

**Р.Т. ГУТ<sup>1</sup>, Ю.М. ЮСИПОВИЧ<sup>2</sup>, В.А. КОВАЛЬОВА<sup>3</sup>**

## **ОСОБЛИВОСТІ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ ДЕФЕНЗИНІВ У РІЗНИХ ОРГАНАХ СОСНИ ЗВИЧАЙНОЇ (*PINUS SYLVESTRIS* L.)**

*Досліджено конститутивну експресію генів дефензинів PsDef1 та PsDef2 у вегетативних і генеративних органах 15-річної сосни звичайної, а також у насінні та проростках (корінці, гіпокотилі і сім'ядолі). Визначено продукти транскрипції генів PsDef1 і PsDef2 у хвої, корі, корінні, бруньках, мікростробілах та макростробілах поточного року сосни звичайної на рівні мРНК. Показано диференційований характер експресії PsDef2 в процесі онтогенезу сосни. Виявлено підвищення рівня експресії генів дефензинів у восьмидобових проростках *Pinus sylvestris* L. після оброблення їх саліциловою та ясиновою кислотами.*

**Ключові слова:** дефензин, експресія, сосна звичайна, саліцилат, ясминат.

---

<sup>1</sup> **ГУТ Роман Тарасович** – член-кореспондент Лісівничої академії наук України, доктор біологічних наук, професор кафедри лісівництва. Національний лісотехнічний університет України. Україна, м. Львів, 79057. Тел.: (032)-237-95-23. E-mail: rgoutmollab@ukr.net

<sup>2</sup> **ЮСИПОВИЧ Юрій Михайлович** – аспірант кафедри лісівництва. Національний лісотехнічний університет України. Україна, м. Львів, 79057. Тел.: (032)-237-95-23. E-mail: j-jusse@mail.ru

<sup>3</sup> **КОВАЛЬОВА Валентина Андріївна** – кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник. Національний лісотехнічний університет України. Україна, м. Львів, 79057. Тел.: (032)-237-95-23. E-mail: vakovaleva@mail.ru

**Вступ.** Провідне місце у багаторівневій системі захисту рослин від потенційних патогенів належить антимікробним пептидам (АМП). Більшість АМП – це секреторні, багаті на цистеїн пептиди, які поділяють на кілька груп: тіоніни, дефензини, ліпід-трансферні протеїни, кнотини, гевеїни, снейкіни та ін. [20]. Серед них тільки дефензини є еволюційно консервативною групою, яка є складовою частиною вродженого імунітету різних класів багатоклітинних організмів, зокрема і людини.

Рослинні дефензини – це група невеликих (45-54 а.з.) катіонних пептидів, основу молекули яких утворює домен  $\gamma$ -thionin із характерним розташуванням 4-5 дисульфідних зв'язків. Первинна структура дефензинів характеризується високою варіабельністю, що виявляється у широкому спектрі їхньої біологічної активності [19]. Захисна функція рослинних дефензинів пов'язана з їх антифунгальними, антибактеріальними та інсектицидними властивостями, деякі з цих пептидів є інгібіторами протеаз та блокаторами іонних каналів [13, 15, 21]. Експресія генів дефензинів може бути конститутивною та локально і системно індукуватись у відповідь на дію стресових чинників довкілля у поверхневих шарах клітин різних органів рослин.

У геномах рослин дефензини представлені мультигенною родиною. Так, у геномі *Arabidopsis* ідентифіковано 317 дефензиноподібних послідовностей [17]. Першим доказом існування мультигенної родини дефензинів у рослин роду *Pinus* стало клонування нами двох високогомологічних генів дефензинів сосни звичайної *PsDef1* (*Pinus sylvestris* defensin 1, GenBank Acc. No. EF455616.1) і *PsDef2* (Acc. No. EF455617.1), ідентичність нуклеотидних послідовностей яких становить 87 % [1, 11]. Відомо, що різні дефензини із мультигенної родини у *A. thaliana* мають органоспецифічні профілі експресії. Так, дефензин *Pdf1.2* конститутивно експресується тільки в насінні та стручках, *Pdf2.1* – у коренях, насінні та стручках, а *Pdf2.3* – в усіх органах рослини, за винятком тканин кореня. Б. Томма і В. Брекерт вважають, що в кожному органі рослини відбувається експресія хоча би одного гена дефензину [18].

