



СТРАТЕГИИ СОЗДАНИЯ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ С УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ФИТОПАТОГЕНАМ И ВРЕДИТЕЛЯМ

© 1999 г. Я. И. Бурьянов*, К. И. Кадо*

Филиал Института биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
Пушино Московской обл.;

* Отдел фитопатологии, Калифорнийский университет, Дэвис, США

Поступила в редакцию 22.03.99 г. Принята к печати 21.05.99 г.

В обзоре рассмотрены основные стратегии создания трансгенных растений, устойчивых к фитопатогенам и вредителям.

Ключевые слова: PR-белки; ингибиторы протеиназ; хитиназы; лектины; инсектотоксины; фитоталексины; пептидные антибиотики; детоксикация; гены устойчивости; трансгенные растения.

Несмотря на возрастающее применение химических средств защиты растений, загрязняющих окружающую среду, общие потери урожая в мире, вызванные вредителями и болезнями растений, сохраняются на уровне 20% и наносят существенный удар по экономике многих стран. Создание сортов сельскохозяйственных растений с повышенной устойчивостью к фитопатогенам и вредителям – постоянная задача современной селекции. Классический селекционно-генетический путь повышения устойчивости растений к болезням и вредителям основан на передаче растениям культурного сорта новых генов устойчивости путем их скрещивания с дикими формами растений. Однако этот подход требует многолетней работы и ограничен возможностями близкородственного скрещивания. Генетическая инженерия растений не имеет этих ограничений и открывает возможности интегрировать в хромосомы растительной клетки гены любого происхождения.

В 1983 г. были опубликованы первые работы по получению трансгенных растений табака [1, 2]. Табак послужил чисто научной моделью и содержал в качестве чужеродных генов селективные маркеры устойчивости к антибиотикам и гены-репортеры. Однако уже в 1987 г. были проведены первые полевые испытания сельскохозяйственных трансгенных растений, а в 1995 г. в США получены первые разрешения на коммерциализацию трансгенных сортов растений. В настоящее время генетическая инженерия растений предлагает рынку десятки экономически важ-

ных трансгенных растений, в том числе устойчивых против фитопатогенов и насекомых-вредителей.

В настоящем мини-обзоре рассматриваются различные стратегии конструирования трансгенных растений, устойчивых против фитопатогенов и вредителей, и обсуждаются проблемы биологической безопасности их практического использования.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ ПРОТИВ ФИТОПАТОГЕНОВ

Для борьбы с патогенами и вредителями растительная клетка использует как конститутивные, так и индуцибельные генетические защитные механизмы. Конститутивные защитные механизмы включают системы биосинтеза клеточной стенки растений, а также биосинтеза различных защитных низкомолекулярных соединений (терпеноиды, фенолы, гликозиды) и специфических защитных белков. В то же время клетки растений способны распознавать своих “врагов” и индуцировать при их атаке специфический защитный ответ.

Генетические исследования специфической устойчивости определенных сортов растений против особых штаммов фитопатогенных грибов привели к формулированию концепции “ген на ген”, согласно которой эта устойчивость определяется наличием комплементарных доминантных генов хозяина и паразита [3]. Так, сорт растения с доминантным геном устойчивости *R* проявляет специфическую устойчивость к штамму патогена с доминантным авирулентным геном *avr*. Несом-

* Автор для переписки (тел.: (095) 925-23-42; факс (8-27) 79-05-27; e-mail: buryanov@fibkh.serpukhov.su).

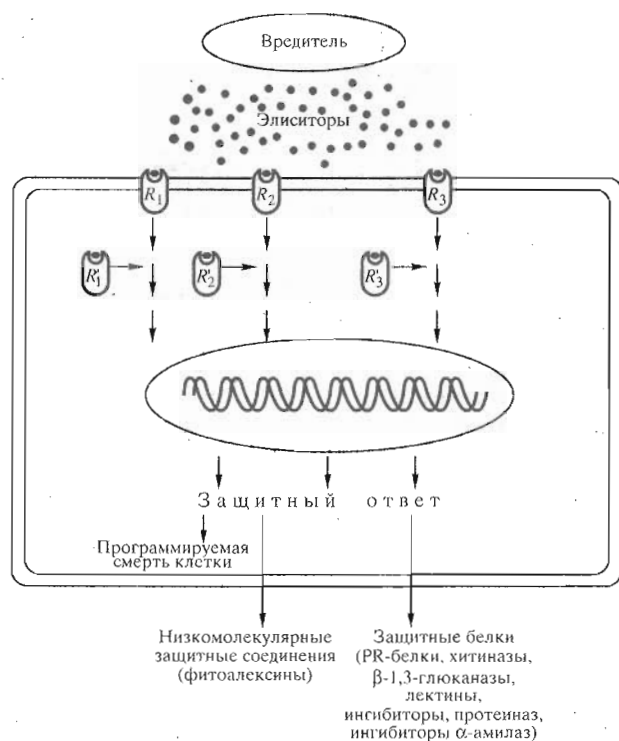


Рис. 1. Основные реакции взаимодействия растительной клетки с патогенами и вредителями, вызывающие приобретенную системную устойчивость. *R* — мембранные рецепторы; *R'* — цитоплазматические рецепторы.

