

УДК 581.1

ВЛИЯНИЕ НИЗКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ И КАДМИЯ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНА ДЕГИДРИНА *WCS120* В ЛИСТЬЯХ ПШЕНИЦЫ

Н. С. Репкина, А. Ф. Титов, В. В. Таланова

Институт биологии Карельского научного центра РАН

Проведено сравнительное изучение влияния низкой закаливающей температуры (4 °С) и сульфата кадмия (100 мкМ) на экспрессию гена дегидрина *WCS120* в листьях проростков озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Московская 39. Показано, что низкая температура и кадмий, вызывая торможение роста проростков, не оказывают отрицательного влияния на оводненность тканей побега и проницаемость мембран клеток листа. Установлено также, что уже через 0,5 ч от начала действия температуры 4 °С происходит достоверное повышение холодоустойчивости проростков пшеницы, которая затем монотонно увеличивается, достигая максимума на 6–7-е сутки эксперимента. Воздействие на проростки кадмия также приводило к повышению их холодоустойчивости, но в меньшей степени, чем действие низкой температуры. Закаливание проростков пшеницы сопровождалось увеличением содержания мРНК гена дегидрина *WCS120* в листьях, которое зафиксировано уже через 0,5–1 ч действия холода, когда наблюдалось начальное повышение холодоустойчивости растений, и сохранялось в дальнейшем на повышенном уровне в течение 7 суток. В отличие от этого обработка проростков кадмием не сказывалась на содержании транскриптов этого гена в листьях пшеницы, которое оставалось практически неизменным как в начальный период действия кадмия, так и при его более длительном воздействии (1–7 сут). Полученные результаты свидетельствуют о зависимости экспрессии гена дегидрина *WCS120* от действия холода и указывают на возможность использования индукции экспрессии данного гена, как и его продукта белка *WCS120*, в качестве молекулярного маркера устойчивости растений пшеницы к действию низких температур.

Ключевые слова: низкая температура; кадмий; пшеница; экспрессия гена *WCS120*; устойчивость; проницаемость мембран; оводненность тканей.

N. S. Repkina, A. F. Titov, V. V. Talanova. LOW TEMPERATURE AND CADMIUM EFFECT ON DEHYDRIN *WCS120* GENE EXPRESSION IN WHEAT LEAVES

The effect of low temperature (4 °C) and cadmium sulphate (100 μM) on *WCS120* dehydrin gene expression in wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.) cv. Moskovskaya 39 leaves was studied. While inhibiting the growth of seedlings, low temperature and cadmium had no negative effect on relative water content or membrane permeability of leaf cells. It was established that after 30 min of exposure to 4 °C temperature the wheat cold tolerance increased and reached a maximum on the 6th – 7th day of the experiment. Exposure of the seedlings to cadmium also promoted their cold tolerance, but this effect was lower than under low temperature. The mRNA *WCS120* dehydrin gene content in leaves rose in the initial period (after 30 min – 1 h) of cold treatment, when the cold tolerance started

to build up, and remained high for 7 days thereafter. In contrast, the seedlings' exposure to cadmium had no effect on the *WCS120* transcript level, which remained practically unchanged both in the initial period and after long-term (1–7 days) impact. Our results indicate a dependence of *WCS120* dehydrin gene expression on low temperature impact, and suggest the induced expression of this gene, as well as its product, *WCS120* protein, can be used as a molecular marker of wheat cold tolerance.

Key words: low temperature; cadmium; wheat; *WCS120* gene expression; tolerance; membrane permeability; relative water content.

Введение

В природных условиях растения в течение своей жизни часто подвергаются действию тех или иных неблагоприятных факторов внешней среды, в частности низкой температуры и тяжелых металлов [Войников, 2013; Титов и др., 2014]. Как показывают многочисленные исследования, и низкие температуры, и тяжелые металлы, в том числе один из самых токсичных – кадмий, способны оказывать отрицательное влияние на рост, развитие и продуктивность растений [Winfield et al., 2010; Clemens et al., 2013]. В ответ на действие этих стресс-факторов у растений включаются различные защитно-приспособительные реакции и адаптационные механизмы, благодаря которым растениям удается выживать в возникающих неблагоприятных условиях [Winfield et al., 2010; Manara, 2012].

В последние годы благодаря развитию молекулярных и генетических методов установлено, что важную роль в механизмах повышения устойчивости растений к низким температурам играют гены холодового ответа, в том числе *COR* (Cold Responsive), *RAB* (Responsive to Abscisic Acid) и *LEA* (Late Embryogenesis Abundant) гены [Thomashow, 1998; Jan et al., 2009]. К настоящему времени гены этих семейств выделены и охарактеризованы для таких видов растений, как арабидопсис, люцерна, шпинат, томат, ячмень и пшеница [Wanner, Junttila, 1999; Zalunskaitė et al., 2008]. Среди *LEA* генов особое внимание исследователей привлекают гены, кодирующие *LEA* белки, участвующие в процессах холодовой адаптации растений. *LEA* белки – водорастворимые низкомолекулярные белки [Колесниченко, Войников, 2003; Войников, 2013], локализованные в различных компартментах клетки [Neuyen et al., 2002; Grelet et al., 2005]. Экспрессия кодирующих их генов тканеспецифична [Hong-Bo et al., 2005]. Функционируя как шапероны, они предотвращают агрегацию белков [Goyal et al., 2005] и препятствуют потере воды клеткой, стабилизируя клеточные мембраны при обезвоживании, вызванном

