Вавиловский журнал генетики и селекции
Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2025;29(8):1213-1220

doi 10.18699/vjgb-25-128

Дифференциальный профиль экспрессии генов транскрипционных факторов подсемейства DREB2 в динамике солевого стресса и послестрессового восстановления растений томата

М.А. Филюшин, А.В. Щенникова, Е.З. Кочиева

Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва, Россия
michel7753@mail.ru

Аннотация. В ответ на стрессовое воздействие в геноме растения происходят эпигенетические модификации, вместе формирующие стрессовую память, которая может наследоваться и повышает эффективность защитной реакции растения на повторные стрессовые события. Гены, чья экспрессия становится мишенью эпигенетических модификаций, служат биомаркерами стрессовой памяти. Их характерными признаками считаются профиль экспрессии, различающийся между ответами на первичное и повторное стрессовые события, а также длительное удерживание изменений после отмены стресса. Томат (*Solanum lycopersicum* L.) – важная овощная культура, урожайность которой снижается при засолении почв. К генам, индуцируемым солевым стрессом, относятся гены транскрипционных факторов подсемейства DREB2 (DEHYDRATION-RESPONSIVE ELEMENT-BINDING PROTEIN 2). В настоящей работе проведена оценка генов *SlDREB2* томата как возможных генов-маркеров памяти о солевом стрессе. Для этого в листьях растений двух сортов, Гном и Отрадный, с разной степенью солеустойчивости была определена экспрессия генов *SlDREB16*, *20*, *22*, *24*, *43*, *44* и *46* в ответ на 24-ч воздействие NaCl и в динамике продолжительного (14 дней) послестрессового периода восстановления. Выявлены значительные генотип-специфичные колебания уровней транскриптов генов как в контроле, так и в подвергнутых стрессу растениях. Показано, что в процессе длительной фазы памяти экспрессия генов возвращается к контрольным показателям либо временно (*SlDREB24*, *44* и *46* у среднеустойчивого сорта Гном через 7 дней; через 14 дней экспрессия снова меняется), либо медленно (*SlDREB16* и *43* у высокоустойчивого сорта Отрадный через 14 дней восстановления). Было определено, что только два гена, *SlDREB22* и *46*, имеют сходный между сортами паттерн колебаний экспрессии в динамике стресса и восстановления, а ген *SlDREB20* не экспрессируется ни в контроле, ни в опыте. Полученные данные позволили предположить, что гены подсемейства *SlDREB2*, кроме *SlDREB20*, участвуют в ответе *S. lycopersicum* на солевой стресс генотип-специфичным образом и могут служить маркерами стрессовой памяти, сцепленными с эпигенетической регуляцией адаптации томата к солевому стрессу. Гены *SlDREB16*, *28*, *43* и *44* могут вносить вклад в определение различий в механизме регуляции ответа растений на солевой стресс между солеустойчивыми генотипами *S. lycopersicum*. Полученные результаты могут стать основой для дальнейших исследований роли генов *SlDREB2* в эпигенетической регуляции адаптации растений томата к солевому стрессу, что может быть использовано в селекции солеустойчивых сортов.

Ключевые слова: томат; *Solanum lycopersicum* L.; солевой стресс; стрессовая память; фаза памяти; транскрипционные факторы SlDREB2; экспрессия генов; гены-кандидаты стрессовой памяти

Для цитирования: Филюшин М.А., Щенникова А.В., Кочиева Е.З. Дифференциальный профиль экспрессии генов транскрипционных факторов подсемейства DREB2 в динамике солевого стресса и послестрессового восстановления растений томата. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2025;29(8):1213-1220. doi 10.18699/vjgb-25-128

Финансирование. Работа выполнена при поддержке РНФ № 24-16-00043 (анализ экспрессии генов) и Министерства науки и высшего образования РФ (подготовка растений).

Differential expression profile of DREB2 subfamily transcription factor genes in the dynamics of salt stress and post-stress recovery in tomato plants

M.A. Filyushin, A.V. Shchennikova, E.Z. Kochieva

Institute of Bioengineering, Research Center of Biotechnology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia
michel7753@mail.ru

Abstract. In response to stress, epigenetic modifications occur in the plant genome, which together form a stress memory that can be inherited and increases the efficiency of the plant's defense response to repeated stress events. Genes whose expression becomes the target of epigenetic modifications serve as biomarkers of stress memory. Their characteristic features are considered to be an expression profile that differs between responses to primary and repeated stress events,

© Филюшин М.А., Щенникова А.В., Кочиева Е.З., 2025
Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0

as well as long-term retention of changes after the stress is canceled. Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is an important vegetable crop whose yield decreases with soil salinity. Genes induced by salt stress include genes encoding transcription factors of the DREB2 (DEHYDRATION-RESPONSIVE ELEMENT-BINDING PROTEIN 2) subfamily. In this work, we evaluated the *SlDREB2* genes of tomato as possible marker genes of salt stress memory. The expression of the genes *SlDREB16*, *20*, *22*, *24*, *43*, *44* and *46* was determined in the leaves of two plant varieties (Gnom, Otradnyi) with different degrees of salt tolerance in response to 24 h of NaCl exposure and in the dynamics of a long-term (14 days) post-stress recovery period. Significant genotype-specific fluctuations in the levels of gene transcripts were revealed both in the control and in the stressed plants. It was shown that during the long-term memory phase, gene expression returns to the control values either temporarily (*SlDREB24*, *44* and *46* in the moderately resistant Gnom variety after 7 days; after 14 days, the expression changed again) or slowly (*SlDREB16* and *43* in the highly resistant Otradnyi variety after 14 days of recovery). Only two genes (*SlDREB22* and *46*) showed a similar between varieties pattern of expression fluctuations in the dynamics of stress and recovery, and the *SlDREB20* gene was not expressed in either the control or the experiment. The data obtained suggest that the *SlDREB2* subfamily genes (except *SlDREB20*) are involved in the response of *S. lycopersicum* to salt stress in a genotype-specific manner and can serve as markers of stress memory linked to the epigenetic regulation of tomato adaptation to salt stress. The *SlDREB16*, *28*, *43* and *44* genes may contribute to the determination of differences in the mechanism of regulation of plant response to salt stress between salt-tolerant genotypes of *S. lycopersicum*. The obtained results can form the basis for further studies of the role of *SlDREB2* genes in the epigenetic regulation of tomato plant adaptation to salt stress, which can be used in breeding salt-tolerant varieties.