вместимое взаимодействие между таким хозяином и паразитом вызывает у растений быструю реакцию гиперчувствительности, приводящую к локальному некрозу инфицированной ткани растения и гибели паразита.

Реакция гиперчувствительности сопровождается индукцией в окружающих неинфицированных клетках системной приобретенной устойчивости, в результате чего растение получает иммунитет против повторного заражения фитопатогенами. Такие растения отличаются индуцируемым синтезом различных защитных низкомолекулярных соединений (фитоалексинов) и белков, в частности PR-(pathogenesis-related) белков. Если же хотя бы один из *R*-генов растения или *avr*-генов паразита отсутствует или рецессивен, то взаимодействие совместимо и паразит проявляет вирулентность, а растение — восприимчивость к инфекции. На основе концепции “ген на ген” развито представление о взаимодействии продуктов *R*-генов растений и комплементарных *avr*-генов паразита в форме лиганд-рецепторного узнавания, требуемого для включения защитного ответа растения. В этом взаимодействии в качестве лигандов могут выступать элиситоры — различные структурные и биохимические компоненты патогена или продукты его взаимодействия с растительной

клеткой. Общая схема процесса индукции приобретенной системной устойчивости приведена на рис. 1.

Крупнейшим достижением молекулярной генетики растений последних лет является клонирование и структурно-функциональный анализ *R*-генов. Получены убедительные данные о детерминировании *R*-генами двух функций: узнавания патогена и трансдукции сигнала узнавания к системам ответа. В соответствии с первой функцией, *R*-гены кодируют белки, отличающиеся наличием в их структуре повторов, обогащенных остатками лейцина, а также нуклеотидсвязывающего участка [4]. Интересно отметить, что ген *N* устойчивости табака к вирусу табачной мозаики кодирует белок, структурно сходный с защитным белком *Toll* дрозофилы и рецептором интерлейкина-1 млекопитающих [5]. В соответствии с функцией трансдукции сигнала, *R*-гены кодируют особый класс протеинкиназ [4]. Необходимо отметить, что у растений найдены гены устойчивости к различным патогенам (бактерии, грибы, вирусы) и вредителям (насекомые, нематоды). Что касается трансдукции сигнала защиты, то промежуточные этапы этих путей еще мало исследованы. Известно только, что в отдельных защитных реакциях сигнальную функцию выполняют такие медиаторы, как жасмоновая кислота [6], салициловая кислота [7] и перекись водорода [8]. В экспериментах по созданию устойчивых к фитопатогенам и вредителям растений генетическая инженерия использует гены конститутивных и индуцибельных защитных систем растений, а также гены иного происхождения.

УСТОЙЧИВОСТЬ ПРОТИВ ФИТОПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Первоначально для целей создания трансгенных растений с устойчивостью к патогенным бактериям и грибам были использованы гены гидролитических ферментов, деградирующих клеточные стенки фитопатогенных микроорганизмов. Среди использованных генов следует отметить бактериальные, грибные и индуцибельные растительные гены хитиназы [9–11]. С этой же целью на первом этапе работ обращалось внимание на гены β-1,3-глюканазы [12] и гены других белков, связанных с патогенозом (PR-белки) [13]. В большинстве случаев эти гены экспрессировались в трансгенных растениях под контролем мощных конститутивных промоторов, что не всегда отвечало целям их экономичной специфической регуляции. Оригинальный способ защиты растений от грибных патогенов предложен на основе трансгенных растений с искусственной гиперчувствительной реакцией, приводящей к некрозу ин-

фицированных тканей растений [14]. В трансгенных растениях устойчивого к фитофторе картофеля экспрессировался ген бактериальной рибонуклеазы *Bacillus amyloliquefaciens* (барназы) под контролем промотора индуцибельного гена картофеля *prp-1*, ответственного за быстрый локальный ответ на инфицирование патогеном. Для сведения к минимуму некротического эффекта барназы на соседние неинфицированные ткани в растения перенесен также ген ингибитора барназы [14].

