

УДК 577.21:57.045

Я.С. КОЛОДЯЖНАЯ², Н.К. КУЦОКОНЬ³,
Б.А. ЛЕВЕНКО¹, О.С. СЮТИКОВА¹,
Д.Б. РАХМЕТОВ¹, А.В. КОЧЕТОВ²

¹ Национальный Ботанический сад им.Н.Н. Гришко
НАН Украины, Киев

² Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

³ Институт клеточной биологии и генетической инженерии
НАН Украины, Киев

E-mail: borislevenko@yahoo.com,

E-mail: jana_k@bionet.nsc.ru

ТРАНСГЕННЫЕ РАСТЕНИЯ, ТОЛЕРАНТНЫЕ К АБИОТИЧЕСКИМ СТРЕССАМ



Проанализированы литературные источники о получении и изучении трансгенных растений, толерантных к различным видам абиотических стрессов, об известных в настоящее время механизмах защиты растений от стрессов, о генах, которые кодируют большой спектр соединений, придающих растениям способность выживать в условиях стрессов, значительно угнетающих развитие и даже летальных для контрольных растений.

© Я.С. КОЛОДЯЖНАЯ, Н.К. КУЦОКОНЬ, Б.А. ЛЕВЕНКО,
О.С. СЮТИКОВА, Д.Б. РАХМЕТОВ, А.В. КОЧЕТОВ, 2009

Введение

Различные абиотические стрессы, такие как холод, засуха, засоление, затопление, воздействие критических температур, токсические концентрации тяжелых металлов, высокая кислотность или щелочность почв, повышенное содержание озона, дефицит элементов минерального питания и т.д., снижают продуктивность сельскохозяйственных растений в два раза и более [1, 2], а при высокой интенсивности и достаточно долгой продолжительности стресса приводят их к гибели.

По данным FAO (Food, Agriculture Organization of the United Nations) приблизительно 22 % находящихся в сельхозпользовании земель являются засоленными, и с каждым годом это количество возрастает [3]. Засоление (первичное — природное, или вторичное — вызванное нарушениями ирригации) связано с наличием в почве избыточных количеств ионов натрия, кальция или магния, хлоридов, сульфатов или карбонатов. При содержании солей выше 0,20–0,25 % почвы считаются засоленными. По прогнозу через 25 лет 30 % земель станут не пригодными для сельскохозяйственного использования вследствие засоления.

Дефицит влаги приводит к снижению тургора клеток, закрытию устьиц, угнетению роста и уменьшению урожая. Воздействие критических температур понижает всхожесть семян и интенсивность фотосинтеза главным образом из-за повреждения компонентов фотосистемы II, локализованной в мембранах тилакоидов хлоропластов, уменьшается скорость поглощения углекислого газа и происходят нарушения мембранного транспорта. Нарушается также процесс окислительного фосфорилирования и синтез АТФ. Возрастает активность протеаз, что приводит к снижению содержания белков и повышению низкомолекулярных продуктов их распада, нарушается углеводный обмен [4]. В связи с глобальным потеплением засуха и высокотемпературный стресс становятся злободневными проблемами и для стран с более умеренным климатом. Высокотемпературный стресс подавляет процесс фотосинтеза, нарушает накопление продуктов фотосинтеза и рост растений. Учеными Международного института изучения риса на Филиппинах установлено, что среднесуточное повышение температуры уже на 1 °С приводит к снижению урожая риса на 15 %.

Для растений в стрессовом состоянии характерна дезинтеграция полирибосом, что приводит к нарушению синтеза полипептидов. Происходит образование «стрессовых гранул», функцией которых предположительно является приостановка синтеза неспецифических белков и защита матричной РНК от повреждения стрессовыми факторами. Нарушение ферментативных реакций, скорости передвижения субстратов, мембранного транспорта — все эти реакции характерны для растений, подвергшихся холодному стрессу [5]. Холодовой стресс происходит при понижении температуры от 20 до 0 °С и приводит у разных видов растений к ингибированию прорастания семян, развития цветков и семян (плодов), снижению урожая и времени его хранения. При снижении температуры ниже точки замерзания воды происходит гибель растений из-за внутри- и внеклеточных повреждений. Внутриклеточное охлаждение приводит к формированию кристаллов льда в цитоплазме, которые нарушают ее структуру. При внеклеточном замораживании происходит обезвоживание цитоплазмы за счет оттока воды в межклеточное пространство к формирующимся кристаллам льда.

Сложность селекционной работы по повышению устойчивости к абиотическим стрессам состоит в наличии большого комплекса генов, контролирующих реакцию растений на абиотические стрессы, многие из этих генов к тому же характеризуются сложной регуляцией [6, 7]. Показано, например, что при действии солевого стресса у растений изменяется экспрессия более 1500 генов [8]. Для достижения существенного увеличения стрессоустойчивости необходим отбор по многим генам, контролирующим этот комплексный признак. Этим в основном и объясняется отсутствие значительных достижений в традиционной селекции растений по устойчивости к абиотическим стрессам.

В связи со значительным отрицательным экономическим эффектом абиотических стрессов в последние годы внимание биотехнологов привлекают гены, изменяющие реакцию растений на стрессовые условия. Результатом биотехнологических разработок по модификации толерантности растений должно стать повышение стабильности урожая в стрессовых

условиях. Современная биотехнология в отличие от предыдущего этапа молекулярно-генетических исследований, целью которого было определение генов, изменяющих экспрессию в ответ на стресс, пытается связать изменения физиологических и фенотипических признаков при стрессе с регуляцией транскрипции, синтезом белков и их комплексов с устойчивостью вследствие мутаций генов или генно-инженерных манипуляций.

Можно следующим образом сгруппировать гены, влияющие на толерантность растений к абиотическим стрессам:

- гены, которые кодируют ферменты, участвующие в синтезе различных видов осмотических и других протекторов;
- гены, кодирующие белки, которые активно синтезируются на поздних стадиях эмбриогенеза (late embryogenesis abundant (LEA) protein genes);
- регуляторные гены, контролирующие развитие стрессового ответа;
- гены, регулирующие уровень фитогормонов;
- гены ответа на оксидативный стресс;
- гены молекулярных шаперонов;
- гены, кодирующие белки транспорта ионов (антипортеры и транспортеры, локализованные в плазмалемме и мембранах вакуолей и оргanelл);
- другие.

Гены, которые кодируют ферменты, участвующие в синтезе различных видов осмотических и других протекторов

В стрессовых условиях у растений происходит индукция генов, которые контролируют синтез соединений, опосредующих ответную реакцию растений на абиотические стрессы, в том числе гены ферментов синтеза и деградации совместимых осмолитов — низкомолекулярных органических соединений, не тормозящих в высоких концентрациях протекание клеточного метаболизма. К таким осмолитам относятся аминокислоты (пролин, аланин), четвертичные ионы (бетаин, глицинбетаин), сахара и сахароспирты (маннитол, сорбитол, трегалоза, инозитол), углеводы. Они понижа-

ют водный потенциал клеток, защищают ферменты от инактивации, обеспечивают целостность структурных белков и пр. [9–15]. Однако далеко не всегда повышение синтеза осмопротекторов приводило к повышению урожая [16]. Не исключено, что повышение синтеза этих соединений нивелируется за счет их плейотропного действия, а для повышения урожайности может требоваться их синтез в специфических органах и только во время действия стресса [17].

Достаточно интенсивно изучается роль пролина при абиотических стрессах: засолении, засухе, пониженной и повышенной температуре. Считается, что пролин регулирует кислотность цитозоля и поддерживает соотношение НАД⁺/НАДН, усиливает фотохимическую активность фотосистемы II в мембранах тилакоидов и снижает перекисное окисление липидов. Дополнительный синтез этой аминокислоты повышает общую устойчивость растений к абиотическим стрессам, так как пролин защищает мембраны, макромолекулы и структурные элементы клетки, приводя таким образом к повышению неспецифической устойчивости [11, 18–23]. У некоторых видов растений содержание пролина в стрессовых условиях может достигать 10 % сухой массы листьев, однако в большинстве случаев оно составляет 20–30 мг/г сухой массы. Данные по корреляции между содержанием пролина и устойчивостью к абиотическим стрессам довольно противоречивы, что в определенной мере связано со значительными колебаниями содержания этой аминокислоты в разные периоды роста растений и даже в течение суток. Практически все клеточные линии, полученные на засоленных средах, а также регенеранты характеризовались повышенным содержанием пролина [24]. Показано резкое повышение уровня свободного пролина в проростках и корнях ржи при засолении субстрата солями морской воды. Для солеустойчивого сорта Славутич М-1 с увеличением уровня засоления наблюдали резкое увеличение коэффициента стойкости – отношения концентрации свободного пролина при засолении к его исходному значению [25]. Для некоторых культур показана прямая корреляция между уровнем суперсинтеза пролина и устойчивостью к засолению, засухе и воздействию низких температур [23, 26, 27].

Пролин синтезируется из глутамина или орнитина. Показано, что в стрессовых условиях доминирует синтез пролина из глутамина [9], и пирролин-5-карбоксилатсинтетаза (*P5CS*), ключевой бифункциональный фермент биосинтеза пролина, являющийся «бутылочным горлышком» в биосинтезе этой аминокислоты, играет главную роль при стрессовых воздействиях [28]. Известно, что в геноме арабидопсиса имеются два гена, контролирующих синтез *P5CS*. Один из генов (*AtP5CS2*) содержит *DRE* (dehydration responsive element) элементы кодирующей последовательности, второй (*AtP5CS1*) не имеет этих элементов, но оба гена активируются низкой температурой, засухой, наличием повышенных концентраций соли, осмотическим стрессом [7, 29].

Трансгенные эмбриогенные агрегаты клеток лиственницы *Larix leptoeuropaea* со встроенным геном *P5CS* характеризовались повышением содержания пролина в 30 раз по сравнению с контролем и были способны к росту в условиях засоления и пониженных температур, в то время как рост нетрансформированных клеток полностью подавлялся [23]. Трансгенные растения картофеля, несущие ген *P5CS* арабидопсиса, также характеризовались повышенным содержанием пролина и солеустойчивостью, тогда как у контрольных растений в условиях солевого стресса урожайность падала на 63 % [30]. Ген *P5CS*, клонированный из вигны борцелистной *Vigna aconitifolia*, был использован для трансформации табака, риса и пшеницы [19, 22, 31]. В трансгенных растениях табака и петунии наблюдали возрастание свободного пролина и повышение устойчивости к засухе. Эффективность фотосинтеза фотосистемы II у трансгенных растений также была выше на 65 % [19, 27, 32]. При суперэкспрессии гена *P5CS* фасоли в зеленой микроводоросли *Chlamydomonas reinhardtii* отмечена способность к выживанию в присутствии токсических концентраций ионов кадмия (100 мМ). Так как содержание пролина коррелировало с уровнем малонилдальдегида (МДА), было высказано предположение, что свободный пролин оказывает антиоксидантное действие в присутствии ионов кадмия [33].

Другим ферментом синтеза пролина является орнитинаминотрансфераза (ОАТ). Созданы

трансгенные растения *Nicotiana plumbaginifolia* [34], экспрессирующие ген ОАТ арабидопсиса. Генетически модифицированные (ГМ) растения отличались повышенной активностью ОАТ и уровнем свободного пролина по сравнению с контролем. В условиях осмотического стресса трансформанты имели большую биомассу и более высокую всхожесть семян, чем нетрансгенные растения. Однако роль этого гена в контроле стрессоустойчивости растений пока остается под вопросом, поскольку его тип экспрессии отличается от типичных стресс-специфических вариантов.

Другим подходом для получения трансгенных растений с повышенным содержанием пролина является ингибирование ферментов деградации пролина. Трансгенные растения арабидопсиса с геном пролиндегидрогеназы в антисмысловой ориентации были более устойчивы к заморозкам и засолению по сравнению с контрольными растениями [35].

При введении в растения табака фрагмента гена пролиндегидрогеназы в антисмысловой ориентации были получены растения с повышенным содержанием пролина. Повышенную солеустойчивость демонстрировали как проростки, так и растения, выращенные до стадии двух листьев в контрольных условиях, а затем пересаженные на среды с добавлением 300, 400 и 500 мМ хлорида натрия. В этих экспериментах контрольные растения табака быстро погибали на среде с 400 мМ NaCl, ГМ растения выживали на среде с 500 мМ хлорида натрия в течение 2–3 нед. Трансгенные растения характеризовались также повышенной устойчивостью к осмотическому стрессу, о чем судили по сохранности мембран после погружения дисков листьев в 40%-ный раствор ПЭГ-6000 [36, 37]. Интересным фактом оказалась устойчивость трансгенных растений с повышенным уровнем пролина к токсическим концентрациям солей тяжелых металлов — кадмия, никеля, свинца, ртути. ГМ растения характеризовались меньшим отставанием в росте, признаки хлороза у них были менее выражены или практически отсутствовали [38]. По-видимому, увеличенное содержание пролина способствует повышению неспецифической стрессоустойчивости, возможно, за счет его антиоксидантной и осмопротекторной функций.