У цьому дослідженні ми поставили за мету проаналізувати особливості експресії дефензинів *PsDef1* і *PsDef2* у вегетативних та генеративних органах сосни звичайної та з'ясувати характер впливу екзогенних стресових гормонів (саліцилової та ясинової кислот) на рівень експресії цих генів.

**Матеріали і методи досліджень.** У дослідах використано зріле насіння *Pinus sylvestris* L., надане Львівською зональною лісонасінною станцією. По 100 насінин пророщували в чашках Петрі на фільтрувальному папері, змоченому дистильованою водою, за температури 26°C. На восьму добу проростки розсікали на частини (корінці, гіпокотилі і сім'ядолі), негайно заморожували їх у рідкому азоті і зберігали за температури -70°C до їхнього використання. Для визначення впливу стресових фітогормонів на рівень експресії генів *PsDef1* і *PsDef2* 6-добові проростки опрыскували 2мкМ розчином саліцилату (у 0,1 % етанолі), 1мМ розчином ясинонату (у 0,1 % етанолі) або 0,1 % етанолом (контрольна група). Проростки збирали через 48 год після оброблення і зберігали за температури -

70°C. Дворічну хвою, корінь, вегетативні бруньки, кору з дворічних пагонів, а також макростробли поточного року і мікростробли відбирали з 15-річної сосни Ботанічного саду НЛТУ України. Не зріле насіння з сосни збирали із дворічних макростробил у першій декаді серпня.

**Напівкількісна ЗТ-ПЛР.** Сумарну РНК із заморожених зразків виділяли за методикою Chang et al. [7]. Рівні кількості сумарної РНК (5 мкг) використано для синтезу кДНК із оліго (dT)<sub>18</sub> праймером і зворотною транскриптазою RevertAid™ Premium (Fermentas, Литва). Кожна напівкількісна ЗТ-ПЛР проводилась у 25 мкл реакційної суміші, яка містила кДНК синтезовану на 50 нг сумарної РНК, 2 U Taq полімерази (Fermentas, Литва), ПЛР-буфер від виробника, 0,2 мМ дНТФ та 0,5 мкМ ген-специфічних праймерів. Для виявлення транскриптів генів *PsDef1* і *PsDef2* використовували, відповідно, праймери: прямий – 5'-GGGATGATGCAGGTTCAAGT-3' і зворотний – 5'-ACATTTTCTGCCAGCCACAT-3'; прямий – 5'-TCCACTCAGTGCCTTTTTC-3' і зворотний – 5'-CAGTAGCACTTTCGGCTGG-3'. Для контролю перебігу ПЛР та напівкількісного аналізу рівня експресії генів дефензинів використовували 60 s рибосомальний протеїн L44 (60S RP L44; (GenBank Acc. No. EL342388) як "house-keeping" ген. Для ампліфікації цього гена підібрано такі олігонуклеотиди: прямий – 5'-CAAAGCTTGCAAAAAGCACA-3' та зворотний – 5'-TTCCSTTCCSTTCTGTCT-3'. Для *PsDef1* транскриптів ампліфікується фрагмент завдовжки 159 п.н., для *PsDef2* – 210 п.н., для 60S RP L44 – 263 п.н. У ПЛР реакції використовували одночасно дві пари праймерів: до "house-keeping" гена та *PsDef1* або *PsDef2*. Умови ПЛР: 95 °C – 5 хв, 22-35 циклів (95 °C – 1хв, 54 °C – 1 хв; 72°C – 1 хв); 72 °C – 5 хв. Продукти ПЛР розділяли в 2 % агарозному гелі у трис-боратній буферній системі (50 мМ трис-Н<sub>3</sub>ВО<sub>3</sub>, рН 8,3; 2 мМ ЕДТА), забарвлювали бромистим етидієм (0,5 мкг/мл) і фотографували в УФ-світлі.

