

doi 10.18699/vjgb-26-24

## Анализ экспрессии генов *PR-1*, *PR-2*, *PR-10*, хитиназ и хитиназа-подобных белков в корнях гороха под влиянием салициловой кислоты и метилжасмоната

А.М. Егорова  

Казанский институт биохимии и биофизики – структурное подразделение Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

 egorova@kibb.knc.ru

**Аннотация.** В реализации защитного ответа растений принимают участие стрессовые фитогормоны – салициловая и жасмоновая кислоты. Повышение содержания этих соединений при инфицировании растений патогенами приводит к активации сигнальных путей, в конечном итоге изменяющих экспрессию генов и синтез белков, среди которых выделяется группа индуцируемых, связанных с патогенезом белков (PR). Для оценки активации этих сигнальных путей используются фитогормон-зависимые, так называемые маркерные гены. В настоящей работе выявлены и охарактеризованы экспрессирующиеся в корнях гороха гены маркерных для салицилатного сигналинга белков PR-1. Проанализировано влияние салициловой кислоты и метилжасмоната на их экспрессию. Показано, что в корнях гороха ген *Psat1g156240*, кодирующий PR-1, входит в число наиболее значительно экспрессирующихся генов. Салициловая кислота не вызывала изменение экспрессии этого гена, в то же время он индуцировался метилжасмонатом через 24 ч. Анализ экспрессии других генов, кодирующих белки PR-1, показал, что салицилат не влиял на их экспрессию через 24 и 72 ч. При анализе экспрессии генов хитиназ и хитиназа-подобных белков первые не проявляли специфичность ответа на действие салицилата и метилжасмоната, за исключением гена *Psat1g131280*, экспрессия которого повышалась через 24 и 72 ч при действии метилжасмоната. Гены хитиназа-подобных белков, *Psat1g147600*, *Psat1g147560*, *Psat1g149120*, практически не экспрессировались в корнях гороха контрольного варианта и специфично индуцировались салициловой кислотой. Гены  $\beta$ -1,3-глюканаза не индуцировались исследованными фитогормонами в корнях. Полученные результаты позволили определить конкретные гены, кодирующие хитиназа-подобные белки, экспрессия которых индуцируется салициловой кислотой. Эти гены могут быть использованы для оценки активации салицилат-зависимого сигнального пути в корнях гороха.

**Ключевые слова:** маркерный ген; PR-белки; сигналинг; салициловая кислота; жасмоновая кислота; хитиназа-подобные белки; фитоиммунитет

**Для цитирования:** Егорова А.М. Анализ экспрессии генов *PR-1*, *PR-2*, *PR-10*, хитиназ и хитиназа-подобных белков в корнях гороха под влиянием салициловой кислоты и метилжасмоната. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2026;30(2):212-221. doi 10.18699/vjgb-26-24

**Финансирование.** Исследование выполнено за счет гранта РНФ и Академии наук Республики Татарстан по проекту № 24-26-20123.

## Analysis of *PR-1*, *PR-2*, *PR-10*, chitinases and chitinase-like proteins genes expression in pea roots under the action of salicylic acid and methyl jasmonate

А.М. Egorova  

Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics of Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, Kazan, Russia

 egorova@kibb.knc.ru

**Abstract.** Stress phytohormones – salicylic and jasmonic acids – participate in the plant defense response. The increase in the content of these compounds during plant infection by pathogens leads to the activation of signaling pathways, ultimately resulting in changes in gene expression and protein synthesis, including a group of pathogenesis-related (PR) proteins. Phytohormone-dependent so-called marker genes, are used to assess the activation of these signaling pathways. In this study, *PR-1* genes, which are markers for salicylic acid signaling and expressed in pea roots, were identified and characterized, and the effects of salicylic acid and methyl jasmonate on their expression were analyzed. It was shown that in pea roots, PR-1, encoded by the *Psat1g156240* gene, is among the most significantly expressed genes in the control. Salicylic acid did not cause a change in the expression of this gene; however, it was induced by methyl jasmonate after 24 h. Analysis of the expression of other genes encoding PR-1 proteins showed that

salicylate had no effect on their expression after 24 and 72 h. Analysis of the expression of genes encoding chitinases and chitinase-like proteins showed that the former do not exhibit specificity in response to the salicylate and methyl jasmonate, except for the *Psat1g131280*, the expression of which increased after 24 and 72 h of treatment with methyl jasmonate. Genes *Psat1g147600*, *Psat1g147560*, *Psat1g149120* encoding chitinase-like proteins, were barely expressed in pea roots in control, and were specifically induced by salicylic acid.  $\beta$ -1,3-glucanase genes were not induced in roots by the studied phytohormones. The obtained results allowed to reveal specific genes including chitinase-like proteins, the expression of which is salicylate-inducible. These genes can be used for the assessment of the activation of the salicylate-dependent signaling pathway in pea roots.

**Key words:** marker gene; PR proteins; signaling; salicylic acid; jasmonic acid, chitinase-like proteins; phytoimmunity

**For citation:** Egorova A.M. Analysis of *PR-1*, *PR-2*, *PR-10*, chitinases and chitinase-like proteins genes expression in pea roots under the action of salicylic acid and methyl jasmonate. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii* = *Vavilov J Genet Breed.* 2026;30(2):212-221. doi 10.18699/vjgb-26-24

## Введение

В течение жизни растения постоянно подвергаются воздействию патогенов и неблагоприятных факторов среды. Фитоиммунитет позволяет им справляться с атакой патогенов, преодолевать эти неблагоприятные условия и выживать. Кроме того, растения выработали широкий ряд защитных механизмов в ответ на действие стрессоров и атаку патогенов, включая патоген-специфичные гены устойчивости, антимикробные соединения, такие как фитоалексины, индуцируемые патогенами защитные белки (de Wit, 2007).

Салициловая (СК) и жасмоновая кислоты (ЖК) являются фитогормонами, участвующими в реализации защитного ответа растений (Ding P., Ding Y., 2020; Wang et al., 2021). Считается, что СК играет роль в защите от биотрофных и гемибитрофных патогенов, питающихся живыми тканями растений, тогда как ЖК – главным образом в защите от некротрофных патогенов и травоядных насекомых (Glazebrook, 2005). Атака растений патогенами приводит к образованию сигнальных молекул и активации сигнальных путей, среди которых ключевым является один из вышеупомянутых факторов иммунитета растений (Ding L.N. et al., 2022). Активация сигнального каскада вызывает изменение экспрессии генов и синтеза белков. Эти белки либо сами обладают антипатогенными свойствами, либо участвуют в синтезе защитных соединений.

При изучении ответа растений на действие различных факторов часто необходима оценка активации того или иного сигнального пути для выяснения особенностей реализации этого ответа. Для этого, как правило, используют анализ активации экспрессии так называемых маркерных генов. В основном эти гены охарактеризованы на модельных растениях, таких как арабидопсис, табак, рис, и преимущественно на надземных органах. Но не всегда результаты, полученные на модельных растениях, могут быть безоговорочно распространены на другие виды, в том числе важные сельскохозяйственные культуры. Так, на примере *Brassica rapa* было показано, что широко используемые маркерные гены салицилат- и жасмонат/этилен-зависимых сигнальных путей не проявляют специфичность экспрессии в ответ на действие данных гормонов и уровень их экспрессии различается в побегах и корнях (Papadopoulou et al., 2018). В другой работе на растениях *Capsicum annuum* продемонстрировано, что маркерный для салицилатного сигналинга ген *PR-1* является более

подходящим кандидатом для МеЖК/этилен-зависимого пути, но не для СК-пути (Perez-Aranda et al., 2024). В растениях *Brachypodium distachyon* анализ экспрессии генов *BdPRI-4* и *BdPRI-5* регулировался как СК, так и МеЖК (Kouzai et al., 2016).

