

УДК 577.2+581.17

Єфіменко Т. С., Антонюк М. З.

МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ СТІЙКОСТІ РОСЛИН ДО НИЗЬКИХ ТЕМПЕРАТУР

Низькі негативні температури є одним з найважливіших абіотичних стресів, що призводить до ушкодження рослин та значних втрат врожаю сільськогосподарських культур. Морозостійкість рослин зростає в процесі холодого загартовування – процесу, що відбувається за низьких позитивних температур (вище нуля) і включає різні біохімічні, фізіологічні та молекулярні зміни. Сприйняття низьких температур рослинами для початку загартовування може відбуватися через зміни властивостей мембрани. Найкраще дослідженими транскрипційними факторами, що забезпечують розвиток морозостійкості рослин, є CBF-транскрипційні фактори, які регулюють експресію багатьох COR-генів (Cold-Regulated Genes). Експресія CBF-генів у свою чергу регулюється позитивними та негативними регуляторами на рівні транскрипції. Продуктами основних груп COR-генів є білки, що забезпечують пристосування рослини до холодого стресу, зокрема: білки-дегідрини, антифризові білки та білки, що попереджають рекристалізацію льоду, антиоксидантні ензими, ферменти шляхів біосинтезу простих цукрів та інших осмопротекторів.

Ключові слова: абіотичні стреси, морозостійкість рослин, транскрипційні фактори, COR-гени, білки-дегідрини, антиоксидантні ензими, осмопротектори.

Вступ

Низькі температури взимку є одним з головних абіотичних стресів, що спричиняє значні втрати врожаю багатьох сільськогосподарських культур [1]. Недостатня стійкість сортів сільськогосподарських рослин до дії низьких температур може призводити до значних втрат врожаю в роки з особливо несприятливими умовами. Тому існує потреба дослідження та покращення адаптивності рослин до впливу низьких температур.

Стійкість до низьких температур є ознакою зі складною генетичною основою, в розвитку цієї ознаки залучено велику кількість генів. Чимало досліджень, присвячених механізмам стійкості до низьких температур, проведено на модельному об'єкті *Arabidopsis thaliana* та деяких сільськогосподарсько важливих видах: рис (*Oryza sativa*) [2], ячмінь (*Hordeum vulgare*) [3], пшениця (*Triticum aestivum* L.) [4] та кукурудза (*Zea mays*) [5].

Процес загартовування у рослин

Морозостійкість рослин значно підвищується в процесі загартовування (cold acclimation). Загартовування – це адаптивний процес, який відбувається в рослинах за низьких позитивних температур (вище нуля), результатом чого є підвищення морозостійкості загартованих рослин порівняно з незагартованими. Цей процес включає різні фізіологічні, біохімічні та молекулярні зміни, що будуть захищати структури рослинної клітини від подальшого морозного стресу (дії температур нижче нуля). Ці зміни включають підвищення та зниження рівня експресії різних регульованих холодом генів (cold-responsive genes) [6; 7], накопичення специфічних захисних сполук (білків, амінокислот, цукрів і поліамінів) [8; 9; 10; 11], зміни складу мембрани [12], зміни характеристик метаболізму [13], підвищення активності антиоксидантних систем [14]. Ефективність процесу загартовування та набутої внаслідок цього морозостійкості залежить від

специфічних алелів генів, що беруть участь у контролі морозостійкості. Отже, розуміння подій, що відбуваються під час процесу загартовування, на молекулярному рівні є важливим для розробки ефективних стратегій покращення морозостійкості сільськогосподарсько важливих рослин.

Сприйняття низької температури рослинами

Сприйняття зміни температури є першим кроком для ініціювання процесу загартовування і підготовки рослини до виживання за умов морозного стресу. Наразі розуміння механізмів сприйняття рослиною температурної зміни є досить неповним. Проте кілька можливих механізмів обговорювалися в науковій літературі [15].

Плазматична мембрана рослинної клітини вважається первинною мішенню впливу низьких температур. Вчені Д. Лос (D. Los) та Н. Мурата (N. Murata) [15] вважають, що відчуття рослиною холоду відбувається через зміни властивостей мембрани, як-от: текучість/жорсткість у відповідь на зміну температури [16]. Було показано, що низькі температури викликають зменшення текучості мембрани (мембрана стає жорсткішою), і навпаки – за вищих температур текучість мембрани збільшується (жорсткість зменшується) [17]. Така гіпотеза про мембрану як первинний сайт сприйняття зміни температури здобула підтвердження в дослідженнях з використанням фармакологічних сполук, які змінюють текучість/жорсткість мембрани. Бензоловий спирт збільшує текучість мембрани. Було показано, що індукована холодом експресія гена *Cas30* (COLD-ACCLIMATION SPECIFIC) у люцерни (*Medicago sativa*) блокувалася дією бензолового спирту і це супроводжувалося зменшенням морозостійкості люцерни [18]. Але використання диметилсульфоксиду, сполуки, що підвищує жорсткість мембрани, індукувало експресію холод-індукованого гена *BN115* у *Brassica napus* без дії низької температури [19]. Ці дослідження певною мірою підтверджують гіпотезу про те, що зміни властивостей плазматичної мембрани можуть впливати на експресію генів, регульованих холодом, і принаймні потенційно впливати на морозостійкість рослини.

Іншими факторами, залученими у сприйняття рослиною низьких температур, є кількість і якість світла, яке сприймає рослина. Відповідно до результатів А. Соїтамо (A. Soitamo) і колег [20], загартовування рослин ефективніше при освітленні, ніж у темряві. При загартовуванні за умов освітлення активується приблизно вдвічі більше генів, ніж при загартовуванні рослин у

темряві [20]. Крім того, показано, що опромінення рослин ультрафіолетовим світлом або світлом високої інтенсивності може частково підвищити морозостійкість рослин навіть без витримування за низьких температур (без загартовування) [21; 22]. На паростках пшениці показано, що їх обробка ультрафіолетом-В перед заморожуванням призводить до того, що половина рослин гине за нижчої температури (LT_{50}) порівняно з контрольною групою (неопроміненими рослинами). Збільшення морозостійкості UV-В-опромінених паростків пояснюється активацією антиоксидантних ензимів та метаболітів (зокрема аскорбат-глутатионового циклу) [22].

У дослідженні Т. Янда (T. Janda) вивчали вплив інтенсивності світла на морозостійкість пшениці. Отримані результати показали, що рослини пшениці, що витримувалися за умов високої інтенсивності світла (без дії низьких температур), мали вищий рівень морозостійкості порівняно зі контрольними рослинами, що співвідносилося зі зменшенням насичення гексадеканоїдної кислоти та підвищенням активності таких антиоксидантних ферментів, як глутатіонредуктаза та аскорбатпероксидаза [21].

Зміни температури значно впливають на фотосинтетичний апарат рослинної клітини. Показано, що приблизно 50 % білків, які диференційно накопичуються під час загартовування, беруть участь у процесах фотосинтезу [20]. Зокрема, під час процесу загартовування підвищується активність РУБІСКО, що пов'язано з накопиченням активнішої форми РУБІСКО активази (RA) [23]. За умов холодного стресу фотосинтетичний апарат продукує підвищену кількість реактивних форм кисню (ROS) [23] і, крім здатності спричинити пошкодження клітинних структур, ці реактивні форми кисню беруть участь у процесах передачі сигналу (для забезпечення відповіді на холодний стрес зокрема) [24]. У згаданому вище дослідженні UV-В-опромінених паростків пшениці H_2O_2 , як припускалося, діє як сигнальна молекула, оскільки підвищення рівня H_2O_2 супроводжувалося підвищенням активності ферментів, що знешкоджують реактивні форми кисню [22].

