

УДК 581.1

ДЕГИДРИНЫ В ОРТОДОКСАЛЬНЫХ И РЕКАЛЬЦИТРАНТНЫХ СЕМЕНАХ

© 2020 г. М. И. Азаркович*

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

*e-mail: m-azarkovich@mail.ru

Поступила в редакцию 04.07.2019 г.

После доработки 31.07.2019 г.

Принята к публикации 31.07.2019 г.

Дегидрины представляют собой сложное семейство гидрофильных термоустойчивых белков с недостаточно хорошо изученными свойствами и функциями. Они накапливаются в тканях растения в ответ на любой внешний стимул, который приводит к обезвоживанию клетки. Такие стимулы могут возникать при засухе, солевом стрессе, воздействии низких температур, в ответ на обработку гормонами, а также в процессе созревания семян. Дегидрины идентифицированы в клетках цианобактерий, в тканях голо- и покрытосеменных растений, в травянистых и древесных видах, в вегетативных органах, в различных тканях зародышей семян. Они рассматриваются как ключевой элемент устойчивости или толерантности к дегидратации. Семена растений представляют особый интерес для исследования этой группы белков. В устойчивых к дегидратации ортодоксальных семенах дегидрины синтезируются и накапливаются на заключительных этапах созревания, которое сопровождается высушиванием семян. Рекальцитрантные (неустойчивые к дегидратации) семена не высушаются при созревании, сохраняя в зрелом состоянии высокую влажность и активный метаболизм. Рекальцитрантные семена способны продуцировать дегидрины, но при этом остаются чувствительными к потере воды и не могут противостоять глубокому обезвоживанию, как это делают семена ортодоксального типа. В обзоре рассматриваются основные свойства и функции дегидринов, их структура и классификация, распространение, внутриклеточная локализация; на основании литературных и собственных экспериментальных данных обсуждается роль дегидринов в рекальцитрантных семенах.

Ключевые слова: рекальцитрантные семена, дегидрины, стресс-индуцируемые белки, термостабильные белки

DOI: 10.31857/S0015330320020025

ПРИЧИНЫ ДЕГИДРАТАЦИИ РАСТЕНИЙ

Вода является главным компонентом всего живого, составляющим около 90% сырого веса у большинства травянистых растений. Снижение содержания воды ниже этого уровня приводит к изменениям или повреждениям многих метаболических процессов.

Существует несколько внешних причин, приводящих к дефициту воды у растений. Дегидратация клеток наблюдается при водном, осмотическом (например, солевом) стрессе [1]; при холодовом стрессе в результате снижения физиологической активности корней [2, с. 34–35], а также из-за выхода воды из клеток в межклетники [1, 2, с. 89, 94–95] при температуре замерзания. И, наконец, в ортодоксальных семенах (т.е., устойчивых к дегид-

ратации) высушивание зародыша является нормальной частью процесса созревания [3, с. 60–67, 69–73]. На основе сходства проявлений на клеточном уровне различных внешних стрессов, включающих засуху и замораживание, а также явления перекрестной адаптации, когда один стресс может защитить от другого, было выдвинуто положение о том, что растения могут обладать общими механизмами устойчивости к любому стрессу, который приводит к обезвоживанию протопласта [4, 5].

На биохимическом уровне ответ растений на обезвоживающий стресс проявляется в накоплении “замещающих веществ”, экспрессии генов, изменении активности ферментов и биосинтеза абсцизовой кислоты (АБК). Изменения в экспрессии генов касаются сигнальных-передающих белков, протеаз и их ингибиторов, белков клеточных стенок, цитоскелета, ДНК-связывающих белков, ферментов липидного и углеводного обмена, биосинтеза “замещающих” растворимых веществ и различных белков с неизвестными функциями,

Сокращения: АБК – абсцизовая кислота, LEA-белки – белки позднего эмбриогенеза, SDS-электрофорез – электрофорез в денатурирующих условиях, ПААГ – полиакриламидный гель.

включая белки позднего эмбриогенеза, или LEA-белки [3, с. 64; 4, 6].

Таким образом, в результате действия многих внешних стрессов клетки растений претерпевают дегидратацию, вследствие чего создаются условия для универсального ответа в виде накопления у различных растений сходных стресс-индуцируемых белков.

ЧТО ТАКОЕ LEA-БЕЛКИ И ДЕГИДРИНЫ?

Преобладающие белки позднего эмбриогенеза, или LEA-белки (*от англ.*: Late Embryogenesis Abundant), были впервые идентифицированы Duge с соавт. [7] при исследовании изменений или сдвигов популяции белков и мРНК в семядолях семян хлопчатника в процессе созревания. Были описаны 18 различающихся между собой семейств белков с разными, а иногда и неизвестными свойствами и функциями [7]. Большинство семейств LEA-белков были позже идентифицированы во многих других растительных системах. В настоящее время считается, что все семейства LEA-белков могут продуцироваться во всех растениях [8–10]. По мнению авторов многих обзоров по LEA-белкам, ученые уже находятся на уровне понимания биохимии этих белков, но еще далеки от понимания их функций [9, 11, 12]. Несмотря на гетерогенность на уровне белков, общим свойством LEA-транскриптов является их координированное накопление во время фазы дегидратации в созревающих семенах и других частях растений, подвергающихся обезвоживанию.

К наиболее многочисленной и исследованной группе среди индуцируемых обезвоживанием водорастворимых белков относятся дегидрины. Термин “дегидрины” (*англ.*: dehydrins – dehydration induced) был предложен для обозначения D-11 семейства или II-группы LEA-белков [13]. LEA-белки и дегидрины индуцируются в ответ на осмотический, холодовой, солевой стресс, а также на обработку АБК [14–17]. Одним из первых дегидринов, описанных в семенах, был D-11 – белок, накапливающийся в зародышах хлопчатника [18]. В семенах дегидрины называли также RAB-белками (*от англ.*: Responsive to Abscisic Acid) [14, 19]. Обнаружение дегидринов у цианобактерий [20] говорит о древности этих белков, а также указывает на их важность для клеток растений, в которых дегидрины сохраняются в процессе эволюции.

Все дегидрины представляют собой гидрофильные, богатые глицином водорастворимые белки, устойчивые к тепловой денатурации. Дегидрины обогащены глицином и полярными аминокислотами, но содержат мало гидрофобных неполярных аминокислот. Дегидрины различаются по своим размерам. Их молекулярные массы, оцениваемые по SDS-электрофорезу, варьируют от 9 кД для де-

гидрина риса WCI–24 [21] до 200 кД для дегидринов пшеницы WSC200 [22]. Некоторые авторы считают, что оценка по SDS-электрофорезу дает завышенные размеры молекулярных масс, так как термостабильные дегидрины являются структурно неупорядоченными белками (*англ.*: Intrinsically Disordered Proteins – IDPs) [23, 24] и имеют больший гидродинамический радиус, чем глобулярные белки, что замедляет их движение при миграции в ПААГ (аномальная миграция).

Дегидрины обладают рядом специфических структурных особенностей, которые легли в основу их классификации. Первые данные о полной аминокислотной последовательности были получены для дегидрина риса RAB-21 [15], а также D-11 хлопчатника [18]. В результате полного секвенирования многих дегидринов составлено представление о распространении этих белков и возможности их классификации. Установлено, что по своей аминокислотной последовательности дегидрины не имеют сходства ни с одним из исследованных ферментов.