Key words: tomato; *Solanum lycopersicum* L.; salt stress; stress memory; memory phase; SlDREB2 transcription factors; gene expression; potential stress memory genes

For citation: Filyushin M.A., Shchennikova A.V., Kochieva E.Z. Differential expression profile of DREB2 subfamily transcription factor genes in the dynamics of salt stress and post-stress recovery in tomato plants. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Vavilov J Genet Breed*. 2025;29(8):1213-1220. doi 10.18699/vjgb-25-128

Введение

Фенотип растения формируется при совместном действии генотипа и эпигенома, где последний определяет пластичность фенотипа в зависимости от условий окружающей среды, в том числе в ответ на воздействие различных стрессовых факторов, часто носящее возвратный характер (Villagómez-Aranda et al., 2022). Первичное, на протяжении жизненного цикла, переживание растением стресса (прайминг) индуцирует изменения в эпигеноме: метилирование ДНК, посттрансляционные модификации гистонов, активность некодирующих РНК и другие, которые позволяют более эффективно реагировать на повторный стресс (стимул) (Villagómez-Aranda et al., 2022).

Набор возникших при прайминге эпигенетических меток назван стрессовой памятью растения, которая может сохраняться в течение жизненного цикла организма и наследоваться (Villagómez-Aranda et al., 2022; Zuo et al., 2023). Таким образом, стрессовая память растения – запечатленный в эпигеноме первичный опыт эффективного регулирования стрессового ответа, который при повторном стрессовом событии способен быстро запустить необходимые для защиты транскриптомные и метаболомные изменения (Villagómez-Aranda et al., 2022; Zuo et al., 2023).

Биомаркерами стрессовой памяти принято считать отдельные гены (метаболиты), чья экспрессия (метаболизм) после прайминга стала мишенью эпигенетических модификаций (Aina et al., 2024). Таких маркеров может быть немало. К примеру, стрессовую память о засухе у модельного вида *Arabidopsis thaliana* L. связывают более чем с 2000 генами (Ding et al., 2013), сравнение списка которых с аналогичным набором у *Zea mays* L. сократило перечень до 556 генов как возможных межвидовых маркеров памяти о засухе (Ding et al., 2014; Virlouvet et al., 2018; Jacques et al., 2021). При отборе кандидатов в маркеры памяти руководствуются тем, что уровень и/или направление изменения экспрессии генов (содержания метаболитов) различается между ответами на прайминг и стимул, тогда как гены (метаболиты), не связанные с памятью, одинаково реагируют на прайминг и стимул (Friedrich et al., 2019; Bäurle, Trindade, 2020; Jacques et al., 2021). Еще один важный критерий: в период между повторами стресса (восстановление, или фаза памяти) экспрессия генов-маркеров (содержание метаболитов-маркеров) длительно поддерживается на измененном уровне, в то время как экспрессия генов (содержание метаболитов), не связанных с памятью, быстро возвращается к контрольным значениям (Friedrich et al., 2019; Bäurle, Trindade, 2020; Jacques et al., 2021).

Как пример использования критериев можно привести метаболомный анализ реакции галофита *Limonium angustebracteatum* на повторы засухи и солевого стресса, который выявил в качестве потенциальных маркеров стрессовой памяти различные органические осмолиты и антиоксидантные соединения, включая флавоноиды (Calone et al., 2023). Транскриптомные исследования картофеля (*Solanum tuberosum* L.) в условиях возврата засухи определили потенциальные гены памяти, в том числе гены, вовлеченные в фотосинтез, углеводный обмен, метаболизм флавоноидов и т. д. (Chen et al., 2019).

С учетом наблюдаемых ассоциаций различных значимых процессов со стрессовой памятью растений изучение стрессового влияния на экспрессию генов конкретных метаболических или сигнальных путей может способствовать конкретизации генов-маркеров. К примеру, анализ динамики экспрессии семейства генов халконсинтаз *AsCHS* (флавоноидный путь) у чеснока (*Allium sativum* L.) при воздействии абиотических факторов выделил только один из восьми генов как возможный биомаркер (Anisimova et al., 2025). Другой пример: отслеживание изменений экспрессии различных *PR*-генов в зубках чеснока в ответ на прайминг элиситором (хитозан) и биотический стимул (заражение *Fusarium proliferatum*) помогло определить гены-кандидаты для дальнейшей верификации в качестве

маркеров памяти устойчивости *A. sativum* к фузариозу (Filyushin et al., 2022).

Отобранные маркеры стрессовой памяти – как гены, так и метаболиты – могут быть использованы для выявления у сельскохозяйственных растений доноров искомого признака условной (эпигенетической) устойчивости к целевым типам стрессоров (Aina et al., 2024). В генной инженерии растений изменение экспрессии генов-маркеров может способствовать получению стрессоустойчивых генотипов. К примеру, сверхэкспрессия отдельных генов семейства *WRKY* повышает резистентность растений томата (*Solanum lycopersicum* L.) к фитопатогенам (Bai et al., 2018), а генов *DREB1A* и *OsPIL1* – устойчивость *A. thaliana* к засухе (Kudo et al., 2017).

Томат (*S. lycopersicum* L.) – важная овощная культура, преимущественно выращиваемая в защищенном грунте, вследствие чего одним из главных факторов снижения ее урожайности считается засоленность почв (Guo et al., 2022). Известны как эпигенетические метки, связанные с формированием памяти о солевом стрессе в растении (Gallusci et al., 2023), так и механизмы солеустойчивости томата (Guo et al., 2022). Среди генов, экспрессия которых индуцируется солевым стрессом, присутствуют гены, кодирующие транскрипционные факторы (ТФ) семейства DREB (суперсемейство APETALA2/Ethylene Responsive Factor (AP2/ERF)), в частности подсемейства DREB2 (DEHYDRATION-RESPONSIVE ELEMENT-BINDING PROTEIN 2) (Bai et al., 2018; Guo et al., 2022). Геном томата содержит семь генов *SlDREB2* (Maqsood et al., 2022).

