

УДК 581.1

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ АБК-ЗАВИСИМЫХ И АБК-НЕЗАВИСИМЫХ ГЕНОВ ПРИ ХОЛОДОВОЙ АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ

© 2011 г. В. В. Таланова, А. Ф. Титов, Л. В. Топчиева, Н. С. Репкина

Учреждение Российской академии наук Институт биологии Карельского научного центра
Российской академии наук, Петрозаводск

Поступила в редакцию 17.02.2011 г.

Изучены особенности экспрессии генов транскрипционных факторов (CBF4, MYB80, Wabi5) и *Cor*-генов, кодирующих белки холодового ответа (Wrab17, Wrab19, Wcs120, Wcor15), в листьях проростков пшеницы (*Triticum aestivum* L.), находящихся 7 суток в условиях закалывающей температуры (4°C). Повышение уровня экспрессии АБК-зависимых генов *CBF4*, *MYB80*, *Wabi5* отмечено у озимой (Московская 39) и яровой (Ленинградская 97) пшеницы уже через 15 мин от начала действия холода. Усиление экспрессии генов *Wcor15* и *Wrab19* у яровой пшеницы также наблюдали в начальный период холодового закалывания (через 15 и 30 мин соответственно), в то время как многократное повышение уровня экспрессии генов *Wrab17* и *Wcs120* происходило через 1 сутки, когда холодоустойчивость растений заметно возрастала. Сделан вывод, что формирование повышенной холодоустойчивости как у озимой, так и яровой пшеницы связано с усилением экспрессии генов транскрипционных факторов *CBF4*, *MYB80*, *Wabi5*, а также АБК-зависимых (*Wrab17* и *Wrab19*) и АБК-независимых (*Wcor15* и *Wcs120*) *Cor*-генов.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* – холодовое закалывание – экспрессия генов – транскрипционный фактор – *Cor*-гены – АБК

ВВЕДЕНИЕ

Формирование повышенной устойчивости растений в ответ на действие низких температур связано с целым комплексом защитно-приспособительных механизмов, включая изменение экспрессии большого числа генов протекторных белков [1–3; 4, с. 33; 5]. Например, увеличение морозоустойчивости растений арабидопсиса [1–3, 6] и пшеницы [7–9] сопровождается индукцией экспрессии ряда регулируемых низкой температурой *Cor*-генов (от cold regulated), кодирующих COR-белки. Установлено также, что в передаче низкотемпературного сигнала и регуляции экспрессии *Cor*-генов участвуют многие транскрипционные факторы, в том числе CBF/DREB (от C-repeated binding factor/dehydration responsive elements-binding proteins) [1, 2, 10, 11], bZIP (от basic leucine zipper), MYB/MYC (от Myeloblastosis/Myelocytomatosis) [5, 12].

Фитогормон абсцизовая кислота (АБК) играет важную роль в защитно-приспособительных реакциях растений, обеспечивающих их выживание в неблагоприятных температурных условиях [13;

14, с. 55]. В частности, установлено, что помимо влияния на различные физиолого-биохимические процессы АБК может регулировать экспрессию ряда *Cor*-генов [13, 15, 16]. Однако у холодостойких растений обнаружены не только АБК-зависимые, но и АБК-независимые пути трансдукции низкотемпературного сигнала и регуляции экспрессии *Cor*-генов [1, 5, 12]. В АБК-зависимые пути передачи сигнала вовлечены, например, транскрипционные факторы семейств bZIP, MYB/MYC [5, 12], а в АБК-независимые пути – транскрипционные факторы семейств CBF/DREB [1, 5, 11]. Однако пока эти данные довольно фрагментарны, а характер экспрессии в условиях действия низких температур генов, кодирующих транскрипционные факторы и COR-белки, изучен недостаточно полно. В связи с этим, нами была поставлена задача исследовать особенности динамики экспрессии ряда АБК-зависимых и АБК-независимых *Cor*-генов и транскрипционных факторов при холодовой адаптации растений пшеницы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на проростках озимой и яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сортов Московская 39 и Ленинградская 97 соответ-

Адрес для корреспонденции: Таланова Вера Викторовна. 185910 Петрозаводск, Пушкинская ул., 11. Институт биологии Карельского научного центра РАН. Электронная почта: talanova@krc.karelia.ru

