

УДК 581.1

ХОЛОДОВЫЙ СТРЕСС АКТИВИРУЕТ ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ АППАРАТА ТРАНСКРИПЦИИ ХЛОРОПЛАСТОВ У РАСТЕНИЙ *ARABIDOPSIS THALIANA*

© 2020 г. И. А. Бычков^{1,*}, Н. В. Кудрякова¹,
член-корреспондент РАН Вл. В. Кузнецов¹, В. В. Кузнецов¹

Поступило 22.05.2020 г.
После доработки 30.05.2020 г.
Принято к публикации 30.05.2020 г.

Изучены физиологические и молекулярные реакции растений *Arabidopsis thaliana* на холодный стресс. Воздействие низкой положительной температуры (4°C, 5 суток) вызывало снижение физиологических функций и активности ряда фотосинтетических генов с одновременной интенсивной экспрессией гена холодного стресса *COR15a*, продукт которого защищает хлоропласты. Впервые показано, что на фоне общего торможения физиологических функций в условиях гипотермии наблюдается усиление экспрессии большинства генов аппарата транскрипции хлоропластов. Это, очевидно, является одним из компенсаторных механизмов адаптации, направленных на поддержание клеточного гомеостаза и сохранение физиологических функций в условиях гипотермии.

Ключевые слова: гипотермия, хлоропласты, аппарат транскрипции, адаптация

DOI: 10.31857/S2686738920050066

Низкие положительные температуры понижают интенсивность протекания физиологических процессов и нарушают функционирование регуляторных систем у растений. В отличие от многих других живых организмов растения обладают высоким адаптивным потенциалом. В случае умеренной гипотермии (2–4°C) холодоустойчивые растения, одним из которых является *Arabidopsis thaliana*, способны к формированию защитных систем и повышению толерантности, что позволяет им в дальнейшем выживать на фоне действия отрицательных температур [1]. В основе адаптации растений к гипотермии лежит активация генов холодного стресса *COR* (cold-responsive genes), которые регулируются *транс*-факторами, взаимодействующими с С-повторами СВФ (С-repeat binding factors), и другими регуляторами транскрипции, индуцируемыми в ответ на понижение температуры. Быстрая экспрессия генов транскрипционных факторов обеспечивает изменение транскриптома и, как следствие, изменение клеточного метаболизма и физиологических функций.

Особое значение в условиях пониженной температуры имеет функционирование хлоропла-

стов, так как сохранение фотосинтетической активности при гипотермии является необходимым условием для поддержания жизнедеятельности организма. Функционирование хлоропластов обеспечивается координированной экспрессией пластидных и ядерных генов, характер взаимодействия которых в условиях гипотермии практически не изучен. Это относится в первую очередь к регуляции транскрипции, в частности к функционированию транскрипционного аппарата пластид.

Важнейшим этапом регуляции экспрессии пластидного генома является транскрипция. В пластидах есть два типа РНК-полимераз: фермент бактериального типа РЕР (Plastid Encoded Polymerase) и моносубъединичные РНК-полимеразы фагового типа NER (Nuclear Encoded Polymerase) [2]. У двудольных растений NER представлена двумя белками, которые поступают или в пластиды (РРОTr), или одновременно в митохондрии и пластиды (РРОТm). Для функционирования РЕР требуются сигма-факторы, которые обеспечивают правильное связывание РНК-полимераз с промоторами пластидных генов и инициацию их транскрипции. Кроме того, транскрипционный аппарат пластид включает и Ser/Thr-протеинкиназу (срСК2), которая, в зависимости от редокс-состояния компонентов электронотранспортной цепи хлоропласта, фосфорилирует субъединицы РЕР и сигма-факторы. В

¹ Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева
Российской академии наук, Москва, Россия

*e-mail: Ivan.a.b@mail.ru

Таблица 1. Изменение физиологических показателей у двухнедельных растений *A. thaliana*, выращенных при 22°C и подвергнутых гипотермии в течение 5 суток. Звездочками обозначены статистически достоверные различия между контрольными и опытными образцами согласно критерию Стьюдента (* – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$)

