
ВЛИЯНИЕ НИЗКОЙ ПОЛОЖИТЕЛЬНОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ТРАНСГЕННЫЕ РАСТЕНИЯ РАПСА (*BRASSICA NAPUS L.*) С ГЕНОМ ТРАНСФАКТОРНОГО БЕЛКА *OSMYB4* РИСА*

А.М. Гомаа¹, Н.А. Бурмистрова²,
Н.В. Радионов², Г.Н. Ралдугина²

¹Кафедра ботаники, физиологии растений и агробиотехнологии
Российский университет дружбы народов
ул. Миклухо-Маклая, 8/2, Москва, Россия, 117198

²Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН
ул. Ботаническая, 35, Москва, Россия, 127276

В статье представлены результаты изучения накопления сахаров, пролина и малонового диальдегида, а также активность ферментов супероксиддисмутазы (СОД) и пероксидазы в трансгенных растениях рапса (*Brassica napus L.*) с геном транс-фактора *OsMyb4* риса и в нетрансформированных растениях. При действии холода содержание сахаров у трансгенных растений было значительно ниже, чем у нетрансформированных, однако содержание пролина у них было выше. Количество малонового альдегида (МДА) повышалось у нетрансформированных растений и понижалось у трансгенных. Активность СОД изменялась сходным образом у обеих линий растений, тогда как активность пероксидазы на 2-е сутки охлаждения у нетрансгенных растений увеличивалась, оставаясь постоянной у трансгенов, на 5-е сутки она уменьшалась у обеих линий растений. После возврата растений на +24 °С все показатели у всех линий растений возвращались к норме. По результатам опытов можно предположить, что экспрессирующийся трансфакторный белок *OSMYB4* влияет на экспрессию других генов, ослабляя или усиливая ее.

Ключевые слова: *Brassica napus*, рапс, трансгенные растения, *OsMyb4*, транскрипционный фактор, холодоустойчивость, совместимые осмолиты, ферменты антиоксидантной системы.

Под воздействием различных абиотических стрессорных факторов, таких как холод, засуха, засоление почвы, токсические концентрации тяжелых металлов и т.д., в растениях экспрессируются стресс-специфические гены, продукты которых вызывают физиологические и биохимические изменения [1; 2], направленные на повышение устойчивости растений к неблагоприятным воздействиям.

Холодовой стресс, с одной стороны, ингибирует метаболические реакции, а с другой стороны, индуцирует синтез различных веществ, с помощью которых растения могут защищаться. Например, начинают усиленно синтезироваться аминокислоты (пролин, аланин), четвертичные амины (бетаин, глицин-бетаин), сахара (глюкоза, фруктоза, сахароза), сахароспирты (маннит, сорбит и инозит), а также другие углеводы [3—5].

Известно, что одним из самых ранних эффектов при охлаждении растений является окислительный стресс, обусловленный накоплением активных форм кис-

* Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 10-04-00799-а, 09-08-01243-а, а также программы Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология».

Авторы благодарят сотрудников лаборатории зимостойкости, особенно Т.И. Трунову, И.Е. Мошкова, Г.П. Алиеву, М.С. Синькевича, помогавших им в этой работе, а также сотрудников лаборатории физиологических и молекулярных механизмов адаптации.

лорода (АФК). Для защиты от него в растениях существует антиоксидантная система, состоящая из ферментов (супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидазы и др.) [6], которые под воздействием холода также могут начать синтезироваться.

Очень часто сигналы от воздействия стрессорными факторами воспринимаются сначала генами трансфакторных белков, которые затем индуцируют или ингибируют экспрессию других генов. Гены трансфакторных белков составляют семейства, объединенные общими признаками. Одним из таких семейств является семейство MYB генов, общей особенностью белков которых является присутствие функционального ДНК-связывающего домена, консервативного среди животных, растений и дрожжей. К этому семейству относится ген *OsMyb4* (Y11414), выделенный из генома растений риса [7].