Праймеры для проведения ПЦР в режиме реального времени

Ген	Прямой и обратный праймеры	Нуклеотидная последовательность праймера 5'...3'	Номер доступа в базе данных NCBI
CBF4	прямой	CTCGCTGGAGAATGCCGTGGTC	EF028787
	обратный	GCAGCATGTAGAGGCGGTCGTTG	
MYB80	прямой	AAGCGGCTCCATGAACAACCTCG	AY625680
	обратный	CTAAGGTAGGTGGTGAATGTGAAA	
Wabi5	прямой	GCCGAGGGCAGTTGGTATGGGA	AB193553
	обратный	TAGCGGCGGACTCCCTGTTCTT	
Wcor15	прямой	GGGAGCAACCTCTTCCATAGTGT	AB095006
	обратный	CCAACCATCACAACCCTTCACTA	
Wrab17	прямой	CGGGATGGGAGGAGACAAGTGAG	AF255053
	обратный	GGAATAGCGAAACAGAAGGAGGG	
Wrab19	прямой	CAACCAGAACCAGGCGAGCTACG	AF255052
	обратный	CGGCTGTCTCTACGGCCTTCTGCTT	
Wes120	прямой	CACGGCACTGGCGAGAAGAAAGG	M93342
	обратный	TGATGTTCTCCATGACGCCCTTC	
Actin	прямой	GGGACCTCACGGATAATCTAATG	AB181991
	обратный	AACCTCCACTGAGAACAACATTAC	

ственно. Для этого их в течение 7 суток выращивали на питательном растворе Кнопа с добавлением микроэлементов (рН 6.2) в камере искусственного климата при температуре воздуха 22°C, относительной влажности 60–70%, освещенности 10 клк, фотопериоде 14 ч, а затем в течение 7 суток подвергали воздействию закалывающей температуры (4°C), сохраняя прочие условия неизменными.

Холодоустойчивость проростков оценивали по температуре (JT_{50}), вызывающей гибель 50% палисадных клеток паренхимы высечек из листа (площадью 0.3 см²) после их 5-минутного тестирующего промораживания в термоэлектрическом термостате ТЖР–02/–20 (“Интерм”, Россия) при ряде температур (от –5 до –10°C) с интервалом 0.4°C [17]. Заданную температуру поддерживали с точностью ±0.1°C. Жизнеспособность клеток оценивали с помощью светового микроскопа Микмед-2 (“ЛОМО”, Россия) с объективом 40× по деструкции хлоропластов и коагуляции цитоплазмы.

Для выделения РНК навеску листьев пшеницы (50 мг) растирали в жидком азоте. Тотальную РНК выделяли с помощью набора Yellow Solve (“Clonogene”). Определение качества и количества выделенной РНК проводили с помощью капиллярного электрофореза на микрочипах (Expreion, “Bio-Rad”). Для удаления остатков ДНК препарат РНК обрабатывали 10 ед./мл ДНКазой, свободной от РНКазы (“Силекс”, Россия). Уровень экспрессии генов оценивали методом ПЦР в режиме реального времени. В качестве флуорофора для детекции продуктов использовали ин-

теркалирующий краситель SYBR Green. Амплификацию проводили в приборе iCycler с оптической приставкой iQ5 (“Bio-Rad”), используя наборы для амплификации, совмещенные с обратной транскрипцией. Смесь для ПЦР объемом 25 мкл содержала 100 нг тотальной РНК, 0.5 мкл обратной транскриптазы iScript MMLV, 12.5 мкл реакционной смеси 2xSYBR Green RT-PCR Reaction Mix, по 0.8 мкл прямого и обратного праймеров (10 мкМ), 9.5 мкл воды, свободной от нуклеаз. Для ПЦР в режиме реального времени использовали праймеры (“Синтол”, Россия), представленные в таблице. В качестве референсного гена использовали актин. Протокол ПЦР: синтез кДНК – 10 мин при 50°C, инактивация обратной транскриптазы 5 мин при 95°C, циклы ПЦР: 10 с при 95°C, 30 с при 55°C, 30 с при 72°C (40 циклов). Специфичность продуктов амплификации проверяли плавлением ПЦР фрагментов: 1 мин при 95°C, 1 мин при 55°C, 10 с при 55°C (80 циклов, повышая в каждом цикле температуру на 0.5°C). Уровень экспрессии генов растений, подвергнутых низкотемпературному воздействию, был нормализован по уровню экспрессии генов контрольного варианта (не подвергнутых низкотемпературному воздействию).

