

УДК 582.681.81:577.21

Н.К. КУЦОКОНЬ

Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, Київ
E-mail: kutsokon@gmail.com

**ОСНОВНІ НАПРЯМКИ ГЕНЕТИЧНОЇ
ТРАНСФОРМАЦІЇ ПРЕДСТАВНИКІВ
РОДУ *POPULUS***



*В даному огляді окреслено основні переваги, які може надати плантаційне вирощування тополь, наведено їхнє значення для промисловості, а також при вирішенні екологічних проблем. Методами генетичної інженерії проаналізовано напрямки вдосконалення фенотипів *Populus*. Ці напрямки пов'язані зі стійкістю до біотичного та абіотичного стресів, гербіцидів, а також з модифікацією якості деревини (зниження або модифікація вмісту лігніну), фітормедіацією, прискоренням росту, зміною морфології рослин.*

© Н.К. КУЦОКОНЬ, 2011

ISSN 0564–3783. Цитология и генетика. 2011. № 6

Серед швидкоростучих деревних видів, що застосовуються як джерело відновлюваних природних ресурсів, роди *Populus* та *Salix* є найбільш перспективними. Тополі часто вирощують у штучних деревних насадженнях, особливо в країнах з незначними запасами природних ресурсів та у випадках, коли експлуатація природних лісів коштує дорого [1].

Деревина тополь придатна для використання в різних галузях: як джерело енергії при спалюванні дров, деревного вугілля, пелетів, брикетів, для виробництва етанолу, паперу, віскози, для виготовлення сірників, фанери, пиломатеріалів, тари і т.п. Крім того, дерева використовують для посадок у захисних лісо-смугах та як декоративні рослини.

Порівняно з вирощуванням інших енергетичних культур тополі мають ряд позитивних особливостей. По-перше, їх можна вирощувати на ділянках, не придатних для ведення сільськогосподарства. Вирощування деревних рослин сприяє укріпленню та оздоровленню еродованих і забруднених ґрунтів; зокрема, подібна практика впроваджена в заплавах річок Північної Італії, де для відновлення антропогенно змінених ділянок використовується переважно осокір. Інколи на таких ділянках навіть вирощують колекційні зразки [2]. До того ж тополі мають значний потенціал для очищення ґрунту від ряду небезпечних забрудників [3, 4], причому з мінімальним ризиком включення в харчовий ланцюг на відміну від харчових культур.

По-друге, плантаційне вирощування тополь дозволяє отримувати більш стабільний врожай біомаси, оскільки він формується протягом кількох років і, отже, ризик впливу окремих несприятливих років значно знижується.

По-третє, тополіні насадження характеризуються більшим видовим різноманіттям порівняно з насадженнями польових культур. Зокрема, кількість видів рослин в тополіних насадженнях хоча і є меншою, ніж рівень видової різноманітності в звичайних лісах, проте вона перевищує таку порівняно з насадженнями однорічних культур [5]. Тому вирощування навіть швидкозмінних промислових тополіних плантацій має більш позитивний вплив на дикі види рослин і тварин порівняно з вирощуванням будь-яких інших сільськогосподарських культур.

По-четверте, рід *Populus* характеризується значним видовим різноманіттям та наявністю великої кількості гібридів, що здатні рости в найрізноманітніших умовах та мають широкий спектр адаптацій. Так, для тополі чорної з пересуванням на південь характерні зменшення розміру листків та вищий ступінь галуження крони [6, 7]. Проростки тополь здатні пережити як раптові літні поєди, так і посушливі та високотемпературні умови, що дозволить успішно використовувати тополі і в майбутньому при прогнозованих змінах клімату, які нерідко спостерігаються вже зараз.

Незважаючи на те, що методами класичної селекції досягнуто значних успіхів у створенні високопродуктивних клонів тополь, тривалий період онтогенезу деревних рослин ускладнює вдосконалення існуючих та створення нових клонів. Методи генетичної інженерії здатні вирішити цю проблему. Після того як було показано перенесення агрономічно важливої ознаки — стійкості до гербіциду гліфосату [8] — в геном осики, тополі стали модельним об'єктом для дослідження трансформації деревних рослин. Для багатьох видів *Populus* вже розроблено методи вирощування та трансформації в культурі *in vitro* [1, 9–12].

Тополя є не лише важливою рослиною для лісівництва, але й модельним деревним видом [13], що обумовлено її швидкорослістю з відносно коротким життєвим циклом, легкістю розмноження, задовільною якістю деревини та невеликим розміром геному, який лише в чотири рази перевищує геном арабідопсису. Тополя волосистоплідна *Populus trichocarpa* Torr. et Gray стала першим деревним видом, геном якого було нещодавно секвеновано [14]. Розмір його — близько 480 млн пар основ, в ньому ідентифіковано понад 45 500 генів, що кодують білки. Прогрес в секвенуванні геному значно розширює можливості генетичної модифікації тополь.

Створення трансгенних ліній у представників роду *Populus* має вагомe значення як для фундаментальних досліджень, так і для прикладних цілей [1, 13, 15–18]. Трансгенні лінії тополь зі зміненим метаболізмом дозволяють вивчати фізіологічні та біохімічні реакції, а також функції генів деревних рослин. Створення ж трансгенних ліній з бажаними влас-

твостями є надзвичайно важливим для промисловості.

Для практичного застосування генно-інженерних технологій необхідною умовою є висока стабільність експресії трансгена. Внаслідок ряду причин генетична конструкція може змінювати рівень експресії або втрачатися з геному фізично [19, 20], однак кількарічні дослідження показали, що в польових, тепличних та *in vitro* експериментах лише в незначній кількості (близько 2,5 %) рослин тополі змінювалася експресія чи втрачалися маркерні або селективні трансгени [21, 22]. Тобто, ці результати свідчать про те, що експресія трансгена в багаторічних деревних видів може залишатися стабільною тривалий час, і це дозволяє використовувати такі насадження протягом багатьох років.

Основні напрямки вдосконалення фенотипів тополь методами генетичної інженерії пов'язані зі стійкістю до біотичного та абіотичного стресів, гербіцидів, модифікацією якості деревини (зниження або модифікація вмісту лігніну), фіторемедіацією, прискоренням росту, зміною морфології рослин [1, 15, 17, 23–25] (таблиця).

Стійкість до біотичних стресів. Тополі можуть пошкоджуватися комахами, які погіршують якість деревини, вповільнюють ріст та знищують молоді плантації. Обробка рослин інсектицидами наносить значну шкоду довкіллю і часто є неефективною. Методами генетичної інженерії створено форми тополь, стійкі до поїдання комахами, при цьому частіше використовуються два типи генетичних конструкцій — на основі генів рослинних інгібіторів протеїназ та генів токсинів *Bacillus thuringiensis*.

Інгібітори протеолітичних ферментів є частиною природної системи захисту рослин від ураження комахами. Ці ферменти широко розповсюджені серед рослин різних систематичних груп, вони здатні пригнічувати активність серинових, цистеїнових та аспартатних протеїназ, можуть впливати як на екстрацелюлярні протеїнази, що секретуються фітопатогенами, так і протеїнази шлунково-кишкового тракту комах, які пошкоджують рослинні тканини [26].

