




doi 10.18699/vjgb-24-102

# PlantReg: реконструкция связей между регуляторными сетями транскрипционных факторов и контролируруемыми ими признаками

В.В. Лавреха <sup>1, 2#</sup>, Н.А. Омелянчук <sup>1#</sup>, А.Г. Богомолов <sup>1</sup>, Е.В. Землянская <sup>1, 2</sup> <sup>1</sup> Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия<sup>2</sup> Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия ezemlyanskaya@bionet.nsc.ru


**Аннотация.** Описание пути от гена к признаку как основная задача многих отраслей биологии в настоящее время оснащается новыми методами не только в технике экспериментов, но и в системном анализе их результатов. Плейотропный эффект гена осуществляется за счет его участия во многих биологических процессах, вовлеченных в разные признаки. Широкое распространение полногеномного секвенирования транскриптов и районов связывания транскрипционных факторов (ТФ) сделало актуальными задачи установления плейотропных эффектов ТФ за счет знаний о функциях их мишеней, составление списков ТФ, регулирующих интересующие исследователя биологические процессы, описание путей их действия (первичные и вторичные мишени, мишени следующих порядков, взаимодействие между ТФ в исследуемом процессе). Ранее мы разработали метод реконструкции регуляторных сетей ТФ и предложили подход, позволяющий выявлять, какие биологические процессы и каким образом эти сети регулируют. В данной работе мы реализовали этот подход в виде программы PlantReg, доступной пользователям через веб-интерфейс. В статье описан принцип работы программы. На вход подаются список генов и список ТФ – известных или предполагаемых регуляторов транскрипции этих генов. На выходе программа выдает список биологических процессов, которые обогащены в этих генах, а также информацию о том, какими ТФ и через какие гены эти процессы регулируются. Работа PlantReg проиллюстрирована на примере исследования регуляции процессов, инициируемых на начальных этапах ответа на солевой стресс у *Arabidopsis thaliana* L. С помощью программы PlantReg нами выявлены биологические процессы, стимулируемые в раннем ответе на солевой стресс, и специфический набор ТФ, активирующих каждый из этих процессов. На примере одного из таких процессов – ответа на фитогормон абсцизовую кислоту – мы показали, что солевой стресс активирует в основном сигнальный путь этого гормона, и выделили ключевые ТФ в этой регуляции. Таким образом, программа PlantReg – удобный инструмент для создания гипотез о молекулярных механизмах регуляции признаков растений.

**Ключевые слова:** геновая онтология; биологические процессы; регуляторные геновые сети; *Arabidopsis thaliana*.

**Для цитирования:** Лавреха В.В., Омелянчук Н.А., Богомолов А.Г., Землянская Е.В. PlantReg: реконструкция связей между регуляторными сетями транскрипционных факторов и контролируруемыми ими признаками. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2024;28(8):950-959. doi 10.18699/vjgb-24-102

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках бюджетного проекта FWNR-2022-0020.

## PlantReg: the reconstruction of links between transcription factor regulatory networks and biological processes under their control

V.V. Lavrekha <sup>1, 2#</sup>, N.A. Omelyanchuk <sup>1#</sup>, A.G. Bogomolov <sup>1</sup>, E.V. Zemlyanskaya <sup>1, 2</sup> <sup>1</sup> Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia<sup>2</sup> Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia ezemlyanskaya@bionet.nsc.ru

**Abstract.** The description of the path from a gene to a trait, as the main task of many areas in biology, is currently being equipped with new methods affecting not only experimental techniques, but also analysis of the results. The pleiotropic effect of a gene is due to its participation in numerous biological processes involved in different traits. A widespread use of genome-wide sequencing of transcripts and transcription factor (TF) binding regions has made the following tasks relevant: unveiling pleiotropic effects of TFs based on the functions of their target genes; compiling the lists of TFs that regulate biological processes of interest; and describing the ways of TF functioning (their primary and secondary targets, higher order targets, TF interactions in the process under study). We have previously developed a method for the reconstruction of TF regulatory networks and proposed an approach that allows identifying which biological processes are controlled by these networks and how this control is exerted. In this paper, we have

implemented the approach as PlantReg, a program available as a web service. The paper describes how the program works. The input consists of a list of genes and a list of TFs – known or putative transcriptional regulators of these genes. As an output, the program provides a list of biological processes enriched for these genes, as well as information about by which TFs and through which genes these processes are controlled. We illustrated the use of PlantReg deciphering transcriptional regulation of processes initiated at the early salt stress response in *Arabidopsis thaliana* L. With PlantReg, we identified biological processes stimulated by the stress, and specific sets of TFs that activate each process. With one of these processes (response to abscisic acid) as an example, we showed that salt stress mainly affects abscisic acid signaling and identified key TFs in this regulation. Thus, PlantReg is a convenient tool for generating hypotheses about the molecular mechanisms that control plant traits.

**Key words:** gene ontology; biological processes; gene regulatory networks; *Arabidopsis thaliana*.

**For citation:** Lavrekha V.V., Omelyanchuk N.A., Bogomolov A.G., Zemlyanskaya E.V. PlantReg: the reconstruction of links between transcription factor regulatory networks and biological processes under their control. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2024;28(8):950-959. doi 10.18699/vjgb-24-102

## Введение

Эффективное развитие методов секвенирования транскриптомов открыло большие возможности не только для изучения изменения экспрессии генов на уровне транскрипции, но и для отслеживания регуляции этих изменений транскрипционными факторами (ТФ) и влияния этих изменений на биологические процессы (Chen J.W. et al., 2023). В связи с этим в настоящее время широко применяются методы извлечения списков ТФ на основании наличия их сайтов связывания в промоторах дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ) и методы выявления обогащения определенными терминами генной онтологии (ГО) списков генов, т.е. их функциональная аннотация. Тем не менее нахождение связи между результатами применения этих методов (т.е. установление, какие ТФ изменяют конкретные биологические процессы, на каких их стадиях, есть ли ТФ, общие для всех процессов или специфичные для каких-либо из них) остается слабо проработанным звеном в анализе результатов транскриптомных экспериментов. Создание компьютерных программ для этого позволит сделать транскриптомные исследования более системными и выстроить связь от изменений в экспрессии генов до изменений в течении биологических процессов.

Транскрипционные факторы могут регулировать друг друга на уровне транскрипции, такую регуляторную конструкцию часто представляют в виде графов – регуляторных сетей транскрипционных факторов (РСТФ), которые могут быть реконструированы с помощью различных методов (Hecker et al., 2023). Реконструированные РСТФ позволяют установить иерархию в их структуре и определить хабы – ТФ, связанные с наибольшим числом других ТФ. Изменение в результате экспериментальных манипуляций экспрессией генов, кодирующих хабы, наиболее вероятно изменит функции всей РСТФ, а значит, и биологические процессы, регулируемые ею (He, Zhang, 2006).

Ранее мы разработали методику и программное средство для реконструкции РСТФ (Omelyanchuk et al., 2024). Мы также предложили биоинформатический подход, позволяющий выявлять, какие биологические процессы эти сети регулируют и каким образом. Он заключается в следующем: на основании списка ДЭГ автоматизированным способом находится список ТФ, обогащенных в промоторах этих ДЭГ, и реконструируется РСТФ. После функциональной аннотации списка ДЭГ для каждого ДЭГ в биологическом процессе ищется потен-

циальный регулятор среди обогащенных ТФ. Таким образом устанавливается, какие стадии биологического процесса какими факторами регулируются. Использование этого подхода проиллюстрировано в статье (Omelyanchuk et al., 2024) на примерах регуляции ауксином биосинтеза хлорофилла и лигнина, пути передачи сигнала абсцизовой кислоты и биогенеза рибосом.

В настоящей работе мы реализовали этот подход в виде компьютерной программы PlantReg, доступной пользователям через веб-интерфейс (<https://plamorph.sysbio.ru/fannotf/>). Мы использовали PlantReg для исследования регуляции процессов на начальных этапах ответа на солевой стресс у *Arabidopsis thaliana* L. с помощью транскриптомных данных из статьи (Wu et al., 2021a). С использованием программы PlantReg нами установлены процессы, координируемые всеми ТФ в составе РСТФ раннего ответа на солевой стресс, – это ответы на тепло, красный и дальний красный свет и салициловую кислоту. Наибольшее число процессов – запрограммированная гибель клеток, старение листьев и ответы на синий свет, гипоксию, активные формы кислорода, обезвоживание, абсцизовую и жасмоновую кислоты – регулируется не менее 70 % ТФ, входящих в состав РСТФ. В контроле ответа эндоплазматического ретикула на потерю третичной структуры белков, биосинтеза индол-содержащих соединений и S-гликозидов, а также транспорта воды участвует менее 50 % регуляторных сетей транскрипционных факторов.