Следует отметить стратегию метаболической инженерии, позволяющую осуществлять детоксикацию и деградацию патогенных веществ вирулентных микроорганизмов и биосинтез растением новых низкомолекулярных защитных молекул. Первым успешным примером применения этой стратегии для детоксикации патогенных токсинов является получение трансгенных растений табака, устойчивых к фитопатогенному бактериальному штамму *Pseudomonas syringae pv tabaci* [15, 16]. Клетки этой бактерии выделяют токсичное вещество табтоксин, активная часть которого, табтоксинин-β-лактам, ингибирует фермент глутаминсинтетазу. В трансгенных устойчивых растениях защитный эффект против патогенной бактерии связан с экспрессией в растениях гена табтоксинацетилтрансферазы, ацетилирующей аминокетильную группу табтоксинин-β-лактама в свободной форме или в составе табтоксина (рис. 2).

Следует отметить сходство стратегий механизма детоксикации табтоксина и гербицида биалафоса, активная часть которого, фосфинотрицин, также ингибирует глутаминсинтетазу и который детоксицируется в трансгенных растениях фосфинотрицинацетилтрансферазой [17]. В обоих случаях источниками детоксицирующих генов являются гены микроорганизмов-продуцентов табтоксина и биалафоса. Интересно, что эта генно-инженерная стратегия была "подсказана" самими микроорганизмами-продуцентами табтоксина и биалафоса, содержащими также гены их детоксикации.

Большой интерес вызывает применение фитоалексинов – индуцируемых защитных низкомолекулярных соединений растений [18]. При переносе гена стилбенсинтазы винограда в клетки табака была также использована логика метаболической инженерии [19]. Полученные растения синтезировали фитоалексин резвератрол, олигомерная форма которого, виниферин, токсична для фитопатогенных грибов. Стилбенсинтаза катализирует реакцию синтеза резвератрола из трех молекул малонил-СоА и одной молекулы 4-кумарил-СоА – соединений, присутствующих в клетках любых растений. В трансгенных растениях табака, со-

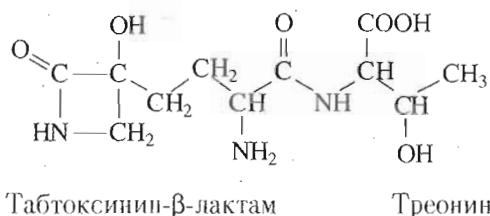


Рис. 2. Структура табтоксина [16].

держащих ген стилбенсинтазы под контролем собственного промотора, наблюдалась индукция экспрессии этого гена специфическими элиситорами и защита растений от фитопатогенных грибов [19].

Особое внимание привлекает использование генов, ответственных за узнавание патогена и трансдукцию сигнала узнавания (*R*-гены). Примером *R*-гена, выполняющего функцию трансдукции сигнала, является ген томатов *Pto*, кодирующий сериновую и треониновую киназу и обеспечивающий устойчивость растений к авирулентному штамму *Ps. syringae pv tomato* с геном авирулентности *avrPto*. Перенос гена *Pto* в форме кДНК под контролем 35S-промотора вируса мозаики цветной капусты в клетки табака приводил к значительному повышению устойчивости трансгенных растений к штамму *Ps. syringae pv tabaci* с геном *avrPto* [20, 21]. Устойчивость проявлялась в быстрой реакции гиперчувствительности растений на инфицирование этим штаммом и к сильному ингибированию роста бактерий. Полученные результаты указывают на существенную структурную и функциональную гомологию компонентов сигнальных путей механизмов устойчивости к фитопатогенам у растений одного семейства и предполагают существование этой структурно-функциональной гомологии у растений более широкого таксономического круга.

Для передачи растениям устойчивости к фитопатогенным бактериям и грибам перспективно использование различных генов катионных пептидных антибиотиков [22]. С этой целью используются, в частности, гены тионинов растений [23] и синтетические гены гетерологичных цекропинов [24]. Экспрессия тионина вискотоксина из омелы *Viscum album* в арабидопсисе повышала его устойчивость против патогенного гриба *Plasmodiophora brassicae* [23]. Экспрессия тиониновых генов в растениях под собственными промоторами регулируется через октадеканойдный путь биосинтеза жасмоновой кислоты, что отличает ее от экспрессии генов PR-белков, регулируемых салициловой кислотой [25].

Защиту растений от агробактериального опухолообразования можно обеспечить с помощью

агробактериального гена *ros*, регулирующего экспрессию онкогенного цитокининового гена [26].