Целью нашей работы стала оценка генов *SlDREB2* как возможных генов-маркеров памяти о солевом стрессе путем профилирования экспрессии генов в растениях двух сортов *S. lycopersicum* в ответ на стимул NaCl и в динамике длительного восстановления после отмены стресса (фаза памяти).

Материалы и методы

Для исследования использовали растения двух солеустойчивых сортов томата (*S. lycopersicum*): высокоустойчивого сорта Отрадный и среднеустойчивого сорта Гном селекции Федерального научного центра овощеводства (ФНЦО, Московская область). Семена высевали в грунт и растения выращивали до стадии формирования 6–8 листьев (экспериментальная установка искусственного климата, ФИЦ Биотехнологии РАН; день/ночь – 16/8 ч, 23/21 °C).

Полученные растения подвергали воздействию солевого стресса. Для этого растения (опыт и контроль) помещали из почвы в воду, отряхнув и промыв предварительно корни, и спустя 1 ч переносили в жидкую питательную среду MS, содержащую (опыт) и не содержащую (контроль) 100 мМ NaCl. Спустя 24 ч опытные образцы возвращали в среду MS без NaCl и выдерживали две недели параллельно с контролем. Листовые пробы: все листья с одного растения; два биологических повтора – отбирали в следующих временных точках: S24 (опыт, 24 ч стрессового воздействия) и 24K (контроль); R7 и R7K (одна неделя послестрессового периода); R14 и R14K (две недели восстановления) (рис. 1, *а*).

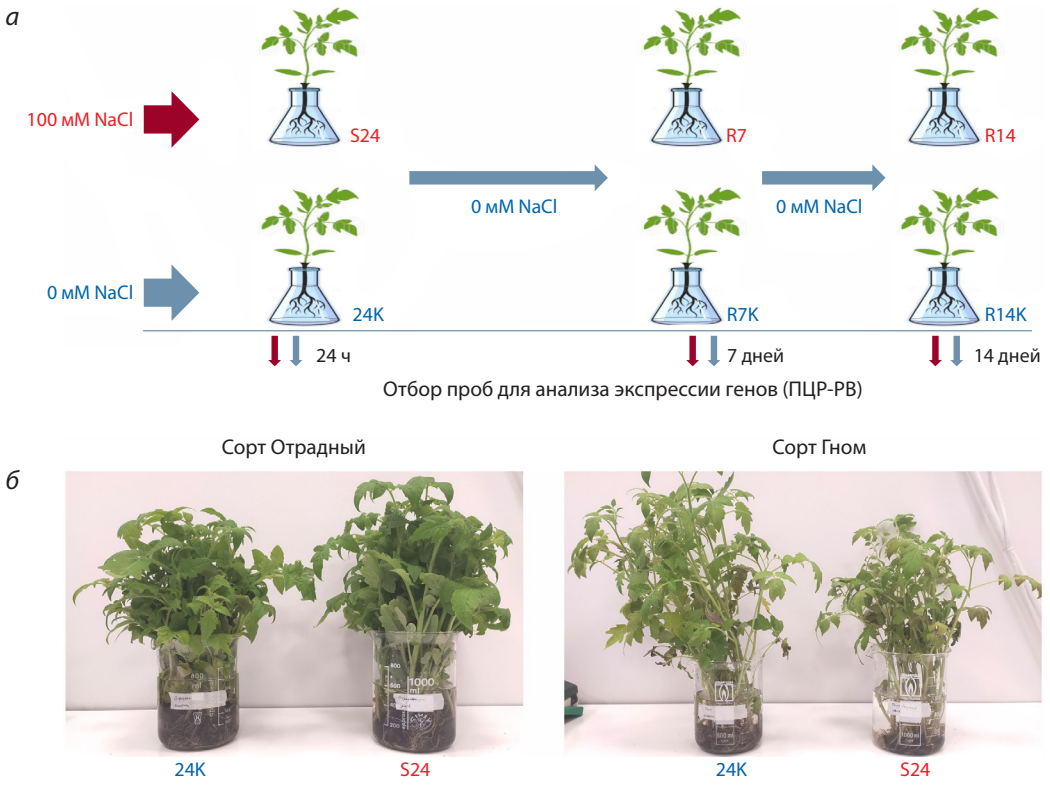

Рис. 1. Схема эксперимента:

а – солевой стресс 24 ч, 100 мМ NaCl (S24) и 0 мМ NaCl (24K), и послестрессовое восстановление, 7 (R7K, R7) и 14 (R14K, R14) дней; *б* – внешний вид опытных (S24) и контрольных (24K) образцов сортов томата Отрадный и Гном после 24 ч стресса.

Таблица 1. Последовательности праймеров для ПЦР-РВ

Ген[1]	Номер ID гена[1]	Последовательности (5′→3′) прямого и обратного праймеров
SlDREB16	Solyc04g050750	TGAGAGGTAAAGGTGGACCAG CTCTGGCTGCTTCCACTGAA
SlDREB20	Solyc04g080910 (LOC101246344)	GGTAAATGGGTAGCCGAGATC AGTTTGGCTTCGGCACCATAG
SlDREB22	Solyc05g052410 (LOC101261712)	GATACATTGGAAGGTCTGCAGC CATCCAACTCATCCAAGCAGAAG
SlDREB24	Solyc06g050520	GGTATCAGATTCGCAATGTCAGG GAATGCAAGGTCATCCGAACTG
SlDREB43	Solyc10g076370 (LOC101245410)	GGTACTTACTCGACTGCTGGT CAATCGACGATTGACCACTCG
SlDREB44	Solyc10g076380 (LOC101268444)	TCGCCTGCTTGTTCCTGGAA CGCACCAACATCTTCATTCACG
SlDREB46	Solyc10g080310 (LOC101268444)	CAATGTAGCCGTTCGTGGTG TGACTCTGTGAAACTACTGATGC
Expressed	(LOC101263039)	GCTAAGAACGCTGGACCTAATG TGGGTGTGCCTTTCTGAATG
actin-7	(LOC101262163)	CATTGTGCTCAGTGGTGGTTC TCTGCTGGAAGGTGCTAAGTG

[1] Нумерация и Solyc_ID генов приведены в соответствии с работой (Maqsood et al., 2022); в скобках дан соответствующий NCBI_ID генов (при наличии гомологов).