В постгеномную эру благодаря развитию омиксных технологий стало возможно анализировать большие массивы данных, включая данные по экспрессии генов и синтезу белков. Имеющийся пул транскриптомных данных позволяет проанализировать полный спектр экспрессирующихся в конкретном органе генов, как конститутивных, так и изменяющихся под влиянием различных условий. Выявление и идентификация таких генов, играющих роль в адаптации растений, может быть полезна при селекции устойчивых сортов (Tuagi et al., 2022).

В реализации защитного ответа растений важную роль играют белки, индуцируемые патогенами и обладающие антипатогенным действием (PR-белки). В зависимости от особенностей их функционирования они подразделяются на 17 классов. Многие из PR-белков, наряду с индукцией патогенами, активируются стрессовыми фитогормонами (van Loon et al., 2006). Салицилат-зависимые гены имеют большое значение в реализации защитного ответа растений (Maleck et al., 2000; Blanco et al., 2009). Одним из наиболее известных примеров маркерного гена для салицилат-зависимого сигналинга является *PR-1* (Breen et al., 2017). Салициловой кислотой регулируются и другие представители PR-генов –  $\beta$ -1,3-глюканазы (*PR-2*) (Hennig et al., 1993; Jayaraj et al., 2004) и хитиназы (*PR-3*, *4*, *8*, *11*) (Davis et al., 2002; Тарчевский и др., 2010).

В последние годы большое внимание исследователи уделяют процессам, происходящим в ризосфере, взаимодействию корней растений с патогенами, симбиотическими бактериями и другими обитателями почвы. Часто от этих взаимоотношений зависит урожай, поскольку как поражение посевов патогенами корней, так и эффективность образования симбиозов (в отношении бобовых) с клубеньковыми бактериями оказывает значительное влияние на их рост и урожайность (Solomon et al., 2024). Кроме того, корни играют важную роль в жизни растений не только в качестве «добытчиков» воды и минеральных веществ, но и как участники защитного ответа. Некоторые соединения, обладающие антипатогенными свойствами, такие как алкалоиды и терпеноиды, синтезируются в корнях и транспортируются в надземные органы. В дополне-

ние к этому корни реализуют свои специфичные защитные механизмы (Erb, 2012).

Ранее в своей работе мы столкнулись с различием протеомного ответа листьев и корней гороха на действие экзогенной СК, что также может отражать разницу в стратегии их защитного ответа. В листьях гороха СК приводила к значительному повышению содержания ряда PR-белков – хитиназ,  $\beta$ -1,3-глюканаз (Тарчевский и др., 2010), тогда как в корнях наиболее существенно повышалось содержание хитиназа-подобных белков, относящихся к гликозидгидролазам семейства 18 (GH18) (Egorova, 2025). Естественно, что разные условия среды роста надземных органов и корней оказывают влияние на особенности их ответа на то или иное воздействие. Поэтому выявление особенностей ответа корней, в том числе на атаку патогенов, важно, поскольку может быть использовано при селекции устойчивых к почвенным патогенам сортов и для разработки агроботехнологических подходов для защиты посевов конкретных культур от почвенных патогенов. При изучении реализации защитного ответа корней и оценки активации того или иного сигнального пути необходимо использовать адекватные маркерные гены. В этой связи поиск, характеристика и особенности экспрессии этих генов, специфичность в отношении того или иного сигнального соединения представляются актуальной задачей.

В настоящей работе были выявлены и охарактеризованы гены *PR-1*, хитиназ и хитиназа-подобных белков,  $\beta$ -1,3-глюканаз и *PR-10* в корнях *Pisum sativum*. Проанализирован уровень экспрессии этих генов в контроле, а также при действии СК и метилжасмоната (МеЖК). Экспрессию генов оценивали методом сравнительного транскриптомного анализа контрольных и обработанных СК и МеЖК корней гороха.

## Материал и методы

**Выращивание и обработка растений.** Семена гороха (*P. sativum* L.) сорта Тан стерилизовали в 0.05 % растворе перманганата калия в течение 20 мин, затем тщательно промывали дистиллированной водой. Проращивали на влажной фильтровальной бумаге в течение 3 сут в темноте. Проростки выращивали на  $\frac{1}{4}$  среды Хогленда–Арнона при 16-часовом световом дне, 25 °С, 8-дневные проростки использовали для дальнейшего эксперимента. В опытном варианте в среду роста растений добавляли СК в концентрации 50 мкМ (Sigma, США) или МеЖК в концентрации 20 мкМ (Serva, Германия), которые растворяли в этиловом спирте (500 мкл). Контролем служили проростки, выращенные на  $\frac{1}{4}$  среды Хогленда–Арнона, в которую добавляли рассчитанное с учетом разбавления количество этилового спирта. Через 24 и 72 ч корни проростков гороха фиксировали в жидком азоте.

**Транскриптомный анализ.** Тотальную РНК выделяли из 200 мкг корней гороха с использованием реактива ExtractRNA («Евроген», Россия), по рекомендациям производителя. Концентрацию и качество РНК определяли с помощью нанофотометра Implen NanoPhotometer (Implen, GmbH) и в 1 % агарозном гель-электрофорезе. Получение

библиотек кДНК, высокоэффективное секвенирование и биоинформационный анализ полученных транскриптомных данных были выполнены компанией Novogene (Пекин, КНР).

Качество РНК было проверено на системе Agilent Nano 6000 Assay Kit of the Bioanalyzer 2100 (Agilent, США). мРНК была очищена от тотальной РНК с помощью поли-Т олигонуклеотидированных магнитных частиц. Фрагментацию проводили с использованием двухвалентных катионов при повышенной температуре в X5 First Strand Synthesis Reaction Buffer (Thermo Fisher, США). Первая цепь кДНК была синтезирована со случайным гексапраймером и M-MuLV обратной транскриптазой (Thermo Fisher, США). Вторую цепь кДНК синтезировали при участии ДНК полимеразы I и РНКазы H. После аденилирования 3'-концов фрагментов ДНК адаптер со структурой шпильки был лигирован для подготовки к гибридизации. Для отбора фрагментов кДНК предпочтительной длины (370–420 п. н.) фрагменты библиотеки были очищены с помощью системы AMPure XP system (Beckman Coulter, Беверли, США). После проведения ПЦП с универсальными праймерами продукты были очищены и качество библиотеки оценено на системе Agilent Bioanalyzer 2100 (Agilent, США).

После генерации кластеров cBot с набором TruSeq PE Cluster Kit v3-cBot-HS (Illumina, США) библиотека была секвенирована на платформе Illumina NovaSeq 6000 (Illumina, США) и получены парные прочтения длиной 150 п. н. Сырые данные были обработаны на языке perl. На этом этапе после удаления прочтений, содержащих адаптеры, поли-N-содержащие последовательности и прочтения плохого качества, были получены чистые данные и просчитано содержание Q20, Q30 и GC. Для последующего анализа использовались очищенные данные высокого качества. В качестве референсного был выбран геном *Pisum sativum\_v1a* (Kreplak et al., 2019) (<https://urgi.versailles.inra.fr/Species/Pisum>), индексирование референсного генома и выравнивание полученных чистых прочтений с ним выполнено с помощью Hisat2 v2.0.5.

Подсчет числа прочтений, сопоставленных с каждым геном, проводили в featureCounts v1.5.0-p3. FPKM каждого гена был просчитан на основе длины гена и количества прочтений, совпавших с этим геном. FPKM (число прочтений на тысячу нуклеотидов на миллион картированных прочтений) учитывает влияние глубины секвенирования и длины гена на количество прочтений одновременно (Trapnell et al., 2010).

