

Л.Є. КОЗЕКО<sup>1</sup>, О.А. АРТЕМЕНКО<sup>1</sup>,  
В.А. ЗАСЛАВСЬКИЙ<sup>1</sup>, А.Я. ДІДУХ<sup>2</sup>, Д.Б. РАХМЕТОВ<sup>3</sup>,  
Г.М. МАРТИНЮК<sup>3</sup>, Я.П. ДІДУХ<sup>1</sup>, Є.Л. КОРДЮМ<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Інститут ботаніки імені М.Г. Холодного НАН України  
вул. Терещенківська 2, м. Київ, 01601, Україна  
[kozeko@optima.com.ua](mailto:kozeko@optima.com.ua)

<sup>2</sup> Ботанічний сад імені академіка О.В. Фоміна, ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка

вул. Комінтерна, 1, м. Київ, 01032, Україна

<sup>3</sup> Національний ботанічний сад імені М.М. Гришка НАН України, вул. Тімірязєвська, 1, м. Київ, 01014, Україна

## **ОЦІНКА СТАНУ РОСЛИН ЗА ДІЇ НЕСПРИЯТЛИВИХ ЗМІН ЕКОЛОГІЧНИХ ФАКТОРІВ ІЗ ВИКОРИСТАННЯМ БІЛКА ТЕПЛОВОГО ШОКУ 70 кДа (Hsp70)**

---

*К л ю ч о в і с л о в а: білок теплового шоку 70 кДа, біомаркер, стрес, адаптація, зміни екологічних факторів*

Проблема адаптації рослин до умов варіабельного зовнішнього середовища, якого вони не можуть уникнути внаслідок нерухомого способу життя, є першочерговою в біології та екології рослин, зважаючи на посилення антропогенного тиску і прогнози щодо глобальних змін клімату. Питання адаптаційного потенціалу рослин природних угруповань і пізнання механізмів їхнього пристосування до зовнішнього середовища безпосередньо пов'язані із завданнями збереження та відновлення біорізноманіття. Експериментальні дослідження зазвичай спрямовані на вивчення біологічних ефектів одного чи декількох контрольованих факторів середовища. Дослідження у природних умовах ускладнюються тим, що організми одночасно відчувають вплив комплексу неконтрольованих факторів різної природи. Тому пошук біомаркерів стресового стану рослин природних угруповань є одним із пріоритетних завдань сучасної біології.

Синтез білків теплового шоку, що функціонують як молекулярні шаперони, є одним із найбільш універсальних і розповсюджених механізмів захисту клітини від стресових ушкоджень (Vierling, 1991; Mathew, Morimoto, 1998; Маргуліс, Гужова, 2000). Оскільки синтез білків теплового шоку індукується у відповідь на дію стресорів різної природи, які або безпосередньо пошкоджують клітинні білки, або призводять до синтезу аберантних білків (Voellmy, 1996), цей процес вважають складовою неспецифічної стресової реакції організмів. Білкам родини

© Л.Є. КОЗЕКО, О.А. АРТЕМЕНКО, В.А. ЗАСЛАВСЬКИЙ, А.Я. ДІДУХ, Д.Б. РАХМЕТОВ,  
Г.М. МАРТИНЮК, Я.П. ДІДУХ, Є.Л. КОРДЮМ, 2011

Hsp70 належить центральне місце в цьому механізмі. Родина Hsp70 містить низку білків із різною клітинною локалізацією, диференціальним характером генної експресії в ході онтогенезу й відповіді на дію стресових чинників (Vierling, 1991; Маргулис, Гужова, 2000; Lin et al., 2001; Sung et al., 2001). Синтез частини з них відбувається конститутивно і тільки до деякої міри посилюється за умов теплового стресу; інші не синтезуються за нормальних умов, проте індукуються значною мірою при підвищенні температури (Маргулис, Гужова, 2000; Piterkova et al., 2010). Швидке накопичення Hsp70 у рослин показане також за дії низької температури (Guy, Li, 1998; Li et al., 1999; Sung et al., 2001), водного стресу (Guy, Li, 1998), осмотичного тиску та сольового стресу (Ireland et al., 2004; Zou et al., 2009), поранення (Guy, Li, 1998), високої інтенсивності світла (Nam et al., 2003), дії важких металів (Ireland et al., 2004) і патогенів (Piterkova et al., 2010).