Для дегидринов характерно наличие высококонсервативной лизин-богатой консенсусной последовательности из 15 аминокислот – EKKGIMDKIKEKLPG, которая для удобства обозначается как K-сегмент [16, 25]. Число K-сегментов варьирует от 1 до 11 копий в исследованных образцах дегидринов. Предполагается, что при уменьшении оводненности K-сегмент дегидринов может участвовать в образовании амфифильной α -спирали. При этом отрицательно заряженные аминокислоты (с кислым pI), такие как аспарагиновая кислота (D) и фенилаланин (F), лежат на одной стороне спирали, гидрофобные (неполярные, такие, как изолейцин (I) и лейцин (L)) лежат на противоположной стороне, а положительно заряженные (с щелочным pI – лизин (K) и аргинин (R)) – в интерфазе между полярными и неполярными аминокислотами [26]. Таким образом, роль K-сегмента может сводиться к образованию гидрофобных взаимодействий дегидринов с частично денатурированными белками цитоплазмы или мембран. K-сегмент присутствует во всех исследованных дегидринах, и в настоящее время белки, содержащие K-сегмент, относят к дегидринам [8]. Именно этот мотив, общий для всех дегидринов, был использован для получения антител на дегидрины [8, 11, 25].

Многие дегидрины содержат цепочку сериновых остатков, от 4 до 10, являющихся частью консервативной последовательности LHRSGS4-10(E/D)3, обозначаемой как S-сегмент [6, 8, 11]. Еще одна консервативная последовательность аминокислот (V/T)DEYNP, или Y-сегмент, находится вблизи N-концевого участка большинства дегидринов. Тирозин-богатый Y-сегмент имеет значительный участок последовательности, родственной нук-

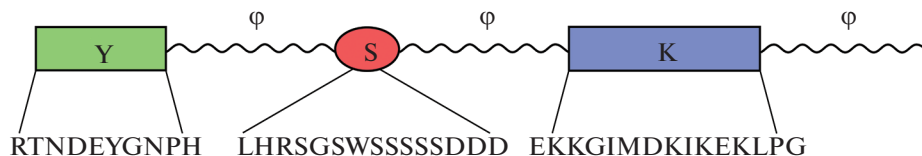


Рис. 1. Общая схема дегидринов.

леотид-связывающему участку белков-шаперонов растений и бактерий [6]. Обозначение “YSK” было использовано для описания различных типов дегидринов, которые различаются количеством копий указанных сегментов (рис. 1). Таким образом, можно выделить 5 типов дегидринов: K_n , SK_n , K_nS , Y_mK_n , Y_mSK_n .

Большинство исследованных дегидринов относится к типу Y_nSK_2 ($n = 1-3$). Этот тип дегидринов индуцируется дегидратацией клеток [23]. Дегидрины K_n -типа содержат от одной до одиннадцати копий K-сегмента, не содержат Y- и S-сегментов и строго индуцируются холодом [23]. Тип K_nS содержит K-сегмент в количестве 1–3. Дегидрины этого типа индуцируются как холодом, так и дегидратацией [23].

Биоинформатическими методами было идентифицировано 426 дегидриновых последовательностей в 53 геномах покрытосеменных и 3 геномах голосеменных растений [27]. Было показано, что покрытосеменные содержат все пять типов дегидринов (K_n , SK_n , K_nS , Y_mK_n , Y_mSK_n), тогда как голосеменные – только K_n - и SK_n -типы. Авторы предполагают, что древние дегидрины семенных растений содержали только K_n - и SK_n -мотивы, а дегидрины, содержащие Y-сегмент, появились впервые у покрытосеменных растений [27].

Все аминокислотные последовательности между Y-, S-, и K-сегментами называют Φ -сегментом [23]. Длина и аминокислотный состав Φ -сегментов значительно варьируют. Φ -сегменты обогащены глицином (17% от общих аминокислотных остатков Φ -сегментов), глутаминовой кислотой (11%), треонином (10%), тогда как фенилаланин, цистеин и триптофан в сумме составляют менее 2% [23]. По-видимому, именно гибкость Φ -сегментов позволяет молекулам дегидринов более тесно взаимодействовать с различными белковыми молекулами и защищать их от абиотических стрессов [23, 26]. Многие дегидрины содержат повторы гистидиновых остатков для контроля гомодимеризации [28, 29], а также заряженные сегменты, участвующие в переносе молекулы дегидрина в ядро и связывании с ДНК [30, 31].

В последнее время выделяют еще один 11-членный консервативный мотив DRGLDFDLGKK, характерный для хвойных и многих покрытосеменных растений [32]. По двум центральным остаткам

фенилаланина этот мотив предлагается называть F-сегментом. Соответственно, SK_n -дегидрины предлагается классифицировать как FSK_n -дегидрины [32]. Следует отметить, что у покрытосеменных обнаруживаются как SK_n -, так и FSK_n -дегидрины, в то время как у голосеменных SK_n -дегидрины отсутствуют, присутствуют только FSK_n [32].

Результаты субклеточного фракционирования и иммулокализации показывают присутствие дегидринов практически во всех клеточных компартментах: цитоплазме, ядре [32], вакуоли, хлоропластах, митохондриях, эндоплазматическом ретикулуме, плазматической мембране [19, 24, 33–35]. Установлено, что переходу дегидринов из цитоплазмы в ядро способствует фосфорилирование S-сегмента его молекулы киназой 2 [36, 37]. В семенах араукарии (*Araucaria angustifolia*) дегидрины обнаружены с помощью иммуноблоттинга и иммунолокализации *in situ* во всех тканях зародышевых осей и семядолей, причем наибольшая концентрация дегидринов наблюдалась в клетках стеблевой апикальной меристемы [38]. Дегидрины были найдены в ядрах, белковых телах, микротельцах (предположительно, пероксиосомах) – предполагается, что такое широкое распределение дегидринов по всей клетке способствует их универсальному защитному действию на клеточном уровне [38].

В настоящее время хорошо известно, что в нативном состоянии дегидрины не имеют упорядоченной вторичной структуры и находятся в развернутой (“unfolded”) форме [6, 9, 11, 23, 39–41]. Эта структурная особенность может объяснять главные свойства дегидринов – их значительную термостойчивость и высокотемпературную растворимость, поскольку термокоагуляция происходит в результате внутримолекулярных взаимодействий между гидрофобными участками белка.

Ferreira с соавт. [42] показали, что дегидрины оказывают влияние на такие свойства воды, как образование диполей/поляризация; способность быть донором водородных связей, подкисляя среду, и способность акцептировать водородные связи, подщелачивая среду. Авторы предполагают, что изменение указанных свойств воды как растворителя может вносить вклад в механизмы защитного действия этих белков. По сравнению с полиэтиленгликолем (ПЭГ), дегидрины более эффективно

Таблица 1. Некоторые свойства дегидринов, доказанные экспериментально

Свойство	Растение	Ссылка	Примечание
Связывание К-сегмента с фосфолипидными везикулами, защита клеточных мембран	Кукуруза (<i>Zea mays</i>)	[47, 48]	
Связывание с ДНК и РНК в присутствии ионов Zn^{2+}	Мандарин (<i>Citrus unshiu</i>)	[36]	Дегидрины могут защищать нуклеиновые кислоты в растительных клетках во время созревания семян и при различных стрессах
Стабилизация цитоскелета	Теллунгиелла солонцовая (<i>Theellungiella salsuginea</i>)	[49]	Фосфорилированные по S-сегменту дегидрины могут полимеризовать актиновые филаменты, стабилизируя цитоскелет в стрессовых условиях
Предотвращение денатурации белков, защита (криозащита) ферментов	Персик (<i>Prunus persica</i>), Мандарин (<i>Citrus unshiu</i>), Кукуруза (<i>Zea mays</i>),	[50]	Дегидрин RAB17 из сухих зародышей кукурузы защищает белки от агрегации под действием теплового стресса
	Пшеница (<i>Triticum aestivum</i>), Ячмень (<i>Hordeum vulgare</i>)	[51]	
		[10]	
		[53]	
Обезвреживание свободных радикалов/активных форм кислорода	Мандарин (<i>Citrus unshiu</i>)	[54]	
Связывание ионов Ca, Ni, Cu, Fe, Co, Zn	Мандарин (<i>Citrus unshiu</i>), Арабидопсис (<i>Arabidopsis</i>)	[54] [55]	Большое число His-остатков, способных образовывать His-His-пары с сильной металлосвязывающей активностью

изменяют способность больших масс воды образовывать водородные связи, чтобы предотвратить денатурацию ферментов. Этим объясняют, почему дегидрины восстанавливают больше ферментативной активности, чем ПЭГ [42].