Анализ дифференциальной экспрессии генов осуществляли в пакете DESeq2 R (1.20.0) (Love et al., 2014). Полученные значения *p* были скорректированы с помощью подхода Бенджамини–Хохберга для контроля частоты ложных совпадений. Гены со значением  $p \leq 0.05$  и значением  $\log_2 FC \geq 1$  считались дифференциально экспрессируемыми. В каждом варианте было взято минимум три биологические повторности.

Экспрессию генов в данной работе оценивали с помощью значения FPKM, поскольку не все проанализи-

рованные гены входили в число дифференциально экспрессирующихся. На рисунках представлены средние значения экспрессии, выраженные в ФПКМ, и стандартные отклонения. Дифференциально экспрессирующиеся гены отмечены звездочкой (\*). Данные, полученные в результате секвенирования, доступны в NCBI (BioProject PRJNA1358375).

**Биоинформационный анализ.** Поиск BLAST по сказанным последовательностям генов и белков гороха проводили на основе данных генома гороха *P. sativum*\_v.1a (Kreplak et al., 2019) в базе EnsemblePlants ([https://plants.ensembl.org/Pisum\\_sativum/Info/Index](https://plants.ensembl.org/Pisum_sativum/Info/Index)). Множественное выравнивание белковых последовательностей осуществляли в программе MEGA v. 10.2.6 (Kumar et al., 2018). Полные аминокислотные последовательности белков для множественного выравнивания были получены из баз данных UniProt и NCBI. Доменная организация белков проанализирована и предсказана с использованием Conserved Domains Database (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>).

## Результаты

Проведен транскриптомный анализ трех групп корней проростков гороха: контрольные растения и растения под влиянием СК (24 и 72 ч) и МеЖК (24 и 72 ч). Каждый вариант содержал от 36 до 57 млн прочтений. Количество, качество и характеристики полученных данных приведены в Приложении<sup>1</sup>.

Выравнивание полученных прочтений с референсным геномом гороха *P. sativum*\_v1a (Kreplak et al., 2019) позволило выявить около 20 тыс. транскриптов. Через 24 ч СК вызывала изменение экспрессии 1476 генов: у 635 генов экспрессия повышалась, у 841 – понижалась. Через 72 ч действия СК изменялась экспрессия 2420 генов: экспрессия 977 генов повышалась, 1443 – понижалась. При действии МеЖК через 24 ч изменялась экспрессия 3384 генов: у 1546 повышалась и у 1838 генов понижалась. Через 72 ч МеЖК приводил к изменению экспрессии 5462 генов: экспрессия 2218 генов повышалась, 3244 – понижалась.

Нами выполнен анализ экспрессии в корнях гороха генов PR-1, хитиназ и хитиназа-подобных белков,  $\beta$ -1,3-глюканаз и PR-10 для оценки возможности их использования в качестве маркерных для салицилатного сигналинга и выявления конкретных изоформ, индуцируемых именно СК. Выбор генов этих групп белков обусловлен тем, что для PR-1, хитиназ,  $\beta$ -1,3-глюканаз и PR-10 показана индукция СК (Davis et al., 2002; Li et al., 2005; Spoel et al., 2007; Xu et al., 2024) и антипатогенная активность (van Loon et al., 2006), тогда как хитиназа-подобные белки значительно индуцируются в корнях гороха СК (Егорова, 2025). Оценка экспрессии выявленных генов проводилась под влиянием СК и МеЖК, поскольку они участвуют в защитном ответе растений и определяют характер реализуемой защитной стратегии.

<sup>1</sup> Приложение см. по адресу: <https://vavilovj-icg.ru/download/pict-2026-30/appx15.xlsx>

## Экспрессия генов PR-1 в корнях гороха

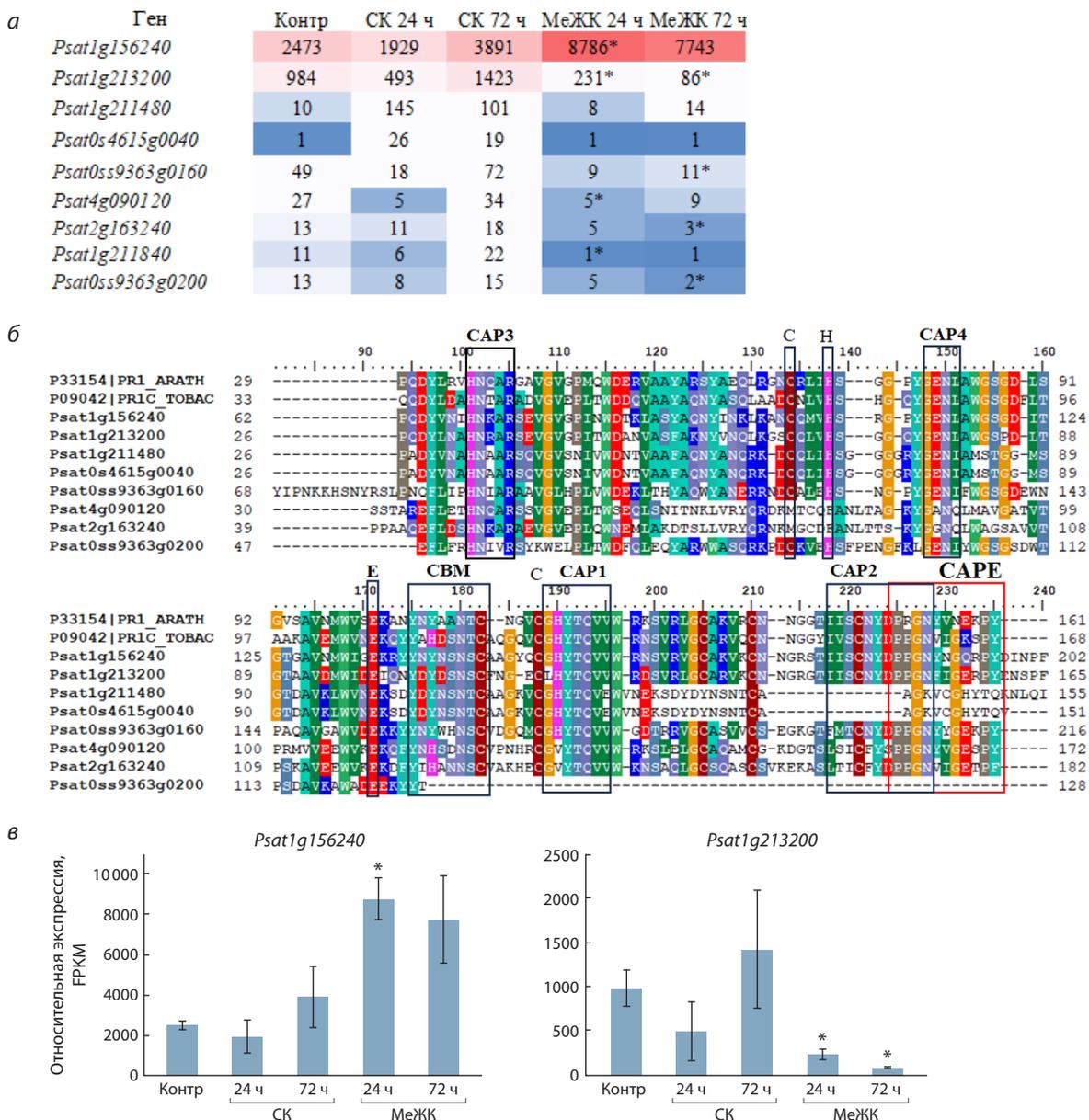
PR-1 относится к семейству обогащенных цистеином секреторных белков (CAP). В геноме гороха к этому семейству предположительно относится 12 последовательностей. Поиск BLAST в геномной базе данных гороха с использованием охарактеризованных последовательностей PR-1 из табака (P09042) и арабидопсиса (AT2G14610) позволил выявить сходные с ними последовательности. Анализ экспрессии выявленных в геноме гороха последовательностей PR-1 генов показал, что в корнях гороха контрольного варианта экспрессируются девять генов CAP (рис. 1, а). Экспрессия генов *Psat1g104840*, *Psat6g069320* и *Psat1g211920* была низкой (<10 ФПКМ) и далее в этой работе не обсуждается.