Індукція Hsp70 у відповідь на дію стресових чинників різної природи наштовхує на думку, що білки рослин цієї родини можна використовувати як біомаркер їх стресового стану. Раніше подібне положення висловлювалося щодо тваринних об'єктів у роботах із токсикології та моніторингу забруднення середовища важкими металами, пестицидами та іншими шкідливими сполуками (Sanders, 1993; Werner, Hinton, 1999; Mukhopadhyay et al., 2003; Тимофеев и др., 2008). Hsp70 розглядався також як біомаркер стресу в рослин *Fucus serratus* L. і *Lemna minor* L. за дії температурного, сольового, осмотичного стресів і важких металів (Ireland et al., 2004). Для зелених водоростей показано, що білок хлоропластів Hsp70B є раннім маркером окиснювального стресу (Юрина, 2010).

Виходячи з цього, ми припустили, що Hsp70 може бути біомаркером стресу рослин і використовуватися для оцінки стану рослин природних угруповань за несприятливих змін екологічних факторів. На перевірку цього припущення було спрямоване дане дослідження.

## Матеріали та методи досліджень

За об'єкти вивчення обрали види покритонасінних рослин, різні за своєю екологією, зокрема за вимогами до умов водозабезпечення: наземні — *Salix purpurea* L. (*Salicaceae*), *Malva pulchella* Bernh. сорт Сильва і *M. sylvestris* L. сорт Красавка (*Malvaceae*); повітряно-водні — *Sium latifolium* L. (*Apiaceae*) та *Hydrocotyle verticillata* Thunb. (*Apiaceae*), що здатні рости як у прибережній водній зоні, так і на суші; справжні водні — плаваюча у воді *Pistia stratiotes* L. (*Araceae*), яка може адаптуватися до росту на суходолі, та прикріплені до ґрунту *Trapa natans* L. (*Trapaceae*) із плаваючими листками і *Vallisneria spiralis* L. (*Hydrocharitaceae*) із зануреними у воду листками, що не можуть існувати поза водою. Для аналізу використовували листки рослин, котрі зазнавали впливу водного дефіциту, затоплення і теплового стресу в природних умовах або в експерименті. Так, рослини *S. purpurea* зростали на перезволоженому ґрунті (за умов поливу) і без поливу в разі природного зволоження ґрунту при температурі повітря +17 °C. Види мальви перебували в умовах тривалої посухи при середній

денній температурі повітря +41 °С і помірної вологості при середній денній температурі повітря +17 °С. Для тестування *S. latifolium* використовували рослини прибережної водної смуги і суходолу вздовж р. Псел, біля смт Велика Багачка Полтавської обл. Зразки відбирали при середній денній температурі повітря +24 °С після дощу і +41 °С за відсутності атмосферних опадів протягом тривалого часу. Рослини *H. verticillata* росли у воді або на суші (температура води під час відбору зразків становила +21 °С, повітря +20 °С) і зазнавали теплового стресу (водні рослини витримувались у воді при +40 °С протягом 2 год). Листки *P. stratiotes* відбирали з рослин, які плавали у водоймі при температурі +21 °С та росли на суші при температурі повітря +20 °С. Листки *T. natans* збирали з рослин у природній водоймі при температурі води +23 °С, а також із рослин, витриманих у тонкому шарі води (2 см) при температурі +30 ± 2 °С протягом двох тижнів або на вологому моху при температурі повітря +35 ± 3 °С протягом двох діб. Листки *V. spiralis* збирали з рослин у водоймі при температурі води +21 °С; з рослин, підсушених на вологому фільтрувальному папері протягом 1 год при +18 °С і відсутності примусової вентиляції повітря; з рослин, підсушених на вологому фільтрувальному папері протягом 3 год при температурі +18 °С і примусовій вентиляції повітря, а також із рослин, витриманих у воді при +40 °С протягом 2 год (тепловий стрес).

Білки теплового шоку визначали за допомогою методу Вестерн-блотингу. Методика екстракції сумарних розчинних білків, їхнього електрофоретичного розподілу, перенесення на нітроцелюлозну мембрану викладена в нашій попередній праці (Козеко, 2009). Визначення концентрації білка в екстрактах здійснювали за методом Бредфорда (Bradford, 1976). На поліакриламідний гель наносили 50 мкг сумарного білка на одну пробу. Імунодетекцію Hsp70 проводили за протоколом (<http://zbio.net/protocol/#a17-08.html>), використовуючи як первинні антитіла моноклональні мишачі антитіла (N H5147, Sigma), що є специфічними до Hsp70 широкого кола організмів, включаючи рослини. Як вторинні антитіла використовували кролячі, специфічні до мишачих IgG, кон'юговані з біотином, котрі візуалізували за допомогою екстравідин-пероксидазної системи. Активність пероксидази виявляли шляхом інкубації мембрани у 0,02 %-ному розчині тетрагідрохлориду 3,3'-діамінобензидину (Sigma) і 0,02 %-ному перекису водню в цитрат-фосфатному буфері (рН 5,0). Контроль за однаковою кількістю сумарного білка, використаного в аналізі зразків кожного виду рослин, здійснювали за білковими треками, забарвленими Кумасі в гелі й Понсо С на мембрані. Кількість білка на блятах характеризували за інтенсивністю забарвлення білкової зони в умовних одиницях шляхом комп'ютерної обробки дигіталізованих зображень імуноблотів за допомогою програми ImageMaster Total.Lab version 2.00 (Amersham). Аналіз зразків кожного варіанта проводили щонайменше у 3-кратній повторності.