Установлено, что другой совместимый осмолит — глицинбетаин — защищает некоторые ферменты растений от высокотемпературной инактивации [39]. Фотосистема II чувствительна к воздействию высоких температур, а введение генов, экспрессия которых увеличивала содержание в растениях бетаинов, обеспечивало защиту белков фотосистемы [40, 41]. Синтез глицинбетаина у *A. thaliana* повышал толерантность к солевому и холодному стрессам [42, 43]. Внесение бактериального *betA* гена, кодирующего холиндегидрогеназу, в растения табака привело к накоплению глицинбетаина и повышению солеустойчивости трансгенных растений, увеличению зеленой массы ГМ растений, выращенных при 300 мМ NaCl, на 80 % по сравнению с контролем [44]. Показано и повышение устойчивости растений к засухе при экспрессии этого гена в растениях кукурузы [45]. Рис метаболизирует бетаинальдегид в глицинбетаин и является сравнительно солеустойчивым видом. При дополнительной экспрессии гена *betA* в хлоропластах риса наблюдалось эффективное накопление глицинбетаина и повышение солеустойчивости [46]. Китайскими учеными при введении гена бетаинальдегиддегидрогеназы шпината в растения табака показано повышение синтеза глицинбетаина и, как следствие, повышение жароустойчивости: при температуре 45 °С растения были способны к фотосинтезу [47]. Введение гена *codA* холиноксидазы в геном растений арабидопсиса и риса привело к увеличению уровня бетаина в хлоропластах ГМ растений и более высокой устойчивости при солевом, низко- и высокотемпературном стрессах, повышенном уровне освещения [48, 49]. В семенах растений *A. thaliana*, экспрессирующих этот ген, отмечен высокий уровень накопления глицинбетаина, что коррелирует с большей устойчивостью к воздействию повышенных температур, причем наблюдалась большая устойчивость и к кратковременным воздействиям (экспозиция в течение 1 ч при 50–55 °С), и к более длительному действию стрессового фактора (3 сут при 30–32,5 °С). Отмечена корреляция между степенью устойчивости к повышенной температуре, уровнем активности холиноксидазы и накоплением глицинбетаина. Изучение инактивации фотосинтеза у полученных ГМ расте-

ний риса, характеризующихся повышенным содержанием глицинбетаина в хлоропластах и цитозоле, показало, что трансгенные растения с хлоропластной локализацией продукта трансгена были более устойчивы по сравнению с трансгенными растениями с цитозольной локализацией продукта [43].

В качестве низкомолекулярных осмолитов, повышающих устойчивость растений, могут выступать полиамины [15, 50, 51]. Введение в геном растений риса и табака генов S-аденозилметиониндекарбоксилазы (*SAMDC*) или аргининдекарбоксилазы (*ADC*) — ключевых ферментов биосинтеза полиаминов — привело к усилению засухо- и солеустойчивости, а также устойчивости к грибным патогенам [51–56]. Биохимический анализ трансгенных растений, экспрессирующих этот ген, показал четырехкратное увеличение уровня полиамина путресцина по сравнению с контрольными растениями, однако в некоторых случаях модификация метаболизма полиаминов коррелировала с замедлением роста и дефектами развития растений.

Кроме того, осморегуляция клеток растений осуществляется за счет синтеза сахаров или сахароспиртов. Фруктаны — полисахариды, накапливающиеся во многих растениях и бактериях. Примерно 45 000 видов растений используют фруктаны в качестве основного типа углеводов [57]. Поскольку фруктаны растворимы, они также могут играть роль регуляторов осмотического давления. Чтобы создать трансгенные растения табака, накапливающие фруктаны (в норме у табака они не синтезируются), использовали ген *SacB* из *Bacillus subtilis*. В условиях засухи скорость роста ГМ растений была выше на 55 %, а прирост массы на 59 % больше, чем у контрольных растений [58].

Трегалоза является дисахаридом, состоящим из двух соединенных α -связями молекул глюкозы, и встречается у бактерий, грибов, насекомых и некоторых групп растений. Виды растений, синтезирующих трегалозу, часто являются очень устойчивыми к засухе. Гены *E. coli otsA* и *otsB*, кодирующие соответственно трегалозо-6-фосфатсинтазу и трегалозо-6-фосфатфосфатазу, вводили в растения табака. У растений, которые экспрессируют ген дрожжей *tpsI*, кодирующий трегалозо-6-фосфатсинтазу, усили-

вался синтез трегалозы и повышалась устойчивость к засухе [59]. У таких ГМ растений наблюдали также более эффективный фотосинтез [58]. Повышенная экспрессия бактериального гена биосинтеза трегалозы в растениях риса вызвала значительное возрастание устойчивости полученных растений к засолению, засухе и воздействию низких температур [17].

Маннитол также может играть заметную роль в адаптации растений к неблагоприятным воздействиям [60]. Его роль как осмопротектора отмечена при засухе [61] и засолении [62]. В то же время было показано, что маннитол оказывает антиоксидантный эффект в стрессовых условиях [63,64]. При введении в табак бактериального гена *mild*, контролирующего синтез маннитол-1-фосфатдегидрогеназы, отмечено накопление маннитола и повышение устойчивости к солевому стрессу [65]. Интересен также и тот факт, что растения баклажана, экспрессирующие бактериальный ген *mild* и характеризующиеся повышенным содержанием маннитола, обладали повышенной устойчивостью к трем грибным инфекциям, вызываемым *Fusarium oxysporum*, *Verticillium dahliae* и *Rhizoctonia solani*. Таким образом, экспрессия этого гена повышает устойчивость к биотическим и абиотическим стрессам [56].

Трансгенные растения табака, несущие бактериальный ген левансахаразы (*levU*) *Zymomonas mobilis*, характеризуются повышенным темпом роста в условиях осмотического стресса, вызванного добавкой полиэтиленгликоля (ПЭГ), или холодового стресса [66]. При введении в табак гена *imt1* инозитолметилтрансферазы, кодирующей синтез β -инозитола, и гена *stpd1*, обеспечивающей синтез сорбитол-6-фосфатдегидрогеназы, у полученных ГМ растений наблюдали повышение солеустойчивости и устойчивости к водному стрессу [67, 68]. Введение гена *imt*, клонированного из хрустальной травки *Mesembryanthemum crystallinum*, в геном сои привело к усилению синтеза ононитола в 10–80 раз и увеличению стрессоустойчивости [69].

Изучение ферментов гликолиза и ферментации спиртов показало их связь с устойчивостью к анаэробному стрессу. ГМ растения табака и риса с повышенной экспрессией гена *pdv*, кодирующего фермент пируватдекарбоксилазу,

и гена *adh* синтеза алкогольдегидрогеназы характеризовались устойчивостью к затоплению [70].

Для получения засухоустойчивых трансгенных растений рассматривается подход, связанный с введением различных генов: синтеза пролина – гена *P5CS* арабидопсиса или *Vigna*, гена *SacB*, кодирующего синтез левансахаразы *Bacillus subtilis*, гена *codA* [71]. Трансформация растений табака этими генами привела к получению линий, характеризующихся повышенным содержанием пролина, глицинбетаина и фруктана соответственно. Полученные трансгенные растения были способны выдерживать воздействие отрицательных температур ($-2\text{ }^{\circ}\text{C}$) при экспозиции 24 ч без повреждения, в то время как контрольные растения после такой обработки теряли тургор и погибали [72, 73].

Адаптация растений к заморозкам сопровождается экспрессией *cor* (cold-regulated) генов. Ген *cor15a* арабидопсиса экспрессируется в ответ на низкие температуры, засуху и на присутствие абсцизовой кислоты (АБК) [74]. Ряд этих генов экспрессируются только при низкой температуре, но некоторые также индуцируются и другими видами стрессов. Многие из этих белков являются дегидринами, и часть их обладает криопротекторными свойствами [75]. Были получены трансгенные растения арабидопсиса, конститутивно экспрессирующие *cor15a*, исследование которых показало, что экспрессия трансгена усиливает морозоустойчивость хлоропластов трансгенных растений *in vivo* примерно на $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ по сравнению с контрольными растениями [76].

Для поддержания гомеостаза при наличии токсических концентраций тяжелых металлов растениями из глутатиона синтезируются специальные пептиды – фитохелатины (ФХ). ФХ связывают тяжелые металлы, образуя комплексные соли, препятствуя, таким образом, взаимодействию ионов металла с цитоплазматическими белками [77, 78]. Они формируют комплексы с Cd, Ag, Bi, Pb, Zn, Cu, Hg, Au, As, Sb, Ni, Au, Sn, SeO_3^{2-} , Sb, Te, обеспечивая их детоксикацию. Устойчивость к тяжелым металлам обеспечивают также низкомолекулярные белки, богатые цистеином – металлотионеины, способные связывать тяжелые металлы в цитозоле, что играет важную роль в поддер-

жании клеточного гомеостаза [79, 80]. Эти свойства характерны и для ФХ, однако ферментативный синтез последних служит отличительным признаком: металлотионеины являются продуктом трансляции с мРНК.

Положительные результаты были достигнуты при получении ГМ растений ярутки полевой *Thlaspi goesingense*, экспрессирующих металлотионеиновый ген *TgMTP1* [81], что обеспечивало перекачивание ионов никеля из внутриклеточного пространства в вакуоли и увеличивало способность накапливать такие ионы.

У дрожжей описан ген *YCF1*, экспрессия которого приводит к формированию комплексов с глутатионом, их транспорту в вакуоли и обеспечению устойчивости к кадмию, мышьяку и ртути. Встраивание этого гена в геном арабидопсиса привело к значительному повышению устойчивости растений к свинцу и кадмию, а также к более чем двукратному увеличению аккумуляции этих металлов в побегах ГМ растений по сравнению с контрольными [82]. Ген, кодирующий белок *MMT1* металлотионеиновой группы, был выделен из гриба *Magnaporthe grisea*, и его экспрессия в растениях риса приводила к устойчивости растений к высоким концентрациям ионов цинка и меди [83].

В цветную капусту был введен дрожжевой ген устойчивости к тяжелым металлам (*CUP1*), кодирующий металлотионеин [84]. ГМ растения хорошо росли в присутствии 400 мМ кадмия, в то время как для нетрансгенных растений капусты концентрация 50 мМ являлась летальной. При введении этого же гена в геном табака выявлено повышение устойчивости к меди и цинку [85].

Получены ГМ растения, устойчивые к ртути [86]: в хлоропластный геном растений табака были перенесены бактериальные гены *E. coli merA* и *merB*, ответственные за синтез ферментов лиазы и редуктазы ионов ртути. У растений ртуть в первую очередь повреждает хлоропласты, ингибирует транспорт электронов и фотосинтез, повреждает тилакоидные мембраны и замещает Mg^{2+} в молекуле хлорофилла. У ГМ растений рост в присутствии 400 мМ соли ртути не был угнетен, а содержание хлорофилла было выше, чем у контрольных растений.

Белки поздних стадий эмбриогенеза (LEA)

Это группа гидрофильных белков, влияющих на толерантность растений к различным типам абиотических стрессов [87]. Ген *hva1* ячменя кодирует белок группы *LEA* и индуцируется АБК и дефицитом влаги. При введении гена *hva1* в геном шелковицы полученные трансгенные растения характеризовались повышенной стабильностью клеточных мембран, усилением фотосинтеза, меньшим повреждением при фотооксидативном стрессе. В условиях засоления трансгенные растения характеризовались многократным повышением содержания пролина, тогда как при водном стрессе повышение содержания свободного пролина наблюдали только у контрольных растений. Интересным фактом явилось различие в реакции линий ГМ растений шелковицы на разные типы стрессов: отмечено повышение устойчивости или к засолению, или к засухе, или к обоим типам стресса [88].

Трансгенные растения риса, экспрессирующие этот ген, характеризовались устойчивостью к водному дефициту и засолению [89]. Трансгенные растения табака, экспрессирующие ген *LEA* тамарикса (*Tamarix androssowii*), также показали повышенную устойчивость к засухе [90].

В растения табака *N. tabacum* и дикорастущего картофеля *Solanum commersonii* был введен ген *inaZ* бактерии *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, который кодирует белок, являющийся центром кристаллизации льда. У трансгенных растений обоих видов наблюдали повышенную кристаллизацию льда по сравнению с контрольными растениями. Трансгенные растения обоих видов способны выживать при температурах от -4 до -12 °С. Предполагают, что именно формирование мелких кристаллов льда снижало повреждающее воздействие кристаллообразования [91].

Регуляторные гены

В геноме растений содержится большое число генов транскрипционных регуляторов. Считается, что правильная модификация регуляторов транскрипции может привести к изменению экспрессии одновременно многих генов, участвующих в стрессорном ответе, и таким об-

разом существенно изменить реакцию растений [92, 93]. Большинство регуляторов транскрипции относятся к нескольким крупным семействам, таким как *AP2/ERF*, *bZIP*, *NAC*, *MYB*, *MYC*, *LEA*, *Cys2His2* и *WRKY* [94–96].

Белки *WRKY* являются транскрипционными регуляторами, влияющими на ряд биологических процессов растений. Изучение гена *OsWRKY89* риса показало, что на его экспрессию значительное влияние оказывают метилжасмонат и УФ излучение. Суперэкспрессия гена *OsWRKY89* приводила к задержке роста на ранних стадиях развития растений, уменьшению длины междоузлий и отложению воска на листьях, что, вероятно, и явилось причиной повышения устойчивости линий с суперэкспрессией этого гена к УФ радиации и грибной инфекции [97]. Экспрессия этого гена у табака привела к повышению устойчивости к осмотическим стрессовым воздействиям [96].