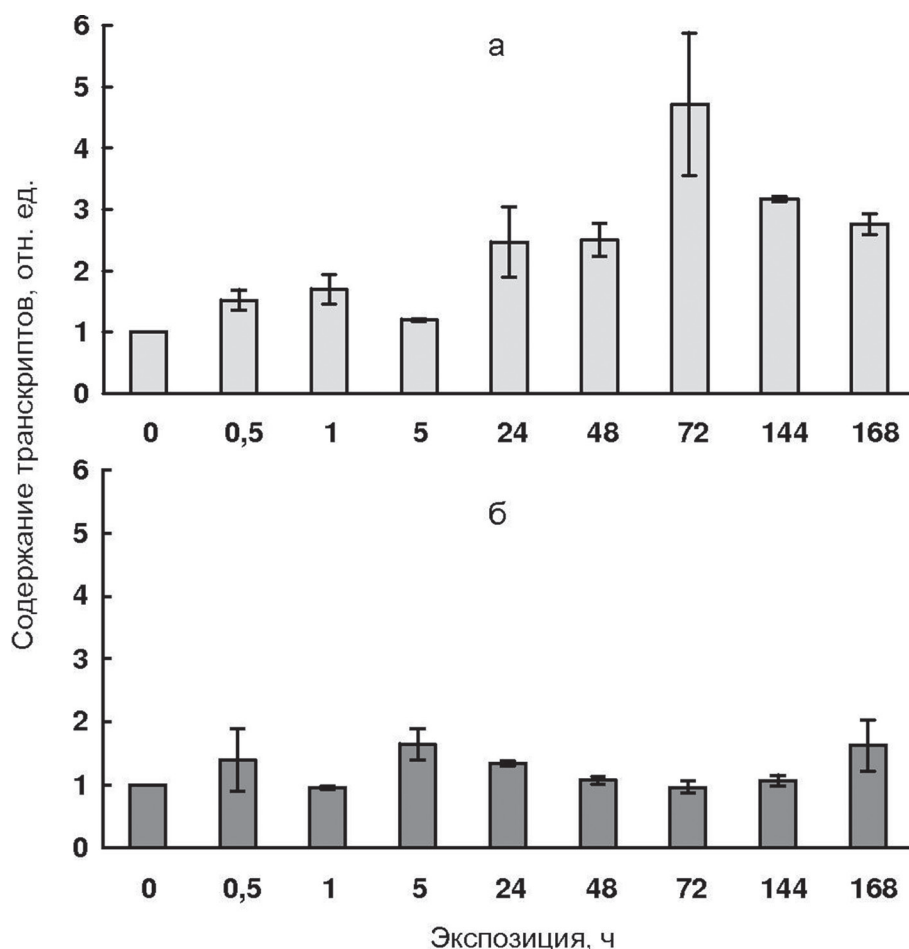
действием низкой температуры или другими стресс-факторами [Колесниченко, Войников, 2003; Войников, 2013].

Ко II группе класса *LEA* белков относится семейство *WCS* (Wheat Cold Specific), специфичное для злаковых растений [Close, 1996; Fowler, Thomashow, 2001; Winfield et al., 2010]. Оно включает белки с молекулярной массой от 12 до 200 кДа и состоит как минимум из пяти представителей: *WCS40*, *WCS66*, *WCS120*, *WCS180*, *WCS200* [Houde et al., 1992]. В настоящее время охарактеризовано семейство генов *WCS*, кодирующих белки-дегидрины семейства *WCS* [Колесниченко, Войников, 2003]. Известно, что накопление дегидринов, принадлежащих к *LEA* белкам, и увеличение экспрессии кодирующих их генов наблюдается в растениях под влиянием не только низкой температуры, но и других стресс-факторов, в частности засухи и засоления [Dalal et al., 2009; Winfield et al., 2010]. Однако пока такого рода данные в отношении дегидринов семейства *WCS* и их роли в устойчивости растений к стресс-факторам немногочисленны. Более того, сведения о влиянии тяжелых металлов на экспрессию генов и синтез белков-дегидринов *WCS* в известной нам литературе отсутствуют.

Учитывая это, целью данной работы явилось исследование влияния низкой температуры и кадмия на экспрессию гена *WCS120* в листьях пшеницы.