Паралельно з відбором зразків для аналізу білків визначали вміст води у ґрунті, на якому росли рослини, за стандартною методикою.

## Результати досліджень та їх обговорення

Результати аналізу підтвердили можливість використання антитіл, реактивних до консервативної послідовності білків Hsp70, для тестування рослин різних родин. Оскільки використані нами антитіла можуть зв'язуватися з різними ізоформами Hsp70, то білкова зона на імуноблотах, очевидно, може містити як одну, так і декілька ізоформ, близьких за молекулярною масою. Через те, що в цьому аналізі важливим є факт індукції білків Hsp70 за несприятливих умов, а визначення особливостей синтезу окремих ізоформ не було завданням роботи, далі для зручності називатимемо білкові зони на імуноблотах «білком Hsp70». Метод Вестерн-блотингу є напівкількісним, проте, на нашу думку, достатнім для визначення суттєвих змін у рівні білка, залишаючи за межами аналізу їхні тонкі варіації, що відповідає завданню роботи.

Вісім видів покритонасінних рослин із шести родин було протестовано за різних умов гідротермічного режиму на наявність білка Hsp70. Вестерн-блот-аналіз Hsp70 у листках *S. purpurea* виявив велику кількість цього білка в рослині, ґрунт під якою містив  $64,3 \pm 0,3$  % води відносно сухої маси. У рослини, яка зростала за вологості ґрунту  $28,7 \pm 0,2$  %, він детектувався у малій кількості (рис. 1). Одержані дані свідчать, що адаптація *S. purpurea* до високої вологості ґрунту потребує участі Hsp70. У разі надмірної зволоженості ґрунту постачання кисню до коренів утруднюється, і його нестача спричиняє в організмі індукцію генів шаперонів (Chang et al., 2000). Виходячи з цього, можна стверджувати, що для росту *S. purpurea* сприятливими є рихлі аеровані ґрунти, але слід уникати їхнього надмірного зволоження. Це збігається з екологічною характеристикою виду.

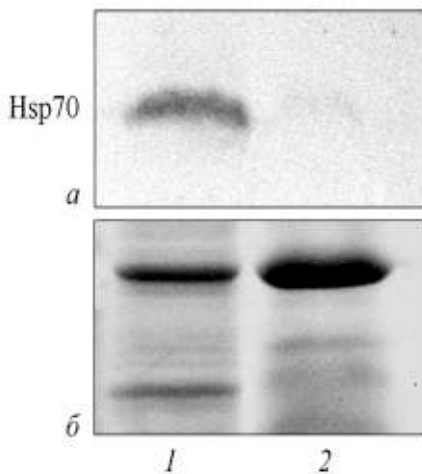


Рис. 1. Вестерн-блоти Hsp70 (а) і фрагмент електрофореграм сумарного білка (б) листків рослин *Salix purpurea* L., які зростали: 1 — на перезволоженому ґрунті (за умов поливу); 2 — без поливу за умов природного зволоження ґрунту при температурі повітря +17 °С

Fig. 1. Western-blot of Hsp70 (a) and a fragment of the electrophoregrams of total protein (б) of leaves of *Salix purpurea* L. plants which grew: 1 — on the abundantly watered soil; 2 — without watering at an air temperature of +17 °С

В обох видів мальви білок Hsp70 виявлявся за жарких посушливих умов і був відсутнім за умов помірної вологості та температури (вміст води в ґрунті — відповідно  $5,1 \pm 0,1$  і  $30,0 \pm 0,3$  % від сухої маси) (рис. 2). Очевидно, висока резистентність цих видів — у даному випадку здатність витримувати температуру

повітря близько +41 °С і прямі сонячні промені на фоні пролонгованої посухи — забезпечується, зокрема, індукцією синтезу Hsp70. З цим узгоджується і той факт, що рослини *M. sylvestris*, які за несприятливих умов, на відміну від *M. pulchella*, продовжували цвітіння, характеризувалися більшим вмістом Hsp70 (рис. 2, а, в, варіанти 2, 4).