Для характеристики белков гороха было проведено множественное выравнивание аминокислотных последовательностей белков, кодируемых экспрессирующимися в корнях гороха генами PR-1, с охарактеризованными белками из арабидопсиса и табака. Так, белок, кодируемый наиболее значительно экспрессирующимся геном *Psat1g156240*, имеет 60 % идентичности аминокислотной последовательности с белком PR-1 P09042 *Nicotiana tabacum* и AtPR1 (AT2G14610) арабидопсиса. Белок, кодируемый геном *Psat1g213200*, имеет 66.4 % идентичности с PR1A\_ТОВАК (P08299) и 65 % с AtPR1. CAP белки характеризуются наличием консервативных CAP мотивов (CAP1–CAP4) и CAPE пептида (Han et al., 2023). Два PR-1 белка, кодируемых генами *Psat1g211480* и *Psat0s4615g0040*, имеют усеченный CAPE пептид и не содержат CAP2 мотива (см. рис. 1, б), тогда как другие консервативные мотивы присутствуют в их последовательности.

В контрольном варианте уровень экспрессии генов *Psat1g156240* и *Psat1g213200* самый высокий по сравнению с другими генами PR-1. Было оценено влияние СК и МеЖК на экспрессию генов PR-1 (см. рис. 1, а). Экспрессия гена *Psat1g156240* регулировалась МеЖК и повышалась через 24 ч. СК не вызывала достоверного изменения экспрессии этого гена. Экспрессия гена *Psat1g213200* достоверно не изменялась под влиянием СК, но снижалась под влиянием МеЖК (см. рис. 1, в). Уровень экспрессии генов *Psat1g211480* и *Psat0s4615g0040* в контроле был ниже по сравнению с двумя предыдущими генами и не изменялся ни при действии СК, ни при действии МеЖК в изученных временных точках. Экспрессия других CAP генов – *Psat0ss9363g0160*, *Psat4g090120*, *Psat2g163240*, *Psat1g211840* и *Psat0ss9363g0200* – в контрольном варианте была низкой, не изменялась под влиянием СК, но снижалась при действии МеЖК (см. рис. 1, а).

## Экспрессия генов хитиназ и хитиназа-подобных белков в корнях гороха

Хитиназы (ЕС 3.2.1.14) относятся к гликозил-гидролазам семейств 18 (GH18) и 19 (GH19). Гены хитиназ *Psat3g016800*, *Psat1g084840*, *Psat2g145680*, *Psat3g016400*, *Psat5g291720*, *Psat2g128240*, *Psat4g175600*, *Psat4g175720*, *Psat0s794g0040*, *Psat5g256760*, *Psat5g298520*,



**Рис. 1.** Обогащенные цистеином секреторные белки, гены которых экспрессируются в корнях гороха. *а* – экспрессирующиеся в корнях гороха CAP белки (PF 00188) в контрольном варианте (Контр) и под влиянием СК (50 мкМ) и МеЖК (20 мкМ) в течение 24 и 72 ч. Цветовая шкала представляет наиболее сильно (красный цвет) и слабо (синий) экспрессируемые гены, уровень экспрессии выражен в FPKM; *б* – множественное выравнивание аминокислотных последовательностей PR-1 белков арабидопсиса (P33154), табака (P09042) и последовательностей CAP белков, экспрессирующихся в корнях гороха. Черными рамками показаны консервативные CAP1–CAP4 домены, консервативные цистеин, гистидин, глутаминовая кислота, кавеоллин-связывающий мотив (CBM), ответственный за связывание со стеролами. CAPE пептид выделен красной рамкой; *в* – дифференциально-экспрессирующиеся CAP гены в корнях гороха при действии СК и МеЖК.

Здесь и на рис. 2–4: представлены средние значения ± стандартные отклонения трех-пяти биологических повторностей; \*  $p < 0.05$  и значение  $\log_2 FC \geq 1$  – значимые различия экспрессии генов в вариантах СК и МеЖК по сравнению с контролем.

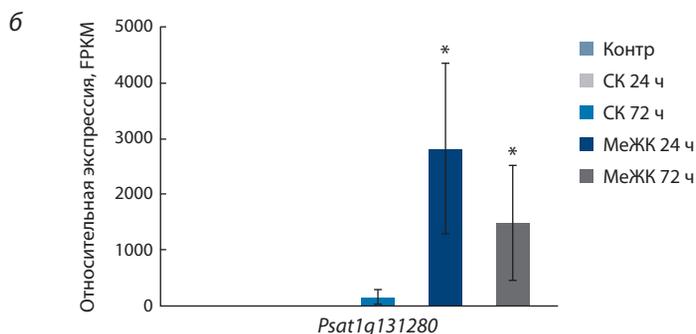
*Psat1g169040*, *Psat4g171240*, *Psat4g177760*, *Psat5g020240*, *Psat6g166120*, *Psat6g194800* не экспрессируются в корнях, или уровень их экспрессии низкий (<10 FPKM), в связи с чем далее в данной работе не обсуждаются (см. Приложение).

Анализ транскриптомных данных показал, что в корнях гороха экспрессируются шесть генов хитиназ, кодирую-

щих белки семейства GH18, и два гена семейства GH19, которые, в свою очередь, принадлежат к разным группам PR-белков (рис. 2, *а*). Все экспрессирующиеся в корнях гороха хитиназы GH19 содержат лизоцим-подобный домен, включая наиболее значительно экспрессируемый ген *Psat5g000800* (см. рис. 2, *а*). Ни СК, ни МеЖК не вызвали достоверного изменения экспрессии этого гена.

**а**

Ген	Контр	СК 24 ч	СК 72 ч	МеЖК 24 ч	МеЖК 72 ч	Суперсемейство	pfam	Консервативный домен	Группа PR
GH19 <i>Psat5g000800</i>	586	1500	827	721	1367	Lysozyme-like domain	PF00182	ChtBD1_GH19	PR-3
<i>Psat4g103520</i>	9	23	26	13	3	Lysozyme-like domain	PF00182	Glyco_hydro_19	PR-3
GH18 <i>Psat3g005200</i>	57	119	73	23	11*	Glycoside hydrolase	PF00704	GH18_hevamine_XipI_class_III	PR-8
<i>Psat6g194720</i>	35	31	49	37	36	Glycoside hydrolase	PF00704	GH18_hevamine_XipI_class_III	PR-8
<i>Psat6g194680</i>	7	29	132	22	64	Glycoside hydrolase	PF00704	GH18_hevamine_XipI_class_III	PR-8
<i>Psat1g131280</i>	13	16	152	2805*	1482*	Glycoside hydrolase	PF00704	GH18_hevamine_XipI_class_III	PR-8
<i>Psat0s5923g0040</i>	20	35*	20	38*	25	Glycoside hydrolase	PF00704	GH18_plant_chitinase_class_V	PR-11
<i>Psat3g007040</i>	142	125	119	157	118	Endochitinase-like	PF00187	Barwin domain	PR-4



**Рис. 2.** Влияние салициловой кислоты и метилжасмоната на экспрессию генов хитиназ в корнях гороха. *а* – экспрессирующиеся в корнях гороха гены хитиназ GH18 и GH19 в контрольном варианте (Контр) и под влиянием СК (50 мкМ) и МеЖК (20 мкМ) в течение 24 и 72 ч. Цветовая шкала представляет наиболее сильно (красный цвет) и слабо (синий) экспрессируемые гены, уровень экспрессии выражен в FPKM; *б* – экспрессия гена *Psat1g131280* в корнях гороха при действии СК и МеЖК.