Материалы и методы

В качестве объекта исследований использовали проростки озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Московская 39. Их выращивали в рулонах фильтровальной бумаги на питательном растворе (рН 6,2–6,4) с добавлением микроэлементов в климатической камере при температуре воздуха 22 °С, его относительной влажности 60–70 %, освещенности около 10 клк и 14-часовом фотопериоде. По достижении недельного возраста проростки пшеницы подвергали действию низкой температуры 4 °С или сульфата кадмия в концентрации



Влияние низкой температуры (4 °С) (а) и сульфата кадмия (100 мкМ) (б) на содержание транскриптов гена *WCS120* в листьях пшеницы

100 мкМ в течение 7 сут, сохраняя прочие условия неизменными.

Площадь 1-го листа пшеницы определяли стандартным методом [Аникиев, Кутузов, 1961].

Оводненность тканей побега рассчитывали по общепринятой формуле [Рогожин, Рогожина, 2013].

Проницаемость мембран клеток определяли кондуктометрически по выходу электролитов из высечек листьев пшеницы с использованием кондуктометра (HANNA, Италия) [Гришенкова, Лукаткин, 2005].

Устойчивость растений к действию низких температур оценивали по реакции клеток высечек из листьев на 5-минутное тестирующее промораживание в термоэлектрическом микрохолодильнике ТЖР-02/–20 («Интерм», Россия) при последовательном изменении температуры с интервалом 0,4° [Балагурова и др., 1982]. В качестве критерия устойчивости использовали температуру гибели 50 % паренхимных клеток (LT_{50}), определяемую по деструкции хлоропластов и коагуляции цитоплазмы.

Накопление транскриптов гена *WCS120* анализировали методом ПЦР в режиме реального времени. Для этого навеску листьев пшеницы (50 мг) растирали в жидком азоте. Тотальную РНК выделяли с помощью набора ExtractRNA («Евроген», Россия). Для удаления остатков ДНК препарат РНК обрабатывали ДНКазой (10 ед/мл) («Синтол», Россия). кДНК синтезировали, используя набор для обратной транскрипции с M-MLV обратной транскриптазой и случайными (random) гексапраймерами («Евроген», Россия). Количество и качество выделенной РНК и синтезированной кДНК проверяли спектрофотометрически (SmartSpecPlus, «Био-Рад»). Амплификацию образцов проводили в приборе iCycler с оптической приставкой iQ5 («Био-Рад»), используя наборы для амплификации с интеркалирующим красителем SYBR Green («Евроген», Россия). Смесь для ПЦР объемом 25 мкл содержала 1 мкл кДНК (100 нг), 10 мкл реакционной смеси, по 1 мкл прямого и обратного праймеров (10 мкМ) (табл. 1), 1 мкл $MgCl_2$ и 17 мкл деионизованной воды, свободной от нуклеаз. В качестве референсного гена

Таблица 1. Праймеры для проведения ПЦР в режиме реального времени

Ген	Прямой и обратный праймеры	Нуклеотидная последовательность праймера 5' ... 3'	Номер доступа в базе данных NCBI
<i>Actin</i>	прямой	GGGACCTCACGGATAATCTAATG	AJ579382
	обратный	AACCTCCACTGAGAACAACATTAC	
<i>WCS120</i>	прямой	CACGGCACTGGCGAGAAGAAAGG	M93342
	обратный	TGATGTTCTCCATGACGCCCTTC	

Таблица 2. Влияние низкой температуры (4 °С) и сульфата кадмия (100 мкМ) на площадь 1-го листа растений пшеницы

Вариант	Исходный уровень, см ²	Площадь листа, % к исходному уровню					
		экспозиция, ч					
		0	24	48	72	144	168
Контроль	3,1 ± 0,1	100	125*	154*	170*	176*	182*
4 °С	2,9 ± 0,1	100	104	109	113*	123*	128*
Cd	3,0 ± 0,1	100	117*	128*	140*	152*	159*

Примечание. *Отличия от исходного уровня достоверны при $p \leq 0,05$.

использовали актин. Протокол ПЦР: 5 мин при 95 °С, далее 45 циклов 15 с при 95 °С, 30 с при 56 °С. Специфичность продуктов амплификации проверяли плавлением ПЦР фрагментов: 1 мин при 95 °С, 1 мин при 50 °С, 10 с при 60 °С (80 циклов, повышая в каждом цикле температуру на 0,5 °С). Накопление транскриптов генов вычисляли по формуле:

$$\text{Накопление транскриптов гена} = \frac{2^{\text{Ст (контрольный)} - \text{Ст (тестовый образец)}}}{\text{Ст (контрольный)}}$$

где Ст – значения пороговых циклов.

В качестве контрольных образцов были выбраны кДНК, выделенные из растений, не подвергнутых воздействию низкой температуры и кадмия.

Повторность при анализе холодоустойчивости проростков в пределах одного опыта 6-кратная, при исследовании роста 50-кратная, проницаемости мембран и оводненности тканей побега 3-кратная, а при проведении ПЦР-анализа 2-кратная. На рисунках приведены средние арифметические значения из нескольких независимых опытов и их стандартные отклонения. В статье обсуждаются величины, достоверные при $p \leq 0,05$.

Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования ИБ КарНЦ РАН «Комплексные фундаментальные и прикладные исследования особенностей функционирования живых систем в условиях Севера».