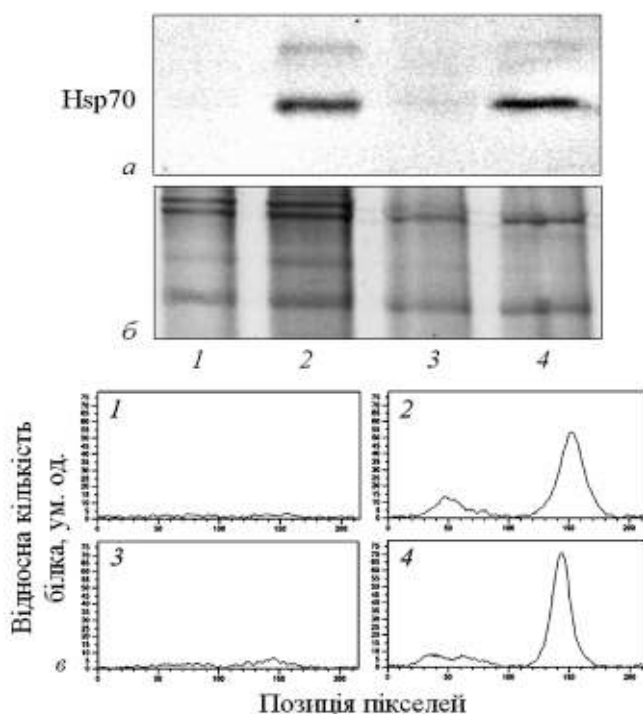


Рис. 2. Вестерн-блоти Hsp70 (а), фрагмент електрофореграм сумарного білка (б) і денситометричні скани блотів (в) листків *Malva pulchella* Bernh., сорт Сильва (1, 2), і *M. sylvestris* L., сорт Красавка (3, 4): 1, 3 — за умов помірного зволоження ґрунту при температурі повітря +17 °С; 2, 4 — в посушливий період при +41 °С

Fig. 2. Western-blot of Hsp70 (a), a fragment of the electrophoregram of total protein (b) and densitometric scanning of the Western-blot of Hsp70 (c) in leaves of *Malva pulchella* Bernh., v. Silva (1, 2), and *M. sylvestris* L., v. Krasavka (3, 4): 1, 3 — under a moderate water content in the soil at an air temperature of +17 °С; 2, 4 — under drought at +41 °С

Аналіз рослин *H. verticillata*, які зростають у воді, показав, що Hsp70 відсутній при нормальній температурі, але індукується за умов теплового стресу (рис. 3). З іншого боку, адаптація до умов суходолу потребує синтезу цього стресового білка і при нормальній температурі. Така ж закономірність виявлялась і для *P. stratioites* — водної плаваючої рослини, в якій у разі адаптації до умов суходолу виявлено три ізоформи Hsp70 з молекулярними масами 70 кДа (слабка за інтенсивністю забарвлення зона), 67 і 66 кДа (рис. 4). Одержані дані свідчать, що ці два види краще почувають себе у воді, ніж на суходолі.

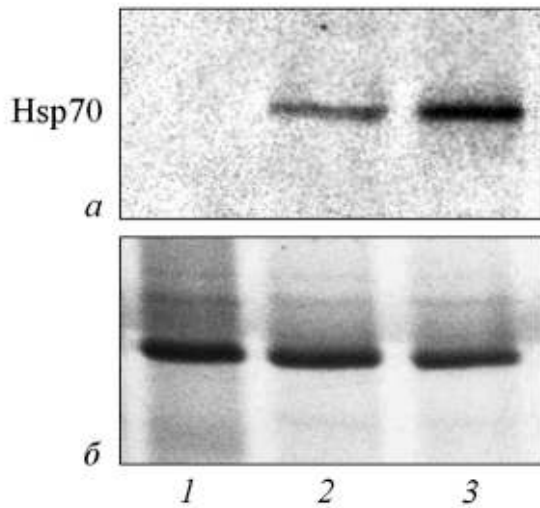


Рис. 3. Вестерн-блоти Hsp70 (а) і фрагмент електрофореграм сумарного білка (б) листків *Hydrocotyle verticillata* Thunb.: рослини зростали: 1 — у воді при температурі води +21 °С; 2 — на суші при температурі повітря +20 °С; 3 — водні рослини, інкубовані при +40 °С протягом 2 год (тепловий стрес)

