

СТРЕССОВЫЕ БЕЛКИ-ДЕГИДРИНЫ В ПОЧКАХ БЕРЕЗЫ В КОНТРАСТНЫХ ПО КЛИМАТУ РЕГИОНАХ

© Т. Д. Татарина^{1,*}, В. В. Бубякина¹, Л. В. Ветчинникова²,
А. А. Перк¹, А. Г. Пономарев^{1,*}, И. В. Васильева¹

¹Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, 677980, и

²Институт леса КарНЦ РАН, Петрозаводск, 185910;

* электронный адрес: t.tatarinova@gmail.com, anaronomarev@yandex.ru

С использованием специфических антител в почках березы повислой *Betula pendula* Roth, произрастающей в контрастных по климату регионах — Карелии и Центральной Якутии, выявлены стрессовые белки-дегидрины. В почках растений представлены дегидрины двух типов — белки со средними (56—73 кДа) и низкими (14—21 кДа) значениями молекулярной массы, причем дегидрин 17 кДа обнаружен у всех изученных растений. Наиболее подвержены сезонным изменениям дегидрины 14—21 кДа, уровень которых независимо от региона произрастания березы значительно возрастает в осенне-зимний период. Выявлен внутривидовой полиморфизм дегидринов, более выраженный у *B. pendula* в условиях резко континентального климата Якутии, что, вероятно, обусловлено особенностями адаптации древесных растений к экстремально низким температурам криолитозоны.

Ключевые слова: Карелия, Якутия, *Betula pendula*, почки, стрессовые белки, дегидрины, полиморфизм, сезонная динамика

Клетки всех живых организмов в ответ на изменения факторов среды способны к экспрессии стрессозависимых генов, активность которых направлена на защиту гомеостаза клеток. Исследования регуляции экспрессии генов белков теплового шока (heat shock proteins, Hsp), индуцируемых резким повышением температуры среды, открыли пути к изучению генетических и биохимических механизмов толерантности клеток к изменению температуры. Вместе с тем не только повышение температуры, но и гипотермия приводят к синтезу стрессовых белков, названных белками холодового шока и повышающих адаптивные возможности организмов в условиях низкотемпературного стресса (Guo, 1990; Колесниченко, Войников, 2003). О структуре и функциях этих белков известно значительно меньше, чем о структуре и функциях белков теплового шока.

Синтез стрессовых белков играет важную роль в приобретении растением устойчивости к действию неблагоприятного температурного фактора (Rorat, 2006; Welling, Palva, 2006; Kosova et al., 2010). К белкам низкотемпературного стресса растений относятся: молекулярные шапероны и дегидрины, защищающие макромолекулы и мембраны клетки от повреждений, связанных с обезвоживанием и термоденатурацией макромолекул (Close, 1996); антифризные (апопластные) белки, предотвращающие образование кристаллов льда при замерзании внеклеточной воды и повреждение ими мембран клеток растений (Griffith, Antikainen, 1996); белки, разобщающие окислительное фосфорилирование и связанные с термогенезом (Войников, 2011). Интересным представляется факт, что у растений существуют биохимические меха-

низмы защиты от низкотемпературного стресса, которые, как считалось до недавнего времени, существуют только у теплокровных животных. В частности, это синтез в ответ на воздействие низких температур в клетках растений полипептидов, гомологичных антифризным белкам арктических рыб. Также в них обнаружен белок, разобщающий в митохондриях окисление и фосфорилирование и тем самым вызывающий термогенез, подобно белку, специфичному для клеток бурой жировой ткани млекопитающих (Колесниченко, Войников, 2003; Войников, 2011).