Далее мы более подробно рассмотрели результаты PlantReg по регуляции ответа на абсцизовую кислоту (АБК) при солевом стрессе и обнаружили, что эта регуляция осуществляется преимущественно за счет контроля сигнального пути АБК, и более всего модулируется последний этап этого пути – активация главных ТФ ответа на АБК. Оба хаба РСТФ ответа на солевой стресс, WRKY8 и DEAR2, задействованы на этом этапе, DEAR2 также контролирует работу рецепторов АБК. Таким образом, программа PlantReg – эффективный инструмент для анализа данных по дифференциальной экспрессии генов в транскриптомах и создания гипотез о молекулярных механизмах регуляции биологических процессов.

## Материалы и методы

**Программная реализация PlantReg.** Схема работы программы PlantReg представлена на рис. 1. На вход программы подаются список генов (в данной работе мы

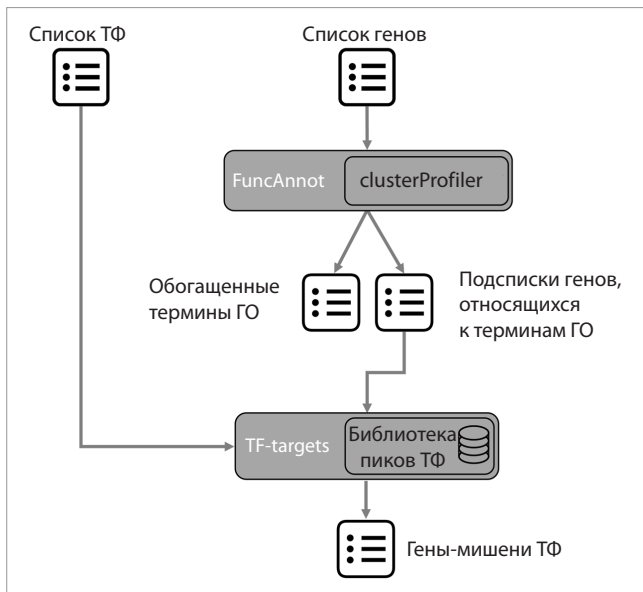


Рис. 1. Схема работы программы PlantReg.

фокусируемся на анализе списков ДЭГ), а также список ТФ – известных или предполагаемых регуляторов транскрипции этих генов. На этапе FuncAnnot осуществляется функциональная аннотация списка генов с использованием R-пакета clusterProfiler (Yu et al., 2012; Wu et al., 2021b). Результатом является файл, содержащий информацию об обогащенных в списке ДЭГ терминах ГО, а также подписки генов из входного списка, которые относятся к обогащенным терминам ГО. На следующем шаге происходит поиск пересечения районов связывания ТФ из входного списка с промоторами генов из подписок. Для этого используется функция TF-targets, разработанная нами ранее в рамках создания программы CisCross-FindTFnet (Omelyanchuk et al., 2024). В качестве выходных данных пользователь получает файл с информацией об обогащенных терминах ГО, ассоциированных с ними ДЭГ, кодах обоснования аннотаций, ТФ, районы связывания которых в геноме картируются в 5'-регуляторные районы ДЭГ, ассоциированных с обогащенными терминами геной онтологии.

Ядро программы PlantReg реализовано на языке Perl с привлечением R-пакета clusterProfiler. PlantReg доступна пользователям через веб-интерфейс (<https://plamorph.sysbio.ru/fannot/>). В веб-версии программы PlantReg для поиска генов-мишеней ТФ предоставляются две коллекции полногеномных профилей связывания ТФ. Первая, GTRD-MACS2, включает 306 наборов пиков ChIP-seq для 131 ТФ *A. thaliana*, загруженных в формате BED из базы данных GTRD (<https://gtrd.biouml.org/#/>) (Kolmykov et al., 2021). Вторая, CisCross-MACS2, получена путем широкомасштабного профилирования сайтов связывания ТФ *A. thaliana* методом DAP-seq (O'Malley et al., 2016) и представляет собой результат повторной обработки сырых данных из оригинального исследования (Lavrekha et al., 2022). Эта коллекция содержит 608 наборов пиков для 404 ТФ *A. thaliana*. Для определения 5'-регуляторных районов генов (500, 1000, 1500, 2000 или 2500 п. н. выше

старта транскрипции) в веб-версии PlantReg используется аннотация генома *A. thaliana* ARAPORT11 (<https://bar.utoronto.ca/thalemine/begin.do>).

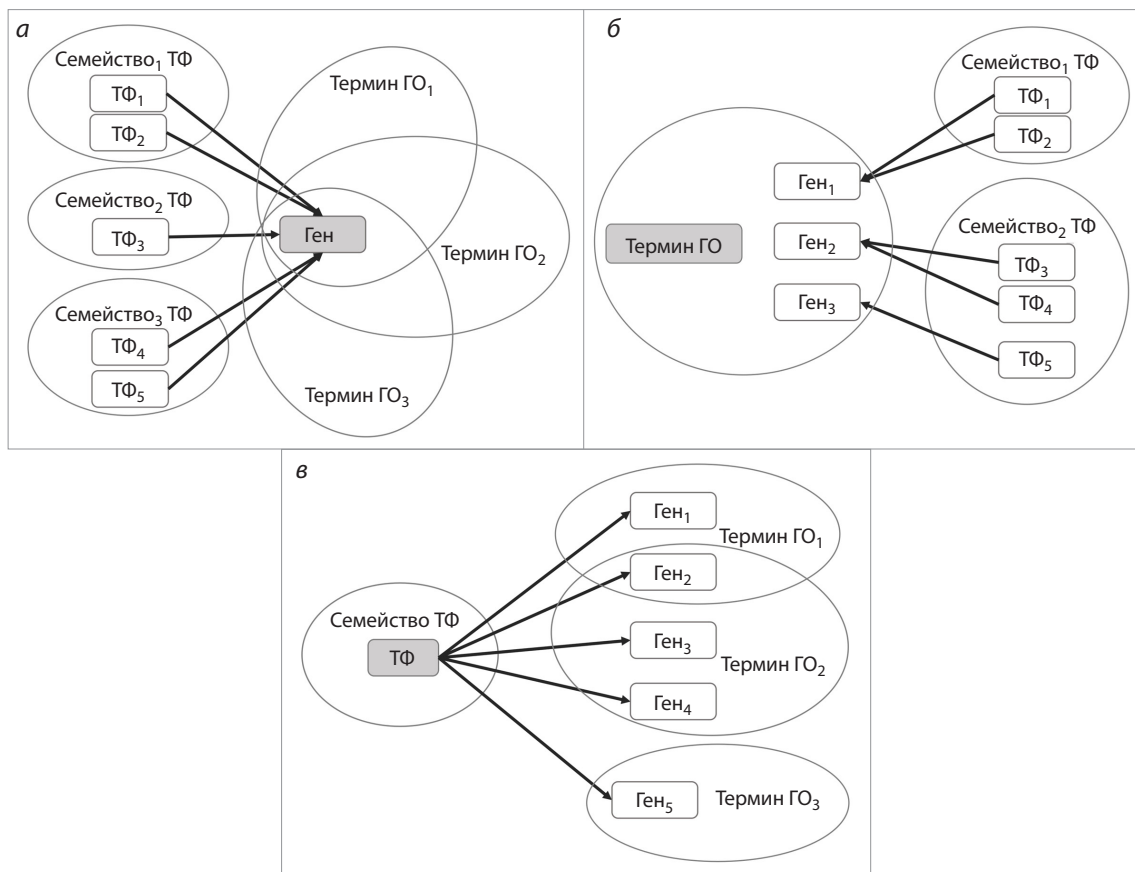
**Реконструкция РСТФ ответа на солевой стресс.** Для реконструкции РСТФ мы использовали публично доступные данные секвенирования транскриптомов семи-дневных проростков *A. thaliana* (экотип Col-0), выращенных на свету, до и после солевого стресса (100 мМ NaCl) длительностью 1 ч (Wu et al., 2021a). В качестве ДЭГ отбирали гены, изменение экспрессии которых под действием солевого стресса было достоверным при FDR < 0.05, среди них были выделены активируемые и подавляемые ДЭГ: аДЭГ и пДЭГ соответственно. Реконструкцию РСТФ осуществляли с помощью программы CisCross-FindTFnet (Omelyanchuk et al., 2024) со следующими параметрами: для картирования районов связывания ТФ использовали библиотеку пиков CisCross-MACS2, длину 5'-регуляторных районов генов установили как 1000 п. н., позиции стартов транскрипции определяли в соответствии с аннотацией генома *A. thaliana* ARAPORT11. Анализ обогащения районов связывания ТФ в 5'-регуляторных областях аДЭГ и пДЭГ проводили, контролируя FDR на уровне 0.001 по методу Бенджамини–Хохберга. Для реконструкции пар «ТФ-регулятор–ТФ-мишень» в составе РСТФ использовали наборы пиков, полученные в результате связывания ТФ с нативной геномной ДНК листьев, содержащей метильные метки.