Fig. 3. Western-blots of Hsp70 (a) and a fragment of the electrophoregrams of total protein (b) of leaves of *Hydrocotyle verticillata* Thunb.: 1 — submerged plants at a water temperature of +21 °C; 2 — terrestrial plants at an air temperature of +20 °C; 3 — heat shock treated submerged plants (+40 °C, 2 h)

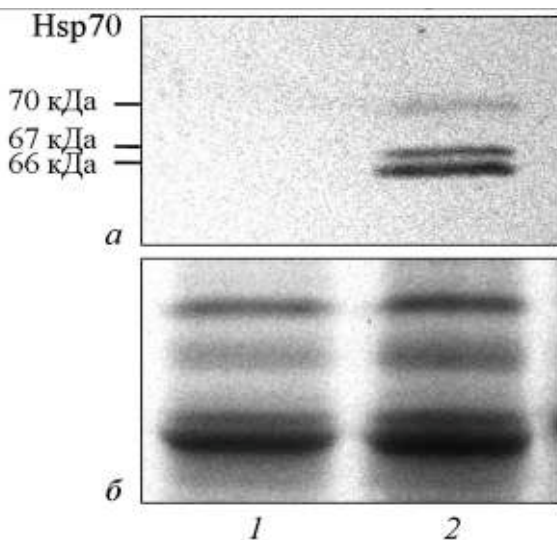


Рис. 4. Вестерн-блоти Hsp70 (а) і фрагмент електрофореграм сумарного білка (б) листків *Pistia stratiotes* L.: 1 — плаваючі рослини при температурі води +21 °С; 2 — рослини, які зростали на суші при температурі повітря +20 °С

Fig. 4. Western-blots of Hsp70 (a) and a fragment of the electrophoregrams of total protein (b) of leaves of *Pistia stratiotes* L.: 1 — floating plants at a water temperature of +21 °C; 2 — terrestrial plants at an air temperature of +20 °C

У природному середовищі рослини відчувають вплив комплексу багатьох факторів, у тому числі й негативних, причому екологічні умови в місці зростання кожної рослини мають свої особливості. У зв'язку з цим на прикладі *S. latifolium* здійснено аналіз рослин, які зростали на одній території, але в різних місцях. Білок Hsp70 визначали в рослин як прибережної водної зони, так і суходолу, що можна розглядати як один із механізмів, що забезпечують високу пластичність цього виду. Після дощів за умов помірної температури рівень Hsp70 у досліджених рослин виявився невисоким, але досить варіабельним (рис. 5), що, з одного боку, може відображати індивідуальну здатність особин певного виду до адаптації та індукції цього білка, а з іншого — бути наслідком впливу локальних умов місць

існування. Ці результати дають підстави вважати, що при температурі, близькій до оптимальної, стресорами й індукторами Hsp70 можуть бути інші фактори, наприклад, гіпоксичні умови або наявність шкідливих комах, яких на рослинах *S. latifolium* буває забагато, тощо. На відміну від цього, за жарких посушливих погодних умов у всіх рослин *S. latifolium* як прибережної водної зони, так і суходолу виявлявся стабільно високий рівень Hsp70, причому в рослин суходолу — більший (рис. 6). Очевидно, в цьому випадку головним стресовим чинником для рослин прибережної водної смуги була висока температура (вдень понад +40 °C), для рослин суходолу — висока температура й посуха. Те, що тепловий стрес швидко індукує генну експресію Hsp70, відомо з літератури (Vierling, 1991; Li et al., 1999; Маргуліс, Гужова, 2000; Zou et al., 2009), а також підтверджено нашими дослідженнями. Проте в експерименті термін дії теплового стресу звичайно вимірюється у хвиликах або годинах, що призводить до тимчасової індукції білків теплового шоку. Багато видів успішно росли і розвивалися під час тривалої дії високої температури й посухи в природних умовах України влітку 2010 р. Для рослин *S. latifolium*, *M. sylvestris* і *M. pulchella*, які росли в таких умовах, було показано, що вони містили значну кількість стресового білка Hsp70 у клітинах.