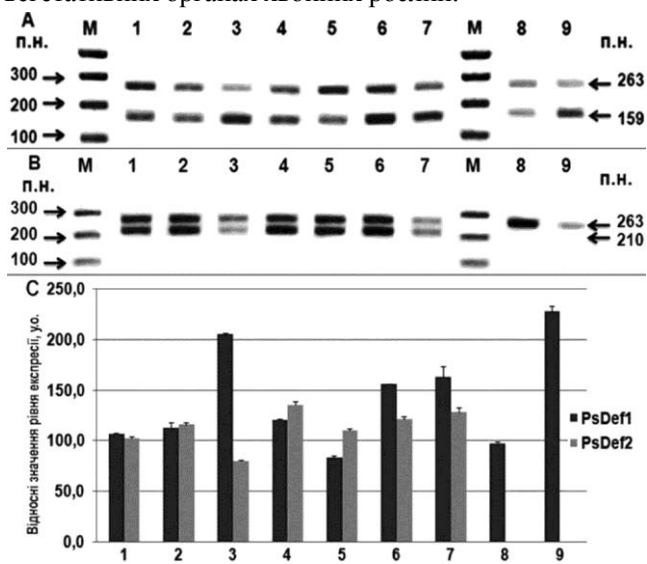
**Статистичне оброблення результатів.** Денситометричний аналіз електрофореграм проводили за допомогою програми GelProAnalyzer 4.0 ("MediaCybernetics", США). Значення рівня експресії генів дефензинів нормалізували відносно рівня експресії 60s рибосомального протеїну L44. Статистичне оброблення даних проводили відповідно до загальноприйнятих методів. Для порівняння двох груп даних використовували двосторонній критерій Ст'юдента. Статистично достовірною вважали різницю за  $p \leq 0,05$ .

**Результати дослідження.** На сьогодні в геномах рослин родини Pinaceae виявлено близько 300 дефензиноподібних (DEFL – defensin-like) послідовностей, які класифіковано у чотири групи відповідно до їхньої структурної гомології [2]. Найбільш чисельною є перша група, до якої належать і досліджувані нами гени *PsDef1* і *PsDef2*.

Експресію генів дефензинів у тканинах сосни вивчали на рівні мРНК методом напівкількісної ЗТ-ПЛР. Транскрипти *PsDef1* і *PsDef2* виявлено в усіх частинах восьмидобових проростків сосни та у

тканинах вегетативних органів (рис. 1, А, Б (доріжки 1-7)).

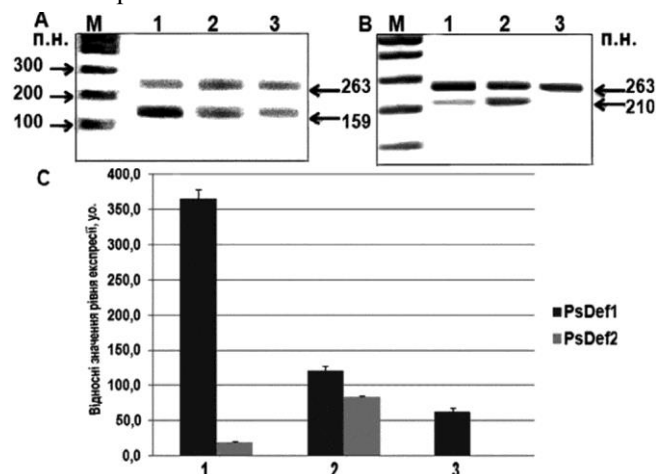
У коренях і гіпокотиліях проростків істотних відмінностей у рівні експресії цих генів не спостережено. Наразі у сім'ядолях вміст транскрипту *PsDef1* був у 2,5 рази вищим за *PsDef2* (рис. 1С (1-3)). Різниця у рівні експресії генів дефензинів у корі, хвої, вегетативних бруньках та коренях 15-річної сосни становила 10-30% (рис. 1С (4-7)). Аналогічні результати отримано Pervieux et al. [16], які встановили присутність транскриптів дефензину PgD1 в коренях, стовбурі, хвої та вегетативних бруньках ялини канадської *Picea glauca*, а Fossdal et al. [9] ізолювали кДНК, яка кодує дефензин SPI1, із коренів ялини європейської *P. abies*. PgD1 і SPI1 мають високий ступінь гомології до дефензинів сосни і належать до першої групи DEF1 послідовностей Pinaceae. Наші результати, як і дані згаданих вище авторів, свідчать про конститутивний характер експресії дефензинів першої групи у вегетативних органах хвойних рослин.