Ранее было постулировано, что гидрофильные белки обеспечивают стабилизацию коллоидных структур протопласта и предохраняют их от повреждений, вызываемых дегидратацией [43]. В настоящее время существует гипотеза, что дегидрины, чрезвычайно гидрофильные белки, принимают участие в стабилизации цитоплазмы при дегидратации через стабилизацию макромолекул [26]. Гидратированные гидрофильные участки образуют водные оболочки, которые обеспечивают сохранность нативной структуры белков или ингибируют их дальнейшую денатурацию при дегидратации [24, 26, 44]. Дегидрины также могут непосредственно реагировать с частично денатурированными белками, вовлекая во взаимодействие гидрофобные участки К-сегмента [44, 45]. Вполне возможно, что дегидрины обеспечивают физическую границу между экспонированным и гидрофобным участками белков и предотвращают тем самым их денатурацию. Рабочая гипотеза сводится к тому, что дегидрины являются солибилизирующими агентами со свойствами детергентов и шаперонов [46].

К настоящему времени накоплен большой массив экспериментальных данных о роли дегидринов в устойчивости растений к различным стрессовым воздействиям. Некоторые свойства и функции дегидринов приведены в таблице (табл. 1). Интересно отметить, что такие функции дегидринов, как связывание с мембранами (SK₃-дегидрин пшеницы WCOR410), криозащита лактатдегидрогеназы (K₉-дегидрин ячменя P80/DHN5; Y₂K₉-дегидрин персика PCA60; SK₃-дегидрин мандарина CuCOR19), защита от свободных радикалов (SK₃-дегидрин мандарина CuCOR19), связывание ионов металлов (SK₂-дегидрин мандарина CuCOR15), фенотипически проявляются как устойчивость растений к холодному стрессу [26].

Авторы многих обзоров подчеркивают многофункциональность дегидринов [10, 19, 23, 26, 35, 40, 43–45], которая объясняется отсутствием у них упорядоченной структуры, причем в зависимости от конкретного стрессового фактора или соответствующих лигандов конформация белка (образование альфа-спиралей, например) изменяется, что изменяет функции белка (“moonlighting”) [26, 44].

Универсальная роль дегидринов в защитном ответе растений также обусловлена наличием в промоторах их генов *cis*-элементов, таких как ABRE (от *англ.*: Abscisic Acid-Responsive Elements),

DRE (от англ.: Dehydration-Responsive Elements), LTRE (от англ.: Low Temperature-Responsive Elements), CRT(C-repeat)-элементов, участвующих в ответах на стрессы [56]. Причем эти cis-элементы могут присутствовать в промоторах как по отдельности, так и вместе [57, 58].

ДЕГИДРИНЫ В ОРТОДОКСАЛЬНЫХ И РЕКАЛЬЦИТРАНТНЫХ СЕМЕНАХ

Из всего рассмотренного выше можно заключить, что дегидрины представляют собой сложное семейство белков с недостаточно хорошо изученными свойствами и функциями. Они накапливаются в тканях растения в ответ на любой внешний стимул, который приводит к обезвоживанию клетки.

С этой точки зрения особый интерес для исследования представляют семена растений. Процесс созревания многих видов семян сопровождается глубоким обезвоживанием, когда влажность снижается до 10% (от сырого веса) при сохранении жизнеспособности зародыша. Такие семена относят к ортодоксальному типу [59]. Обезвоживание ортодоксальных семян при созревании генетически детерминировано, в это время экспрессируются специфические гены (*Lea*), многие из которых индуцируются АБК [14, 60, 61]. В литературе рассматриваются 3 главные защитные системы, связанные с устойчивостью ортодоксальных семян к высыханию: 1) накопление невосстанавливающих (“non-reducing”) сахаров; 2) LEA-белки, которые индуцируются АБК; 3) способность предотвращать, выдерживать или восстанавливать повреждения, вызванные свободными радикалами [3, с. 61–65].

Дегидрины накапливаются в ортодоксальных семенах при созревании, и это коррелирует с выработкой устойчивости к дегидратации [60, 62]. Так, накопление 35 кД дегидрина в семенах вигны (*Vigna unguiculata*) совпадает с началом высыхания семян [62]. В семенах гороха (*Pisum sativum*) различных генотипов, различающихся по устойчивости к стрессам, охарактеризован ген *PsDhn1*, кодирующий дегидрин Y₂K₂-типа с молекулярной массой 21 кД. При этом в семядолях исследуемых семян обнаружен (с помощью иммуноблоттинга) еще один дегидрин с массой 29 кД [63]. При исследовании прорастания семян шпината (*Spinacia oleracea*) было показано, что дегидрин CAP85 накапливался в набухающих семенах при их подсушивании (“осмопрайминг”). При осмопрайминге в семенах накапливаются также дегидрин-подобные белки с молекулярными массами 19, 26 и 30 кД, при этом семена становятся более устойчивыми к абиотическим стрессам [64]. Ген *FsDhn1* из семян бука европейского (*Fagus sylvatica*) индуцировался АБК и экспрессировался, когда семена искусственно высушивали [65]. Дегидрин CuCOR15, белок, индуцируемый холодом в семенах манда-

рина уншиу (*Citrus unshiu*), или японского мандарина, мог связываться с ДНК и РНК в присутствии ионов цинка. Авторы предполагают, что дегидрин может защищать нуклеиновые кислоты в клетках семян при созревании и ответе на стрессы [36].

Из 10 дегидринов арабидопсиса 5 экспрессируются в семенах: At2g21490 (LEA14; K₂SY₂); At4g39130 (LEA45; KY); At3g 50970 (XERO2, LTI30; K₆); At3g 50980 (XERO1; K₂S); At5g 66400 (RAB18; K₂SY₂) [66]. При прорастании семян дегидрины исчезают, что коррелирует с утратой устойчивости к дегидратации у проросших семян [67]. Soares с соавт. [68] показали, что при прорастании семян аденантеры павлиньей (*Adenanthera pavonina*) уменьшается фракция термостабильных белков, и именно это может быть причиной потери прорастающими семенами устойчивости к высыханию [68].

Помимо семян ортодоксального типа, существует тип семян, не обладающих устойчивостью к высыханию. Такие семена после созревания сохраняют высокую влажность (более 50% от сырого веса), и снижение ее уровня приводит к потере жизнеспособности семян. Эти семена относятся к рекальцитрантному типу [59]. Рекальцитрантные семена различаются по устойчивости к высыханию в широких пределах [69]. Например, семена клена сахарного (*Acer saccharum*) более чувствительны к дегидратации, чем семена клена остролистного (*A. platanoides*) [70].