Измеряемые показатели	Температурный режим	
	22°C	4°C
Хлорофиллы (a+b), мг/г сырой массы	1.029 ± 0.039	0.905 ± 0.015*
Fv/Fm	0.827 ± 0.009	0.698 ± 0.014**
Выход электролитов, %	16.2 ± 1.8	25.0 ± 2.1*
Содержание МДА, мкМ/г сырой массы	2.157 ± 0.087	3.116 ± 0.083**
Содержание пролина, мМ/г сырой массы	0.480 ± 0.051	0.983 ± 0.092**

условиях освещения с комплексом PEP также ассоциированы 12 дополнительных PEP белков (PEP – associated proteins) [3]. За исключением коровых субъединиц PEP, ключевые белки аппарата транскрипции пластид кодируются ядерными генами.

Целью настоящей работы было изучение влияния гипотермического стресса на экспрессию генов аппарата транскрипции растений *Arabidopsis thaliana*. Впервые было показано, что, несмотря на падение активности экспрессии фотосинтетических генов, адаптация к пониженным температурам сопровождается усилением интенсивности экспрессии большинства изученных нами генов компонентов аппарата транскрипции пластид.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали растения *Arabidopsis thaliana* экотипа Columbia 0. Семена высевали в чашки Петри на агаризованную (0.5%) питательную среду Мурасиге и Скуга (МС) с половинной концентрацией минеральных солей. После холодной стратификации семян (4°C, 2 суток) растения выращивали две недели в камере фитотрона при 22°C, интенсивности освещения $75 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ и продолжительности светового периода 16 ч. Затем их переносили на бумажные фильтры, смоченные жидкой МС-средой, и либо оставляли в камере фитотрона (контроль) при 22°C, либо помещали в климатическую камеру MLR-352H-PE (Sanyo, Япония) на пять суток при 4°C. Условия освещения не изменялись.

Для оценки физиологического состояния проростков определены следующие показатели. Содержание хлорофиллов измеряли по методу Lichtenthaler [4]. Оценку содержания малонового диальдегида проводили по методу Heath и Packer

[5]. Измерение пролина проводили по методу Bates с соавторами [6]. Выход электролитов оценивали согласно Camros с соавторами [7]. Максимальный потенциальный квантовый выход фотосистемы II (Fv/Fm) измеряли с помощью флуориметра DUAL-PAM-100 (Walz, Германия), как описано у Козулевой с соавторами [8]. Относительный уровень транскриптов генов оценивали методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (RT-PCR) после обратной транскрипции с использованием готовой реакционной смеси, содержащей флуоресцентный краситель SYBR Green I (“Евроген”, Россия) на приборе LightCycler 96 (Roche, Швейцария). По окончании амплификации для подтверждения специфичности праймеров проводили процедуру плавления [9].

Информация о последовательности праймеров к изучаемым генам приведена в табл. 3. Все эксперименты проводились не менее чем в 3-кратной повторности. Статистическая обработка проводилась согласно критерию Стьюдента (*t*-test) [10].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Растения арабидопсиса в условиях гипотермии (4°C, 5 суток) испытывали состояние стресса. Об этом свидетельствует развитие окислительного стресса, показателем которого является увеличение уровня малонового диальдегида и усиление выхода электролитов из тканей, что свидетельствует о нарушении целостности клеточных мембран (табл. 1). Кроме того, понижались фотосинтетические показатели, в частности, уменьшалось содержание хлорофиллов, и падала фотохимическая активность фотосистемы II, о чем свидетельствовало снижение показателя максимального потенциального квантового выхода (Fv/Fm). Параллельно снижался уровень транскриптов ряда хлоропластных и ядерных генов, участвующих в фотосинтетических процессах (табл. 2). В том числе уменьшалось содержание транскриптов ядерных генов *CAB2* и *LHCb2*, продукты которых участвуют в функционировании светособирающего комплекса второй фотосистемы. Примерно в два раза снижалась экспрессия пластидных генов, кодирующих структурные белки первой и второй фотосистем – *psaB* и *psbD*, соответственно, и гена большой субъединицы рибулозобисфосфаткарбоксилазы (*rbcL*) – фермента цикла Кальвина. Таким образом, наряду с окислительным повреждением клеток гипотермия вызвала значительное снижение эффективности фотосинтеза, вероятно, за счет ингибирования экспрессии фотосинтетических генов.