Ген *Osmyb4* риса кодирует синтез транскрипционного фактора *Myb4*, индуцируемого холодом, и у трансгенных растений арабидопсиса усиливает их устойчивость к низким положительным температурам и заморозкам [98]. Установлено, что суперэкспрессия *Osmyb4* повышает устойчивость растений арабидопсиса к засухе, вызванной прекращением полива в течение 15 дней. Обнаружено также, что ряд растворимых метаболитов — глюкоза, фруктоза, сахароза, пролин, глицинбетаин — накапливаются у трансгенных растений в значительно большем количестве в обычных и стрессовых условиях, чем у контрольных растений. Количество мРНК, кодирующей пирролин-5-карбоксилатсинтетазу и пирролин-5-карбоксилатдегидрогеназу у трансгенных растений, было выше и ниже соответственно. Можно предположить, что транскрипционный фактор *Myb4* является активатором многих компонентов ответа растений на стрессовые воздействия [99].

Транскрипционный фактор семейства *Y* (*AtNF-YB1*) *A. thaliana* улучшал засухоустойчивость растений благодаря ранее неизвестному механизму. Ортолог этого гена обнаружен у кукурузы *ZmNF-YB2*. Растения кукурузы с усиленной экспрессией гена демонстрировали повышенную стойкость к засухе по ряду параметров, включая содержание хлорофилла, состояние

устийц, температуру листьев, снижение скручивания листьев и поддержание фотосинтеза. В условиях засухи трансгенные растения характеризовались повышением урожая зерна [100].

Известно семейство генов *CBF*, контролирующей экспрессию генов холодоустойчивости *cor* [101–103]. В результате агробактериальной трансформации были получены трансгенные растения папайи, несущие гены *CBF* арабидопсиса и устойчивые к воздействию низких температур [104]. ГМ растения выдерживали двухдневную экспозицию при отрицательной температуре, что было летально для контрольных растений.

Так как многие реакции растений при холодовом и водном стрессах схожи, можно предположить, что эти растения будут более устойчивы к засухе. Интродукция в геном растений томата кДНК гена *CBF1* также приводила к повышенной устойчивости к холоду, водному и солевому стрессам, однако эти ГМ растения характеризовались карликовым фенотипом и снижением количества завязываемых плодов [105].

При экспрессии в геноме томата гена *SAP1F1*, выделенного из генома перца, показано его влияние на гены, участвующие в ответах на стрессовые факторы и патогенез. Полученные трансгенные растения томата демонстрировали повышенную устойчивость к холодовому стрессу, причем уровень устойчивости коррелировал с уровнем экспрессии гена *SAP1F1* [106].

Суперэкспрессия другого регулятора транскрипции *Alfin1* в растениях люцерны повышала уровень мРНК эндогенного гена *MsPRP2*, индуцируемого при засолении, и приводила к повышению солеустойчивости [107]. Экспрессия гена *DREB1A* приводила к сильной конститутивной экспрессии стресс-индуцируемых генов, повышенной толерантности растений арабидопсиса и томата к холоду, солевому и водному стрессам [108, 109]. Суперэкспрессия этого гена также усилила засухо- и холодоустойчивость трансгенных растений пшеницы, табака и арахиса [110–114].

Показано, что экспрессия митоген-активируемой протеинкиназы табака *NPK1* индуцировала оксидативный сигнальный каскад, что приводило к холодо-, жаро-, соле- и засухоус-

тойчивости трансгенных растений кукурузы [115, 116].

Гены, регулирующие уровень фитогормонов

В клетке имеется целый ряд соединений, которые являются сигнальными молекулами и индуцируют ответную реакцию генома на стресс. Например, термотолерантность растений включает в себя действие по крайней мере трех типов гормонов: этилена, салициловой кислоты и АБК [117]. Установлено, что многие гены, участвующие в засухоустойчивости, регулируются АБК, что свидетельствует о ее ключевой роли в сигнальной трансдукции. После обработки каллуса АБК он становился устойчивым к обезвоживанию [118]. Показано участие двух семейств транскрипционных факторов *bZIP* и *MYB* в сигнальной трансдукции АБК и активации генов синтеза АБК. Трансгенные растения салата латука (*Lactuca sativa* L.) с геном *ABF3* арабидопсиса, кодирующим транскрипционный фактор для экспрессии АБК-чувствительных генов, гораздо лучше переживали засуху и холодовой стресс (до -4°C) по сравнению с растениями дикого типа [119].

Трансгенные растения рапса *Brassica napus*, экспрессирующие бактериальную аминокислотопропанкарбоксилатдезаминазу, характеризовались снижением уровня синтеза этилена при стрессе, а также повышением устойчивости к засолению и затоплению [120]. Устойчивостью к затоплению и способности к росту в условиях гипоксии корневой системы демонстрировали также растения томатов, экспрессирующие этот ген [121]. Идентифицирован этилен-чувствительный ген *Sub1A* – один из трех генов локуса *Sub1* у риса. Суперэкспрессия этого гена у сорта риса, неустойчивого к этому виду стресса, привела к повышенной устойчивости к затоплению. Упомянутый ген относится к транскрипционному фактору *ERF* (*ethylene response factors*), который действует при повышенном уровне этилена. Показано, что повышенная экспрессия любого из генов этой группы приводит также к возрастанию устойчивости к засухе, засолению и холоду [122, 123].

Продукт гена *ipt* – фермент изопентенил-трансфераза катализирует ключевой этап биосинтеза цитокининов. Трансгенные растения табака *N. tabacum* и *N. sylvestris*, экспрессирующие

щие этот ген, были более устойчивы к засухе (7 дней без полива) и высокой температуре (10 мин, 45 °С). У них отмечена повышенная водоудерживающая способность и снижение транспирации при водном дефиците [124, 125]. Трансгенные растения картофеля с этим геном характеризовались повышенным уровнем цитокининов и более высокой устойчивостью к затоплению по сравнению с контролем, что свидетельствует о защитном действии цитокининов при стрессе [126].

Гены ответа на оксидативный стресс

При всех абиотических стрессовых условиях растения претерпевают оксидативный стресс, связанный с усиленным образованием активированных форм кислорода. Эти формы кислорода образуются в различных субклеточных компартментах и реагируют с ДНК, липидами и белками. В нормальных условиях активированные формы кислорода эффективно детоксицируются при помощи ряда механизмов. Однако, если длительность стресса или его интенсивность превышают возможности системы детоксикации, происходит поражение клеток. Среди защитных механизмов клеток от абиотических стрессов и, в частности, от оксидативного стресса главную роль играют супероксиддисмутаза (СОД), аскорбатпероксидаза и каталазы [127].

СОД бывают митохондриальными (MnSOD), цитозольными (Cu/ZnSOD) и хлоропластными (Cu/Zn и FeSOD). Поскольку эти ферменты обеспечивают защиту от активных форм кислорода, то считается, что в трансгенных растениях имеет смысл экспрессировать гены СОД, защищающие различные компартменты [128]. Активированный кислород и свободные радикалы кислорода являются причиной ряда биохимических, физиологических и генетических нарушений у растений. С целью изучения связи между окислительным стрессом и повреждением при заморозках в митохондриальный и хлоропластный геномы растений люцерны была введена кДНК гена *Mn-SOD*. Некоторые трансгенные растения имели повышенную активность СОД, повышенную устойчивость к гербициду дифенилэфир (акифторфен) и характеризовались устойчивостью к заморозкам. При возрастании активности *Mn-SOD* у

большинства трансгенных растений активность *Cu/Zn-SOD* была снижена в хлоропластах. Изучение зимостойкости трансгенных и контрольных растений показало повышение ее уровня у трансгенных растений в два раза [129]. Молекулярный анализ показал, что *Mn-SOD* играет защитную роль в снижении повреждающего действия отрицательных температур. ГМ растения табака с этим геном были способны поддерживать фотосинтетическую активность на уровне 90 % нормы после воздействия низкой положительной температурой при высокой интенсивности освещения в течение 4 ч. У контрольных растений в аналогичных условиях отмечалось снижение уровня фотосинтеза. Трансгенные растения характеризовались также снижением повреждающего воздействия гербицида метилвиологена [130].

Были получены растения рапса *Brassica napus*, которые несут митохондриальный ген *WMnSOD1 Triticum aestivum*, экспрессирующийся в присутствии ионов алюминия. Эти растения показали большую устойчивость к повышенной концентрации алюминия (200 мМ) [131]. У них был выше процент неповрежденных клеточных мембран и менее выражены фенотипические проявления токсического воздействия (побеление листовых пластинок), чем у контрольных растений. Показано, что у ГМ растений уровень активности СОД был в 1,5–2,5 раза выше, а уровень МДА существенно ниже. Описаны трансгенные растения виргинской сосны *Pinus virginiana* Mill. с увеличенной активностью антиоксидантных ферментов (аскорбатпероксидазы, глутатионредуктазы и СОД) [132]. Исследования показали, что эти растения обладают повышенной устойчивостью к различным стрессам, что существенно увеличивает выживаемость сосен, в частности, на загрязненных металлами почвах. Получены трансгенные растения кукурузы, риса и томатов с увеличенным уровнем нескольких антиоксидантных ферментов. Трансгенная кукуруза с повышенным уровнем магний- и железо-СОД меньше повреждалась при оксидативном стрессе при анализе проб *in vitro* и характеризовалась хотя и небольшим, но стабильным темпом роста при пониженной температуре и повышенной устойчивостью к метилвиологену [133]. Трансгенные растения та-

бака с экспрессией гена *Fe-SOD* в хлоропластах характеризовались повышенной устойчивостью к оксидативному стрессу [134]. Трансформанты табака, экспрессирующие кДНК гена СОД люцерны, были устойчивы к параквату, тяжелым металлам, перекиси водорода, хлориду натрия, УФ-облучению и способны отрастать после 35-дневного периода засухи [135].

Для изучения роли H_2O_2 в сигнальной трансдукции при абиотических стрессах были получены трансгенные растения, дефектные по экспрессии каталазы. Известно, что H_2O_2 может активировать локальные и системные защитные механизмы против патогенов. Активирование локальных защитных механизмов происходило при дозах H_2O_2 , которые не приводили к повреждению или гибели клеток. У *Arabidopsis thaliana* было установлено, что оксидативный стресс индуцирует экспрессию гена, кодирующего аннексиноподобный белок, который участвует в восстановлении устойчивости к перекиси водорода у мутанта дельта-окси *R. E. coli*. Для определения роли этого белка в устойчивости растений к стрессам он был введен в растения индийской горчицы *Brassica juncea*. Трансгенные растения оказались более устойчивыми к засолению [136].

Синтез одного из наиболее агрессивных гидроксильных радикалов зависит от наличия свободного Fe^{2+} . Изучено влияние синтеза железосвязывающего белка — ферритина — на оксидативный стресс в зеленых тканях трансгенных растений табака. Растения, накапливающие ферритин люцерны в вегетативных тканях, характеризовались устойчивостью к гербициду параквату и снижением величины некротических зон после вирусной, грибной и бактериальной инфекции [137].

Гены молекулярных шаперонов

Одним из ответов организмов на повышенную температуру является синтез белков теплового шока, среди которых *hsp70* является консервативным у многих видов и значительно индуцируемым при повышенной температуре [138]. Одна из функций белков теплового шока заключается в создании условий для правильной конформационной укладки белковых молекул. В результате различных стрессовых воздействий в клетке появляются час-

тично денатурированные белки, что активирует систему стрессорного ответа. Установлено, что синтез *hsp70* коррелирует с толерантностью к высокой температуре. Конститутивный синтез белков теплового шока в проростках трансгенных растений *A. thaliana* усиливал их толерантность к высокой температуре [139]. Растения томата были трансформированы конструкцией, несущей ген белка теплового шока арабидопсиса *hsf*, слитый с геном *GUS*. Плоды трансгенных растений были более устойчивыми к воздействию высоких ($47^\circ C$) и низких ($-2^\circ C$) температур в течение 4 нед хранения. Молодые растения в поколении T_2 выдерживали теплое воздействие ($47^\circ C$ в течение 12 ч), тогда как контрольные растения при подобной обработке характеризовались сильным угнетением роста [140].

Гены, кодирующие протонные помпы, антипортеры и транспортеры ионов

Сохранение ионного гомеостаза клеток — один из ключевых моментов в обеспечении устойчивости растений к повышенному содержанию минеральных солей в корнеобитаемом слое почвы. Повышения солеустойчивости можно добиться путем транспорта избытка токсичных ионов в вакуоли при сохранении низкого содержания $NaCl$ в цитоплазме. При усилении уровня экспрессии гена, обеспечивающего функционирование ионного насоса Na^+/H^+ , наблюдали солеустойчивость у растений арабидопсиса [141]. При введении гена *AtNHX1*, кодирующего вакуолярный транспортный белок арабидопсиса, в *B. napus* отмечена способность растений к росту в присутствии 250 мМ $NaCl$ без существенного влияния на урожай семян [142]. Повышенная экспрессия этого гена приводила к значительному повышению солеустойчивости у ГМ растений сахарной свеклы [143].