Поскольку дегидрины рассматриваются как ключевой элемент устойчивости или толерантности к дегидратации, было высказано предположение, что отсутствие устойчивости к высыханию у рекальцитрантных семян является следствием отсутствия в них дегидринов. Действительно, в одной из первых работ, выполненных на рекальцитрантных семенах мангрового дерева авиценнии морской (*Avicennia marina*), было показано, что термостабильные LEA-белки, частью которых являются дегидрины, не синтезируются на поздних стадиях созревания [71]. Однако, позже дегидрины были обнаружены в рекальцитрантных семенах дикого риса (*Zizania palustris*) [72]. В дальнейшем дегидрины были идентифицированы методом иммуноблоттинга в осях и семядолях ряда рекальцитрантных семян древесных растений – дуба (*Quercus*), каштана европейского (*Castanea sativa*), каштана конского (*Aesculus hippocastanum*), некоторых видов клена (*Acer*) [73–75]. Четыре главных дегидрина, с молекулярными массами 12, 20, 32 и 56 кД, были идентифицированы в семенах дуба при созревании, опадении с деревьев и после влажного хранения [74]. Таким образом, предположение о том, что чувствительность к высыханию у рекальцитрантных семян является следствием отсутствия у них дегидринов, не получило подтверждения. Однако нельзя исключить то-

го, что отсутствие или недостаточное количество какого-то одного из дегидринов может повлечь за собой неспособность рекальцитрантных семян противостоять высыханию, т.к. функции отдельных дегидринов пока остаются неизвестными, а механизм устойчивости к полному высыханию у ортодоксальных семян еще не вполне ясен. Таким образом, очевидно, что одного присутствия дегидринов в рекальцитрантных семенах недостаточно для выработки устойчивости к высыханию. С другой стороны, вполне возможно, что полное отсутствие дегидринов в семени предполагает их неспособность противостоять дегидратации. В связи с этим возникает вопрос о роли дегидринов в рекальцитрантных семенах и возможности существования семян, не содержащих дегидрины.

Исследования, проведенные на рекальцитрантных семенах 16 видов древесных растений, различающихся по систематическому положению, происхождению и условиям обитания, показали, что дегидрины присутствуют во многих из них. Однако в семенах растений влажных тропиков дегидрины не были обнаружены [76]. Это было первое сообщение о возможности существования семян, в которых дегидрины отсутствовали.

Подсушивание (или дегидратация) свежих зародышей рекальцитрантных семян баррингтонии (*Barringtonia*), в которых дегидрины не были обнаружены, приводило к индукции двух дегидринов с молекулярными массами 16 и 43 кД. А в зародышах авиценнии морской, или черного мангра (*Avicennia marina*) — мангрового дерева, также обитающего во влажных тропиках и не содержащего дегидрины в семенах, такого ответа на дегидратацию не было [76]. Рекальцитрантные семена заметно различались по числу и размерам обнаруженных в них дегидринов. В зародышевых осях семян австралийского каштана (*Castanospermum australe*) (среда обитания — тропический лес) были идентифицированы 2 дегидрина с молекулярными массами 50 и 60 кД. В осях семян чая (*Camellia sinensis*) (умеренно-тропический климат) присутствовал один дегидрин с молекулярной массой 40 кД. Три дегидрина с молекулярными массами 12, 14, 18 кД и 23, 30, 35–55 кД выявлены в осях семян каштана конского *Aesculum hippocastanum* (умеренно-холодный климат). В осях каштана европейского *Castanea sativa* (умеренно-холодный климат) обнаружено 2 дегидрина с молекулярными массами 46 и 180 кД [76].

Как уже отмечалось, низкие температуры и обезвоживание вызывают сходные повреждения в вегетативных тканях растений и индуцируют экспрессию дегидриновых генов [16, 17, 19]. Накопление дегидринов способствует выработке устойчивости или толерантности не только к осмотическому, но и низкотемпературному стрессу. Результаты, полученные при анализе дегидринов

в рекальцитрантных семенах, позволили авторам выдвинуть предположение, что продуцирование дегидринов в этих семенах может быть вызвано понижением температур в тот или иной период их развития [76]. Действительно, девять видов растений, в семенах которых не удалось обнаружить дегидрины, являлись обитателями влажных тропиков и их семена никогда не подвергались холодовому стрессу. Семь других видов, в семенах которых присутствовали дегидрины, обитали в умеренно-теплом и умеренно-холодном климате, и их семена в той или иной степени подвергались действию низких температур в процессе развития [76]. По всей видимости, дегидрины в рекальцитрантных семенах обеспечивают защиту клеточных структур от повреждений, вызванных низкотемпературным стрессом.

Известно, что АБК связана с преодолением растением внешних стрессов и индуцирует накопление дегидринов [14, 15, 77]. Интересно отметить, что все виды рассматриваемых семян [76], у которых отсутствовали дегидрины, имели низкое содержание АБК (меньше 50 нг/г сухого веса). У других видов, где дегидрины присутствовали, содержание АБК было сравнительно высоким (более 250 нг/г сухого веса), принудительное обезвоживание или подсушивание семян, не содержащих дегидрины, приводило к их накоплению и повышению содержания АБК [76]. В рекальцитрантных семенах тропических видов австралийского каштана *Castanospermum australe* и трихилии (красного дерева) *Trichilia dregeana* содержание и состав дегидринов менялись в ходе созревания семян, как и чувствительность к АБК [78].

Результаты анализа рекальцитрантных семян указывают также на то, что присутствие или отсутствие дегидринов (и их размеры) не связано с эволюционным статусом семейств растений, семена которых были исследованы [76]. Так, дегидрин-подобные белки присутствовали в семенах эволюционно-примитивного вида араукарии бразильской (*Araucaria angustifolia*) [38, 76], в то время как в семенах более эволюционно продвинутого вида авиценнии морской (*Avicennia marina*) дегидрины не выявлялись [76], но позднее все-таки были обнаружены, причем в листьях их накопление вызывалось только осмотическим стрессом, а в корнях еще и солевым [79].

Как уже отмечалось, дегидрины представляют собой чрезвычайно устойчивые к тепловой денатурации белки [6, 44]. В рекальцитрантных семенах каштана конского (*Aesculus hippocastanum* L.) термостабильные белки составляют около 30% растворимых белков цитозоля в зародышевых осях и более 80% — в семядолях [80, 81].

Полученные нами [75] для семян каштана конского результаты показали, что во фракции термостабильных белков действительно присутствуют

дегидрин-подобные белки, что подтверждает данные других исследователей. Во всех случаях дегидрин-подобные белки выявлялись в виде одной яркой полосы в зоне молекулярных масс около 50 кД [74]. Низкомолекулярные термостабильные белки (25 кД и ниже 16 кД), которыми богата исследуемая фракция, не давали иммунологической реакции на дегидрины. В этом отношении полученные нами результаты отличаются от имеющихся в литературе [73, 76].

Дегидрины были обнаружены нами во всех частях зародыша: в клетках осевых органов, запасающей паренхимы семядолей и черешков семядольных листьев, что указывает на отсутствие тканевой специфичности в распределении этих белков в семенах конского каштана. Однако относительное содержание дегидринов в разных частях зародыша было различным: максимальный дегидриновый сигнал давали зародышевые оси, минимальный – семядоли [75].

Дегидрины выявлялись среди термостабильных белков на протяжении всей стратификации семян, определялись также в наклюнувшихся семенах. При наклевывании семян уменьшалась не только сама фракция термостабильных белков, но и относительное содержание в ней дегидринов. Неожиданным и пока труднообъяснимым оказался тот факт, что в незрелых семенах, еще не опавших с дерева, обнаружить дегидрины не удалось. При искусственном проращивании изолированных зародышевых осей дегидрины исчезали, как и при прорастании целых семян. Если рост изолированных осей ингибировался экзогенной АБК, то дегидрины сохранялись в белковом спектре. Пока нет прямых экспериментальных данных о том, задерживает ли АБК утилизацию дегидрина, или индуцирует его синтез *de novo* [75].