В ответ на холодное повреждение растений наблюдалась активация молекулярных механизмов, направленных на стабилизацию клеточного метаболизма и сохранение физиологических функций в условиях гипотермии. Прежде всего,

повышался уровень экспрессии гена *COR15a*, продукт которого защищает белки стромы от агрегации, тем самым повышая устойчивость хлоропластов (табл. 2) [11]. Более чем в два раза возросло содержание пролина – универсального стресс-протекторного соединения, проявляющего свойства химического шаперона и антиоксиданта (табл. 1).

Особый интерес вызывает тот факт, что, одновременно с падением уровня экспрессии пластидных фотосинтетических генов, процесс адаптации к холоду сопровождался повышением активности большинства генов аппарата транскрипции хлоропластов (табл. 2). Параллельно с некоторым ростом экспрессии генов *rpoA* и *rpoB*, кодирующих α - и β -субъединицы РЕР, наблюдалась активация генов обеих полимераз NEP и всех PAP-белков, а также гена *cpCK2* и трех из шести генов сигма-факторов: *SIG1*, *SIG2*, *SIG6*.

Индукцированные в условиях гипотермии гены сигма-факторов непосредственно связаны с процессами фотосинтеза. Так, *SIG2* и *SIG6* участвуют в регуляции синтеза хлорофилла, а *SIG5* непосредственно участвует в транскрипции *psbD* гена, кроме того, *SIG2* вовлечен в светозависимую координацию передачи сигналов от пластиды к ядру [12]. *SIG1* принимает участие в обеспечении электронного транспорта в фотосистемах, который существенно снижается под воздействием холода, что приводит к накоплению АФК и вызывает окислительное повреждение клеток [13]. Примечательно, что белки PAP, гены которых активировались при гипотермии (*PAP3*, 4, 6, 9, 10) в наибольшей степени, участвуют в защите клеточных мембран от активных форм кислорода, что также может свидетельствовать об адаптационной направленности экспрессии изучаемых генов.

Воздействие холода замедляет большинство процессов роста и развития растений, снижая, в том числе, расход энергии [14]. Сохранение фотосинтетической активности при гипотермии является критически важным для поддержания жизнедеятельности организма. При этом падение активности фотосинтетических генов и одновременное усиление экспрессии генов аппарата транскрипции на фоне гипотермии может объясняться своего рода “балансированием” между энергозатратными реакциями адаптации и поддержанием фотосинтетической функции при общем снижении метаболических процессов. Функционирование пластид и митохондрий в условиях гипотермии сопровождалось ростом экспрессии генов NEP, что, возможно, связано со способностью этих полимераз, функционирующих на ранних этапах онтогенеза, активироваться стресс-зависимым путем у взрослых растений [15] и обеспечивать тем самым повышение уровней транскрипции ге-

Таблица 2. Изменение уровня транскриптов хлоропластных и ядерных генов у двухнедельных растений *A. thaliana*, выращенных при 22°C и подвергнутых гипотермии в течение 5 суток. Значения нормированы относительно контроля. Звездочками обозначены статистически достоверные различия между контрольными и опытными образцами согласно критерию Стьюдента (* – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$)