**Рис. 1.** Аналіз експресії *PsDef1* (А) і *PsDef2* (Б) у вегетативних органах та насінні сосни звичайної методом напівкількісної ЗТ-ПЛР: 1, 2, 3 – корінь, гіпокотилі, сім'ядолі 8-добових проростків сосни звичайної, відповідно; 4, 5, 6, 7 – кора, хвоя, вегетативні бруньки, корінь 15-річної сосни, відповідно; 8 – незріле насіння, 9 – зріле насіння. М – маркери GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder (Fermentas, Литва). Справа стрілками вказано продукти ПЛР: 159 п.н. – *PsDef1*; 210 п.н. – *PsDef2*; 263 п.н. – "house-keeping" ген 60S RP L44. (С). Значення рівня експресії *PsDef1* і *PsDef2* у вегетативних органах та насінні сосни перераховано відносно 60S RP L44

Більшість відомих на сьогодні рослинних дефензинів було виділено із насіння дводольних і однодольних рослин, де їх вміст може сягати до 0,5% загального протеїну. Під час проростання насінини цілісність її оболонки, яка слугувала механічною перешкодою на шляху патогенних мікроорганізмів, порушується, і антимікробні пептиди, вивільняючись назовні, створюють хімічний бар'єр проти ґрунтових фітопатогенів. Ще донедавна вважали, що механізми захисту насіння від збудників фітохвороб у голонасінних і покритонасінних різні, оскільки дефензинів у сухому насінні ялини не було знайдено

[9, 16]. Нещодавно ми виявили дефензиноподібні послідовності в кДНК бібліотеках ембріонів *Pinus taeda* і відповідні протеїнові продукти ідентифіковано мас-спектрометрією та імуноблот-аналізом зі специфічними до дефензину антитілами [2, 12]. Аналіз експресії дефензинів методом ЗТ-ПЛР показав присутність транскриптів *PsDef1* в незрілому насінні сосни (пізня стадія ембріогенезу), вміст яких збільшується під час дозрівання насінин (рис. 1 А, В (доріжки 8, 9)). Аналогічні результати було отримано Carvalho et al., які показали нагромадження транскриптів VuDEF, дефензину із *Vigna unguiculata*, в процесі розвитку насінини з 18 дня після запліднення і до стадії сухої насінини [6]. Натомість *PsDef2*, подібно до своїх ортологів PgD1 і SPI1, в насінні не транскрибується (рис. 1 В (доріжки 8, 9)). Отже, експресія *PsDef2* відбувається лише на певних стадіях онтогенетичного розвитку сосни. Результати цього дослідження разом із вище наведеними доказами свідчать, що внаслідок дозрівання насіння сосни відбувається нагромадження продуктів експресії гена *PsDef1* на рівні мРНК і протеїну, що підтверджує участь дефензинів у протимікробному захисті насіння хвойних рослин.

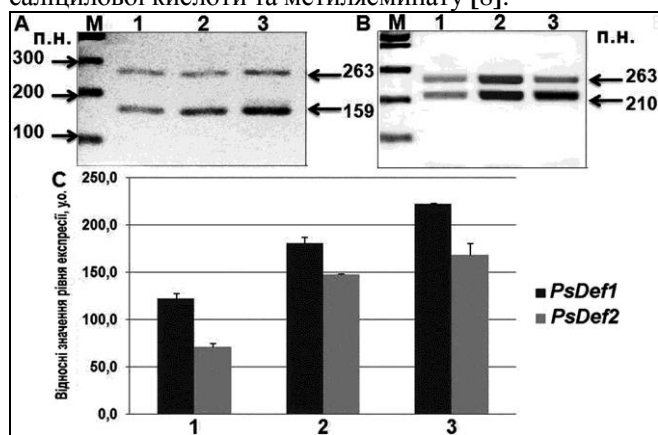


**Рис. 2.** Напівкількісний ЗТ-ПЛР-аналіз експресії *PsDef1* (А) і *PsDef2* (Б) у генеративних органах сосни звичайної: 1 – макростробіла; 2 – мікростробіла; 3 – пилочка. М – маркери GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder (Fermentas, Литва). Справа стрілками вказано продукти ПЛР: 159 п.н. – *PsDef1*; 210 п.н. – *PsDef2*; 263 п.н. – "house-keeping" ген 60S RP L44. (С) Значення рівня експресії *PsDef1* і *PsDef2* у генеративних органах сосни, перераховані відносно 60S RP L44