Результаты

Изучение реакции растений пшеницы на действие низкой температуры и кадмия показало, что уже через 24 ч от его начала

происходит торможение ростовых процессов. При этом более сильное негативное влияние на рост растений оказывала низкая температура. В частности, если в контроле (22 °С) площадь листа на 7-е сут опыта увеличилась по отношению к исходному значению примерно на 80 %, то при действии низкой температуры – на 30 %, а в присутствии кадмия – на 60 % (табл. 2).

Анализ выхода электролитов из листьев пшеницы показал, что в процессе закаливания не происходит заметных изменений этого показателя (табл. 3). Действие кадмия (100 мкМ) в начальный его период (1–24 ч) приводило к некоторому увеличению выхода электролитов из листьев, но в дальнейшем (2–7 сут) он снижался и на 7-е сут практически не отличался от исходных значений.

Показано также, что под влиянием этих стресс-факторов происходит некоторое снижение оводненности тканей побега растений пшеницы. Причем она уменьшалась в несколько большей степени при действии низкой температуры, чем кадмия (табл. 3).

Установлено, что уже через 0,5–5 ч от начала действия температуры 4 °С устойчивость листьев растений пшеницы к промораживанию достоверно увеличивается, затем в течение 1–7 сут она продолжает монотонно возрастать, достигая максимума на 6–7-е сут (табл. 4). Под влиянием кадмия также происходило быстрое (1–5 ч), но меньшее по величине повышение устойчивости растений, которая достигала максимума на 3-и сут действия металла, а затем несколько снижалась к 6–7-м сут (табл. 4).

Изучение содержания транскриптов гена дегидрина *WCS120* в листьях пшеницы показало, что уже в начальный период (0,5–1 ч) действия низкой закаливающей температуры

Таблица 3. Влияние низкой температуры (4 °С) и сульфата кадмия (100 мкМ) на проницаемость мембран клеток листа растений и оводненность тканей побега пшеницы

Экспозиция, ч	Выход электролитов, % от полного выхода		Оводненность побега, %	
	4 °С	Cd	4 °С	Cd
0	9 ± 0,6	9 ± 0,6	89,3 ± 0,4	89,3 ± 0,4
24	10 ± 0,5	16 ± 0,6	88,1 ± 0,6	88,7 ± 0,1
48	13 ± 1,5	13 ± 0,8	87,1 ± 0,1	88,8 ± 0,1
144	10 ± 0,3	10 ± 0,4	85,1 ± 0,6	86,9 ± 0,3
168	9 ± 0,4	10 ± 1	85,1 ± 0,3	86,8 ± 0,1

происходит накопление мРНК данного гена (рис.). В дальнейшем, при более продолжительном (1–7 сут) воздействии температуры 4 °С содержание транскриптов гена *WCS120* существенно увеличивалось (в 2–3 раза) и сохранялось на повышенном уровне до конца эксперимента. В отличие от этого действие кадмия не приводило к достоверным изменениям в содержании транскриптов гена дегидрина *WCS120* в листьях пшеницы.

Обсуждение

Проведенные исследования показали, что даже длительное (7 сут) воздействие температуры 4 °С и кадмия в концентрации 100 мкМ не вызывает полной остановки роста, значительного снижения оводненности и нарушения проницаемости мембран клеток листьев пшеницы. Это свидетельствует о том, что растения пшеницы были достаточно хорошо адаптированы к действию этих факторов. Интересно, что не только низкая температура, но и кадмий вызывал повышение их холодоустойчивости. Отметим, в настоящее время имеются лишь единичные сведения относительно влияния тяжелых металлов на холодоустойчивость растений. В частности, известны данные о повышении холодоустойчивости растений пшеницы под влиянием свинца [Титов, Таланова, 2009]. В данном случае установлено, что кадмий способен повышать холодоустойчивость пшеницы, хотя и в меньшей степени, чем низкая закалывающая температура.

Как известно, важную роль в механизмах адаптации растений к низким температурам наряду с антифризными белками играют дегидрины, аквапорины и белки холодового ответа [Трунова, 2007]. В частности, под влиянием холода в клетках растений происходит накопление гидрофильных, осмопротекторных белков-дегидринов, принадлежащих к LEA белкам [Войников, 2013].

К дегидринам, активируемым холодом у пшеницы, относятся белки семейства *WCS* [Winfield et al., 2010]. В нашей работе проведено

Таблица 4. Влияние низкой температуры (4 °С) и сульфата кадмия (100 мкМ) на холодоустойчивость растений пшеницы

Экспозиция, ч	Холодоустойчивость (ЛТ ₅₀), °С	
	4 °С	Cd
0	-5,8 ± 0,0	-5,8 ± 0,0
0,5	-6,0 ± 0,0	-5,6 ± 0,0
1	-6,5 ± 0,0	-6,1 ± 0,1
5	-6,5 ± 0,1	-6,3 ± 0,0
24	-7,1 ± 0,0	-6,5 ± 0,0
48	-7,3 ± 0,1	-6,4 ± 0,0
72	-7,2 ± 0,1	-6,6 ± 0,1
144	-8,5 ± 0,1	-6,4 ± 0,0
168	-8,7 ± 0,1	-6,4 ± 0,0