При дослідженні арабідопсису [25] показано роль специфічного варіанта гістонового білка H2A.Z у сприйнятті змін температури. Встановлено, що при зниженні температури гістон H2A.Z частіше зустрічається в нуклеосомах рослин, що росли за низьких температур, ніж у рослинах, які росли в оптимальних умовах. Відомо, що H2A.Z-вмісні нуклеосомы забезпечують щільніше пакування ДНК, і це перешкоджає просуванню РНК-полімерази і

транскрипції генів, експресія яких мусить бути знижена під час дії низьких температур. Але в цис-регуляторних елементах генів, експресія яких повинна підвищитися за дії низької температури, H2A.Z гістон може перешкоджати зв'язуванню транскрипційних факторів-супресорів транскрипції або метилуванню ДНК. Це може бути одним з важливих механізмів регуляції транскрипції у відповідь на зміни температури [25].

Показано, що під час процесу загартовування (3–7 днів за 3 °C) у тканині конуса наростання озимого ячменю знижується експресія генів двох гістонів, H2A та H2A11 [3]. Автори припускають, що це призводить до менш щільного пакування ДНК та сприяє таким чином експресії холод-регульованих генів. На думку авторів, таке ремоделювання нуклеосом може бути специфічним механізмом відповіді на холодострес для конусів наростання в озимого ячменю [3].

Щоб пов'язати сприйняття зниження температури рослиною з наступними змінами, що відбуваються в рослинній клітині, існують вторинні посередники. Такий поширений і канонічний вторинний посередник, як Ca^{2+} , відіграє важливу роль і в процесі передачі сигналу у відповідь на холодострес [26]. Вихід йонів кальцію в цитозоль є одним з найперших наслідків сприйняття зниження температури [27]. Цей процес може бути пояснений механочутливими кальцієвими каналами, що активуються у відповідь на збільшення жорсткості мембрани під дією зниження температури. Роль Ca^{2+} в активованому низькою температурою сигнальному шляху була підтверджена в дослідженні з використанням хелаторів йонів кальцію та блокаторів кальцієвих каналів, що перешкоджали загартовуванню рослин. Подальша передача сигналу відбувається завдяки кальцій-зв'язувальним білкам (Calcium Binding Proteins – CBPs), які далі взаємодіють з різними цільовими білками та змінюють їхню активність [28]. У дослідженні пшениці показано, що кальцій накопичується в цитоплазмі у відповідь саме на різке зниження температури (холодовий шок), а за поступового зниження температури кількість його не змінюється [29]. Отже, роль кальцію у процесах відповіді на вплив низьких температур потребує подальшого дослідження.

CBF-транскрипційні фактори у відповіді рослин на холодострес

У дослідженні генетичного контролю ознаки, яку прийнято розглядати як «складну», тобто таку, що її формування залежить від експресії ба-

гатьох генів, дуже важливим є виявлення головних транскрипційних факторів, що працюють як «перемикачі» (master switches) та координують експресію багатьох генів.

Найкраще дослідженим шляхом відповіді рослин на холодострес є CBF-шлях. Транскрипційні фактори CBF (C-repeat Binding Factors) вперше ідентифіковані у *Arabidopsis thaliana* [30; 31], що стало важливою подією для розуміння механізмів морозостійкості рослин. CBF-фактори також відомі як DREB1 (Dehydration Response Binding factors 1), оскільки, крім стійкості до холодостресу, ці транскрипційні фактори беруть участь у відповіді на інші стреси з компонентом зневоднення, як, наприклад, осмотичний стрес [30; 31]. DREB-транскрипційні фактори зв'язуються зі специфічними регуляторними регіонами в промоторах DREB-регульованих генів. Dehydration-responsive element (DRE; TACCGACAT) – специфічна послідовність, що вперше була виявлена у промотора гена *Arabidopsis RD29A*. Експресія цього гена індукується у відповідь на дію низької температури та зневоднення [32]. Регуляторний елемент DRE містить корову послідовність з 5 пар нуклеотидів, багату на цитозин (CCGAC), яка називається C-repeat (CRT). Такий C-повтор присутній у промоторах багатьох регульованих холодом генів, зокрема в промоторі гена *Arabidopsis COR15A* та гена пшениці *WCS120* [33]. CBF-транскрипційні фактори зв'язуються з C-повторами, специфічними цис-регуляторними послідовностями в промоторах певних генів, та регулюють експресію цих генів.

У *Arabidopsis* родину CBF-транскрипційних факторів представлено трьома членами: CBF1 (DREB1B), CBF2 (DREB1C) та CBF3 (DREB1A). Дослідження на *Arabidopsis* показали, що CBF-гени не містять інтронів і розташовані один за одним на хромосомі 4 *Arabidopsis* – CBF1-CBF3-CBF2 [34]. На думку М. Медіна (M. Medina) і колег [34], CBF-гени еволюційно походять від одного гена шляхом дуплікації та дивергенції. У більшості інших видів рослин CBF-гени присутні у значно більшій кількості порівняно з арабідопсисом.

Інформація щодо структури CBF-транскрипційних факторів також була отримана в дослідженнях на *Arabidopsis thaliana*. CBF належать до родини AP2/ERF (APETALA2/Ethylene-Responsive Factor) транскрипційних факторів. На своєму N-кінці CBF-білки містять основні амінокислотні залишки, які потенційно відповідають за ядерну локалізацію, а на C-кінці CBF-транскрипційні фактори мають активаційний домен. CBF-транскрипційні фактори також мають AP2/ERF-домен для зв'язування з ДНК.

AP2-домен складається з β -шару та α -спіралі, амінокислотні залишки 14 та 19 з β -шару є важливими для зв'язування цільової ДНК. Для CBF-транскрипційних факторів 14 та 19 амінокислотні залишки представлено валіном та глутаміновою кислотою відповідно [31].

Незважаючи на те, що CBF-транскрипційні фактори є важливими для регуляції відповіді рослини на дію низьких температур, вони є не єдиними факторами, що регулюють цю відповідь. Для *Arabidopsis* показано, що лише приблизно 12 % генів, експресія яких змінюється у відповідь на дію низьких температур, регулюються CBF-транскрипційними факторами (належать до CBF-регулону), це складає приблизно 4 % від усіх генів *Arabidopsis* [35]. Отже, CBF є, можливо, одним з кількох регуляторних шляхів, що беруть участь у забезпеченні відповіді рослини на холодний стрес.

Взаємозв'язки між трьома CBF-транскрипційними факторами *Arabidopsis* досліджували з використанням *cbf2* мутантів. Було показано, що CBF2 є негативним регулятором CBF1 та CBF3. За відсутності функціонального CBF2 збільшується вміст транскриптів для білків CBF1 та CBF3, а морозостійкість *Arabidopsis* підвищується. Вважається, що CBF2 координує роботу CBF-регулону [36]. У випадку присутності більш ніж трьох CBF-генів, як у більшості інших рослин, взаємозв'язки між різними CBF-факторами потребують окремого дослідження.