Стійку до поїдання тополевым листоїдом *Chrysomela populi* L. трансгенну тополю *P. alba*

Генетична модифікація тополь

Вид/гібрид	Трансген (продукт трансгена)	Джерело
Стійкість до біотичних стресів		
<i>P. alba</i>	<i>Atcys</i> (інгібітор цистеїнпротеїнази арабідопсису)	Delledonne et al., 2001
<i>P. tremula</i> × <i>P. tremuloides</i>	<i>OCI</i> (оризацистатин)	Leple et al., 1995
<i>P. tremula</i> × <i>P. tremuloides</i>	<i>cry3Aa</i> (токсин <i>Bacillus thuringiensis</i>)	Genissel et al., 2003
<i>P. nigra</i>	<i>KTi₃</i> (інгібітор трипсину Кунітца сої)	Confalonieri et al., 1998
Стійкість до абіотичних стресових факторів		
<i>P. sieboldii</i> × <i>P. grandidentata</i>	<i>prxC1a</i> (пероксидаза хрону)	Kawaoka et al., 2003
<i>P. × canescens</i>	<i>ISPS</i> (ізопрен-синтетаза)	Behnke et al., 2007
<i>P. nigra</i> × <i>P. maximowiczii</i>	<i>mODC</i> (орнітин-декарбоксілаза)	Mohapatra et al., 2007
<i>P. alba</i>	<i>PsMT_{AI}</i> (металотіонеїноподібний протеїн)	Balestrazzi et al., 2009
<i>P. davidiana</i> × <i>P. bolleana</i>	<i>TaMnSOD</i> (марганець супероксиддисмутаза)	Wang et al., 2010
<i>P. tomentosa</i>	<i>AtPLDα</i> (фосфоліпаза Dα)	Zhang et al., 2008
<i>P. tomentosa</i>	<i>mtlD</i> (маннітол-1-фосфат дегідрогеназа)	Hu et al., 2005
<i>P. alba</i> × <i>P. glandulossa</i>	<i>PtFAD3</i> (омега-3 десатураза жирних кислот)	Zhou et al., 2010
<i>P. alba</i> × <i>P. berolinensis</i>	JERF (транскрипційний фактор, jasmonic ethylene responsive factor)	Li, Su et al., 2009
Модифікація вмісту лігніну		
<i>P. tremuloides</i>	<i>Pt4CL1</i> (4-кумарат-СоА-лігаза)	Hu et al., 1999
<i>P. tremula</i> × <i>P. alba</i>	<i>F5H</i> (ферулат-5-гідроксилаза)	Stewart et al., 2009
<i>P. grandidentata</i> × <i>P. alba</i>	C3'H (<i>n</i> -кумароїл-СоА 3'-гідроксилаза)	Coleman et al., 2008
<i>P. deltoides</i> × <i>P. nigra</i>	<i>CAD</i> (дегідрогеназа коричневого спирту),	Lapierre et al., 2004
<i>P. tremula</i> × <i>P. alba</i>	<i>CAD</i> (дегідрогеназа коричневого спирту), <i>COMT</i> (О-метилтрансфераза кавової кислоти)	Lapierre et al., 1999
ФітореMediaція		
<i>P. tremula</i> × <i>P. alba</i>	<i>CYP2E1</i> (цитохром P4502E1)	Doty et al., 2007
<i>P. tremula</i> × <i>P. tremuloides</i>	<i>cbnA</i> (хлорокатехолдіоксигеназа)	Ohmiya et al., 2009
<i>P. tremula</i> × <i>P. alba</i>	<i>gshI</i> (γ-glutamylcysteine synthetase)	Peuke, Rennenberg, 2005
<i>P. alba</i> × <i>P. tremula</i>	<i>merA</i> (ртуть-редуктаза), <i>merB</i> (ртутьорганічна ліаза)	Choi et al., 2007
Стійкість до гербіцидів		
<i>P. alba</i> × <i>P. tremula</i>	<i>BAR</i> (фосфінотрицинацетилтрансфераза)	De Block, 1990
<i>P. trichocarpa</i> × <i>P. deltoides</i>	<i>BAR</i> (фосфінотрицинацетилтрансфераза)	De Block, 1990
<i>P. alba</i>	<i>BAR</i> (фосфінотрицинацетилтрансфераза)	Confalonieri et al., 2000
<i>P. alba</i> × <i>P. grandidentata</i>	<i>aroA</i> (5-енолпірувілшикімат-3-фосфатсинтаза)	Fillatti et al., 1987

Вид/гібрид	Трансген (продукт трансгена)	Джерело
	Зміна ростових характеристик	
<i>P. tremula</i> × <i>tremuloides</i>	<i>PHYA</i> (фітохром А)	Olsen et al., 1997
<i>P. tremula</i> × <i>P. alba</i>	<i>PcGA2ox1</i> (гіберелін-2-оксидаза)	Busov et al., 2003
<i>P. tremula</i> × <i>P. tremuloides</i>	<i>AtGA20ox1</i> (гіберелін-20-оксидаза)	Eriksson et al., 2000
<i>P. alba</i> × <i>P. tremula</i> var. <i>glandulosa</i>	<i>tzs</i> (ген секреції трансзеатину), ізопентеніл-трансфераза	Choi et al., 2009
<i>P. tremula</i>	<i>rol</i> (Т-ДНК гени <i>Agrobacterium rhizogenes</i>)	Tzfira et al., 1999

L. cv. Villafranca одержано при включенні в генном ділянці гена інгібітора цистеїнпротеїнази арабідопсису (*Atcys*). Трансгенні рослини набували стійкості до шкідників внаслідок здатності пригнічувати травну протеїназну активність у личинок тополевого листоїда [27].

Осиковий листоїд *Chrysomela tremulae* наносить значну шкоду молодим швидкоростучим плантаціям тополь. При перенесенні гена оризацистатину (*oryzacystatin*), що кодує інгібітор цистеїнових протеїназ, в генном *P. tremula* × *P. tremuloides* виявлено високу токсичність трансгенних рослин проти личинок листоїда [28]. Сильний шкідливий вплив на личинок цього шкідника виявляли і на листках гібридної тополі (*P. tremula* × *P. tremuloides*), трансформованої синтетичним генном *cry3Aa*, який створений на основі гена *cry3Aa* токсину *Bacillus thuringiensis* subsp. *Tenebrionis* [29].

Однак трансформація рослин генами інгібіторів протеїназ не завжди призводить до появи рослин, стійких до впливу комах. Так, інсерція ділянки (650 п.н.) *KTi₃* гена, що кодує інгібітор трипсину Кунітца сої (*soybean Kunitz trypsin inhibitor*), в генном *P. nigra* (cv. Jean Pourtet) показала пригнічення *in vitro* трипсиноподібних протеїназ у непарного шовкопряда *Lymantria dispar* та чубатки анастомоза *Clostera anastomosis*. Проте, при годуванні личинок листям трансгенних рослин їхні ростові характеристики та смертність суттєво не змінювалися, що є свідченням неефективності даної протеїнази для захисту рослин [30].

