



РОСТ КОРНЕЙ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ТАБАКА С КОНСТИТУТИВНОЙ ЭКСПРЕССИЕЙ ГЕНА ЭКСПАНСИНА *PnEXPA3* ПРИ ДЕЙСТВИИ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ

Бережнева З.А., Кулуев Б.Р.

Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Россия, 450054, Уфа, пр. Октября, 71, e-mail: berezhneva-z@yandex.ru

Резюме

Гены α -экспансинов растений представляют большой интерес для генной инженерии, так как могут быть использованы для улучшения ростовых параметров корней сельскохозяйственных растений. Ранее нами были получены трансгенные растения табака *Nicotiana tabacum*, экспрессирующие ген экспансина *PnEXPA3* из тополя черного *Populus nigra*. В данной работе был изучен рост корней трансгенных растений в нормальных условиях и при действии стрессовых факторов, таких как гипотермия, засоление и тяжелые металлы. Конститутивная экспрессия гена *PnEXPA3* способствовала улучшению роста корней трансгенных растений табака по сравнению с диким типом при нормальных условиях и при действии гипотермии (+10°C), при засолении (50 и 100 мМ NaCl) и при действии тяжелых металлов (200 и 400 мкМ ацетата кадмия). Совокупность полученных данных позволяет предполагать, что конститутивная экспрессия гена *PnEXPA3* может быть использована для улучшения роста корней культурных растений, не только при нормальных условиях, но и при действии стрессовых факторов.

Ключевые слова: конститутивная экспрессия, трансгенные растения, *Nicotiana tabacum*, рост корней, тяжелые металлы, солевой стресс, гипотермия

Цитирование: Бережнева З.А., Кулуев Б.Р. Рост корней трансгенных растений табака с конститутивной экспрессией гена экспансина *PnEXPA3* при действии стрессовых факторов // Биомика. 2020. Т.12(4). С. 545-551. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-48

© Авторы

ROOT GROWTH OF TRANSGENIC TOBACCO PLANTS WITH CONSTITUTIVE EXPRESSION OF THE EXPANSIN GENE *PnEXPA3* UNDER THE ACTION OF STRESS FACTORS

Berezhneva Z.A., Kuluev B.R.

Institute of Biochemistry and Genetics – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, 71 Prospect Oktyabrya, Ufa, 450054, Russia, E-mail: berezhneva-z@yandex.ru

Resume

Plant α -expansin genes are of great interest for genetic engineering, since they can be used to improve the growth of the roots of agricultural plants. Previously, we obtained transgenic tobacco plants *Nicotiana tabacum* overexpressing the *PnEXPA3* expansin gene from black poplar *Populus nigra*. In this work, the growth of roots of transgenic plants was studied under normal conditions and under the influence of stress factors such as hypothermia, salinity and heavy metals. Constitutive expression of the *PnEXPA3* gene

improved the growth of roots of transgenic tobacco plants as compared to the wild type under normal conditions and under hypothermia (+10°C), salinity (50 and 100 mM NaCl) and the action of heavy metals (200 and 400 µM acetate cadmium). The totality of the obtained data suggests that the constitutive expression of the *PnEXPA3* gene can be used to improve the growth of roots of cultivated plants both under normal conditions and the action of stress factors.

Keywords: constitutive expression, transgenic plants, *Nicotiana tabacum*, root growth, heavy metals, salt stress, hypothermia

Citation: Berezhneva Z.A., Kuluev B.R. Root growth of transgenic tobacco plants with constitutive expression of the expansin gene *PnEXPA3* under the action of stress factors. *Biomcs.* 2020. V. 12(4). P. 545-551. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-48 (In Russian)

© The Authors

Введение

Экспансины – рН-зависимые неферментативные белки, которые участвуют в разрыве водородных связей между ксилоглоканами клеточной стенки и целлюлозными микрофибриллами клеточной стенки, тем самым способствуя росту клеток растяжением [McQueen-Mason et al., 1992; Кулуев, Сафиуллина (Kuluev, Safiullina), 2015]. В растениях синтезируется 4 основных класса данных белков: α- и β-экспансины, экспансин-подобные белки А и В [Sampedro, Cosgrove, 2005]. В онтогенезе растений экспансины играют существенную роль при росте корня, регуляции размера устьичной щели, прорастании семян, а также в процессах деструкции [Kuluev et al., 2016; Marowa et al., 2016].