Собранные пробы растирали в жидком азоте и использовали для анализа экспрессии генов ТФ подсемейства SlDREB2 с помощью количественной ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ). Из 0.2–0.5 г измельченной ткани выделяли суммарную РНК (RNeasy Plant Mini Kit и RNase-free DNase set; QIAGEN, Германия) и использовали для синтеза кДНК (GoScript Reverse Transcription System; Promega, США). Определяли концентрацию препарата (Qubit® Fluorometer, Thermo Fisher Scientific, США; Qubit RNA HS Assay Kit, Invitrogen, США) и 3 нг кДНК использовали для ПЦР-РВ с ген-специфичными праймерами (табл. 1). Праймеры разрабатывали на основе доступных данных генома и транскриптома *S. lycopersicum* (https://www.solgenomics.net/; https://www.ncbi.nlm.nih.gov/). Реакцию проводили с набором «2.5× Реакционная смесь для проведения ПЦР−РВ в присутствии SYBR Green I и ROX» (ООО «Синтол», Россия) на приборе CFX96 Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad Laboratories, США). Программа ПЦР-РВ: 5 мин при 95 °C, 40 циклов (15 с при 95 °C; 40 с при 60 °C). Экспрессию генов *SlDREB2* нормализовали на референсные гены *Expressed* и *actin-7* (Efremov et al., 2020). Анализ проводили в двух биологических и трех аналитических повторах. Полученные данные статистически обрабатывали и визуализировали с помощью GraphPad Prism v. 9.5.1 (Two-Way ANOVA: multiple comparisons corrected with Bonferroni test; GraphPad Software Inc., США; https://www.graphpad.com/scientific-software/prism/). Для построения тепловой карты и линейных диаграмм по экспрессионным данным использовали программу Excel.

Результаты

В нашей работе охарактеризовано воздействие солевого стресса и длительного послестрессового восстановления на экспрессию генов *SlDREB2* в листьях растений томата высоко (сорт Отрадный) и средне (сорт Гном) устойчивых к засолению образцов. Спустя 24 ч воздействия NaCl, а также 7 и 14 дней послестрессового периода растения обоих сортов визуально не отличались от контрольных, не подвергшихся стрессу образцов (см. рис. 1, *б*).

Листья растений (контроль и опыт) в точках S24/24K, R7/R7K и R14/R14K были собраны и использованы для анализа экспрессии генов *SlDREB2*, гомологи которых у других видов растений известны своим участием в ответе на осмотические стрессы (Akbudak et al., 2018; Guo et al., 2022; Filyushin et al., 2023; Sun et al., 2025). Гены для анализа были определены на основании опубликованной характеристики генов семейства *DREB S. lycopersicum*, в котором подсемейство *SlDREB2* представлено семью безынтронными генами *SlDREB16*, *20*, *22*, *24*, *43*, *44* и *46* (Maqsood et al., 2022). Проведенный анализ ПЦР-РВ показал, что ген *SlDREB20* не экспрессируется в листьях ни в опыте, ни в контроле, тогда как профиль экспрессии остальных шести генов носит генотип-зависимый характер (рис. 2).

Сорта различались по экспрессии генов в контроле как уровнем в исходной точке 24K (*SlDREB16*, *24*, *43* и *44*), так и тенденцией колебаний на протяжении периода измерений (*SlDREB16*, *44* и *46*). Только ген *SlDREB22* показал сходный профиль экспрессии в контроле между сортами (см. рис. 2). На основе экспрессионных данных построена тепловая карта (рис. 3), из которой очевидно, что в случае высокоустойчивого сорта Отрадный только три гена, *SlDREB22*, *24* и *44*, сохранили контрольные показатели экспрессии после 24 ч стресса. Однако уровень их транскриптов повысился спустя одну (в ~1.7, 8.2 и 2.4 раза) и две (в ~5.7, 3.4 и 1.4 раза) недели периода восстановления. Экспрессия оставшихся трех генов снизилась (*SlDREB16* и *46*) или повысилась (*SlDREB43*) после 24 ч стресса и значительно выросла в точке R7. Спустя две недели восстановления только два гена (*SlDREB16* и *43*) экспрессировались сходно с контролем (см. рис. 3).

В листьях среднеустойчивого сорта Гном после 24 ч стресса экспрессия генов повысилась (*SlDREB43* и *44*), понизилась (*SlDREB22* и *46*) или не изменилась (*SlDREB16* и *24*). Спустя неделю восстановления (R7) изменения экспрессии наблюдали у трех генов (*SlDREB16*, *22* и *43*), тогда как спустя две недели (R14) все шесть генов экспрессировались отлично от контроля (см. рис. 3).

Таким образом, спустя длительный срок после отмены стресса возвращение экспрессии к контрольному уровню наблюдалось только для генов *SlDREB24*, *44* и *46* у сорта Гном (R7), которые в точке R14 снова показали измененные (*vs* контроль) значения экспрессии, а также для генов *SlDREB16* и *43* у сорта Отрадный в точке R14 (см. рис. 3).

Для более наглядного межсортового сравнения профилей экспрессии генов *SlDREB2* были построены линейные диаграммы по экспрессионным данным, выраженным как соотношение уровней экспрессии генов между опытом и контролем (рис. 4). Из графиков видно, что два гена, *SlDREB22* и *46*, имеют сходный паттерн ответа на соле-