Стійкість до абіотичних стресових факторів. При наданні рослинам стійкості до абіотичних стресів особлива увага звертається на оксидативний і холододовий стрес, забруд-

нення доквілля, посуху, засолення та інші стреси, що пригнічують ріст рослин та їхню продуктивність. При цьому є важливим, що відповідь рослинного організму на стресові умови — часто неспецифічна реакція, тому толерантність до одного стресора може обумовлювати толерантність до інших стресових факторів.

Як правило, відповідь на стрес — мультигенна ознака, в ній задіяні різні процеси та чинники: іонний транспорт та компартменталізація шкідливих іонів, осмоліти, поліаміни, реактивні форми кисню та захисні антиоксидантні системи [31]. В стресових умовах рослини накопичують низькомолекулярні сполуки, такі як прості сахариди (фруктоза, галактоза), поліоли (маннітол, пінітол), комплексні сахариди (трегалоза, рафіноза), амінокислоти (пролін) та гліцинбетаїн [32, 33]. Ці осмопротектанти не є токсичними, вони у клітинах можуть акумулюватися в осмотично важливих концентраціях, не порушуючи клітинного метаболізму, захищаючи ензими та мембрани від реактивних форм кисню та високих концентрацій солі [34]. Так, виявлено, що гліцинбетаїн захищає деякі ензими від високотемпературної інактивації, наприклад, складні білки, що входять до складу комплексу фотосистеми II, яка виділяє кисень. Накопичення трансгенними рослинами осмопротектантів збільшує їхню стійкість і до дії низьких температур та засолення [35–41]. Екзогенний пролін та гліцинбетаїн підвищують стійкість рослин до стресу, що обумовлений дією кадмію [42].

При всіх абіотичних стресових умовах рослини зазнають оксидативного стресу, пов'я-

заного з посиленою генерацією активованих форм кисню, що утворюються в різних субклітинних компартментах та реагують з ДНК, ліпідами і білками. В нормальних умовах активовані форми кисню ефективно детоксуються. Але якщо тривалість стресу чи його інтенсивність перевищують можливість детоксикації, то відбувається ураження клітин.

Серед захисних механізмів клітин від абіотичних стресів та пов'язаного з ними оксидативного стресу важливу роль в перехопленні та детоксифікації вільних радикалів мають супероксиддисмутаза, аскорбатпероксидаза, глутатіонредуктаза і каталаза. Отримано ряд трансгенних рослин з підвищеним рівнем антиоксидантних ензимів, що характеризувалися стійкістю до понижених температур (цит. по [43]).

Зростання пероксидазної активності посилює стійкість рослин до оксидативного стресу та їхню ростову активність. Введення в геном гібридної тополі (*P. sieboldii* × *P. grandidentata*) генетичної конструкції, що містила ген *prxC1a* пероксидази хрону (*Armaracia rusticana*), дозволило отримати рослини з інтенсивним ростом в умовах тепличної культури. Такі швидкоростучі клони показали високу активність експресії гена *prxC1a*, мали підвищену пероксидазну стійкість до впливу аскорбату та гваяколу та були стійкими до дії пероксиду водню [44].

Ізопрен (2-метил-1,3-бутадиєн) є одним з біогенних летких органічних сполук, що виділяються багатьма видами рослин, частіше деревами. Наприклад представники родів *Quercus* та *Populus* виділяють найбільше ізопрену. Вважається, що ізопрен здатний захищати фотосинтез від пошкоджуючого впливу короткочасного підвищення температури, оскільки висока інтенсивність світла та підвищення температури стимулює його утворення [45]. Ізопрен може захищати рослини й від оксидативного стресу, викликаного впливом озону, оксиду азоту чи синглетних радикалів кисню. Вивчення трансгенних ліній тополі (*P. × canescens*) з підвищеним рівнем експресії гена ізопрен-синтетази (*ISPS*) та ліній, в яких даний ген було супресовано за допомогою РНК-інтерференції, показало, що

зниження рівня виділення ізопрену впливає на терmostійкість фотосинтезу після короткочасної температурної обробки (38–40 °C) [46].

Вивчення активності деяких важливих ензимів, відповідальних за знешкодження реактивних форм кисню у трансгенних рослин, виявило, що посилення метаболізму путресцину робить клітини більш чутливими до оксидативного стресу. Так, лінії гібридної тополі (*P. nigra* × *P. maximowiczii*), одержані внаслідок трансформації геном орнітиндекарбоксілази мишей (*mODC*), характеризувалися підвищеним рівнем путресцину та посиленням його катаболізму, проте високий рівень путресцину захищав клітини від токсичної дії алюмінію [47].

Трансформація *P. alba* геном *PsMT_{Al}* металотіонеїноподібного протеїну гороху значно підвищувала стійкість трансгенних рослин до важких металів (міді і цинку) та оксидативного стресу, обумовленого дією параквату. Трансгенні тополі характеризувалися нижчими рівнями реактивних форм кисню та слабкішим пошкодженням ДНК, обумовленим поєднаним впливом 8-гідрокси-20-дезоксигуанозину та міді [48].

Ген марганець супероксиддисмутази, одержаний з *Tamarix androssowii* (*TaMnSOD*) – пустельної рослини, яка витримує значне засолення, – було перенесено в геном тополі *P. davidiana* × *P. bolleana*. Такі трансгенні тополі значно краще переживали сольовий стрес, викликаний хлоридом натрію, порівняно з рослинами дикого типу [49]. Трансформація *P. tomentosa* геном фосфоліпази *Da Arabidopsis thaliana* (*AtPLD α*) також підвищувала стійкість рослин в умовах посухи та засолення [50].

Відомо, що зростання вмісту поліненасичених жирних кислот у складі клітинних мембран здатне підвищувати холодостійкість рослин. Експресія під конститутивним промотором омега-3 десатурази жирних кислот *P. tomentosa* (*PtFAD3*) в геномі гібридної тополі (*P. alba* × *P. glandulossa*) показала підвищений рівень ліноленової кислоти та вдвічі вищий рівень виживаності у трансгенних проростків після тригодинного заморозку (–4 °C) порівняно з контрольними рослинами [51].

Ген *mtlD*, що кодує маннітол-1-фосфат дегідрогеназу – фермент, необхідний для біосинтезу манніту з фруктози, перенесено з використанням агробактерій в геном *P. tomentosa* Carag. Трансгенні рослини виявляли високу стійкість до засолення як в культурі *in vitro*, так і в умовах гідропоніки. Бруньки з трансгенних рослин нормально регенерували на середовищі з вмістом NaCl 50 мМ, тоді як рослини дикого типу за таких умов гинули. В умовах гідропоніки трансгенні тополі виживали при засоленні 75 мМ, в той час як рослини дикого типу – лише при 25 мМ NaCl [36]. Однак автори цієї роботи зазначали характерну особливість трансгенних рослин – за відсутності сольового стресу вони росли майже вдвічі повільніше, ніж рослини дикого типу, хоча сольовий стрес значно менше впливав на відносний ростовий рівень трансгенних рослин. При цьому виявлено, що експресія гена *mtlD* за умов стресу та за нормальних умов не відрізнялася, оскільки концентрація манніту в трансгенних рослин була однаковою незалежно від вмісту хлориду натрію в ростовому середовищі.