При анализе суммарных белков гомогената семян каштана конского помимо 50 кД термостабильного дегидрина анти-дегидриновые антитела выявили еще один компонент с молекулярной массой около 80 кД, который локализован во фракции неустойчивых к тепловой денатурации белков, вследствие чего и назван нами дегидрин-подобным белком [75]. Обнаружение термолабильного дегидрин-подобного белка – довольно редкий случай. Farias-Soares с соавт. [38] обнаружили два термолабильных дегидрина с молекулярными массами 16 и 35 кД в осях и семядолях семян араукарии (*Araucaria angustifolia*), еще один термолабильный дегидрин (10 кД) был найден только в семядолях [38]. Таким образом, рекальцитрантные семена многих видов растений, подобно ортодоксальным семенам, способны продуцировать дегидрины, но при этом остаются чувствительными к потере воды и не могут противостоять глубокому обезвоживанию, как это делают семена ортодоксального типа.

Авторы двух обзоров по дегидринам в ортодоксальных и рекальцитрантных семенах [82, 83] жестко привязывают появление дегидринов в семенах при созревании к процессу высушивания семян. Ортодоксальные семена синтезируют и накапливают дегидрины при высушивании (*maturation drying*), дегидрины присутствуют в сухих семенах при хранении, в сухом состоянии семена могут храниться годами, не теряя жизнеспособности. “Типичные” (по мнению авторов) рекальцитрантные семена, такие как авиценния (*Avicennia*), бругиера (*Bruguiera*) из-за отсутствия генетически детерминированного высушивания не накапливают дегидрины в процессе эмбриогенеза, дегидрины в них не появляются и при хранении – если семена высушивают, они погибают [82, 83]. Авторы также выделяют “атипичные” рекальцитрантные семена (камелия *Camellia*, каштан *Castanea*, эвтерпа *Euterpe*, дуб *Quercus*), которые в конце эмбриогенеза претерпевают ограниченную дегидратацию и накапливают небольшое (по сравнению с ортодоксальными семенами) количество дегидринов. Такие семена могут храниться несколько месяцев (дегидрины при этом сохраняются), но в результате все равно погибают. Интермедиантные [84] семена (кофе *Coffea*, баррингтония *Barringtonia*) не синтезируют дегидрины в конце эмбриогенеза, но при хранении и частичном высушивании дегидрины в них появляются [82, 83], семена выживают.

Нельзя не согласиться с авторами [82, 83], что рекальцитрантность – такое же эволюционное приспособление к жизни в жарких влажных тропиках (где семени нужно как можно быстрее прорасти, чтобы уберечься от плесневых грибов, патогенных бактерий и т.п.), как и устойчивость к высушиванию у ортодоксальных семян видов умеренного и холодного климата со сменой времен года (где прорастание в неблагоприятных для роста проростка климатических условиях приведет к его гибели). Однако авторы не видят разницы между реакцией клеток листа на засуху и высушиванием семян в конце созревания [82, 83]. Следует заметить, что для листа засуха наступает неожиданно, а высушивание ортодоксальных семян определено генетически, влажность семян в конце созревания снижается даже внутри сочных плодов [85]. Транскрипты дегидринов появляются в ортодоксальных семенах в середине созревания, когда влажность семян еще высока [3, с. 64; 14]. Кроме того, имеются указания о конститутивном характере синтеза некоторых дегидринов в плодах и семенах [86]. Так, в листьях, плодах и семенах фасоли два дегидрина (73 и 82 кД) синтезировались конститутивно, при созревании семян их синтез усиливался. Три других дегидрина (22, 36 и 63 кД) экспрессировались в конце созревания семян, причем независимо от того, подвергались ли растения искусственной засухе, или нет [86]. Вполне возможно, что условия созревания семян (сумма

температур, количество осадков) могут индуцировать экспрессию генов дегидринов, но одних только дегидринов, как уже отмечалось, недостаточно для устойчивости семян к обезвоживанию.

Следует признать, что, несмотря на множество работ по изучению роли дегидринов в растениях и, в частности, в семенах, многие аспекты функционирования этих белков еще предстоит выяснить. Перспективным представляются исследования близкородственных видов, имеющих ортодоксальные и рекальцитрантные семена [60, 87]. Причем анализ чувствительных к обезвоживанию рекальцитрантных семян может быть более полезен для выявления функций дегидринов.

При исследовании трех видов клена (*Acer*), имеющих ортодоксальные и рекальцитрантные семена, было обнаружено, что три дегидрина (23, 35 и 46 кД) присутствовали в зрелых и подсушенных семенах обоих типов [87]: в ортодоксальных семенах клена остролистного (*A. platanoides*), в рекальцитрантных семенах клена белого, или явора (*A. pseudoplatanus*) и клена сахарного (*A. saccharum*). В зародышевых осях семян содержание дегидринов было больше, чем в семядолях. В ортодоксальных семенах *A. platanoides* содержание дегидринов возрастало при снижении влажности семян. Содержание дегидринов и их компонентный состав в рекальцитрантных семенах клена белого и клена сахарного различались в разные годы, причем выявить, что важнее – генетический потенциал или внешние условия, в которых созревали семена, пока не представляется возможным [87].

Группой французских исследователей [60] был охарактеризован термостабильный протеом рекальцитрантных семян австралийского каштана (*Castanospermum australe*), тропического древесного вида, произрастающего в восточной части Австралии, а также в Южной Африке. *C. australe* филогенетически близок (относится к тому же подсемейству) к модельному бобовому растению люцерне усеченной (*Medicago truncatula*), имеющему ортодоксальные семена, что позволяет сравнивать их белки, хотя геном *C. australe* пока не секвенирован. Термостабильные LEA-белки *M. truncatula* были подробно охарактеризованы ранее [88, 89], причем были найдены белки, связанные с устойчивостью к дегидратации. При сравнении бобовых с ортодоксальными (*M. truncatula*) и рекальцитрантными (*C. australe*) семенами [60] были обнаружены 12 LEA-генов (из 16 гомологов), полипептиды которых отсутствовали или их содержание было сильно снижено в рекальцитрантных семенах *C. australe*. При этом другие дегидрины, индуцируемые осмотическим стрессом и не являющиеся специфичными для семян, накапливались в рекальцитрантных семенах даже в больших количествах, чем в ортодоксальных. Авторы охарактеризовали также мутант

M. truncatula по гену ABI3 (англ.: Abscisic Acid Insensitive 3). Зрелые семена *Mtabi3* были чувствительны к обезвоживанию, и в их протеоме были сильно редуцированы те же LEA-белки, которые отсутствовали или были подавлены в семядолях рекальцитрантных семян *Castanospermum australe* [60]. Авторы обсуждают возможные пути и механизмы регуляции накопления LEA-белков, важных для устойчивости к обезвоживанию.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Когда миллионы лет назад растения заселяли сушу, им пришлось выработать широкий спектр адаптивных приспособлений к различным абиотическим стрессам. Так как многие из этих стрессов приводят к дегидратации клеток, термостабильные стресс-индуцируемые белки, уже имевшиеся у цианобактерий [20], очень пригодились для выживания в новых условиях.

Обезвоживание, то есть удаление воды из клеток, вызывает необратимые изменения, приводящие к агрегации макромолекул. Накапливающиеся в семенах при созревании белки позднего эмбриогенеза (LEA-белки), в частности, дегидрины, помогают предотвратить агрегацию клеточных белков при прогрессирующем обезвоживании. Предполагаемый механизм действия дегидринов включает аминокислоты Ф-сегмента, который важен для поддержания развернутой (неупорядоченной) структуры молекул термостабильных гидрофильных дегидринов, что позволяет им функционировать как молекулярные щиты и предотвращать взаимодействие частично денатурированных молекул белков друг с другом.

Семена высших растений предназначены для хранения (и сохранения генетического материала) и имеют специфические, очень мощные механизмы устойчивости к высыханию и выживанию в воздушно-сухом состоянии. Что касается неустойчивых к высыханию рекальцитрантных семян, то дегидрины в них помогают при солевом стрессе, как это описано для тропических мангровых [79], или при низкотемпературном, как это предполагается для рекальцитрантных семян древесных растений умеренного климата, таких как дуб черешчатый [73, 74], каштан конский [73, 75]. Именно гидрофильные дегидрины и другие LEA-белки могут не только предохранять клеточные структуры зародыша от существенной потери влаги (что является для рекальцитрантных семян смертельным), но и могут обеспечивать устойчивость высокооводненных семян к длительному холодному стрессу под снегом в зимних условиях средней полосы.