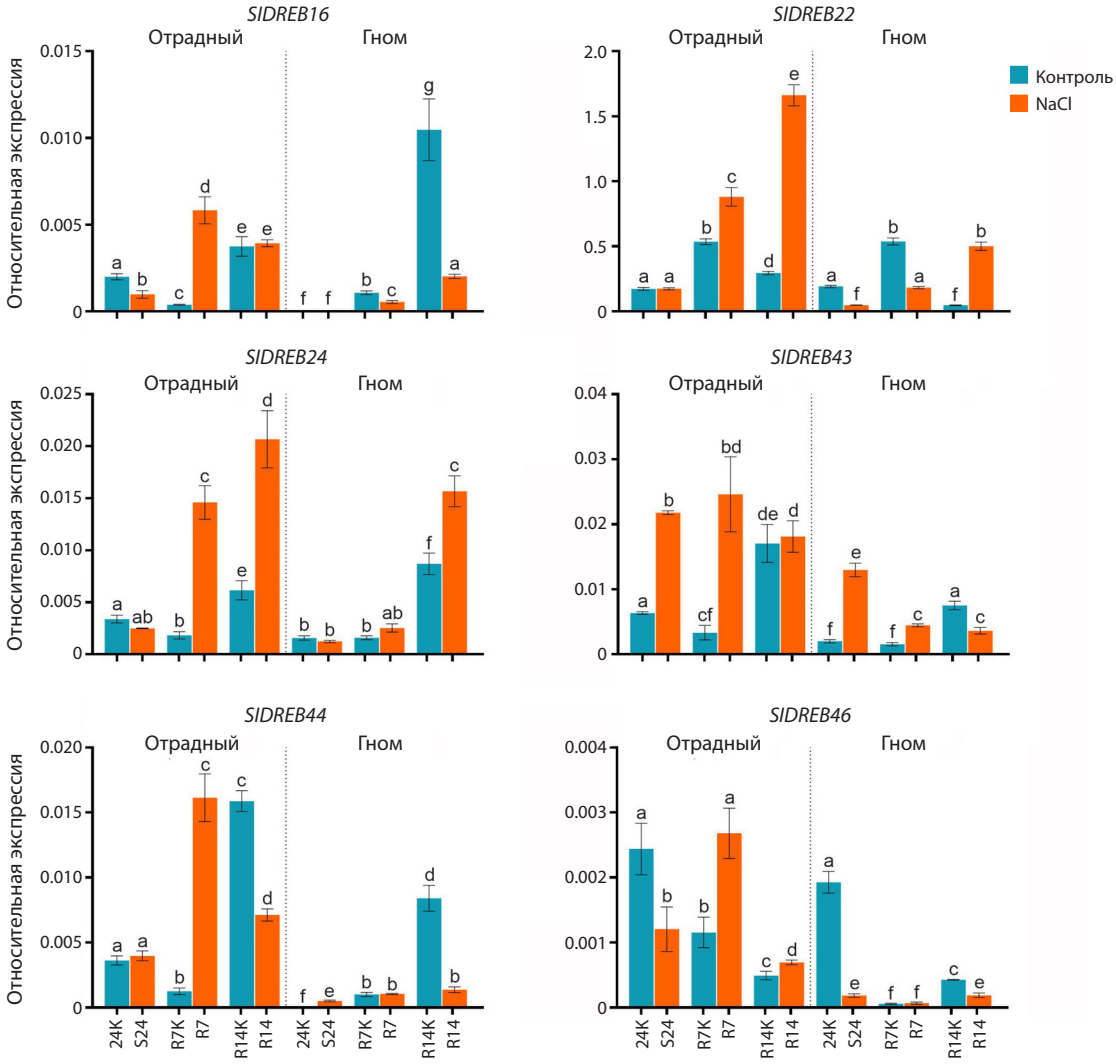

Рис. 2. Профили экспрессии генов *SlDREB2* в листьях растений томата сортов Отрадный и Гном в ответ на солевой стресс в течение 24 ч (24K и S24) и в динамике послестрессового восстановления спустя 7 (R7K и R7) и 14 (R14K и R14) дней. [a–g] Значимые различия между уровнями экспрессии внутри сорта ($p < 0.05$).

вой стресс и фазу памяти между сортами. Другие четыре гена, *SlDREB16*, *28*, *43* и *44*, показывают различающуюся между сортами модель реакции на стресс и длительное восстановление (см. рис. 4).

Для предварительной оценки возможности зависимости экспрессии генов *SlDREB16*, *20*, *22*, *24*, *43*, *44* и *46* от вариабельности их регуляторных областей у сортов томата был проведен анализ *in silico* промоторов (1000 пн) этих генов у 10 образцов томата; последовательности взяты из базы данных NCBI. Было показано, что у *SlDREB16*, *22*, *24*, *43* и *44* промоторы высококонсервативны (0–2 полиморфизма (SNP) на 1000 пн), а промоторы генов *SlDREB20* и *46* содержат индели/SNP (5/58 и 5/13 соответственно).

0.49*	15.35*	1.07	1.00	0.51*	0.20*	*SlDREB16*
1.01	1.65*	5.65*	0.25*	0.34*	10.66*	*SlDREB22*
0.74	8.22*	3.41*	0.80	1.60	1.82*	*SlDREB24*
3.43*	7.88*	1.08	6.54*	2.90*	0.48*	*SlDREB43*
1.10	13.27*	0.45*	25.42*	1.07	0.16*	*SlDREB44*
0.50*	2.39*	1.43*	0.10*	1.22	0.44*	*SlDREB46*
24 ч NaCl	7 д Восст.	14 д Восст.	24 ч NaCl	7 д Восст.	14 д Восст.	
Отрадный			Гном			

Рис. 3. Тепловая карта экспрессии генов *SlDREB2* в листьях растений томата сортов Отрадный и Гном в ответ на солевой стресс в течение 24 ч и в динамике послестрессового восстановления спустя 7 и 14 дней. Числовые данные представлены соотношением значений по опытным образцам с контролем, принятым за единицу. * Значимые различия уровня экспрессии между опытом и контролем ($p < 0.05$).

Обсуждение

В настоящей работе проведена оценка генов подсемейства *SlDREB2* томата как возможных генов-маркеров памяти о солевом стрессе путем профилирования экспрессии генов в растениях двух сортов *S. lycopersicum* в ответ на прайминг NaCl и в динамике длительного восстановления после отмены стресса (фаза памяти). Использованные сорта различались степенью устойчивости к солевому стрессу (средняя у сорта Гном и высокая у сорта Отрадный). Устойчивость сортов может регулироваться как на уровне генетических вариаций, управляющих экспрессией генов в ответ на солевой стресс, так и на уровне