Транскрипційні фактори CBF виявлено у багатьох видів рослин: пшениці (*Triticum aestivum*) [37], люцерни (*Medicago truncatula*) [38], томату (*Lycopersicon esculentum*) [39], кукурудзи (*Zea mays*) [40], рису (*Oryza sativa*) [2], жита (*Secale cereale*) [41], ячменю (*Hordeum vulgare*) [42] та інших. Це вказує на те, що, з одного боку, CBF-транскрипційні фактори є консервативними і важливими для відповіді на холодний стрес для різних видів рослин, з другого боку, відмінності в кількості та особливостях функціонування CBF-транскрипційних факторів повинні досліджуватися окремо для кожного виду рослин [43].

Участь абсцизової кислоти у відповіді на холодний стрес (CBF-незалежний шлях)

Активация регульованих холодом генів через зв'язування CBF-транскрипційних факторів зі специфічними ділянками в промоторах (С-повторах) іноді називається АБК-незалежним шляхом (abscisic acid-independent pathway). У рослин існує також інший шлях регуляції експресії генів у відповідь на низькотемпературний стрес, він має назву

АБК-залежний шлях (ABA-dependent pathway). Він є менш дослідженим у порівнянні з CBF-шляхом. У ньому ендогенна абсцизова кислота активує bZIP (basic leucine zipper) транскрипційні фактори, які зв'язуються з відповідними цис-регуляторними елементами – ABRE (ABA-responsive elements) у промоторах так званих АБК-залежних COR-генів (Cold-Regulated) та регулюють їхню експресію [44; 45].

Щодо участі інших фітогормонів у регуляції відповіді на холодний стрес відомо, що транскрипційний фактор TERF2/LeERF2, який функціонує як позитивний регулятор біосинтезу етилену, також пов'язаний з морозостійкістю: трансгенні рослини тютюну і томату з надекспресією цього транскрипційного фактора характеризуються вищою морозостійкістю [46].

Регуляція експресії CBF-генів

Транскрипційні фактори CBF не лише регулюють експресію CBF-залежних генів, яка має змінюватися у відповідь на холодний стрес, а й самі регулюються специфічними факторами. Експресія CBF-генів регулюється на транскрипційному рівні кількома активаторами і репресорами [47; 48].

Найбільш добре охарактеризованим позитивним регулятором експресії CBF-генів є ICE1 (Inducer of CBF Expression 1). ICE1 належить до MYC-типу основних спіраль-петля-спіраль транскрипційних факторів (MYC-type of basic helix-loop-helix, bHLH) і вперше був ідентифікований у *Arabidopsis* [47]. У дослідженні показано, що *ice1* мутант характеризувався зниженим рівнем експресії CBF3 за умов низької температури і зниженою стійкістю до низькотемпературного стресу. Також показано, що білок ICE1 зв'язується зі специфічними MYC-последностями, регуляторними цис-елементами в промоторах CBF3-та CBF2-генів [47]. Ці последності для зв'язування ICE1, які були вперше ідентифіковані Д. Зарка (D. Zarka) і колегами в промоторі CBF2, названі ICEr1 та ICEr2 (ICE region1 and 2) [49], вони ще називаються ICE-box [26].

Цікаво, що ген *ICE1* експресується конститутивно, але ICE1-білки активують експресію CBF-генів лише у відповідь на низьку температуру, що забезпечує адекватну відповідь рослини на холодний стрес [47]. Пояснення цьому факту було знайдено після встановлення того, що регуляція активності ICE1 відбувається через посттрансляційні модифікації [47; 50]. Одна з індукованих холодом модифікацій білка ICE1 – його фосфорилування [26]. Крім того, активність

ICE1 регулюється через протеасомну деградацію цього білка.

У дослідженнях Ч. Донг (С. Dong) і колег [50] продемонстровано, що HOS1 є убіквітин E3 лігазою (ubiquitin E3 ligase), яка здійснює убіквітинування білка ICE1. Поліубіквітинільований під дією HOS1 білок ICE1 спрямовується в протеасому для деградації. Дослідження рослин *Arabidopsis* з надекспресією гена *HOS1* характеризуються зниженою експресією *CBF* генів та гіперчутливістю до холодового стресу [50; 51].

Для того щоб попередити протеасомну деградацію ICE1 за умов холодового стресу, коли його активність необхідна для активації *CBF*-генів, відбувається інша, посттрансляційна модифікація білка ICE1. Цією «захисною» модифікацією є сумоїлювання ICE1. Сумоїлювання – це посттрансляційна модифікація білків, що здійснюється специфічними ферментами – SUMO E3 лігазами, які приєднують SUMO (small ubiquitin-like modifier) залишки до специфічних сайтів цільових білків. Сумоїлювання захищає білки від протеасомної деградації завдяки тому, що перешкоджає їхньому поліубіквітинуванню [52]. У *Arabidopsis* ідентифікували SIZ1 SUMO E3 лігазу, що приєднує SUMO до K393 (лізину в положенні 393) білка ICE1 *Arabidopsis* під час процесу загартовування [53]. Показано, що *siz1* мутанти (рослини з нефункціональною SIZ1 SUMO E3 лігазою) мають знижені рівні експресії *CBF* генів, *CBF*-залежних *COR*-генів, та характеризуються підвищеною чутливістю до холодового стресу [53]. Отже, сумоїлювання ICE1 є важливим для його стабільності та функціонування в активації *CBF*-генів (рис. 1) [26].

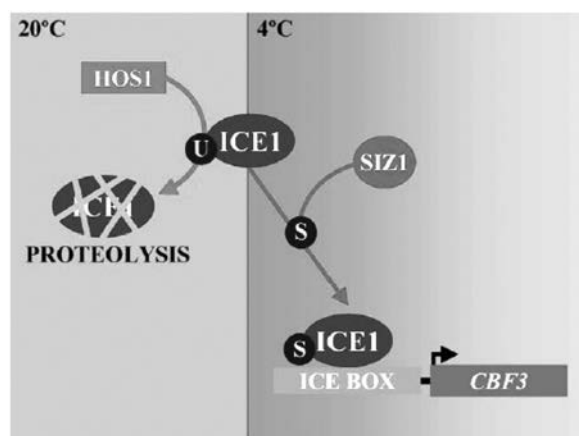


Рис. 1. Посттрансляційні модифікації білка ICE1 – основного позитивного регулятора експресії *CBF*-генів [54]

Крім дії ICE-білків, експресія *CBF*-генів також позитивно регулюється CAMTA3. Транскрипційні фактори CAMTA1 та CAMTA3 нале-

жать до родини кальмодулін-зв'язувальних транскрипційних активаторів (CAMTA) і зв'язуються зі специфічними регіонами в промоторах *CBF2* гена [55]. Дослідження з мутантами *Arabidopsis* показують, що CAMTA 3 і CAMTA1 є необхідними для нормального проходження процесу загартовування рослини [55].