**Реконструкция связей между РСТФ раннего ответа на солевой стресс и контролируемыми ею биологическими процессами** осуществляли с помощью PlantReg. На вход программе подавали список ТФ, входящих в состав РСТФ ответа на солевой стресс, а также список генов, дифференциально экспрессирующихся в ответ на обработку солью (аДЭГ и пДЭГ анализировали по отдельности). Для 5'-регуляторных районов ДЭГ была установлена длина 1000 п. н., для картирования районов связывания ТФ в 5'-регуляторных районах генов использовали библиотеку CisCross-MACS2. Далее для анализа и интерпретации брали только пары «ТФ-регулятор–ген-мишень», реконструированные на основании DAP-seq-профилей связывания ТФ с геномной ДНК листьев, содержащей метильные метки.

## Результаты и обсуждение

### Биологическая интерпретация выходных данных PlantReg

Программа PlantReg разработана для реконструкции молекулярных механизмов генетической регуляции признаков. Для начала работы пользователю необходимо иметь список известных или предполагаемых регуляторов дифференциальной экспрессии генов. PlantReg осуществляет функциональную аннотацию списка ДЭГ, далее среди ДЭГ, ассоциированных с обогащенными биологическими процессами, выполняет поиск потенциальных мишеней для ТФ. Картирование районов связывания ТФ в 5'-регуляторных районах генов осуществляется с использованием представительной коллекции полногеномных профилей связывания ТФ исследуемого организма. В веб-версии программы PlantReg доступны две коллекции полногеном-



**Рис. 2.** Альтернативные представления выходных данных программы PlantReg.

Панели а, б и в соответствуют блокам выдачи 1, 2 и 3, описанным в тексте. Серым цветом выделен центральный элемент выдачи.

ных профилей связывания ТФ *A. thaliana*, полученных на основании анализа данных, ChIP-seq или DAP-seq. Пользователь может выбрать для работы одну из них. На выходе программа устанавливает соответствие между ДЭГ, регулируемыми их экспрессию ТФ и обогащенными терминами генной онтологии.

Для удобства биологической интерпретации и последующего анализа полученных результатов выходные данные PlantReg представлены пятью блоками. Первые четыре блока предлагают четыре альтернативных представления одних и тех же результатов. Так, блок 1 характеризует гены. Он содержит подписание ДЭГ, аннотированных обогащенными терминами ГО, со списками потенциальных транскрипционных регуляторов для каждого гена, их количеством и указанием для каждого ТФ принадлежности к определенному семейству (рис. 2, а). Для каждого гена также отмечаются общее количество и список обогащенных терминов ГО с кодом обоснования аннотации, что облегчает выявление среди ДЭГ генов, вовлеченных в широкий спектр биологических процессов, и генов, специфичных для конкретных процессов.

Центральный элемент блока 2 – биологические процессы. В этом блоке для каждого обогащенного термина ГО определен подписание ассоциированных с ним ДЭГ с кодами обоснования аннотации, а также подписание ТФ, потенциально регулирующих дифференциальную экспрессию этих ДЭГ, с указанием принадлежности к

определенному семейству (см. рис. 2, б). Этот блок выдачи данных позволяет реконструировать механизм генетической регуляции для заданного биологического процесса.

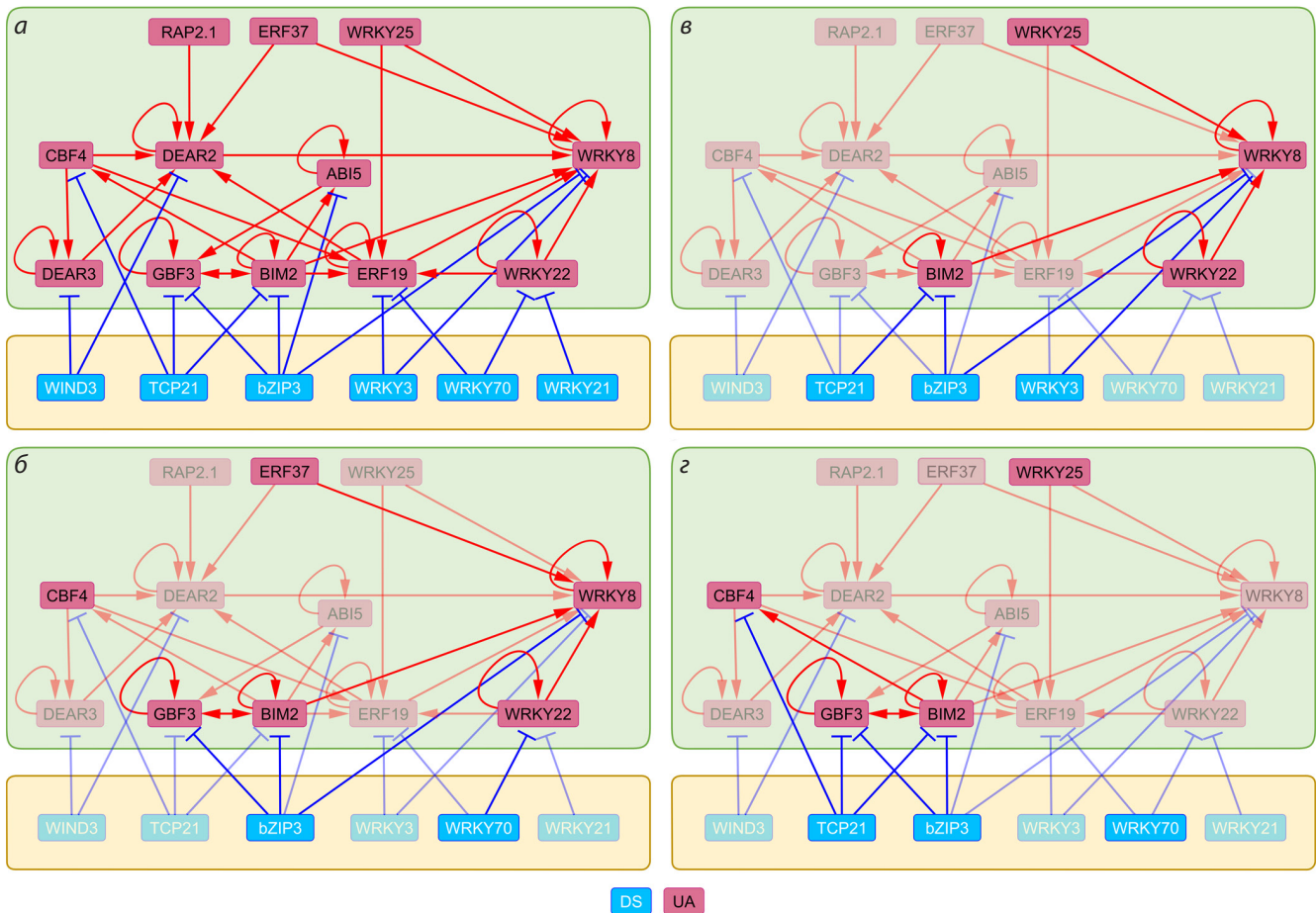
Блок выдачи 3 характеризует транскрипционные регуляторы дифференциальной экспрессии генов. Он содержит список ТФ, для которых среди ДЭГ были найдены гены-мишени, ассоциированные с обогащенными терминами ГО (см. рис. 2, в). Этот блок выдачи данных полезен при планировании экспериментов для верификации предсказанных механизмов генетической регуляции биологических процессов.

Блок выдачи 4 содержит таблицу, где в каждой строке приведен один ген, один из ТФ, потенциально регулирующих экспрессию этого гена, семейство ТФ и один из терминов ГО с кодом обоснования аннотации. Эта выдача может быть использована для дальнейшего анализа с применением программных средств.

Блок выдачи 5, вспомогательный, содержит результаты функциональной аннотации списка ДЭГ с помощью программы clusterProfiler с указанием значимости обогащения терминов генной онтологии.

### Функциональная аннотация РСТФ ответа на солевой стресс у *A. thaliana*

Мы использовали программу PlantReg для исследования механизмов, регулирующих ответ на солевой стресс у модельного вида растений *A. thaliana*. Список ДЭГ,



**Рис. 3.** Реконструированная РСТФ ответа на ранний солевой стресс у *A. thaliana* (а) и ее участие в регуляции процессов, сопровождающих солевой стресс: ответа эндоплазматического ретикулума на потерю третичной структуры белков (б), биосинтеза индол-содержащих соединений (в) и S-гликозидов (г).

Вершины графов соответствуют транскрипционным факторам. ТФ1 и ТФ2 соединены дугой, направленной от ТФ1 (регулятора) к ТФ2 (мишени), если в 5'-регуляторном районе гена, кодирующего ТФ2, картируется пик связывания ТФ1. Блок зеленого цвета выделяет группу ТФ (UA), которые активируются и активируют свои мишени в ответ на солевой стресс. Блок желтого цвета выделяет группу ТФ (DS), которые подавляют гены в норме и сами подавляются солевым стрессом, и, таким образом, происходит пассивная активация ранее подавляемых ими генов. На панелях б–г выделены вершины и ребра РСТФ, вовлеченные в регуляцию соответствующих процессов, сопровождающих солевой стресс. DS и UA – подавляемые супрессоры и стимулируемые активаторы, согласно (Omelyanchuk et al., 2024).