α-экспансины или ЕХРА впервые были выделены в 1992 г. из клеточных стенок гипокотилей огурца [McQueen-Mason et al., 1992]. В настоящее время изучено большое количество ЕХРА (α-экспансины) и ЕХРВ (β-экспансины) у десятков видов цветковых растений, у папоротников, мхов и голосеменных [Sampedro, Cosgrove, 2005].

Существует довольно много работ, направленных на понимание процессов, обуславливающих начало и окончание роста клеток растяжением, которые проведены на корнях, в связи с тем, что у них четко выражена зональность роста. Также имеются доказательства участия экспансинов в регуляции роста клеток корня [Sharova, 2007; Кулуев и др. (Kuluev et al.), 2018]. В условиях водного дефицита и засоления наблюдается ускорение роста корней и торможение роста побегов, что имеет адаптивное значение. Ускорение роста корней происходит, в том числе, благодаря увеличению растяжимости клеточных стенок из-за высокой активности экспансинов и высокой чувствительности клеточных стенок к экспансинам [Wu et al., 1996].

Из литературных источников известно, что экспрессия экспансинов связана с развитием запрограммированного ответа на абиотические

стрессовые факторы, при этом в условиях стресса наблюдается повышение содержания мРНК экспансинов [Han et al., 2012; Lu et al., 2013]. Также показано, что защитная роль экспансинов у растений проявляется при действии таких стрессовых факторов, как засуха, засоление и тяжелые металлы [Zhao et al., 2011; Zorb et al., 2015].

Ген экспансина *PnEXPA3* кодирует один из α-экспансинов тополя черного [Кулуев и др. (Kuluev et al.), 2013; 2017], ортологи которого известны в геномах осины *Populus tremula* и тополя бальзамического *Populus balsamifera* [Gray-Mitsumune et al., 2008]. Было показано, что конститутивная экспрессия гена экспансина *PnEXPA3* в трансгенной осине способствует увеличению размеров клеток листьев, что связано со стимуляцией роста клеток растяжением за счет увеличения содержания экспансинов в клеточных стенках. Выявленное уменьшение длины междоузлий в трансгенных растениях осины говорит об участии экспансина *PnEXPA3* в инициации зачатков листьев, что связано с локальным размягчением клеточных стенок [Кулуев и др. (Kuluev et al.), 2017]. Трансгенные по гену экспансина *PnEXPA3* растения табака в отличие от дикого типа характеризовались увеличенными размерами клеток эпидермиса листьев [Кулуев и др. (Kuluev et al.), 2013]. В целом было показано, что ген *PnEXPA3* кодируют листоспецифичный, цитокинин- и ауксин-индуцибельный экспансин тополя, вовлеченный в обеспечение роста клеток растяжением в листьях [Кулуев и др. (Kuluev et al.), 2017]. Эктопическая экспрессия гена *PnEXPA3* в гетерологических условиях в первую очередь стимулировала рост стебля в длину, а на рост листьев оказывала меньшее влияние [Кулуев и др. (Kuluev et al.), 2013].

Однако как конститутивная экспрессия гена экспансина *PnEXPA3* повлияет на рост корней трансгенных растений при нормальных условиях и при действии стрессовых факторов оставалось

неизвестным. Поэтому целью данного исследования являлось изучение роста корней трансгенных растений табака с конститутивной экспрессией гена экспансина *PnEXPA3* при нормальных условиях и при действии таких стрессовых факторов, как гипотермия, засоление и тяжелые металлы.