Роль этого гена в холодной акклиматизации и засухоустойчивости была выяснена по его сверхэкспрессии в трансгенных растениях *Arabidopsis thaliana*, показавших повышенную устойчивость и к холоду, и к засухе за счет различных биохимических и физиологических изменений, наблюдавшихся во время адаптации к неблагоприятным условиям окружающей среды [8; 9]. Способность гена риса *OsMyb4* повышать устойчивость растений к различным абиотическим факторам в *Arabidopsis* позволила нам предположить, что встраивание этого гена в растения рапса (*Brassica napus L.*) вызовет увеличение устойчивости таких трансгенных растений к действию пониженных температур. Нами были получены трансгенные растения ярового рапса сорта Вестар (Westar), содержащие ген *OsMyb4* под холод-индуцируемым промотором *cor15* [10].

Задачей настоящего исследования являлась проверка предположения, что трансгенные, нетрансформированные и находящиеся вне условий стресса растения рапса, содержащие трансген *OsMyb*, будут по-разному отвечать на действие низких положительных температур. Мы измеряли содержание растворимых Сахаров и пролина, про которые известно, что их аккумуляция в растительных тканях растений повышает стрессоустойчивость растений [3; 9; 11—13], ферментов антиоксидантной системы — супероксиддисмутаза (СОД) и пероксидазы, а также измеряли количество малонового диальдегида (МДА), образующегося при окислении липидов клеточных мембран под действием холода.

Материалы и методы. Объектом исследования были растения ярового рапса (*Brassica napus L.*) сорта Вестар (Westar) канадской селекции. Полученные через культуру тканей растения размножали черенкованием, укореняли и высаживали в сосуды с жидкой средой по Хогланду.

Растения выращивали при +24 °С в условиях фитотрона с фотопериодом 12/12 (день/ночь). При достижении растениями размера 5—6 листьев часть растений переносили в камеру с постоянной температурой +4 °С и тем же фотопериодом. Воздействие холодом проводили в течение 5 суток, затем растения возвращали на +24 °С. Пробы брали на 2-е, 5-е и 9-е сутки опыта, срезая по половине 3-го — 4-го листа сверху. Листовой материал взвешивали и замораживали в жидком азоте, сохраняя в дальнейшем при –70 °С. Для определения сахаров листовой материал фиксировали в 80% этаноле. Определение сахаров проводили с резорцином по Рое [14]. Содержание сахаров выражали в мкмоль на 1 г свежей мас-

сы. Свободный пролин (Про) определяли по методу Bates [15]. Содержание Про определяли по калибровочной кривой, используя для ее построения Про фирмы «Serva», и выражали в мкмоль на 1 г свежей массы. Содержание малонового диальдегида (МДА) определяли по методу Heath (16); содержание его выражали также в мкмоль на 1 г свежей массы. Определение содержания белка в ферментных препаратах проводили по методу Esen [17]. Активность СОД определяли по методу Beauchamp [18]. Определение активности пероксидазы проводили по методу, предложенному I. Ridge [19]. Активность ферментов выражали в единицах активности на мг белка.

Получение и проверка семян. Для создания трансгенных растений рапса по методу, разработанному Малышенко с соавторами [20], использовали генетическую конструкцию — COR15Myb4, предоставленную нам сотрудниками Института биологии и сельскохозяйственной биотехнологии (Милан, Италия) [8], с геном *OsMyb4*, выделенным из риса, и геном *ntpII*, придающим устойчивость к антибиотику канамицину (Км).

После определения в растениях-регенерантах наличия целевого гена *OsMyb4* с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) растения были высажены в почву, где они образовали семена. Для дальнейшей работы использовали семена одного из растений, которые были пророщены в условиях *in vitro*. Каждый из проростков был проверен на содержание и экспрессию целевого гена *OsMyb4*.