Среди накапливающихся в ответ на обезвоживание водорастворимых белков наибольшее внимание привлекают дегидрины, относящиеся к группе II суперсемейства LEA (Late Embryogenesis Abundant) белков. Экспрессия генов дегидринов в растениях индуцируется действием абсцизовой кислоты, низких температур, засухой, засолением, воздействием тяжелых металлов, а также в ответ на биотические стрессы. Гены этого семейства белков обнаружены у многих как травянистых, так и древесных растений. Известно, что синтез дегидринов в растениях обеспечивается в основном ядерными генами (Rorat, 2006; Kosova et al., 2010). Однако механизмы регуляции экспрессии генов дегидринов пока изучены недостаточно. Дегидрины — высокогидрофильные белки, содержащие Y-, S- и K-сегменты, а также последовательности, богатые глицином (Close, 1996). Их относят к неструктурированным белкам (unstructured proteins) с высокой степенью конформационной лабильности (Hara et al., 2001). Сочетание переменных Y-, S-сегментов и консервативного K-сегмента определяет их функциональные свойства (Hara et al., 2001; Аллагулова и др., 2003; Welling, Palva,

2006). Низкая температура выступает главным стрессовым фактором, индуцирующим экспрессию генов дегидринов, следовательно, криозащита клеток растений является одной из основных функций этих белков. Вероятно, дегидрины обеспечивают защиту биополимеров от денатурации, вызванной нарушением водного режима растений в условиях низких температур, и проявляют криопротекторную, антифризную, антиоксидантную и металловязывающую функции (Hara et al., 2001; Svensson et al., 2002; Welling, Palva, 2006; Kosova et al., 2010). Предполагается, что пусковым механизмом развития холодоустойчивости древесных растений являются короткий фотопериод и низкие закалывающие температуры, индуцирующие экспрессию специфических генов холодовой акклимации растений. Так, показано, что индукция синтеза дегидринов в клетках некоторых древесных растений, в частности березы (Puhakainen et al., 2004; Welling et al., 2004), винограда (Xiao, Nassuth, 2006), кизила (Carlson et al., 2003) и ели (Yakovlev et al., 2008), может быть вызвана сокращением светового фотопериода. Накопление дегидринов у многих растений, в том числе древесных, совпадало с сезонными флуктуациями холодоустойчивости, например в кисилеме тополя, ивы (Sauter et al., 1999), персика (Wisniewki et al., 1999) и в хвое сосны (Kontunen-Soppela, Laine, 2001; Korotaeva et al., 2012).

Береза повислая *Betula pendula* Roth — основной лесобразующий вид с широким ареалом в Евразии, характеризуется высокой экологической пластичностью (Ветчинникова, 2004). Экологическая пластичность березы во многом обуславливается ее генетическим полиморфизмом, создающим мобилизационный резерв вида и обеспечивающим оптимальную приспособленность отдельных популяций к разным климатическим условиям произрастания. На территории Якутии проходит северо-восточная граница ареала березы, где растения подвергаются наибольшему воздействию стрессовых факторов, главными из которых являются экстремально низкие температуры. Некоторые особенности изменения состава дегидринов у березы повислой изучены нами ранее (Бубякина и др., 2011; Татарина и др., 2013; Пономарев и др., 2014). Целью данной работы явилось исследование внутривидового полиморфизма и сезонных изменений дегидринов в почках березы повислой *Betula pendula* Roth, произрастающей в контрастных по природно-климатическим условиям регионах Карелии и Центральной Якутии.

Материал и методика

Республика Саха (Якутия) и Республика Карелия располагаются на одной широте (62° с. ш.), но значительно удалены в долготном направлении (почти на 5000 км), что обуславливает существенные различия между ними по климатическим факторам, особенно температурному. Карелия относится к зоне умеренно континентального климата с переходом к морскому, для которого характерны возвратные потепления в осенне-зимний период и похолодания в весенне-летний. Многолетняя мерзлота отсутствует. Средняя температура января составляет от –6 до –13 °С, июля — от 12 до 22 °С. Осадков выпадает около 500 мм в год. Центральная Якутия располагается в условиях резко континентального климата. Многолетняя мерзлота (криолитозона) имеет повсеместное распространение. Средняя температура января составляет от –35 до –42 °С (без возвратных потеплений в зимний период),

июля — от 13 до 26 °С. Годовая сумма осадков составляет 230—270 мм.