Материалы и методы

Количественная ОТ-ПЦР в режиме реального времени

Тотальную РНК из листьев исследуемых растений табака выделяли с помощью тризола, при этом, первую цепь кДНК строили при помощи олиго(dT) праймера и MMuLV-ревертазы (NEB, США). Количественное определение содержания мРНК (после конверсии в кДНК) гена экспансина *PnEXPA3* проводили методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени в присутствии интеркалирующего красителя SYBR Green I на термоциклере Rotor-GeneTM 6000 (Corbett Research, Австралия). В качестве референсного гена был использован ген *EF-1a N. tabacum* (AF120093.1), для амплификации которого использовали праймеры: GAATTGGTACTGTCCCTGTT и TTGCCAATCTGTCCTGAAT. Реакцию амплификации проводили в 0.2-мл пробирках (AXYGEN, Inc., США) в объеме 25 мкл, используя реакционную смесь для ПЦР-РВ кат. ном. М-427 (Синтол, Россия). Для количественного анализа содержания мРНК гена *PnEXPA3* использовали праймеры 5'-GCCCAATATAGAGCAGGAA и 5'-TAGAAGGAGCAACATTGTAGGAGAC.

Условия выращивания трансгенных растений

Трансгенные растения табака с конститутивной экспрессией гена *PnEXPA3* были получены ранее методом агробактериальной трансформации листовых дисков, высеченных из листьев трехмесячных растений [Кулуев и др. (Kuluev et al.), 2013]. Отбор трансгенных растений проводился по результатам ПЦР анализа на наличие целевого гена *PnEXPA3*. Морфологический анализ проводился на трансгенных растениях второго поколения, выращенных на селективной среде с гигромицином. Это делалось для элиминации нетрансгенных вариантов. Для последующего анализа были отобраны линии трансгенных растений, характеризующиеся высоким уровнем содержания мРНК трансгена *PnEXPA3*. Было отобрано 10 линий трансгенных растений табака с конститутивной экспрессией гена *PnEXPA3*.

Оценка ростовых параметров корней трансгенных растений табака при воздействии тяжелых металлов, засоления и гипотермии

Трансгенные растения проращивали в климатостатах Binder (Германия) при температуре +25°C, освещенности около 140 мкмоль на кв.м/сек и фотопериоде 16/8 часов (свет/темнота) на питательной среде МС. Через 10 дней проращивания на селективной среде проростки с одинаковыми размерами корней переносили на вертикально-ориентированные чашки Петри со средой МС и по прошествии 10 дней определяли прирост корней (изменение длины) при норме (контроль), действии 50 мМ и 100 мМ NaCl, при действии 200 мкМ и 400 мкМ ацетата кадмия, а также под влиянием гипотермии +10°C. Такие же стрессовые факторы были использованы в наших предыдущих исследованиях и было показано, что они существенно ингибируют рост корней табака [Бережнева и др. (Berezhneva et al.), 2017]. Перед началом эксперимента было проведено измерение корней трансгенных растений и по истечению 10-дневного срока также был проведен замер выросших корней. В дальнейшем при обработке результатов эксперимента был учтен только прирост корней трансгенных растений за 10 дней. Выборка составила 84 растения для каждой линии. Результаты исследований представляли в виде гистограмм со средними значениями выборки. Барами обозначали стандартную ошибку среднего. Достоверность различий во всех экспериментах оценивали при помощи *U*-критерия Манна-Уитни.

Результаты исследования

Транскрипционная активность гена PnEXPA3 в трансгенных растениях табака

В 2013 нами были получены трансгенные растения табака, экспрессирующие ген *PnEXPA3* тополя черного [Кулуев и др. (Kuluev et al.), 2013]. В ходе ранее проведенных работ по трансформации табака было получено 10 линий трансгенных растений с конститутивной экспрессией гена экспансина *PnEXPA3*. Трансгенность данных линий была доказана не только путем ПЦР-анализа, но и при помощи ОТ-ПЦР анализа активности гена *PnEXPA3*. Семена 10 линий трансгенных растений выращивались на селективной среде МС с добавлением гигромицина, чтобы избавиться от нетрансгенных растений. Уровень экспрессии трансгена определяли в корнях трансгенных растений, и стабильно высокое содержание мРНК гена *PnEXPA3* было выявлено во всех анализируемых линиях.