Подібно до дефензинів ссавців, які експресуються у епітеліальних клітинах репродуктивних органів, рослинні дефензини знайдено в епідермальних клітинах чашолистків та пелюсток, в кортикальних клітинах стовпчика та зв'язувальних клітинах пилляків квіткових рослин. На сьогодні отримано докази, що у генеративних органах покритонасінних дефензини виконують не тільки захисну функцію, але й залучені до процесу запліднення у рослин [14]. Зокрема, вони виконують функцію хемоатрактантів, які скеровують ріст пилкової трубки до яйцеклітини, а також відкривають її калієві канали, що приводить до розриву трубки і вивільнення сперматозоїдів [5]. Ми виявили високий рівень експресії *PsDef1* у макростробілах сосни, що сформувалися на вегетативних пагонах поточного року (рис. 2 А, В

(доріжка 1), який у 40 разів був вищим за рівень експресії *PsDef2*. Невисокий вміст транскриптів *PsDef1* і *PsDef2* виявлено в мікростробілах (рис. 2 А-С (доріжка 2), у пилку сосни знайдено лише транскрипт *PsDef1*, а продукт гена *PsDef2* не визначався навіть після 45 циклів ПЛР (рис. 2 В (доріжка 3). За даними С. Махневої [3], пилок сосни звичайної володіє фунгіцидною активністю, яка, ймовірно, зумовлена присутністю у ньому дефензину 1, який є сильним протигрибковим антибіотиком [10]. Отже, у генеративних органах сосни звичайної транскрибуються гени дефензинів, які, ймовірно, подібно до своїх ортологів із квіткових рослин, залучені до процесу запліднення у хвойних рослин.

Відомо, що експресія генів дефензинів індукується такими чинниками, як саліцилова (СК), ясинова (ЯК) та абсцизова кислоти, етилен (ЕТ), пероксид гідрогену, елісаторними молекулами патогенів тощо. Оброблення шестидобових проростків сосни звичайної стресовими гормонами СК або ЯК призводила до збільшення вмісту транскриптів *PsDef1* і *PsDef2* порівняно із контрольною групою (рис. 3). Внаслідок екзогенної дії саліцилової кислоти відносне значення рівня експресії *PsDef1* у проростках збільшувалось на 27 %, а *PsDef2* – на 55 %, а внаслідок оброблення ясиноювою кислотою – на 75 і 110 % відповідно. Отже, регуляція експресії генів дефензинів сосни звичайної є подібною до такої гена дефензину CADEF1 із *Capsicum annuum*, вміст транскриптів якого істотно підвищувався у відповідь на дію саліцилової кислоти та метилясминату [8].



**Рис. 3.** Напівкількісний ЗТ-ПЛР-аналіз експресії *PsDef1* (А) і *PsDef2* (В) у 8-добових проростках сосни звичайної за дії саліцилової і ясиноювої кислот: 1 – 0,1 % етанол (контроль); 2 – 2 мкМ саліцилова кислота; 3 – 1 мМ ясинова кислота. М – маркери GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder (Fermentas, Литва). Справа стрілками вказано продукти ПЛР: 159 п.н. – *PsDef1*; 210 п.н. – *PsDef2*; 263 п.н. – "house-keeping" ген 60S RP L44. (С) Значення рівня експресії *PsDef1* і *PsDef2* у 8-добових проростках сосни звичайної, перераховані відносно 60S RP L44

Хоча СК- та ЯК/ЕТ-залежні сигнальні шляхи є здебільшого антагоністичними, але складно організована перехресна взаємодія між ними дає змогу рослинам досить чітко реагувати на чинники та визначати спектр і силу захисної відповіді. Відомо, що рівень стресових фітогормонів у тканинах рослин підвищується за дії різних форм абіотичного стресу (механічного пошкодження, надмірної інсоляції,

високо- та низькотемпературного стресу, водного дефіциту) та ураження фітопатогенними мікроорганізмами. Раніше ми показали, що внаслідок інфікування проростків сосни фітопатогенними грибами *Heterobasidion annosum* і *Fusarium oxysporum* рівень експресії дефензинів збільшувався [4]. Ймовірно, що і стресові абіотичні чинники довілля будуть спричиняти зміни у рівні експресії *PsDef1* і *PsDef2*.

