nutrient medium. *PYK 10* expression was determined using a method of real-time PCR. **Results.** Significant enhancement of *PYK 10* expression and increasing a number of ER-bodies in *A. thaliana* seedlings under the influence of clinorotation and X-radiation in comparison with control was established. An increase in the number of ER-bodies was due to *PYK 10* high expression and β-glucosidase synthesis without a rise of enzyme activity under clinorotation, while β-glucosidase activity increased under X-radiation. Plant responses to X-radiation became adaptive during 10 days after radiation, in which β-glucosidase plays a crucial role. **Conclusions.** Increased *PYK 10* expression in *A. thaliana* seedlings under clinorotation and X-radiation is a part of the internal program of plant protection against the action of environmental factors. ER-bodies containing β-glucosidase may be one of the main components of the plant protection system from the influence of clinorotation and X-radiation.

**Keywords:** *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., ER-bodies, β-glucosidase, gene expression, clinorotation, X-radiation.