Выделение ДНК проводили по методу Fulton [21], растирая растительную ткань в жидком азоте. Для удаления РНК препарат ДНК обрабатывали РНКазой. Очищенную ДНК после оценки ее чистоты с помощью электрофореза в агарозном геле использовали для ПЦР, который проводили в амплификаторе «Терцик» (ДНК-технология, Пушкино), используя для обнаружения гена *OsMyb4* следующие праймеры: прямой 5'-CGGGAGGACGGACAACGAG-3' и обратный 5'-GGATGGCGGCGGACGAAC-3'. Подбор праймеров осуществляли с помощью программ Oligo 6.71 [22]. ПЦР проводили в объеме 25 мкл со следующими параметрами: 2 мин. при 94 °С, затем 30 циклов ПЦР, состоящих из 1 мин. денатурации при 92 °С, 1 мин. отжига при 68 °С и 1 мин. синтеза при 70 °С, затем 10 мин. при 70 °С. Длина амплифицированного фрагмента составляла 484 п.н.

Тотальную растительную РНК выделяли триозольным методом по Pawlowski et al., модифицированного J. Kang [23], гомогенизируя растительную ткань с жидким азотом. РНК очищали от примесей ДНК обработкой ДНК-азой. Концентрацию РНК измеряли на спектрофотометре «Specol-11» (Германия) при длине волны 260 нм. Реакцию обратной транскрипции проводили, как указано в руководстве фирмы Fermentas. В качестве внутреннего стандарта использовали последовательность гена R18 (18 S рибосомальной РНК).

Все опыты были поставлены в трехкратной последовательности, и результаты обработаны с использованием пакета программ Excel.

Результаты исследования. Работу по исследованию влияния охлаждения на растения проводили на трансгенных растениях 1-го поколения. Из работ многих авторов известно, что наследуемый ген меньше подвержен возможности «замолкания» экспрессии — феномену, часто возникающему в растениях нулевого поколения.

Многие исследователи, изучавшие процессы, происходящие в растениях различных видов при охлаждении [1; 3—5; 11; 24], сообщали, что растение в первую очередь отвечает на охлаждение накоплением совместимых осмолитов, в частности сахаров и Про. Мы сравнили накопление растворимых сахаров и Про при охлаждении у трансгенных и нетрансформированных растений. Часть растений была перенесена в камеру с температурой +4 °С. Вторая часть растений оставалась при +24 °С. На вторые сутки экспозиции у нетрансформированных растений на холоде наблюдали увеличение содержания растворимых сахаров: количество сахаров увеличилось в 16—18 раз на 2-е и 5-е сутки по сравнению с данными на начало опыта (рис. 1). У растений, остававшихся постоянно при 24 °С, содержание растворимых сахаров изменялось незначительно. При возврате растений на +24 °С содержание растворимых сахаров к 4-м суткам значительно уменьшалось (в 15 раз). Иная динамика наблюдалась в трансгенных растениях (рис. 1). При переносе их на +4 °С общее количество сахаров ко 2-м суткам уменьшалось в 5 раз, но затем (к 5-м суткам) их содержание возвращалось к начальным значениям. При возврате растений на +24 °С количество растворимых сахаров почти не изменялось.

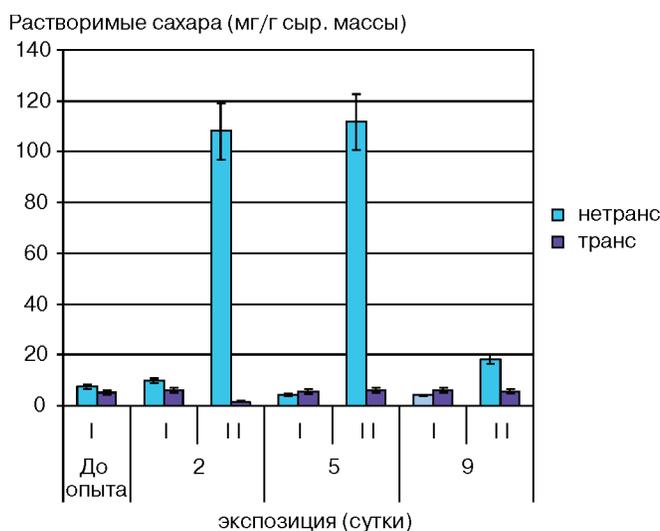


Рис. 1. Содержание общих растворимых сахаров в трансгенных и нетрансформированных растениях рапса:

I — растения, постоянно находившиеся при +24 °С;
II — растения, которые переносили на +4 °С и обратно

Содержание Про в нетрансформированных растениях увеличивалось за время экспонирования на холоде, достигая максимума уже ко 2-м суткам, и затем оставалось на одном и том же уровне, тогда как в трансгенных растениях его количество возрастало значительно, увеличиваясь на 2-е сутки приблизительно в 8 раз, а к 5-м суткам почти в 20 раз (рис. 2). При возврате растений на +24 °С содержание Про уменьшалось у всех исследованных растений.

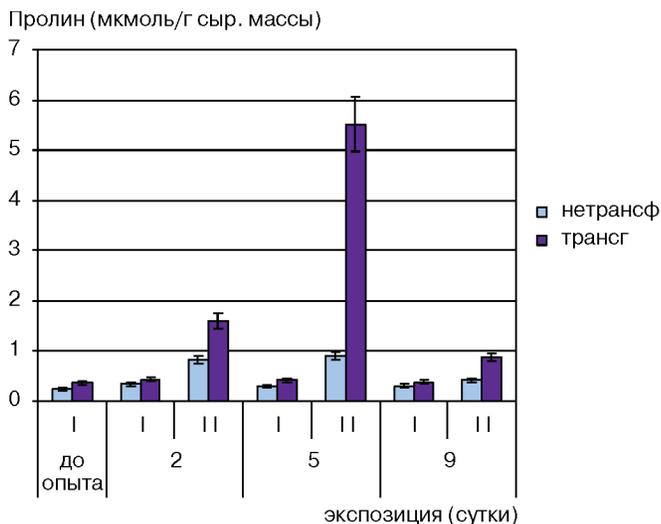


Рис. 2. Содержание пролина в трансгенных и нетрансформированных растениях рапса
Обозначения те же, что на рис. 1

Количество МДА в результате охлаждения в листьях нетрансформированных растений увеличивалась в значительной степени, тогда как у трансгенных растений оно снижалось (рис. 3). Различие между контролем и трансформантами в МДА при гипотермии достигало на 2-е сутки почти 125%, а на 5-е сутки — 135%. Спустя 4 суток после переноса растений в оптимальные для роста условия (+24°C) содержание МДА возвращалось почти до исходных значений у обоих исследуемых генотипов.

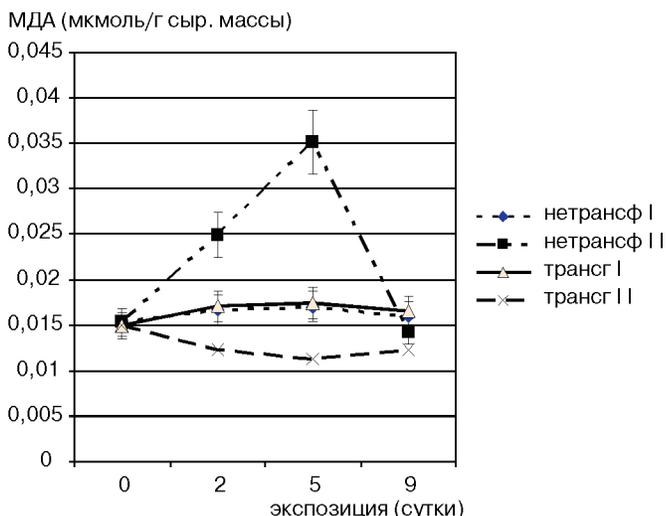


Рис. 3. Содержание малонового диальдегида в трансгенных и нетрансформированных растениях рапса:

нетрансф. I — растения, постоянно стоявшие при +24 °С;
 нетрансф. II — растения, которые переносили на +4 °С;
 трансг. I — растения, постоянно стоявшие при +24 °С;
 трансг. II — растения, которые переносили на +4 °С.