Экспрессия второго гена представителей хитиназ GH19, *Psat4g103520*, значительно ниже по сравнению с уровнем экспрессии первого гена и тоже не изменялась под влиянием СК и МеЖК.

Уровень экспрессии генов семейства GH18 в контрольном варианте ниже по сравнению с представителями GH19. Хитиназы группы PR-3 содержат геветин-подобный домен. Экспрессия генов *Psat3g005200* и *Psat6g194720*, кодирующих кислые эндохитиназы, не изменялась при действии салицилата, но экспрессия *Psat3g005200* значимо снижалась под влиянием МеЖК через 72 ч. Экспрессия гена *Psat6g194680* не изменялась ни при действии СК, ни МеЖК (см. рис. 2, *а*). Экспрессия гена *Psat1g131280*, аннотированного как геветамин А, существенно повышалась под влиянием МеЖК через 24 и 72 ч (см. рис. 2). Экспрессия *Psat0s5923g0040*, принадлежащего GH18, незначительно повышалась при воздействии СК и МеЖК через 24 ч (см. рис. 2, *а*).

Другой представитель GH18 семейства белков, продукт гена *Psat3g007040*, наряду с хитин-связывающим доменом содержит домен барвина. Белки с этим доменом относят к PR-4 белкам. Ни СК, ни МеЖК не оказывали влияния на экспрессию этого представителя хитиназ гороха (см. рис. 2, *а*).

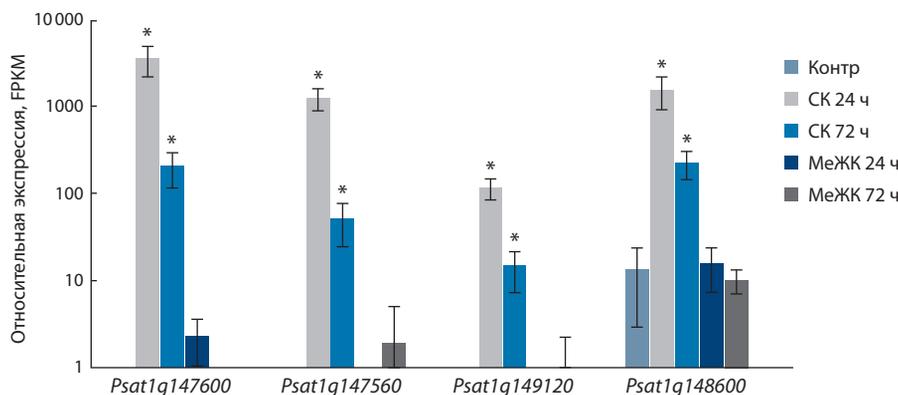
В предыдущей работе (Егорова, 2025) нами была показана значительная индукция в корнях гороха салицилатом группы белков, относящихся к семейству GH18. Идентифицированные белки кодируются генами *Psat1g147560*, *Psat1g147600*, *Psat1g149120* и *Psat1g148600*. Анализ хитиназной активности этих белков показал, что они не

способны разрушать хитин и относятся к хитиназа-подобным белкам. Проведенный транскриптомный анализ влияния на экспрессию этих генов СК позволил выявить значительное повышение экспрессии всех четырех генов при действии СК, тогда как в контроле экспрессия была на низком уровне (Егорова, 2025). В настоящей работе было проанализировано действие МеЖК, который не оказывал влияния на экспрессию всех четырех проанализированных генов (рис. 3).

### Экспрессия генов PR-2 и PR-10 в корнях гороха

В листьях гороха ранее нами была выявлена индукция β-1,3-глюканаз (PR-2) и белка устойчивости к болезни (PR-10) при действии СК (Тарчевский и др., 2010). Протеомный анализ белков корней гороха, обработанных СК, показал повышение содержания белков устойчивости к болезни и АБК-зависимых белков, относящихся к группе PR-10, но мы не обнаружили изменения содержания β-1,3-глюканаз (Тарчевский и др., 2010). В геноме гороха был проведен поиск генов, кодирующих эти белки, и на основе транскриптомных данных проанализирована их экспрессия. В этой части работы мы сделали акцент лишь на наиболее значительно экспрессирующихся в корнях гороха генах (>100 FPKM), поскольку у генов с более низким уровнем экспрессии не происходило достоверного изменения при действии фитогормонов (см. Приложение).

В геноме гороха было выявлено более 50 генов β-1,3-глюканаз, из которых в корнях на разном уровне экспрессировалось примерно 20 генов (см. Приложение). Ген *Psat1g161880* экспрессировался в контрольном варианте на



**Рис. 3.** Экспрессия генов хитиназа-подобных белков при действии СК (50 мкМ) и МеЖК (20 мкМ) в корнях гороха в течение 24 и 72 ч (FPKM).

		Контр	СК 24 ч	СК 72 ч	МеЖК 24 ч	МеЖК 72 ч	Аннотация
<i>PR-2</i>	<i>Psat1g161880</i>	522	310	460	135	174	Glucan endo-1,3-beta-glucosidase
	<i>Psat3g165080</i>	83	40	124	59	39	Glucan endo-1,3-beta-glucosidase 11
	<i>Psat7g179640</i>	3	145*	27	2	9	Glucan endo-1,3-beta-glucosidase
<i>PR-10</i>	<i>Psat4g180800</i>	4654	4696	5324	4000	3280	Pathogenesis-related protein Bet v I family ABR17
	<i>Psat1g156920</i>	2405	2555	2784	1744	2675	
	<i>Psat1g157240</i>	567	1247	1627*	422	579	Disease resistance response protein Pi176
	<i>Psat1g157360</i>	362	1065	841	327	293	Disease resistance response protein Pi49
	<i>Psat1g157200</i>	118	418	252	198	48	Disease resistance response protein Pi49

**Рис. 4.** Список некоторых наиболее значительно (>100 FPKM) экспрессирующихся в корнях гороха генов *PR-2* ( $\beta$ -1,3-глюканаз) и *PR-10* в контрольном варианте (Контр) и под влиянием СК (50 мкМ) и МеЖК (20 мкМ) в течение 24 и 72 ч. Цветовая шкала представляет наиболее сильно (красный цвет) и слабо (синий) экспрессируемые гены, уровень экспрессии выражен в FPKM.

высоком уровне, и его экспрессия не изменялась при действии СК и МеЖК (рис. 4). Экспрессия гена *Psat3g165080* не зависела от СК и МеЖК. Ген *Psat7g179640* практически не экспрессировался в контроле, но активировался СК через 24 ч (см. рис. 4).

В корнях гороха экспрессируется более 10 генов *PR-10* белков. Именно представитель этой группы белков, кодируемый геном *Psat4g180800*, является наиболее сильно экспрессируемым в корнях гороха. Ни СК, ни МеЖК не оказывали значительного влияния на экспрессию этого гена. Ген *Psat1g156920*, продукт которого аннотирован как АБК-зависимый белок 17, тоже экспрессировался на высоком уровне, и его экспрессия не изменялась под влиянием изученных фитогормонов. Через 72 ч СК вызывала повышение экспрессии гена *Psat1g157240*, продукт которого аннотирован как белок устойчивости к болезни (см. рис. 4).