Гены *A. thaliana AtHal3a* и *AtHal3b* имеют значительную гомологию с геном *Hal3* дрожжей, регулирующим клеточный цикл и устойчивость к солевому стрессу. Оба гена индуцировались при солевом стрессе. Трансгенные растения арабидопсиса, содержащие ген *AtHAL3a*, характеризовались повышенной толерантностью к солевому (100 мМ $NaCl$) и осмотическо-

му стрессам (200 мМ сорбита) [144]. У трансгенных растений томата с геном дрожжей *Hal1* отмечено значительное возрастание содержания воды в листьях при засолении по сравнению с контрольными. Они также характеризовались способностью поддерживать высокое содержание K^+ в присутствии повышенных концентраций Na^+ в листьях и клетках каллуса, что предполагает нейтрализацию повышенного содержания ионов Na^+ путем накопления ионов K^+ . Накопление пролина у трансгенных растений было менее значительным, чем у исходных растений [145].

Экспрессия генов *ZntA* у *Escherichia coli* и *CAD2* у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* [146] обеспечивает значительное увеличение устойчивости этих микроорганизмов к цинку. Ген *ZnTA*, кодирующий *Pb* (II)/*Cd* (II)/*Zn* (II) насос, который отвечает за выведение ионов этих металлов из клетки, был использован для трансформации арабидопсиса [147]. У полученных ГМ растений белок, кодируемый этим геном, локализован в плазматической мембране. Выведение токсических веществ в межклеточное пространство привело к нормализации роста в присутствии ионов кадмия (70 мМ) и свинца (0,7 мМ). У ГМ растений не было выраженных признаков хлороза, масса растений также была больше.

У табака выделен белок *NtCBP4*, который связан с плазматической мембраной, а по структуре сходен с калиевыми и неселективными ионными каналами. ГМ растения табака с повышенным синтезом этого белка более устойчивы к повышенным концентрациям никеля [148].

В присутствии Ni^{2+} у ГМ растений содержание хлорофилла было выше, чем у растений дикого типа. При этом устойчивость к никелю не зависела от стадии развития растений и выявлена даже у каллусной культуры, что объясняется аккумуляцией меньших количеств Ni^{2+} клетками ГМ растений по сравнению с контрольными.

При экспрессии генов арабидопсиса *SAX1* (Ca^{2+}/H^+ насоса) и *SAX2* (металл/ H^+ насоса вакуолей) растения табака были способны накапливать в вакуолях большие количества ионов кальция и ионов тяжелых металлов и были более устойчивы к повышенному содер-

жанию в окружающей среде ионов Mn^{2+} (0,5 мМ) и Cd^{2+} (10 мМ) [149].

Белки аквапорины облегчают транспорт воды через клеточные мембраны. Полученные трансгенные растения арабидопсиса, экспрессирующие ген *VfPIP1* семейства бобовых, характеризовались более интенсивным ростом, низкой скоростью транспирации и большей засухоустойчивостью по сравнению с контрольными растениями [150].

Другие гены

В условиях стресса растения способны синтезировать различные белки, при этом активируется синтез некоторых ферментов. Кальциневрин (*CaN*) – фосфатаза, играющая главную роль в регуляции ионного гомеостаза у дрожжей. Трансгенные растения табака, экспрессирующие этот ген, проявляли устойчивость к засолению [151, 152]. Установлено, что гидрофильный устойчивый при кипячении белок *BspA* осины (*Populus tremula* L.) синтезируется при водном стрессе и индукции АБК. Полученные трансгенные растения осины, экспрессирующие этот ген, характеризовались повышенной устойчивостью к водному стрессу и засолению [153]. Известно, что устойчивые к кипячению белки участвуют в обеспечении устойчивости к различным стрессам, защищая мембранные и цитоплазматические белки [154, 155].

Трансгенные растения томатов, экспрессирующие подобный термостабильный гомолигомерный белок *SP1* (*stable protein*), показали повышение устойчивости к водному стрессу [156]. При введении в клетки табака репрессоров клеточной смерти животных *Dcl-xL* и *Ced-9* наблюдали повышение устойчивости к засолению, низким положительным температурам и поранению [157].

Ген *hot2* кодирует синтез хитиназоподобного белка (*AtCTL1*). Мутант арабидопсиса, дефектный по гену *hot2*, характеризовался отсутствием термотолерантности и устойчивости к солевому стрессу и засухе. При этом отмечено нормальное функционирование генов группы *kin* и *cor*, что указывает на значимость экспрессии этого гена. Однако роль хитиназоподобных белков до конца не выяснена [158]. Описан факт повышения устойчивости расте-

Трансгенные растения, устойчивые к абиотическим стрессам

Ген	Функция гена	Виды растений	Тип устойчивости	Ссылка
<i>Регуляторные гены</i>				
<i>CBF</i>	Транскрипционный фактор	<i>Carica papaya</i> , <i>Brassica napus</i> , <i>A. thaliana</i> , <i>Lycopersicon esculentum</i>	Холод, засуха	Dhekney et al., 2007; Jaglo-Ottesen et al., 1998; Jaglo et al., 2001; Gilmour et al., 2000; Haake et al., 2002; Hsieh et al., 2002
<i>ZFP, ZF</i>		<i>A. thaliana</i>	Засоление, засуха	Seong et al., 2007; Xu et al., 2007
<i>DREB</i>		<i>A. thaliana</i> , <i>N. tabacum</i> , <i>L. esculentum</i> , <i>Triticum aestivum</i> , <i>Ara-chis hypogaea</i>	Засоление, засуха, холод	Kasuga et al., 1999, 2004; Liu et al., 1998; Nakashima et al., 2006; Pellegrineschi et al., 2004; Behnam et al., 2006; Bhatnagar-Mathur et al., 2006, 2007
<i>MYC, MYB</i>		<i>A. thaliana</i>	Засуха, холод	Abe et al., 2003; Vannini et al., 2004; Mattana et al., 2005; Dai et al., 2007
<i>HSF</i>		<i>A. thaliana</i>	Высокая температура, засоление	Lee et al., 1995; Prandl et al., 1998; Mishra et al., 2002; Yokotani et al., 2008
<i>NF-Y</i>		<i>Zea mays</i>	Засуха	Nelson et al., 2007
<i>ABF CBL10</i>		<i>A. thaliana</i>	Засуха, холод	Kang et al., 2002; Vanjildorj et al., 2005; Oh et al., 2005; Kim et al., 2007
<i>WRKY</i>		<i>Oryza sativa</i> , <i>N. tabacum</i>	УФ, осмотический стресс	Wang et al., 2007; Wei et al., 2008
<i>Alfin1</i>		<i>Medicago sativa</i>	Холод	Winicov, Bastola, 1999
<i>ERF</i>		<i>O. sativa</i> , <i>N. tabacum</i>	Затопление, засуха, засоление, холод	Xu et al., 2006; Xu et al., 2007
<i>NPK1, MAPK, MKK, CDPK</i>	Протеинкиназа	<i>Z. mays</i>	Холод, засоление, засуха, высокая температура	Kovtun et al., 2000; Shou et al., 2004; Kim et al., 2007
<i>desC</i>	Десатураза	<i>N. tabacum</i>	Засуха, холод	Zhang et al., 2005; Попов и др., 2006
<i>LOS4, PDH45</i>	ДНК геликаза	<i>Pisum sativum</i> , <i>A. thaliana</i>	Засоление	Sanan-Mishra et al., 2005; Gong et al., 2002
<i>Гены белков поздних стадий эмбриогенеза (LEA)</i>				
<i>inaZ</i>	LEA	<i>N. tabacum</i> , <i>S. comersonii</i>	Холод	Baertlein et al., 1993
<i>hva1</i>	LEA	<i>O. sativa</i> ; <i>Morus indica</i> , <i>T. aestivum</i> , <i>A. stolonifera</i> , <i>N. tabacum</i>	Засуха, засоление	Xu et al., 1996; Lal et al., 2007; Sivamani et al., 2000; Fu et al., 2007
<i>COR</i>	LEA	<i>A. thaliana</i>	Холод	Artus et al., 1996; Steponkus et al., 1998
<i>Гены синтеза осмолитов</i>				
<i>P5CS</i>	Синтез пролина	<i>N. tabacum</i> , <i>S. tuberosum</i> , <i>T. aestivum</i>	Засуха, засоление, холод	Kishor et al., 1995; Aida, 2005; Sawahel, Hassan, 2002; Molinari

Ген	Функция гена	Виды растений	Тип устойчивости	Ссылка
				et al., 2007; Konstantinova et al., 2002
<i>PDH</i> (антисенс)	Синтез пролина	<i>A. thaliana</i> , <i>N. tabacum</i>	Засоление, холод, тяжелые металлы	Nanjo et al., 1999; Колодяжная и др., 2006, 2007
<i>SacB</i>	Накопление фруктана	<i>N. tabacum</i>	Холод	Konstantinova et al., 2002
<i>Wft</i>	Накопление фруктана	<i>O. sativa</i> L.	Холод	Kawakami et al., 2008
<i>levU</i>	Накопление фруктана	<i>N. tabacum</i>	Осмотический стресс, холод	Park et al., 1999
<i>codA</i>	Накопление глицинбетаина	<i>A. thaliana</i> , <i>N. tabacum</i> , <i>O. sativa</i>	Засоление, холод	Hayashi et al., 1997; Konstantinova et al., 2002; Alia et al., 1998; Sakamoto et al., 1998; Murata et al., 1998
<i>betA</i>	Накопление глицинбетаина	<i>N. tabacum</i> , <i>O. sativa</i>	Засоление	Lilius et al., 1996; Takabe et al., 1997
<i>BADH</i>	Накопление бетаина	<i>N. tabacum</i> , <i>L. esculentum</i>	Высокая температура	Jia et al., 2002; Yang et al., 2005
<i>SAMDC</i> , <i>ADC</i>	Накопление полиаминов	<i>O. sativa</i>	Засуша, засоление, тяжелые металлы, холод, высокая температура	Roy, Wu, 2001, 2002; Waie et al., 2003; Capell et al., 2004; Prabhavathi et al., 2007
<i>Ots</i> , <i>tps</i>	Трегалоза	<i>O. sativa</i> , <i>L. esculentum</i> , <i>N. tabacum</i>	Засоление, засуха, холод	Pilon-Smiths et al., 1998; Holmstrom et al., 1997; Garg et al., 2002
<i>mt1D</i>	Накопление маннита	<i>N. tabacum</i>	Засоление	Tarczynski et al., 1992, 1993
<i>CaN</i> фосфатазы	Накопление путресцина	<i>N. tabacum</i>	Засоление	Yang et al., 1997
<i>pdcl</i>	Пируватдекарбоксилаза	<i>O. sativa</i>	Затопление	Quimlo et al., 2000
<i>Ann</i> , <i>poxy5</i>	Аннексинподобный белок	<i>A. thaliana</i> , <i>B. juncea</i>	Засоление, засуха, окислительный стресс	Venkateswari et al., 1997
<i>Гены окислительного стресса</i>				
<i>SOD</i>	Синтез супероксиддисмутазы	<i>N. tabacum</i> , <i>Z. mays</i> , <i>N. tabacum</i> , <i>M. sativa</i> , <i>Pinus virginiana</i> , <i>O. sativa</i>	Окислительный стресс, засуха, холод, тяжелые металлы, устойчивость к гербицидам, засоление	Allen, 1995; Van Camp et al., 1996; Breusegem, 1998, 1999; Gupta et al., 1993; McKersie et al., 1996, 1999, 2000; Tang, 2005
<i>Гены шаперонов</i>				
<i>Hsp</i> , <i>hsf</i>	Белки теплового шока	<i>O. sativa</i> , <i>A. thaliana</i> , <i>L. esculentum</i>	Высокая температура, холод	Katiyar-Agarwal et al., 2003; Lee et al., 1995; Lurie et al., 1998
<i>DnaK1</i>	Белок теплового шока, цианобактерии	<i>N. tabacum</i>	Засоление	Sugino et al., 1999
<i>Гены, регулирующие уровень фитогормонов</i>				
<i>ipt</i>	Синтез цитокининов	<i>N. tabacum</i> , <i>N. sylvestris</i> , <i>S. tuberosum</i> , <i>Raphanus sativus</i>	Засуха, высокая температура, затопление	Пустовойтова, 1997; Rivero et al., 2007; Ильина, 2007; Терешонок, 2007

Ген	Функция гена	Виды растений	Тип устойчивости	Ссылка
<i>Bcl, Ced-9c</i>	Супрессоры клеточной смерти	<i>N. tabacum</i>	Засоление, холод, УФ, оксидативный стресс	Qiao et al., 2002; Xu et al., 2004
<i>FsPP2C1</i>	Ингибирование протеинфосфатаз	<i>B. napus, A. thaliana</i>	Засуха	Cutler et al., 1996; Pei et al., 1998
<i>ACC</i>	Аминоциклопропанкарбоксилатдезаминаза	<i>B. napus, L. esculentum</i>	Засоление, затопление	Sergeeva et al., 2006; Grichko et al., 2001
<i>Гены белков транспорта ионов, ионных насосов</i>				
<i>VfPIP1</i>	Аквапорины	<i>A. thaliana</i>	Засуха	Cui et al., 2008
<i>SOS1, NHX1, AVPI, ZntA, CAX</i>	Насосы плазматические и вакуолярные: Na ⁺ /H ⁺ , Me/H ⁺ , Pb/Cd/Zn	<i>A. thaliana, L. esculentum, B. napus, O. sativa, Z. mays, Beta vulgaris, N. tabacum</i>	Засоление, тяжелые металлы	Zhang et al., 2001; Shi et al., 2003; Lee et al., 2003; Yang et al., 2005; Hussain et al., 2008
<i>Hal1</i>	Селективность K ⁺ /Na ⁺ каналов	<i>Cucumis melo, L. esculentum</i>	Засоление	Bordas et al., 1997; Bolarin et al., 1998; Gisbert et al., 2000

ний к холоду при экспрессии гена, кодирующего чужеродную хитиназу [159].