Эффективность антиоксидантной системы оценивали по активности ферментов — СОД (рис. 4) и гваякольной пероксидазы (рис. 5).

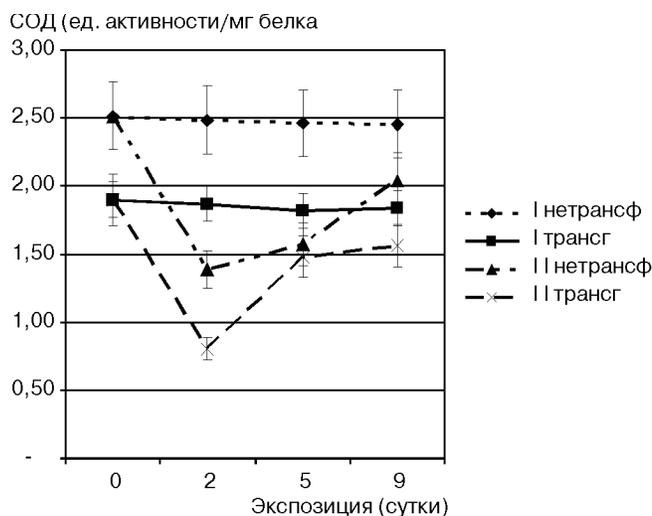


Рис. 4. Активность супероксиддисмутазы (СОД) в трансгенных и нетрансформированных растениях рапса
Обозначения те же, что на рис. 3

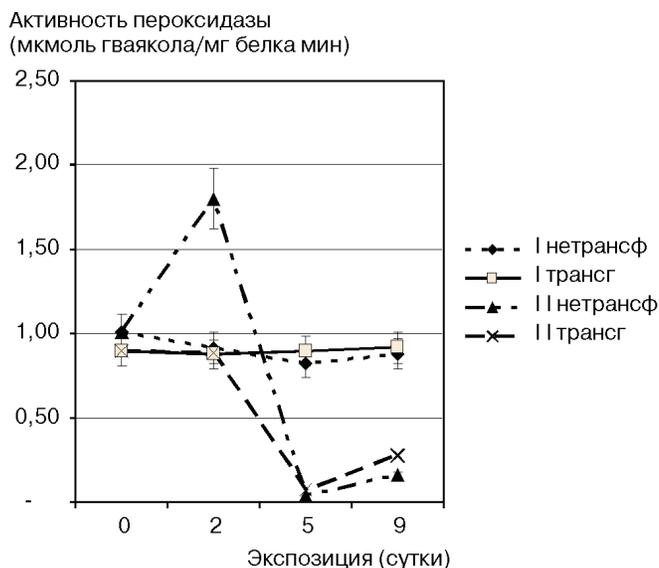


Рис. 5. Активность гваякольной пероксидазы в трансгенных и нетрансформированных растениях рапса
Обозначения те же, что на рис. 3

Согласно полученным данным, в оптимальных для роста условиях активность СОД у нетрансформированных растений была выше, чем у трансгенных (рис. 4). Измеренная через 2 суток после охлаждения активность фермента была у обоих исследуемых генотипов ниже, чем в оптимальных условиях, понизившись у нетрансформированных в 1,8 раза и у трансгенных растений — в 2,5 раза. На 5-е сут-

ки активность фермента СОД увеличивалась у обоих генотипов, однако у трансгенных растений ее значение было ближе к исходной, чем у контрольных. Спустя 4 суток после возвращения в нормальные температурные условия картина была той же: у трансгенных растений активность фермента была близка к исходной, а у контрольных — ниже.

В отличие от СОД, активность гваякольной пероксидазы при действии охлаждения у трансгенных растений через 2 суток практически не менялась, а у нетрансгенных растений она была выше почти в 2 раза, однако на 5-е сутки у обоих исследуемых генотипов активность резко падала. Спустя 4 суток после возвращения в нормальные температурные условия активность пероксидазы в небольшой степени восстанавливалась, при этом у трансгенных растений больше, чем у нетрансгенных (рис. 5).