Гены	Температурный режим	
	22°C	4°C
<i>RPOTp</i>	1.000 ± 0.045	4.709 ± 0.314**
<i>RPOTmp</i>	1.000 ± 0.051	9.145 ± 0.412**
<i>cpCK2</i>	1.000 ± 0.069	1.785 ± 0.122*
<i>PAP1</i>	1.000 ± 0.104	2.447 ± 0.220*
<i>PAP2</i>	1.000 ± 0.053	2.274 ± 0.115**
<i>PAP3</i>	1.000 ± 0.073	6.014 ± 0.219**
<i>PAP4</i>	1.000 ± 0.054	7.615 ± 0.411**
<i>PAP5</i>	1.000 ± 0.038	4.936 ± 0.147**
<i>PAP6</i>	1.000 ± 0.044	5.647 ± 0.356**
<i>PAP7</i>	1.000 ± 0.039	2.695 ± 0.079**
<i>PAP8</i>	1.000 ± 0.057	4.742 ± 0.241**
<i>PAP9</i>	1.000 ± 0.089	11.360 ± 0.710**
<i>PAP10</i>	1.000 ± 0.053	4.613 ± 0.215**
<i>PAP11</i>	1.000 ± 0.049	3.952 ± 0.301**
<i>PAP12</i>	1.000 ± 0.056	3.019 ± 0.107**
<i>SIG1</i>	1.000 ± 0.128	2.479 ± 0.315*
<i>SIG2</i>	1.000 ± 0.048	1.853 ± 0.057**
<i>SIG3</i>	1.000 ± 0.069	1.050 ± 0.071
<i>SIG4</i>	1.000 ± 0.064	0.827 ± 0.053
<i>SIG5</i>	1.000 ± 0.044	3.256 ± 0.311
<i>SIG6</i>	1.000 ± 0.093	2.428 ± 0.185*
<i>rpoA</i>	1.000 ± 0.051	1.489 ± 0.069*
<i>rpoB</i>	1.000 ± 0.041	1.687 ± 0.073*
<i>rbcL</i>	1.000 ± 0.077	0.451 ± 0.028*
<i>psbD</i>	1.000 ± 0.042	0.410 ± 0.019**
<i>psaB</i>	1.000 ± 0.056	0.497 ± 0.025*
<i>LHCB2</i>	1.000 ± 0.047	0.111 ± 0.009**
<i>CAB2</i>	1.000 ± 0.073	0.349 ± 0.024*
<i>COR15a</i>	1.000 ± 0.045	83.011 ± 3.134**

нов “домашнего хозяйства”. Анализ *in silico* промоторных областей генов NEP полимераз с помощью программного онлайн ресурса AthaMap позволяет предположить наличие в них сайтов связывания целого ряда *транс*-факторов, непосредственно индуцируемых гипотермией или активируемых СВФ [16]. В пределах последовательности в 500 п.н., в направлении 5'-конца от стартового кодона ATG, которая составляет эффективную длину промотора для большинства генов *Arabidopsis*, были

Таблица 3. Праймеры, использованные для количественного анализа ПЦР в реальном времени