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов. Настоящий обзор не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов исследования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Palta J.P.* Stress interactions at the cellular and membrane levels // *Hort. Sci.* 1990. V. 25. № 11. P. 1377.
2. *Levitt J.* Responses of plants to environmental stresses. 2nd Edition. Vol. 1. Chilling, freezing and high temperature stresses. 1980. N.Y.: Academic Press. 510 p.
3. *Bewley D.J., Bradford K.J., Hilhorst H.W.M., Nonogaki H.* Seeds. Physiology of Development, Germination and Dormancy. Third Edition. 2013. N.Y., Heidelberg, Dordrecht, London: Springer. 392 p.
4. *Bray E.A.* Molecular responses to water deficit // *Plant Physiol.* 1993. V. 103. P. 1035.
5. *Beck E.H., Fettig S., Knake C., Hartig K., Bhattarai T.* Specific and unspecific responses of plants to cold and drought stress // *J. Biosci.* 2007. V. 32. P. 501.
6. *Close T.J.* Dehydrins: emergence of a biochemical role of a family of plant dehydration proteins // *Physiol. Plant.* 1996. V. 97. P. 795.
7. *Dure L. III, Greenway S.C., Galau G.A.* Developmental biochemistry of cottonseed embryogenesis and germination – changing messenger ribonucleic acid population as shown by *in vitro* and *in vivo* protein synthesis // *Biochem.* 1981. V. 20. P. 4162.
8. *Алагулова Ч.Р., Гималов Ф.Р., Шакирова Ф.М., Вахитов В.А.* Дегидрины растений: их структура и предполагаемые функции // *Биохимия.* 2003. Т. 68. С. 1157.
9. *Battaglia M., Olvera-Carrillo Y., Garcarrubio A., Campos F., Covarrubias A.A.* The enigmatic LEA proteins and other hydrophilins // *Plant Physiol.* 2008. V. 148. P. 6.
<https://doi.org/10.1104/pp.108.120725>
10. *Amara I., Zaidi I., Masmoudi K., Ludevid M.D., Pagès M., Goday A., Brini F.* Insights into late embryogenesis abundant (LEA) proteins in plants: from structure to the functions // *Am. J. Plant Sci.* 2014. V. 5. P. 3440.
<https://doi.org/10.4236/ajps.2014.522360>
11. *Rorat T.* Plant dehydrins – tissue location, structure and function // *Cell Mol. Biol. Lett.* 2006. V. 11. P. 536.
<https://doi.org/10.2478/s11658-006-0044-0>
12. *Tunnacliffe A. and Wise M.J.* The continuing conundrum of the LEA proteins // *Naturwissenschaften.* 2007. V. 94. P. 791.
13. *Close T.J., Kortt A.A., Chandler P.M.* A cDNA-based comparison of dehydration-induced proteins (dehydrins) in barley and corn // *Plant Mol. Biol.* 1989. V. 13. P. 95.
14. *Galau G.H., Huges D.W., Dure L. III.* Abscisic acid induction of cloned cotton late embryogenesis-abundant (LEA) mRNAs // *Plant Mol. Biol.* 1986. V. 7. P. 150.
15. *Mundy J., Chua N.-H.* Abscisic acid and water-stress induce the expression of a novel rice gene // *EMBO J.* 1988. V. 7. P. 2279.
16. *Close T.J.* Dehydrins: a commonality in the response of plants to dehydration and low temperature // *Physiol. Plant.* 1997. V. 100. P. 291.
<https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1997.tb.04785.x>
17. *Шакирова Ф.М., Алагулова Ч.Р., Безрукова М.В., Авальбаев А.М., Гималов Ф.Р.* Роль эндогенной АБК в индуцируемой холодом экспрессии *TADHN* гена дегидрина в проростках пшеницы // *Физиология растений.* 2009. Т. 56. С. 796.
18. *Baker J., Steele C., Dure L. III.* Sequence and characterization of 6 LEA proteins and their genes from cotton // *Seed Sci. Res.* 1988. V. 5. P. 185.
19. *Borovskii G.B., Stupnikova I.V., Antipina A.I., Vladimirova S.V., Voinikov V.K.* Accumulation of dehydrin-like proteins in the mitochondria of cereals in response to cold, freezing, drought and ABA treatment // *BMC Plant Biol.* 2002. V. 2. P. 5.
20. *Close T.J., Lammers P.J.* An osmotic stress protein of cyanobacteria is immunologically related to plant dehydrins // *Plant Physiol.* 1993. V. 101. P. 773.
21. *Takahashi R., Joshee N., Kitagawa Y.* Induction of chilling resistance by water stress, and cDNA sequence analysis and expression of water stress-regulated genes in rice // *Plant Mol. Biol.* 1994. V. 26. P. 339.
22. *Ouelett F., Houde M., Sarhan F.* Purification, characterization and cDNA cloning of the 200 kDa protein induced by cold acclimation in wheat // *Plant Cell Physiol.* 1993. V. 34. P. 59.
23. *Graether S.P., Boddington K.F.* Disorder and function: a review of the dehydrin protein family // *Front. Plant Sci.* 2014. V. 5. Art. 1.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00576>
24. *Clarke M.W., Boddington K.F., Warnica J.M., Atkinson J., McKenna S., Madge J., Barker C.H., Graether S.P.* Structural and functional insights into the cryoprotection of membranes by the intrinsically disordered dehydrins // *J. Biol. Chem.* 2015. V. 290. № 45. P. 26900.
25. *Close T.J., Fenton R.D., Moonan F.* A view of plant dehydrins using antibodies specific to the carboxy terminal peptide // *Plant Mol. Biol.* 1993. V. 23. P. 279.
26. *Hanin M., Brini F., Ebel C., Toda Y., Takeda S., Masmoudi K.* Plant dehydrins and stress tolerance // *Plant Signaling Behav.* 2011. V. 6. P. 1503.
<https://doi.org/10.4161/psb.6.10.17088>
27. *Riley A.C., Ashlock D.A., Graether S.P.* Evolution of the modular, disordered stress proteins known as dehydrins // *PLoS ONE.* 2019. V. 14: e0211813.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211813>
28. *Hernandez-Sanchez I.E., Martynowicz D.M., Rodriguez-Hernandez A.A., Perez-Morales M.B., Graether S.P., Jimenez-Bremont J.F.* A dehydrin-dehydrin interaction: the case of SK₃ from *Opuntia streptacantha* // *Front Plant Sci.* 2014. V. 5. Art. 520.
29. *Eriksson S., Eremina N., Barth A., Danielsson J., Harryson P.* Membrane-induced folding of the plant stress dehydrin Lti30 // *Plant Physiology.* 2016. V. 171. P. 932.
30. *Rosales R., Romero I., Escribano M.I., Merodio C., Sanchez-Ballesta M.T.* The crucial role of F- and K-segments in the *in vitro* functionality of *Vitis vinifera* dehydrin DHN1a // *Phytochemistry.* 2014. V. 108. P. 17.
31. *Hernandez-Sanchez I.E., Maruri-Lopez I., Ferrando A., Carbonelly J., Graether S.P., Jimenez-Bremont J.F.* Nuclear localization of the dehydrin OpsDHN1 is determined by histidine-rich motif // *Front. Plant Sci.* 2015. V. 6. Art. 702.
32. *Strimbeck G.R.* Hiding in plain sight: The F segment and other conserved features of seed plant SK_n dehydrins // *Planta.* 2017. V. 245. P. 1061.
<https://doi.org/10.1007/s00425-017-2679-7>
33. *Yang W., Zhang L., Lv H., Li H., Zhang Y., Xu Y., Yu J.* The K-segment of wheat dehydrin WZY2 are essential

