

УДК 581.1

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА WRKY И СТРЕССОВЫХ БЕЛКОВ У РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ ХОЛОДОВОМ ЗАКАЛИВАНИИ И ДЕЙСТВИИ АБК

© 2009 г. В. В. Таланова, А. Ф. Титов, Л. В. Топчиева, И. Е. Малышева,
Ю. В. Венжик, С. А. Фролова

Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск
Поступила в редакцию 02.10.2008 г.

Изучены изменения уровня экспрессии гена транскрипционного фактора WRKY и генов стрессовых белков (*Wcor15*, *Wrab17*, *Wrab19* и *Wcs120*) у проростков пшеницы (*Triticum aestivum* L., сорт Московская 39) при действии закаливающей температуры 4°C в течение 7 суток. Высокий уровень экспрессии гена WRKY был отмечен уже через 15 мин от начала воздействия холода, но при увеличении экспозиции растений в этих условиях происходило его снижение. Экзогенная АБК (0.1 мМ) подавляла экспрессию гена WRKY. Уровень экспрессии гена *Wcor15* возрастал постепенно, достигая максимума на вторые сутки, а затем снижался. Экспрессия гена *Wrab17* оставалась повышенной в течение всего холодового воздействия (7 суток), а *Wrab19* – в первые 2 суток. Экзогенная АБК индуцировала экспрессию генов *Wcor15*, *Wrab17* и *Wrab19* как при закаливающей (4°C), так и при обычной (22°C) температуре. Значительное повышение уровня экспрессии гена *Wcs120* под влиянием закаливания оказалось АБК-независимым. Сделан вывод, что рост устойчивости растений пшеницы в начальный период закаливания связан с экспрессией генов транскрипционного фактора WRKY и стрессовых белков (*Wcor15*, *Wrab17*, *Wrab19* и *Wcs120*), а при более длительной адаптации – с экспрессией генов *Wcor15* и *Wrab17*.

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

ВВЕДЕНИЕ

Повышение устойчивости растений к низким температурам связано со значительными перестройками физиолого-биохимических процессов и с изменением экспрессии довольно большого числа генов [1–3; 4, с. 33]. В частности, показано, что индукция низкими температурами экспрессии Cor-генов (от cold regulated genes), кодирующих COR-белки, коррелирует с повышением морозоустойчивости растений [2, 5]. Активация под влиянием пониженных температур экспрессии генов регуляторных белков, в том числе некоторых транскрипционных факторов, например CBF (от CRT-binding factors), усиливает экспрессию Cor-генов и синтез соответствующих белков холодового шока [6]. Сведения о том, что повышение уровня транскриптов Cor-генов и ряда транскрипционных факторов может иметь важное значение для низкотемпературной адаптации растений, получены в основном на арабидопсисе [1–3]. Роль

же экспрессии генов в процессах холодовой адаптации и устойчивости однодольных растений, к числу которых относится значительная часть ведущих сельскохозяйственных культур, таких как пшеница, ячмень, кукуруза и рис, изучена в значительно меньшей степени [1, 5]. В частности, сведения об участии недавно открытого транскрипционного фактора WRKY [7] в адаптации однодольных растений к низким температурам получены лишь на ячмене [8].

Известно, что активность многих генов холодового шока регулируется не только низкой температурой, но и АБК [2, 9, 10]. Однако конкретные механизмы участия АБК в холодоиндуцированной экспрессии генов остаются не ясны [10]. Более того, обнаружены как АБК-зависимые, так и АБК-независимые пути регуляции экспрессии Cor-генов арабидопсиса [11]. В частности, семейства транскрипционных факторов CBF или DREB (от dehydration responsive elements-binding proteins) включены в АБК-независимые пути и регулируют экспрессию Cor-генов путем связывания с CRT/DRE cis-элементами [10]. Подобные сведения в отношении других транскрипционных факторов, в том числе транскрипционного фактора WRKY, практически отсутствуют.

Сокращение: ЛТ₅₀ – температура гибели 50% паренхимных клеток листа.