Ген *asr1* кодирует кислоторастворимый белок. Уровень *asr1* транскриптов и белка *ASR1* возрастали при водном и солевом стрессах и индукции АБК. ДНК-связывающая активность белка *ASR1* была Zn²⁺-зависимой. Очевидно, белок *ASR1* играет роль в каскадной сигнальной трансдукции при водном и солевом стрессах, однако механизм его действия до конца не изучен [160].

У полученных трансгенных растений картофеля, экспрессирующих ген нуклеозиддифосфаткиназы (*NDPK2*) арабидопсиса обнаружена устойчивость к широкому спектру абиотических стрессовых факторов: воздействию высоких температур, оксидативному стрессу, вызванному метилвиологеном, солевому стрессу [161].

Тутеджа с сотр. [162, 163] использовали ген, кодирующий ДНК геликазу – фермент, расплетающий ДНК при репликации генома. Синтез одной из геликаз гороха *PDH45* возрастал при повышении концентрации солей, обезвоживании и низкой температуре. При его суперэкспрессии в трансгенных растениях отмечено повышение солеустойчивости.

Изменение степени насыщенности жирных кислот влияет на реакцию растений к ряду

абиотических стрессов – засолению, засухе и повышенной температуре. Суперэкспрессия генов цитозольной десатуразы 3 и пластидной десатуразы 8 в растениях табака приводила к повышению устойчивости полученных растений к засухе [164]. Введение гена *desC* Δ 9-ациллипидной десатуразы в геном растений табака обеспечило устойчивость к воздействию низких температур. Высокая активность десатуразы, вероятно, вызвала увеличение доли полиненасыщенных жирных кислот в мембранах липидов, что обеспечило текучесть мембран в период охлаждения и позволило поддержать стабильный синтез антиоксидантных ферментов [127].

В таблице приведен список генетически модифицированных толерантных к абиотическим стрессам растений, интродуцированных трансгенов и механизмов их действия.

В последнее время рассматривается подход, связанный с экспрессией определенного гена или транскрипционного фактора в определенное время, в специфическом органе (органах), в специфических условиях стресса. В отличие от большинства используемых в настоящее время конститутивных промоторов, направляющих экспрессию контролируемых ими генов постоянно во всех органах, в случаях, когда экспрессия необходима только в одном органе или

в определенный период, такие промоторы не являются оптимальными. Кроме того, конститутивная экспрессия некоторых стресс-индуцируемых генов может иметь отрицательные последствия для продуктивности растений, поэтому было предложено использовать стресс-индуцируемые промоторы в генетических конструкциях для получения трансгенных растений, толерантных к стрессам [180].

Целый ряд обзоров, освещающих различные механизмы адаптации растений к абиотическим стрессам и дающих представление о комплексе генов, включающихся при стрессовых воздействиях, описывают получение трансгенных растений, толерантных к этим стрессам [181–199]. Таким образом, используя накопленные данные, можно получать растения с устойчивостью к большому спектру абиотических стрессовых воздействий.

Настоящий обзор написан частично при выполнении проекта № 6541030 по теме «Разработка методов генетической трансформации с использованием генетических конструкций, несущих трансгены, повышающие содержание пролина» в рамках научного проекта «Изучение молекулярно-генетических механизмов устойчивости растений к фитопатогенам и абиотическим стрессам с помощью хромосомной и геномной инженерии», который выполняется по результатам конкурса совместных научных проектов ученых НАН Украины и Сибирского отделения РАН.

Авторы благодарны РФФИ (гранты 07-04-12085-офи), интеграционному проекту СО РАН – ДВО РАН – НАН Украины (5.3), программам РАН «Динамика генофондов» и НАН Украины «Биомасса как источник топлива» за поддержку исследований в этой области.

Ya.S. Kolodyazhna, N.K. Kutsokon, B.A. Levenko,
O.S. Syutikova, D.B. Rakhmetov, A.V. Kochetov

TRANSGENIC PLANTS TOLERANT TO ABIOTIC STRESSES

References are analyzed concerning production and studying of transgenic plants tolerant to various kinds of abiotic stresses; mechanisms of plant protection against stresses; the genes encoding the great spectrum of compounds giving to plants ability to survive in conditions of the stresses considerably repressing development and even lethal for control plants.

Я.С. Колодяжна, Н.К. Куцоконь, Б.А. Левенко,
О.С. Сютикова, Д.Б. Рахметов, А.В. Кочетов

ТРАНСГЕННІ РОСЛИНИ, ТОЛЕРАНТНІ ДО АБІОТИЧНИХ СТРЕСІВ

Проаналізовано літературні джерела про одержання та вивчення трансгенних рослин, толерантних до різноманітних видів абіотичних стресів, про відомі зараз механізми захисту рослин від стресів, про гени, що кодують великий спектр сполук, які надають рослинам здатності до виживання в стресових умовах, що спричиняють інгібування розвитку і навіть є летальними для контрольних рослин.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Boyer J.S. Plant productivity and environment // Science. – 1982. – **218**. – P. 443–448.
2. Bray E.A., Bailey-Serres J., Weretilnyk E. Responses to abiotic stresses // Biochemistry and molecular biology of plants / Eds W. Gruissem, B. Buchannan, R. Jones. – Amer. Soc. Rockville, 2000. – P. 1158–1249.
3. FAO (Food, Agriculture Organization of the United Nations) FAO production yearbook. Rome, FAO. – 2004.
4. Al-Khatib K., Paulsen G.M. High-temperature effects on photosynthetic processes in temperate and tropical cereals // Crop Sci. Soc. Amer. – 1999. – **39**. – P. 119–125.
5. Kratsch H.A., Wise R.R. The ultrastructure of chilling stress // Plant Cell Environ. – 2000. – **23**. – P. 337–350.
6. Hasegawa P.M., Bressan R.A., Zhu J.-K., Bohnert H.J. Plant cellular and molecular responses to high salinity // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. – 2000. – **51**. – P. 463–499.
7. Strizhov N., Abraham E., Okresz L. et al. Differential expression of two Δ 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase genes controlling proline accumulation during salt-stress requires ABA and is regulated by ABA1, ABI1 and AXR2 in Arabidopsis // Plant J. – 1997. – **12**. – P. 557–569.
8. Ma S., Gong Q., Bohnert H.J. Dissecting salt stress pathways // J. Exp. Bot. – 2006. – **57**, № 5. – P. 1097–1107.
9. Delauney A.J., Verma D.P.S. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants // Plant J. – 1993. – **4**. – P. 215–223.
10. Кузнецов В.В., Старостенко Н.В. Синтез белков теплового шока и их вклад в выживание интактных растений огурца при гипертермии // Физиология растений. – 1994. – **41**, № 3. – С. 374–380.
11. Кузнецов В.В., Шевякова Н.И. Проллин при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция // Физиология растений. – 1999. – **46**, № 2. – С. 321–336.
12. Willenbrink M.E., Husemann W. Photoautotrophic cell suspension cultures from *Mesembryanthemum crystallinum* and their response to salt stress // Bot. Acta. – 1995. – **108**. – P. 497–504.
13. Eimer M. Transgenic drought- and salt-tolerant plant //

- Genet. Engineer. Newslett. – 2004, Spec. Issue 15. – P. 1–14.
14. Кузнецов В.В., Дмитриева Г.А. Физиология растений. – М.: Высш. шк., 2005. – 736 с.
 15. Groppa M.D., Benavides M.P. Polyamines and abiotic stress: recent advances // Amino Acids. – 2008. – **34**. – P. 35–45.
 16. Turner N.C., Shahal A., Berger J.D. et al. Osmotic adjustment in chickpea (*Cicer arietinum* L.) results in no yield benefit under terminal drought // J. Exp. Bot. – 2007. – **58**. – P. 187–194.
 17. Garg A.K., Kim J.K., Owens T.G. et al. Trehalose accumulation in rice plants confers high tolerance levels to different abiotic stresses // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 2002. – **99**. – P. 15898–15903.
 18. Шевякова Н.И. Метаболизм и физиологическая роль пролина в растениях при водном и солевом стрессе // Физиология растений. – 1983. – **30**, вып. 4. – С. 768–781.
 19. Kishor P.B.K., Hong Z., Miao G.H. et al. Overexpression of Δ -pyrroline-5-carboxylate synthetase increases proline production and confers osmotolerance in transgenic plants // Plant Physiol. – 1995. – **108**. – P. 1387–1394.
 20. Hare P.D., Cress W.A., Van Staden J. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress // Plant Cell and Environm. – 1998. – **21**. – P. 535–553.
 21. Hong Z., Lakkineni K., Zhang Z., Verma D.P. Removal of feedback inhibition of Δ 1-pyrroline-5-carboxylase synthetase results in increased proline accumulation and protection of plants from osmotic stress // Plant Physiol. – 2000. – **122**. – P. 1129–1136.
 22. Sawahel W.A., Hassan A.H. Generation of transgenic wheat plants producing high levels of the osmoprotectant proline // Biotechnol. Lett. – 2002. – **24**. – P. 721–725.
 23. Gleeson D., Lelu-Walter M.-A., Parkinson M. Overproduction of proline in transgenic hybrid larch (*Larix* \times *leptoeuropaea* (Dengler) cultures renders them tolerant to cold, salt and frost // Mol. Breed. – 2005. – **15**. – P. 21–29.
 24. Сергеева Л.Е., Левенко Б.А. Содержание свободного пролина у солеустойчивых клеточных линий табака и регенерантов из них // Генетика соматических клеток в культуре : Тез. докл. Всесоюз. конф. – Звенигород, 1986. – С. 43–44.
 25. Юркевич Л.Н., Потопальский А.И. Пролин как фактор устойчивости ржи к засолению субстрата // Физиология биохимия культур. растений. – 1994. – **26**, № 6. – С. 600–605.
 26. Igarashi Y., Yoshiba Y., Sanada Y. et al. Characterization of the gene for delta1-pyrroline-5-carboxylate synthetase and correlation between the expression of the gene and salt tolerance in *Oryza sativa* L. // Plant Mol. Biol. – 1997. – **33**. – P. 857–865.
 27. Yamada M., Morishita H., Urano K. et al. Effects of free proline accumulation in petunias under drought stress // J. Exp. Bot. – 2005. – **56**. – P. 1975–1981.
 28. Kiyosue T., Yoshiba Y., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K. A nuclear gene encoding mitochondrial proline dehydrogenase, an enzyme involved in proline metabolism, is upregulated by proline but downregulated by dehydration in *Arabidopsis* // Plant Cell. – 1996. – **8**. – P. 1323–1335.
 29. Székely G., Abrahám E., Csépló A. et al. Duplicated P5CS genes of *Arabidopsis* play distinct roles in stress regulation and developmental control of proline biosynthesis // Plant J. – 2008. – **53**, № 1. – P. 11–28.
 30. Aida H.-S. Overexpression of 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase increases proline production and confers salt tolerance in transgenic potato plants // J. Plant Sci. – 2005. – **169**, № 4. – P. 746–752.
 31. Zhu B., Su J., Chang M., Verma D.P.S. et al. Overexpression of a Δ 1-P5CS gene and analysis of tolerance to water and salt-stress in transgenic rice // Plant Sci. – 1998. – **139**. – P. 41–48.
 32. Molinari H.B., Marur C.J., Daros E. et al. Evaluation of the stress-inducible production of proline in transgenic sugarcane (*Saccharum* spp.): osmotic adjustment, chlorophyll fluorescence and oxidative stress // Physiol. Plant. – 2007. – **130**. – P. 218–226.
 33. Siripornadulsil S., Traina S., Verma D.P.S., Sayre R.T. Molecular mechanisms of proline-mediated tolerance to toxic heavy metals in transgenic microalgae // Plant Cell. – 2002. – **14**. – P. 2837–2847.
 34. Roosens N.H., Bitar F.A., Loenders K. et al. Overexpression of ornithine-d-aminotransferase increases proline biosynthesis and confers osmotolerance in transgenic plants // Mol. Breed. – 2002. – **9**. – P. 73–80.
 35. Nanjo T., Kobayashi M., Yoshiba Y. et al. Antisense suppression of proline degradation improves tolerance to freezing and salinity in *Arabidopsis thaliana* // FEBS Lett. – 1999. – **461**. – P. 205–210.
 36. Колодяжная Я.С., Титов С.Е., Кочетов А.В. и др. Оценка солеустойчивости растений табака *Nicotiana tabacum*, несущих антисмысловой супрессор гена пролиндегидрогеназы // Генетика. – 2006. – **42**, № 2. – С. 278–281.
 37. Колодяжная Я.С., Кочетов А.В., Шумный В.К. Трансгенез как способ увеличения устойчивости растений к повышенным концентрациям тяжелых металлов // Усп. соврем. биологии. – 2006. – **126**, № 5. – С. 456–461.
 38. Колодяжная Я.С., Титов С.Е., Кочетов А.В. и др. Трансформанты табака, экспрессирующие антисмысловую последовательность гена пролиндегидрогеназы, проявляют устойчивость к тяжелым металлам // Генетика. – 2007. – **43**, № 7. – С. 994–998.
 39. Paleg L.G., Douglas T.J., van Daal A., Keech D.B. Proline, betaine and other organic solutes protect enzymes against heat inactivation // Austr. J. Plant Physiol. – 1998. – **8**, № 1. – P. 107–114.
 40. Mamedov M., Hayashi H., Murata N. Effects of glycine-