Объектом исследований служили почки 30—40-летних деревьев березы повислой *B. pendula* Roth. Сбор образцов осуществляли ежемесячно в период 2009—2013 гг.: в Карелии (Ка) на опытных участках, расположенных в 6 км от г. Петрозаводска (62° с. ш., 35° в. д.) и в Центральной Якутии (Ya) — на лесных участках в 7 км от г. Якутска (62° с. ш., 130° в. д.).

Для выделения суммарных белков почки березы (1.5 г) измельчали в ступке в жидком азоте в присутствии нерастворимого поливинилпирролидона (2.5 % по отношению к объему) и буфера (20 мл), содержащего 0.1 М Трис-НСl, pH 7.5, 12 mM 2-меркаптоэтанола, 1 % ДДС, 10 mM ЭДТА и 3 mM фенолметилсульфонилфторида. Гомогенат центрифугировали в течение 20 мин при 50 000 g. К супернатанту, профильтрованному через капроновую ткань, добавляли поливинилпирролидон (2.5 %) и снова центрифугировали в течение 20 мин при 50 000 g. Все процедуры проводили при 4 °С. Белки осаждали пятью объемами ацетона при –20 °С (Korotaeva et al., 2012). Содержание белка определяли методом Лоури (Lowry et al., 1951). Электрофорез белков проводили в 13.5%-ном ПААГ с ДДС (Laemmli, 1970) с использованием маркеров молекулярной массы и последующим окрашиванием белков Кумасси R-250. На треки наносили равное количество белка (15 мкг). Перенос белков из ПААГ на мембрану ПВДФ (поливинилидендифторид) осуществляли согласно опубликованному ранее протоколу (Timmons, Dunbar, 1990). Идентификацию дегидринов выполняли с помощью поликлональных антител против их консервативного К-сегмента (EKKGIME/DKI-KEKLPG) в разведении 1 : 500 (Svensson et al., 2002). Дегидрины визуализировали при помощи антикроличьих антител, конъюгированных со щелочной фосфатазой в разведении 1 : 2500. В качестве хромогенных субстратов использовали 5-бromo-4-хлоро-3-индолил фосфат и нитротетразолий синий. Эксперименты проводили в трехкратной биологической повторности.

Использованные реактивы: поликлональные антитела против К-сегмента дегидрина (Agrisera, Швеция); буфер AP, буфер TBS, поливинилидендифторидные мембраны (PVDF) и блокирующий реагент для блоттинга (Bio-Rad, США); маркеры молекулярных масс (Fermentas, Литва); поликлар АТ (Serva, Германия); N,N-диметилформамид, антитела козы против IgG кролика, конъюгированные со щелочной фосфатазой, и 2-меркаптоэтанол (Sigma-Aldrich, США); дитиотреитол, додецилсульфат натрия, бромфеноловый синий, натриевая соль, краситель пунцовый S, кумасси бриллиантовый синий G-250, аммония ацетат, глицин, аммония персульфат, альбумин бычий и тритон X-100 (Amresco, США); акриламид для электрофореза, МБА и глицерин (Gerbu, Германия—Болгария); темед, ВСIP-Т, NBT, Твин 20, Трис, фенолметансульфонилфторид и ЭДТА (Хеликон, Россия); ацетон (ЗАО База № 1 химреактивов, Россия); метанол (Вектон, Россия).

Результаты и обсуждение

В формировании оптимального уровня низкотемпературной устойчивости *B. pendula* в разных климатических условиях, вероятно, принимают участие стрессовые белки, связанные с клеточной дегидратацией. Сравни-