Ген	Локус	Прямой праймер (5'-3')	Обратный праймер (3'-5')
<i>RPOTp</i>	At2g24120	ttgctgctgcttctattctgc	gсасаатсассаагссааct
<i>RPOTmp</i>	At5g15700	cgtttctctatttagactttcctc	ccttctctctgctgctgctctgt
<i>срСК2</i>	AT2G23070	tcttttatggccatgacaact	ctgttggcctttcttgg
<i>PAP1</i>	At3g04260	tgagagtggaggagattacgga	ccatcttgctgctgctttcg
<i>PAP2</i>	At1g74850	cggggacagttggagaaaagc	gacctccattccatcccgtga
<i>PAP3</i>	At3g48500	ggaaaggcaatgtgtggatga	aagagggtgctgttccgagtaa
<i>PAP4</i>	A45g23310	atcaaggctacatacaacaacggga	aacaaaaatcctatcaatctgctcaa
<i>PAP5</i>	At2g34640	atcggttatggatttcagag	ttctcttttgcagtagtctcat
<i>PAP6</i>	At3g54090	ggcggagactgtgaaagaacca	gtattgссgтаааааgagttagtgс
<i>PAP7</i>	At4g20130	tatggcggttagtatggcacag	cagcatttgacataacctccagca
<i>PAP8</i>	At1g21600	cactgaaccacctattgatcccc	gaactctggctctggtagtgactt
<i>PAP9</i>	At5g5110	gcagtaaatccgctcgtatggg	catcttctgctctgttcttctgttct
<i>PAP10</i>	At3g06730	agggtccgttgattggtgat	ggactgatgagaataatgtaggтаас
<i>PAP11</i>	At5G63680	cgttgtgctgttgctatgggtg	tgcttcccгacattctctctg
<i>PAP12</i>	At5G24314	agagagatgataatggacgссg	tgctattaccctcccaacttctctt
<i>SIG1</i>	At1G64860	cattgсгgatactcgtttgg	cccgttctccgagtgttgc
<i>SIG2</i>	At1G08540	tcttctctgcttcatcatccgc	ctgctgctgctacaactactgctt
<i>SIG3</i>	At3G53920	ggaggtcгagtggacagct	ttctctccatgctccgссact
<i>SIG4</i>	At5G13730	tcacgaggattcгagagaggta	gctatcaaccactctatccactg
<i>SIG5</i>	At5g24120	agatgttgatgggttggagc	gactcttcttсгgcttcaatg
<i>SIG6</i>	At2g36990	tcgссtattgttggttcgc	gggctgataatgatgatgсg
<i>rpoA</i>	ArthCp055	cgccaagtaaaгctctctcgc	aaggccaagccгacacaata
<i>rpoB</i>	ArthCp014	atgagcaacaccaaaccсct	gggtaggcгaaatggaggtt
<i>rbcL</i>	AtCg00490	cgggctacatgсgaagaaatga	tctcгgtcaaaгcгgгcата
<i>psbD</i>	AtCg00270	ggatgactggttacгgгagg	ggtgtacctgtgaaсcaacc
<i>psaB</i>	AtCg00340	ctcaggacccccactactcgt	ttgcccгaaatgagaagc
<i>LHCB2</i>	AT3G27690	ccaacgatctcctccгcaaa	agacttgacгgttacгacгca
<i>CAB2</i>	At1G29920	tcaagtttgгagaggcagttt	gтаacctcaacгgctcccat
<i>COR15a</i>	AT2G42540	aacгaggccacaааgaaгc	cagcttctttaccaatgtatctgc
<i>UBQ</i>	At4G05320	gсgtctctggtggttctaa	gaaagagataaacгgгaacгgгaaaca

идентифицированы *цис*-элементы для таких *транс*-факторов как ATH12, CBF, MYB111, RAP2.6, RAV1, WRKY18, ZAT6. Все эти *транс*-факторы активируют транскрипцию генов *COR* в ответ на падение температуры [17]. *Цис*-элементы для индуцируемых холодом *транс*-факторов присутствовали и в промоторах ряда других генов, кодирующих аппарат транскрипции пластид. Однако для получения доказательств их прямого участия в реакциях адаптации необходимо подтвердить взаимодействие *транс*-факторов с *цис*-элементами промоторных областей этих генов *in vivo*.

Таким образом, гипотермия вызывала развитие стресса у растений, что проявлялось в усилении окислительного стресса, повреждении це-

лостности клеточных мембран, ингибировании большой группы фотосинтетических генов и снижении фотохимической активности фотосистемы II. Одновременно активировались защитные системы, такие, как аккумуляция стресс-протекторных соединений (пролин) и многократная активация экспрессии *COR15a* гена, обеспечивающего защиту хлоропластов при гипотермии. Процесс адаптации растений к холоду сопровождался повышением активности большинства генов аппарата транскрипции хлоропластов (*rpoA* и *rpoB*, генов обеих полимераз *NEP*, PAP-белков, *срСК2*, *SIG1*, *SIG2*, *SIG5*, *SIG6*). Отдельные компоненты аппарата транскрипции принимают непосредственное участие в стресс-протекторных реакциях и поддержании процесса фотосинтеза на минимально-необходимом уровне. Подобная ак-