На рисунках приведены средние арифметические значения из двух независимых опытов и их стандартные отклонения. Повторность при оценке устойчивости – 6-кратная, а при ПЦР-анализе – 2-кратная. В статье обсуждаются величины, достоверные при $P \leq 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Установлено, что холодоустойчивость проростков озимой пшеницы сорта Московская 39 возрастала уже через 0.5–1.0 ч от начала действия температуры 4°C, на вторые сутки она достигала своего максимального значения и в дальнейшем не изменялась (рис. 1а). У проростков яровой пшеницы сорта Ленинградская 97 холодоустойчивость повышалась медленнее, достигала максимума только через 6 суток закаливания, а ее прирост по сравнению с исходным уровнем был заметно меньше, чем у озимой пшеницы (рис. 1б).

Наряду с повышением холодоустойчивости в листьях пшеницы под влиянием закаливающей температуры происходили значительные изменения в экспрессии генов транскрипционных факторов (рис. 2). Так, в начальный период (уже через 15–30 мин) действия низкой температуры в листьях озимой пшеницы отмечено усиление экспрессии гена транскрипционного фактора *CBF4*, повышенный ее уровень сохранялся в течение первых 5 ч закаливания, а затем происходило его снижение (рис. 2а). У яровой пшеницы также отмечено быстрое (через 15 мин) и значительное повышение уровня экспрессии гена *CBF4*, после чего он резко снижался, хотя и превышал исходное значение (рис. 2б).

Уровень экспрессии гена транскрипционного фактора *MYB80* заметно возрастал в листьях озимой пшеницы через 15 мин и держался на более высоком уровне в течение 5 ч от начала закаливания (рис. 2в), у яровой пшеницы — только через 5 ч (рис. 2г), затем у обоих сортов происходило его снижение до исходных значений. Достоверное увеличение уровня транскриптов гена *Wabi5* семейства транскрипционных факторов bZIP отмечено у озимой пшеницы через 15 мин, а у яровой — через 1 сутки после начала закаливания (рис. 2д, 2е), но в целом эти изменения носили колебательный характер.

В предыдущих исследованиях нами было показано, что повышение холодоустойчивости растений озимой пшеницы сорта Московская 39 под влиянием низкой закаливающей температуры сопровождалось изменениями в экспрессии *Cor*-генов [18]. В частности, экспрессия гена *Wrab17* увеличивалась через 15 мин после начала холодого воздействия, а ее повышенный уровень сохранялся в течение всего периода закаливания [18]. В отличие от этого, у проростков яровой пшеницы сорта Ленинградская 97 в начальный период закаливания (первые 5 ч), когда холодоустойчивость еще оставалась на исходном уровне, заметных изменений в экспрессии АБК-зависимого *Cor*-гена *Wrab17* не выявлено, но при более длительном действии холода (через 24 ч) одновременно с ростом устойчивости отмечали резкое усиление экспрессии (рис. 3а). Через 2 суток закаливания накопление транскриптов этого гена до-

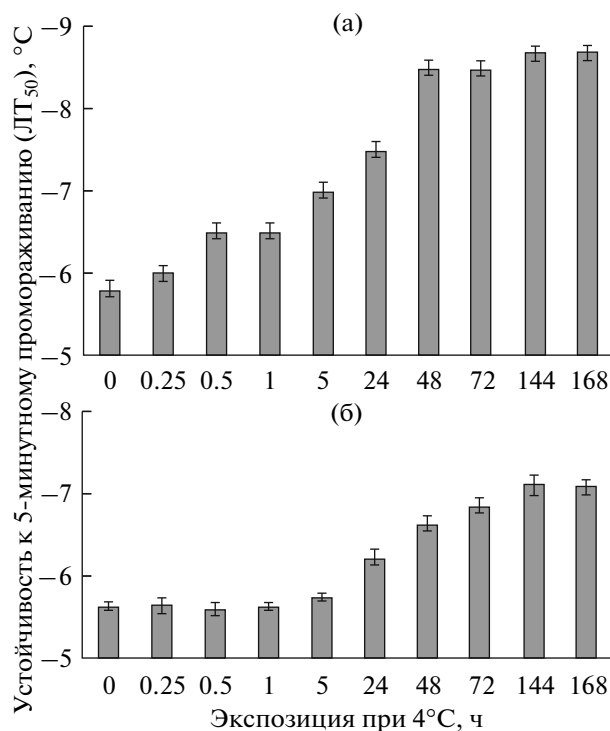


Рис. 1. Динамика холодоустойчивости проростков пшеницы сортов Московская 39 (а) и Ленинградская 97 (б) при температуре 4°C.