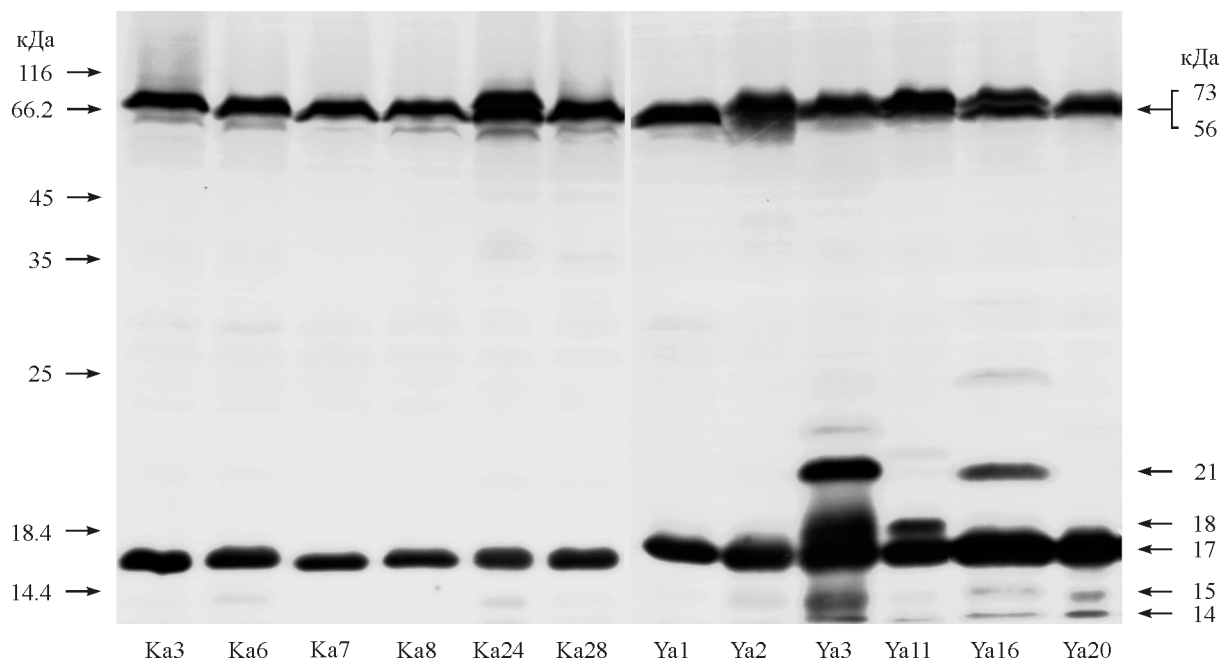


Рис. 1. Полиморфизм дегидринов в почках отдельных экземпляров *Betula pendula* из Карелии (Ka) и Центральной Якутии (Ya) в зимний период.

Слева указаны молекулярные массы маркеров, справа — молекулярные массы дегидринов.

тельный анализ дегидринов в почках берез выявил определенное сходство в их составе независимо от природно-климатических условий регионов Карелии и Центральной Якутии. Методом иммуноблотинга в почках березы повислой были идентифицированы две группы дегидринов (14—21 и 56—73 кДа), причем дегидрин с мол. массой 17 кДа обнаружен у всех изученных растений (рис. 1). Вместе с тем в условиях Якутии спектры дегидринов в почках березы повислой в зимний период

характеризовались более выраженным внутривидовым полиморфизмом, особенно в области 14—21 кДа. У отдельных растений выявляются дегидрины с мол. массами 14, 15, 18 и 21 кДа, не обнаруженные в почках берез в условиях Карелии. Также уровень дегидрина 17 кДа, выявленного в двух исследованных популяциях, был значительно выше в почках березы в условиях Якутии. Сведения о внутривидовом полиморфизме данного типа белков у древесных растений, а также их вероятной взаимосвязи