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

Таблица 1. Праймеры для проведения ПЦР в режиме реального времени

Ген	Прямой (f) и обратный (r) праймеры	Нуклеотидная последовательность праймера 5'...3'	Номер доступа в базе данных NCBI
<i>Wcor15</i>	f	GGG AGC AAC CTC TTC CAT AGT GT	AB095006
	r	CCA ACC ATC ACA ACC CTT CAC TA	
<i>Wrab17</i>	f	CGG GAT GGG AGG AGA CAA GTG AG	AF255053
	r	GGA ATA GCG AAA CAG AAG GAG GG	
<i>Wrab19</i>	f	CAA CCA GAA CCA GGC GAG CTA CG	AF255052
	r	CGG CTG TCT CTA CGG CCT TCT GCT T	
<i>Wcs120</i>	f	CAC GGC ACT GGC GAG AAG AAA GG	M93342
	r	TGA TGT TCT CCA TGA CGC CCT TC	
<i>WRKY</i>	f	CCG TTC AAG CCC AAC AAG AAG AGG	DQ286566
	r	CGA GGA TGT CCT TCT GGC CGT AC	
<i>Actin</i>	f	GGG ACC TCA CGG ATA ATC TAA TG	AB181991
	r	AAC CTC CAC TGA GAA CAA CAT TAC	

Учитывая вышеизложенное, мы исследовали экспрессию гена транскрипционного фактора WRKY и генов белков холодового шока у растений пшеницы при действии низкой закалывающей температуры.

МЕТОДИКА

Эксперименты проводили с проростками озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) морозостойкого сорта Московская 39, выращенными в рулонах фильтровальной бумаги на питательном растворе Кнопа с добавлением микроэлементов (pH 6.2–6.4) в камере искусственного климата при температуре воздуха 22°C, его относительной влажности 60–70%, освещенности 10 клк, фотопериоде 14 ч. По достижении недельного возраста проростки подвергали воздействию низкой закалывающей температуры (4°C) в течение 7 суток, сохраняя прочие условия эксперимента неизменными. Часть проростков за сутки до закалывания помещали на растворы АБК (0.1 мМ) (“ICN”, США).

Холодоустойчивость проростков оценивали по температуре (ЛТ₅₀), 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 [12]. 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 AquaPure RNA

Isolation Kit (“Bio-Rad”, США). Определение качества и количества выделенной РНК проводили с помощью капиллярного электрофореза на микрочипах (Experion, “Bio-Rad”). Для удаления остатков ДНК препарат РНК обрабатывали ДНКазой (10 ед./мл) (“Силекс”, Россия). Уровень экспрессии генов оценивали методом ПЦР в режиме реального времени. В качестве флуорофора для детекции продуктов использовали интеркалирующий 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 2×SYBR 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 табл. 1. В качестве референсного (холодонезависимого) 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 (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 и в табл. 2 приведены средние арифметические значения из двух независимых опытов и их стандартные ошибки. Повторность

Таблица 2. Уровень экспрессии генов *Cor*-группы и *WRKY* по отношению к уровню экспрессии гена актина у проростков пшеницы при 22°C

Ген	Уровень экспрессии
<i>Wcor15</i>	0.060 ± 0.030
<i>Wrab17</i>	0
<i>Wrab19</i>	0.010 ± 0.003
<i>Wcs120</i>	0.100 ± 0.050
<i>WRKY</i>	0

при оценке устойчивости – 6-кратная, а при ПЦР-анализе – 2-кратная. В статье обсуждаются величины, достоверные при $P \leq 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Установлено, что под влиянием температуры 4°C устойчивость проростков пшеницы начинала возрастать уже через 0.5–1.0 ч от начала холодого воздействия, на 2 сутки она достигала своего максимального значения и в дальнейшем не изменялась (рис. 1). Экзогенная АБК вызывала при этом увеличение устойчивости, особенно заметное в начальный период низкотемпературного воздействия, в результате чего уже через 5 ч устойчивость превышала уровень, характерный для проростков, закаливаемых в течение нескольких суток без обработки гормоном. Через 1 сутки от начала закаливания устойчивость под влиянием АБК достигала наибольшего уровня и в дальнейшем не изменялась.

Сопоставление уровня транскриптов референсного (холодонезависимого) гена актина и генов, кодирующих COR-белки и транскрипционный фактор *WRKY* у растений пшеницы, показало, что при обычной температуре (22°C) экспрессия этих генов была незначительна (табл. 2).