УСТОЙЧИВОСТЬ К ВИРУСАМ

Трансгенные растения, экспрессирующие кДНК белков оболочки вируса, проявляют устойчивость к инфекции гомологичными или близкородственными вирусами [27, 28]. Другие гены и элементы вирусного генома также используются для защиты растений от вирусной инфекции. Это показано в случае кДНК вирусных сателлитных РНК [29, 30] и неструктурного гена репликазы вируса табачной мозаики (ВТМ) (*M* 54 кДа) [31, 32]. В целях защиты растений от вирусных инфекций перспективно также применение дефектных генов вирусных репликаз, кодирующих нефункциональные продукты [33, 34]. Таким образом, экспрессия в трансгенных растениях отдельных элементов вирусного генома может влиять на разные этапы скоординированного цикла размножения вирусов и на распространение вирусной инфекции. Вопрос о естественном использовании растениями этой стратегии защиты остается не выясненным.

Оригинальная стратегия получения устойчивых к вирусам трансгенных растений была впервые сформулирована и опробована в лаборатории И.Г. Атабекова [35, 36]. В ней предложено использование мутантных нефункциональных генов транспорта вирусов из зон репликации в нейнифицированные клетки растений. В трансгенных растениях табака дефектный ген транспортного белка ВТМ экспрессировал нефункциональный белок, блокирующий межклеточный транспорт инфицирующего вируса [36]. Следует отметить, что в устойчивых к вирусам трансгенных растениях с генами вирусных репликаз заингибирован межклеточный транспорт вирусной РНК [37].

В защите растений от вирусов применима также стратегия антисмысловых РНК (асРНК). Так, показано повышение устойчивости растений, экспрессирующих асРНК белка оболочки вируса [38, 39], белка, участвующего в репликации вируса золотистой мозаики томатов [40], и антисмысловой последовательности межклеточной области вируса мозаики костра [41]. Наблюдаемая в ряде случаев ограниченная эффективность асРНК может быть связана с высоким накоплением в клетке инфекционных РНК некоторых вирусов и локализацией ее репликации в цитоплазме. Стратегия асРНК может быть более перспективной в защите растений от вирусов, синтезирующихся с низкой множественностью или имеющих ядерную фазу репликации [42].

Для защиты растений от вирусов возможно применение трансактивных рибозимных элементов вирусных и виroidных РНК [43].

Способность трансгенных растений синтезировать и правильно собирать различные иммуноглобулиновые цепи [44], в том числе и полипептидные цепи секреторных иммуноглобулиновых комплексов [45], может быть использована в разработке специфической антивирусной защиты. В этом случае, защита достигается за счет экспрессии в трансгенных растениях генов, кодирующих антитела против функционально важных вирусных белков [46]. Эта стратегия, по-видимому, применима также для защиты растений от различных невирусных патогенов и вредителей.

Для защиты растений от вирусов перспективно использование собственных растительных генов устойчивости. Так, трансгенные растения томата с геном устойчивости *N* табака проявляли устойчивость к ВТМ [47].

УСТОЙЧИВОСТЬ ПРОТИВ НАСЕКОМЫХ И ДРУГИХ ВРЕДИТЕЛЕЙ

Первые работы по созданию трансгенных растений, устойчивых против насекомых-вредителей, были опубликованы в 1987 г. [48–50] и это направление продолжает развиваться в настоящее время. Наибольшие успехи в этой области связаны с переносом в растения генов δ -эндотоксинов *Bacillus thuringiensis*. Особый интерес к группе δ -эндотоксинов вызван широким разнообразием инсектицидной специфичности этих белков по отношению к различным насекомым [51] и безвредностью для теплокровных животных, что доказано 40-летним опытом их применения в качестве пестицидов. Представители различных классов этих кристаллообразующих белков имеют *M* 27–110 кДа, причем высокомолекулярные белки являются протоксинами. В кишечнике личинок насекомых при выраженных щелочных значениях pH (9–12) они растворяются и активируются, подвергаясь специфической протеолитической деградации до токсичных *N*-концевых полипептидов. Активированные токсины связываются со специфическими мембранными рецепторами эпителиальных клеток кишечника чувствительных к ним насекомых и образуют поры в мембране, приводящие к нарушению осмотического баланса, что ведет к быстрому лизису клеток и гибели личинок [51].

Найдены новые классы белков *Bacillus thuringiensis*, токсичных не только для насекомых, но и для других беспозвоночных вредителей, в том числе нематод [52], а также клещей и одноклеточных паразитирующих микроорганизмов [53]. Трансгенные растения, в которых экспрессиру-

ются модифицированные гены известных энтомоцидных белков, кодирующие только их токсичные домены, могут проявлять неожиданный спектр устойчивости к вредителям. Так, они могут быть устойчивы не только к насекомым, в том числе и к трипсу, но и к таким беспозвоночным вредителям, как паутинный клещик [54, 55]. Возможная причина более широкого спектра токсичности *N*-концевых полипептидов по отношению к вредителям растений может состоять в их независимости от предварительной активации, требуемой для протоксина. Эти результаты указывают на неадекватность тестирования токсичности белковых препаратов для различных беспозвоночных в методологии искусственной диеты и на возможность ее замены прямым анализом трансгенных растений с целевым модифицированным белком.