- for its protective functions under temperature stress // *Front. Plant Sci.* 2015. V. 6. Art. 406
34. *Kalemba E.M., Litkowiec M.* Functional characterization of a dehydrin protein from *Fagus sylvatica* seeds using experimental and *in silico* approaches // *Plant Physiol. Biochem.* 2015. V. 97. P. 246.
 35. *Yu Zh., Wang X., Zhang L.* Structural and functional dynamics of dehydrins: a plant protector protein under abiotic stress // *Int. J. Mol. Sci.* 2018. V. 19. P. 1. <https://doi.org/10.3390/ijms19113420>
 36. *Hara M., Shinoda Y., Tanaka Y., Kuboi T.* DNA binding of citrus dehydrin promoted by zinc ion // *Plant Cell Environ.* 2009. V. 32. P. 532. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2009.01947.x>
 37. *Alsheikh M.K., Heyen B.J., Randal S.K.* Ion binding properties of the dehydrin ERD14 are dependent upon phosphorylation // *J. Biol. Chem.* 2003. V. 278. P. 40882.
 38. *Farias-Soares F.L., Burrieza H.P., Steiner N., Maldonado S., Guerra M.P.* Immunoanalysis of dehydrins in *Araucaria angustifolia* embryos // *Protoplasma.* 2013. V. 250. P. 911. <https://doi.org/10.1007/s00709-012-0474-7>
 39. *Kalemba E.M., Pukacka S.* Possible role of LEA proteins and sHSPs in seed protection: a short review // *Biol. Lett.* 2007. V. 44. P. 3.
 40. *Hara M.* The multifunctionality of dehydrins // *Plant Signaling Behav.* 2010. V. 5. P. 503.
 41. *Abedini R., GhaneGolmohammadi F., PishkamRad R., Pourabed E., Jafarnezhad A., Shobbar Z.-S., Shahbazi M.* Plant dehydrins: shedding light on structure and expression patterns of dehydrin gene family in barley // *J. Plant Res.* 2017. V. 130. P. 747. <https://doi.org/10.1007/s10265-017-0941-5>
 42. *Ferreira L.A., Walezky Mooradally A., Zaslavsky B., Uversky V.N., Graether S.P.* Effect of an intrinsically disordered plant stress protein on the properties of water // *Biophys. J.* 2018. V. 115. № 6. P. 1696. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2018.09.014>
 43. *Chakrabortee S., Boschetti C., Walton L.J., Sarkar S., Rubinsztein D.C., Tunnacliffe A.* Hydrophilic protein associated with desiccation tolerance exhibits broad protein stabilization function // *PNAS.* 2007. V. 104. P. 18073. <https://doi.org/10.1073/pnas.0706964104>
 44. *Kosová K., Prášil I.T., Vitámvás P.* Role of dehydrins in plant stress response / *Handbook of Plant and Crop Stress, Third Edition* / Ed. M. Pessaracli. CRC Press (Bosa Raton—London—New York). 2010. P. 239.
 45. *Liu Y., Song Q., Li D., Yang X., Li D.* Multifunctional roles of plant dehydrins in response to environmental stress // *Front. Plant Sci.* 2017. V. 8. Art. 1018. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01018>
 46. *Kovacs D., Kalmar E., Torok Z., Tompa P.* Chaperon activity of ERD10 and ERD14, two disordered stress-related plant proteins // *Plant Physiol.* 2008. V. 147. P. 381. <https://doi.org/10.1104/pp.108.118208>
 47. *Koag M.Ch., Wilkens S., Fenton R.D., Resnik J., Vo E., Close T.J.* The K-segment of maize DHN1 mediates binding to anionic phospholipid vesicles and concomitant structural changes // *Plant Physiol.* 2009. V. 150. P. 1503.
 48. *Eriksson S.K., Kutzer M., Procek J., Gröbner G., Harryson P.* Tunable membrane binding of the intrinsically disordered dehydrin Lti30, a cold-induced plant stress protein // *Plant Cell.* 2011. V. 23. P. 2391.
 49. *Rahman L.N., Bamm V.V., Voyer J.A.M., Smith G.S.T., Chen L., Yaish M.W., Moffatt B.A., Dutcher J.R., Harauz G.* Zinc induces disorder-to-order transitions in free and membrane-associated *Thellungiella salsuginea* dehydrins TsDHN-1 and TsDHN-2: a solution CD and solid-state ATR-FTIR study // *Amino Acids.* 2011. V. 40. P. 1485. <https://doi.org/10.1007/s00726-010-0759-0>
 50. *Wisniewski M., Webb R., Balsamo R., Close T.J., Yu X.M., Griffith M.* Purification, immunolocalization, cryoprotective, and antifreeze activity of PCA60: a dehydrin from peach (*Prunus persica*) // *Physiol. Plant.* 1999. V. 105. P. 600. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.105402.x>
 51. *Amara I., Odena A., Oliveira E., Moreno A., Masmoudi Kh., Pagés M., Goday A.* Insights into maize LEA proteins: from proteomics to functional approaches // *Plant Cell Physiol.* 2012. V. 53. P. 312. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcr183>
 52. *Kosová K., Vitámvás P., Prášilová P., Prášil I.T.* Accumulation of WCS120 and DHN5 proteins in differently frost-tolerant wheat and barley cultivars grown under a broad temperature scale // *Biol. Plant.* 2013. V. 57. P. 105.
 53. *Kosová K., Vitámvás P., Prášil I.T.* Wheat and barley dehydrins under cold, drought and salinity – what can LEA-II proteins tell us about plant stress response? // *Front. Plant Sci.* 2014. V. 5. Art. 343. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00343>
 54. *Hara M., Kondo M., Kato T.* A KS-type dehydrin and its related domains reduce Cu-promoted radical generation and the histidine residues contribute to the radical-reducing activities // *J. Exp. Bot.* 2013. V. 64. P. 1615.
 55. *Svensson J., Palva E.T., Welin B.* Purification of recombinant *Arabidopsis thaliana* dehydrins by metal ion affinity chromatography // *Protein Exp. Purif.* 2000. V. 20. P. 169.
 56. *Liu Q., Kasuga M., Sakuma Y., Abe H., Miura S., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K.* Two transcription factors, DREB1 and DREB2, with an EREBP/AP2 DNA binding domain separate two cellular signal transduction pathways in drought- and low-temperature-responsive gene expression, respectively, in *Arabidopsis* // *The Plant Cell.* 1998. V. 10. P. 1391.
 57. *Chung S., Parish R.W.* Combinatorial interactions of multiple cis-elements regulating the induction of the *Arabidopsis* XERO2 dehydrin gene by abscisic acid and cold // *Plant J.* 2008. V. 54. P. 15.
 58. *Yu Zh., Wang X., Zhang L.* Structural and functional dynamics of dehydrins: a plant protector protein under abiotic stress // *Int. J. Mol. Sci.* 2018. V. 19. № 3420. P. 1. <https://doi.org/10.3390/ijms19113420>
 59. *Roberts E.H.* Predicting the storage life of seeds // *Seed Sci. Technol.* 1973. V. 1. P. 499.
 60. *Delahaie J., Hundertmark M., Bove J., Leprince O., Rogniaux H., Buitink J.* LEA polypeptide profiling of recalcitrant and orthodox legume seeds reveals ABI3-regulated LEA protein abundance linked to desiccation tolerance // *J. Exp. Bot.* 2013. V. 64. P. 4559. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert274>
 61. *Hanana M., Daldoul S., Fouquet R., Deluc L., Leon C., Hofer M., Barrieu F., Ghorbel A.* Identification and