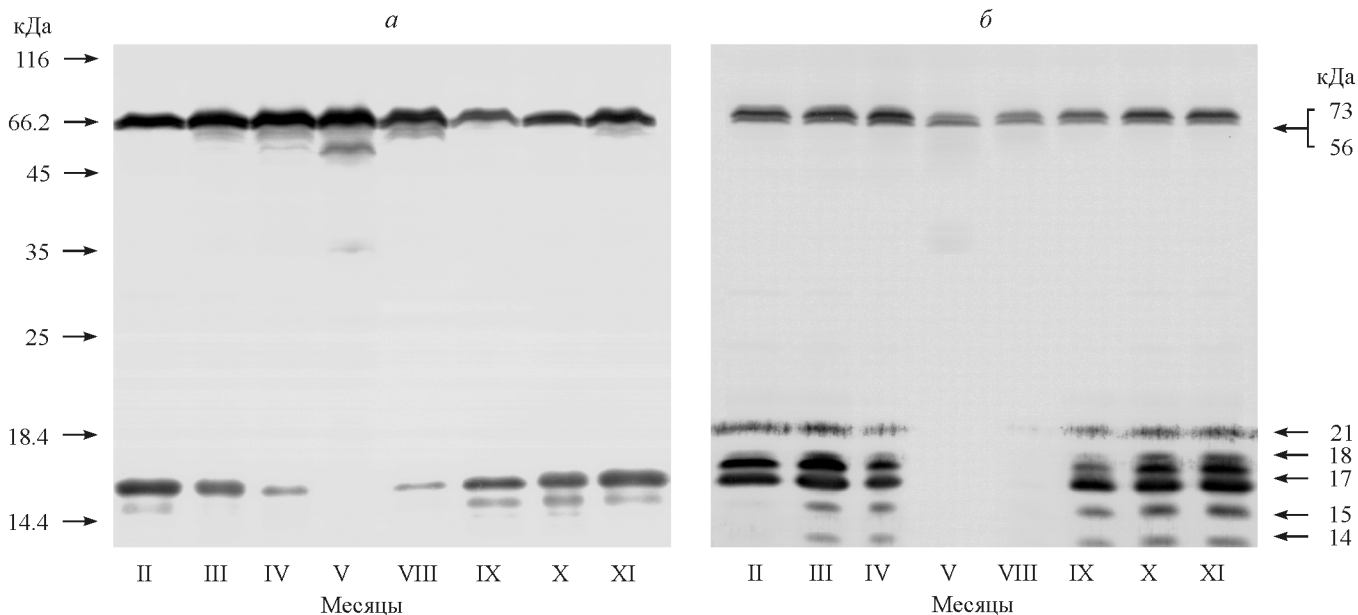


Рис. 2. Сезонная динамика дегидринов в почках *Betula pendula*, произрастающих в Карелии (Ka6) (a) и Центральной Якутии (Ya3) (б).

Слева указаны молекулярные массы маркеров, справа — молекулярные массы дегидринов.

с адаптацией в настоящее время практически отсутствуют (Vornam et al., 2011).

У березы повислой в условиях Карелии и Центральной Якутии проявились общие черты и в сезонных изменениях дегидринов (рис. 2). Например, в почках изученных популяций берез дегидрины со средними значениями мол. массы (56—73 кДа) были представлены круглогодично почти на одинаковом уровне, а низкомолекулярные дегидрины (14—21 кДа), преобладающим из которых являлся 17 кДа дегидрин, характеризовались выраженной сезонной динамикой. Низкомолекулярные дегидрины полностью исчезали по мере распускания почек в начале вегетации (май) и вновь синтезировались исключительно в конце лета — начале осени (август—сентябрь), т. е. в начальный период подготовки растений к глубокому покою. Они достигали относительно высокого стационарного уровня, необходимого для перезимовки растений, в конце фенологической осени и сохраняли его в течение всего периода с низкими зимними температурами. При этом обнаружено, что их содержание в почках было значительно выше у растений в условиях Якутии по сравнению с таковым в Карелии. Также показано, что процессы накопления осенью и исчезновения весной низкомолекулярных дегидринов у березы повислой значительно быстрее происходят в условиях криолитозоны, что свидетельствует о повышенной скорости ответной реакции их обменных процессов на воздействие факторов внешней среды, в том числе температурных.

Наблюдаемые сезонные различия в динамике дегидринов в почках березы повислой могут быть обусловлены природно-климатическими особенностями регионов — более резким повышением температуры в весенний период и более ранним ее снижением осенью в Центральной Якутии по сравнению с Карелией (рис. 3).