реагирующих на высокое содержание соли в среде, был взят из публично доступных данных секвенирования транскриптомов (Wu et al., 2021a). Для того чтобы сформировать список потенциальных ТФ-регуляторов этих генов, мы применяли разработанный нами ранее инструмент CisCross-FindTFnet (Omelyanchuk et al., 2024). На основании совместного анализа ДЭГ и полногеномных профилей связывания ТФ этот инструмент выявляет потенциальные ТФ-регуляторы ДЭГ, классифицирует их по типу регуляции, а также определяет связи между ними и реконструирует РСТФ.

Классы ТФ по типу регуляции выделяются на базе определенного набора правил и соответствуют следующим свойствам регуляторов: US (upregulated suppressor) – индуцируемый стимулом (в нашем случае высокой концентрацией соли) репрессор. Он подавляет экспрессию генов-мишеней, которые были активны до воздействия стимула. UA (upregulated activator) индуцируется стимулом и активирует экспрессию генов-мишеней. DA (downregu-

lated activator) и DS (downregulated suppressor) активны в отсутствие стимула. Появление стимула снижает экспрессию DA, а следовательно, и экспрессию его генов-мишеней. DS подавляют работу генов-мишеней в отсутствие стимула; под действием стимула экспрессия DS снижается, и активность его мишеней деблокируется.

Структура РСТФ раннего ответа на солевой стресс, реконструированной с помощью программы CisCross-FindTFnet, представлена на рис. 3, а и состоит только из ТФ, сайты связывания которых были обогащены в аДЭГ, т.е. реакция на солевой стресс начинается с активации транскрипции, причем ТФ в составе РСТФ относятся только к DS и UA, – активация гена происходит пассивно из-за подавления стрессом супрессора (DS) или активно за счет стимулирования активатора (UA). Среди генов, кодирующих предсказанные UA, увеличение активности при солевом стрессе было ранее экспериментально показано для *CBF4/DREB1D* (Sakuma et al., 2002), *ERF37/DREB A-4* (Hossain et al., 2016), *RAP2.1/DEAR6* (Ghorbani et al., 2019),

*WRKY25* (Jiang, Deyholos, 2009), *ABI5* (Yuan et al., 2011), *GBF3* (Zhang L. et al., 2012, 2017) и *WRKY8* (Hu et al., 2013). При этом *ABI5* (Yuan et al., 2011), *GBF3* (Zhang L. et al., 2012, 2017) и *WRKY8* (Hu et al., 2013) играют ключевую роль в ответе на солевой стресс.

Для обнаруженных нами *DS* ранее было продемонстрировано, что инактивация *WRKY70* увеличивала устойчивость растений к солевому стрессу (Li J. et al., 2013), а экспрессия *bZIP3* ингибировалась солевым стрессом (Liu Y. et al., 2013). Примечательно, что более продолжительный солевой стресс (4 ч) активировал *WRKY3* (Li P. et al., 2021). Таким образом, состав реконструированной нами РСТФ достаточно хорошо согласуется с литературными данными. При этом только для 4 из 18 ТФ (22 %) ранее была выявлена ключевая роль в солевом стрессе, и всего для 10 (56 %) была описана реакция на солевой стресс, т.е. РСТФ содержит ряд новых потенциальных регуляторов этого процесса.

Функциональная аннотация списков ДЭГ показала, что ранняя реакция на солевой стресс сопровождается ответом эндоплазматического ретикулума на потерю третичной структуры белков, а также активацией следующих процессов: запрограммированной гибели клеток, старения листьев, транспорта воды, биосинтеза индол-содержащих соединений и S-гликозидов, ответа на тепло, красный и дальний красный свет, абсцизовую, салициловую и жасмоновую кислоты, синий свет, гипоксию, активные формы кислорода, обезвоживание. Связь ответа на солевой стресс и ответа на тепло была обнаружена ранее, так как белки теплового шока усиливают устойчивость к солевому стрессу, и наоборот: сверхэкспрессия белков солевого стресса обеспечивает устойчивость к тепловому стрессу (Azameti et al., 2024; Chaffai et al., 2024; Chang et al., 2024). Также была продемонстрирована в экспериментах связь солевого стресса со старением листьев, гипоксией, транспортом воды, ответом на голубой, красный и дальний красный свет, активные формы кислорода, обезвоживание, абсцизовую, салициловую и жасмоновую кислоты (Serraj et al., 1994; Szepesi et al., 2009; Joseph, Jini, 2010; Khan et al., 2012; Kumar et al., 2014; Sharma et al., 2022; Kesawat et al., 2023; Lu, Fricke, 2023; Tan et al., 2023; Peng et al., 2024).

Солевой стресс приводит к нарушению укладки третичной структуры белков в эндоплазматическом ретикулуме (так называемому стрессу эндоплазматического ретикулума), и ответом на это является некоторая оптимизация формирования третичной структуры белков, выражающаяся в снижении накопления белков с нарушениями третичной структуры (Liu et al., 2007; Wang et al., 2011). Имеются данные об участии биосинтеза такого индол-содержащего соединения, как мелатонин, в ответе на солевой стресс (Qi et al., 2020; Shamloo-Dashtpajardi et al., 2022). Обогащение генов ответа на солевой стресс термином геномной онтологии «метаболизм S-гликозидов» было замечено ранее (Rodríguez et al., 2021).

В регуляцию ответа на тепло, красный и дальний красный свет и салициловую кислоту оказались вовлечены все ТФ сети. Остальные биологические процессы распались на две группы: контролируемые не менее 70 % и контролируемые менее 50 % ТФ сети. В первую группу

попали запрограммированная гибель клеток, старение листьев и ответы на синий свет, гипоксию, активные формы кислорода, обезвоживание, абсцизовую и жасмоновую кислоты. Ко второй группе были отнесены ответ эндоплазматического ретикулума на потерю третичной структуры белков (см. рис. 3, б), биосинтез индол-содержащих соединений (см. рис. 3, в) и S-гликозидов (см. рис. 3, з), а также транспорт воды (последний регулируют лишь три ТФ сети, *VIM2*, *bZIP3* и *WIND3*). Таким образом, с помощью PlantReg мы показали, что реакция на солевой стресс сопровождается как процессами, регулируемые всей сетью ТФ, так и процессами, контролируемые отдельными частями этой сети.

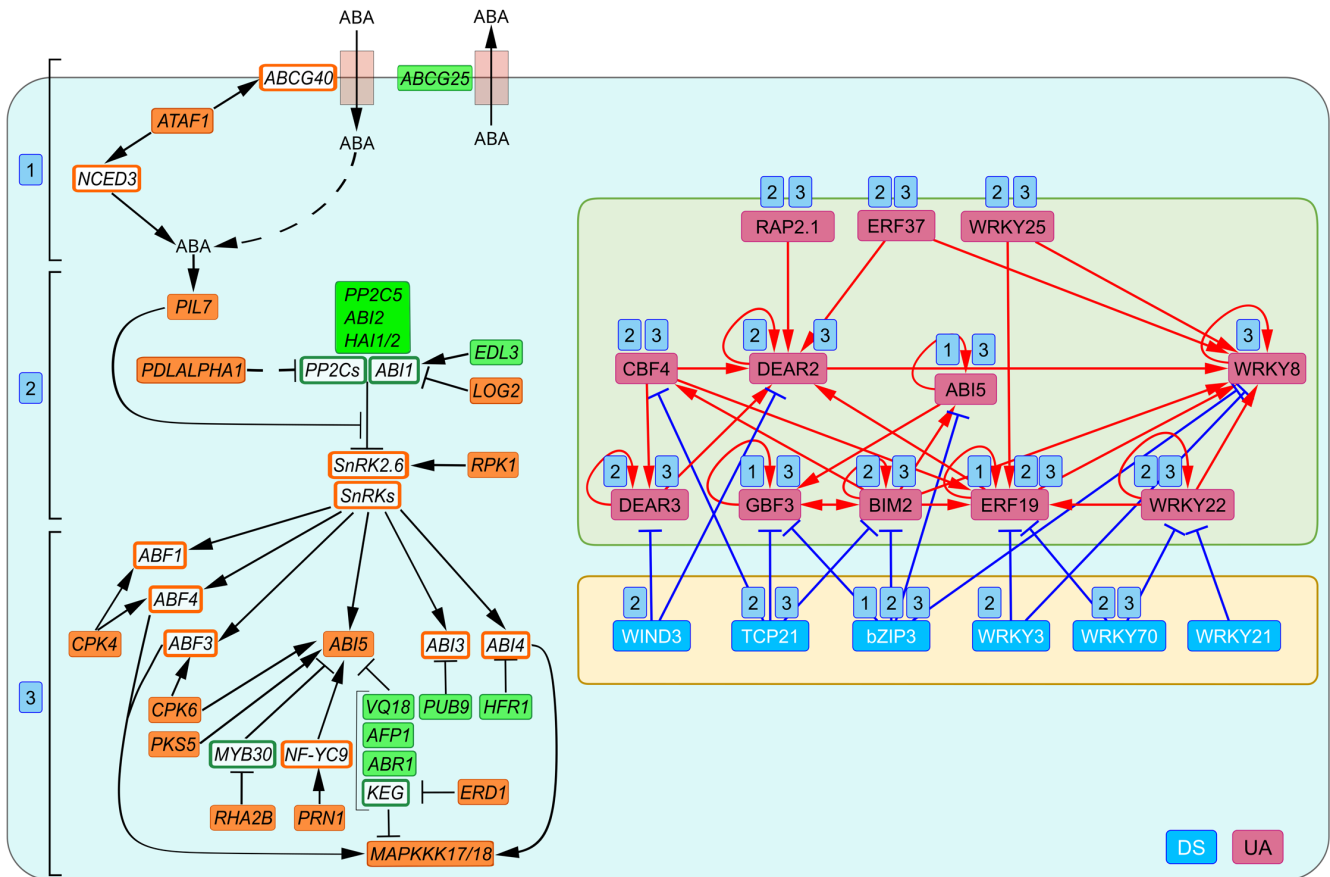
До настоящего времени среди ТФ, выявленных нами как контролирующих ответ эндоплазматического ретикулума на потерю третичной структуры белков, только для *WRKY70* была продемонстрирована роль в этом процессе (Wang L.Y. et al., 2023), а *bZIP3* был указан как один из возможных кандидатов на эту роль (Ko et al., 2023).