### Обсуждение

При работе с немодельными растениями, к которым относятся основная часть сельскохозяйственных видов, возникают расхождения с результатами, установленными на модельных видах растений. В частности, данные о маркерных генах, активация экспрессии которых связана с включением того или иного фитогормон-зависимого сигнального пути, получены именно на модельных растени-

ях арабидопсиса, табака и др. Особенно это важно при изучении защитных механизмов растений, поскольку полученные данные могут быть использованы при разработке подходов для защиты этих видов и при селекции устойчивых сортов.

Основной объект наших исследований – горох. Ранее нами изучено влияние факторов фитоиммунитета – салициловой и жасмоновой кислот – на белковый спектр корней, выявлены наиболее значительные изменения содержания белков (Тарчевский и др., 2010; Яковлева и др., 2013; Egorova, 2025). В настоящей работе проведен анализ экспрессии некоторых классов *PR*-генов и генов хитиназа-подобных белков для оценки их ответа на действие салицилата и МеЖК, поскольку мы столкнулись с необходимостью выбора адекватного маркерного гена для оценки активации СК-зависимого пути в корнях гороха. Выбор времени обработки фитогормонами связан с тем, что при изучении протеомов через 72 ч мы наблюдали изменения белкового спектра, кроме того, нас интересовали процессы, происходящие на начальных этапах активации фитогормон-зависимых защитных механизмов.

В первую очередь была проанализирована экспрессия общепринятого СК-зависимого маркерного гена *PR-1* и его паралогов в корнях гороха. Впервые белок *PR-1* был выделен из листьев табака, инфицированных ВТМ, его

количество могло составлять до 2 % от общего содержания белков инфицированных листьев табака (Alexander et al., 1993). Но не все изоформы PR-1 белков индуцировались при инфицировании. В ряде ранних работ продемонстрировано, что PR-1 белки принимают участие в процессах роста и развития растений, не связанных с патогенезом, – они накапливались в стареющих листьях растений (Fraser, 1981), чашелистиках развивающихся цветов (Lotan et al., 1989). Сверхэкспрессия *PR-1* приводит к повышению устойчивости к грибам (Sarowar et al., 2005) и бактериям (Kiba et al., 2007), у трансгенов повышалась устойчивость к патогенам (Ali et al., 2018). Защитные функции PR-1 белков могут быть связаны со способностью взаимодействовать со стеролами и с присутствием в их структуре CAPE пептида (Breen et al., 2017; Han, 2023). Было показано, что CAPE пептид индуцируется в растениях механическим повреждением и обработкой МеЖК, отщепляется от PR-1 белков с N-конца по консервативной CNYx последовательности и активирует экспрессию генов ингибиторов протеаз, *PR-1*, *PR-7*, *ERF-5* (Chen et al., 2014). Наиболее значительно экспрессируемые в корнях гороха гены PR-1 белков *Psat1g156240* и *Psat1g213200* содержат CAPE пептид и последовательность CNYx (см. рис. 1, б). Экспрессия гена *Psat1g156240* достоверно повышалась при действии МеЖК через 24 ч (см. рис. 1, в). Именно этот ген исследователи используют в качестве маркерного СК-зависимого в листьях гороха (Barba-Espín et al., 2011). Полученные нами результаты показывают, что по крайней мере в корнях гороха *Psat1g156240* не может быть использован для оценки активации салицилатного сигналинга. В то же время белки, кодируемые генами *Psat1g211480* и *Psat0s4615g0040*, содержат усеченный CAPE пептид и не содержат последовательность CNYx. В корнях гороха эти гены экспрессируются на низком уровне и не меняют интенсивность экспрессии при действии СК в изученных нами временных точках (см. рис. 1, а, б). Возможно, активация генов происходит раньше 24 ч. Активация *PR-1* генов МеЖК и другими воздействиями была продемонстрирована и ранее. Активация *AtPRB1* гена МеЖК/этиленом была показана на корнях арабидопсиса (Santamaria et al., 2001). В рисе изоформы *PR-1* генов по-разному отвечали на действие СК и МеЖК, кроме того, наблюдалась разница в уровне их экспрессии в зависимости от органа растения (Mitsuhara et al., 2008).

Хитиназы (ЕС 3.2.1.14) относятся к гликозил-гидролазам, главным образом семейств 18 и 19, разрушают хитин, являющийся компонентом клеточных стенок многих патогенных микроорганизмов (Davies, Henrissat, 1995). Поскольку в листьях гороха хитиназы были одними из наиболее значительно индуцируемых белков при действии СК (Тарчевский и др., 2010), мы проанализировали экспрессию генов хитиназ в корнях. Помимо того, индукция салицилатом транскриптов хитиназ была показана у сосны (Davis et al., 2002).

Согласно транскриптомным данным, в корнях гороха ген *Psat5g000800* экспрессируется на высоком уровне, кодирует белок, относящийся к семейству GH19, и характеризуется наличием лизоцим-подобного домена. Экспрес-

сия этого гена не чувствительна к действию СК и МеЖК (см. рис. 2, а). Предполагается, что хитиназы GH19 играют важную роль в защите от почвенных патогенов, секретируются в ризосферу (De-la-Peña et al., 2010). Число экспрессирующихся в корнях гороха хитиназ, кодирующих белки семейства GH18, больше по сравнению с GH19, а уровень их экспрессии ниже по сравнению с генами, кодирующими хитиназы GH19. Кроме того, и они не проявляют специфичность регуляции изученными фитогормонами, за исключением гена *Psat1g131280*, экспрессия которого достоверно повышалась при действии МеЖК (см. рис. 2). Полученные данные показывают, что экспрессирующиеся в корнях гороха изоформы хитиназ не могут быть использованы для оценки активации СК-зависимого пути.

Наряду с генами, кодирующими активные хитиназы, в геномах растений присутствуют гены, кодирующие неактивные хитиназа-подобные белки. В ходе эволюционного процесса эти белки утратили способность расщеплять хитин, в том числе из-за аминокислотных замен в каталитически важных доменах и в связи с особенностями формирования третичной структуры (Kesari et al., 2015). Мы выявили значительную активацию экспрессии четырех генов хитиназа-подобных белков в корнях гороха под действием СК (рис. 3). Причем эти гены являлись салицилат-зависимыми и не изменялись под влиянием МеЖК, что делает их хорошими кандидатами для использования в качестве маркеров СК-зависимого пути в корнях гороха, за исключением гена *Psat1g148600*. Мы показали, что содержание белка, кодируемого геном *Psat1g148600*, повышается при действии донора NO – нитропруссиде Na (Egorova, Tarchevsky, 2024).

Растительные  $\beta$ -1,3-глюканазы работают совместно с хитиназами, катализируя деградацию компонентов клеточных стенок микроорганизмов  $\beta$ -1,3-глюканов и хитина (Jongedijk et al., 1995; Dos Santos, Franco, 2023). В корнях гороха наиболее значительно экспрессируется по одному гену  $\beta$ -1,3-глюканаз и хитиназ; уровень экспрессии этих генов схож. Если некоторые гены, кодирующие хитиназы, индуцируются СК и МеЖК, то  $\beta$ -1,3-глюканаза, кодируемая геном *Psat7g179640*, индуцируется только СК. Экспрессия других генов  $\beta$ -1,3-глюканаз существенно не изменялась ни при действии СК, ни МеЖК.

Как уже упоминалось выше, *Psat4g180800*, кодирующий PR-10 белок, демонстрирует самый высокий уровень экспрессии среди генов в корнях гороха: СК и МеЖК не вызывали изменения его экспрессии. Другие гены, кодирующие PR-10 белки, главным образом нечувствительны к этим фитогормонам, и их экспрессия не изменяется под их влиянием.