Негативним регулятором експресії *CBF*-генів є MYB15, що був ідентифікований М. Агарвал (М. Agarwal) і колегами також на *Arabidopsis* [48]. Транскрипційний фактор MYB15 зв'язується зі специфічними MYB-сайтами в промоторах *CBF*-генів і негативно регулює їхню експресію. MYB15 належить до R2R3-Myb родини транскрипційних факторів і може зв'язуватися з відповідними послідовностями в промоторах усіх трьох генів *CBF Arabidopsis* [48]. Інший MYB транскрипційний фактор – MYBS3 також функціонує як негативний регулятор *CBF*-сигнального шляху у рису, але може позитивно впливати на стійкість до низьких температур [56]. Рослини рису з надекспресією гена *MYBS3* характеризувалися підвищеною стійкістю до низьких позитивних температур (4 °C протягом тижня без негативного впливу на врожай). Автори припускають, що оскільки *CBF*-шлях швидко активується у відповідь на холодний стрес, а MYBS3-відповідь є повільнішою, то ці шляхи є послідовними і комплементарними у відповіді на короткотривалий і довготривалий холодний стрес у рису [56]. Ще одним негативним регулятором експресії *CBF*-генів є ZAT12 [57].

Взаємодія *CBF*-генів і циркадного годинника

Гени *CBF1*, *CBF2* та *CBF3 Arabidopsis* регулюються циркадним годинником, тобто інтенсивність їхньої експресії залежить від часу за годинником, коли почав діяти стимул (низька температура). Ця регуляція здійснюється через позитивну дію двох головних компонентів годинника: CIRCADIAN CLOCK-ASSOCIATED 1 (CCA1) та LATE ELONGATED HYPOCOTYL (LHY) [58]. У рослин з подвійною мутацією *cca1-11/lhy-21* індукція холодом генів *CBF1*, *CBF2* та *CBF3* сильно порушена, а циркадна регуляція генів *CBF1* та *CBF3* сильно обмежена, циркадна регуляція *CBF2* продовжується, але амплітуда зменшена. Крім цього, у таких рослин порушена циркадна регуляція та індукція холод-регульованих генів *COLD-REGULATED GENE 15A (COR15A)*, *COR47* та *COR78*. Ця подвійна мутація спричиняє порушення морозостійкості як загартованих, так і не загартованих

рослин. Результати вказують на зв'язок між циркадним годинником і набуттям морозостійкості, а такі компоненти циркадного годинника, як CCA1 та LHY, є позитивними регуляторами зумовленої холодом індукції *CBF*-генів [58]. Крім того, показано, що інші компоненти циркадного годинника можуть бути негативними регуляторами експресії *CBF*-генів. Наприклад, у рослин з потрійною мутацією *prp9-11/prp7-10/prp5-10* порушується циркадна регуляція та холодова індукція *CBF*-генів і рівень їхньої експресії залишається високим навіть за кімнатної температури, тобто PRR9, PRR7 та PRR5 є негативними регуляторами експресії *CBF*-генів [58].

Негативним регулятором експресії гена *CBF2* (*DREB1C*) є Phytochrome-Interacting Factor7 (PIF7), він діє під контролем циркадного годинника [59]. У промоторному регіоні гена *CBF2* міститься специфічна регуляторна послідовність G-box, таким чином було показано, що PIF7 специфічно зв'язується з цією послідовністю і діє як транскрипційний репресор. Регуляція PIF7 здійснюється через циркадний годинник і його експресія не залежить від дії низької температури. Негативна регуляція гена *CBF2* є важливою для запобігання затримці росту рослини через накопичення білка CBF2 за умов відсутності стресу (дії низької температури) [59].

Регульовані холодом гени (Cold Regulated – *COR*-genes)

Цільовими генами для регуляції CBF-транскрипційними факторами є *COR*-гени (Cold Regulated), тобто гени, експресія яких змінюється під дією низьких температур. Ці гени представляють уже більш ефекторну частину шляху відповіді рослини на холодострес. У своїх промоторах *COR*-гени містять CRE (C-repeat) – цис-регуляторні елементи, з якими зв'язуються

CBF-транскрипційні фактори та індують експресію *COR*-генів у відповідь на низькі температури (рис. 2) [60].

Продуктами *COR*-генів є ефекторні білки, що готують рослину до наступного холодостресу, захищають від пошкодження заморожуванням, тобто забезпечують механізми виживання рослини під час дії низьких температур. Серед продуктів *COR*-генів є антифризові білки, антиоксидантні ензими, ензими, що відповідають за зміну процесів метаболізму за умов стресу [24; 62; 63]. Основні групи *COR*-генів (відповідно, їхні продуктів) дають можливість приблизно уявити головні механізми, що забезпечують морозостійкість рослин.

1. Зневоднення є одним з основних компонентів стресу заморожування (freezing stress). Частина *COR*-генів кодує білки-дегідрини. Дегідрини належать до групи II LEA (Late Embryogenesis Abundant) білків. Вони є сильно гідрофільними і накопичуються у відповідь на стреси з компонентом зневоднення, зокрема стрес заморожування та осмотичний стрес [63]. Дегідрини мають лізин-багатий мотив (K-сегмент), а також є багатими на гліцин та полярні амінокислоти. Роль дегідринів у відповіді на холодострес може бути пов'язана з їхньою здатністю стабілізувати мембрани за умов зневоднення [64]. Один з найкраще охарактеризованих генів пшениці, експресія якого змінюється у відповідь на холодострес, *WCS120*, належить до *Cor/Lea* суперродини і має значну гомологію з дегідринами ячменю. Накопичення білків *WCS120* під час процесу загартовування пшениці позитивно корелює з морозостійкістю рослин пшениці [65]. Було навіть висловлено припущення, що *WCS120* може використовуватися як молекулярний маркер морозостійкості [63]. Дослідження на ячменю показали, що існує зв'язок між морозостійкістю та специфічними алелями генів дегідринів ячменю. Відповідно до результатів дослідження, комбінована присутність 6-нуклеотидної інсерції в екзоні 1 гена *Dhn4* та 30-нуклеотидна делеція в екзоні 1 гена *Dhn7* асоційовані з підвищеним рівнем морозостійкості ячменю [66].

2. Під час холодостресу відбувається утворення підвищеної кількості реактивних форм кисню (ROS), що може спричинити значне пошкодження клітинних структур. Отже, іншою важливою групою *COR*-генів є гени антиоксидантних ензимів (ROS scavenging enzymes) та ферментів, що беруть участь у синтезі антиоксидантних сполук [24]. Показано, що за умов холодостресу експресія генів антиоксидантних ензимів підвищується, зокрема таких ензимів,

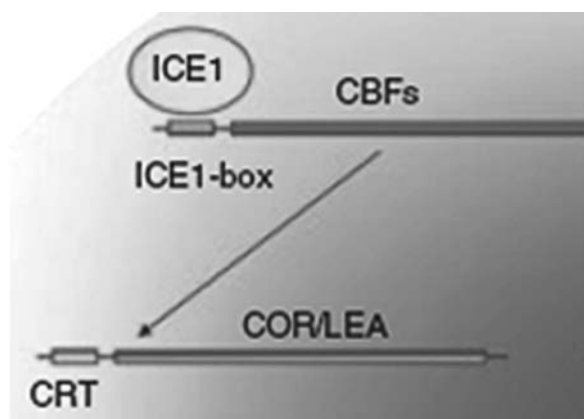


Рис. 2. CBF-регулон (АБК-незалежний шлях) [61]

як супероксиддисмутаза (SOD), аскорбатпероксидаза (APX), каталаза (CAT), глутатіонпероксидаза (GPX). Ці ензими безпосередньо залучені у нейтралізації реактивних форм кисню. Крім того, у відповідь на холодострес активується експресія генів ензимів, що належать до шляхів біосинтезу антиоксидантних сполук. Наприклад, халконесинтаза та халконізомереза є представниками цієї другої групи та залучені в синтезі флавоноїдів, вторинних метаболітів рослин, що відомі своєю функцією як антиоксиданти [67].