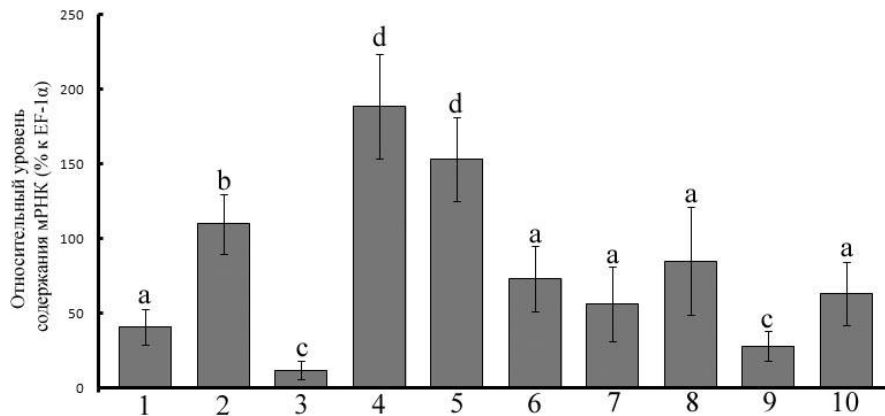


Рис. 1. Транскрипционная активность гена *PnEXPA3* в корнях трансгенных растений табака. a, b, c, d – достоверно различающиеся результаты транскрипционной активности после статистического анализа.

Fig. 1. Transcriptional activity of the *PnEXPA3* gene in the roots of transgenic tobacco plants. a, b, c, d – significantly different results of transcriptional activity after statistical analysis.

На рисунке 1 показано, что у линий трансгенных растений 2, 4, 5 и 8 самый высокий уровень транскрипционной активности гена *PnEXPA3* в корнях. У остальных трансгенных растений табака транскрипционная активность гена *PnEXPA3* в корнях немного ниже. Самая низкая транскрипционная активность выявлена у линии 3. Также предварительно был исследован прирост корней этих линий, который подтвердил корреляцию транскрипционной активности с ростом корней. Самые длинные корни при нормальных условиях наблюдались у линий 2, 4, 5 и 8. У остальных трансгенных растений прирост корней был меньше. Таким образом, можно полагать, что чем выше уровень транскрипционной активности гена *PnEXPA3*, тем лучше у него растут корни, а чем меньше уровень экспрессии целевого гена, тем корни растут медленнее.

Ростовые параметры корней трансгенных растений табака с конститутивной экспрессией гена экспансина PnEXPA3 при действии стрессовых факторов

Длина корней при выращивании на вертикально-ориентированных чашках Петри была проанализирована у 10 линий трансгенных растений табака. При нормальных условиях (+25°C) достоверное увеличение длины корней по сравнению с диким типом было выявлено у линий 2, 4, 5, 6, 8 и 9 (рис. 2а).

При выращивании на среде с добавлением 50 mM NaCl улучшенные по сравнению с диким типом ростовые параметры корней были обнаружены у

линий 1, 2, 4, 5, 6 и 10 (рис. 2б). При действии 100 mM NaCl более быстрыми темпами роста корней, чем у дикого типа характеризовались линии 4 и 6 (рис. 2в).

Способность корней расти в условиях низких положительных температур является важным качеством для культурных растений. Поэтому был оценен прирост корней трансгенных растений табака при действии температуры +10°C. Было показано, что при действии гипотермии прирост корней замедляется у всех линий и находится на уровне дикого типа и даже меньше (у линий 3 и 9). Однако в линиях 4, 5 и 7 все же наблюдался больший прирост корней по сравнению с корнями дикого типа (рис. 2г).