- betaine and unsaturation of membrane lipids on heat stability of photosynthetic electron-transport and phosphorylation reactions in *Synechocystis* PCC6803 // *Biochem. Biophys. Acta.* – 1993. – **1142**, № 1. – P. 1–5.
41. *Allakhverdieva Y.M., Mamedov M.D., Gasanov R.A.* The effect of glycinebetaine on the heat stability of photosynthetic reactions in thylakoid membranes // *Turk. J. Bot.* – 2001. – **25**. – P. 11–17.
 42. *Hayashi H., Alia, Mustardy L. et al.* Transformation of *Arabidopsis thaliana* with the *codA* gene for choline oxidase; accumulation of glycinebetaine and enhanced tolerance to salt and cold stress // *Plant J.* – 1997. – **12**, № 1. – P. 133–142.
 43. *Alia, Hayashi H., Chen T., Murata N.* Transformation with a gene for choline oxidase enhances the cold tolerance of *Arabidopsis* during germination and early growth // *Plant Cell Environ.* – 1998. – **21**. – P. 232–239.
 44. *Lilius G., Holmberg N., Bulow L.* Enhanced NaCl stress tolerance in transgenic tobacco expressing bacterial choline dehydrogenase // *Biotechnol.* – 1996. – **14**, № 2. – P. 177–180.
 45. *Ruidang Q., Mei S., Hui Z. et al.* Engineering of enhanced glycine betaine synthesis improves drought tolerance in maize // *Plant Biotechnol. J.* – 2004. – **2**, № 6. – P. 477–486.
 46. *Takabe T., Hayashi Y., Nakamura T. et al.* Genetic engineering of glycinebetaine accumulation and increased salinity tolerance in plants // *Abstr. 5th Intern. Congr. Plant Mol. Biology (21–27 Sept. 1997).* – Singapore, 1997. – P. 667.
 47. *Yang X., Liang Z., Lu C.* Genetic engineering of the biosynthesis of glycinebetaine enhances photosynthesis against high temperature stress in transgenic tobacco plants // *Plant Physiol.* – 2005. – **138**. – P. 2299–2309.
 48. *Murata N.* Enhancement of tolerance to multiple stresses by genetic engineering // *Abstr. IX Intern. Congr. Plant Tissue Cell Culture (June 14–19, 1998)* – Jerusalem, 1998. – P. 34
 49. *Sakamoto A., Murata A., Murata N.* Metabolic engineering of rice leading to biosynthesis of glycinebetaine and tolerance to salt and cold // *Plant Mol. Biol.* – 1998. – **38**, № 6. – P. 1011–1019.
 50. *Anderson S.E., Bastola D.R., Minocha S.C.* Metabolism of polyamines in transgenic cells of carrot expressing a mouse ornithine decarboxylase cDNA // *Plant Physiol.* – 1998. – **116**. – P. 299–307.
 51. *Kumria R., Rajam M.V.* Ornithine decarboxylase transgene in tobacco affects polyamines, in vitro morphogenesis and response to salt stress // *J. Plant Physiol.* – 2002. – **159**. – P. 983–990.
 52. *Capell T., Drakakaki G., Topsom L. et al.* Effects of drought stress in transgenic rice (*Oryza sativa* L.) plants overexpressing the oat arginine decarboxylase (ADC) cDNA // *Abstr. IX Intern. Congr. Plant Tissue Cell Culture (June 14–19, 1998).* – Jerusalem, 1998. – P. 133.
 53. *Roy M., Wu R.* Arginine decarboxylase transgene expression and analysis of environmental stress tolerance in transgenic rice // *Plant Sci.* – 2001. – **160**. – P. 869–875.
 54. *Roy M., Wu R.* Overexpression of S-adenosylmethionine decarboxylase gene in rice increases polyamine level and enhances sodium chloride-stress tolerance // *Plant Sci.* – 2002. – **163**. – P. 987–992.
 55. *Waie B., Rajam M.V.* Effect of increased polyamine biosynthesis on stress response in transgenic tobacco by introduction of human S-adenosylmethionine gene // *Plant Sci.* – 2003. – **164**. – P. 727–734.
 56. *Prabhavathi V., Rajam M.V.* Mannitol-accumulating transgenic eggplants exhibit enhanced resistance to fungal wilts // *Plant Sci.* – 2007. – **173**. – P. 50–54.
 57. *Nelson C.J., Smith D.* Fructans: their nature and occurrence // *Curr. Topics Plant Biochem. Physiol.* – 1986. – **5**. – P. 1–16.
 58. *Pilon-Smits E.A., Terry N., Sears T. et al.* Trehalose-producing transgenic tobacco plants show improved growth performance under drought stress // *Plant Physiol.* – 1998. – **152**, № 4/5. – P. 525–532.
 59. *Holmstrom K.-O., Mandal A., Mantyla E. et al.* Engineering plant adaptation to environmental stress // *Abstr. 5th Intern. Congr. Plant Mol. Biol. (21–27 Sept. 1997).* – Singapore, 1997 – P. 634.
 60. *Davis J.M., Fellman J.K., Loescher W.H.* Biosynthesis of sucrose and mannitol as a function of leaf age in celery (*Apium graveolens* L.) // *Plant Physiol.* – 1988. – **86**. – P. 129–133.
 61. *Pharr D.M., Stoop J.M.H., Williamson J.D. et al.* The dual role of mannitol as osmoprotectant and photoassimilate in celery // *Hort. Sci.* – 1995. – **30**. – P. 1182–1188.
 62. *Zhifang G., Loescher W. H.* Expression of a celery mannose 6-phosphate reductase in *Arabidopsis thaliana* enhances salt tolerance and induces biosynthesis of both mannitol and a glucosyl-mannitol dimer // *Plant Cell Environ.* – 2003. – **26**, № 2. – P. 275–283.
 63. *Shen B., Jensen R., Bohnert H.* Mannitol protects against oxidation by hydroxyl radical // *Plant Physiol.* – 1997. – **115**. – P. 527–532.
 64. *Hwang B.K., Kim K.D., Kim Y.B.* Carbohydrate composition and acid invertase activity in rice leaves infected with *Pyricularia oryzae* // *J. Phytopathol.* – 1989. – **125**. – P. 124–132.
 65. *Tarczynski M.C., Jensen R.G., Bohnert H.J.* Expression of a bacterial *mtlD* gene in transgenic tobacco leads to production, accumulation of mannitol // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1992. – **89**. – P. 2600–2604.
 66. *Park J.M., Kwon S.Y., Song K.B. et al.* Transgenic tobacco plants expressing the bacterial levansucrase gene show enhanced tolerance to osmotic stress // *J. Microbiol. Biotechnol.* – 1999. – **9**, № 2. – P. 213–218.
 67. *Sheveleva E., Chmara W., Bohnert H.J., Jensen R.G.* Increased salt and drought tolerance by D-ononitol

- production in transgenic *Nicotiana tabacum* L. // Plant Physiol. – 1997. – **115**. – P. 1211–1219.
68. Sheveleva E.V., Marquez S.E., Chmara W. et al. Sorbitol-6-phosphate dehydrogenase expression in transgenic tobacco // Plant Physiol. – 1998. – **117**. – P. 831–839.
 69. Chiera J.M., Streeter J.G., Finer J.J. Ononitol and pinitol production in transgenic soybean containing the inositol methyl transferase gene from *Mesembryanthemum crystallinum* // Plant Sci. – 2006. – **171**. – P. 647–654.
 70. Quimlo C.A., Torrizo L.B., Setter T.L. et al. Enhancement of submergence tolerance in transgenic rice plants overexpressing pyruvate decarboxylase // J. Plant Physiol. – 2000. – **156**. – P. 516–521.
 71. Djilianov D., Yordanov Y., Valkov V. et al. Establishing drought-tolerant tobacco – the gene transfer approach // Abstr. IX Intern. Congr. Plant Tissue Cell Culture (June 14–19). – Jerusalem, 1998. – P. 138.
 72. Konstantinova T., Parvanova D., Atanassov A., Djilianoiv D. Freezing tolerant tobacco, transformed to accumulate osmoprotectants // Plant Sci. – 2002. – **163**. – P. 157–164.
 73. Parvanova D., Popova A., Zaharieva I. et al. Low temperature tolerance of tobacco plants transformed to accumulate proline, fructans, or glycine betaine. Variable chlorophyll fluorescence evidence // Photosynthetica. – 2004. – **42**. – P. 179–185.
 74. Thomashow M.F. Plant cold acclimation: freezing tolerance genes and regulatory mechanisms // Annu. Rev. Plant Physiol. – 1999. – **50**. – P. 571–599.
 75. Hinch D.K., Heber U., Schmitt J.M. Proteins from frost-hardy leaves protect thylakoids against mechanical freeze-thaw damage in vitro // Planta. – 1990. – **180**. – P. 416–419.
 76. Artus N.N., Uemura M., Steponkus P.L. et al. Constitutive expression of the cold regulated *Arabidopsis thaliana* COR15a gene affects both chloroplast and protoplast freezing tolerance // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1996. – **93**. – P. 13404–13409.
 77. Clemens S., Kim E.J., Neumann D., Schroeder J.I. Tolerance to toxic metals by gene family of phytochelatin synthases from plants and yeast // EMBO J. – 1999. – **18**. – P. 3325–3333.
 78. Ha S.-B., Smith A.P., Howden R. et al. Phytochelatin synthase genes from *Arabidopsis* and the yeast *Schizosaccharomyces pombe* // Plant Cell. – 1999. – **11**. – P. 1153–1164.
 79. Clemens S. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis // Planta. – 2001. – **212**. – P. 475–486.
 80. Кузнецов В.В., Дмитриева Г.А. Физиология растений. – М.: Высш. шк., 2005. – 736 с.
 81. Tong Y.-P., Kneer R., Zhu Y.-G. Vacuolar compartmentalization: a second generation approach to engineering plants for phytoremediation // Trends Plant Sci. – 2004. – **9**, № 1. – P. 7–9.
 82. Song W.Y. Engineering tolerance and accumulation of lead and cadmium in transgenic plants // Nature Biotech. – 2003. – **21**. – P. 914–919.
 83. Tucker S.L., Thornton C.R., Tasker K. et al. A fungal metallothionein is required for pathogenicity of *Magnaporthe grisea* // Plant Cell. – 2004. – **16**. – P. 1575–1588.
 84. Hasegawa I., Terada E., Sunairi M. et al. Genetic improvement of heavy metal tolerance in plants by transfer of the yeast metallothionein gene (*CUP1*) // Plant Soil. – 1997. – **196**. – P. 277–281.
 85. Liu J.R., Suh M.C., Choi D. Phytoremediation of cadmium contamination: Overexpression of metallothionein in transgenic tobacco plants // Bundes Ges. und Heitsbl.-Gesundheits-forsch.-Gesundheitsschutz. – 2000. – **43**. – P. 126–130.
 86. Ruiz O.N., Hussein H.S., Terry N., Daniell H. Phytoremediation of organomercurial compounds via chloroplast genetic engineering // Plant Physiol. – 2003. – **132**, № 3. – P. 1344–1352.
 87. Ndong C., Danyluk J., Wilson K.E. et al. Cold-regulated cereal chloroplast late embryogenesis abundant-like proteins. Molecular characterization and functional analyses // Plant Physiol. – 2002. – **129**. – P. 1368–1381.
 88. Lal S., Gulyani V., Khurana P. Overexpression of *HVA1* gene from barley generates tolerance to salinity and water stress in transgenic mulberry (*Morus indica*) // Transgenic Res. – 2008. – **17**, № 4. – P. 651–653.
 89. Xu D., Duan X., Wang B. et al. Expression of a late embryogenesis abundant protein gene *HVA1*, from barley confers tolerance to water deficit and salt stress in transgenic rice // Plant Physiol. – 1996. – **110**. – P. 249–257.
 90. Wang Y., Jiang J., Zhao X. et al. A novel LEA gene from *Tamarix androssowii* confers drought tolerance in transgenic tobacco // Plant Sci. – 2006. – **171**, № 6. – P. 655.
 91. Baertlein D.A., Lindow S.E., Panopoulos N.J. et al. Expression of a bacterial ice nucleation gene in plants // Plant Physiol. – 1993. – **100**, № 4. – P. 1730–1736.
 92. Kasuga M., Liu Q., Miura S. et al. Improving plant drought, salt, and freezing tolerance by gene transfer of a single stress-inducible transcription factor // Nature Biotech. – 1999. – **17**. – P. 287–291.
 93. Chinnusamy V., Jagendorf A., Zhu J.K. Understanding and improving salt tolerance in plants // Crop Sci. – 2005. – **45**. – P. 437–448.
 94. Vinocur B., Altman A. Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitations // Curr. Opin. Biotechnol. – 2005. – **16**. – P. 123–132.
 95. Bartels D., Sunkar R. Drought and salt tolerance in plants // Crit. Rev. Plant Sci. – 2005. – **21**. – P. 1–36.
 96. Wei W., Zhang Y., Han L. et al. A novel WRKY transcriptional factor from *Thlaspi caerulescens* negatively regulates the osmotic stress tolerance of transgenic tobacco // Plant Cell Rep. – 2008. – **27**, № 4. – P. 795–803.
 97. Wang H., Hao J., Chen X. et al. Overexpression of rice