Обсуждение результатов. Устойчивость растений к воздействию низких отрицательных температур может быть повышена в результате закаливания, которое сводится к предварительному воздействию на растения низких положительных температур в течение нескольких суток [25]. При этом повышается осмотическое давление, усиливается вязкость цитоплазмы, увеличивается количество дубильных веществ. Известно, что рапс и некоторые другие виды рода *Brassica* устойчивы к кратковременным заморозкам, т.е. у них имеются механизмы для быстрого начала процессов акклиматизации. В это время происходит накопление свободных сахаров и пролина [26; 27], которые предохраняют от замерзания внутриклеточную воду, а также защищают белковые соединения от коагуляции при замораживании. Образуя гидрофильные связи с белками цитоплазмы, они предохраняют их от возможной денатурации, повышают осмотическое давление и снижают температуру замерзания цитозоля.

Hurry et al. и Nam et al. [26; 27] предполагают, что, в отличие от теплолюбивых растений, для которых противодействие окислительному стрессу связано с повышенной активностью антиоксидантных ферментов, у типичных представителей холодостойких растений — рапса и капусты — акцент смещается в сторону низкомолекулярных веществ на фоне стабилизации активности СОД.

Данные, полученные ими как на растениях *in vitro*, так и в модельных опытах, позволяют считать, что такими веществами могут быть растворимые углеводы (например, глюкоза и сахароза), альтернативно участвующие в перехвате АФК.

Охлаждение в условиях наших опытов действует на антиоксидантные ферменты, понижая их активность у обоих типов растений, хотя понижение активности разнесено во времени (рис. 4, 5). Вполне вероятно, что у нетрансформированных растений клетки от АФК защищают именно сахара, концентрация которых резко увеличивается во время охлаждения (рис. 1), тогда как у трансформантов эту роль берет на себя Про, содержание которого в их тканях увеличивается до 20 раз (рис. 2).

Пролин, как известно, накапливается в высших растениях в ответ на экологические стрессы и, играя роль осмолита, служит также для стабилизации мембран, белков и т.д. [4; 5; 13; 24].

В процессах ответа растений на воздействие стрессовых факторов изменяется экспрессия множества генов, индуцируемая во многих случаях трансфакторными белками [1; 2; 28], в частности, белками MYB семейства. Vannini et al. [8] показали, что экспрессия гена *OsMyb4*, встроенного в растения *Arabidopsis*, индуцировалась под действием холода (4 °C), в свою очередь, индуцируя или ингибируя экспрессию других генов. При этом, по-видимому, усиливалась экспрессия генов, вызывающих синтез сахаров и Про, что было авторами показано в ходе изучения накопления этих веществ при охлаждении трансгенных растений арабидопсиса и яблони [8—12; 29].