Проблема повышения экспрессии генов δ -эндотоксинов в трансгенных растениях решена путем частичной или полной модификации их нуклеотидной последовательности с сохранением кодируемой аминокислотной последовательности. Изменение исходной структуры гена в сторону увеличения в ней GC-содержания, адаптации к частоте использования кодонов в растениях и удаления возможных сигналов сплайсинга и преждевременного полиаденилирования приводит к повышению синтеза энтомоцидных белков в листьях различных трансгенных растений до 0.1–0.5% от содержания общего белка [56, 57]. Можно ожидать, что следующее поколение модифицированных энтомоцидных генов будет кодировать белки с высокой токсичностью по отношению к строго ограниченным видам насекомых-вредителей. Для стабильности защиты трансгенных растений от возможного зарождения популяции насекомых-вредителей, устойчивых к одиночному δ -эндотоксину, важно получение растений, экспрессирующих несколько различных генов или слитых генов, кодирующих токсичные домены разных энтомоцидных белков.

Значительное повышение уровня синтеза инсектицидных белков, достигающее 3–5% от содержания растворимого белка в листьях растений, получено с помощью разработанного метода генетической трансформации хлоропластов высших растений [58]. Этот эффект достигнут за счет увеличения “дозы гена”, связанного с высокими множественностями хлоропластной ДНК в хлоропласте и хлоропластов в клетке.

Дальнейшее развитие работ в области создания трансгенных растений, синтезирующих токсичные для беспозвоночных-вредителей белки, может быть связано с поиском таких новых токсинов. Так, новые инсектицидные токсины, представляющие различные белковые комплексы,

выделены из бактерии *Photorhabdus luminiscens* [59]. Заслуживает внимания возможность использования искусственных комплексов эндотоксинов *B. thuringiensis* с другими изученными эффективными инсектотоксинами [60].

Имеющиеся в настоящее время коммерческие трансгенные растения с устойчивостью к насекомым-вредителям получены на основе экспрессии генов эндотоксинов *B. thuringiensis*, однако экспериментальному анализу подвергнут также ряд других генов.

Перспективная стратегия использования природных защитных механизмов основана на экспрессии в клетках растений генов ингибиторов протеиназ [61]. Для этой цели наиболее обосновано применение гетерологичных генов растений, так как многие растения содержат в своих тканях, плодах и семенах ингибиторы протеиназ, специфически настроенные против протеиназ насекомых и грибов, но безвредные для человека и животных [62]. Следует отметить, что растительные гены ингибиторов протеиназ эффективно экспрессируются в растениях и способны под контролем собственного промотора сохранять в новом генетическом окружении такие важные свойства, как тканевую специфичность и индуцируемую локальную или системную экспрессию [63, 64]. Трансгенные растения риса, экспрессирующие картофельный ген ингибитора сериновой протеиназы *pin 2* под контролем собственного индуцибельного промотора, показали высокую стабильную устойчивость против наиболее опасного насекомого-вредителя *Sesamia inferens* [64]. Эти данные указывают на многообещающую возможность правильной регуляции экспрессии защитных гетерологичных генов растений трансрегуляторными факторами трансформированной клетки.

Аналогичная стратегия может быть основана на ингибировании ферментов, гидролизующих полисахариды растений. Так, трансгенные растения гороха и его семена, экспрессирующие гетерологичный растительный ген α -амилазы, показали высокую устойчивость против наиболее опасных насекомых-вредителей [65, 66]. Среди других белков, участвующих в природных механизмах защиты растений, следует отметить специфические лектины, обладающие значительным инсектицидным эффектом, но безвредные для человека и животных. Здесь можно отметить успешные эксперименты с трансгенными растениями, экспрессирующими ген агглютинина из подснежника [67], а также комбинированное использование этого гена с геном ингибитора трипсина из сои [68].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе трансгенных технологий получены различные растения с повышенной устойчивостью к болезням и вредителям. Некоторые из таких растений уже нашли практическое применение, а другие проходят полевые испытания. Вероятно, не все разработанные трансгенные стратегии защиты растений найдут применение в селекции и будут соответствовать требованиям биологической безопасности. Необходимо учитывать длительную и часто сопряженную эволюцию растений и их патогенов, в результате которой между ними установилось динамическое равновесие. Культивирование на больших площадях трансгенных растений с "абсолютной" устойчивостью может привести к нарушению общего равновесия в агробиоценозах и вызвать появление новых непредвиденных фитопатогенов и вредителей. В этой связи использование генов природных систем защиты растений представляется предпочтительным. Так как конститутивная экспрессия защитных генов может способствовать отбору устойчивых патогенов и вредителей, стратегия индуцируемой защиты является более перспективной. Не исключено, что свойства устойчивости растений определяются комплексной системой различных генов, в которую можно эффективно включать отдельные гены устойчивости различного происхождения.