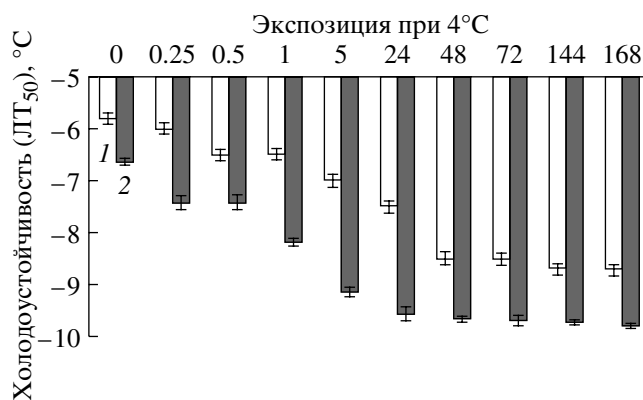


Рис. 1. Динамика холодоустойчивости проростков пшеницы в зависимости от времени действия низкой закаливающей температуры (4°C) и АБК.

1 – 4°C; 2 – 4°C + АБК (0.1 мМ).

Воздействие температуры 4°C вызывало быстрое (уже через 15 мин) и очень значительное (в десятки раз) повышение относительного уровня экспрессии гена транскрипционного фактора *WRKY* в клетках листьев проростков пшеницы (рис. 2а). В дальнейшем он постепенно снижался в течение первых суток закаливания и через 6–7 суток практически не отличался от исходного уровня.

Предобработка проростков экзогенной АБК хотя и вызывала некоторое усиление экспрессии гена *WRKY* при холодовом закаливании по сравнению с исходным уровнем (22°C), однако в целом уровень его экспрессии в этом случае был значительно ниже (рис. 2б), чем при действии только температуры 4°C (рис. 2а).

Под влиянием закаливания также происходили значительные изменения экспрессии генов белков холодого шока *Wcor15*, *Wrab17*, *Wrab19* и *Wcs120*. В частности, уровень экспрессии гена *Wcor15* в листьях проростков повышался через 15 мин действия температуры 4°C, затем постепенно возрастал и достигал максимума на 2-е сутки (рис. 3а). Дальнейшая экспозиция проростков в условиях закаливания приводила к снижению экспрессии этого гена. Экспрессия генов *Wrab17* и *Wrab19* также увеличивалась через 15 мин от начала холодого закаливания, причем ее повышенный уровень в первом случае сохранялся в течение всего низкотемпературного воздействия (рис. 3в), а во втором – в первые 2 суток (рис. 3д). Уровень экспрессии гена *Wcs120* резко повышался через 15 мин действия температуры 4°C (рис. 3ж), а его максимум был отмечен через 30 мин. Затем через 5 ч закаливания он снижался до исходного уровня и весь последующий период воздействия холода оставался неизменным.

Экзогенная АБК заметно усиливала (по сравнению с вариантом “закаливание без АБК”) экспрессию гена *Wcor15* через 15 мин от начала низкотемпературного воздействия, а в последующие 24 ч подавляла ее (рис. 3б). Через 2 суток от начала закаливания в присутствии АБК происходило возрастание уровня экспрессии гена *Wcor15*, значительно превышающее его значение в варианте “закаливание без АБК”. Обработка АБК резко повышала экспрессию гена *Wrab17* по сравнению с вариантом “закаливание без АБК” через 24 и 48 ч от начала закаливания (рис. 3г), но через 6–7 суток совместного действия АБК и низкой температуры экспрессия этого гена снижалась до исходного уровня. Отметим также, что в условиях холодого закаливания АБК несколько увеличивала экспрессию гена *Wrab19* (рис. 3е). В отличие от этого экзогенная АБК подавляла экспрессию гена *Wcs120* при действии закаливающей температуры (рис. 3з).

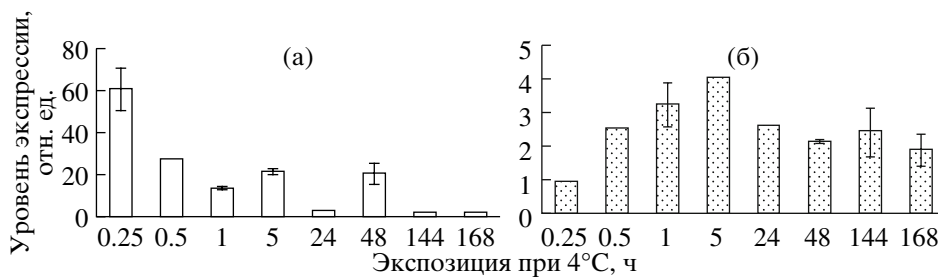


Рис. 2. Изменение уровня экспрессии гена *WRKY* в зависимости от времени действия на проростки пшеницы низкой закалывающей температуры (4°C) и АБК.
а – 4°C; б – 4°C + АБК (0.1 мМ). Здесь и на рис. 3 и 4: уровень экспрессии генов у растений при 22°C принят за единицу.