Надлишкова експресія гена фітохрома А (*PHYA*) вівса в гібридній тополі (*P. tremula* × *P. tremuloides* Michx.) достовірно змінювала критичну тривалість дня і попереджала акліматизацію до холоду [52]. Критична тривалість дня для росту у рослин дикого типу становить близько 15 год, в той час як трансформанти з сильною експресією гена *PHYA* не припиняли ріст при фотоперіоді 6 год. Щоправда трансгенні рослини часто характеризувалися сповільненим ростом, що пов'язують із зниженням рівня фітогормонів (гібереліну та індолілоцтової кислоти) [53]. Такі трансгенні тополі не здатні «впізнавати» критичне зниження тривалості дня і продовжують рости навіть за несприятливих умов. Зниження ж рівня експресії *PHYA* у трансгенних рослин тополі викликає їхню підвищену чутливість до зміни тривалості дня.

Перспективним підходом для протидії стресовим чинникам є використання для генетичної трансформації не одного гена певної функції, а послідовностей, що регулюють експресію ряду генів. Це дозволяє регулю-

вати активність одразу кількох функціональних генів для підвищення стійкості до стресу. Так, перенесення транскрипційного фактора JERF (jasmonic ethylene responsive factor) томата в геном гібридної тополі (*P. alba* × *P. berolinensis*) значно посилювало стійкість трансгенних рослин до засолення в тепличних та польових експериментах. В умовах засолення такі рослини порівняно з нетрансформованими показали посилений ріст, менш значиме пригнічення фотосинтезу та вищий вміст проліну. Наразі автори продовжують польові експерименти на прибережних солончаках в китайській провінції Ляонінг (Liaoning, м. Panjin), де концентрація солі становить 0,3 % [54].

Модифікація вмісту лігніну. Лігнін є сполукою, що значною мірою відповідає за твердість тканин у рослин, він перешкоджає деградації полісахаридів клітинної стінки, що є основною лінією захисту проти патогенів, комах та трав'яїдних тварин. Водночас його наявність лімітує застосування целюлози у виробництві паперу і перетравленні всієї рослинної біомаси, тому зміна складу лігніну в тополь є дуже перспективним напрямком досліджень для оптимізації одержання целюлози та етанолу. Так, Департамент енергії США нещодавно виділив 1,4 млн доларів відомим дослідникам Ричарду Мейлану, Майклу Ладішу та Клінту Чапллу для досліджень в цьому напрямку [55]. При зниженні вмісту лігніну в деревині вдається одержати щорічно до 3800 л етанолу на 1 акр. Крім того, лігнін є небажаним компонентом при виготовленні паперу, тому зниження вмісту або зміна його складу має важливе економічне значення при приготуванні пульпи. Проте, модифікація лігніну в деревині є непростим завданням – дану ознаку доволі складно змінити. Очевидно це пов'язано зі складними метаболічними шляхами лігніну. Так, недавні дослідження показали, що в геномі *P. trichocarpa* наявні щонайменше 15 генів дегідрогенази коричневого спирту (CAD), які мають відмінну експресію в різних тканинах рослини. Аналіз промоторів цих генів виявив кілька різних мотивів, залучених до зміни генної експресії під впливом різноманітних факторів, включаючи процеси розвитку, фізіологічні зміни, стрес [56], зокрема

важливою є зміна регуляції експресії САД генів під впливом фітогормонів.

Введенням в геном рослин антисенсових послідовностей до генів, що кодують певні етапи біосинтезу лігніну, можна змінювати не тільки вміст лігніну, але і його структуру [57, 58]. Трансгенні тополі *P. tremuloides* Michx. зі зниженою внаслідок антисенс технології експресією гена 4-кумарат-СоА-лігази (*Pt4CLL*) синтезували лігніну менше на 45 % та целюлози більше на 15 % порівняно з нетрансформованими рослинами [59]. В трансгенних тополі *P. tremula* × *P. alba* з надекспресією гена ферулат-5-гідроксилази (*F5H*) синтезувався лігнін з високим вмістом сірінгілових мономерів. Такий лігнін легше розщеплюється, оскільки є більш лінійним та менш полімеризованим [60]. З використанням РНК-інтерференції супресія *n*-кумароїл-СоА 3'-гідроксилази (СЗ'Н) у трансгенів *P. grandidentata* × *P. alba* знижувала загальний вміст лігніну в деревині з 24 % (нетрансформовані рослини) до 10,5 %. При цьому також спостерігалися й зміни в структурі лігніну [61].

Перенесення в геном *Populus* антисенсової послідовності до гена САД призводило до появи червоного забарвлення в лігнінвмісних тканинах, що дозволяє припустити можливість отримання природнозабарвленої деревини не характерного для тополь кольору. У трансформантів лігнін був модифікований: вміст сірінгальдегідних та діарилпропанових структур в ньому був вищим, ніж у контролі, що полегшує його обробку при приготуванні пульпи для виробництва паперу [62, 63].

Супресія активності гена пероксидази у гібридної тополі знижувала вміст лігніну у трансгенних рослин на 20–60 %, при цьому в тканинах виявляли підвищений вміст неконденсованих мономерів лігніну [23].

ФітореMediaція. Тополі фактично є ідеальною рослиною для фітореMediaції, оскільки вони здатні рости в широкому діапазоні природних умов, мають глибші корені і більшу тривалість життя порівняно з трав'янистими рослинами. Показано, що тополі можуть мінералізувати ряд галогенізованих вуглеводнів [64]. З використанням трансгенних технологій можливості застосуван-

ня тополь для фітореMediaції значно зростають. Важливими підходами при цьому є введення генів цитохромів та активація біосинтезу глутатіону, що сприяє біодеградації ксенобіотиків [65].

Дослідники з Університету Purdue (США) співпрацюють з автомобільною компанією «Chrysler LLC» в проекті по використанню тополь для очистки забрудненої зони в північно-центральної Індіані. На цій території раніше знаходилися склади паливно-мастильних матеріалів, і сьогодні вона залишається забрудненою трихлоретиленом (ТХЕ) – промисловим розчинником, небезпечним забрудником довкілля, токсикантом і канцерогеном, що часто може потрапляти у воду й повітря в значних кількостях.

Для фітореMediaції в трансгенні тополі (*P. tremula* × *P. alba*) було перенесено ген *CYP2E1*, продуктом якого є ензим Р4502Е1 – ключовий фермент в метаболізмі ряду галогенізованих сполук. Цитохром Р4502Е1 здатний розкладати ТХЕ та ряд інших забрудників довкілля: хлороформ, бензен, вінілхлорид, тетрахлорид вуглецю. Зокрема, в умовах лабораторії трансгенні тополі протягом тижня абсорбували значні кількості цих поллютантів аж до 99 % хлороформу проти 20 % в контролі з водного розчину та 79 % ТХЕ проти 0 % в контролі – з повітря [3]. З метою захисту довкілля від можливих негативних наслідків використання трансгенних рослин дана плантація тополь буде вилучена через три роки після посадки, коли рослини ще не будуть статевозрілими.