Данные, полученные нами на трансгенных растениях, на которые воздействовали холодом, показывают, что гиперэкспрессия *OsMyb4* активизирует некоторые метаболические пути, обычно индуцируемые в ответ на холодовой стресс. И в дальнейших опытах мы попытаемся выяснить, какие гены индуцируются в растениях рапса трансфакторным белком MYB4.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Thomashow M.F. Plant cold acclimation: freezing tolerance genes and regulatory mechanisms // *Annu Rev Plant Physiol.* — 1999. — V. 50. — P. 571—599.
- [2] Viswanathan C., Zhu J.K. Molecular Genetic Analysis of cold-regulated gene transcription // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B.* — 2002. — V. 357. — P. 877—886.
- [3] Dionne J., Castonguay Y., Nadeau P., Desjardins Y. Freezing tolerance and carbohydrate changes during cold acclimation of green-type annual bluegrass (*Poa annua* L.) // *Crop Science.* — 2001. — V. 41. — P. 443—451.
- [4] Hare P.D., Cress W.A., Van Staden J. Dissecting the roles of osmolytes accumulation during stress // *Plant Cell Environ.* — 1998. — V. 21. — P. 535—553.
- [5] Patton A.J., Cunningham S.M., Volenec J.J., Reicher Z.J. Differences in freeze tolerance of zoysiagrasses: II. Carbohydrate and proline accumulation // *Crop Science.* — 2007. — V. 47. — P. 2170—2181.
- [6] Кузнецов В.В., Дмитриева Г.А. Физиология растений. — М.: Высшая школа, 2005.
- [7] Pandolfi D., Solinas G., Valle G., Coraggio I. Cloning of a cDNA encoding a novel myb Gene (accession no. y11414) highly expressed in cold stressed rice coleoptiles (PGR PGR97-079) // *Plant Physiol.* — 1997. — V. 114. — P. 747.
- [8] Vannini C., Locatelli F., Bracale M., Magnani E., Marsoni M., Osnato M., Mattana M., Baldoni E., Coraggio I. Overexpression of the rice *osmyb4* gene increases chilling and freezing tolerance of *Arabidopsis thaliana* plants // *Plant J.V.* — 2004. — V. 37. — P. 115—127.
- [9] Mattana M., Biazzi E., Consonni R., Locatelli F., Vannini C., Provera S., Coraggio I. Overexpression of *Osmyb4* enhances compatible solute accumulation and increases stress tolerance of *Arabidopsis thaliana* // *Physiol. Plant.* — 2005. — V. 125. — P. 212—223.
- [10] Радионов Н.В., Вагун И.В., Паскарел Н.К., Кислова У.Л., Ралдугина Г.Н., Маттана М., Ваннини К., Кузнецов В.В. Трансформация рапса (*Brassica napus*) и табака (*Nicotiana tabacum*) геном транс-фактора (*OsMyb4*) с целью получения трансгенных растений, устойчивых к неблагоприятным факторам / Современная физиология растений: от молекул до экосистем: Материалы докладов Международной конференции (в трех частях). Часть 2. — Сыктывкар, Коми НЦ УрО РАН, 2007. — С. 337.
- [11] Gusta L.V., Wilen R.W., Fu P. Low temperature stress tolerance: The role of abscisic acid, sugars, and heat-stable proteins // *HortScience.* — 1996. — V. 31. — P. 39—46.