стигало максимума, в дальнейшем (через 3–7 суток) уровень экспрессии постепенно снижался, но, тем не менее, оставался достаточно высоким (рис. 3а).

Экспрессия гена *Wrab19* в листьях яровой пшеницы усиливалась через 0.5 ч действия холода, достигая своего максимума, а затем резко снижалась и впоследствии имела колебательный характер, хотя и далее при воздействии холода накопление транскриптов гена сохранялось на повышенном уровне (рис. 3б).

Значительных достоверных изменений в экспрессии гена *Wcs120* (рис. 3в), так же как и гена *Wrab17* (рис. 3а), в листьях яровой пшеницы в первые 5 ч действия холода нами не обнаружено, и только через 1 сутки она резко усиливалась, а затем, достигнув максимума (через 2 суток), несколько снижалась, хотя и в последующий период воздействия холода накопление транскриптов гена сохранялось на высоком уровне (рис. 3в). В отличие от этого, у проростков озимой пшеницы (как было показано нами ранее) резкое повышение уровня экспрессии гена *Wcs120* происходило уже через 15 мин действия температуры 4°C, а его максимум отмечен через 30 мин, после чего он возвращался к исходным значениям [18].

Экспрессия гена *Wcor15* в листьях проростков яровой пшеницы усиливалась в начальный период действия температуры 4°C (через 15 мин) и со-