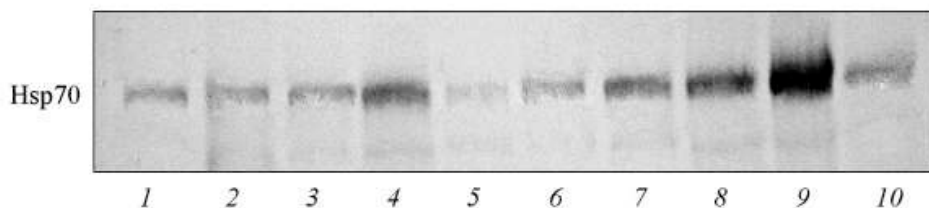


Рис. 5. Вестерн-блоти Hsp70 листків повітряно-водних (1—5) та суходільних (6—10) рослин *Sium latifolium* L. при температурі повітря +24 °C

Fig. 5. Western-blot of Hsp70 of leaves of aerial-aquatic (1—5) and terrestrial (6—10) *Sium latifolium* L. plants at an air temperature of +24 °C

Таким чином, у шести досліджуваних видів виявлено значну кількість Hsp70 за умов дії несприятливих факторів і відсутність або наявність у малій кількості за умов, близьких до оптимальних. Слід підкреслити, що для кожного виду характерні власні оптимальні умови, значні відхилення від яких, очевидно, спричиняють стресову реакцію, включаючи індукцію Hsp70.

На відміну від видів із широким адаптаційним потенціалом аналіз справжніх водних рослин *T. natans* і *V. spiralis* не виявив у них Hsp70 ні за нормальних для них умов існування, ні за умов водного і теплового стресів. Причини цього поки що не зрозумілі та потребують подальшого дослідження. Проте слід підкреслити, що обидва види не є стійкими до водного стресу. Можливо, це пов'язано, зокрема, з відсутністю чи дуже низьким рівнем (за межами чутливості методу) синтезу Hsp70. Хоча індукція синтезу цього стресового білка є одним з універсальних, широко розповсюджених компонентів стрес-реакції до несприятливих змін

довкілля, в окремих видів цей процес редукований або не детектується. Такий феномен відомий для деяких спеціалізованих і ендемічних видів тварин, які є вузько адаптованими до певних умов існування (Bosch et al., 1988; Sanders et al., 1991; Brennecke et al., 1998; Hofmann et al., 2000; Тимофеев и др., 2008).

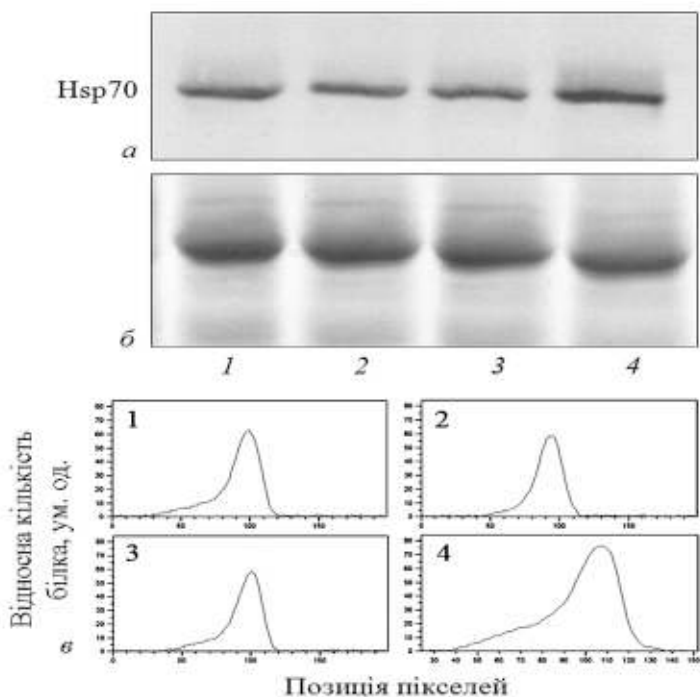


Рис. 6. Вестерн-блоти Hsp70 (а), фрагмент електрофореграм сумарного білка (б) і денситометричні скани блотів Hsp70 (в) листків повітряно-водних (1–3) та суходільної (4) рослин *S. latifolium* при температурі повітря +41 °C

Fig. 6. Western-blot of Hsp70 (a), a fragment of the electrophoregrams of total protein (б) and densitometric scanning of the Western-blot of Hsp70 (в) of leaves of aerial-aquatic (1–3) and terrestrial (4) *S. latifolium* plants under drought at an air temperature of +41 °C

## Висновки

Рівень білка Hsp70 у листках рослин може бути інтегральним показником стану і діапазону стійкості рослин за дії несприятливих змін екологічних чинників, що дає змогу рекомендувати Hsp70 як молекулярний маркер для моніторингу стану рослин природних угруповань, інтродукованих рослин і сільськогосподарських культур.

Припускається, що відсутність індукції Hsp70 у листках рослин за стресових умов у певних видів свідчить про їхню вузьку спеціалізацію до певної екологічної ніші.