3. Гени антифризових білків та білків-інгібіторів рекристалізації льоду складають ще одну важливу групу *COR*-генів, необхідних для забезпечення морозостійкості рослини. Антифризові білки (AFP) відкладають заморожування через зниження температури, коли починається замерзання (точки замерзання, *freezing point*). Більшість антифризових білків направляються в апопласт, тому що, порівняно з цитозолем, позаклітинна рідина має нижчу концентрацію розчинених речовин, що зумовлює початково вищу температуру (точку) замерзання. Цікаво, що антифризові білки вважають спорідненими до білків, необхідних для відповіді на дію патогена (PR proteins, *pathogen-related*) [62].

Коли починається замерзання, кристали льоду формуються переважно в позаклітинному просторі. Ці кристали збільшуються в розмірі мірою того, як вода виходить з цитоплазми в апопласт у процесі спричиненого заморожуванням зневоднення. Ріст цих кристаликів льоду спричиняє механічне пошкодження клітинних мембран [68]. Білки-інгібітори рекристалізації льоду (*Ice Recrystallization Inhibition (IRI) proteins*), як показано, зв'язуються з кристаликами льоду та інгібують їхній ріст (збільшення розміру) та рекристалізацію [69]. Як вважається, IRI-білки мають поверхню для зв'язування кристаликів льоду (*ice-binding surface – IBS*) [70] і здатні зв'язувати кристали льоду неспецифічно через водневі зв'язки та ван дер Ваальсові взаємодії [62]. Гени, що кодують IRI-білки, досліджувалися на багаторічному райграсі [46]. Два гени IRI-білків позитивно регулюються під час холодостресу загартовування. При перенесенні до *Arabidopsis* два гени IRI білків райграсу (*LpIRI-a*, *LpIRI-b*) підвищують виживання рослин *Arabidopsis*, що надекспресують ці гени під час стресу заморожування [46].

4. Прості цукри можуть відігравати роль осмопротекторів під час холодостресу та певною мірою попереджати зневоднення. Накопичення таких простих цукрів, як рафінози, трегалози та

цукроза, відповідно до результатів досліджень, позитивно корелює з морозостійкістю рослин [71]. М. Вінфільд (М. Winfield) і колеги [61] продемонстрували, що під час процесу загартовування рослин пшениці відбувається значне підвищення експресії гена галактинолсинтази (*Go1S*). Галактинолсинтаза є першим ензимом на шляху біосинтезу рафінози, отже, підвищена експресія гена *Go1S* потенційно призводить до накопичення більшої кількості рафінози, що, відповідно, діє як осмопротектори під час холодостресу. Ці результати можуть вказувати, що гени шляхів біосинтезу простих цукрів складають ще одну важливу групу *COR*-генів. В іншому дослідженні показано роль накопичення гліцин-бетаїну для морозостійкості [46]. Рослини, які накопичують більшу кількість гліцин-бетаїну, характеризуються вищим рівнем морозостійкості, що забезпечується кращим збереженням цілісності мембрани під дією холодостресу, а також вищою активністю H^+ -АТРази [46]. Позитивно впливати на морозостійкість рослин пшениці може також накопичення олігосахаридів – певних біоактивних олігосахаридів [10]. Пристосуванням до виживання за умов морозного стресу також може бути накопичення проліну та фенольних сполук [72].

5. Під час процесу загартовування різні адаптивні зміни відбуваються в компонентах клітинної структури і в цитоскелеті зокрема. На початкових стадіях загартовування відбувається реорганізація мікротрубочок для формування форм мікротрубочок, більш стабільних за умов холодостресу. Ці процеси також залежать від диференційної експресії генів, як було показано, ген альфа-тубуліну *wcal8g11* індукується під час процесу загартовування у пшениці. Продукт цього гена, як вважають автори, залучений у процесі регульованої холодою реорганізації цитоскелету [73].

6. Один з регульованих холодою генів пшениці – *WCSP1*, кодує білок, що має домени для зв'язування нуклеїнових кислот та структурні характеристики, спільні з бактеріальними білками з групи білків холодостресу [74]. Білок *WCSP1* гомологічний переважно з *CspA* (cold shock protein A) *Escherichia coli*, має два РНК-зв'язувальні домени. У прокаріотів процес, схожий на процес загартовування, називається «відповідь на холодострес» (cold shock response), цей процес відбувається за низьких температур і найкраще досліджений у *E.coli*. Білок *CspA* є найкраще охарактеризованим з білків холодостресу і складає близько 10 % усіх білків, що синтезують під час процесу «відповіді на

холодовий шок». Цей білок (CspA) у *E.coli* зв'язується з РНК і дестабілізує її вторинні структури, отже, як вважається, він забезпечує трансляцію за низьких температур, перешкоджаючи утворенню вторинних структур мРНК. Можливо, білок пшениці WCSP1 відіграє схожу роль у рослин [74].

Білкові продукти описаних *COR*-генів (Cold Regulated genes) диференційно накопичуються в рослинах з різним рівнем морозостійкості: як правило, більш морозостійкі рослини під час процесу загартовування накопичують більшу кількість дегідринів, антифризових білків, білків-інгібіторів рекристалізації льоду тощо, порівняно з менш морозостійкими рослинами. Визначення за допомогою специфічних методів накопичення цих білкових продуктів *COR*-генів може показати, які механізми забезпечення морозостійкості переважають для певного виду рослин (або, можливо, певного генотипу). Альтернативно, відмінності в експресії *COR*-генів можуть визначатися на рівні транскрипції. Однак причиною різного рівня експресії *COR*-генів між рослинами з різним рівнем морозостійкості мусять бути відмінності на рівні транскрипційних факторів, «головних регуляторів», отже, часто саме транскрип-

ційні фактори розглядаються як «цілі» для можливого покращення морозостійкості сільськогосподарсько важливих культур.

Висновки

Найкраще дослідженими транскрипційними факторами, що регулюють розвиток морозостійкості рослин, є CBF-транскрипційні фактори, які було вперше ідентифіковано у *Arabidopsis thaliana*, а потім виявлено у багатьох видів рослин. Експресія *CBF*-генів регулюється позитивними та негативними регуляторами на рівні транскрипції, а головний позитивний регулятор *CBF* генів – ICE1 – регулюється через сумоїлювання та протеасому деградацію. CBF-транскрипційні фактори регулюють експресію *COR*-генів, що мають у своїх промоторах відповідні цис-регуляторні елементи (C-repeat). Продуктами основних груп *COR*-генів є білки-дегідрини, антифризові білки та білки, що попереджають рекристалізацію льоду, антиоксидантні ензими, ферменти шляхів біосинтезу простих цукрів та інших осмопротекторів, тобто певні білки, що забезпечують пристосування рослини до холодового стресу/виживання під час заморожування.