Введення в геном гібридних тополь (*P. tremula* × *P. tremuloides*) гена хлорокатехолдиоксигенази *cbnA*, отриманого з ґрунтової бактерії *Ralstonia eutropha* NH9, показало можливість розщеплення тополями 3-хлоркатехолу – ароматичної сполуки, забрудника довкілля та потенційного канцерогена [66].

Для фітореMediaції ртутних забруднень можуть використовуватися тополі, що експресують модифіковані гени *merA* та *merB* *Staphylococcus aureus*. Ці гени виявлено в ряду бактерій, продукт *merA* – ртуть-редуктаза, відповідає за ензиматичну редукцію Hg²⁺ до Hg⁰, що потім випаровується з клітини, *merB* – ртутьорганічна ліаза, руйнує С-Hg зв'язок у ртутьвмісних органічних сполуках

[67]. Трансгенні тополі показали підвищену стійкість як до іонної, так і органічної ртуті [68].

Глутатіон є важливою антиоксидантною сполукою в клітині, що захищає її від вільних радикалів. Зростання вмісту глутатіону у трансгенних тополь внаслідок активації синтезу γ -глутамілцистеїн синтетази (gshI) значно збільшує можливості детоксифікації важких металів та пестицидів цими рослинами [69].

Стійкість до гербіцидів. Застосування гербіцидів в насадженнях тополь особливо важливе протягом перших років вирощування для полегшення боротьби з бур'янами. Одним з широко застосовуваних гербіцидів є гліфосат. Перші трансгенні тополі з низькою чутливістю до гліфосату одержали, використовуючи мутантний бактеріальний ген *aroA* [8].

Трансгенні тополі, стійкі до гербіциду фосфінотрицину, одержано внаслідок трансформації геном *BAR* [70, 71]. Продукт цього гена фосфінотрицинацетилтрансфераза (PAT) інактивує фосфінотрицин внаслідок його ацетилювання. Ген *BAR* часто використовується як селективний для відбору трансформантів тополі.

Зміна ростових характеристик. Рослинні гормони є основними регуляторами росту та розвитку, внаслідок чого мають вирішальну роль у формуванні статури, форми та фізіології рослин [72]. Тому зміна морфології та швидкості росту рослин найчастіше досягається зміною метаболізму гормонів.

Трансгенні рослини гібридної тополі (*P. tremula* × *P. alba*) з гіперактивною експресією гена гіберелін-2-оксидази, що є важливим ферментом катаболізму гібереліну в рослин, показали кількісні зміни в спектрі гіберелінів. Для цих рослин було виявлено значне зниження ростової активності та зміни морфології. При нанесенні гіберелової кислоти на апекс пагона мутантний фенотип змінювався на нормальний [73]. Крім того, у рослин з модифікованим вмістом гіберелінів спостерігаються й зміни розміру, форми та кольору листків [74].

Застосування трансгенних технологій для створення напівкарликових та видозмінених деревних рослин є важливим для лісівництва і садівництва. Водночас посилення ростових

характеристик і вкорочення часу ротації є надзвичайно важливим завданням при створенні високопродуктивних промислових насаджень тополь. Надекспресія одного з ключових регуляторних генів біосинтезу гіберелінів (гіберелін-20-оксидази) в гібридної тополі (*P. tremula* × *P. tremuloides*) посилює ріст та швидкість накопичення біомаси, а також викликає видовження ксилемних волокон, що є бажаною характеристикою для паперової промисловості. Водночас при вкоріненні таких трансгенних рослин із підвищеним вмістом гіберелінів спостерігалось послаблення коренеутворення, яке, однак, на пізніших стадіях не проявлялося [75].

Зростання вмісту іншого фітогормону, зеатину, в трансгенних тополь (*P. alba* × *P. tremula* var. *glandulosa*), що були трансформовані бактеріальним геном секретії трансзеатину *tzs*, призводило до формування більшої кількості пазушних пагонів, зменшення розмірів листків та дещо сповільненого росту в висоту, хоча загальна кількість рослинної біомаси була вищою у трансгенних рослин [76].

Трансформація осики *rol*-генами Ri-плазміди *Agrobacterium rhizogenes* викликала у трансформантів втрату апікального домінування, посилення росту та видовження пагонів [77]. Функції цих генів ще недостатньо вивчені, однак вважають, що вони мають відношення до метаболізму гормонів або чутливості рослин до гормонів.

Таким чином, як свідчить проведений аналіз літератури, тополі є надзвичайно перспективними деревними видами для промисловості. Створення нових трансгенних клонів дозволить ефективно вирощувати їх для потреб народного господарства в умовах, не придатних для вирощування звичайних, нетрансгенних рослин. Такими територіями є зони з несприятливими температурними умовами, засолені ґрунти, території, що потерпають від посух, антропогенно забруднені чи змінені ділянки, виведені з-під сільськогосподарського використання.

В багатьох країнах світу (США, Канада, країни ЄС, Китай, Ізраїль та ін.) проводяться роботи з генетичної модифікації тополь, розроблення підходів їх продуктивного вирощування в швидкопоновлюваних плантаціях

та ефективного використання сировини для виробництва палива, біоетанолу, лісоматеріалів тощо. Зокрема, в Китаї вже розпочато створення промислових плантацій трансгенних тополь, стійких до засолення та поїдання комахами. В США кілька проектів з трансгенними тополями перебувають на стадії польових випробувань. На жаль, в Україні плантаційному вирощуванню тополь ще не приділяється активної уваги, хоча потенціал розвитку даної галузі значний, зважаючи на природні умови, що є дуже сприятливими для вирощування тополь, та наявність створених українськими селекціонерами (Н.В. Старовою, І.М. Патлай, В.Н. Руденко) високопродуктивних клонів тополь. Система плантаційного лісовирощування продуктивних клонів із застосуванням раціонального комплексу агротехнічних, лісівничих та лісозахисних заходів добре опрацьована українськими вченими-лісівниками [78], і здатна забезпечити значне скорочення термінів отримання технічно стиглої деревини певних запланованих параметрів.

Даний огляд написано частково при виконанні проекту «Отримання стрес-стійких форм *Populus* для підвищення ефективності виробництва біомаси для біопалива в Україні» в рамках програми «Біомаса як паливна сировина» та НДР «Культура швидкорослих гібридів тополь як джерело біопалива в Україні».

N.K. Kutsokon

MAIN TRENDS IN GENETIC TRANSFORMATION OF *POPULUS*

In this review the main advantages may be obtained with the poplar plantation production, their significance for industry and for solving the ecological problems are described. The main directions are analyzed for improving *Populus* phenotypes by the gene transferring related to tolerance to biotic and abiotic stress, herbicides, modification of wood quality (decreasing or modification the level of lignin), phytoremediation, fast-growth and morphological changes.