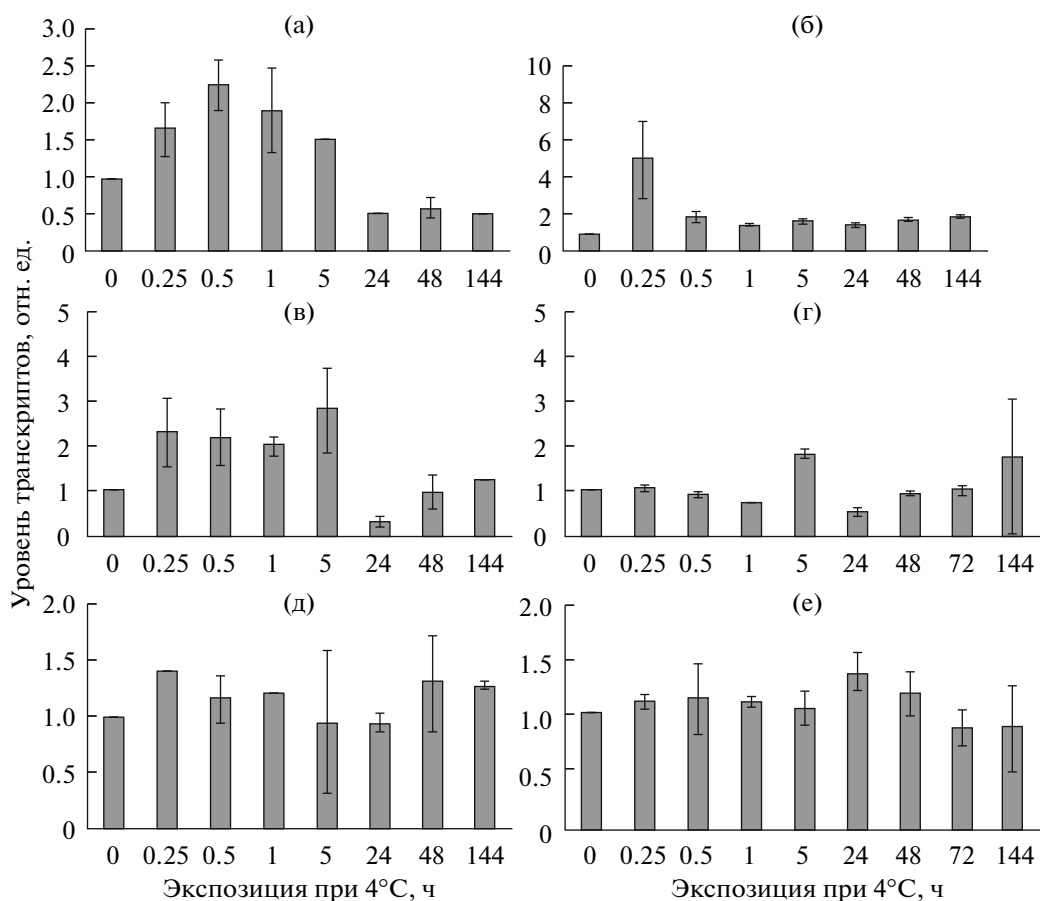


Рис. 2. Динамика экспрессии генов *CBF4* (а, б), *MYB80* (в, г) и *Wabi5* (д, е) в листьях проростков пшеницы сортов Московская 39 (а, в, д) и Ленинградская 97 (б, г, е) при температуре 4°C.

За единицу принят уровень экспрессии генов при температуре 22°C.

хранялась на повышенном уровне в течение всего периода закаливания (рис. 3г). В листьях проростков озимой пшеницы уровень экспрессии этого гена также повышался через 15 мин действия холода, затем постепенно возрастал и сохранялся на повышенном уровне 2 суток, но в дальнейшем снижался [18].

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты изучения экспрессии АБК-зависимых и АБК-независимых генов, кодирующих транскрипционные факторы и COR-белки в листьях проростков озимой и яровой пшеницы, указывают на существование определенной зависимости между динамикой уровня экспрессии этих генов, с одной стороны, и процессом повышения холодоустойчивости в условиях действия низкой закаливающей температуры, с другой стороны.

Известно, что озимые злаки, по сравнению с яровыми, обладают более эффективными механизмами адаптации к низким температурам. В

наших экспериментах у проростков озимой пшеницы скорость и величина прироста устойчивости к низкой температуре была существенно выше, чем у яровой пшеницы. Усиление экспрессии генов транскрипционных факторов *CBF4*, *Wabi5* и *MYB80* у озимой пшеницы также происходило довольно быстро (уже в начальный период холододового закаливания) и предшествовало или совпадало по времени с повышением их устойчивости. Кроме того, ранее нами у растений озимой пшеницы была выявлена положительная корреляция между индукцией экспрессии *Cor*-генов (*Wrab17*, *Wrab19*, *Wcs120*, *Wcor15*) и уровнем устойчивости в условиях холододового закаливания [18]. Сходные результаты получены при изучении индукции экспрессии генов *Wrab17* и *Wrab19* [19], *Wcs120* [9] и *Wcor15* [11] в условиях холододового закаливания и у других сортов озимой пшеницы.

Важно, что у проростков яровой пшеницы более медленное повышение устойчивости также коррелировало с более медленным усилением экспрессии генов транскрипционных факторов *Wabi5* и *MYB80* и *Cor*-генов, в первую очередь,