Из литературных источников известно, что вместе с физиологически необходимыми макро- и микроэлементами растения также могут поглощать и накапливать тяжелые металлы, которые не участвуют в метаболизме (Pb, Cd, Hg, V) [Алексеева-Попова (Alekseeva-Popova), 1991]. Попадая в растения и накапливаясь в них, тяжелые металлы оказывают негативное влияние на многие молекулярно-генетические, биохимические и физиологические процессы в растениях. При выращивании на среде МС с добавлением ацетата кадмия в концентрации 200 мкМ улучшенные показатели роста корней по сравнению с диким типом наблюдались у линий 4, 5, 6, 7, 8 и 10 трансгенных растений табака (рис. 3а). При действии 400 мкМ ацетата кадмия более быстрыми чем у дикого типа темпами роста корней характеризовались линии 1, 4, 5, 6, 8 и 10 (рис. 3б).

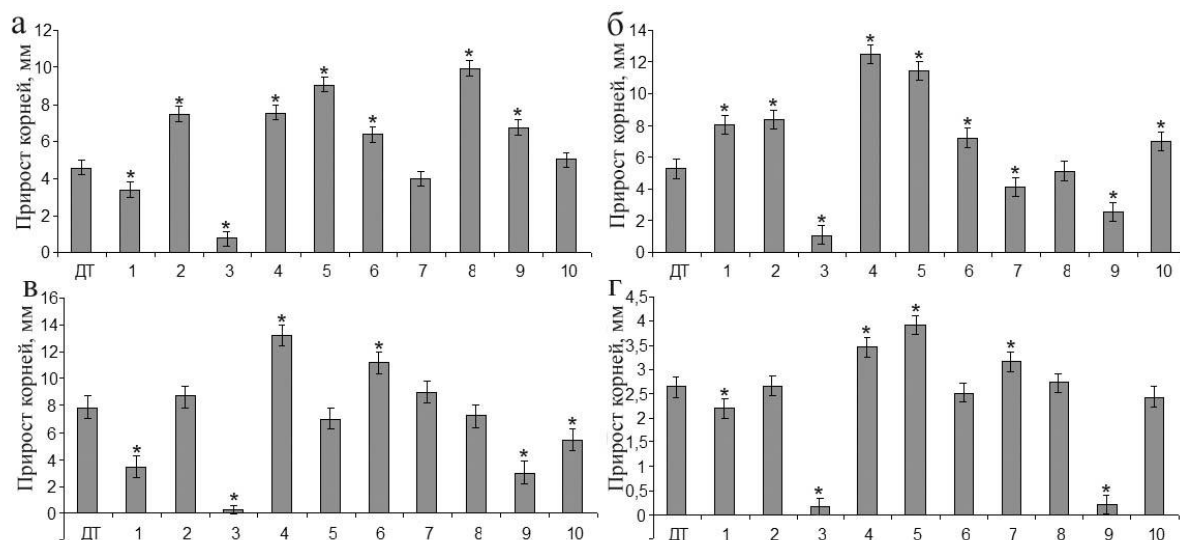


Рис. 2. Рост корней трансгенных растений табака при норме (а), действии 50 мМ NaCl (б), 100 мМ NaCl (в) и гипотермии +10°C (г). ДТ – дикий тип. 1-10 – линии трансгенных растений табака. * - $p < 0.05$.

Fig. 2. Root growth of transgenic tobacco plants at normal (a), 50 mm NaCl (b), 100 mm NaCl (c) and hypothermia +10°C (d). DT – wild type. 1-10 – lines of transgenic tobacco plants. * - $p < 0.05$.

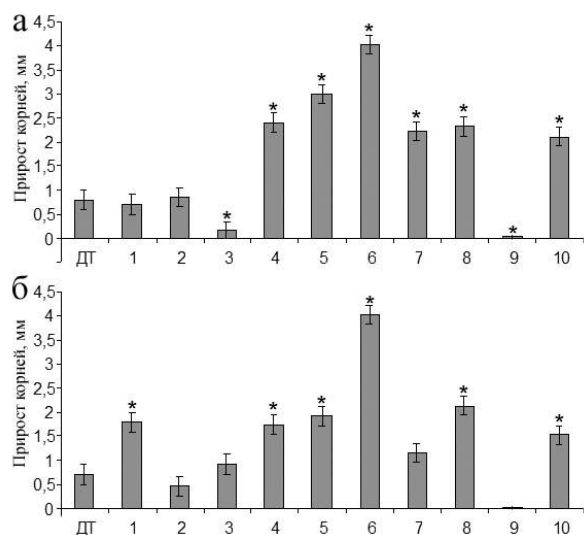


Рис. 3. Рост корней трансгенных растений табака при действии 200 мкМ CdAc (а), 400 мкМ CdAc (б).