Н.К. Куцоконь

ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *POPULUS*

В представленном обзоре указаны основные преимущества, которые можно получить при плантации-

онном выращивании тополей, описано их значение для промышленности и при решении экологических проблем. Проанализированы направления улучшения фенотипов *Populus* методами генетической инженерии, связанные с устойчивостью к биотическим и абиотическим факторам, гербицидам, модификацией качества древесины (снижением или модификацией содержания лигнина), фиторе-медиацией, усиленным ростом, изменением морфологии растений.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Confalonieri M., Balestrazzi A., Bisoffi S., Carbonera D. *In vitro* culture and genetic engineering of *Populus* spp.: forest tree improvement // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 2003. – 72. – P. 109–138.
2. Vietto L., Chiarabaglio P.M., Rossino R., Cristalli L. Meeting river restoration and conservation of native poplars on the Po river : the «Isola Colonia» case study // Fifth Intern. Poplar Symposium : Poplars and willows: from research models to multipurpose trees for a biobased society (Orvieto, Italy, 20–25 September, 2010). – P. 23.
3. Doty S.L., James C.A., Moore A.L., Vajzovic A., Singleton G.L., Ma C., Khan Z., Xin G., Kang J.W., Park J.Y., Meilan R., Strauss S.H., Wilkerson J., Farin F., Strand S.E. Enhanced phytoremediation of volatile environmental pollutants with transgenic trees // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 2007. – 104, № 43. – P. 16816–16821.
4. Massacci A., Paris P., Aromolo R., Ecosse A., Bianconi D., Scarascia-Mugnozza G. Linking wood bioenergy production in poplar and willow plantations with soil and wastewater phytoremediation in Italy // Fifth Intern. Poplar Symposium : Poplars and willows: from research models to multipurpose trees for a biobased society (Orvieto, Italy, 20–25 September, 2010). – P. 143.
5. Weih M., Baum S., Bolte A. Flora-diversity in Swedish willow and poplar stands : Woody energy crops can improve biodiversity in agricultural landscape // Ibid. – P. 148.
6. DeWoody J., Trewin H., Viger M., Taylor G. Growing large leaves from a small-leaf gene pool: evolutionary trajectories in *Populus nigra* L. (black poplar) in context of a changing climate // Ibid. – P. 19.
7. Villar M., Chamaillard S., Barbaroux C., Bastien C., Brignolas F., Faivre Rampant P., Fichot R., Forestier O., Jorge V., Rodrigues S. *Populus nigra* as keystone species able to cope with the ongoing climate change // Ibid. – P. 17.
8. Fillatti J.J., Sellmer J., McCown B.H., Haissig B.E., Comai L. *Agrobacterium* mediated transformation and regeneration of *Populus* // Mol. Gen. Genet. – 1987. – 206, № 2. – P. 192–199.

9. Tzfira T., Jensen C. S., Wang W., Zuker A., Vinocur B., Altman A., Vainstein A. Transgenic *Populus tremula*: a step-by-step protocol for its *Agrobacterium*-mediated transformation // Plant Mol. Biol. Rep. – 1997. – **15**. – P. 219–235.
10. Han K.H., Meilan R., Ma C., Strauss S.H. An *Agrobacterium tumefaciens* transformation protocol effective on a variety of cottonwood hybrids (genus *Populus*) // Plant Cell Rep. – 2000. – **19**. – P. 315–320.
11. Meilan R., Ma C. Poplar (*Populus* spp.) // Meth. Mol. Biol. – 2006. – **344**. – P. 143–151.
12. Куцоконь Н.К., Левенко Б.А., Левчик Н.Я., Любинская А.В., Рахметов Д.Б., Рудас В.А., Гнатюк И.В., Рашидов Н.М., Гродзинский Д.М. Методы прямой регенерации и микроклонального размножения представителей рода *Populus* // Conservarea diversitatii plantelor : Simp. stiific international Chisinau, Moldova, 7–9 Oct., 2010. – P. 124–127.
13. Taylor G. *Populus*: Arabidopsis for forestry. Do we need a model tree? // Ann. Bot. – 2002. – **90**. – P. 681–689.
14. Tuskan G.A., DiFazio S. et al. The genome of black cottonwood, *Populus trichocarpa* (Torr. & Gray) // Science. – 2006. – **313**. – P. 1596–1604.
15. Giri C.C., Shyamkumar B., Anjaneyulu C. Progress in tissue culture, genetic transformation and applications of biotechnology to trees: an overview // Trees. – 2004. – **18**. – P. 115–135.
15. Herschbach C., Kopriva S. Transgenic trees as tools in tree and plant physiology // Trees. – 2002. – **16**. – P. 250–261.
17. Rishi A.S., Nelson N.D., Goyal A. Genetic modification for improvement of *Populus* // Physiol. Mol. Biol. Plants. – 2001. – **7**. – P. 7–21.
18. Lin S.Z., Zhang Z.Y., Zhang Q., Lin Y.Z. Progress in the study of molecular genetic improvements of Poplar in China // J. Integrative Plant Biol. – 2006. – **48**, № 9. – P. 1001–1007.
19. Fladung M. Gene stability in transgenic aspen (*Populus*). 1. Flanking DNA sequences and T-DNA structure // Mol. Gen. Genet. – 1999. – **260**, № 6. – P. 574–781.
20. Kumar S., Fladung M. Gene stability in transgenic aspen (*Populus*). 2. Molecular characterization of variable expression of transgene in wild and hybrid aspen // Planta. – 2001. – **213**, № 5. – P. 731–740.
21. Li J., Brunner A.M., Meilan R., Strauss S.H. Stability of transgenes in trees: expression of two reporter genes in poplar over three field seasons // Tree Physiol. – 2009. – **29**. – P. 299–312.
22. Hawkins S., Leple J., Cornu D., Jouanin L., Pilate G. Stability of transgene expression in poplar: A model forest tree species // Ann. Forest Sci. – 2003. – **5**. – P. 427–438.
23. Morohoshi N., Kajita S. Formation of a tree having a low lignin content // J. Plant Res. – 2001. – **114**. – P. 517–523.
24. Spokevicius, A.V., Van Beveren, K.S., Bossinger G. *Agrobacterium*-mediated transformation of dormant lateral buds in poplar trees reveals developmental patterns in secondary stem tissues // Funct. Plant Biol. – 2006. – **33**. – P. 133–139.
25. Kutsokon N.K. The main pathways for obtaining abiotic stress-tolerant transgenic poplars // FEBS J. Abstracts of 35 FEBS Congress (Gothenburg, Sweden, 26 June–1 July 2010). – P. 195.
26. Сперанская А.С. Ингибиторы протеиназ типа Кунитца из картофеля: молекулярное клонирование и экспрессия генов : Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – М., 2008. – 24 с.
27. Delledonne M., Allegro G., Belenghi B., Balestrazzi A., Picco F., Levine A., Zelasco S., Calligari P., Confalonieri M. Transformation of white poplar (*Populus alba* L.) with a novel *Arabidopsis thaliana* cysteine proteinase inhibitor and analysis of insect pest resistance // Mol. Breed. – 2001. – **7**. – P. 35–42.
28. Leple J.C., Bonade Bottino M., Augustin S., Pilate G., Dumanois L.T.V., Delplanque A., Cornu D., Jouanin L. Toxicity to *Chrysomela tremulae* (Coleoptera: Chrysomelidae) of transgenic poplars expressing a cysteine proteinase inhibitor // Mol. Breed. – 1995. – **1**, № 4. – P. 319–328.
29. Genissel A., Leple J.C., Millet N., Augustin S., Gilles Pilate L.J. High tolerance against *Chrysomela tremulae* of transgenic poplar plants expressing a synthetic *cry3Aa* gene from *Bacillus thuringiensis* ssp *tenebrionis* // Mol. Breed. – 2003. – **11**. – P. 103–110.
30. Confalonieri M., Allegro G., Balestrazzi A., Fogher C., Delledonne M. Regeneration of *Populus nigra* transgenic plants expressing a Kunitz proteinase inhibitor (*KTi3*) gene // Mol. Breed. – 1998. – **4**. – P. 137–145.
31. Sairam R.K., Tyagi A. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants // Curr. Sci. – 2004. – **86**, № 3. – P. 407–421.
32. Jouve L., Hoffmann L., Hausman J.F. Polyamine, carbohydrate and proline content changes during salt stress exposure of aspen (*Populus tremula* L.) involvement of oxidation and osmoregulation metabolism // Plant Biol. – 2004. – **6**. – P. 74–80.
33. Колодяжная Я.С., Куцоконь Н.К., Левенко Б.А., Сютникова О.С., Рахметов Д.Б., Кочетов А.В. Трансгенные растения, толерантные к абиотическим стрессам // Цитология и генетика. – 2009. – **43**, № 2. – С. 72–93.
34. Nuccio M.L., Rhodes D., McNeil S.D., Hanson A.D. Metabolic engineering of plants for osmotic stress resistance // Curr. Opin. Plant Biol. – 1999. – **2**. – P. 128–134.
35. Parvanova D., Popova A., Zaharieva I., Lambrev P.,