изучение экспрессии гена дегидринов *WCS120* семейства генов *WCS*, специфичного для злаковых растений [Fowler, Thomashow, 2001; Winfield et al., 2010]. В ходе исследований было установлено, что уже в самом начале (0,5–1 ч) действия температуры 4 °С, когда происходит начальное повышение холодоустойчивости и небольшое снижение оводненности растений пшеницы, наблюдается некоторое увеличение содержания транскриптов гена *WCS120*. При более длительных экспозициях (1–7 сут) на фоне продолжающегося роста холодоустойчивости растений и снижения оводненности отмечено значительное увеличение содержания мРНК гена *WCS120*, которое сохраняется на повышенном уровне до конца эксперимента (рис.). Эти результаты согласуются с данными о повышении экспрессии гена *WCS120* у пшеницы (с. Мироновская 808) при 5 °С [Kosová et al., 2011, 2013] и его гомологов у ячменя при 10 °С [Fowler, Thomashow, 2001]. Кроме того, показано, что холодоустойчивые сорта пшеницы характеризуются более высоким уровнем экспрессии гена *WCS120* [Wenda-Piesik et al., 2016]. Отметим также, что в настоящее время предлагается использовать белок *WCS120* в качестве маркера холодоустойчивости растений [Holikova et al., 2009; Vitamvas et al., 2010].

Ранее было высказано предположение, что ген *WCS120* экспрессируется у растений

пшеницы только под влиянием низкой температуры, так как при других неблагоприятных воздействиях (высокая температура, засуха) этого не происходит [Houde et al., 1992]. В наших экспериментах сульфат кадмия также не оказывал существенного влияния на содержание транскриптов гена *WCS120*: даже при длительных экспозициях (1–7 сут), когда, как показано нами ранее [Репкина и др., 2015], кадмий уже накапливался в листе, содержание мРНК практически не превышало исходный уровень. В отличие от этого накопление транскриптов генов других семейств, в том числе *WRAB15* и *WRAB18*, кодирующих белки-дегидрины, происходит не только под влиянием низкой закалывающей температуры (4 °С), но и при воздействии кадмия. В частности, содержание мРНК генов дегидринов *WRAB15* и *WRAB18* практически не изменялось в течение первых суток от начала действия кадмия (100 мкМ), тогда как при более длительном воздействии (2–7 сут) накопление транскриптов этих генов усиливалось [Таланова и др., 2013]. Таким образом, полученные нами результаты позволяют заключить, что экспрессия гена *WCS120* может быть индуцирована холодом, в то время как кадмий на нее не влияет.

Заключение

Исследование реакции растений пшеницы на действие низкой температуры 4 °С и кадмия в концентрации 100 мкМ показало, что, судя по таким показателям, как рост растений, оводненность тканей и проницаемость мембран клеток, эти факторы не оказывают повреждающего эффекта и растения способны вполне успешно адаптироваться к ним. При этом оказалось, что не только низкая температура, но и кадмий способен вызывать повышение холодоустойчивости пшеницы. Важно, что рост холодоустойчивости растений под влиянием низкой температуры сопровождается значительным накоплением мРНК гена *WCS120* в листьях, что свидетельствует о его участии в процессах холодной адаптации. В отличие от этого при действии на растения кадмия, как в начальный период (часы), так и при более длительных экспозициях (сутки), когда уже происходило значительное накопление этого металла в листьях, в содержании транскриптов гена *WCS120* не происходит значительных изменений, и оно остается на уровне контрольных растений. Совокупность полученных нами данных, а также уже известные факты об отсутствии влияния засухи и высокой температуры на экспрессию гена *WCS120* позволяют

говорить о его специфичной роли в устойчивости растений к действию низких температур. Исходя из этого логично полагать, что индукция экспрессии гена *WCS120*, кодирующего белок-дегидрин *WCS120*, может быть использована в качестве молекулярного маркера устойчивости растений пшеницы к действию низких температур.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания (тема № 0021–2014–0002).