Автори статті щиро вдячні канд. біол. наук Т.П. Мазур, куратору водної оранжереї Ботанічного саду імені академіка О.В. Фоміна ННЦ «Інститут



біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, за надані оранжерейні рослини видів *H. verticillata*, *P. stratioides*, *V. spiralis*.

1. Козеко Л.Е. Количественные изменения белков теплового шока Hsp70 и Hsp90 в реакции проростков гороха на кратковременное действие гипергравитации // Доп. НАН України. — 2009. — № 1. — С. 140—143.

2. Маргулис Б.А., Гужова И.В. Белки стресса в эукариотической клетке // Цитология. — 2000. — 42, № 4. — С. 323—342.

3. Тимофеев М.А., Шатилина Ж.М., Бедулина Д.С., Протопопова М.В., Колесниченко А.В. Особенности применения белков теплового шока в качестве стресс-маркеров у водных организмов на примере байкальских эндемичных амфипод // Прикл. биохим. микробиол. — 2008. — 44, № 3. — С. 343—346.

4. Юрина Н.П. Устойчивость к окислительному стрессу у зеленых водорослей: корреляция с содержанием HSP70В/шаперона хлоропластов // Растение и стресс: Тез. докл. Все рос. симп. (Москва, Россия, 9—12 нояб. 2010). — М., 2010. — С. 404.

5. Bosch T.C.G., Krylow S.M., Bode H.R. Thermotolerance and synthesis of heat shock proteins: these responses are present in *Hydra oligactis* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1988. — 85 (21). — P. 7927—2935.

6. Brennecke T., Gellner K., Bosch T.C.G. The lack of a stress response in *Hydra oligactis* is due to reduced *hsp70* mRNA stability // Eur. J. Biochem. — 1998. — 255 (3). — P. 703—709.

7. Chang J., Knowlton A.A., Wasser J.S. Expression of heat shock proteins in turtle and mammal hearts: relationship to anoxia tolerance // Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol. — 2000. — 278 (1). — P. 209—214.

8. Guy C.L., Li Q.B. The organization and evolution of the spinach stress 70 molecular chaperone gene family // Plant Cell. — 1998. — 10 (4). — P. 539—556.

9. Hofmann G.E., Buckley B.A., Airaksinen S., Keen J., Somero G.N. Heat-shock protein expression is absent in the Antarctic fish *Trematomus bernacchii* (Family *Nototheniidae*) // J. Exp. Biol. — 2000. — 203 (15). — P. 2331—2339.

10. Ireland H.E., Harding S.J., Bonwick G.A., Jones M., Smith C.J., Williams J.H.H. Evaluation of heat shock protein 70 as a biomarker of environmental stress in *Fucus serratus* and *Lemna minor* // Biomarkers. — 2004. — 9 (2). — P. 139—155.

11. Li Q.B., Haskell D.W., Guy C.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 Mol. Biol. — 1999. — 39 (1). — P. 21—34.

12. Lin B.L., Wang J.S., Liu H.C., Chen R.W., Meyer Y., Barakat A., Delseny M. Genomic analysis of the Hsp70 superfamily in *Arabidopsis thaliana* // Cell Stress & Chaperones. — 2001. — 6 (3). — P. 201—208.

13. Mathew A., Morimoto R.I. Role of the heat-shock response in the life and death of proteins // Stress of Life: from Molecules to Man / Ed. by P. Csermely. — New York: Ann. New York Acad. Sci., 1998. — Vol. 851. — P. 99—111.

14. Mukhopadhyay I., Nazir A., Saxena D.K., Kar Chowdhuri D. Heat shock response: hsp70 in environmental monitoring // J. Biochem. Mol. Toxicology. — 2003. — 17 (5). — P. 249—254.