Ранее некоторыми авторами (Puhakainen et al., 2004) в листьях *B. pendula*, произрастающей в условиях Финляндии — весьма сходных с Республикой Карелия, — был обнаружен кислый дегидрин 36 кДа, индуцируемый низкими температурами. Согласно нашим данным, в клетках почек березы повислой в виде мажорного компонента он не выявлен. В почках березы пушистой *B. pubescens* в зимний период отмечались мажорные дегидрины 24, 30 и 33 кДа (Rinne et al., 1998), первый из которых наиболее близок к дегидрину 21 кДа, выявленному нами у отдельных экземпляров березы повислой, произрастающих в Якутии. По данным других авторов (Welling et al., 2004), на разных широтах Финляндии у березы пушистой экспрессия двух генов дегидринов различалась по уровню и проявлялась сезонно: *BpuDhn1* — в осенний период, *BpuDhn2* — в самые холодные зимние месяцы. Картина сезонных изменений дегидринов, в которой они достигали высокого уровня во время покоя растений, также согласуется с данными литературы, где стрессовым белкам отводится важная роль в процессах приобретения растениями устойчивости к холоду. Так, в период зимнего покоя в почках березы пушистой наблюдался значительный синтез дегидринов, вероятно вызванный снижением содержания воды в тканях. Максимум содержания дегидрина 24 кДа отмечался в течение всего осенне-зимнего периода, а дегидрина 30 кДа — только в самые холодные месяцы года (Rinne et al., 1998). Дегидрины накапливались при уменьшении содержания воды в тканях *Cornus sericea* во время подготовки к зиме (Karlson et al., 2003). Такое же накопление дегидринов, разных по молекулярной массе, наблюдали у хвойных растений в период ак-

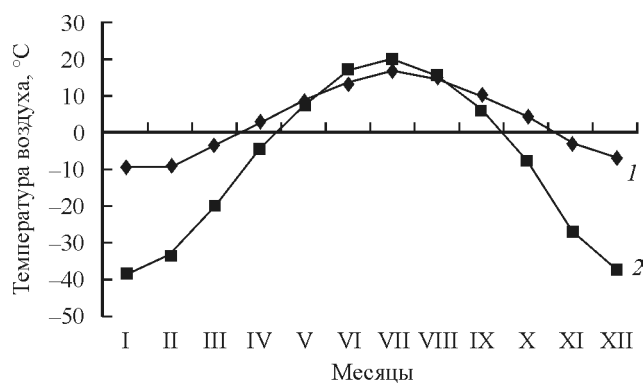


Рис. 3. Динамика показателей среднемесячной температуры воздуха: 1 — Карелия (г. Петрозаводск), 2 — Центральная Якутия (г. Якутск).

климации и, наоборот, их исчезновение — во время деаклимации (Korotaeva et al., 2012; Velasco-Conde et al., 2012; Kjellsen et al., 2013). Некоторые различия, обнаруженные нами по молекулярным массам дегидринов в сравнении с литературными данными, вероятно, обусловлены видовыми (береза повислая и береза пушистая) и тканевыми (листья и почки) особенностями растений, а также свойствами использованных в работе высокоспецифичных поликлональных антител против консервативного К-сегмента дегидринов.

Таким образом, при сравнительном изучении березы повислой, произрастающей в Карелии и Центральной Якутии — регионах, контрастных по природно-климатическим условиям, выявлены специфические сезонные изменения и индивидуальный полиморфизм стрессовых белков-дегидринов. Сходный характер сезонных изменений дегидринов, связанный с их накоплением во время осенней подготовки растений к глубокому покою и стабильно высоким уровнем в течение низкотемпературного зимнего периода, позволяет предположить участие этих белков в общих механизмах формирования морозоустойчивости березы повислой. Особенности годичного цикла стрессовых белков, в первую очередь низкомолекулярного дегидрина 17 кДа, могут свидетельствовать об их участии в биохимических процессах, ассоциированных с перезимовкой деревьев.

Внутривидовой полиморфизм дегидринов, более выраженный у *B. pendula* в условиях резко континентального климата Якутии в отличие от умеренно континентального с переходом к морскому в Карелии, вероятно, обусловлен особенностями адаптации древесных растений к экстремально низким температурам, характерным для криолитозоны.

Работа выполнена при финансовой поддержке федерального бюджета на выполнение государственного задания ИБПК СО РАН (тема № 0376-2014-0006) и ИЛ КарНЦ РАН (темы 0220-2014-0002 и 0220-2014-0009), а также при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 09-04-98556 p_восток_a).