**Висновки.** За допомогою напівкількісного ЗТ-ПЛР аналізу показано, що гени *PsDef1* і *PsDef2* конститутивно експресуються у тканинах вегетативних і генеративних органів сосни звичайної, які задіяні в природженому протигрибковому механізмі захисту *Pinus sylvestris* L. Відсутність транскриптів гена *PsDef2* у пилку і насінні вказує на його диференційовану експресію в онтогенезі сосни звичайної. Встановлено, що за екзогенної дії саліцилової та ясиноювої кислот підвищується рівень експресії обох генів дефензинів, що свідчить про залучення *PsDef1* і *PsDef2* до індукованих механізмів захисту за участю саліцилатного та ясинолатного сигналювання.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Ковальова В.А. Молекулярне клонування та характеристика дефензину 2 сосни звичайної / В.А. Ковальова, Р.Т. Гут // Цитология и генетика : междунар. научн. журнал. – 2008. – Т. 42, № 6. – С. 55-60.
2. Ковальова В.А. Дефензини в геномах рослин родини Pinaceae / В.А. Ковальова // Науковий вісник НЛТУ України : зб. наук.-техн. праць. – Львів : ПБВ НЛТУ України. – 2010. – Вип. 20.2. – С. 32-36.
3. Махнева С.Г. Состояние мужской генеративной системы сосны обыкновенной при техногенном загрязнении среды : автореф. дисс. на соискание учен. степени канд. биол. наук: спец. 03.00.16 – "Экология" / С.Г. Махнева. – Екатеринбург : Изд-во УГЛТУ, 2005. – 20 с.
4. Юсипович Ю.М. Вплив фітопатогенних грибів *Heterobasidion annosum* та *Fusarium oxysporum* на рівень експресії дефензинів в проростках *Pinus sylvestris* та *Picea abies* / Ю.М. Юсипович, Р.Т. Гут, В.А. Ковальова // Науковий вісник НЛТУ України : зб. наук.-техн. праць. – Львів : ПБВ НЛТУ України. – 2008. – Вип. 18.7. – С. 123-127.
5. Amien S. Defensin-like ZmES4 mediates pollen tube burst in maize via opening of the potassium channel KZM1 / S. Amien, I. Kliwer, M.L. Márton // PLoS Biol. – 2010. – Vol. 8, № 6: e1000388.
6. Carvalho A.O. Cloning and characterization of a cDNA encoding a cowpea seed defensin and analysis of its expression / A.O. Carvalho, G.A.S. Filho, B.S. Ferreira // Protein Pept. Lett. – 2006. – Vol. 13, № 10. – P. 1029-1036.
7. Chang S. A simple and efficient method for isolating RNA from pine trees / S. Chang, J. Puryear, J. Cairney // Plant Mol. Biol. Rep. – 1993. – Vol. 11, № 2. – P. 113-116.
8. Do H.M. Differential expression and in situ localization of a pepper defensin (CADEF1) gene in response to pathogen infection, abiotic elicitors and environmental stresses in *Capsicum annuum* / H.M. Do, S.C. Lee, H.W. Jung // Plant Sci. – 2004. – Vol. 166, № 5. – P. 1297-1305.
9. Fossdal C. The putative gymnosperm plant defensin polypeptide (SPI1) accumulates after seed germination, is not readily released, and the SPI1 levels are reduced in *Pythium dimorphum*-infected spruce roots / C. Fossdal, N. Nagy, P. Sharma // Plant Molecular Biology. – 2003. – Vol. 52, № 2. – P. 291-302.

10. Gout R. Inhibition of growth of the phytopathogenic organisms by Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) defensin / R. Gout, V. Kovalyova // *Sylwan*. – 2008. – Vol. 152, № 8. – P. 54-58.

11. Kovaleva V. Purification and molecular cloning of antimicrobial peptides from Scots pine seedlings / V. Kovaleva, R. Kiyamova, R. Cramer // *Peptides*. – 2009. – Vol. 30, № 12. – P. 2136-2143.

12. Kovaleva V. Recombinant expression, affinity purification and functional characterization of Scots pine defensin 1 / V. Kovaleva, H. Krynytskyi, I. Gout // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2011. – Vol. 89, № 4. – P. 1093-1101.