15. Nam M.H., Heo E.J., Kim J.Y., Kim S.I., Kwon K.H., Seo J.B., Kwon O., Jong S.Y., Park Y.M. Proteome analysis of the responses of *Panax ginseng* C.A.Meyer leaves to high light: use of electrospray ionization quadrupole-time of flight mass spectrometry and expressed sequence tag data // *Proteomics*. — 2003. — **3** (12). — P. 2351—2367.
16. Piterkova J., Luhova L., Petrivalsky M., Matulkova Z., Mieslerova B. Hsp70 expression in *Licopersicon* spp. in response to abiotic and biotic stresses and their combination // *Book of abst.: XVIII Congress of the Federation of European Societies of Plant Biology (FESPB)* (Valencia, Spain, 4—9 July 2010). — Valencia, 2010. — P. 56.
17. Sanders B.M. Stress proteins in aquatic organisms: an environmental perspective // *Critical Reviews in Toxicology*. — 1993. — **23** (1). — P. 49—75.
18. Sanders B.M., Hope C., Pascoe V.M., Martin L.S. Characterization of stress protein response in two species of *Collisella* limpets with different temperature tolerances // *Physiol. Zool.* — 1991. — **64** (6). — P. 1471—1489.
19. Sung D.Y., Vierling E., Guy C.L. Comprehensive expression profile analysis of the Arabidopsis Hsp70 Gene Family // *Plant Physiol.* — 2001. — **126**. — P. 789—800.
20. Vierling E. The roles of heat shock proteins in plants // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* — 1991. — **42**. — P. 579—620.
21. Voellmy R. Sensing stress and responding to stress // *Stress-inducible cellular responses* / Ed. by U. Feige, I. Yahara, R.I. Morimoto, B.S. Polla. — Basel, Switzerland: Birkhaeuser Verlag, 1996. — P. 121—138.
22. Werner I., Hinton D.E. Field validation of hsp70 stress proteins as biomarkers in Asian clam (*Potamocorbula amurensis*): is down regulation an indicator of stress? // *Biomarkers*, 1999. — **4** (6). — P. 473—484.
23. Zou J., Liu A., Chen X., Zhou X., Gao G., Wang W., Zhang X. Expression analysis of nine rice heat shock protein genes under abiotic stresses and ABA treatment // *J. Plant Physiol.* — 2009. — **166** (8). — P. 851—861.

Рекомендує до друку  
І.В. Косаківська

Надійшла 08.02.2011 р.

Л.Е. Козеко<sup>1</sup>, О.А. Артеменко<sup>1</sup>, В.А. Заславский<sup>1</sup>, А.Я. Дидух<sup>2</sup>, Д.Б. Рахметов<sup>3</sup>, Г.Н. Мартынюк<sup>3</sup>, Я.П. Дидух<sup>1</sup>, Е.Л. Кордюм<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Інститут ботаніки імені Н.Г. Холодного НАН України, г. Київ

<sup>2</sup> Ботаничний сад імені академіка А.В. Фомина, Учебно-научного центру «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, г. Київ

<sup>3</sup> Національний ботаничний сад імені Н.Н. Гришко НАН України, г. Київ

#### ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ РАСТЕНИЙ ПРИ ДЕЙСТВИИ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БЕЛКА ТЕПЛОВОГО ШОКА 70 кДА (HSP70)

Представлены результаты Вестерн-блот-анализа белка теплового шока 70 кДа (Hsp70) в листьях восьми видов покрытосеменных растений из шести семейств, различных по своей экологии, которые подвергались действию водного дефицита, затопления и

теплового стресса в природных условиях или в эксперименте. Показано, что уровень Hsp70 в листьях может быть интегральным показателем состояния и диапазона стойкости растений при действии неблагоприятных изменений экологических факторов. Это дает возможность использования белка Hsp70 для мониторинга состояния растений природных сообществ, интродуцированных растений и сельскохозяйственных культур.

*К л ю ч е в ы е с л о в а:* белок теплового шока 70 кДа, биомаркер, стресс, адаптация, изменения экологических факторов.

*L.Ye. Kozeko<sup>1</sup>, O.A. Artemenko<sup>1</sup>, V.A. Zaslavsky<sup>1</sup>, A.Ya. Didukh<sup>2</sup>, D.B. Rahmetov<sup>3</sup>, G.M. Martynyuk<sup>3</sup>, Ya.P. Didukh<sup>1</sup>, Ye.L. Kordyum<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>M.G. Kholodny Institute of botany, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

<sup>2</sup>O.V. Fomin Botanical Garden of Educational and Scientific Centre «Institute of biology» of Taras Shevchenko National University of Kyiv

<sup>3</sup>M.M. Gryshko National Botanical Garden, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

#### EVALUATION OF PLANT STATE UNDER UNFAVORABLE CHANGE OF ENVIRONMENTAL CONDITIONS USING HEAT SHOCK PROTEIN 70 kDa (HSP70)

Results of the Western-blot-analysis of heat shock protein 70 kDa (Hsp70) in leaves of 8 species of plants from 7 angiosperm families, different in their ecology, are presented. The tested plants were affected by water deficit, flooding and heat stress under natural or experimental conditions. It was shown that Hsp70 level in leaves could be an integral indicator of the state and tolerance range for plants under negative influence of environmental factors. Thus Hsp70 can be used for monitoring of natural plant associations, introduced plants and agricultural crops.

*К e y w o r d s:* heat shock protein 70 kDa, biomarker, stress, adaptation, changes of ecological factors.