Список літератури

1. Regulation of gene expression by 5A chromosome during cold hardening in wheat / G. Koscy, B. Athmer, D. Perovic et al. // Molecular Genetics and Genomics. – 2010. – Vol. 283, No. 4. – P. 351–363.
2. Rice homologs of inducer of CBF expression (OsICE) are involved in cold acclimation / J. Nakamura, T. Yuasa, T. Huang et al. // Plant Biotechnology. – 2011. – Vol. 28, No. 3. – P. 303–309.
3. Transcriptional responses of winter barley to cold indicate nucleosome remodeling as a specific feature of crown tissues / A. Janská, A. Aprile, J. Zámečník et al. // Functional and Integrative Genomics. – 2011. – Vol. 11, No. 2. – P. 307–325.
4. Sutka J. Genetic control of frost tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) / J. Sutka // Euphytica. – 1994. – Vol. 77, No. 3. – P. 277–282.
5. Isolation and characterization of a C-repeat binding transcription factor from maize / L. Wang, Y. Luo, L. Zhang et al. // Journal of Integrative Plant Biology. – 2008. – Vol. 50, No. 8. – P. 965–974.
6. Quantitative expression analysis of selected COR genes reveals their differential expression in leaf and crown tissues of wheat (*Triticum aestivum* L.) during an extended low temperature acclimation regimen / S. Ganeshan, P. Vitamvas, D. B. Fowler, R. N. Chibbar // Journal of Experimental Botany. – 2008. – Vol. 59, No. 9. – P. 2393–2402.
7. Genome-wide gene expression analysis supports a developmental model of low temperature tolerance gene regulation in wheat (*Triticum aestivum* L.) / D. Laudencia-Chingcuanco, S. Ganeshan, F. You et al. // BioMed Central Genomics. – 2011. – Vol. 12, No. 12. – P. 1471–1484.
8. Vitamvas P. WCS120 protein family and frost tolerance during cold acclimation, deacclimation and reacclimation of winter wheat / P. Vitamvas, I. T. Prášil // Plant Physiology and Biochemistry. – 2008. – Vol. 46, No. 11. – P. 970–976.
9. Differential effects of cold acclimation and abscisic acid on free amino acid composition in wheat / Z. Kovács, L. Simon-Sarkadi, C. Sovany et al. // Plant Science. – 2011. – Vol. 180, No. 1. – P. 61–68.
10. Oligosaccharin and ABA synergistically affect the acquisition of freezing tolerance in winter wheat / A. I. Zaboltn, T. S. Barisheva, O. I. Trofimova et al. // Plant Physiology and Biochemistry. – 2009. – Vol. 47, No. 9. – P. 854–858.
11. Integration of polyamines in the cold acclimation response / R. Alcázar, J. C. Cuevas, J. Planas et al. // Plant Science. – 2011. – Vol. 180, No. 1. – P. 31–38.
12. Plasma membrane lipid alterations induced by cold acclimation and abscisic acid treatment of winter wheat seedlings in frost resistance / M. Bohn, S. Lühje, P. Sperling et al. // Journal of Plant Physiology. – 2007. – Vol. 164, No. 2. – P. 146–156.
13. Mitochondrial alternative pathway is associated with development of freezing tolerance in common wheat / N. Mizuno, A. Sugie, F. Kobayashi, S. Takumi // Journal of Plant Physiology. – 2008. – Vol. 165, No. 4. – P. 462–467.
14. Çakmak T. Effects of putrescine and low temperature on the apoplastic antioxidant enzymes in the leaves of two wheat cultivars / T. Çakmak, Ö. Atici // Plant and Soil Environment. – 2009. – Vol. 55, No. 8. – P. 320–326.
15. Los D. A. Membrane fluidity and its roles in the perception of environmental signals / D. A. Los, N. Murata // Biochimica et Biophysica Acta. – 2004. – Vol. 1666, No. 1–2. – P. 142–157.
16. Catala R. Temperature-perception, molecules and mechanisms / R. Catala, J. Salinas // Journal of Applied Biomedicine. – 2010. – Vol. 8. – P. 189–198.
17. Alonso A. Chilling stress leads to increased cell membrane rigidity in roots of coffee (*Coffea arabica* L.) seedlings / A. Alonso, C. S. Queiros, A. C. Magalhaes // Biochimica et Biophysica Acta. – 1997. – Vol. 1323, No. 1. – P. 75–84.