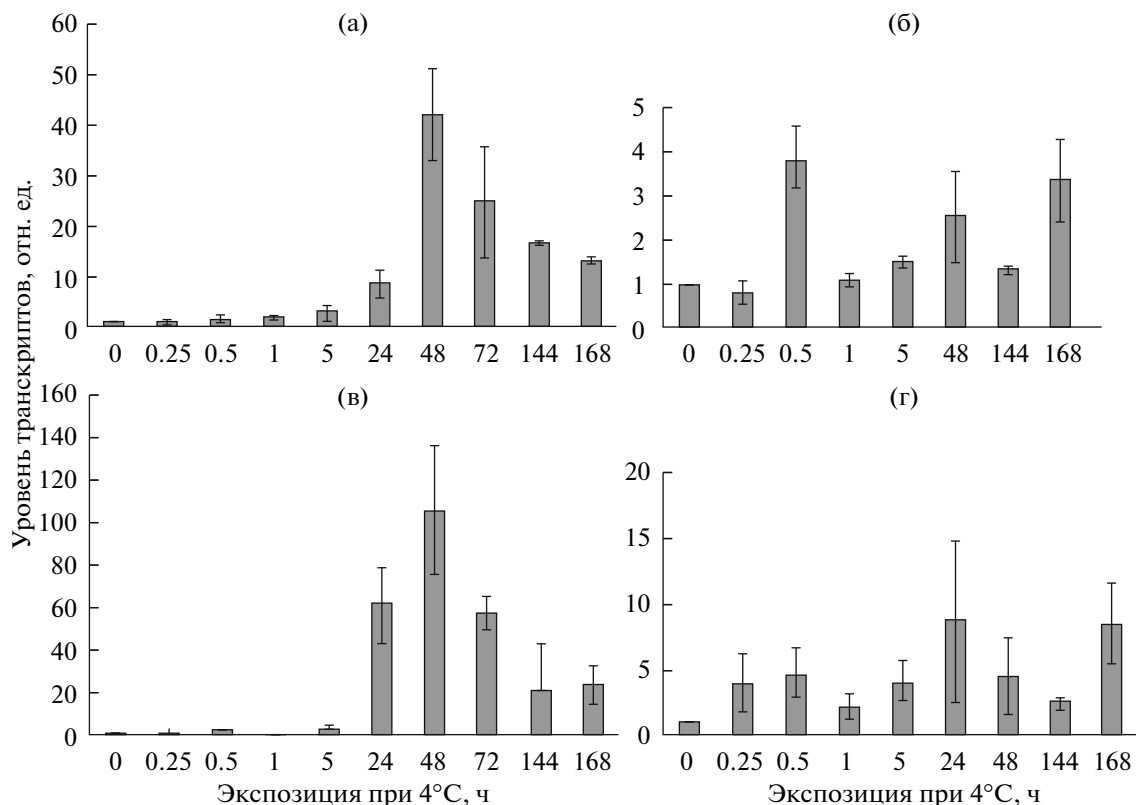


Рис. 3. Динамика экспрессии генов *Wrab17* (а), *Wrab19* (б), *Wsc120* (в) и *Wcor15* (г) в листьях проростков пшеницы сорта Ленинградская 97 при температуре 4°C.

За единицу принят уровень экспрессии генов при температуре 22°C.

Wsc120 и *Wrab17*. Так, резкое возрастание экспрессии *Cor*-гена *Wrab17* у яровой пшеницы практически совпадало по времени с заметным повышением уровня устойчивости, а гена *Wrab19* — предшествовало ему. Таким образом, на основании обнаруженного значительного усиления экспрессии *Cor*-генов, предшествующего или совпадающего по времени с ростом устойчивости, можно предположить, что они участвуют в процессе формирования повышенной холодоустойчивости у яровой пшеницы.

Следует отметить, что из изученных нами генов к АБК-зависимым *Cor*-генам относятся *Wrab17* [16], *Wrab19* [19], а к АБК-независимым — *Wsc120* [20] и *Wcor15* [7].

Как известно, АБК-зависимые гены транскрипционных факторов семейства bZIP содержат в промоторной области цис-элементы ABRE (от ABA-responsive element) [13]. АБК может активировать экспрессию генов, кодирующих транскрипционные факторы семейства bZIP, которые, в свою очередь, регулируют экспрессию *Cor*-генов путем связывания с цис-элементами ABRE [12, 13, 21]. В то же время, индукция экспрессии генов регулируемых АБК транскрипционными факторами МУС происходит при специфическом

связывании с цис-элементами МУСВ [12, 22]. Имеются данные о том, что ген транскрипционного фактора *CBF4* (*DREB1D*) у арабидопсиса, в отличие от других генов семейства *CBF*, может экспрессироваться в ответ на обезвоживание и на обработку экзогенной АБК, что позволило причислить его к АБК-зависимым [22].

В связи с этим, необходимо подчеркнуть, что усилению экспрессии АБК-зависимых *Cor*-генов *Wrab17* и *Wrab19* в наших экспериментах предшествовало усиление экспрессии гена транскрипционного фактора *CBF4*, совпадая по времени с повышением экспрессии гена *Wabi5* (семейства bZIP) и *MYB80*. Другими авторами также было показано, что уровень экспрессии bZIP генов (*Wlip19*, *Wabi5*) и *Cor*-генов (*Wrab15*, *Wrab17*, *Wrab18*, *Wrab19*) у озимой пшеницы сортов 97003 и 97014 увеличивался при холодовом стрессе практически одновременно [16].

Как показали исследования, АБК-независимые гены в промоторной области содержат специфические цис-элементы CRT/DRE (от C-repeated transcription elements/drought responsive elements), с которыми связываются транскрипционные факторы *CBF1/DREB1b*, *CBF2/DREB1c*, *CBF3/DREB1a* [22]. В этом случае низкая температура запускает

экспрессию индуцируемых холодом генов транскрипционных факторов CBF/DRE [11], которые, в свою очередь, активируют *Cor*-гены [1]. К ним, в частности, относятся регулируемые низкой температурой гены *Wcs120* и *Wcor15*, содержащие цис-элементы CRT/DRE [7, 12, 20].