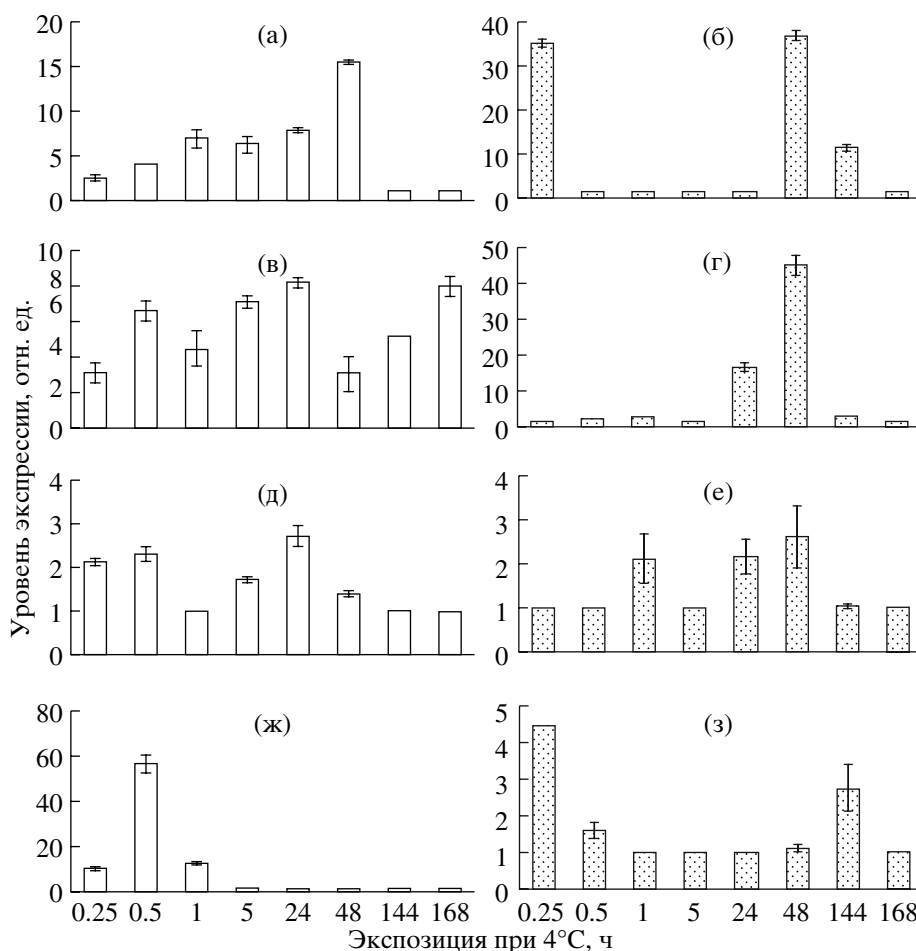


Рис. 3. Изменение уровня экспрессии генов *Wcor15*, *Wrab17*, *Wrab19* и *Wcs120* в зависимости от времени действия на проростки пшеницы низкой закалывающей температуры (4°C) и АБК.
а, б – *Wcor15*; в, г – *Wrab17*; д, е – *Wrab19*; ж, з – *Wcs120*. а, в, д, ж – 4°C; б, г, е, з – 4°C + АБК (0.1 мМ).

В условиях физиологически нормальной температуры (22°C) экзогенная АБК практически не влияла на уровень экспрессии гена *WRKY* (рис. 4а), но индуцировала экспрессию генов *Wcor15* (рис. 4б) и, в меньшей степени, *Wcs120* (рис. 4д) в первые 0.5–1.0 ч обработки, а гена *Wrab17* и *Wrab19* – через 5 и 24 ч (рис. 4в, 4г).