- Konstantinova T., Taneva S., Atanassov A., Goltsev V., Djilianov D. Low temperature tolerance of tobacco plants transformed to accumulate proline, fructans, or glycine betaine. Variable chlorophyll fluorescence evidence // *Photosynthetica*. – 2004. – **42**, № 2. – P. 179–185.
36. Hu L., Lu H., Liu Q., Chen X., Jiang X. Overexpression of *mtlD* gene in transgenic *Populus tomentosa* improves salt tolerance through accumulation of mannitol // *Tree Physiol.* – 2005. – **25**. – P. 1273–1281.
 37. Wang W., Vinocur B., Altman A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance // *Planta*. – 2003. – **218**. – P. 1–14.
 38. Kavi Kishor P. B., Hong Z., Miao C.-H., Hu C. A., Verma D.P. Overexpression of Δ -pyrroline-5-carboxylate synthetase increases proline production and confers osmotolerance in transgenic plants // *Plant Physiol.* – 1995. – **108**. – P. 1387–1394.
 39. Kavi Kishor P.B., Sangam S., Amrutha N.R., Sri Laxmi P., Naidu K.R., Rao K.R.S.S., Sreenath Rao, Reddy K.J., Theriappan P., Sreenivasulu N. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants : Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance // *Curr. Sci.* – 2005. – **88**, № 3. – P. 424–438.
 40. Колодяжняя Я.С., Титов С.Е., Кочетов А.В., Комарова М.Л., Романова А.В., Коваль В.С., Шумный В.К. Оценка солеустойчивости растений табака *Nicotiana tabacum*, несущих антисмысловой супрессор гена пролиндегидрогеназы // *Генетика*. – 2006. – **42**, № 2. – С. 278–281.
 41. Hur J., Jung K. Lee C.-H., Ana G. Stress-inducible OsP5CS2 gene is essential for salt and cold tolerance in rice // *Plant Sci.* – 2004. – **167**. – P. 417–426.
 42. Islam M.M., Hoque M.A., Okuma E., Banu M.N., Shimoishi Y., Nakamura Y., Murata Y. Exogenous proline and glycinebetaine increase antioxidant enzyme activities and confer tolerance to cadmium stress in cultured tobacco cells // *J. Plant Physiol.* – 2009. – **166**. – P. 1587–1597.
 43. Левенко Б.А. Трансгенные растения. – Киев, 2000. – 305 с.
 44. Kawaoka A., Matsunaga E., Endo S., Kondo S., Yoshida K., Shinmyo A., Ebinuma H. Ectopic expression of a horseradish peroxidase enhances growth rate and increases oxidative stress resistance in hybrid aspen // *Plant Physiol.* – 2003. – **132**. – P. 1177–1185.
 45. Sharkey T.D., Singaas E.L. Why plants emit isoprene // *Nature*. – 1995. – **374**. – P. 769.
 46. Behnke K., Ehling B., Teuber M., Bauerfeind M., Louis S., Hansch R., Polle A., Bohlmann J., Schnitzler J. Transgenic, non-isoprene emitting poplars don't like it hot // *Plant J.* – 2007. – **51**. – P. 485–499.
 47. Mohapatra S., Minocha R., Minocha S.C. Putrescine overproduction changes the oxidative state of poplar cells in culture and aids in aluminum tolerance // 71 Annual Meeting of the Northeast Section of the American Society of Plant Biologists «Fueling the Future through Plant Biology» SUNY College of Environmental Science and Forestry Syracuse, New Yourk, June 1–2, 2007.
 48. Balestrazzi A., Botti S., Zelasco S., Biondi S., Franchin C., Calligari P., Racchi M., Turchi A., Lingua G., Berta G., Carbonera D. Expression of the *PsMT_{AT}* gene in white poplar engineered with the MAT system is associated with heavy metal tolerance and protection against 8-hydroxy-20-deoxyguanosine mediated-DNA damage // *Plant. Cell Rep.* – 2009. – **28**. – P. 1179–1192.
 49. Wang Y.C., Qu G.Z., Li H.Y., Wu Y.J., Wang C., Liu G.F., Yang C.P. Enhanced salt tolerance of transgenic poplar plants expressing a manganese superoxide dismutase from *Tamarix androssowii* // *Mol. Biol. Rep.* – 2010. – **37**, № 2. – P. 1119 – 1124.
 50. Zhang T.T., Song Y.Z., Liu Y.D., Guo X.Q., Zhu C.X., Wen F.J. Overexpression of phospholipase D α gene enhances drought and salt tolerance of *Populus tomentosa* // *J. Chinese Sci. Bull.* – 2008. – **53**, № 23. – P. 3656–3665.
 51. Zhou Z., Wang M.-J., Hu J.-J., Lu M.-Z., Wang J.H. Improve freezing tolerance in transgenic poplar by overexpressing a ω -3 fatty acid desaturase gene // *Mol. Breed.* – 2010. – **25**, № 4. – P. 571– 579.
 52. Welling A., Moritz T., Palva E. T., Junttila O. Independent activation of cold acclimation by low temperature and short photoperiod in hybrid aspen // *Plant Physiol.* – 2002. – **129**. – P. 1633–1641.
 53. Olsen J.E., Junttila O., Nilsen J., Eriksson M.E., Martinussen I., Olsson O., Sandberg G., Moritz T. Ectopic expression of oat phytochrome A in hybrid aspen changes critical daylength for growth and prevents cold acclimatization // *Plant J.* – 1997. – **12**. – P. 1339–1350.
 54. Li Y., Su X., Zhang B., Huang Q., Zhang X., Huang R. Expression of jasmonic ethylene responsive factor gene in transgenic poplar tree leads to increased salt tolerance // *Tree Physiol.* – 2009. – **29**, № 2. – P. 273– 279.
 55. <http://www.purdue.edu/uns/html4ever/2006/060823.Chapple.poplar.html>
 56. Barakat A., Bagniewska-Zadworna A., Choi A., Plakkat U., Diloreto D.S., Yellanki P., Carlson J.E. The cinnamyl alcohol dehydrogenase gene family in *Populus*: phylogeny, organization, and expression // *BMC Plant Biol.* – 2009. – **9**, № 26. – P. 1–15.
 57. Овруцька І.І. Уявлення про лігніфікацію клітинних стінок // *Укр. бот. журн.* – 2007. – **64**, № 5. – С. 720–729.