Отметим, что указанные выше *Cor*-гены кодируют защитные белки, относящиеся к большому семейству белков позднего эмбриогенеза LEA (от Late Embryogenesis Abundant), которые характеризуются высокой гидрофильностью и выполняют функцию молекулярных шаперонов, обеспечивающих сохранение функциональной активности макромолекул при стрессе [23]. В частности, ген *Wcs120* кодирует группу COR-белков семейства WCS (от Wheat Cold Specific) с мол. м. от 12 до 200 кД, относящихся к устойчивым к обезвоживанию дегидринам, объединенным в группу II или D 11 семейство LEA белков [20, 24]. Считается, что усиление экспрессии генов дегидринов и накопление их белковых продуктов имеет важное значение для повышения устойчивости растений к низкотемпературному стрессу [1]. Укажем, что гены *Wrab17* и *Wrab19* также кодируют дегидрины, характеризующиеся высокой степенью гомологии с белками группы III семейства LEA, накопление которых коррелирует с повышением холодоустойчивости растений [19]. Таким образом, значительное усиление экспрессии генов *Wrab17* и *Wrab19* предполагает их непосредственное участие в процессе формирования повышенной холодоустойчивости у яровой пшеницы. Следует отметить, что еще один из изученных нами генов — *Wcor15*, кодирует COR15 белок, который повышает криостабильность плазмалеммы и мембран хлоропластов [7].

Таким образом, результаты проведенного исследования показывают, что в условиях низкотемпературного закалывания существует определенная зависимость между уровнем экспрессии генов АБК-зависимых генов транскрипционных факторов (*CBF4*, *MYB80*, *bZIP*) и *Cor*-генов (*Wrab17*, *Wrab19*) и АБК-независимых *Cor*-генов (*Wcor15*, *Wcs120*) в листьях проростков пшеницы, с одной стороны, и их холодоустойчивостью, с другой стороны, что позволяет сделать вывод об участии этих генов и кодируемых ими белков в формировании повышенной устойчивости.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 10–04–00650а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Thomashow M.F.* Plant Cold Acclimation: Freezing Tolerance Genes and Regulatory Mechanisms // *Annu. Rev. Plant Mol. Biol.* 1999. V. 50. P. 571–599.
2. *Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K.* Molecular Responses to Dehydration and Low Temperature: Differences and Cross-Talk between Two Signaling Pathways // *Curr. Opin. Plant. Biol.* 2000. V. 3. P. 217–223.
3. *Chinnusamy V., Zhu J., Zhu J.-K.* Gene Regulation during Cold Acclimation in Plants // *Physiol. Plant.* 2006. V. 126. P. 52–61.
4. *Трунова Т.И.* Растение и низкотемпературный стресс. 64-е Тимирязевское чтение. М.: Наука, 2007. 54 с.
5. *Hu X.J., Zhang Z.B., Xu P., Fu Z.Y., Hu S.B., Song W.Y.* Multifunctional Genes: The Cross-talk among the Regulation Networks of Abiotic Stress Responses // *Biol. Plant.* 2010. V. 54. P. 213–223.
6. *Seki M., Narusaka M., Ishida J., Nago T.* Monitoring the Expression Profiles of 7000 *Arabidopsis* Genes under Drought, Cold and High-Salinity Stresses Using a Full-Length cDNA Microarray // *Plant J.* 2002. V. 31. P. 279–292.
7. *Takumi S., Koike A., Nakata M., Kume S., Ohno R., Nakamura C.* Cold-Specific and Light-Stimulated Expression of a Wheat (*Triticum aestivum* L.) *Cor* Gene *Wcor15* Encoding a Chloroplast-Targeted Protein // *J. Exp. Bot.* 2003. V. 54. P. 2265–2274.
8. *Kobayashi F., Takumi S., Nakata M., Ohno R., Nakamura T., Nakamura C.* Comparative Study of the Expression of the *Cor/Lea* Gene Family in Two Wheat Cultivars with the Contrasting Levels of Freezing Tolerance // *Physiol. Plant.* 2004. V. 120. P. 585–594.
9. *Ganeshan S., Vitamvas P., Fowler D.B., Chibbar R.N.* Quantitative Expression Analysis of Selected *COR* Genes Reveals Their Differential Expression in Leaf and Crown Tissues of Wheat (*Triticum aestivum* L.) during an Extended Low Temperature Acclimation Regimen // *J. Exp. Bot.* 2008. V. 59. P. 2393–2402.
10. *Fowler S., Thomashow M.F.* Arabidopsis Transcriptome Profiling Indicates That Multiple Regulatory Pathways Are Activated during Cold Acclimation in Addition to the CBF Cold Response Pathway // *Plant Cell.* 2002. V. 14. P. 1675–1690.
11. *Kume S., Kobayashi F., Ishibashi M., Ohno R., Nakamura C., Takumi S.* Differential and Coordinated Expression of *Cbf* and *Cor/Lea* Genes during Long-Term Cold Acclimation in Two Wheat Cultivars Showing Distinct Levels of Freezing Tolerance // *Gen. Genet. Syst.* 2005. V. 80. P. 185–197.
12. *Agarwal P.K., Jha B.* Transcription Factors in Plants and ABA Dependent and Independent Abiotic Stress Signalling // *Biol. Plant.* 2010. V. 54. P. 201–212.
13. *Gusta L.V., Trischuk R., Weiser C.J.* Plant Cold Acclimation: The Role of Abscisic Acid // *J. Plant Growth Regul.* 2005. V. 24. P. 308–318.
14. *Тумов А.Ф., Таланова В.В.* Устойчивость растений и фитогормоны. Петрозаводск: Карельский научный центр, 2009. 206 с.
15. *Knight H., Zarka D.G., Okamoto H., Thomashow M.F., Knight M.R.* Abscisic Acid Induces *CBF* Gene Transcription and Subsequent Induction of Cold-Regulated Genes via the CRT Promoter Element // *Plant Physiol.* 2004. V. 135. P. 1710–1717.
16. *Sun X., Hu C., Tan Q., Liu J., Liu H.* Effects of Molybdenum on Expression of Cold-Responsive Genes in Abscisic Acid (ABA)-Dependent Pathways in Winter