Глюкозинолаты – наиболее разнообразная и изученная группа среди S-гликозидов. Они представляют собой вторичные метаболиты растений семейства Крестоцветных, участвующие в защите растений от патогенов (Halkier, Gershenzon, 2006). В настоящее время они интенсивно изучаются благодаря их лечебным и профилактическим свойствам в отношении онкологических, сердечно-сосудистых или неврологических заболеваний. Глюкозинолаты подразделяются на три группы в зависимости от аминокислот, из которых они производятся. Алифатические глюкозинолаты образуются из метионина, алианина, лейцина, изолейцина и валина, ароматические – из фенилаланина и тирозина, а индольные – из триптофана. По крайней мере для трех из семи ТФ, которые, согласно нашим данным, контролируют биосинтез глюкозинолатов, эта функция была известна ранее. *CBF4* запускает синтез алифатических глюкозинолатов, которые к тому же увеличивают устойчивость к солевому стрессу (Defoort et al., 2018), в то время как *WRKY70* подавляет биосинтез индол-3-ульметил глюкозинолата (Li J. et al., 2006). Экспрессия *GBF3* значительно уменьшена в мутантах по гену *SUR2/CYP83B1*, который контролирует точку метаболического разветвления между биосинтезом ауксина и индол-глюкозинолатов (Morant et al., 2010).

### Регуляция сигнального пути абсцизово́й кислоты при солевом стрессе у *A. thaliana*

Наряду с определением состава ТФ, контролирующих определенные процессы, PlantReg позволяет вычленять ТФ, регулирующие активность отдельных генов в этих процессах. Последнее предоставляет возможность выделить модуляторы экспрессии генов по стадиям изучаемых процессов. В данной статье мы демонстрируем это на примере реконструкции механизма транскрипционной регуляции ответа на АБК при солевом стрессе. Согласно результатам PlantReg, все ТФ в составе РСТФ ответа на солевой стресс, за исключением *WRKY21*, контролируют ответ на АБК. Эта регуляция начинается с контроля уровня АБК в клетке.

На этой стадии (стадия 1 на рис. 4) мишенями РСТФ являются гены *ABCG25* и *ATAF1*, соответственно коди-



**Рис. 4.** Транскрипционная регуляция уровня и сигнального пути АБК в условиях раннего солевого стресса.

Зеленые и оранжевые прямоугольники обозначают аДЭГ, которые соответственно кодируют репрессоры и активаторы уровня АБК в клетке и сигнального пути АБК, являющиеся потенциальными мишенями ТФ из РСТФ.

Белые прямоугольники в зеленой и оранжевой рамках соответствуют генам-репрессорам и генам-активаторам уровня АБК в клетке и сигнального пути АБК, которые не являются потенциальными мишенями ТФ из РСТФ. Числа в голубых прямоугольниках обозначают различные стадии контроля уровня и сигнального пути АБК: 1 – стадия контроля уровня АБК; 2 – стадия восприятия АБК рецепторами; 3 – стадия активации главных ТФ ответа на АБК. Аббревиатуры для генов транспорта, биосинтеза и передачи сигнала АБК: *ATP-BINDING CASSETTE G25/40 (ABCG25/40)*, *PYR1 LIKE 7 (PYL7)*, *PROTEIN PHOSPHATASES TYPE 2C (PP2Cs)*, *ABA INSENSITIVE1/2/3/4/5 (ABI1/2/3/4/5)*, *SNF1-RELATED PROTEIN KINASE (SnRKs)*, *ABSCISIC ACID RESPONSIVE ELEMENT-BINDING FACTOR1/3/4 (ABF1/3/4)*, *CALCIUM-DEPENDENT PROTEIN KINASE 4/6 (CPK4/6)*, *ABI FIVE BINDING PROTEIN 1 (AFP1)*, *KEEP ON GOING (KEG)*, *ENHANCED DISEASE RESISTANCE 1 (EDR1)*, *NUCLEAR FACTOR Y9 (NF-YC9)*, *PLANT U-BOX/ARM-REPEAT (ATPUB-ARM) E3 LIGASE 9 (PUB9)*, *ABA REPRESSOR 1 (ABR1)*, *VQ PROTEIN 18 (VQ18)*, *HIGHLY ABA-INDUCED PP2C GENE 1/2 (HAI1/2)*, *ARABIDOPSIS THALIANA ACTIVATING FACTOR1 (ATAF1)*, *EID1-LIKE 3 (EDL3)*, *LONG HYCOCOTYL IN FAR-RED 1 (HFR1)*, *LOSS OF GDU2 (LOG2)*, *MITOGEN-ACTIVATED PROTEIN KINASE KINASE KINASE 17/18 (MAPKKK17/18)*, *PHOSPHOLIPASE D ALPHA 1 (PLDALPHA1)*, *PIRIN 1 (PRN1)*, *RING-H2 FINGER PROTEIN 2B (RHA2B)*, *RECEPTOR-LIKE PROTEIN KINASE 1 (RPK1)*, *CALCINEURIN B-LIKE PROTEIN-INTERACTING PROTEIN KINASES/SOS2-LIKE PROTEIN KINASE (PKS5)*, *MYB DOMAIN PROTEIN 30 (MYB30)*, *NINE-CIS-EPOXYCAROTENOID DIOXYGENASE 3 (NCED3)*.

рующие экспортер АБК из клетки (Park et al., 2016) и ТФ, активирующий гены биосинтеза АБК *NCED3* (Jensen et al., 2013) и импортера АБК *ABCG40* (Kang et al., 2015).

На следующей стадии (стадия 2 на рис. 4) АБК связывается и активирует группу рецепторов *PYRABACTIN RESISTANCE1/PYR1 LIKE/REGULATORY COMPONENTS OF ABA RECEPTORS (PYR/PYL/RCAR)* (Fidler et al., 2022), среди которых РСТФ ответа на солевой стресс контролирует *PYL7*, причем это наиболее строго регулируемый ген сигнального пути АБК, так как его экспрессию контролирует половина ТФ из состава РСТФ (9 из 18). В нормальных условиях активность *PYL7* подавляют *bZIP3* и *WIND3*. Причем, если *bZIP3* до начала солевого стресса ингибирует активность 12 из 24 генов сигнального пути АБК, включаемых солевым стрессом, то *WIND3* – специфический супрессор *PYL7*. Солевой стресс активирует *PYL7* с помощью семи ТФ, образующих

регуляторный контур, хабом которого является *DEAR2*, активируемый напрямую пятью ТФ (*CBF4*, *DEAR3*, *ERF19*, *ERF37*, *RAP2.1*), и шестой ТФ (*WRKY22*) стимулирует его через *ERF19*. В сигнальном пути АБК *PYR/PYL/RCAR* рецепторы ингибируют активность *PP2C* фосфатаз, тем самым предотвращая дефосфорилирование *SnRK2* киназ (Fidler et al., 2022).

Прямыми мишенями РСТФ ответа на солевой стресс являются *PP2C* фосфатазы *PP2C5*, *ABI2* и *HAI1/2*, а также активатор *SNRK2.6* – *RPK1* (Shang et al., 2020), регуляторы *PP2C* фосфатаз – *EDL3* (Koops et al., 2011), *LOG2* (Pan W. et al., 2020) и ген фосфолипазы *PLDALPHA1*, продукт которой (фосфатидная кислота) ингибирует активность некоторых *PP2C* фосфатаз (Ndathe, Kato, 2024).