Литература

- Аникиев В. В., Кутузов Ф. Ф. Новый способ определения площади листовой поверхности у злаков // Физиология растений. 1961. № 8. С. 375–377.
- Балагурова Н. И., Дроздов С. Н., Хилков Н. И. Метод определения устойчивости растительных тканей к промораживанию. Петрозаводск: Карельский филиал АН СССР, 1982. 6 с.
- Войников В. К. Энергетическая и информационная системы растительных клеток при гипотермии. Новосибирск: Наука, 2013. 212 с.
- Гришенкова Н. Н., Лукаткин А. С. Определение устойчивости растительных тканей к абиотическим стрессам с использованием кондуктометрического метода // Поволжский экологический журнал. 2005. № 1. С. 3–11.
- Колесниченко А. В., Войников В. К. Белки низкотемпературного стресса растений. Иркутск: Арт-Пресс, 2003. 196 с.
- Репкина Н. С., Батова Ю. В., Титов А. Ф., Таланова В. В. Экспрессия гена глутатионсинтетазы *GS3* в корнях и листьях проростков пшеницы при действии кадмия // Труды КарНЦ РАН. 2015. № 11. С. 67–75. doi: 10.17076/eb229
- Рогожин В. В., Рогожина Т. В. Практикум по физиологии и биохимии растений. СПб.: ГИОРД, 2013. 352 с.
- Таланова В. В., Титов А. Ф., Репкина Н. С., Топчиева Л. В. Гены холодового ответа *COR/LEA* участвуют в реакции растений пшеницы на действие тяжелых металлов // Доклады Академии наук. 2013. Т. 448, № 2. С. 242–245. doi: 10.7868/S0869565213020308
- Титов А. Ф., Казнина Н. М., Таланова В. В. Тяжелые металлы и растения. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2014. 194 с.
- Титов А. Ф., Таланова В. В. Устойчивость растений и фитогормоны. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2009. 206 с.
- Трунова Т. И. Растения и низкотемпературный стресс. М.: Наука, 2007. 54 с.
- Clemens S., Aarts M. G. M., Thomine S., Verbruggen N. Plant science: the key to preventing slow cadmium poisoning // Trends in Plant Science. 2013. Vol. 18, no. 2. P. 92–99. doi: 10.1016/j.plants.2012.08.003
- Close T. J. Dehydrins: A commonality in the response of plants to dehydration and low temperature // *Physiol.*

Plant. 1996. Vol. 97. P. 795–803. doi: 10.1111/j.1399-3054.1997.tb04785.x

Dalal M., Tayal D., Chinnusamy V., Bansal K. C. Abiotic stress and ABA-inducible Group 4 LEA from *Brassica napus* plays a key role in salt and drought tolerance // J. Biotech. 2009. Vol. 139. P. 137–145. doi: 10.1016/j.biotech.2008.09.014

Fowler S., Thomashow M. F. Arabidopsis transcriptome profiling indicates that multiple regulatory pathways are activated during cold acclimation in addition to the CBF cold response pathway // Plant Cell. 2001. Vol. 14. P. 1675–1690.

Goyal K., Walton L. J., Tunnacliffe A. LEA proteins prevent protein aggregation due to water stress // Biochem. J. 2005. Vol. 388. P. 151–157. doi: 10.1042/BJ20041931

Grelet J., Benamar A., Teyssier E. et al. Identification in pea seed mitochondria of a late-embryogenesis abundant protein able to protect enzyme from drying // Plant Physiol. 2005. Vol. 137. P. 157–167.

Heyen B. J., Alshekh M. K., Smith E. A. et al. The calcium-binding activity of a vacuole-associated, dehydrin-like protein is regulated by phosphorylation // Plant. Physiol. 2002. Vol. 130. P. 675–687.

Holkova L., Prasil T., Bradacova M. et al. Screening for frost tolerance in wheat using the expression of dehydrin genes *Wcs120* and *Wdhn13* at 17°C // Plant Breeding. 2009. Vol. 128. P. 420–422. doi: 10.1111/j.1439-0523.2008.01606.x

Hong-Bo S., Zong-Suo L., Ming-An S. LEA proteins in higher plants structure, function, gene expression and regulation // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 2005. Vol. 45. P. 131–135. doi: 10.1016/j.colsurfb.2005.07.017

Houde M., Danyluk J., Laliberte J. F. et al. A molecular marker to select for freezing tolerance in Gramineae // Mol. Gen. Genet. 1992. Vol. 234. P. 43–48.

Jan N., Hussain M., Andrabi K. I. Cold resistance in plants: A mystery unresolved // Electronic

Journal of Biotechnology. 2009. Vol. 12, no. 3. P. 1–15. doi: 10.2225/vol12-issue3-fulltext-3

Kosová K., Vitamvas P., Prasil I. T. Expression of dehydrins in wheat and barley under different temperatures // Plant Sci. 2011. Vol. 180. P. 46–52. doi: 10.1016/j.plantsci.2010.07.003

Kosová K., Vitamvas P., Prasilova P., Prasil I. T. Accumulation of WCS120 and DHN5 proteins in differently frost-tolerant wheat and barley cultivars grown under a broad temperature scale // Biol. Plant. 2013. Vol. 57. P. 105–112.

Manara A. Plants and Heavy metals. Ed. A. Furini. The Netherlands. Springer, 2012. P. 27–53.

Thomashow M. F. Role of cold-responsive genes in plant freezing tolerance // Plant Physiol. 1998. Vol. 118, no. 1. P. 1–7.

Vitamvas P., Kosová K., Prasilova P., Prasil T. Accumulation of WCS120 protein in wheat cultivars grown at 9 °C or 17 °C in relation to their winter survival // Plant Breeding. 2010. Vol. 129. P. 611–616. doi: 10.1111/j.1439-0523.2010.01783.x

Wanner L. A., Junttila O. Cold-induced freezing tolerance in Arabidopsis // Plant Physiol. 1999. Vol. 120. P. 391–399.