Список литературы

Аллагулова Ч. Р., Гималов Ф. Р., Шакирова Ф. М., Вахитов В. А. 2003. Дегидрины растений: их структура и предполагаемые функции. Биохимия. 68 (9): 1157—1165. (Allagulova

- va Ch. R., Gimalov F. R., Shakirova F. M., Vakhitov V. A. 2003. The plant dehydrins: structure and putative functions. *Biohimiya*. 68 (9) : 1157—1165.)
- Бубякина В. В., Татарнинова Т. Д., Пономарев А. Г., Перк А. А., Соломонов Н. Г. 2011. Особенности сезонной динамики дегидринов *Betula platyphylla* Sukacz., ассоциированные с формированием морозоустойчивости в условиях криолитозоны. Докл. РАН. 439 : 844—847. (Bubyakina V. V., Tatarinova T. D., Ponomarev A. G., Perk A. A., Solomonov N. G. 2011. Features of the seasonal dynamics dehydrins *Betula platyphylla* Sukacz., associated with the formation of frost resistance in a permafrost zone. Dokl. RAS. 439 : 844—847.)
- Ветчинникова Л. В. 2004. Береза: вопросы изменчивости (морфо-физиологические и биохимические аспекты). М.: Наука. 183 с. (Vetchinnikova L. V. 2004. Birch: questions of variability (morpho-physiological and biochemical aspects). M.: Nauka. 183 p.)
- Войников В. К. 2011. Митохондрии растений при температурном стрессе. Новосибирск: Гео. 163 с. (Voinikov V. K. 2011. Mitochondria plants under heat stress. Novosibirsk: Geo. 163 p.)
- Колесниченко А. В., Войников В. К. 2003. Белки низкотемпературного стресса растений. Иркутск: Арт-пресс. 196 с. (Kolesnichenko A. V., Voinikov V. K. 2003. Proteins plant low temperature stress. Irkutsk: Art-press. 196 p.)
- Пономарев А. Г., Татарнинова Т. Д., Перк А. А., Васильева И. В., Бубякина В. В. 2014. Дегидрины, ассоциированные с морозоустойчивостью березы плосколистной Восточной Сибири. Физиол. раст. 61 (1) : 114—120. (Ponomarev A. G., Tatarinova T. D., Perk A. A., Vasilyeva I. V., Bubyakina V. V. 2014. Dehydrin associated with frost *Betula platyphylla* Eastern Siberia. *Fiziol. rast.* 61 (1) : 114—120.)
- Татарнинова Т. Д., Перк А. А., Бубякина В. В., Пономарев А. Г., Ветчинникова Л. В., Васильева И. В. 2013. Дегидрины в почках *Betula pendula* Roth: особенности сезонной динамики. Изв. Самар. науч. центра РАН. 15 (3) : 799—801. (Tatarinova T. D., Perk A. A., Bubyakina V. V., Ponomarev A. G., Vetchinnikova L. V., Vasilyeva I. V. 2013. Dehydrin buds *Betula pendula* Roth: features seasonal dynamics. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra RAS.* 15 (3) : 799—801.)
- Close T. J. 1996. Dehydrins: emergence of a biochemical role of a family of plant dehydration proteins. *Physiol. Plantarum*. 97 (5) : 795—803.
- Griffith M., Antikainen M. 1996. Extracellular ice formation in freezing-tolerant plants. *Adv. Low-Temp. Biol.* 3 : 107—139.
- Guy C. 1990. Cold acclimation and freezing stress tolerance: role of protein metabolism. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 41 : 187—223.
- Hara M., Terashima S., Kuboi T. 2001. Characterization and cryoprotective activity of cold-responsive dehydrin from *Citrus unshiu*. *J. Plant Physiol.* 158 : 1333—1339.
- Karlson D. T., Zeng Y. E., Stirn R., Joly J., Ashworth E. N. 2003. Photoperiodic regulation of a 24-kDa dehydrin-like protein in red-osier dogwood (*Cornus sericea* L.) in relation to freeze-tolerance. *Plant Cell Physiol.* 44 : 25—34.
- Kjellsen T. D., Yakovlev I. A., Fossdal C. G., Strimbeck G. R. 2013. Dehydrin accumulation and extreme low-temperature tolerance in Siberian spruce (*Picea obovata*). *Tree Physiol.* 33 : 1354—1366.