При использовании трансгенных растений в качестве пищевых продуктов необходимо контролировать отсутствие у них новых иммуногенов и аллергенов. В ряде случаев эту проблему можно преодолеть. Так, комбинированная техника классических прививок и генетической инженерии позволяет получать растения с локализацией продукта гена δ -эндотоксина только в трансгенной части привитых растений [69].

Дальнейшие успехи в исследовании молекулярно-генетических механизмов специфического узнавания патогенов растениями, трансдукции защитного сигнала и защитного ответа будут способствовать развитию наиболее оптимальных трансгенных стратегий защиты растений от заболеваний и вредителей.

Авторы выражают глубокую благодарность О.В. Дьяченко и Т.В. Шевчуку за техническое оформление рукописи.

Работа поддержана грантом № 98-04-48296 Российского фонда фундаментальных исследований и грантами CRDF № RB1-171 и NIH GM 45550.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Herrera-Estrella L., Depicker A., Van Montagu M., Schell J. // *Nature*. 1983. V. 303. P. 209–213.
- Barton K., Binns A., Matzke A., Chilton M.-D. // *Cell*. 1983. V. 32. P. 1033–1043.
- Flor H.H. // *Annu. Rev. Phytopathol.* 1971. V. 9. P. 275–296.
- Baker B., Zambryski P., Staskawicz B., Dinesh-Kumar S. P. // *Science*. 1997. V. 276. P. 726–733.
- Whitham S., Dinesh-Kumar S.P., Choi D., Hehl R., Coir C., Baker B. // *Cell*. 1994. V. 78. P. 1101–1115.
- Gundlach H., Müller M.J., Kutchan T.M., Zenk M.H. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1992. V. 89. P. 2389–2393.
- Chen Z., Malamy J., Henning J., Conrath U., Sanchez-Casas P., Silva H., Recigliano J., Klessig D.F. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1995. V. 92. P. 4134–4137.
- Tenhaken R., Levine A., Brisson L.F., Dixon R.A., Lamb C. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1995. V. 92. P. 4158–4163.
- Jones J.D.G., Dean C., Gidoni D., Gilbert D., Bond-Nutter D., Lee R., Bedbrook J., Dunsmuir P. // *Mol. Gen. Genet.* 1988. V. 212. P. 536–542.
- Terakawa T., Takaya N., Horiuchi H., Koike M., Takagi M. // *Plant Cell Rep.* 1997. V. 16. P. 439–443.
- Broglie K., Chut I., Holliday M., Cressman R., Biddle P., Broglie R. // *Science*. 1991. V. 254. P. 1194–1197.
- Mauch F., Mauch-Manie B., Botter T. // *Plant Physiol.* 1988. V. 88. P. 936–942.
- Linthorst H.J.M. // *Crit. Rev. Plant Sci.* 1991. V. 10. P. 123–150.
- Strittmatter G., Janssens J., Opsomer C., Botterman J. // *BioTechnology*. 1995. V. 13. P. 1085–1089.
- Anzai H., Yoneyama K., Yamaguchi I. // *Mol. Gen. Genet.* 1989. V. 219. P. 492–494.
- Yoneyama K., Anzai H. // *BioTechnology in Plant Disease Control* / Ed. Chet I. New York: Wiley-Liss, 1993. P. 115–137.
- De Block M., Botterman J., Vanderviele M., Dockx J., Van Montagu M., Leemans J. // *EMBO J.* 1987. V. 6. P. 2513–2518.
- Дьяков Ю. Т. Защита растений. Итоги науки и техники. ВИНТИ. Т. 3. С. 5–90.
- Hain R., Bieseler B., Kindl H., Schröder G., Stocker R. // *Plant. Mol. Biol.* 1990. V. 15. P. 325–335.
- Thilmony R.L., Chen Z., Bressan R.A., Martin G.B. // *Plant Cell*. 1995. V. 7. P. 1529–1536.
- Rommens C.M.T., Salmeron J.M., Oldroyd G.E.D., Staskawicz B.J. // *Plant Cell*. 1995. V. 7. P. 1537–1544.
- Hancock R. W., Lehrer R. // *Trends Biotechnol.* 1998. V. 16. P. 82–88.
- Haltorf S., Ludwig-Müller J., Apel K., Bohlmann H. // *Plant Mol. Biol.* 1998. V. 36. P. 673–680.
- Kado C.I., Buryanov Y.I., Huang Y. // *Proc. Ctr Eng. Plants Res.* 1995. Path 3. P. 20.
- Bohlmann H., Vignutelli A., Hilpert B., Miersch O., Wasternack C., Apel K. // *FEBS Lett.* 1998. V. 437. P. 281–286.
- Chou A.Y., Archdeacon J., Kado C.I. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1998. V. 95. P. 5293–5298.
- Powell-Abel P., Nelson R.S., De B., Hoffmann N., Rogers S.G., Fraley R.T., Beachy R.N. // *Science*. 1986. V. 232. P. 738–743.