Wenda-Piesik A., Holkova L., Solařová E., Pokorný R. Attributes of wheat cultivars for late autumn sowing in genes expression and field estimates // Europ. J. Agronomy. 2016. Vol. 75. P. 42–49. doi: 10.1016/j.eja.2016.01.002

Winfield M. O., Lu C., Wilson I. D. et al. Plant response to cold: transcriptome analysis of wheat // Plant Biotech. J. 2010. Vol. 8. P. 749–771. doi: 10.1111/j.1467-7652.2010.00536.x

Zalunskaitė I., Rugienius R., Vinskienė J. et al. Expression of COR gene homologues in different plants during cold acclimation // Biologija. 2008. Vol. 54, no. 1. P. 33–35.

Поступила в редакцию 21.04.2016

References

Anikiev V. V., Kutuzov F. F. Novyj sposob opredeleniya ploshhadi listovoj poverhnosti u zlakov [A new method for leaf area estimation in cereals]. *Fiziologija rastenij* [Russ. J. Plant Physiol.]. 1961. No. 8. P. 375–377.

Balagurova N. I., Drozdov S. N., Hilkov N. I. Metod opredeleniya ustojchivosti rastitel'nyh tkanej k promorazhivaniyu [Method for determination of the resistance of plant tissues to freezing]. Petrozavodsk: Karel. fil. AN SSSR, 1982. 6 p.

Grishenkova N. N., Lukatkin A. S. Opredelenie ustojchivosti rastitel'nyh tkanej k abioticheskim stressam s ispol'zovaniem konduktometricheskogo metoda [A conductometric technique to estimate the plant tissue stability to abiotic stresses]. *Povolzhskij jekologicheskij zhurnal* [Povolzhskiy J. Ecology]. 2005. No. 1. P. 3–11.

Kolesnichenko A. V., Vojnikov V. K. Belki nizektemperaturnogo stressa rastenij [Proteins of low-temperature stress in plants]. Irkutsk: Art-Press, 2003. 196 p.

Repkina N. S., Batova Ju. V., Titov A. F., Talanova V. V. Jekspressija gena glutationsintetazy GS3 v kornjah

i list'jah prorstkov pshenicy pri dejstvii kadmija [Glutathione synthetase (GS3) gene expression in the leaves and roots of wheat seedlings under cadmium impact]. *Trudy KarNTs RAN* [Trans. KarRC RAS]. 2015. No. 11. P. 67–75.

Rogozhin V. V., Rogozhina T. V. Praktikum po fiziologii i biohimii rastenij [Practical course on plant physiology and biochemistry]. St. Petersburg: GIOR, 2013. 352 p.

Talanova V. V., Titov A. F., Repkina N. S., Topchieva L. V. Geny holodovogo otveta COR/LEA uchastvujut v reakcii rastenij pshenicy na dejstvie tjazhelyh metallov [Cold-responsive COR/LEA genes participate in the response of wheat plants to heavy metals stress]. *Doklady Akademii nauk* [Proc. Acad. Sci.]. 2013. Vol. 448, no. 2. P. 242–245.

Titov A. F., Kaznina N. M., Talanova V. V. Tjazhelye metally i rastenija [Heavy metals and plants]. Petrozavodsk: KarRC of RAS, 2014. 194 p.

Titov A. F., Talanova V. V. Ustojchivost' rastenij i fitogormony [Plant resistance and phytohormones]. Petrozavodsk: KarRC of RAS, 2009. 206 p.

Trunova T. I. Rastenija i nizkotemperaturnyj stress [Plants and low-temperature stress]. Moscow: Nauka, 2007. 54 p.

Vojnikov V. K. Jenergeticheskaja i informacionnaja sistemy rastitel'nyh kletok pri gipotermii [Energy and information systems of plant cells under hypothermia]. Novosibirsk: Nauka, 2013. 212 p.

Clemens S., Aarts M. G. M., Thomine S., Verbruggen N. Plant science: the key to preventing slow cadmium poisoning. *Trends in Plant Science*. 2013. Vol. 18, no. 2. P. 92–99. doi: 10.1016/j.plants.2012.08.003

Close T. J. Dehydrins: A commonality in the response of plants to dehydration and low temperature. *Physiol. Plant*. 1996. Vol. 97. P. 795–803. doi: 10.1111/j.1399-3054.1997.tb04785.x

Dalal M., Tayal D., Chinnusamy V., Bansal K. C. Abiotic stress and ABA-inducible Group 4 LEA from *Brassica napus* plays a key role in salt and drought tolerance. *J. Biotech*. 2009. Vol. 139. P. 137–145. doi: 10.1016/j.biotech.2008.09.014

Fowler S., Thomashow M. F. Arabidopsis transcriptome profiling indicates that multiple regulatory pathways are activated during cold acclimation in addition to the CBF cold response pathway. *Plant Cell*. 2001. Vol. 14. P. 1675–1690.