58. Рукавицова Е.Б., Алексеева В.В., Бурьянов Я.И. Применение РНК-интерференции в метаболической инженерии растений // Биоорганическая химия. — 2010. — **36**, № 2. — С. 157–167.
59. Hu W.J., Harding S.A., Lung J., Popko J.L., Ralph J., Stokke D.D., Tsai C.J., Chiang V.L. Repression of lignin biosynthesis promotes cellulose accumulation and growth in transgenic trees // Nat. Biotechnol. — 1999. — **17**, № 8. — P. 808–812.
60. Stewart J.J., Akiyama T., Chapple C., Ralph J., Mansfield S.D. The effects on lignin structure of overexpression of ferulate 5-hydroxylase in hybrid poplar // Plant. Physiol. — 2009. — **150**, № 2. — P. 621–635.
61. Coleman H.D., Park J.-Y., Nair R., Chapple C., Mansfield S.D. RNAi-mediated suppression of *p*-coumaroyl-CoA 3'-hydroxylase in hybrid poplar impacts lignin deposition and soluble secondary metabolism // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 2008. — **105**, № 11. — P. 4501–4506.
62. Lapiere C., Pollet B., Petit-Conil M., Toval G., Romero J., Pilate G., Leple J.-C., Boerjan W., Ferret V., De Nadai V., Jouanin L. Structural alterations of lignins in transgenic poplars with depressed cinnamyl alcohol dehydrogenase or caffeic acid O-methyltransferase activity have an opposite impact on the efficiency of industrial kraft pulping // Plant Physiol. — 1999. — **119**. — P. 153–163.
63. Lapiere C., Pilate G., Pollet B., Mila I., Jouanin J.-L., Kimd H., Ralph J. Signatures of cinnamyl alcohol dehydrogenase deficiency in poplar lignins // Phytochemistry. — 2004. — **65**. — P. 313–321.
64. Gordon M.P., Choe N., Duffy J., Ekuon G., Heilman P., Muiznieks I., Ruszaj M., Shurtleff B.B., Strand S., Wilmoth J., Newman L.A. Phytoremediation of trichloroethylene with hybrid poplars // Environ. Health Perspect. — 1998. — **106**. — P. 1001–1012.
65. Abhilash P.C., Jamil S., Singh N. Transgenic plants for enhanced biodegradation and phytoremediation of organic xenobiotics // Biotechnol. Adv. — 2009. — **27**. — P. 474–488.
66. Ohmiya Y., Ono T., Taniguchi T., Itahana N., Ogawa N., Miyashita K., Ohmiya K., Sakka K., Kimura T. Stable expression of the chlorocatechol dioxygenase gene from *Ralstonia eutropha* NH9 in hybrid poplar cells // Biosci. Biotechnol. Biochem. — 2009. — **73**, № 6. — P. 1425–1428.
67. Zscheck K.K., Murray B.E. Evidence for a Staphylococcal-like mercury resistance gene in *Enterococcus faecalis* // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. — 1990. — **34**, № 6. — P. 1287–1289.
68. Choi Y.I., Noh E.W., Lee H.S., Han M.S., Lee J.S., Choi K.S. Mercury-tolerant transgenic poplars expressing two bacterial mercury-metabolizing genes // J. Plant Biol. — 2007. — **50**, № 6. — P. 658–662.
69. Peuke A.D., Rennenberg H. Phytoremediation with transgenic trees // Z. Naturforsch. — 2005. — **60**, № 199. — P. 207.
70. De Block M. Factors influencing the tissue culture and the *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of hybrid aspen and poplar clones // Plant Physiol. — 1990. — **93**. — P. 1110–1116.
71. Confalonieri M., Belenghi B., Balestrazzi A., Negri S., Facciotto G., Schenone G., Delledonne M. Transformation of elite white poplar (*Populus alba* L.) cv 'Villafranca' and evaluation of herbicide resistance // Plant Cell Rep. — 2000. — **19**. — P. 978–982.
72. Busov V.B., Brunner A.M., Strauss S.H. Genes for control of plant stature and form // New Phytologist. — 2008. — **177**. — P. 589–607.
73. Busov V.B., Meilan R., Pearce D.W., Ma C., Rood S.B., Strauss S.H. Activation tagging of a dominant gibberellin catabolism gene (GA 2-oxidase) from poplar that regulates tree stature // Plant Physiol. — 2003. — **132**. — P. 1283–1291.
74. Etherington E., Gandhi H., Busov V., Meilan R., Ma C., Kosola K., Strauss S.H. Dwarfism genes for modifying the stature of woody plants: a case study in poplar // Landscape Plant News. — 2007. — **18**. — P. 3–6.
75. Eriksson M.E., Israelsson M., Olsson O., Moritz T. Increased gibberellin biosynthesis in transgenic trees promotes growth, biomass production and xylem fiber length // Nat. Biotechnol. — 2000. — **18**, № 7. — P. 784–788.
76. Choi Y.I., Noh E.W., Choi K.S. Low level expression of prokaryotic *tzs* gene enhances growth performance of transgenic poplars // Trees. — 2009. — **23**. — P. 741–750.
77. Tzjira T., Vainstein A., Altman A. rol-Gene expression in transgenic aspen (*Populus tremula*) plants results in accelerated growth and improved stem production index // Trees. — 1999. — **14**. — P. 49–54.
78. Фучило Я.Д. Платаційне лісовирощування в Україні: перспективи розвитку // Наук. вісн. Нац. лісотехн. ун-ту України : Зб. наук.-техн. пр. — 2008. — Вип. 6. — С. 97–99.

Надійшла 20.03.10