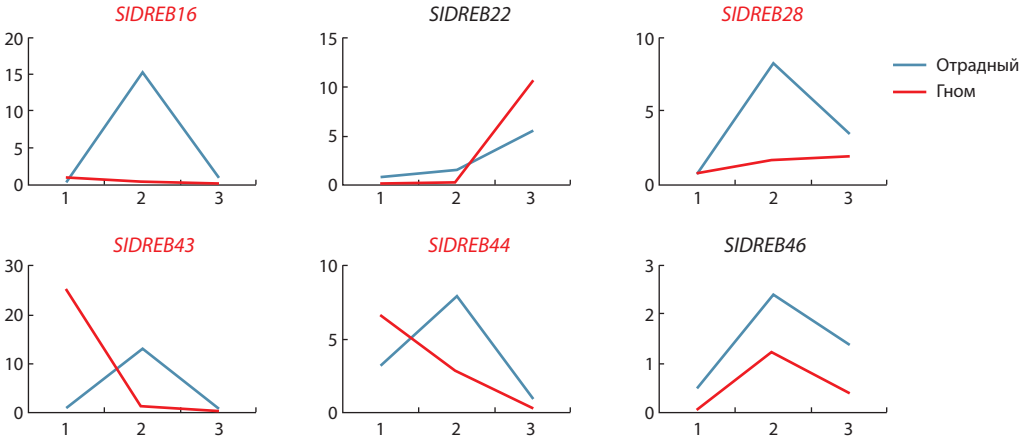

Рис. 4. Профили экспрессии генов *SlDREB2* в листьях растений томата сортов Отрадный и Гном в ответ на солевой стресс в течение 24 ч и в динамике послестрессового восстановления спустя 7 и 14 дней, представленные в виде линейных графиков. Красным выделены названия генов, профиль экспрессии которых имеет значительные межсортовые различия по направлению колебаний.

условно наследуемых эпигенетических модификаций, некогда полученных как результат солевого прайминга и поддерживаемых стрессовой памятью.

В первом случае генетические вариации могут быть представлены какими-либо генами и локусами, ассоциированными с признаком солеустойчивости (Ismail, Horie, 2017). От различий в генах/локусах может зависеть степень адаптивности, как это продемонстрировано на примере генотипов томата, несущих мутантные локусы *TSS1* и *TSS2*, которые обеспечивают контрастную чувствительность к общему осмотическому стрессу и разные механизмы солеустойчивости (Borsani et al., 2001). При варианте генетического регулирования устойчивости к NaCl наш эксперимент можно считать первичным стрессом для растений. Во втором случае с учетом предполагаемого наличия памяти о солевом стрессе проводимое нами воздействие будет играть роль стимула для проявления памяти. Третий возможный вариант включает генетическую регуляцию солеустойчивости у одного сорта и эпигенетическую у другого.

Различные транскриптомные исследования воздействия NaCl на растение предполагают, что ключевые гены памяти о солевом стрессе представлены генами ТФ различных семейств (Zhu et al., 2023), включая семейство DREB (Hassan et al., 2022). Важность последних подчеркивается дифференциальной экспрессией генов *DREB* в ответ на засоление у растений пшеницы *Triticum aestivum* L. (Hassan et al., 2022), перца *Capsicum annuum* L. (Sun et al., 2025), чеснока *A. sativum* (Filyushin et al., 2023) и других видов.

Выбор нами для анализа генов подсемейства DREB2 обусловлен тем, что из двух наиболее крупных DREB-подсемейств DREB1/CBF-белки наиболее важны в регуляции холодостойкости (Shi et al., 2018), тогда как в ответе на осмотические стрессы в основном участвуют DREB2-ТФ (Akbudak et al., 2018; Baillo et al., 2019). В геноме томата подсемейство *DREB2* состоит из семи генов *SlDREB16*, *20*, *22*, *24*, *43*, *44* и *46* (Maqsood et al., 2022) (см. табл. 1).

В ходе эксперимента для растений томата двух сортов была проведена симуляция солевого стресса с последующей его отменой и длительной (14 дней) фазой памяти (см. рис. 1). Проведенное затем профилирование экспрессии генов в динамике опыта (S24/24K–R7/R7K–R14/R14K) выявило значительные генотип-специфичные колебания уровней транскриптов как в контроле, так и в подвергнутых стрессу растениях (см. рис. 2), что подчеркивает различия между сортами в механизме регуляции солеустойчивости.

Было определено, что в процессе длительного восстановления после отмены стресса значения экспрессии генов возвращаются к контрольным показателям или временно (*SlDREB24*, *44* и *46* у сорта Гном в точке R7; в точке R14 снова меняются), или крайне медленно (*SlDREB16* и *43* у сорта Отрадный в точке R14) (см. рис. 3). Такая реакция генов в случае обоих сортов соответствует признаку генов-маркеров стрессовой памяти, экспрессия которых в фазу восстановления длительно поддерживается на измененном уровне, в то время как экспрессия генов, не связанных с памятью, быстро возвращается к контрольным значениям (Friedrich et al., 2019; Bäurle, Trindade, 2020; Jacques et al., 2021). Это предполагает, что шесть генов, *SlDREB16*, *22*, *24*, *43*, *44* и *46*, могут функционировать как гены-маркеры памяти о солевом стрессе в растениях томата.

Было показано, что только два гена, *SlDREB22* и *46*, имеют сходный между сортами паттерн колебаний экспрессии в период измерений (S24/24K–R7/R7K–R14/R14K) (см. рис. 4). Это допускает для остальных четырех генов, *SlDREB16*, *28*, *43* и *44*, роль в определении различий в механизме регуляции ответа растений на солевой стресс между солеустойчивыми генотипами *S. lycopersicum*.

В целом проведенная оценка профиля экспрессии генов подсемейства *SlDREB2* в листьях растений двух солеустойчивых сортов томата в ответ на воздействие NaCl и при длительной фазе памяти позволила предположить, что гены *SlDREB2*, за исключением *SlDREB20*, участвуют в ответе *S. lycopersicum* на избыток соли генотип-специфичным образом. Потенциально эти гены могут служить маркерами стрессовой памяти, сцепленными с эпигенетической регуляцией адаптации к солевому стрессу.