Третья стадия передачи сигнала АБК (стадия 3 на рис. 4) начинается с активации *SnRK2* киназами главных ТФ ответа на АБК. Примечательно, что один из них, *ABI5*, также

входит в РСТФ ответа на солевой стресс. За исключением *ABI5* и инициаторов MAPK каскада *MAPKKK17/18* (Zhou M. et al., 2021; Zhao et al., 2023), все остальные мишени РСТФ на этом этапе представляют собой гены, кодирующие регуляторы активности главных ТФ ответа на АБК. Среди них киназы *CPK4/6*, *PKS5*, *EDR1* (Zhu et al., 2007; Wawrzynska et al., 2008; Zhou X. et al., 2015; Zhang H. et al., 2020), транскрипционные факторы *ABR1* (Sanyal, Pandey, 2024) и *HFR1* (Wang Z. et al., 2024), транскрипционные регуляторы *VQ18* (Pan J. et al., 2018) и *PRN1* (Warpeha et al., 2007), компоненты комплексов по деградации белков *PUB9* (Samuel et al., 2008), *AFP1* (Lopez-Molina et al., 2003), *RHA2B* (Li H. et al., 2011).

Необходимо отметить, что в контроле третьей стадии сигнального пути участвует половина супрессоров РСТФ ответа на солевой стресс и все активаторы из этой сети. Причем оба хаба РСТФ, *WRKY8* и *DEAR2*, транскрипция которых в этой сети усиливается семью и шестью ТФ активаторами соответственно, задействованы на этой стадии. Более того, в то время как *DEAR2* имеет мишени и на стадии 2, *WRKY8* специфичен для стадии 3. Было показано, что при вирусной инфекции *WRKY8* контролирует сигнальный путь АБК как подавляемый инфекцией активатор транскрипции *ABI4* (Chen L. et al., 2013). Мы продемонстрировали, что при солевом стрессе *WRKY8* контролирует сигнальный путь АБК через усиление транскрипции *CPK6*. Киназа *CPK6*, как было выявлено ранее, стимулирует активность ТФ *ABF4* и *ABI5* через их фосфорилирование (Zhang H. et al., 2020). Это дает возможность предположить, что один и тот же ТФ может иметь разные мишени в сигнальном пути АБК при различных стрессах.

Использование программы PlantReg позволило определить мишени РСТФ ответа на солевой стресс в генах ответа на АБК и показать, что регуляция солевым стрессом ответа на этот гормон осуществляется в основном за счет регуляции им сигнального пути АБК, в котором наиболее строгий контроль происходит на стадии активации главных ТФ ответа на АБК, *ABF1/3/4* и *ABI3/4/5*. Более того, *ABI5*, один из главных ТФ сигнального пути АБК, является также одним из ТФ в РСТФ ответа на солевой стресс, где его активность до стресса подавляется *bZIP3*, а при стрессе стимулируется *VIM2*. Сам же *ABI5* активирует *GBF3*, который, как и *VIM2*, подавляется *bZIP3* до стресса. При этом *GBF3* и *VIM2* взаимно активируют друг друга. Таким образом, *VIM2*, *bZIP3*, *GBF3* и *ABI5* образуют четкий регуляторный контур в реконструированной нами РСТФ (см. рис. 3, а и 4).

Интересно, что в генной сети ответа на АБК в работе (Aerts et al., 2024) ТФ, составляющие этот регуляторный контур (*VIM2*, *bZIP3*, *GBF3* и *ABI5*), принадлежат к группе наиболее ранних регуляторов и имеют большое число общих мишеней, т.е. контролируют одни и те же гены. Наряду с *VIM2*, *bZIP3*, *GBF3* и *ABI5*, реконструированная нами РСТФ ответа на солевой стресс пересекается с генной сетью ответа на абсцизовую кислоту из статьи (Aerts et al., 2024) еще по трем ТФ: *CBF4*, *DEAR2* и *WRKY3*. Мы обнаружили, что *DEAR2* является хабом активации при солевом стрессе второго и третьего этапа сигнального пути АБК. Более того, *CBF4*, *DEAR2* и *WRKY3* – это

компоненты сети, соединяющей ее центральный активирующий регуляторный контур (*VIM2*, *GBF3* и *ABI5*) со вторым хабом активации сигнала АБК, *WRKY8*.

*WRKY3* наряду с *bZIP3* подавляет *WRKY8* до стресса (см. рис. 3, а). При стрессе происходит последовательная активация *VIM2*, *CBF4*, *DEAR2* и *WRKY8*. Таким образом, сравнение результатов PlantReg с генной сетью ответа на абсцизовую кислоту (Aerts et al., 2024) позволило выделить ТФ, которые являются основными регуляторами ответа на АБК. Оставшиеся ТФ, *RAP2.1*, *ERF19/37*, *DEAR3*, *TCP21*, *WRKY8/22/25/70*, возможно, вовлечены в контроль сигнального пути АБК только при солевом стрессе.

## Закключение

Программа PlantReg показала свою эффективность в системном анализе результатов полногеномных экспериментов по выявлению дифференциальной активности генов. Она позволяет наряду с функциональной аннотацией ДЭГ находить среди них мишени ТФ и, исходя из этого, определять ТФ, регулирующие определенные биологические процессы. Совмещение результатов PlantReg с программами, реконструирующими РСТФ (например, *CisCross-FindTFnet*), дает возможность разбивать РСТФ на подсети, контролирующие каждый из процессов, выделять ключевые ТФ в этих процессах и даже на отдельных стадиях этих процессов. Подходы и методы, разработанные при создании PlantReg, могут быть с успехом использованы для реконструкции механизмов транскрипционной регуляции биологических процессов у различных видов живых организмов.

## Список литературы / References

- Aerts N., Hickman R., Van Dijken A.J., Kaufmann M., Snoek B.L., Pieterse C.M., Van Wees S.C. Architecture and dynamics of the abscisic acid gene regulatory network. *Plant J.* 2024;119(5):2538-2563. doi 10.1111/tj.16899
- Azameti M.K., Tanuja N., Kumar S., Rathinam M., Imoro A.W.M., Singh P.K., Gaikwad K., Sreevathsa R., Dalal M., Arora A., Rai V., Padaria J.C. Transgenic tobacco plants overexpressing a wheat salt stress root protein (TaSSRP) exhibit enhanced tolerance to heat stress. *Mol. Biol. Rep.* 2024;51(1):791. doi 10.1007/s11033-024-09755-4
- Chaffai R., Ganesan M., Cherif A. Mechanisms of plant response to heat stress: recent insights. In: *Plant Adaptation to Abiotic Stress: From Signaling Pathways and Microbiomes to Molecular Mechanisms*. Singapore: Springer, 2024;83-105. doi 10.1007/978-981-97-0672-3\_5
- Chang H., Wu T., Shalmani A., Xu L., Li C., Zhang W., Pan R. Heat shock protein HvHSP16.9 from wild barley enhances tolerance to salt stress. *Physiol. Mol. Biol. Plants.* 2024;30(5):687-704. doi 10.1007/s12298-024-01455-4
- Chen J.W., Shrestha L., Green G., Leier A., Marquez-Lago T.T. The hitchhikers' guide to RNA sequencing and functional analysis. *Brief. Bioinform.* 2023;24(1):bbac529. doi 10.1093/bib/bbac529
- Chen L., Zhang L., Li D., Wang F., Yu D. *WRKY8* transcription factor functions in the TMV-cg defense response by mediating both abscisic acid and ethylene signaling in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2013;110(21):E1963-E1971. doi 10.1073/pnas.1221347110
- Defoort J., Van de Peer Y., Vermeirssen V. Function, dynamics and evolution of network motif modules in integrated gene regulatory networks of worm and plant. *Nucleic Acids Res.* 2018;46(13):6480-6503. doi 10.1093/nar/gky468