28. Beachy R.N., Loesch-Fries S., Turner N.E. // *Annu. Rev. Phytopathol.* 1990. V. 28. P. 451–457.
29. Harrison B.D., Mayo M.A., Baulcombe D.C. // *Nature.* 1987. V. 328. P. 799–802.
30. Gerlach W.L., Llewellyn D., Haseloff J. // *Nature.* 1987. V. 328. P. 802–805.
31. Golembowski D.W., Lomonosoff G.P., Zaitlin M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1990. V. 87. P. 6311–6315.
32. Carr J.P., Marsh L.E., Lomonosoff G.P., Sekiya M.E., Zaitlin M. // *Molecular Plant-Microbe Interact.* 1992. V. 5. P. 397–404.
33. Anderson J.M., Palukaitis P., Zaitlin M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1992. V. 89. P. 8759–8763.
34. Longstaff M., Brigneti G., Boccard F., Chapman S., Baulcombe D. // *EMBO J.* 1993. V. 12. P. 379–386.
35. Atabekov J.G., Dorokhov Y.L. // *Adv. Virus Res.* 1984. V. 29. P. 313–364.
36. Malysenko S.I., Kondakova O.A., Nazarova J.V., Kaplan I.B., Taliany M.E., Atabekov J.G. // *J. Gen. Virol.* 1993. V. 74. P. 1149–1156.
37. Nguyen L., Lucas W.J., Ding B., Zaitlin M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1996. V. 93. P. 12643–12647.
38. Hemenway C., Fang R.-X., Kaniewski W.K., Chua N.-H., Tumer N.E. // *EMBO J.* 1988. V. 7. P. 1273–1280.
39. Cuzzo M., O'Connell K.M., Kaniewski W.K., Fang R.-X., Chua N.-H., Tumer N.E. // *BioTechnology.* 1988. V. 6. P. 549–557.
40. Day A.G., Bejareno E.R., Buck K.W., Burrell M., Lightenstein C.P. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1991. V. 88. P. 6721–6725.
41. Huntley C.C., Hall T.C. // *Virology.* 1993. V. 192. P. 290–297.
42. Kawchuk L.M., Martin R.R., McPherson J. // *Mol. Plant-Microbe Interact.* 1991. V. 4. P. 247–253.
43. Earnshaw D.J., Gait M.J. // *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.* 1997. V. 7. P. 403–411.
44. Hiatt A., Cafferkey R., Bowdish K. // *Nature.* 1989. V. 342. P. 76–78.
45. Ma J.K.-C., Hiatt A., Hein M., Vine N.D., Wang F., Stabila P., van Dollewerd C., Mostov K., Lehner T. // *Science.* 1995. V. 268. P. 716–719.
46. Tavladoraki P., Benvenuto E., Frinca S., De Martinis D., Cattaneo A., Galeffi P. // *Nature.* 1993. V. 366. P. 469–472.
47. Whitham S., McCormick S., Baker B. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1996. V. 93. P. 8776–8781.
48. Fischhoff D.A., Bowdish K.S., Perlak F.J., Marrone P.G., McCormick S.H., Niedermeyer J.G., Dean D.A., Kusano-Kretzmer K., Mayer E.J., Rochester D.E., Rogers S.G., Fraley R.T. // *BioTechnology.* 1987. V. 5. P. 807–813.
49. Barton K.A., Whiteley H.R., Yang N.-S. // *Plant Physiol.* 1987. V. 85. P. 1103–1109.
50. Vaecck M., Reynaerts A., Hofte H., Jansens S., De Beuleleer M., Dean C., Zabeau M., Van Montagu M., Leemans J. // *Nature.* 1987. V. 328. P. 33–37.
51. Hafte H., Whiteley H.R. // *Microbiol. Rev.* 1989. V. 53. P. 242–255.
52. Edwards D.L., Payne J., Soares G.G. // *U. S. Patent* 4, 948, 734. 1990.
53. Feitelson J.S., Payne J., Kim L. // *BioTechnology.* 1992. V. 10. P. 271–275.