ОБСУЖДЕНИЕ

Сопоставление динамики холодоустойчивости клеток листьев и экспрессии генов транскрипционного фактора *WRKY* и белков холодового шока у проростков пшеницы указывает на существование определенной зависимости между уровнем экспрессии этих генов и формированием повы-

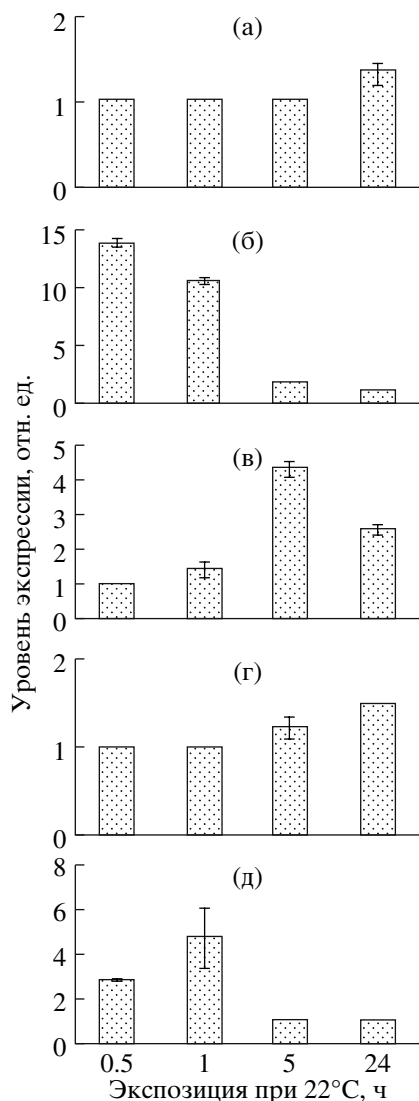


Рис. 4. Изменение уровня экспрессии генов *WRKY* (а), *Wcor15* (б), *Wrab17* (в), *Wrab19* (г) и *Wcs120* (д) при температуре 22°C и действии АБК (0.1 мМ).

пшенной устойчивости в условиях действия низкой закалывающей температуры. В частности, мы обнаружили быстрое и значительное (в десятки раз по сравнению с исходным уровнем) увеличение экспрессии гена транскрипционного фактора *WRKY*, предшествующее росту холодоустойчивости проростков пшеницы. Из полученных данных следует, что повышение холодоустойчивости связано с индукцией экспрессии гена *WRKY* в начальный период низкотемпературной адаптации. В пользу этого свидетельствует тот факт, что экспрессия генов *WRKY* происходит также в ответ на действие холода у арабидопсиса [13, 14] и ячменя [8]. Отметим, что экспрессию генов транскрипционных факторов *WRKY* у растений могут вызывать не только низкие температуры, но также солевой стресс [13, 15], обезвоживание [8, 13] и некоторые

патогены [14, 16]. Предполагается, что транскрипционные факторы *WRKY* регулируют экспрессию генов, участвующих в ответе растений на различные неблагоприятные воздействия, через их связывание с *cis*-элементами *W*-блока промотера [7, 17]. Однако поскольку в наших опытах уровень экспрессии гена *WRKY* и холодоиндуцируемых генов *Wcor15*, *Wrab17*, *Wrab19* и *Wcs120* у растений пшеницы начинал повышаться практически одновременно (в первые 15 мин действия низкой температуры), то, очевидно, транскрипционный фактор *WRKY* не участвует в регуляции экспрессии указанных генов. Попутно отметим, что у пшеницы накоплению транскриптов гена *Wcor15* предшествует аккумуляция транскриптов гена другого транскрипционного фактора – *Wcbf2* [18, 19], что указывает на участие последнего в регуляции экспрессии этого *Cor*-гена.