Одним из признаков PR-белков является их индукция при инфицировании патогенами или под влиянием стрессовых фитогормонов. Анализ транскриптомных данных и полученные нами ранее протеомные данные показывают, что в корнях гороха экспрессия и содержание некоторых представителей PR-белков высокие – гены, кодирующие некоторые PR-белки, входят в число наиболее значительно экспрессируемых генов в контроле. Среди них ген PR-1 – *Psat1g156240*, гены PR-10 белков – *Psat4g180800*

и *Psat1g156920*. Это может быть связано с тем, что корни находятся в постоянном контакте с обитателями ризосферы, среди которых присутствуют и патогенные организмы. Имеющийся в корнях пул белков с антипатогенной активностью позволяет им быть подготовленными к возможному инфицированию, а при активации салицилат-зависимого защитного ответа происходит активация экспрессии и синтеза хитиназа-подобных белков, выступающих, по всей вероятности, в качестве дополнительного механизма защитного ответа корней гороха.

## Заключение

Проведенный в настоящей работе транскриптомный анализ базовой и индуцируемой экспрессии некоторых генов PR-белков в корнях гороха показал, что при выборе маркерных генов для оценки активации салицилатного сигналинга следует обращать внимание на особенности их экспрессии в конкретном органе. Корни гороха отличаются высоким уровнем экспрессии генов и содержания антипатогенных белков. Транскриптомный анализ показал, что наиболее значительно экспрессируемые в корнях гороха гены PR-1 не могут быть использованы для оценки активации салицилатного сигналинга. Хитиназы и  $\beta$ -1,3-глюканазы, индуцируемые СК в листьях гороха, не проявляют специфичность в ответ на ее действие в корнях. Полученные данные демонстрируют разницу ответа листьев и корней на действие стрессовых фитогормонов. На примере растений гороха установлено, что гены салицилат-индуцируемых в листьях антипатогенных белков в корнях экспрессируются на высоком уровне в нормальных условиях, тогда как к салицилат-индуцируемым относятся гены, кодирующие хитиназа-подобные белки, которые также обладают антипатогенной активностью (неопубликованные данные). Кроме того, гены хитиназа-подобных белков практически не экспрессируются в контроле и индуцируются именно салицилатом, что является преимуществом при анализе экспрессии этих генов с целью определения активации салицилат-зависимого сигнального пути.

## Список литературы / References

- Тарчевский И.А., Яковлева В.Г., Егорова А.М. Салицилат-индуцированная модификация протеомов у растений (обзор). *Прикладная биохимия и микробиология*. 2010;46(3):263-275 [Tarchevsky I.A., Yakovleva V.G., Egorova A.M. Salicylate-induced modification of plant proteomes (review). *Appl Biochem Microbiol*. 2010;46(3):241-252. doi 10.1134/S0003683810030026]
- Яковлева В.Г., Егорова А.М., Тарчевский И.А. Протеомный анализ влияния метилжасмоната на корни проростков гороха. *Доклады Академии наук*. 2013;449(2):236-239. doi 10.7868/s0869565213080288 [Yakovleva V.G., Egorova A.M., Tarchevsky I.A. Proteomic analysis of the effect of methyl jasmonate on pea seedling roots. *Dokl Biochem Biophys*. 2013;449:90-93. doi 10.1134/S1607672913020105]
- Alexander D., Goodman R.M., Gut-Rella M., Glascock C., Weymann K., Friedrich L., Maddox D., Ahl-Goy P., Luntz T., Ward E. Increased tolerance to two oomycete pathogens in transgenic tobacco expressing pathogenesis-related protein 1a. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993;90(15):7327-7331. doi 10.1073/pnas.90.15.7327
- Ali S., Ganai B.A., Kamili A.N., Bhat A.A., Mir Z.A., Bhat J.A., Tyagi A., Islam S.T., Mushtaq M., Yadav P., Rawat S., Grower A. Pathogenesis-related proteins and peptides as promising tools for engineering plants with multiple stress tolerance. *Microbiol Res*. 2018;212-213:29-37. doi 10.1016/j.micres.2018.04.008
- Barba-Espin G., Clemente-Moreno M.J., Alvarez S., Garcia-Legaz M.F., Hernández J.A., Díaz-Vivancos P. Salicylic acid negatively affects the response to salt stress in pea plants. *Plant Biol (Stuttg)*. 2011; 13(6):909-917. doi 10.1111/j.1438-8677.2011.00461.x
- Blanco F., Salinas P., Cecchini N.M., Jordana X., Van Hummelen P., Alvarez M.E., Holuigue L. Early genomic responses to salicylic acid in Arabidopsis. *Plant Mol Biol*. 2009;70:79-102. doi 10.1007/s11103-009-9458-1
- Breen S., Williams S.J., Outram M., Kobe B., Solomon P.S. Emerging insights into the functions of pathogenesis-related protein 1. *Trends Plant Sci*. 2017;22(10):871-879. doi 10.1016/j.tplants.2017.06.013
- Chen Y.L., Lee C.Y., Cheng K.T., Chang W.H., Huang R.N., Nam H.G., Chen Y.R. Quantitative peptidomics study reveals that a wound-induced peptide from PR-1 regulates immune signaling in tomato. *Plant Cell*. 2014;26(10):4135-4148. doi 10.1105/tpc.114.131185
- Davies G., Henrissat B. Structures and mechanisms of glycosyl hydrolases. *Structure*. 1995;3:853-859. doi 10.1016/S0969-2126(01)00220-9
- Davis J.M., Wu H., Cooke J.E., Reed J.M., Luce K.S., Michler C.H. Pathogen challenge, salicylic acid, and jasmonic acid regulate expression of chitinase gene homologs in pine. *Mol Plant Microbe Interact*. 2002;15(4):380-387. doi 10.1094/MPMI.2002.15.4.380
- De-la-Peña C., Badri D.V., Lei Z., Watson B.S., Brandão M.M., Silva-Filho M.C., Sumner L.W., Vivanco J.M. Root secretion of defense-related proteins is development-dependent and correlated with flowering time. *J Biol Chem*. 2010;285(40):30654-30665. doi 10.1074/jbc.M110.119040
- de Wit P.J.G.M. How plants recognize pathogens and defend themselves. *Cell Mol Life Sci*. 2007;64:2726-2732. doi 10.1007/s00018-007-7284-7
- Ding L.N., Li Y.T., Wu Y.Z., Li T., Geng R., Cao J., Zhang W., Tan X.L. Plant disease resistance-related signaling pathways: recent progress and future prospects. *Int J Mol Sci*. 2022;23(24):16200. doi 10.3390/ijms232416200
- Ding P., Ding Y. Stories of salicylic acid: a plant defense hormone. *Trends Plant Sci*. 2020;25(6):549-565. doi 10.1016/j.tplants.2020.01.004
- Dos Santos C., Franco O.L. Pathogenesis-related proteins (PRs) with enzyme activity activating plant defense responses. *Plants (Basel)*. 2023;12(11):2226. doi 10.3390/plants12112226
- Egorova A.M. Unexpected response of pea roots to the salicylic acid: induction of chitinase-like proteins compared to chitinases. *J Plant Growth Regul*. 2025;44:3164-3178. doi 10.1007/s00344-024-11607-1
- Egorova A.M., Tarchevsky I.A. Proteome analysis of the nitric oxide donor effect on *Pisum sativum* L. roots. *Appl Biochem Microbiol*. 2024;60(6):1292-1300. doi 10.1134/S0003683824604694
- Erb M. The role of roots in plant defence. In: Méridon J., Ramawat K. (Eds) *Plant Defence: Biological Control. Progress in Biological Control*. Vol. 12. Springer, Dordrecht, 2012;291-309. doi 10.1007/978-94-007-1933-0\_12
- Fraser R.S.S. Evidence for the occurrence of the "pathogenesis-related" proteins in leaves of healthy tobacco plants during flowering. *Physiol Plant Pathol*. 1981;19(1):69-76. doi 10.1016/S0048-4059(81)80009-4
- Glazebrook J. Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. *Annu Rev Phytopathol*. 2005;43:205-227. doi 10.1146/annurev.phyto.43.040204
- Han Z., Xiong D., Schneider R., Tian C. The function of plant PR1 and other members of the CAP protein superfamily in plant-pathogen interactions. *Mol Plant Pathol*. 2023;24(6):651-668. doi 10.1111/mpp.13320
- Hennig J., Dewey R.E., Cutt J.R., Klessig D.F. Pathogen, salicylic acid and developmental dependent expression of a  $\beta$ -1,3-glucanase/GUS gene fusion in transgenic tobacco plants. *Plant J*. 1993;4(3):481-493. doi 10.1046/j.1365-313x.1993.04030481.x
- Jayaraj J., Muthukrishnan S., Liang G., Velazhahan R. Jasmonic acid and salicylic acid induce accumulation of  $\beta$ -1,3-glucanase and