- [12] *Vannini C., Iriti M., Bracale M., Locatelli F., Faoro F., Croce P., Pirona R., Di Maro A., Coraggio I., Genga A.* The ectopic expression of the rice *osmyb4* gene in *arabidopsis* increases tolerance to abiotic, environmental and biotic stresses // *Physiol Mol Plant Pathol.* — 2006. — V. 69. — P. 26—42.
- [13] *Кузнецов В.В., Шевакова Н.И.* Пролин при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция // *Физиология растений.* — 1999. — Т. 46. — С. 321—336.
- [14] *Туркина М.В., Соколова С.В.* Методы определения моносахаридов и олигосахаридов. — Биохимические методы в физиологии растений (сб.). — М.: Наука, 1971. — С. 7—34.
- [15] *Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D.* Rapid Determination of free proline for water stress studies // *Plant Soil.* — 1973. — V. 39. — P. 205—207.
- [16] *Heath R.L., Packer L.* Photoperoxidation in isolated chloroplasts. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation // *Arch. Biochem. and Biophys.* — 1968. — V. 125. — P. 189—198.
- [17] *Esen A.A.* Simple method for quantitative, semiquantitative, and qualitative assay of protein // *Anal. Biochem.* — 1978. — V. 89. — P. 264—273.
- [18] *Beauchamp Ch., Fridovich I.* Superoxide dismutase improved assays and an assay applicable to acrylamide gels // *Analytical Biochemistry.* — 1971. — V. 44. — P. 276—287.
- [19] *Ridge I., Osborne D.J.* Role of peroxidase when hydroxyproline-rich protein in plant cell wall is increased by ethylene // *Nature, New biol.* — 1971. — V. 229. — P. 205—208.
- [20] *Мальшиенко С.И., Тюлькина Л.Г., Зверева С.Д., Ралдугина Г.Н.* Получение трансгенных растений *Brassica campestris*, экспрессирующих ген *gfp* // *Физиология растений.* — 2003. — Т. 50. — С. 309—315.
- [21] *Fulton T.M., Chunwongse J., Tanksley S.D.* Microprep protocol for extraction of DNA from tomato and other herbaceous plants // *Plant Mol. Biol. Report.* — 1995. — V. 13. — P. 207—209.
- [22] URL: <http://www.bio-soft.net/pcr/Oligo.htm>
- [23] *Pawłowski K., Kunze R., De Vries S., Bisseling T.* Isolation of total, poly(A) and polysomal RNA from plant tissues. — *Plant Molecular Biology Manual D5*, 2nd ed. S. Gelvin B. and Schilperoort R. A., eds. — Netherlands, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. — 1994. — P. 1—13.
- [24] *Groppa M.D., Benavides M.P.* Polyamines and abiotic stress: recent advances // *Amino Acids.* — 2008. — V. 34. — P. 35—45.
- [25] *Туманов И.И.* Физиология закаливания и морозостойкости растений. — М.: Наука, 1979.
- [26] *Hurry V. M., Strand A, Tobiaeson M., Gardestrom P., Oquist G.* Cold hardening of spring and winter wheat and rape results in differential effects on growth, carbon metabolism, and carbohydrate content // *Plant Physiol.* — 1995. — V. 109. — P. 697—706.
- [27] *Nam J.H., Kang W.H., Kim I.S.* Effect of cold acclimation and deacclimation on freezing Tolerance, total RNA and soluble sugar in chinese cabbage // *J. Bio-Environ. Control.* — 2001. — V. 10. — P. 244—250.
- [28] *Latchman D.S.* Eukaryotic transcription factors. — N.Y.: Academic Press. — 2007.
- [29] *Pasquali G., Bircoliti S., Locatelli F., Baldoni E., Mattana M.* OsMyb4 Expression improves adaptive responses to drought and cold stress in transgenic apples // *Plant Cell Rep.* — 2008. — V. 27. — P. 1677—1686.

EFFECTS OF LOW TEMPERATURE ON THE TRANSGENIC RAPESEED PLANTS (*BRASSICA NAPUS L.*) WITH TRANSGENE OF TRANS-FACTOR *OSMYB4* FROM RICE

**A.M. Gomaa¹, N.V. Burmistrova²,
N.V. Radionav², G.N. Raldugina²**

¹*Department of botany, plant physiology, plant pathology and agrobiotechnology
Russian People's Friendship University
Miklucho-Maklay str., 8/2, Moscow, Russia, 117198*

²*Timirjazev Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Science
Botanicheskaya str., 35, Moscow, Russia, 127276*

The effects of cold stress on contents of proline, malondialdehyde (MDA), soluble sugars, enzyme activity of Superoxide Dismutase (SOD) and peroxidase investigated in transgenic rapeseed plants (*Brassica napus L.*) which contain gene *OsMyb4* and non-transgenic plants. Under the cold stress sugar content in transgenic plants was significantly lower than in non-transformed, however the proline content was higher. MDA content was increased in non-transgenic plants and was decreased in the transgenic. That the change in the activity of the SOD enzyme in the both lines of the plants was similar, and peroxidase activity for 2 days under cold stress in non-transgenic plants increased, remaining constant at the transgenic, but in 5 days decreased in both lines of plants. After the return of plants to +24 °C, all parameters in all plant lines returned to normal. According to the results of experiments suggests that the kind of protein content for expressing transgenic plants *OSMYB4* affects the other genes, low and high expression.

Key words: *Brassica napus*, rapeseed, transgenic plants, *OsMyb4*, transcription factor, cold tolerance, compatible osmolyte, enzymes of antioxidant system.