- characterization of seed-specific grapevine dehydrin involved in abiotic stress response within tolerant varieties // *Turkish J. Bot.* 2014. V. 38. P. 1157.
62. *Ismail A.M., Hall A.E., Close T.J.* Purification and partial characterization of a dehydrin involved in chilling tolerance during seedling emergence of cowpea // *Plant Physiol.* 1999. V. 120. P. 237.
 63. *Haider A.* Characterization and expression of dehydrins in wild Egyptian pea (*Pisum sativum* L.) // *African J. Biotech.* 2012. V. 11. № 55. P. 11789.
 64. *Chen K., Fessehaieb A., Arora R.* Dehydrin metabolism is altered during seed osmopriming and subsequent germination under chilling and desiccation in *Spinacia oleracea* L. cv. Bloomsdale: Possible role in stress tolerance // *Plant Sci.* 2012. V. 183. P. 27.
 65. *Jiménez J.A., Alonso-Ramírez A., Nicolás C.* Two cDNA clones (FsDhn1 and FsClo1) up-regulated by ABA are involved in drought responses in *Fagus sylvatica* L. seeds // *J. Plant Physiol.* 2008. V. 165. № 17. P. 1798.
 66. *Leprince O., Pellizzaro A., Berriri S., Buitink J.* Late seed maturation: drying without dying // *J. Exp. Bot.* 2017. V. 68. P. 827.
<https://doi.org/10.1093/jxb/erw363>
 67. *Kermode A.R., Finch-Savage W.E.* Desiccation sensitivity in orthodox and recalcitrant seeds in relation to development / In: *Desiccation and Survival in Plants: Drying without Dying (Black M. and Pritchard H.W., eds).* CABI Publishing. 2002. P. 149.
 68. *Soares G.C.M., Dias D.C.F.S. Faria J.M.R., Borges E.E.L.* Physiological and biochemical changes during the loss of desiccation tolerance in germinating *Adenanthera pavonina* L. seeds. // *Anais da Academia Brasileira de Ciências (Ann. Brazilian Acad. Sci.)*. 2015. V. 87. P. 2001.
 69. *Berjak P., Pammenter N.W.* Recalcitrance is not an all-or-nothing situation // *Seed Sci. Res.* 1994. V. 4. P. 263.
 70. *Pukacka S., Ratajczak E.* Antioxidative response of ascorbateglutathione pathway enzymes and metabolites to desiccation of recalcitrant *Acer saccharinum* seeds // *J. Plant Physiol.* 2006. V. 163. P. 1259.
 71. *Farrant J.M., Berjak P., Pammenter N.W.* Proteins in development and germination of a desiccation sensitive (recalcitrant seed) species // *Plant Growth Regul.* 1992. V. 11. P. 257.
 72. *Bradford K.J., Chandler P.M.* Expression of “dehydrin-like” proteins in embryos and seedlings of *Zizania palustris* and *Oryza sativa* during dehydration // *Plant Physiol.* 1992. V. 93. P. 488.
 73. *Finch-Savage W.E., Pramanik S.K., Bewly J.D.* The expression of dehydrin proteins in desiccation-sensitive (recalcitrant) seeds of temperate trees // *Planta.* 1994. V. 193. P. 478.
 74. *Šunderlíková V., Salaj J., Kopecky D., Salaj T., Wilhem E., Marušíková I.* Dehydrin genes and their expression in recalcitrant oak (*Quercus robur*) embryos // *Plant Cell Rep.* 2009. V. 28. P. 1011.
<https://doi.org/10.1007/s00299-009-0710-6>
 75. *Гумилевская Н.А., Азаркович М.И.* Идентификация и характеристика дегидринов в рекальцитрантных семенах конского каштана // *Физиология растений.* 2010. Т. 57. С. 918.
 76. *Farrant J.M., Pammenter N.W., Berjak P., Farnsworth E.J., Vertucci C.W.* Presence of dehydrin-like proteins and level of abscisic acid in recalcitrant (desiccation sensitive) seeds may be related to habitat // *Seed Sci. Res.* 1996. V. 6. P. 175.
 77. *Talanova V.V., Titov A.F.* Endogenous abscisic-acid content in cucumber leaves under the influence of unfavorable temperature and salinity // *J. Exp. Bot.* 1994. V. 45. P. 1031.
<https://doi.org/10.1093/jxb/45.7.1031>
 78. *Han B., Berjak P., Pammenter N., Farrant J., Kermode A.R.* The recalcitrant plant species, *Castanospermum australe* and *Trichilia dregeana*, differ in their ability to produce dehydrin-related polypeptides during seed maturation and in response to ABA or water-deficit-related stresses // *J. Exp. Bot.* 1997. V. 48. P. 1717.
 79. *Mehra P.A., Rebala K.C., Venkataraman G., Parida A.* A diurnally regulated dehydrin from *Avicennia marina* that shows nucleocytoplasmic localization and is phosphorylated by casein kinase II *in vitro* // *Plant Physiol. Biochem.* 2009. V. 47. P. 701.
 80. *Гумилевская Н.А., Азаркович М.И., Комарова М.Е., Обручева Н.В.* Белки осевых органов покоящихся и прорастающих семян конского каштана: 1. Общая характеристика белков // *Физиология растений.* 2001. Т. 48. С. 5.
 81. *Азаркович М.И., Гумилевская Н.А.* Анализ белков семян зрелых семян конского каштана // *Физиология растений.* 2006. Т. 53. С. 711.
 82. *Kleinwächter M., Radwan A., Hara M., Selmar D.* Dehydrin expression in seeds: an issue of maturation drying // *Front. Plant Sci.* 2014. V. 5. Art. 402.
 83. *Radwan A., Hara M., Kleinwächter M., Selmar D.* Dehydrin expression in seeds and maturation drying: a paradigm change // *Plant Biol.* 2014. V. 16. P. 853.
<https://doi.org/10.1111/plb.12228>
 84. *Ellis R.H., Hong T.D., Roberts E.H.* An intermediate category of seed storage behaviour? I. Coffee. // *J. Experimental Botany.* 1990. V. 41. P. 1167.
 85. *Прокофьев А.А.* Формирование семян как органов запаса. 27-ое Тимирязевское чтение. М.: Наука, 1968. 52 с.
 86. *Castañeda-Saucedo M.C., Córdova-Téllez L., Tapia-Campos E., Delgado-Alvarado A., González-Hernández V.A., Santacruz-Varela A., Loza-Tavera H., García-de-los-Santos G., Vargas-Suárez M.* Dehydrins patterns in common bean exposed to drought and watered conditions // *Rev. Fitotec. Mex.* 2014. V. 37. № 1. P. 59.
 87. *Kalembe E.M., Pukacka S.* Association of protective proteins with dehydration and desiccation of orthodox and recalcitrant category seeds of three *Acer* genus species // *J. Plant Growth Regul.* 2012. V. 31. P. 351.
<https://doi.org/10.1007/s00344-011-9246-4>
 88. *Boudet J., Buitink J., Hoekstra F.A., Rogniaux H., Larré C., Satour P., Leprince O.* Comparative analysis of the heat stable proteome of radicles of *Medicago truncatula* seeds during germination identifies late embryogenesis abundant proteins associated with desiccation tolerance // *Plant Physiol.* 2006. V. 140. P. 1418.
 89. *Chatelain E., Hundertmark M., Leprince O., Le Gall S., Satour P., Deligny-Penninck S., Rogniaux H., Buitink J.* Temporal profiling of the heat-stable proteome during late maturation of *Medicago truncatula* seeds identifies a restricted subset of late embryogenesis abundant proteins associated with longevity // *Plant Cell Environ.* 2012. V. 35. P. 1440.