18. Early steps in cold sensing by plant cells: the role of actin cytoskeleton and membrane fluidity / B. L. Orvar, V. Sangwan, F. Omann, R. S. Dhindsa // *Plant Journal*. – 2000. – Vol. 23, No. 6. – P. 785–794.
19. Cold activation of *Brassica napus* BN115 promoter is mediated by structural changes in membranes and cytoskeleton, and requires Ca^{2+} influx / V. Sangwan, I. Foulds, J. Singh, R. S. Dhindsa // *Plant Journal*. – 2001. – Vol. 27, No. 1. – P. 1–12.
20. Light has a specific role in modulating *Arabidopsis* gene expression at low temperature / A. J. Soitamo, M. Piippo, Y. Allahverdiyeva et al. // *BioMed Central Plant Biology*. – 2008. – Vol. 8, No. 13. – P. 1471–2229.
21. Janda T. Role of light in freezing tolerance of wheat / T. Janda, M. Pap, G. Szalai // *Acta Biologica Szegediensis*. – 2008. – Vol. 62, No. 1. – P. 89–90.
22. Yang S.-H. Ultraviolet-B irradiation-induced freezing tolerance in relation to antioxidant systems in winter wheat (*Triticum aestivum* L.) leaves / S.-H. Yang, L.-J. Wang, S.-H. Li // *Environmental and Experimental Botany*. – 2007. – Vol. 60, No. 3. – P. 300–307.
23. Differences in leaf proteome response to cold acclimation between *Lolium perenne* plants with distinct levels of frost tolerance / A. Bocian, A. Kosmala, M. Rapacz et al. // *Journal of Plant Physiology*. – 2011. – Vol. 168, No. 11. – P. 1271–1279.
24. Suzuki N. Reactive oxygen species and temperature stresses: a delicate balance between signaling and destruction / N. Suzuki, R. Mittler // *Physiologia Plantarum*. – 2006. – Vol. 126, No. 1. – P. 45–51.
25. Kumar S. V. H2A.Z-containing nucleosomes mediate the thermosensory response in *Arabidopsis* / S. V. Kumar, P. A. Wigge // *Cell*. – 2010. – Vol. 140, No. 1. – P. 136–147.
26. Chinnusamy V. Cold stress regulation of gene expression in plants / V. Chinnusamy, J. Zhu, J. K. Zhu // *Trends in Plant Science*. – 2007. – Vol. 12, No. 10. – P. 444–451.
27. Heidarvand L. What happens in plant molecular responses to cold stress? / L. Heidarvand, R. M. Amiri // *Acta Physiologiae Plantarum*. – 2010. – Vol. 32. – P. 419–431.
28. DeFalco A. Breaking the code: Ca^{2+} sensors in plants signaling / A. DeFalco, K. W. Bender, W. A. Snedden // *Biochemistry Journal*. – 2010. – Vol. 425, No. 1. – P. 27–40.
29. Cold-induced cytosolic free calcium ion concentration changes in wheat / J. Nagel-Volkmann, C. Plieth, D. Becker et al. // *Journal of Plant Physiology*. – 2009. – Vol. 166, No. 17. – P. 1955–1960.
30. Low temperature regulation of the *Arabidopsis* CBF family of AP2 transcription activators as an early step in cold-induced COR gene expression / S. J. Gilmour, D. G. Zarka, E. J. Stockinger et al. // *Plant Journal*. – 1998. – Vol. 16, No. 4. – P. 433–442.
31. Two transcription factors, DREB1 and DREB2, with an EREBP/AP2 DNA binding domain separate two cellular signal transduction pathways in drought- and low-temperature-responsive gene expression, respectively, in *Arabidopsis* / Q. Liu, M. Kasuga, Y. Sakuma et al. // *Plant Cell*. – 1998. – Vol. 10, No. 8. – P. 1391–1406.
32. Yamaguchi-Shinozaki K. A novel cis-acting element in an *Arabidopsis* gene is involved in responsiveness to drought, low-temperature, or high-salt stress / K. Shinozaki // *Plant Cell*. – 1994. – Vol. 6, No. 2. – P. 251–264.
33. Vítamvás P. WCS120 protein family and frost tolerance during cold acclimation, deacclimation and reacclimation of winter wheat / P. Vítamvás, I. T. Prášil // *Plant Physiology and Biochemistry*. – 2008. – Vol. 46, No. 11. – P. 970–976.
34. The *Arabidopsis* CBF gene family is composed of three genes encoding AP2 domain-containing proteins / M. Medina, J. Bagues, M. Perez-Alonso, J. Salinas // *Plant Physiology*. – 1999. – Vol. 119, No. 2. – P. 463–470.
35. Roles of the CBF2 and ZAT12 transcription factors in configuring the low temperature Transcriptome of *Arabidopsis* / J. T. Vogel, D. G. Zarka, H. A. Van Buskirk et al. // *Plant Journal*. – 2005. – Vol. 41, No. 2. – P. 195–211.
36. Novillo F. *Arabidopsis* CBF1 and CBF3 have a different function than CBF2 in cold acclimation and define different gene classes in the CBF regulon / F. Novillo, J. Medina, J. Salinas // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2007. – Vol. 104, No. 52. – P. 21002–21007.
37. The CBF gene family in hexaploid wheat and its relationship to the phylogenetic complexity of cereal CBFs / M. Badawi, J. Danyluk, B. Boucho et al. // *Molecular Genetics and Genomics*. – 2007. – Vol. 277, No. 5. – P. 533–554.
38. Pennycooke J. C. Comparative genomic sequence and expression analysis of *Medicago truncatula* and alfalfa subspecies *falcate* Cold-Acclimation-Specific genes / J. C. Pennycooke, H. Cheng, E. J. Stockinger // *Plant Physiology*. – 2008. – Vol. 146, No. 3. – P. 1242–1254.
39. Freezing-sensitive tomato has a functional CBF cold response pathway, but a CBF regulon that differs from that of freezing-tolerant *Arabidopsis* / X. Zhang, S. G. Fowler, H. Cheng et al. // *Plant Journal*. – 2004. – Vol. 39, No. 6. – P. 905–919.
40. Cloning and functional analysis of a novel DREB1/CBF transcription factor involved in cold-responsive gene expression in *Zea mays* L. / F. Qin, Y. Sakuma, J. Li et al. // *Plant Cell Physiology*. – 2004. – Vol. 45, No. 8. – P. 1042–1052.
41. Comparative expression of Cbf genes in the Triticeae under different acclimation induction temperatures / C. Campoli, M. A. Matus-Cádiz, C. J. Pozniak et al. // *Molecular Genetics and Genomics*. – 2009. – Vol. 282, No. 2. – P. 141–152.
42. Structural, functional, and phylogenetic characterization of a large CBF gene family in barley / J. S. Skinner, J. von Zitzewitz, P. Szucs et al. // *Plant Molecular Biology*. – 2005. – Vol. 59, No. 4. – P. 533–551.
43. Chew Y. H. A stress-free walk from *Arabidopsis* to crops / Y. H. Chew, K. J. Halliday // *Current Opinion in Biotechnology*. – 2010. – Vol. 22. – P. 1–6.
44. Effects of molybdenum on expression of cold-responsive genes in abscisic acid (ABA)-dependent and ABA-independent pathways in winter wheat under low-temperature stress / X. Sun, C. Hu, Q. Tan et al. // *Annals of Botany*. – 2009. – Vol. 104, No. 2. – P. 345–356.
45. Kobayashi F. Increased freezing tolerance in an ABA-hypersensitive mutant of common wheat / F. Kobayashi, S. Takumi, C. Nakamura // *Journal of Plant Physiology*. – 2008. – Vol. 165, No. 2. – P. 224–232.
46. Zhang Z. Enhanced tolerance to freezing in tobacco and tomato overexpressing transcription factor TERF2/LeERF2 is modulated by ethylene biosynthesis / Z. Zhang, R. Huang // *Plant Molecular Biology*. – 2010. – Vol. 73. – P. 241–249.
47. ICE1: a regulator of cold-induced transcriptome and freezing tolerance in *Arabidopsis* / V. Chinnusamy, M. Ohta, S. Kanrar et al. // *Genes and Development*. – 2003. – Vol. 17, No. 8. – P. 1043–1054.
48. A R2R3 type MYB transcriptional factor is involved in the cold regulation of CBF genes and in acquired freezing tolerance / M. Agarwal, Y. Hao, A. Kapoor et al. // *The Journal of Biological Chemistry*. – 2006. – Vol. 281, No. 49. – P. 37636–37645.
49. Cold induction of *Arabidopsis* CBF genes involves multiple ICE (Inducer of CBF expression promoter elements and cold-regulatory circuit that is desensitized by low temperature / D. G. Zarka, J. T. Vogel, D. Cook, M. F. Thomashow // *Plant Physiology*. – 2003. – Vol. 133, No. 2. – P. 910–918.
50. The negative regulator of plant cold responses, HOS1, is a RING E3 ligase that mediates the ubiquitination and degradation of