Таблица 2. Список предположительных генов-мишеней ТФ семейства DREB *A. thaliana*

Ген	NCBI_ID (*A. thaliana*/ *S. lycopersicum*)	Белок	Участие в стрессовых ответах, согласно NCBI
COR15A	At2g42540	Cold-inducible protein	Холод, повышенная температура, засоление, засуха
FL05-21-F13 (*LEA14*)	At1g16850	Late embryogenesis abundant protein	Засоление
RD29A	At5g52310	Drought-responsive protein, low-temperature-responsive protein 78 (LTI78) / desiccation-responsive protein 29A	Холод, засоление, засуха
RD17 (*COR47*)	At1g20440	Dehydrin, COR47 cold-regulated 47	Холод, повышенная температура, осмотический стресс, засуха
AtGOLS3	At1g09350	Glycosyl transferase family 8, GolS3 galactinol synthase 3	Холод
FL05-20-N18 (*COR15B*)	At2g42530	COR15B cold regulated 15b	Холод
KIN1	At5g15960	Cold-inducible protein	Холод, осмотический стресс, засуха
FL06-16-B22 (*COR413-PM1*)	At2g15970	Cold-acclimation protein, COR413-PM1 cold regulated 413 plasma membrane 1	Холод, засуха
KIN2 (*COR6.6*)	At5g15970	KIN2 stress-responsive protein (KIN2) / stress-induced protein (KIN2) / cold-responsive protein (COR6.6) / cold-regulated protein (COR6.6)	Холод, осмотический стресс, засуха
ERD10	At1g20450	ERD10 Dehydrin family protein	Холод, засуха

Также возможна зависимость реакции генов *SlDREB2* на солевой стресс от генетических вариаций у образцов *S. lycopersicum* в промоторных областях как самих генов подсемейства *SlDREB2*, так и у возможных мишеней ТФ SlDREB2.

Обнаруженная нами (с помощью анализа *in silico* промоторов анализируемых генов на примере 10 сортов/образцов томата) инвариабельность регуляторных последовательностей генов *SlDREB16*, *22*, *24*, *43* и *44* допускает, что консервативность промоторов может распространяться и на сорта, использованные в нашей работе. Это предполагает отсутствие зависимости реакции *SlDREB16*, *22*, *24*, *43* и *44* на солевой стресс от межсортовых вариаций их регуляторных последовательностей. Ген *SlDREB20*, промотор которого между образцами наиболее вариабелен (58 SNP), в листьях не экспрессируется, поэтому вопрос о рассматриваемой зависимости в работе не ставится. В то же время уровень экспрессии *SlDREB46* может регулироваться полиморфизмами (13 SNP), что требует дополнительных исследований промотора *SlDREB46* у образцов томата, использованных в работе, с поиском корреляций между экспрессией и найденными SNP.

Уровень экспрессии некоторых генов подсемейства *DREB2* положительно связывают с устойчивостью растений к различным абиотическим стрессам, что показано на примере растений *A. thaliana* со сверхэкспрессией гена *OsDREB2B* риса (*Oryza sativa* L.) и повышенной устойчивостью к засухе и жаре (Matsukura et al., 2010). Предполагается, что в ответ на абиотический стресс изменяется экспрессия ТФ подсемейства DREB1/2, которые, в свою очередь, регулируют транскрипцию генов-мишеней, принимающих участие в защите растения. На сегодняшний день имеются данные о 10 возможных генах-мишенях ТФ DREB1/2 (*A. thaliana*), содержащих в промоторах цис-регуляторные элементы DRE/DRE-related, и шесть из 10 генов могут участвовать в ответе растения на солевой стресс (табл. 2) (Dubouzet et al., 2003; Matsukura et al., 2010).

Заключение

Таким образом, необходимы дальнейшие исследования структуры и экспрессии генов *SlDREB2* и их возможных мишеней с использованием многократных повторений стрессовых событий, перемежающихся фазами памяти разной длительности, в сопровождении анализа экспрессии генов, предположительно не сцепленных с памятью о стрессе. Результаты таких исследований можно будет использовать в селекции солеустойчивых сортов томата.

Список литературы / References

Aina O., Bakare O.O., Fadaka A.O., Keyster M., Klein A. Plant biomarkers as early detection tools in stress management in food crops: A review. *Planta*. 2024;259(3):60. doi 10.1007/s00425-024-04333-1

Akbudak M.A., Filiz E., Kontbay K. *DREB2* (dehydration-responsive element-binding protein 2) type transcription factor in sorghum (*Sorghum bicolor*): genome-wide identification, characterization and expression profiles under cadmium and salt stresses. *3 Biotech*. 2018;8(10):426. doi 10.1007/s13205-018-1454-1

Anisimova O.K., Shchennikova A.V., Kochieva E.Z., Filyushin M.A. Identification of chalcone synthase genes from garlic (*Allium sativum* L.) and their expression levels in response to stress factors. *Acta Nat.* 2025;17(2):4-14. doi 10.32607/actanaturae.27639

Bai Y., Sunarti S., Kissoudis C., Visser R.G.F., van der Linden C.G. The role of tomato *WRKY* genes in plant responses to combined abiotic and biotic stresses. *Front Plant Sci.* 2018;9:801. doi 10.3389/fpls.2018.00801

Baillo E.H., Kimotho R.N., Zhang Z., Xu P. Transcription factors associated with abiotic and biotic stress tolerance and their potential for crops improvement. *Genes* (*Basel*). 2019;10(10):771. doi 10.3390/genes10100771

Bäurle I., Trindade I. Chromatin regulation of somatic abiotic stress memory. *J Exp Bot*. 2020;71(17):5269-5279. doi 10.1093/jxb/eraa098

Borsani O., Cuartero J., Fernández J.A., Valpuesta V., Botella M.A. Identification of two loci in tomato reveals distinct mechanisms for salt tolerance. *Plant Cell*. 2001;13(4):873-887. doi 10.1105/tpc.13.4.873

Calone R., Mircea D.M., González-Orenga S., Boscaiu M., Zuzunaga-Rosas J., Barbanti L., Vicente O. Effect of recurrent salt and drought stress treatments on the endangered halophyte *Limonium angustebracteatum* Erben. *Plants* (*Basel*). 2023;12(1):191. doi 10.3390/plants12010191

Chen Y., Li C., Yi J., Yang Y., Lei C., Gong M. Transcriptome response to drought, rehydration and re-dehydration in potato. *Int J Mol Sci.* 2019;21(1):159. doi 10.3390/ijms21010159

Ding Y., Liu N., Virlouvet L., Riethoven J.J., Fromm M., Avramova Z. Four distinct types of dehydration stress memory genes in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Plant Biol.* 2013;13:229. doi 10.1186/1471-2229-13-229