- Fidler J., Graska J., Gietler M., Nykiel M., Prabucka B., Rybarczyk-Płońska A., Muszyńska E., Morkunas I., Labudda M. PYR/PYL/RCAR receptors play a vital role in the abscisic-acid-dependent responses of plants to external or internal stimuli. *Cells*. 2022;11(8):1352. doi 10.3390/cells11081352
- Ghorbani R., Alemzadeh A., Razi H. Microarray analysis of transcriptional responses to salt and drought stress in *Arabidopsis thaliana*. *Heliyon*. 2019;5(11):e02614. doi 10.1016/j.heliyon.2019.e02614
- Halkier B.A., Gershenzon J. Biology and biochemistry of glucosinolates. *Annu. Rev. Plant Biol.* 2006;57(1):303-333. doi 10.1146/annurev.arplant.57.032905.105228
- He X., Zhang J. Why do hubs tend to be essential in protein networks? *PLoS Genet.* 2006;2(6):88. doi 10.1371/journal.pgen.0020088
- Hecker D., Lauber M., Behjati Ardakani F., Ashrafiyan S., Manz Q., Kersting J., Hoffmann M., Schulz M.H., List M. Computational tools for inferring transcription factor activity. *Proteomics*. 2023;23(23-24):2200462. doi 10.1002/pmic.202200462
- Hossain M.A., Henríquez-Valencia C., Gómez-Páez M., Medina J., Orellana A., Vicente-Carbajosa J., Zouhar J. Identification of novel components of the unfolded protein response in *Arabidopsis*. *Front. Plant Sci.* 2016;7:650. doi 10.3389/fpls.2016.00650
- Hu Y., Chen L., Wang H., Zhang L., Wang F., Yu D. *Arabidopsis* transcription factor WRKY8 functions antagonistically with its interacting partner VQ9 to modulate salinity stress tolerance. *Plant J.* 2013;74(5):730-745. doi 10.1111/tbj.12159
- Jensen M.K., Lindemose S., De Masi F., Reimer J.J., Nielsen M., Perera V., Workman C.T., Turck F., Grant M.R., Mundy J., Petersen M., Skriver K. ATAF1 transcription factor directly regulates abscisic acid biosynthetic gene *NCED3* in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Open Bio.* 2013;3:321-327. doi 10.1016/j.fob.2013.07.006
- Jiang Y., Deyholos M.K. Functional characterization of *Arabidopsis* NaCl-inducible *WRKY25* and *WRKY33* transcription factors in abiotic stresses. *Plant Mol. Biol.* 2009;69(1-2):91-105. doi 10.1007/s11103-008-9408-3
- Joseph B., Jini D. Salinity induced programmed cell death in plants: challenges and opportunities for salt-tolerant plants. *J. Plant Sci.* 2010;5(4):376-390. doi 10.3923/jps.2010.376.390
- Kang J., Yim S., Choi H., Kim A., Lee K.P., Lopez-Molina L., Martinoia E., Lee Y. Abscisic acid transporters cooperate to control seed germination. *Nat. Commun.* 2015;6(1):8113. doi 10.1038/ncomms9113
- Kesawat M.S., Satheesh N., Kherawat B.S., Kumar A., Kim H.U., Chung S.M., Kumar M. Regulation of reactive oxygen species during salt stress in plants and their crosstalk with other signaling molecules – current perspectives and future directions. *Plants*. 2023;12(4):864. doi 10.3390/plants12040864
- Khan M.I.R., Syeed S., Nazar R., Anjum N.A. An insight into the role of salicylic acid and jasmonic acid in salt stress tolerance. In: Khan N., Nazar R., Iqbal N., Anjum N. (Eds). *Phytohormones and Abiotic Stress Tolerance in Plants*. Berlin; Heidelberg: Springer, 2012;277-300. doi 10.1007/978-3-642-25829-9\_12
- Ko D.K., Kim J.Y., Thibault E.A., Brandizzi F. An IRE1-proteasome system signalling cohort controls cell fate determination in unresolved proteotoxic stress of the plant endoplasmic reticulum. *Nat. Plants*. 2023;9(8):1333-1346. doi 10.1038/s41477-023-01480-3
- Kolmykov S., Yevshin I., Kulyashov M., Sharipov R., Kondrakhin Y., Makeev V.J., Kulakovskiy I.V., Kel A., Kolpakov F. GTRD: an integrated view of transcription regulation. *Nucleic Acids Res.* 2021;49:104-111. doi 10.1093/nar/gkaa1057
- Koops P., Pelser S., Ignatz M., Klose C., Marrocco-Selden K., Kretsch T. EDL3 is an F-box protein involved in the regulation of abscisic acid signalling in *Arabidopsis thaliana*. *J. Exp. Bot.* 2011;62(15):5547-5560. doi 10.1093/jxb/err236
- Kumar M., Kumari P., Reddy C.R.K., Jha B. Salinity and desiccation induced oxidative stress acclimation in seaweeds. *Adv. Bot. Res.* 2014;71:91-123. doi 10.1016/B978-0-12-408062-1.00004-4
- Lavrekha V.V., Levitsky V.G., Tsukanov A.V., Bogomolov A.G., Grigorovich D.A., Omelyanchuk N., Ubogoeva E.V., Zemlyanskaya E.V., Mironova V. CisCross: A gene list enrichment analysis to predict upstream regulators in *Arabidopsis thaliana*. *Front. Plant Sci.* 2022;13:942710. doi 10.3389/fpls.2022.942710
- Li H., Jiang H., Bu Q., Zhao Q., Sun J., Xie Q., Li C. The *Arabidopsis* RING finger E3 ligase RHA2b acts additively with RHA2a in regulating abscisic acid signaling and drought response. *Plant Physiol.* 2011;156(2):550-563. doi 10.1104/pp.111.176214
- Li J., Brader G., Kariola T., Tapio Palva E. WRKY70 modulates the selection of signaling pathways in plant defense. *Plant J.* 2006;46(3):477-491. doi 10.1111/j.1365-313X.2006.02712.x
- Li J., Besseau S., Törönen P., Sipari N., Kollist H., Holm L., Palva E.T. Defense-related transcription factors WRKY70 and WRKY54 modulate osmotic stress tolerance by regulating stomatal aperture in *Arabidopsis*. *New Phytol.* 2013;200(2):457-472. doi 10.1111/nph.12378
- Li P., Li X., Jiang M. CRISPR/Cas9-mediated mutagenesis of WRKY3 and WRKY4 function decreases salt and Me-JA stress tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Mol. Biol. Rep.* 2021;48(8):5821-5832. doi 10.1007/s11033-021-06541-4
- Liu J.X., Srivastava R., Che P., Howell S.H. Salt stress responses in *Arabidopsis* utilize a signal transduction pathway related to endoplasmic reticulum stress signaling. *Plant J.* 2007;51(5):897-909. doi 10.1111/j.1365-313X.2007.03195.x
- Liu Y., Ji X., Zheng L., Nie X., Wang Y. Microarray analysis of transcriptional responses to abscisic acid and salt stress in *Arabidopsis thaliana*. *Int. J. Mol. Sci.* 2013;14(5):9979-9998. doi 10.3390/ijms14059979
- Lopez-Molina L., Mongrand S., Kinoshita N., Chua N.-H. AFP is a novel negative regulator of ABA signaling that promotes ABI5 protein degradation. *Genes Dev.* 2003;17:410-418. doi 10.1101/gad.1055803
- Lu Y., Fricke W. Salt stress – regulation of root water uptake in a whole-plant and diurnal context. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24(9):8070. doi 10.3390/ijms24098070
- Morant M., Ekström C., Ulvskov P., Kristensen C., Rudemo M., Olsen C.E., Hansen J., Jørgensen K., Jørgensen B., Møller B.L., Bak S. Metabolomic, transcriptional, hormonal, and signaling cross-talk in *superroot2*. *Mol. Plant.* 2010;3(1):192-211. doi 10.1093/mp/ssp098
- Ndathé R., Kato N. Phosphatidic acid produced by phospholipase Da1 and Dδ is incorporated into the internal membranes but not involved in the gene expression of *RD29A* in the abscisic acid signaling network in *Arabidopsis thaliana*. *Front. Plant Sci.* 2024;15:1356699. doi 10.3389/fpls.2024.1356699
- Omelyanchuk N.A., Lavrekha V.V., Bogomolov A.G., Dolgikh V.A., Sidorenko A.D., Zemlyanskaya E.V. Computational reconstruction of the transcription factor regulatory network induced by auxin in *Arabidopsis thaliana* L. *Plants*. 2024;13(14):1905. doi 10.3390/plants13141905
- O'Malley R.C., Huang S.S.C., Song L., Lewsey M.G., Bartlett A., Nery J.R., Galli M., Gallavotti A., Ecker J.R. Cistrome and episcistrome features shape the regulatory DNA landscape. *Cell*. 2016;165:1280-1292. doi 10.1016/j.cell.2016.04.038
- Pan J., Wang H., Hu Y., Yu D. *Arabidopsis* VQ18 and VQ26 proteins interact with ABI5 transcription factor to negatively modulate ABA response during seed germination. *Plant J.* 2018;95(3):529-544. doi 10.1111/tbj.13969
- Pan W., Lin B., Yang X., Liu L., Xia R., Li J., Wu Y., Xie Q. The UBC27-AIRP3 ubiquitination complex modulates ABA signaling by promoting the degradation of ABI1 in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2020;117(44):27694-27702. doi 10.1073/pnas.2007366117
- Park Y., Xu Z.-Y., Kim S.Y., Lee J., Choi B., Lee J., Kim H., Sim H.-J., Hwang I. Spatial regulation of ABCG25, an ABA exporter, is an important component of the mechanism controlling cellular ABA levels. *Plant Cell*. 2016;28(10):2528-2544. doi 10.1105/tpc.16.00359
- Peng Y., Zhu H., Wang Y., Kang J., Hu L., Li L., Zhu K., Yan J., Bu X., Wang X., Zhang Y., Sun X., Ahammed G.J., Jiang C., Meng S.,