- ICE1 / C. H. Dong, M. Agarwal, Q. Xie, J. K. Zhu // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2006. – Vol. 103, No. 21. – P. 8281–8286.
51. Abiotic stress response in plants: when post-transcriptional and post-translational regulations control transcription / E. Mazzucotelli, A. M. Mastrangelo, C. Crosatti et al. // *Plant Science*. – 2008. – Vol. 174. – P. 420–431.
 52. Ulrich H. D. Mutual interactions between the SUMO and ubiquitin systems: a plea of no contest / H. D. Ulrich // *Trends in Cell Biology*. – 2005. – Vol. 15, No. 10. – P. 525–532.
 53. SIZ1-mediated sumoylation of ICE1 controls CBF3/DBER1A expression and freezing tolerance in Arabidopsis / K. Miura, J. B. Jin, I. Lee et al. // *The Plant Cell*. – 2007. – Vol. 19, No. 4. – P. 1403–1414.
 54. Medina J. The CBFs: three Arabidopsis transcription factors to cold acclimate / J. Medina, R. Catala, J. Salinas // *Plant Science*. – 2011. – Vol. 180, No. 1. – P. 3–11.
 55. Eckardt N. A. A direct link between calcium signals and cold acclimation / N. A. Eckardt // *The Plant Cell*. – 2009. – Vol. 21, No. 3. – P. 682–697.
 56. A novel MYBS3-Dependent pathway confers cold tolerance in rice / C.-F. Su, Y.-C. Wang, T.-H. Hsieh et al. // *Plant Physiology*. – 2010. – Vol. 153. – P. 45–158.
 57. Roles of the CBF2 and ZAT12 transcription factors in configuring the low temperature Transcriptome of Arabidopsis / J. T. Vogel, D. G. Zarka, H. A. Van Buskirk et al. // *Plant Journal*. – 2005. – Vol. 41, No. 2. – P. 195–211.
 58. Dong M. A. CIRCADIAN CLOCK-ASSOCIATED 1 and LATE ELONGATED HYPOCOTYL regulate expression of the C-REPEAT BINDING FACTOR (CBF) pathway in Arabidopsis / M. A. Dong, E. M. Farre, M. F. Thomashow // *PNAS*. – 2011. – Vol. 108, No. 17. – P. 7241–7246.
 59. The Phytochrome-Interacting Factor PIF7 negatively regulates DREB1 expression under circadian control in Arabidopsis / S. Kidokoro, K. Maruyama, K. Nakashima et al. // *Plant Physiology*. – 2009. – Vol. 151. – P. 2046–2057.
 60. Stokinger E. J. Arabidopsis thaliana CBF1 encodes an AP2 domain-containing transcription activator that binds to the C-repeat/DRE, a cis-acting DNA regulatory element that stimulates transcription in response to low temperature and water deficit / E. J. Stokinger, S. J. Gilmour, M. F. Thomashow // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 1997. – Vol. 94, No. 3. – P. 1035–1040.
 61. Plant responses to cold: Transcriptome analysis of wheat / M. O. Winfield, C. Lu, I. D. Wilson et al. // *Plant Biotechnology Journal*. – 2010. – Vol. 8, No. 7. – P. 749–771.
 62. Griffith M. Antifreeze proteins in overwintering plants: a tale of two activities / M. Griffith, M. W. F. Yaish // *Trends in Plant Science*. – 2004. – Vol. 9, No. 8. – P. 399–405.
 63. Kosová K. The role of dehydrins in plant response to cold / K. Kosová, P. Vítámvás, I. T. Prášil // *Biologia Plantarum*. – 2007. – Vol. 51, No. 4. – P. 601–617.
 64. The development of frost tolerance and DHN5 protein accumulation in barley (*Hordeum vulgare*) doubled haploid lines derived from Atlas 68 x Igri cross during cold acclimation / K. Kosova, I. T. Prasil, P. Prasilova et al. // *Journal of Plant Physiology*. – 2010. – Vol. 167. – P. 343–350.
 65. Vítámvás P. WCS120 protein family and frost tolerance during cold acclimation, deacclimation and reacclimation of winter wheat / P. Vítámvás, I. T. Prášil // *Plant Physiology and Biochemistry*. – 2008. – Vol. 46, No. 11. – P. 970–976.
 66. Allelic variations at Dhn4 and Dhn7 are associated with frost tolerance in barley / L. Holková, P. Mikulková, P. Hrstková et al. // *Czech Journal of Plant Breeding*. – 2010. – Vol. 46, No. 4. – P. 149–158.
 67. Winkel-Shirley B. Biosynthesis of flavonoids and effects of stress / B. Winkel-Shirley // *Current Opinion in Plant Biology*. – 2002. – Vol. 5, No. 1. – P. 218–223.
 68. Yamazaki T. Extracellular freezing-induced mechanical stress and surface area regulation on the plasma membrane in cold-acclimated plant cells / T. Yamazaki, Y. Kawamura, M. Uemura // *Plant Signaling and Behavior*. – 2009. – Vol. 4, No. 3. – P. 231–233.
 69. Moffatt B. Cold comfort: plant antifreeze proteins / B. Moffatt, V. Ewart, A. Eastman // *Physiologia Plantarum*. – 2006. – Vol. 126, No. 1. – P. 5–16.
 70. Cold-active winter rye glucanases with ice-binding capacity / M. V. F. Yaish, A. C. Doxey, B. J. McConkey et al. // *Plant Physiology*. – 2006. – Vol. 141, No. 4. – P. 1459–1472.
 71. Pennycooke J. C. Down-regulating α -galactosidase enhances freezing tolerance in transgenic petunia / J. C. Pennycooke, M. L. Jones, C. Stushnoff // *Plant Physiology*. – 2003. – Vol. 133. – No. 2. – P. 901–909.
 72. Kos E. Effect of cold on protein, proline, phenolic compounds and chlorophyll content of two pepper (*Capsicum annum* L.) varieties / E. Kos, C. Islek, A. S. Ustun // *Journal of Science*. – 2010. – Vol. 23, No. 1. – P. 1–6.
 73. Christov N. K. Differential expression of two winter wheat alpha-tubulin genes during cold acclimation / N. K. Christov, R. Imai, Y. Blume // *Cell Biology International*. – 2008. – Vol. 32, No. 5. – P. 574–578.
 74. A cold-regulated nucleic acid-binding protein of winter wheat shares a domain with bacterial cold shock proteins / D. Karleson, K. Nakaminami, T. Toyomasu, R. Imai // *The Journal of Biological Chemistry*. – 2002. – Vol. 277, No. 38. – P. 35248–35256.

T. Iefimenko, M. Antonyuk

MOLECULAR MECHANISMS OF PLANT TOLERANCE TO LOW TEMPERATURES

Low freezing temperatures is one of the most important abiotic stresses which cause severe injury and yield reduction in agronomically important plants. Freezing tolerance is greatly increased during a process of cold acclimation, which is an adaptive process taking place at low non-freezing (above zero) temperatures in plants and includes different physiological, biochemical and molecular changes. Plants can sense low temperatures to induce cold acclimation through alterations in membrane properties. CBF (C-repeat Binding Factors) are the main transcriptional regulators of freezing tolerance in plants, which regulate expression of many COR (Cold-Regulated) genes. Expression of CBF-genes is also regulated at transcriptional level by positive and negative regulators. Among COR-encoded products are dehydrins, antifreeze proteins, ice recrystallization inhibition proteins, antioxidant enzymes, and enzymes for biosynthesis of sugars and other osmoprotectors.

Keywords: abiotic stresses, freezing tolerance, transcriptional factors, COR-genes, dehydrins, antioxidant enzymes, osmoprotectors.

Матеріал надійшов 13.05.2014

УДК “624”/“627” 56:581.33 (477.8)

Безусько А. Г., Безусько Л. Г.

ПАЛІНОЛОГІЧНА ВИВЧЕНІСТЬ ВІДКЛАДІВ ВЕРХНЬОГО ПЛЕЙСТОЦЕНУ – ГОЛОЦЕНУ ЗАХІДНИХ РЕГІОНІВ УКРАЇНИ

У статті представлено результати аналізу палінологічних характеристик відкладів верхнього плейстоцену – голоцену Українських Карпат, Закарпаття та Прикарпаття; оцінено стан палінологічної вивченості досліджуваних відкладів у просторі та часі; розглядаються можливості застосування узагальнених палеопалінологічних матеріалів для деталізації палеофлористичних реконструкцій; визначено модельні таксони, перспективні для подальших палеоботанічних досліджень.

Ключові слова: палеопалінологія, верхній плейстоцен, голоцен, Україна.

Вступ

Реконструкція змін рослинного покриву та клімату на території західних областей України в кварталі базується на результатах палеоботанічних досліджень, серед яких провідне місце посідає метод спорово-пилкового аналізу. На сучасному етапі розвитку палінології відкладів верхнього

плейстоцену – голоцену потрібен як критичний аналіз існуючих даних, так і напрацювання нових матеріалів. Актуальною та перспективною є також оцінка узагальнених палеопалінологічних даних у контексті можливості їхнього подальшого застосування як для цілей деталізації та внесення коректив у палеоботанічні, палеоекологічні, палеокліматичні та історико-фітогеографічні