Goyal K., Walton L. J., Tunnacliffe A. LEA proteins prevent protein aggregation due to water stress. *Biochem. J*. 2005. Vol. 388. P. 151–157. doi: 10.1042/BJ20041931

Grelet J., Benamar A., Teyssier E., Avelange-Machereel M. H., Grunwald D., Machereel D. Identification in pea seed mitochondria of a late-embryogenesis abundant protein able to protect enzyme from drying. *Plant Physiol*. 2005. Vol. 137. P. 157–167.

Heyen B. J., Alshekh M. K., Smith E. A., Torvik C. F., Seals D. F., Randall S. K. The calcium-binding activity of a vacuole-associated, dehydrin-like protein is regulated by phosphorylation. *Plant. Physiol*. 2002. Vol. 130. P. 675–687.

Holkova L., Prasil T., Bradacova M., Vitamvas P., Chloupek O. Screening for frost tolerance in wheat using the expression of dehydrin genes *Wcs120* and *Wdhn13* at 17°C. *Plant Breeding*. 2009. Vol. 128. P. 420–422. doi: 10.1111/j.1439-0523.2008.01606.x

Hong-Bo S., Zong-Suo L., Ming-An S. LEA proteins in higher plants structure, function, gene expression and regulation. *Colloids and Surfaces*

B: Biointerfaces. 2005. Vol. 45. P. 131–135. doi: 10.1016/j.colsurfb.2005.07.017

Houde M., Danyluk J., Laliberte J. F., Rassart E., Dhinda D. S., Sarhan F. A molecular marker to select for freezing tolerance in Gramineae. *Mol. Gen. Genet*. 1992. Vol. 234. P. 43–48.

Jan N., Hussain M., Andrabi K. I. Cold resistance in plants: A mystery unresolved. *Electronic Journal of Biotechnology*. 2009. Vol. 12, no. 3. P. 1–15. doi: 10.2225/vol12-issue3-fulltext-3

Kosová K., Vitamvas P., Prasil I. T. Expression of dehydrins in wheat and barley under different temperatures. *Plant Sci*. 2011. Vol. 180. P. 46–52. doi: 10.1016/j.plantsci.2010.07.003

Kosová K., Vitamvas P., Prasilova P., Prasil I. T. Accumulation of WCS120 and DHN5 proteins in differently frost-tolerant wheat and barley cultivars grown under a broad temperature scale. *Biol. Plant*. 2013. Vol. 57. P. 105–112.

Manara A. Plants and Heavy metals. Ed. A. Furini. The Netherlands. Springer, 2012. P. 27–53.

Thomashow M. F. Role of cold-responsive genes in plant freezing tolerance. *Plant Physiol*. 1998. Vol. 118, no. 1. P. 1–7.

Vitamvas P., Kosová K., Prasilova P., Prasil T. Accumulation of WCS120 protein in wheat cultivars grown at 9°C or 17°C in relation to their winter survival. *Plant Breeding*. 2010. Vol. 129. P. 611–616. doi: 10.1111/j.1439-0523.2010.01783.x

Wanner L. A., Junttila O. Cold-induced freezing tolerance in Arabidopsis. *Plant Physiol*. 1999. Vol. 120. P. 391–399.

Wenda-Piesik A., Holkova L., Solařová E., Pokorný R. Attributes of wheat cultivars for late autumn sowing in genes expression and field estimates. *Europ. J. Agronomy*. 2016. Vol. 75. P. 42–49. doi: 10.1016/j.eja.2016.01.002

Winfield M. O., Lu C., Wilson I. D., Coghill J. A., Edwards K. J. Plant response to cold: transcriptome analysis of wheat. *Plant Biotech. J*. 2010. Vol. 8. P. 749–771. doi: 10.1111/j.1467-7652.2010.00536.x

Zalunskaitė I., Rugienius R., Vinskienė J., Bendokas V., Gelvonauskienė D., Stanys Stanys V. Expression of COR gene homologues in different plants during cold acclimation. *Biologija*. 2008. Vol. 54, no. 1. P. 33–35.

Received April 21, 2016

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Репкина Наталья Сергеевна

научный сотрудник, к. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: nrt9@ya.ru
тел.: (8142) 762712

CONTRIBUTORS:

Repkina, Natalia

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: nrt9@ya.ru
tel.: (8142) 762712

Титов Александр Федорович

председатель КарНЦ РАН, руководитель
лаб. экологической физиологии растений,
чл.-корр. РАН, д. б. н, проф.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: titov@krc.karelia.ru

Таланова Вера Викторовна

главный научный сотрудник, д. б. н.
Институт биологии Карельского научного центра РАН
ул. Пушкинская, 11, Петрозаводск, Республика Карелия,
Россия, 185910
эл. почта: talanova@krc.karelia.ru
тел.: (8142) 762712

Titov, Alexandr

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: titov@krc.karelia.ru

Talanova, Vera

Institute of Biology, Karelian Research Centre,
Russian Academy of Sciences
11 Pushkinskaya St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia
e-mail: talanova@krc.karelia.ru