ДТ – дикий тип. 1-10 – линии трансгенных растений табака. * - $p < 0.05$.

Fig. 3. Root growth of transgenic tobacco plants under the action of 200 μM of CdAc (a), 400 μM of CdAc (b). DT – wild type. 1-10 – lines of transgenic tobacco plants. * - $p < 0.05$.

Обсуждение результатов

Практическая значимость данной работы заключается в том, что конститутивная экспрессия гена экспансина *PnEXPA3* дает достоверное

увеличение длины корня по сравнению с диким типом при нормальных условиях и при действии таких стрессовых факторов, как гипотермия, засоление и тяжелые металлы. Новизна данной работы заключается в том, что впервые был изучен рост корней трансгенных растений табака с конститутивной экспрессией гена *PnEXPA3*, так как до этого оценивалось влияние данного трансгена только на побег, а корневая система не рассматривалась [Кулуев и др. (Kuluev et al.), 2013; 2017].

Ген *PnEXPA3* по схожести нуклеотидных последовательностей относится к подгруппе С α-экспансинов и уровень экспрессии данного гена наиболее высокий в листьях [Gray-Mitsumune et al., 2004]. Однако судя по нашим результатам активность продукта этого гена может проявляться и в подземной части растения. Из литературных источников известно, что экспансины участвуют в клеточном ответе на воздействие стрессовых факторов. Ранее нами было показано, что экспрессия генов экспансинов повышается при действии NaCl и холода [Kuluev et al., 2016]. В данном исследовании был доказан повышенный уровень экспрессии гена экспансина *PnEXPA3* в корнях трансгенных растений табака, что морфологически выражалось в улучшении роста корневой системы при действии стрессовых факторов.

Таким образом, ген *PnEXPA3* может быть использован для увеличения размеров корней сельскохозяйственных растений, т.к. его продукт

стимулирует рост корней в нормальных и стрессовых условиях. Это может позволить растениям достигать корнями более глубоких водоносных слоев и тем самым выживать в засушливый период, при засолении почвы, гипотермии или при загрязнении тяжелыми металлами.

Работа выполнена в рамках госзадания АААА-А19-119021190011-0 при поддержке грантов Президента РФ МД-2304.2020.4 и РФФИ № 18-04-00118 А с использованием оборудования РЦКП «Агидель» и УНУ «КОДИНК».