Проведенное нами исследование экспрессии *Cor*-генов в динамике позволило выявить ее изменения не только при краткосрочном действии (до 1 суток) низкой закалывающей температуры на проростки пшеницы, как это было сделано другими авторами [20, 21], но и при длительной адаптации (7 суток). В нашей работе был использован новый сорт озимой пшеницы Московская 39, отличающийся стабильной урожайностью, хорошим качеством зерна, высокой зимостойкостью, устойчивостью к мучнистой росе и бурой ржавчине [22]. Подчеркнем, что у растений этого сорта уровень экспрессии гена *Wcor15* повышался быстро (уже в первые минуты действия температуры 4°C) и достигал наибольшей величины на 2 сутки закалывания, когда холодоустойчивость также была близка к максимуму. В отличие от этого, у широко распространенного сорта пшеницы Мироновская 808 накопление транскриптов *Wcor15* происходило лишь через 4 ч действия температуры 4°C (анализ экспрессии ограничивался 24 ч), а их устойчивость достигала максимума через 3–5 суток [21]. Индукция экспрессии генов *Wrab17*, *Wrab19* и *Wcs120* в листьях проростков пшеницы сорта Московская 39 также отмечена раньше, чем у пшеницы сорта Мироновская 808 [23–25]. Таким образом, более быстрое формирование повышенной устойчивости растений пшеницы сорта Московская 39, обнаруженное в наших опытах, сопряжено с более быстрой экспрессией *Cor*-генов. Важно отметить, что увеличение холодоустойчивости пшеницы при краткосрочном действии низкой температуры было связано с экспрессией всех изученных генов – *Wcor15*, *Wrab17*, *Wrab19* и *Wcs120*. Вместе с тем, отдельно подчеркнем, что при продолжительном (до 7 суток) действии низкой закалывающей температуры рост устойчивости растений этого сорта пшеницы связан, прежде всего, с экспрессией генов *Wcor15* и *Wrab17*.

В механизмах адаптации растений к низким температурам важную роль играет АБК, которую часто называют гормоном стресса [10]. Один из возможных механизмов защитного действия АБК заключается в регуляции экспрессии различных групп генов, в том числе генов транскрипционных факторов и стрессовых белков [2, 10, 18, 26]. АБК-индуцируемые гены содержат в промоторной области последовательность нуклеотидов ABRE (от *ABA-responsive element*), вовлеченную в экспрессию генов. К числу индуцируемых АБК регуляторных белков относят транскрипционные факторы bZIP, MYC/MYB [11, 27]. В отличие от этого, транскрипционные факторы CBF/DREB считают АБК-независимыми [2, 28], хотя по некоторым данным экзогенная АБК способна индуцировать накопление транскриптов CBF-генов, но в значительно меньшей степени, чем низкая температура [9]. В проведенных нами экспериментах экзогенная АБК подавляла экспрессию гена транскрипционного фактора WRKY проростков пшеницы при холодом закаливании и не индуцировала аккумуляцию транскриптов при обычной температуре. Отметим, что у ячменя обработка АБК также не оказывала влияния на экспрессию гена *Hv-WRKY38* при нормальной температуре [8]. Таким образом, экспрессия холодоиндуцируемого гена транскрипционного фактора WRKY у растений, так же как и CBF-фактора, не является АБК-индуцируемой.

В отличие от этого, в присутствии экзогенной АБК в первые минуты низкотемпературного воздействия на проростки пшеницы отмечали значительное усиление экспрессии гена *Wcor15*, а через 2 суток от его начала – экспрессии генов *Wcor15*, *Wrab17* и в меньшей степени *Wrab19*. Важно, что и в условиях температуры 22°C экзогенная АБК индуцировала экспрессию *Wcor15*, *Wrab17* и *Wrab19*. Отметим, что подобное влияние этого фитогормона на экспрессию гена *Wrab19* у пшеницы при нормальной температуре подтверждается и другими авторами [20]. Таким образом, экспрессия указанных генов индуцируется АБК независимо от действующей температуры (низкая закалывающая или физиологически нормальная). В отличие от этого, экзогенная АБК ингибирует экспрессию гена *Wcs120* при холодом закаливании. При обычной температуре было отмечено слабое повышение экспрессии этого гена при краткосрочной обработке АБК, а при более длительном ее действии, так же как и на сорте пшеницы Fredrick [29], экспрессии этого гена не обнаружили. Таким образом, положительное влияние АБК на холодоустойчивость растений пшеницы, отмеченное нами, очевидно, связано с ее способностью регулировать экспрессию генов *Wcor15*, *Wrab17* и *Wrab19*.