54. Богдарица И.Г., Рукавицова Е.Б., Шматченко В.В., Зинкевич В.Е., Север И.С., Асланян Е.М., Исангалин Ф.Ш., Бурьянов Я.И., Баев А.А. // *Докл. АН СССР.* 1990. Т. 315. С. 1489–1492.
55. Buryanov Ya.I., Rukavitsova E.B., Zolova O.E., Alekseeva V.V., Kalyaeva M. A., Murenets L. Y., Dobritsa A.P. // *Molecular Responses of Plants to Biotic and Abiotic Stresses: Symposium Proceedings / Eds Pehu T., Somersalo S. Helsinki,* 1996. P. 42.
56. Perlak F.J., Deaton R.W., Armstrong T.A., Fuchs R.L., Sims S.R., Greenplate J.T., Fischhoff D.A. // *BioTechnology.* 1990. V. 8. P. 939–943.
57. Perlak F.J., Fuchs R.L., Dean D.A., McPherson S.L., Fischhoff D.A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1991. V. 88. P. 3324–3328.
58. McBride K.E., Svab Z., Schaaf D.J., Hogan P.S., Stalker D.M., Maliga P. // *BioTechnology.* 1995. V. 13. P. 362–365.
59. Bowen D., Rocheleau T. A., Blackburn M., Andreev O., Golubeva E., Bhartiya R., French-Constant R.H. // *Science.* 1998. V. 280. P. 2129–2132.
60. Magazanik L.G., Fedorova I.M., Kovalevskaya G.I., Pashkov V.N., Bulgakov O.V., Grishin E.V. // *Neuroscience.* 1992. V. 46. P. 181–188.
61. Hilder V.A., Gatehouse A.M.R., Sheerman S., Barker R., Boulter D. // *Nature.* 1987. V. 330. P. 160–167.
62. Ryan C.A. // *BioEssays.* 1989. V. 10. P. 20–24.
63. Keil M., Sanches-Serrano J.J., Willmitzer L. // *EMBO J.* 1989. V. 8. P. 1323–1330.
64. Duan X., Li X., Xue Q., Abo-el-Saad M., Xu D., Wu R. // *Nature Biotechnology.* 1996. V. 14. P. 494–498.
65. Schroeder H.E., Gollasch S., Moore A., Tabe L.M., Graig S., Hardie D.C., Chrispeels M.J., Spencer D., Higgins T.J.V. // *Plant Physiol.* 1995. V. 107. P. 1233–1239.
66. Shade R.E., Schroeder H.E., Pueyo J.J., Tabe L.M., Murdock L.L., Higgins T.J.V., Chrispeels M.J. // *BioTechnology.* 1994. V. 12. P. 793–796.
67. Hilder V.A., Powell K.S., Gatehouse A.M.R., Gatehouse J.A., Gatehouse L.N., Shi Y., Hamilton W.D.O., Merryweather A., Nevell C.A., Timans J.C., Peumans W.J., van Damme E., Boulter D. // *Transgenic Res.* 1995. V. 4. P. 18–25.
68. Boulter D., Edwards G.A., Gatehouse A.M.R., Gatehouse J.A., Hilder V.A. // *Crop Protection.* 1990. V. 9. P. 351.
69. Рукавицова Е.Б., Алексеева В.В., Золова О.Э., Каллева М.А., Муренец Л.Ю., Бурьянов Я.И. // *Биотехнология.* 1996. № 9. С. 24–28.

Strategies for the Construction of Transgenic Plants Resistant to Phytopathogens and Pests

Ya. I. Buryanov^{**} and C. I. Kado^{**}

**Pushchino Branch, Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry,
Russian Academy of Sciences, Pushchino, Moscow oblast, 142292 Russia*

***Department of Phytopathology, University of California, Davis*

Principal strategies for the construction of transgenic plants resistant to phytopathogens and pests are reviewed.

Key words: PR proteins, protease inhibitors, chitinases, lectins, insectotoxins, phytoalexins, peptide antibiotics, detoxication, disease resistance genes, transgenic plants

[#] *To whom correspondence should be addressed; phone: +7 (095) 925-2342; fax: +7 (8-27) 79-0527;
e-mail: buryanov@fibkh.serpukhov.su.*