Литература

1. Алексеева-Попова Н.В. Устойчивость к тяжелым металлам дикорастущих видов. Л.: Ботанический институт им. Комарова, 1991. 214 с.
2. Бережнева З.А., Кашафутдинова А.Р., Кулуев Б.Р. Рост корней трансгенных растений *Nicotiana tabacum* L. с конститутивной экспрессией гена глутатионсинтетазы рапса *BnGSH* при действии стрессовых факторов // Вестник защиты растений. 2017. № 3(93). С. 55–59.
3. Кулуев Б.Р., Сафиуллина М.Г., Князев А.В., Чемерис А.В. Морфологический анализ трансгенных растений табака, экспрессирующих ген *PnEXPA3* тополя черного // Онтогенез. 2013. Т. 44. № 3. С. 166–173.
4. Кулуев Б.Р., Сафиуллина М.Г. Регуляция роста клеток растяжением в растениях // Успехи современной биологии. 2015. Т. 135. №2. С. 148–163.
5. Кулуев Б.Р., Князев А.В., Михайлова Е.В., Чемерис А.В. Роль генов экспансинов *PtrEXPA3* и *PnEXPA3* в регуляции листьев тополя // Генетика. 2017. Т. 53. № 6. С. 663–674.
6. Кулуев Б.Р., Бережнева З.А., Михайлова Е.В., Чемерис А.В. Рост трансгенных растений табака с измененной экспрессией генов экспансинов при действии стрессовых факторов // Физиология растений. 2018. Т. 65. №2. С. 121–132.
6. Шарова Е.И. Экпансины – белки, размягчающие клеточные стенки в процессе роста и морфогенеза растений // Физиология растений. 2007. Т. 54. № 6. С. 805–819.
7. Gray-Mitsumune M., Mellerovicz E.J., Abe H. Expansins abundant in secondary xylem belong to subgroup A of the α -expansin gene family // Plant Physiol. 2004. V. 135. P. 1552–1564.
8. Gray-Mitsumune M., Blomquist K., McQueen-Mason S., Teeri T., Sundberg B., Mellerowicz E. Ectopic expression of a wood-abundant expansin PttEXPA1 promotes cell expansion in primary and secondary tissues in aspen // Plant Biotechnol J. 2008. V. 6. P. 62–72.
9. Han Y., Li A., Li F. Characterization of a wheat (*Triticum aestivum*) expansin gene, *TaEXPB23*, involved in the abiotic stress response and phytohormone regulation // Plant Physiol. and Biochem. 2012. V. 54. P. 49–58. doi:10.1016/j.plaphy.2012.02.007
10. Kuluev B.R., Avalbaev A.M., Mikhaylova E.V., Nikonorov Y.M., Berezhneva Z.A., Chemeris A.V. Expression profiles and hormonal regulation of tobacco expansin genes and their involvement in abiotic stress response // Journal of Plant Physiology. 2016. V. 206. P. 1–12. doi:10.1016/j.jplph.2016.09.001
11. Lu P., Kang M., Jiang X. *RhEXPA4*, a rose expansin gene, modulates leaf growth and confers drought and salt tolerance to *Arabidopsis* // Planta. 2013. V. 237. P. 1547–1559. doi 10.1007/s00425-013-1867-3
12. Marowa P., Ding A., Kong Y. Expansins: roles in plant growth and potential applications in crop improvement // Plant Cell Reports. 2016. V. 35. P. 949–965. doi 10.1007/s00299-016-1948-4
13. McQueen-Mason S., Durachko D.M., Cosgrove D.J. Two endogenous proteins that induce cell wall extension in plants // Plant Cell. 1992. V. 4. P. 1425–1433. doi:10.2307/3869513
14. Sampedro J., Cosgrove D.J. The expansin superfamily // Genome Biol. 2005. V. 6. P. 242.1–242.11. doi:10.1186/gb-2005-6-12-242
15. Wu Y., Sharp R.E., Durachko D.M., Cosgrove D.J. Growth maintenance of the maize primary root at low water potentials involves increases in cell-wall extension properties, expansin activity, and wall susceptibility to expansins // Plant Physiol. 1996. V. 111. P. 765–772.
16. Zhao M.R., Li F., Fang Y. Expansin-regulated cell elongation is involved in the drought tolerance in wheat // Protoplasma. 2011. V. 248. P. 313–323. doi:10.1007/s00709-010-0172-2
17. Zorb C., Muhling K.H., Kutschera U., Geilfus C.M. Salinity stiffens the epidermal cell walls of salt-stressed maize leaves: is the epidermis growth-restricting? // PLoS One. 2015. V. 10. e0118406. doi:10.1371/journal.pone.0118406

References

1. Alekseeva-Popova N.V. Resistance to heavy metals of wild species. L.: Botanical Institute. Komarova, 1991.214 p.
2. Berezhneva Z.A., Kashafutdinova A.R., Kuluev B.R. Root growth in *Nicotiana tabacum* transgenic plants with overexpression of *BnGSH* gene of oilseed rape glutathione synthetase under stress factors. *Plant Protection News*. 2017. V. 93. No. 3. P. 55–59.
3. Gray-Mitsumune M., Mellerovicz E.J., Abe H. Expansins abundant in secondary xylem belong to subgroup A of the α -expansin gene family. *Plant Physiol*. 2004. V. 135. P. 1552–1564.
4. Gray-Mitsumune M., Blomquist K., McQueen-Mason S., Teeri T., Sundberg B., Mellerowicz E. Ectopic expression of a wood-abundant expansin PttEXPA1