13. Kushmerick C. Functional and structural features of  $\gamma$ -zeationins, a new class of sodium channel blockers / C. Kushmerick, M.S. Castro, J.S. Cruz // *FEBS Lett.* – 1998. – Vol. 440, № 3. – P. 302-306.

14. Lay F.T. Isolation and properties of floral defensins from ornamental tobacco and petunia / F.T. Lay, F. Brugliera, M.A. Anderson // *Plant Physiology*. – 2003. – Vol. 131, № 3. – P. 1283-1293.

15. Pelegri P.B. Plant  $\gamma$ -thionins: novel insights on the mechanisms of actions of a multi-functional class of defense proteins / P.B. Pelegri, O.L. Franco // *Biochem. Cell. Biol.* – 2005. – Vol. 37, № 11. – P. 2239-2253.

16. Pervieux I. A spruce defensin showing strong antifungal activity and increased transcript accumulation after wounding and jasmonate treatments / I. Pervieux, M. Bourassa, F. Laurans // *Physiol. Mol. Plant Pathol.* – 2004. – Vol. 64, № 6. – P. 331-341.

17. Silverstein K.A.T. Genome organization of more than 300 defensin-like genes in *Arabidopsis* / K.A.T. Silverstein, M.A. Graham, T.D. Paape // *Plant Physiol.* – 2005. – Vol. 138, № 2. – P. 600-610.

18. Thomma B. Tissue-specific expression of plant defensin genes *PDF2.1* and *PDF2.2* in *Arabidopsis thaliana* / B. Thomma, W. Broekaert // *Plant Physiol. Biochem.* – 1998. – Vol. 36, № 7. – P. 533-537.

19. Thomma B. Plant defensins / B. Thomma, B. Cammue, K. Thevissen // *Planta*. – 2002. – Vol. 216, № 2. – P. 193-202.

20. Van Loon L.C. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants / L.C. Van Loon, M. Rep, C.M.J. Pieterse // *Annu Rev. Phytopathol.* – 2006. – Vol. 44. – P. 135-162.

21. Wijaya R. Defense proteins from seed of *Cassia fistula* include a lipid transfer protein homologue and a protease inhibitory plant defensin / R. Wijaya, G.M. Neumann, R. Condrón // *Plant Sci.* – 2000. – Vol. 159, № 2. – P. 243-55.

*P.T. Гут, Ю.М. Юсынович, В.А. Ковалева*

### ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ДЕФЕНЗИНОВ В РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНАХ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (*PINUS SYLVESTRIS* L.)

Исследована конститутивная экспрессия генов дефензинов *PsDef1* и *PsDef2* в вегетативных и генеративных органах 15-летней сосны обыкновенной, а также в семенах и проростках (корешки, гипокотили и семядоли). Определены продукты транскрипции генов *PsDef1* и *PsDef2* в хвое, коре, корнях, почках, микростробилах и макростробилах текущего года сосны обыкновенной на уровне мРНК. Показан дифференцированный характер экспрессии *PsDef2* в процессе онтогенеза сосны. Обнаружено повышение уровня экспрессии генов дефензинов в 8-дневных проростках *Pinus sylvestris* L. после обработки их салициловой и жасминовой кислотами.

**Ключевые слова:** дефензины, экспрессия, сосна обыкновенная, салицилат, жасминат.

*R.T. Gout, Yu.M. Yusypovich, V.A. Kovaleva*

### PATTERNS OF DEFENSIN GENE EXPRESSION IN DIFFERENT ORGANS OF SCOTS PINE (*PINUS SYLVESTRIS* L.)

Constitutive expression of defensin genes *PsDef1* and *PsDef2* in vegetative and generative organs of 15-year old Scots pine and also in seeds and seedlings (roots, hypocotyls and cotyledons) were studied. Transcriptional products of genes *PsDef1* and *PsDef2* in needles, bark, roots, buds, microstrobile and megastrobile of the current year on mRNA level were detected. It was shown *PsDef2* expression in Scots pine tissues process of ontogenesis. Defensin gene expression in *Pinus sylvestris* L. 8-days old seedlings is up-regulated by salicylate and jasmonate treatment.

**Keywords:** defensin, expression, Scots pine, salicylate, jasmonate.