Ding Y., Virlouvet L., Liu N., Riethoven J.J., Fromm M., Avramova Z. Dehydration stress memory genes of *Zea mays*; comparison with *Arabidopsis thaliana*. *BMC Plant Biol.* 2014;14:141. doi 10.1186/1471-2229-14-141

Dubouzet J.G., Sakuma Y., Ito Y., Kasuga M., Dubouzet E.G., Miura S., Seki M., Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K. *OsDREB* genes in rice, *Oryza sativa* L., encode transcription activators that function in drought-, high-salt- and cold-responsive gene expression. *Plant J.* 2003;33(4):751-763. doi 10.1046/j.1365-313x.2003.01661.x

Efremov G.I., Slugina M.A., Shchennikova A.V., Kochieva E.Z. Differential regulation of phytoene synthase PSY1 during fruit carotenogenesis in cultivated and wild tomato species (*Solanum* section Lycopersicon). *Plants* (*Basel*). 2020;9(9):1169 doi 10.3390/plants9091169

Filyushin M.A., Shagdarova B.T., Shchennikova A.V., Il'ina A.V., Kochieva E.Z., Varlamov V.P. Pretreatment with chitosan prevents *Fusarium* infection and induces the expression of chitinases and β-1,3-glucanases in garlic (*Allium sativum* L.). *Horticulturae.* 2022;8(5):383. doi 10.3390/horticulturae8050383

Filyushin M.A., Anisimova O.K., Shchennikova A.V., Kochieva E.Z. *DREB1* and *DREB2* genes in garlic (*Allium sativum* L.): Genome-wide identification, characterization, and stress response. *Plants* (*Basel*). 2023;12(13):2538. doi 10.3390/plants12132538

Friedrich T., Faivre L., Bäurle I., Schubert D. Chromatin-based mechanisms of temperature memory in plants. *Plant Cell Environ.* 2019;42(3):762-770. doi 10.1111/pce.13373

Gallusci P., Agius D.R., Moschou P.N., Dobránszki J., Kaiserli E., Martinelli F. Deep inside the epigenetic memories of stressed plants. *Trends Plant Sci.* 2023;28(2):142-153. doi 10.1016/j.tplants.2022.09.004

Guo M., Wang X.S., Guo H.D., Bai S.Y., Khan A., Wang X.M., Gao Y.M., Li J.S. Tomato salt tolerance mechanisms and their potential applications for fighting salinity: A review. *Front Plant Sci.* 2022;13:949541. doi 10.3389/fpls.2022.949541

Hassan S., Berk K., Aronsson H. Evolution and identification of DREB transcription factors in the wheat genome: modeling, docking and simulation of DREB proteins associated with salt stress. *J Biomol Struct Dyn.* 2022;40(16):7191-7204. doi 10.1080/07391102.2021.1894980

Ismail A.M., Horie T. Genomics, physiology, and molecular breeding approaches for improving salt tolerance. *Annu Rev Plant Biol.* 2017;68:405-434. doi 10.1146/annurev-arplant-042916-040936

Jacques C., Salon C., Barnard R.L., Vernoud V., Prudent M. Drought stress memory at the plant cycle level: A review. *Plants* (*Basel*). 2021;10(9):1873. doi 10.3390/plants10091873

Kudo M., Kidokoro S., Yoshida T., Mizoi J., Todaka D., Fernie A.R., Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K. Double overexpression of DREB and PIF transcription factors improves drought stress tolerance and cell elongation in transgenic plants. *Plant Biotechnol J.* 2017;15(4):458-471. doi 10.1111/pbi.12644

Maqsood H., Munir F., Amir R., Gul A. Genome-wide identification, comprehensive characterization of transcription factors, cis-regulatory elements, protein homology, and protein interaction network of *DREB* gene family in *Solanum lycopersicum*. *Front Plant Sci*. 2022;13:1031679. doi 10.3389/fpls.2022.1031679

Matsukura S., Mizoi J., Yoshida T., Todaka D., Ito Y., Maruyama K., Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K. Comprehensive analysis of rice *DREB2*-type genes that encode transcription factors involved in the expression of abiotic stress-responsive genes. *Mol Genet Genomics.* 2010;283(2):185-196. doi 10.1007/s00438-009-0506-y

Shi Y., Ding Y., Yang S. Molecular regulation of CBF signaling in cold acclimation. *Trends Plant Sci.* 2018;23(7):623-637. doi 10.1016/j.tplants.2018.04.002

Sun N., Sun X., Zhou J., Zhou X., Gao Z., Zhu X., Xu X., Liu Y., Li D., Zhan R., Wang L., Zhang H. Genome-wide characterization of pepper DREB family members and biological function of *CaDREB32* in response to salt and osmotic stresses. *Plant Physiol Biochem*. 2025;222:109736. doi 10.1016/j.plaphy.2025.109736

Villagómez-Aranda A.L., Feregrino-Pérez A.A., García-Ortega L.F., González-Chavira M.M., Torres-Pacheco I., Guevara-González R.G. Activating stress memory: eustressors as potential tools for plant breeding. *Plant Cell Rep*. 2022;41(7):1481-1498. doi 10.1007/s00299-022-02858-x

Virlouvet L., Avenson T.J., Du Q., Zhang C., Liu N., Fromm M., Avramova Z., Russo S.E. Dehydration stress memory: gene networks linked to physiological responses during repeated stresses of *Zea mays*. *Front Plant Sci.* 2018;9:1058. doi 10.3389/fpls.2018.01058

Zhu Z., Dai Y., Yu G., Zhang X., Chen Q., Kou X., Mehareb E.M., Raza G., Zhang B., Wang B., Wang K., Han J. Dynamic physiological and transcriptomic changes reveal memory effects of salt stress in maize. *BMC Genomics*. 2023;24(1):726. doi 10.1186/s12864-023-09845-w

Zuo D.D., Ahammed G.J., Guo D.L. Plant transcriptional memory and associated mechanism of abiotic stress tolerance. *Plant Physiol Biochem*. 2023;201:107917. doi 10.1016/j.plaphy.2023.107917

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 08.07.2025. После доработки 19.09.2025. Принята к публикации 19.09.2025.