- thaumatin-like proteins in wheat and enhance resistance against *Stagonospora nodorum*. *Biologia Plantarum*. 2004;48:425-430. doi 10.1023/B:BIOP.0000041097.03177.2d
- Jongedijk E., Tigelaar H., van Roekel J.S.C. Bres-Vloemans S.A., Dekker I., van den Elzen P.J.M., Cornelissen B.J.C., Melchers L.S. Synergistic activity of chitinases and  $\beta$ -1,3-glucanases enhances fungal resistance in transgenic tomato plants. *Euphytica*. 1995;85:173-180. doi 10.1007/BF00023946
- Kesari P., Patil D.N., Kumar P., Tomar S., Sharma A.K., Kumar P. Structural and functional evolution of chitinase-like proteins from plants. *Proteomics*. 2015;15:1693-1705. doi 10.1002/pmic.201400421
- Kiba A., Nishihara M., Nakatsuka T., Yamamura S. Pathogenesis-related protein 1 homologue is an antifungal protein in *Wasabia japonica* leaves and confers resistance to *Botrytis cinerea* in transgenic tobacco. *Plant Biotechnol*. 2007;24:247-253. doi 10.5511/plantbiotechnology.24.247
- Kouzai Y., Kimura M., Yamanaka Y., Watanabe M., Matsui H., Yamamoto M., Ichinose Y., Toyoda K., Onda Y., Mochida K., Noutoshi Y. Expression profiling of marker genes responsive to the defence-associated phytohormones salicylic acid, jasmonic acid and ethylene in *Brachypodium distachyon*. *BMC Plant Biol*. 2016;16:59. doi 10.1186/s12870-016-0749-9
- Kreplak J., Madoui M.A., Capal P., Novák P., Labadie K., Aubert G., Bayer P.E., ... Lichtenzweig J., Macas J., Doležel J., Wincker P., Burstin J. A reference genome for pea provides insight into legume genome evolution. *Nat Genet*. 2019;51:1411-1422. doi 10.1038/s41588-019-0480-1
- Kumar S., Stecher G., Li M., Nknyaz C., Tamura K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Mol Biol Evol*. 2018;35(6):1547-1549. doi 10.1093/molbev/msy096
- Li Y.F., Zhu R., Xu P. Activation of the gene promoter of barley  $\beta$ -1,3-glucanase isoenzyme GIII is salicylic acid (SA)-dependent in transgenic rice plants. *J Plant Res*. 2005;118:215-221. doi 10.1007/s10265-005-0213-7
- Lotan T., Ori N., Fluhr R. Pathogenesis-related proteins are developmentally regulated in tobacco flowers. *Plant Cell*. 1989;1(9):881-887. doi 10.1105/tpc.1.9.881
- Love M.I., Huber W., Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol*. 2014;15:550. doi 10.1186/s13059-014-0550-8
- Maleck K., Levine A., Eulgem T., Morgan A., Schmid J., Lawton K.A., Dang J.L., Dietrich R.A. The transcriptome of *Arabidopsis thaliana* during systemic acquired resistance. *Nat Genet*. 2000;26:403-410. doi 10.1038/82521
- Mitsuhashi I., Iwai T., Seo S., Yanagawa Y., Kawahigasi H., Hirose S., Ohkawa Y., Ohashi Y. Characteristic expression of twelve rice *PR1* family genes in response to pathogen infection, wounding, and defense-related signal compounds (121/180). *Mol Genet Genomics*. 2008;279(4):415-427. doi 10.1007/s00438-008-0322-9
- Papadopoulou G.V., Maedicke A., Grosser K., van Dam N.M., Martínez-Medina A. Defence signalling marker gene responses to hormonal elicitation differ between roots and shoots. *AoB Plants*. 2018;10(3):ply031. doi 10.1093/aobpla/ply031
- Perez-Aranda A., Loera-Muro A., Caamal-Chan M.G. Expression analysis of defense signaling marker genes in *Capsicum annuum* in response to phytohormones elicitation. *Mol Biol Rep*. 2024;52(1):9. doi 10.1007/s11033-024-10071-0
- Santamaria M., Thomson C.J., Read N.D., Loake G.J. The promoter of a basic *PR1*-like gene, *AtPRB1*, from *Arabidopsis* establishes an organ-specific expression pattern and responsiveness to ethylene and methyl jasmonate. *Plant Mol Biol*. 2001;47:641-652. doi 10.1023/A:1012410009930
- Sarowar S., Kim Y.J., Kim E.N., Kim K.D., Hwang B.K., Islam R., Shin J.S. Overexpression of a pepper basic pathogenesis-related protein 1 gene in tobacco plants enhances resistance to heavy metal and pathogen stresses. *Plant Cell Rep*. 2005;24:216-224. doi 10.1007/s00299-005-0928-x
- Solomon W., Janda T., Molnár Z. Unveiling the significance of rhizosphere: implications for plant growth, stress response, and sustainable agriculture. *Plant Physiol Biochem*. 2024;206:108290. doi 10.1016/j.plaphy.2023.108290
- Spoel S.H., Johnson J.S., Dong X. Regulation of tradeoffs between plant defenses against pathogens with different lifestyles. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007;104(47):18842-18847. doi 10.1073/pnas.0708139104
- Trapnell C., Williams B.A., Pertea G., Davis A., Kwan G., van Baren M.J., Salzberg S.L., Wold B.J., Pachter L. Transcript assembly and quantification by RNA-Seq reveals unannotated transcripts and isoform switching during cell differentiation. *Nat Biotechnol*. 2010;28:511-515. doi 10.1038/nbt.1621
- Tyagi P., Singh D., Mathur S., Singh A., Ranjan R. Upcoming progress of transcriptomics studies on plants: an overview. *Front Plant Sci*. 2022;13:1030890. doi 10.3389/fpls.2022.1030890
- van Loon L.C., Rep M., Pieterse C.M. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. *Annu Rev Phytopathol*. 2006;44:135-162. doi 10.1146/annurev.phyto.44.070505.143425
- Wang Y., Mostafa S., Zeng W., Jin B. Function and mechanism of jasmonic acid in plant responses to abiotic and biotic stresses. *Int J Mol Sci*. 2021;22(16):8568. doi 10.3390/ijms22168568
- Xu L.N., Jiang X.R., Lin J.X., Li K., Javed T., Zhao J.-Y., Gao S.-J. Pathogenesis-related protein 10 family genes involved in sugarcane responses to biotic stressors and salicylic acid. *J Plant Growth Regul*. 2004;43:3907-3919. doi 10.1007/s00344-024-11371-2

**Конфликт интересов.** Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 20.03.2025. После доработки 09.11.2025. Принята к публикации 11.11.2025.