тивация генов транскрипционного аппарата хлоропластов может рассматриваться как компенсаторный механизм адаптации, направленный на поддержание клеточного гомеостаза и сохранение физиологических функций в условиях гипотермии. Нельзя также исключать, что наблюдаемая активация генов транскрипционного аппарата может повышать жизнеспособность растений на этапе восстановления растений после перенесенного стресса.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы утверждают об отсутствии конфликтов интересов.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 20-14-00065).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Yadav S.K.* // *Agron. Sustain. Dev.* 2010. V. 30. P. 515–527.
<https://doi.org/10.1051/agro/2009050>
2. *Kusnetsov V.V.* // *Russ. J. Plant Physiol.* 2018. V. 65. P. 465–476.
<https://doi.org/10.1134/S1021443718030044>
3. *Pfannschmidt T., Blanvillain R., Merendino L., et al.* // *J. Exp. Bot.* 2015. V. 66. P. 6957–6973.
<https://doi.org/10.1093/jxb/erv415>
4. *Lichtenthaler H.K.* // *Meth. Enzymol.* 1987. V. 148. P. 350–382.
[https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)
5. *Heath L.R., Packer L.* // *Arch. Biochem. Biophys.* 1968. V. 125. P. 189–198.
[https://doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90654-1](https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1)
6. *Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D.* // *Plant Soil.* 1973. V. 39. P. 205–207.
<https://doi.org/10.1007/BF00018060>
7. *Campos P.S., Quartin V., Ramalho J.C. et al.* // *J. Plant Physiol.* 2003. V. 160. P. 283–292.
<https://doi.org/10.1078/0176-1617-00833>
8. *Kozuleva M. A., Lysenko E. A., Klaus A. A. et al.* // *Doklady Biochemistry and Biophysics.* 2017. V. 472. P. 71–73.
<https://doi.org/10.1134/S1607672917010215>
9. *Danilova M.N., Kudryakova N.V., Voronin P.Yu. et al.* // *Russ. J. Plant Physiol.* 2014. V. 61. P. 434–442.
<https://doi.org/10.1134/S1021443714040062>
10. *Student* // *Biometrika.* 1908. V. 6. P. 1–25.
<https://doi.org/10.1093/biomet/6.1.1>
11. *Thalhammer A., Bryant G., Sulpice I. R. et al.* // *Plant Physiology.* 2014. V. 166. P. 190–201.
<https://doi.org/10.1104/pp.114.245399>
12. *Mochizuki N., Brusslan J.A., Larkin R.* // *Plant Biology.* 2001. V. 98. № 4. P. 2053–2058.
<https://doi.org/10.1073/pnas.98.4.2053>
13. *Zhao Y., Han Q., Ding C. et al.* // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. 1390.
<https://doi.org/10.3390/ijms21041390>
14. *Armstrong A.F., Wardlaw K.D., Atkin O.K.* // *Plant Cell Environ.* 2007. V. 30. № 12. P. 1513–1522.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2007.01738.x>
15. *Lerbs-Mache S.* // *Plant Mol. Biol.* 2011. V. 76. P. 235–249.
<https://doi.org/10.1007/s11103-010-9714-4>
16. *Steffens N.O., Galuschka Schindler M., et al.* // *Nucleic Acids Res.* 2004. V. 32. P. 368–372.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkh017>
17. *Park S., Lee C.M., Doherty C.J. et al.* // *Plant J.* 2015. V. 82. P. 193–207.
<https://doi.org/10.1111/tpj.12796>

COLD STRESS ACTIVATES THE EXPRESSION OF GENES OF THE CHLOROPLAST TRANSCRIPTION APPARATUS IN ARABIDOPSIS THALIANA PLANTS

I. A. Bychkov^{a, #}, N. V. Kudryakova^a,

Corresponding Member of the RAS V. V. Kuznetsov^a, and V. V. Kusnetsov^a

^a *Timiryazev Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation*

[#]*e-mail: Ivan.a.b@mail.ru*

The physiological and molecular responses of *Arabidopsis thaliana* plants to cold stress were studied. Exposure to a low, non-freezing temperature (4°C, 5 days) caused a decrease in the physiological functions and activity of a number of photosynthetic genes and elevation of expression of the cold stress gene *COR15a*, the product of which protects chloroplasts. It was shown for the first time that in parallel to a general inhibition of physiological functions under hypothermia, an increase of the expression of most genes for the chloroplast transcription apparatus was observed. This is obviously one of the compensatory mechanisms of adaptation aimed to maintain cellular homeostasis and physiological functions under hypothermia.

Keywords: hypothermia, chloroplasts, transcription apparatus, adaptation