- WRKY89 enhances ultraviolet B tolerance and disease resistance in rice plants // *Plant Mol. Biol.* – 2007. – **65**, № 6. – P. 799–815.
98. Vannini C., Locatelli F., Bracale M. et al. Overexpression of the rice *Osm5b4* gene increases chilling and freezing tolerance of *Arabidopsis thaliana* plants // *Plant J.* – 2004. – **37**. – P. 115–127.
99. Mattana M., Biazzi E., Consonni R. et al. Overexpression of *Osm5b4* enhances compatible solute accumulation and increases stress tolerance of *Arabidopsis thaliana* // *Physiol. Plant.* – 2005. – **125**. – P. 212–223.
100. Nelson D.E., Repetti P.P., Adams T.R. et al. Plant nuclear factor Y (NF-Y) B subunits confer drought tolerance and lead to improved corn yields on water-limited acres // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2007. – **104**, № 42. – P. 16450–16455
101. Gilmour S.J., Zarka D.G., Stockinger E.J. et al. Low temperature regulation of the Arabidopsis CBF family of AP2 transcriptional activators as an early step in cold induced COR gene expression // *Plant J.* – 1998. – **16**. – P. 433–442.
102. Jaglo-Ottesen J., Zarka D.G., Schabenberger O., Thomashow M.F. Arabidopsis CBF1 overexpression induces COR genes and enhances freezing tolerance // *Science.* – 1998. – **280**. – P. 104–106.
103. Buskirk H., Thomashow M. Arabidopsis transcription factors regulating cold acclimation // *Physiol. Plant.* – 2006. – **126**. – P. 72–80.
104. Dhekney S.A., Litz R.E., Moraga Amador D.A. et al. Potential for introducing cold tolerance into papaya by transformation with C-repeat binding factor (CBF) genes // *In Vitro Cell. Dev. Biol. – Plant.* – 2007. – **43**. – P. 195–202.
105. Hsieh T.H., Lee J.T., Yang P.T. et al. Heterology expression of the Arabidopsis C-repeat / dehydration response element binding factor 1 gene confers elevated tolerance to chilling and oxidative stresses in transgenic tomato // *Plant Physiol.* – 2002. – **129**. – P. 1086–1094.
106. Seong E.S., Baek K.-H., Oh S.-K. et al. Induction of enhanced tolerance to cold stress and disease by overexpression of the pepper CAPIF1 gene in tomato // *Physiol. Plant.* – 2007. – **129**, № 3. – P. 555–566.
107. Winicov I., Bastola D.R. Transgenic overexpression of the transcription factor Alfin1 enhances expression of the endogenous MsPRP2 gene in alfalfa and improves salinity tolerance of the plants // *Plant Physiol.* – 1999. – **120**. – P. 473–480.
108. Liu C.M., Muchhal U.S., Uthappa M. et al. Tomato phosphate transporter genes are differentially regulated in plant tissue by phosphorous // *Plant Physiol.* – 1998. – **116**. – P. 91–99.
109. Nakashima K., Yamaguchi-Shinozaki K. Regulons involved in osmotic stress responsive and cold stress responsive gene expression in plants // *Physiol. Plant.* – 2006. – **126**. – P. 62–71.
110. Kasuga M., Miura S., Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K. A combination of the *Arabidopsis* DREB1A gene and stress-inducible *rd29A* promoter improved drought- and low-temperature stress tolerance in tobacco by gene transfer // *Plant Cell Physiol.* – 2004. – **45**, № 3. – P. 346–350.
111. Pellegrineschi A., Reynolds M., Pacheco M. et al. Stress-induced expression in wheat of the *Arabidopsis thaliana* DREB1A gene delays water stress symptoms under greenhouse conditions // *Genome.* – 2004. – **47**. – P. 493.
112. Behnam B., Kikuchi A., Celebi-Toprak F. et al. The Arabidopsis DREB1A gene driven by the stress-inducible *rd29A* promoter increases salt-stress tolerance in proportion to its copy number in tetrasomic tetraploid potato (*Solanum tuberosum*) // *Plant Biotechnol.* – 2006. – **23**. – P. 169–177.
113. Bhatnagar-Mathur P., Devi M.J., Reddy D.S. et al. Overexpression of *Arabidopsis* DREB1A gene in transgenic peanut (*Arachis hypogaea* L.) for improving tolerance to drought stress // *From Functional Genomics of Model Organisms to Crop Plants for Global Health* Arthur A. Sackler Colloquia. – Washington, DC: NAS, 2006.
114. Bhatnagar-Mathur P., Devi M.J., Reddy D.S. et al. Stress-inducible expression of *Arabidopsis thaliana* DREB1A in transgenic peanut (*Arachis hypogaea* L.) increases transpiration efficiency under water-limiting conditions // *Plant Cell Rep.* – 2007. – **26** (12). – P. 2071–2082.
115. Kovtun Y., Chiu W.L., Tena G., Sheen J. Functional analysis of oxidative stress-activated mitogen-activated protein kinase cascade in plants // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2000. – **97**. – P. 2940–2945.
116. Shou H., Bordallo P., Wang K. Expression of the Nicotiana protein kinase (NPK1) enhanced drought tolerance in transgenic maize // *J. Exp. Bot.* – 2004. – **55**. – P. 1013–1019.
117. Кулаева О.Н., Кузнецов В.В. Аналитический обзор: новейшие достижения и перспективы изучения механизма действия фитогормонов и их участия в сигнальных системах целого растения // *Вестн. РФФИ.* – 2004. – № 2. – С. 12–26.
118. Bartels D., Frank W., Bockel C. et al. Genes involved in conferring drought tolerance in callus of *C. plantagineum* // *Abstr. IX Intern. Congr. Plant Tissue Cell Culture* (June 14–19). – Jerusalem, 1998. – P. 54.
119. Vanjildorj E., Bae T.W., Riu K.Z. et al. Overexpression of *Arabidopsis* ABF3 gene enhances tolerance to drought and cold in transgenic lettuce (*Lactuca sativa*) // *Plant Cell, Tissue Organ Culture.* – 2005. – **83**, № 1. – P. 41–50.
120. Sergeeva E., Shah S., Glick B.R. Growth of transgenic canola (*Brassica napus* cv. Westar) expressing a bacterial 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase gene on high concentrations of salt // *World J. Microbiol. Biotechnol.* – 2006. – **22**. – P. 277–282.

121. *Grichko V.P., Glick B.R.* Flooding tolerance of transgenic tomato plants expressing the bacterial enzyme ACC deaminase controlled by the 35S, *rolD* or PRB-1b promoter // *Plant Physiol. Biochem.* – 2001. – **39**, № 1. – P. 19–25.
122. *Xu K., Xu X., Fukao T. et al.* *Sub1A* is an ethylene-responsive-factor-like gene that confers submergence tolerance to rice // *Nature.* – 2006. – **442**. – P. 705–708.
123. *Xu Z.S., Xia L.Q., Chen M. et al.* Isolation and molecular characterization of the *Triticum aestivum* L. ethylene-responsive factor 1 (TaERF1) that increases multiple stress tolerance // *Plant Mol. Biol.* – 2007. – **65**, № 6. – P. 719–732.
124. *Пустовойтова Т.Н., Баврина Т.В., Ложникова В.Н., Жданова Н.Е.* Использование трансгенных растений для выяснения роли цитокининов в устойчивости к засухе // Докл. РАН. – 1997. – **354**, № 5. – С. 702–704.
125. *Rivero R.M., Kojima M., Gepstein A. et al.* Delayed leaf senescence induces extreme drought tolerance in a flowering plant // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2007. – **104**. – P. 19631–19636.
126. *Терешонок Д.В., Степанова А.Ю., Осипова Е.С., Долгих Ю.И.* Генетическая трансформация пшеницы // Физиология трансгенного растения и проблемы биобезопасности : Тез. докл. 2-го Всерос. симп. – М., 2007. – С. 82.
127. *Попов В.Н., Кипайкина Н.В., Астахова Н.В., Трунова Т.И.* Особенности окислительного стресса растений табака, трансформированных геном *desC* Δ 9-ацил-липидной десатуразы из *Synechococcus vulcanus*, при гипотермии // Физиология растений. – 2006. – **53**, № 4. – С. 525–529.
128. *Allen R.* Dissection of oxidative stress tolerance using transgenic plants // *Plant Physiol.* – 1995. – **107**. – P. 1049–1054.
129. *McKersie B.D., Bowley S.R., Harjanto E., Leprince O.* Water-deficit tolerance and field performance of transgenic alfalfa overexpressing superoxide dismutase // *Plant Physiol.* – 1996. – **111**. – P. 117–118.
130. *Gupta A.S., Heinen J.L., Holaday A.S. et al.* Increased resistance to oxidation stress in transgenic plants that overexpress chloroplastic Cu/Zn superoxide dismutase // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1993. – **90**, № 4. – P. 1629–1633.
131. *Basu U., Good A.G., Taylor G.J.* Transgenic *Brassica napus* plants overexpressing aluminium-induced mitochondrial manganese superoxide dismutase cDNA are resistant to aluminium // *Plant Cell Environ.* – 2001. – **24**. – P. 1269–1278.
132. *Tang W., Charles T. M., Newton R.J.* Overexpression of the pepper transcription factor CaPF1 in transgenic virginia pine (*Pinus virginiana* Mill.) confers multiple stress tolerance and enhances organ growth // *Plant Mol. Biol.* – 2005. – **59**, № 4. – P. 603–617.
133. *Breusegem E., Vranova E., Willekens H. et al.* Oxidative stress and signalling in plants // II Intern. Sympos. Plant Biotechnol. Abstr.: (4–8 October). – Kyiv, 1998. – P. 5.
134. *Van Camp W., Capiou K., Van Montagu M. et al.* Enhancement of oxidative stress tolerance in transgenic tobacco plants overproducing Fe-superoxide dismutase in chloroplasts // *Plant Physiol.* – 1996. – **112**. – P. 1703–1714.
135. *Oberschall A., Deak M., Torok K. et al.* A novel aldose/aldehyde reductase protects transgenic plants against lipid peroxidation under chemical and drought stress // *Plant J.* – 2000. – **24**. – P. 437–446.
136. *Venkateswari J., Kanrar S., Bansal K.C. et al.* Overexpression of annexin-like protein protects indian mustard against drought, salt, and Alternaria stresses // Abstr. 5th Intern. Congr. Plant Mol. Biol. (21–27 Sept. 1997). – Singapore, 1997. – P. 360.
137. *Horvath G.V., Oberschall A., Deak M. et al.* Overproduction of two stress-induced alfalfa proteins provides tolerance against wide range of stresses in transgenic plants // II Intern. Sympos. Plant Biotechnol. Abstr. (Kyiv, 4–8 October). – Kyiv, 1998. – P. 8.
138. *Neumann D., Nover L., Parthier B. et al.* Heat shock and other stress response systems of plants // *Biol. Zentralb.* – 1989. – **108**, №1. – P. 1–146.
139. *Lee J.H., Hubel A., Schoffl F.* Derepression of the activity of genetically engineered heat shock factor causes constitutive synthesis of heat shock proteins and increased thermotolerance in transgenic Arabidopsis // *Plant J.* – 1995. – **8**. – P. 603–612.
140. *Lurie S., Shatai S., Schoffl F., Barg R.* Fruits of tomato plants expressing the chimeric HSF-GUS gene manifest increased tolerance to high and low temperature stresses // IX Intern. Congr. Plant Tissue Cell Culture: Abstr. (June 14–19, 1998). – Jerusalem, 1998. – P. 160.
141. *Shi H., Lee B.H., Wu S.J., Zhu J.K.* Overexpression of a plasma membrane Na⁺/H⁺ antiporter gene improves salt tolerance in *Arabidopsis thaliana* // *Nat. Biotechnol.* – 2003. – **21**. – P. 81–85.
142. *Zhang H.-X., Hodson J., Williams J.P., Blumwald E.* Engineering salt-tolerant *Brassica* plants: characterization of yield and seed oil quality in transgenic plants with increased vacuolar sodium accumulation // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2001. – **98**. – P. 12832–12836.
143. *Yang A.F., Duan X.G., Gu X.F. et al.* Efficient transformation of beet (*Beta vulgaris* L.) and production of plants with improved salt-tolerance // *Plant Cell, Tissue Organ Culture.* – 2005. – **83**. – P. 259–270.
144. *Espinosa-Ruiz A., Belles J.M., Serrano R., Gulianez-Macia F.H.* *Arabidopsis thaliana* AtHAL3: a flavoprotein related to salt and osmotic tolerance and plant growth // *Plant J.* – 1999. – **205**. – P. 529–539.
145. *Bolarin M.C., Santa-Cruz A., Caro M.* Relationship between the salt responses of tomato transgenic plants and calluses derived from them // IX Intern. Congr. Plant Tissue Cell Culture: Abstr. (June 14–19, 1998). – Jerusalem, 1998. – P. 132.