- Kontunen-Soppela S., Laine K. 2001. Seasonal fluctuation of dehydrins is related to osmotic status in Scots pine needles. *Trees*. 15 : 425—430.
- Korotaeva N. E., Oskorbina M. V., Kopytova L. D., Suvorova G. G., Borovskii G. B., Voinikov V. K. 2012. Variations in the content of stress proteins in the needles of common pine (*Pinus sylvestris* L.) within an annual cycle. *J. For. Res.* 17 : 89—97.
- Kosova K., Prasil I. T., Vitamvas P. 2010. Role of dehydrins in plant stress response. In: *Handbook of Plant and Crop. Stress Tucson: CRC Press.* 239—285.
- Laemmli U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 227 : 680—685.
- Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L., Randall R. F. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193 : 265—275.
- Rorat T. 2006. Plant dehydrins: tissue location, structure and function. *Cell. Mol. Biol. Lett.* 11 : 536—556.
- Puhakainen T., Li Ch., Boije-Malm M., Kangasjarvi J., Heino P., Palva E. T. 2004. Short day potentiation of low temperature-induced gene expression of a C-repeat-binding factor-controlled gene during cold acclimation in silver birch. *Plant Physiol.* 136 : 4299—4307.
- Rinne P., Welling A., Kaikuranta P. 1998. Onset of freezing tolerance in birch (*Betula pubescens* Ehrh.) involves LEA proteins and osmoregulation and is impaired in an ABA-deficient genotype. *Plant Cell Environ.* 21 : 601—611.
- Sauter J. J., Westphal S., Wisniewski M. 1999. Immunological identification of dehydrin-related proteins in the wood of five species of *Populus* and *Salix caprea* L. *J. Plant Physiol.* 154 : 781—788.
- Svensson J., Ismail A. M., Palva E. T., Close T. J. 2002. Dehydrins. In: *Cell and molecular responses to stress.* Amsterdam: Elsevier Press. 155—171.
- Timmons T. M., Dunbar B. S. 1990. Protein blotting and immunodetection. *Methods Enzymol.* 182 : 679—701.
- Velasco-Conde T., Yakovlev I., Majada J.P., Aranda I., Johnsen O. 2012. Dehydrins in maritime pine (*Pinus pinaster*) and their expression related to drought stress response. *Tree Gen. Genom.* 8 : 957—973.
- Vornam B., Gailing O., Derory J., Plomion C., Kremer A., Finkeldey R. 2011. Characterization and natural variation of a dehydrin gene in *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. *Plant Biol.* 13 : 881—887.
- Welling A., Palva E. T. 2006. Molecular control of cold acclimation in trees. *Physiol. Plantarum.* 127 : 167—181.
- Welling A., Rinne P., Vihera-Aarnio A., Kontunen-Soppela S., Heino P., Palva E. T. 2004. Photoperiod and temperature differentially regulate the expression of two dehydrin genes during overwintering of birch (*Betula pubescens* Ehrh.). *J. Exp. Bot.* 55 : 507—516.
- Wisniewski M., Webb R., Balsamo R., Close T. J., Yu X. M., Griffith M. 1999. Purification, immunolocalization, cryoprotective and antifreeze activity of PCA60: a dehydrin from peach (*Prunus persica*). *Physiol. Plantarum.* 105 : 600—608.
- Xiao H., Nassuth A. 2006. Stress- and development-induced expression of spliced and unspliced transcripts from two highly similar dehydrin I genes in *V. riparia* and *V. vinifera*. *Plant. Cell. Rep.* 25 : 968—977.
- Yakovlev, I. A., Asante D. K. A., Fossdal C. G., Partanen J., Junttila O., Johnsen O. 2008. Dehydrins expression related to timing of bud burst in Norway spruce. *Planta.* 228 : 459—472.