- Wheat under Low-Temperature Stress // *Ann. Bot.* 2009. V. 104. P. 345–356.
17. Дроздов С.Н., Курец В.К., Будыкина Н.П., Балагурова Н.И. Определение устойчивости растений к заморозкам // Методы оценки устойчивости растений к неблагоприятным условиям среды / Под ред. Удовенко Г.В. Л.: изд-во ВИР, 1976. С. 222–228.
 18. Таланова В.В., Титов А.Ф., Топчиева Л.В., Малышева И.Е., Венжик Ю.В., Фролова С.А. Экспрессия генов транскрипционного фактора WRKY и стрессовых белков у растений пшеницы при холодовом закаливании и действии АБК // Физиология растений. 2009. Т. 56. С. 776–782.
 19. Tsuda K., Tsvetanov S., Takumi S., Mori N., Atanassov A., Nakamura C. New Members of a Cold-Responsive Group-3 *Lea/Rab*-Related *Cor* Gene Family from Common Wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Gen. Genet. Syst.* 2000. V. 75. P. 179–188.
 20. Ouellet F., Vazquez-Tello A., Sarhan F. The Wheat *Wcs120* Promoter Is Cold-Inducible in Both Monocotyledonous and Dicotyledonous Species // *FEBS Lett.* 1998. V. 423. P. 324–328.
 21. Xiong L., Schumaker K.S., Zhu J.-K. Cell Signaling during Cold, Drought, and Salt Stress // *Plant Cell.* 2002. Suppl. P. 165–183.
 22. Haake V., Cook D., Riechmann J.L., Pineda O., Thomashow M.F., Zhang J.Z. Transcription Factor CBF4 Is a Regulator of Drought Adaptation in Arabidopsis // *Plant Physiol.* 2002. V. 130. P. 639–648.
 23. Goyal K., Walton L.J., Tunnacliffe A. LEA Proteins Prevent Protein Aggregation due to Water Stress // *Biochem. J.* 2005. V. 388. P. 151–157.
 24. Sarhan F., Ouelett F., Vazquez-Tello A. The Wheat *Wcs120* Gene Family. A Useful Model to Understand the Molecular Genetics of Freezing Tolerance in Cereals // *Physiol. Plant.* 1997. V. 101. P. 439–445.