- promotes cell expansion in primary and secondary tissues in aspen. *Plant Biotechnol J.* 2008. V. 6. P. 62–72.
5. Han Y., Li A., Li F. Characterization of a wheat (*Triticum aestivum*) expansin gene, *TaEXPB23*, involved in the abiotic stress response and phytohormone regulation. *Plant Physiol. Biochem.* 2012. V. 54. P. 49–58. doi:10.1016/j.plaphy.2012.02.007
 6. Kuluev B. R., Safiullina M. G., Knyazev A. V., Chemeris A. V. Morphological analysis of transgenic tobacco plants expressing the *PnEXPA3* gene of black poplar (*Populus nigra*). *Russian Journal of Developmental Biology.* 2013. V. 44. P. 129 – 134. doi: 10.1134/S106236041303003X
 7. Kuluev B.R., Avalbaev A.M., Mikhaylova E.V., Nikonorov Y.M., Berezheva Z.A., Chemeris A.V. Expression profiles and hormonal regulation of tobacco expansin genes and their involvement in abiotic stress response. *Journal of Plant Physiology.* 2016. V. 206. P. 1–12. doi:10.1016/j.jplph.2016.09.001
 8. Kuluev B.R., Knyazev A.V., Mikhaylova E.V., Chemeris A.V. The role of expansin genes *PtrEXPA3* and *PnEXPA3* in the regulation of leaf growth in poplar. *Russian Journal of Genetics.* 2017. V. 53. P. 651–660. doi:10.1134/S1022795417060084
 9. Kuluev B.R., Berezheva Z.A., Mikhaylova E.V., Chemeris A.V. Growth of transgenic tobacco plants with changed expression of genes encoding expansins under the action of stress factors. *Russian Journal of Plant Physiology.* 2018. V. 65. No. 2. P. 211–221. doi:10.1134/S1021443718020036
 10. Lu P., Kang M., Jiang X. *RhEXPA4*, a rose expansin gene, modulates leaf growth and confers drought and salt tolerance to *Arabidopsis*. *Planta.* 2013. V. 237. P. 1547–1559. doi:10.1007/s00425-013-1867-3
 11. Marowa P., Ding A., Kong Y. Expansins: roles in plant growth and potential applications in crop improvement. *Plant Cell Reports.* 2016. V. 35. P. 949–965. doi:10.1007/s00299-016-1948-4
 12. McQueen-Mason S., Durachko D.M., Cosgrove D.J. Two endogenous proteins that induce cell wall extension in plants. *Plant Cell.* 1992. V. 4. P. 1425–1433. doi:10.2307/3869513
 13. Sampedro J., Cosgrove D.J. The expansin superfamily. *Genome Biol.* 2005. V. 6. P. 242.1–242.11. doi:10.1186/gb-2005-6-12-242
 14. Sharova E.I. Expansins: proteins involved in cell wall softening during plant growth and morphogenesis. *Russian Journal of Plant Physiology.* 2007. V. 54. P. 713–727.
 15. Wu Y., Sharp R.E., Durachko D.M., Cosgrove D.J. Growth maintenance of the maize primary root at low water potentials involves increases in cell-wall extension properties, expansin activity, and wall susceptibility to expansions. *Plant Physiol.* 1996. V. 111. P. 765–772.
 16. Zhao M.R., Li F., Fang Y. Expansin-regulated cell elongation is involved in the drought tolerance in wheat. *Protoplasma.* 2011. V. 248. P. 313–323. doi:10.1007/s00709-010-0172-2
 17. Zorb C., Muhling K.H., Kutschera U., Geilfus C.M. Salinity stiffens the epidermal cell walls of salt-stressed maize leaves: is the epidermis growth-restricting? *PLoS One.* 2015. V. 10. e0118406. doi:10.1371/journal.pone.0118406