146. *Shiraishi E., Inouhe M., Joho M., Tohoyama H.* The cadmium-resistant gene, CAD2, which is a mutated putative copper-transporter gene (PCA1), controls the intracellular cadmium-level in the yeast *S. cerevisiae* // *Curr. Genet.* – 2000. – **37**. – P. 79–86.
147. *Lee J., Bae H., Jeong J. et al.* Functional expression of a bacterial heavy metal transporter in Arabidopsis enhances resistance to and decreases uptake of heavy metal // *Plant Physiol.* – 2003. – **133**. – P. 589–596.
148. *Arazi T., Sunkar R., Kaplan B., Fromm H.* A tobacco plasma membrane calmodulin-binding transporter confers Ni²⁺ tolerance and Pb²⁺ hypersensitivity in transgenic plants // *Plant J.* – 1999. – **20**, № 2. – P. 171–182.
149. *Hirschi K.D., Korenkov V.D., Wilganowski N.L., Wagner G.J.* Expression of Arabidopsis CAS2 in tobacco. Altered metal accumulation and increased manganese tolerance // *Plant Physiol.* – 2000. – **124**. – P. 125.
150. *Cui X.H., Hao F.S., Chen H. et al.* Expression of the *Vicia faba* VfPIP1 gene in *Arabidopsis thaliana* plants improves their drought resistance // *J. Plant Res.* – 2008. – **121**, № 2. – P. 207–214.
151. *Yang S., Reddy M.P., Maggio A., Watad A.A.* Salt tolerance of tobacco plants is mediated by yeast calcineurin // *Plant Biol.* 97 : Annu. Meet. Amer. Soc. Plant Physiol. and Canad. Soc. Plant Physiol. Vancouver, 2–6 Aug. 1997 // *Plant Physiol.* – 1997. – **114**, № 3. – P. 135.
152. *Grover A., Sahi C., Sanan A.* Timing abiotic stresses in plants through genetic engineering: current strategies and perspective // *Plant Sci.* – 1999. – **143**. – P. 101–111.
153. *Wang W., Levin N., Tzfira T. et al.* Plant tolerance to water and salt stress: the expression pattern of a water stress responsive protein (*BspA*) in transgenic aspen plants // IX Intern. Congr. Plant Tissue Cell Culture: (June 14–19, 1998). – Jerusalem, 1998. – P. 55.
154. *Wang W.X., Pelah D., Alergand T. et al.* Characterization of SP1, a stress-responsive, boiling-soluble, homooligomeric protein from aspen (*Populus tremula* L.) // *Plant Physiol.* – 2002. – **130**. – P. 865–875.
155. *Wang W.X., Barak T., Vinocur B. et al.* Abiotic resistance and chaperones: possible physiological role of SP1, a stable and stabilizing protein from *Populus* / Ed. I.K. Vasil // *Plant biotechnology 2000 and beyond.* – Dordrecht : Kluwer, 2003. – P. 439–443.
156. *Roy R., Purty R.S., Agrawal V., Gupta S.C.* Transformation of tomato cultivar Pusa Ruby with *bspA* gene from *Populus tremula* for drought tolerance // *Plant Cell, Tissue Organ Culture.* – 2006. – **84**. – P. 56–68.
157. *Qiao J., Mitsuohara I., Yazaki Y. et al.* Enhanced resistance to salt, cold and wound stresses by overproduction of animal cell death suppressors *Bcl-xL* and *Ced-9* in tobacco cells – their possible contribution through improved function of organella // *Plant Cell Physiol.* – 2002. – **43**. – P. 992–1005.
158. *Kwon Y., Kim S.-H., Jung M.-S. et al.* Arabidopsis *hot2* encodes an endochitinase-like protein that is essential for tolerance to heat, salt and drought stresses // *Plant J.* – 2007. – **49**. – P. 184–193.
159. *Suslow T.V., Jones J.D.G.* Chitinase-producing plants. USA Patent 5633450. DNA Plant Technol. Corp. N 566347. Заявл. 01.12.95. Оpubл. 27.05.97. МПК⁶ А01Н 5/00, С12 N 15/56.
160. *Gilad A., Kalifa Y., Ibragimov V., Bar-Zvi D.* The water-stress and salt-stress regulated plant gene encodes a nuclear DNA-binding protein // IX Intern. Congr. Plant Tissue Cell Culture: Abstr. (June 14–19, 1998). – Jerusalem, 1998. – P. 129.
161. *Tang L., Kim M.D., Yang K.-S. et al.* Enhanced tolerance of transgenic potato plants overexpressing nucleoside diphosphate kinase 2 against multiple environmental stresses // *Transgenic Res.* – 2008. – **17**, № 4. – P. 705–715.
162. *Sanan-Mishra N., Pham X.H., Sopory S.K., Tuteja N.* Pea DAN helicase 45 overexpression in tobacco confers high salinity tolerance without affecting yield // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2005. – **102**, № 2. – P. 509–514.
163. *Tuteja N.* Unwinding after high salinity stress: development of salinity tolerant plant without affecting yield // ISB News Report. 2005 (<http://www.isb.vt.edu/news/2005/artspdf/mar0505.pdf>).
164. *Zhang M., Barg R., Yin M. et al.* Modulated fatty acid desaturation via overexpression of two distinct -3 desaturases differentially alters tolerance to variance to various abiotic stresses in transgenic tobacco cells and plants // *Plant J.* – 2005. – **44**. – P. 361–371.
165. *Jaglo K.R., Kleff S., Amundsen K.L. et al.* Components of the Arabidopsis C-repeat/ dehydration-responsive element binding factor cold-response pathway are conserved in *Brassica napus* and other plant species // *Plant Physiol.* – 2001. – **127**. – P. 910–917.
166. *Gilmour S.J., Sebolt A.M., Salazar M.P. et al.* Overexpression of the Arabidopsis CBF3 transcriptional activator mimics multiple biochemical changes associated with cold acclimation // *Plant Physiol.* – 2000. – **124**. – P. 1854–1865.
167. *Haake V., Cook D., Riechmann J.L. et al.* Transcription factor CBF4 is a regulator of drought adaptation in Arabidopsis // *Plant Physiol.* – 2002. – **130**. – P. 639–648.
168. *Prandl R., Hinderhofer K., Eggers-Schumacher G., Schoffl F.* HSF3, a new heat shock factor from *Arabidopsis thaliana*, derepresses the heat shock response and confers thermotolerance when overexpressed in transgenic plants // *Mol. Gen. Genet.* – 1998. – **258**. – P. 269–278.
169. *Mishra S.K., Tripp J., Winkelhaus S. et al.* In the complex family of heat stress transcription factors, HsfA1 has a unique role as master regulator of thermotolerance in tomato // *Gene Dev.* – 2002. – **16**. – P. 1555–1567.
170. *Kim B.-G., Waadt R., Cheong Y.H. et al.* The calcium sensor CBL10 mediates salt tolerance by regulating ion homeostasis in Arabidopsis // *Plant J.* – 2007. – **52**. – P. 473–484.

171. Sivamani E., Bahieldin A., Wraith J.M. et al. Improved biomass productivity and water use efficiency under water deficit conditions in transgenic wheat constitutively expressing the barley HVA1 gene // *Plant Sci.* – 2000. – **155**. – P. 1–9.
172. Steponkus P.L., Uemura M., Joseph R.A. et al. Mode of action of the COR15a gene on the freezing tolerance of *Arabidopsis thaliana* // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1998. – **95**. – P. 14570–14575.
173. Tarczynski M.C., Jensen R.G., Bohnert H.J. Stress protection of transgenic tobacco by production of the osmolyte mannitol // *Science.* – 1993. – **259**. – P. 508–510.
174. McKersie B.D., Murnaghan J., Jones K.S., Bowley S.R. Iron-superoxide dismutase expression in transgenic alfalfa increases winter survival without a detectable increase in photosynthetic oxidative stress tolerance // *Plant Physiol.* – 2000. – **122**. – P. 1427–1438.
175. Katiyar-Agarwal S., Agarwal M., Grover A. Heat-tolerant basmati rice engineered by over-expression of hsp101 // *Plant Mol. Biol.* – 2003. – **51**. – P. 677–686.
176. Sugino M., Hibino T., Tanaka Y. et al. Overexpression of DnaK from a halotolerant cyanobacterium *Aphanothece halophytice* acquires resistance to salt stress in transgenic tobacco plants // *Plant Sci.* – 1999. – **146**. – P. 81–88.
177. Ильина Е.Л., Егорова И.А., Монахова В.А. и др. Создание и изучение коллекции трансгенных растений редиса (*Raphanus sativus* L.), экспрессирующих отдельные гены Т-ДНК агробактерий // Физиология трансгенного растения и проблемы биобезопасности : Тез. докл. 2-го Всерос. симп. – М., 2007. – С. 13.
178. Bordas M., Montesinos C., Debaux M. et al. Transfer of the yeast salt tolerance gene HAL1 to *Cucumis melo* L. cultivars and in vitro evaluation of salt tolerance // *Transgenic Res.* – 1997. – **6**, № 1. – P. 41–50.
179. Gisbert C., Rus A.M., Bolarin M.C. et al. The yeast HAL1 gene improves salt tolerance of transgenic tomato // *Plant Physiol.* – 2000. – **123**. – P. 393–402.
180. Katiyar-Agarwal S., Agarwal M., Grover A. Emerging trends in agricultural biotechnology research: use of abiotic stress induced promoter to drive expression of a stress resistance gene in the transgenic system leads to high level stress tolerance associated with minimal negative effects on growth // *Curr. Sci.* – 1999. – **77**. – P. 1577–1579.
181. McCue K.F., Hanson A.D. Drought and salt tolerance: towards understanding and application // *Trends Biotechnol.* – 1990. – **8**. – P. 358–362.
182. Bowler C., Van Montagu M., Inzé D. Superoxide dismutase and stress tolerance // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 1992. – **43**. – P. 83–116.
183. Vierling E., Kimpel J.A. Plant responses to environmental stress // *Curr. Opin. Biotechnol.* – 1992. – **3**, № 2. – P. 164–70.
184. Ingram J., Bartels D. The molecular basis of dehydration tolerance in plants // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 1996. – **47**. – P. 377–403.
185. Zhu J.K., Hasegawa P.M., Bressan R.A. Molecular aspects of osmotic stress in plants // *Crit. Rev. Plant Sci.* – 1997. – **16**. – P. 253–277.
186. Smirnov N. Plant resistance to environmental stress // *Curr. Opin. Biotechnol.* – 1998. – **9**. – P. 214–219.
187. Hare P.D., Cress W.A., Van Staden J. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress // *Plant Cell Environm.* – 1998. – **21**. – P. 535–553.
188. Bohnert H.J., Sheveleva E. Plant stress adaptations, making metabolism move // *Curr. Opin. Plant Biol.* – 1998. – **1**. – P. 267–274.
189. Morimoto R.J. Regulation of the heat shock transcriptional response: cross talk between a family of heat shock factors, molecular chaperones and negative regulators // *Genes Dev.* – 1998. – **12**. – P. 3788–3796.
190. Serrano R., Culiarez-Macia F.A., Moreno V. Genetic engineering of salt and drought tolerance with yeast regulatory genes // *Sci. Hort.* – 1999. – **78**. – P. 261–269.
191. Hasegawa P.M., Bressan R.A., Zhu J.-K., Bohnert H.J. Plant cellular and molecular responses to high salinity // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 2000. – **51**. – P. 463–499.
192. Zhu J.-K. Plant salt tolerance // *Trends Plant Sci.* – 2001. – **8**, № 2. – P. 66–71.
193. Mittler R. Oxidative stress, antioxidants, and stress tolerance // *Trends Plant Sci.* – 2002. – **7**. – P. 405–410.
194. Sakamoto T., Murata N. Regulation of the desaturation of fatty acids and its role in tolerance to cold and salt stress // *Curr. Opin. Microbiol.* – 2002. – **5**, № 2. – P. 208–210.
195. Xiong L., Schumaker K. S., Zhu J. K. Cell signalling during cold, drought and salt stress // *Plant Cell.* – 2002. – **14**. – P. 165–183.
196. Титов С.Е., Кочетов А.В., Коваль В.С., Шумный В.К. Трансгенез как способ повышения устойчивости растений к абиотическим стрессам // Усп. соврем. биологии. – 2003. – **123**. – С. 487–494.
197. Wang W., Vinocur B., Altman A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance // *Planta.* – 2003. – **218**. – P. 1–14.
198. Munns R. Genes and salt tolerance: bringing them together // *New Phytol.* – 2005. – **167**. – P. 645–663.
199. Bhatnagar-Mathur P., Valdez V., Sharma K.K. Transgenic approaches for abiotic stress tolerance in plants: retrospects and prospects // *Plant Cell Rep.* – 2008. – **27**, № 3. – P. 411–424.