В целом, обнаруженное нами значительное увеличение уровня экспрессии гена транскрипци-

онного фактора WRKY, предшествующее росту устойчивости, позволяет считать, что он участвует в формировании повышенной холодоустойчивости пшеницы в начальный период холодом закалывания. Увеличение устойчивости при краткосрочном действии низкой закалывающей температуры на растения пшеницы также связано с экспрессией генов *Wcs120*, *Wcor15*, *Wrab17* и *Wrab19*, а при длительной низкотемпературной адаптации – прежде всего, с экспрессией генов *Wcor15* и *Wrab17*.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 06-04-49107а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pearce R.S. Molecular Analysis of Acclimation to Cold // *Plant Growth Regul.* 1999. V. 29. P. 47–76.
2. Thomashow M.F. Plant Cold Acclimation: Freezing Tolerance Genes and Regulatory Mechanisms // *Annu. Rev. Plant Mol. Biol.* 1999. V. 50. P. 571–599.
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. М.: Наука, 2007. 54 с.
5. Ohno R., Takumi S., Nakamura C. Expression of a Cold-Responsive *Lt-Cor* Gene and Development of Freezing Tolerance during Cold Acclimation in Wheat (*Triticum aestivum* L.) // *J. Exp. Bot.* 2001. V. 52. P. 2367–2374.
6. 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.
7. Euglem T., Rushton P.J., Robatzek S., Somssich I.E. The WRKY Superfamily of Plant Transcription Factors // *Trends Plant Sci.* 2000. V. 5. P. 199–206.
8. Marè C., Mazzucotelli E., Crosatti C., Francia E., Stanca A.M., Cattivelli L. Hv-WRKY38: A New Transcription Factor Involved in Cold- and Drought-Response in Barley // *Plant Mol. Biol.* 2004. V. 55. P. 399–416.
9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. 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 / Л.: изд-во ВИР, 1976. С. 222–228.*

13. Seki M., Narusaka M., Ishida J., Najo 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.
14. Dong J., Chen C., Chen Z. Expression Profiles of the *Arabidopsis* WRKY Gene Superfamily during Plant Defense Response // *Plant Mol. Biol.* 2003. V. 51. P. 21–37.
15. Wei W., Zhang Y., Han L., Guan Z., Chai T. A Novel WRKY Transcriptional Factor from *Thlaspi caerulescens* Negatively Regulates the Osmotic Stress Tolerance of Transgenic Tobacco // *Plant Cell Rep.* 2008. V. 27. P. 795–803.
16. Liu X., Bai X., Wang X., Chu C. OsWRKY71, a Rice Transcription Factor, Is Involved in Rice Defense Response // *J. Plant Physiol.* 2007. V. 164. P. 969–977.
17. Euglem T., Rushton P.J., Schmelzer E. Early Nuclear Events in Plant Defense Rapid Gene Activation by WRKY Transcription Factors // *EMBO J.* 1999. V. 18. P. 4689–4699.
18. 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.
19. Ishibashi M., Kobayashi F., Nakamura J., Murai K., Takumi S. Variation of Freezing Tolerance, *Cor/Lea* Gene Expression and Vernalization Requirement in Japanese Common Wheat // *Plant Breed.* 2007. V. 126. P. 464–469.
20. 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.
21. 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.
22. Гаврикова О.М. Связь между составом белков и технологическими свойствами зерна у сортов озимой мягкой пшеницы: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. М.: Российский аграрный университет–МСХА, 2007. 24 с.
23. Sarhan F., Ouellett 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.
24. Ouellett F., Vazquez-Tello A., Sarhan F. The Wheat *Wsc120* Promoter Is Cold-Inducible in Both Monocotyledonous and Dicotyledonous Species // *FEBS Lett.* 1998. V. 423. P. 324–328.
25. Egawa C., Kobayashi F., Ishibashi M., Nakamura T., Nakamura C., Takumi S. Differential Regulation of Transcript Accumulation and Alternative Splicing of a *DREB2* Homolog under Abiotic Stress Conditions in Common Wheat // *Gen. Genet. Syst.* 2006. V. 81. P. 77–91.
26. 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.
27. Bhatnagar-Mathur H., Vades V., Sharma K.K. Transgenic Approaches for Abiotic Stress Tolerance in Plants: Retrospect and Prospects // *Plant Cell Rep.* 2008. V. 27. P. 411–424.
28. Xiong L., Schumaker K.S., Zhu J.-K. Cell Signaling during Cold, Drought, and Salt Stress // *Plant Cell.* 2002. Suppl. P. 165–183.
29. Houde M., Danyluk J., Laberté J.-F., Rassat E., Dhindsa R.S., Sarhan F. Cloning, Characterization, and Expression of a cDNA Encoding a 50-Kilodalton Protein Specifically Induced by Cold Acclimation in Wheat // *Plant Physiol.* 1992. V. 99. P. 1381–1387.