- Liu Y., Sun Z., Qi M., Li T., Wang F. Revisiting the role of light signaling in plant responses to salt stress. *Hortic. Res.* 2024;uhae262. doi 10.1093/hr/uhae262
- Qi C., Zhang H., Liu Y., Wang X., Dong D., Yuan X., Li X., Zhang X., Li X., Zhang N., Guo Y.-D. CsSNAT positively regulates salt tolerance and growth of cucumber by promoting melatonin biosynthesis. *Environ. Exp. Bot.* 2020;175:104036. doi 10.1016/j.envexpbot.2020.104036
- Rodriguez M.C., Mehta D., Tan M., Uhrig R.G. Quantitative proteome and PTMome analysis of *Arabidopsis thaliana* root responses to persistent osmotic and salinity stress. *Plant Cell Physiol.* 2021;62(6):1012-1029. doi 10.1093/pcp/pcab076
- Sakuma Y., Liu Q., Dubouzet J.G., Abe H., Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K. DNA-binding specificity of the ERF/AP2 domain of *Arabidopsis* DREBs, transcription factors involved in dehydration- and cold-inducible gene expression. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2002;290(3):998-1009. doi 10.1006/bbrc.2001.6299
- Samuel M.A., Mudgil Y., Salt J.N., Delmas F., Ramachandran S., Chillelli A., Goring D.R. Interactions between the S-domain receptor kinases and AtPUB-ARM E3 ubiquitin ligases suggest a conserved signaling pathway in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 2008;147(4):2084-2095. doi 10.1104/pp.108.123380
- Sanyal S.K., Pandey G.K. ERF111/ABR1: An AP2 domain transcription factor serving as a hub for multiple signaling pathways. *J. Plant Growth Regul.* 2024. doi 10.1007/s00344-023-11225-3
- Serraj R., Roy G., Drevon J.J. Salt stress induces a decrease in the oxygen uptake of soybean nodules and in their permeability to oxygen diffusion. *Physiol. Plant.* 1994;91(2):161-168. doi 10.1111/j.1399-3054.1994.tb00414.x
- Shamloo-Dashtpajardi R., Aliakbari M., Lindlöf A., Tahmasebi S. A systems biology study unveils the association between a melatonin biosynthesis gene, O-methyl transferase 1 (OMT1) and wheat (*Triticum aestivum* L.) combined drought and salinity stress tolerance. *Planta.* 2022;255(5):99. doi 10.1007/s00425-022-03885-4
- Shang Y., Yang D., Ha Y., Shin H.Y., Nam K.H. Receptor-like protein kinases RPK1 and BAK1 sequentially form complexes with the cytoplasmic kinase OST1 to regulate ABA-induced stomatal closure. *J. Exp. Bot.* 2020;71(4):1491-1502. doi 10.1093/jxb/erz489
- Sharma M., Irfan M., Kumar A., Kumar P., Datta A. Recent insights into plant circadian clock response against abiotic stress. *J. Plant Growth Regul.* 2022;41(8):3530-3543. doi 10.1007/s00344-021-10531-y
- Szepesi Á., Csiszár J., Gémes K., Horváth E., Horváth F., Simon M.L., Tari I. Salicylic acid improves acclimation to salt stress by stimulating abscisic aldehyde oxidase activity and abscisic acid accumulation, and increases Na<sup>+</sup> content in leaves without toxicity symptoms in *Solanum lycopersicum* L. *J. Plant Physiol.* 2009;166(9):914-925. doi 10.1016/j.jplph.2008.11.012
- Tan S., Sha Y., Sun L., Li Z. Abiotic stress-induced leaf senescence: regulatory mechanisms and application. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24(15):11996. doi 10.3390/ijms241511996
- Wang L.-Y., Li J., Gong B., Wang R.H., Chen Y.L., Yin J., Yang C., Lin J.-T., Liu H.-Z., Yang Y., Li J., Li C., Yao N. Orosomucoid proteins limit endoplasmic reticulum stress in plants. *New Phytol.* 2023;240(3):1134-1148. doi 10.1111/nph.19200
- Wang M., Xu Q., Yuan M. The unfolded protein response induced by salt stress in *Arabidopsis*. *Methods Enzymol.* 2011;489:319-328. doi 10.1016/B978-0-12-385116-1.00018-2
- Wang Z., Mao Y., Liang L., Pedro G.C., Zhi L., Li P., Hu X. HFR1 antagonizes ABI4 to coordinate cytosolic redox status for seed germination under high-temperature stress. *Physiol. Plant.* 2024;176(4):e14490. doi 10.1111/ppl.14490
- Warpeha K.M., Upadhyay S., Yeh J., Adamiak J., Hawkins S.I., Lapik Y.R., Anderson M.B., Kaufman L.S. The GCR1, GPA1, PRN1, NF-Y signal chain mediates both blue light and abscisic acid responses in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 2007;143(4):1590-1600. doi 10.1104/pp.106.089904
- Wawrzynska A., Christiansen K.M., Lan Y., Rodibaugh N.L., Innes R.W. Powdery mildew resistance conferred by loss of the ENHANCED DISEASE RESISTANCE1 protein kinase is suppressed by a missense mutation in *KEEP ON GOING*, a regulator of abscisic acid signaling. *Plant Physiol.* 2008;148(3):1510-1522. doi 10.1104/pp.108.127605
- Wu T., Goh H., Azodi C.B., Krishnamoorthi S., Liu M.J., Urano D. Evolutionarily conserved hierarchical gene regulatory networks for plant salt stress response. *Nat. Plants.* 2021a;7(6):787-799. doi 10.1038/s41477-021-00929-7
- Wu T., Hu E., Xu S., Chen M., Guo P., Dai Z., Feng T., Zhou L., Tang W., Zhan L.I., Fu X. clusterProfiler 4.0: A universal enrichment tool for interpreting omics data. *Innovation (Camb).* 2021b;2(3):100141. doi 10.1016/j.xinn.2021.100141
- Yu G., Wang L., Han Y., He Q. clusterProfiler: an R package for comparing biological themes among gene clusters. *OMICS.* 2012;16(5):284-287. doi 10.1089/omi.2011.0118
- Yuan K., Rashotte A.M., Wysocka-Diller J.W. ABA and GA signaling pathways interact and regulate seed germination and seedling development under salt stress. *Acta Physiol. Plant.* 2011;33:261-271. doi 10.1007/s11738-010-0542-6
- Zhang H., Liu D., Yang B., Liu W.Z., Mu B., Song H., Chen B., Li Y., Ren D., Deng H., Jiang Y.Q. *Arabidopsis* CPK6 positively regulates ABA signaling and drought tolerance through phosphorylating ABA-responsive element-binding factors. *J. Exp. Bot.* 2020;71(1):188-203. doi 10.1093/jxb/erz432
- Zhang L., Li Q., Shen J., Xue J., Han Y. Transcriptional regulatory networks in response to salt and drought stress in *Arabidopsis thaliana*. *J. Med. Plants Res.* 2012;6(6):950-958. doi 0.5897/JMPR11.240
- Zhang L., Zhang X., Fan S. Meta-analysis of salt-related gene expression profiles identifies common signatures of salt stress responses in *Arabidopsis*. *Plant Syst. Evol.* 2017;303:757-774. doi 10.1007/s00606-017-1407-x
- Zhao G., Cheng Q., Zhao Y., Wu F., Mu B., Gao J., Yang L., Yan J., Zhang H., Cui X., Chen Q., Lu F., Ao Q., Amdouni A., Jiang Y.-Q., Yang B. The abscisic acid-responsive element binding factors MAPKKK18 module regulates abscisic acid-induced leaf senescence in *Arabidopsis*. *J. Biol. Chem.* 2023;299(4):103060. doi 10.1016/j.jbc.2023.103060
- Zhou M., Zhang J., Shen J., Zhou H., Zhao D., Gotor C., Romero L.C., Fu L., Li Z., Yang J., Shen W., Yuan X., Xie Y. Hydrogen sulfide-linked persulfidation of ABI4 controls ABA responses through the transactivation of MAPKKK18 in *Arabidopsis*. *Mol. Plant.* 2021;14(6):921-936. doi 10.1016/j.molp.2021.03.007
- Zhou X., Hao H., Zhang Y., Bai Y., Zhu W., Qin Y., Yuan F., Zhao F., Wang M., Hu J., Xu H., Guo A., Zhao H., Zhao Y., Cao C., Yang Y., Schumaker K.S., Guo Y., Xie C.G. SOS2-LIKE PROTEIN KINASE5, an SNF1-RELATED PROTEIN KINASE3-type protein kinase, is important for abscisic acid responses in *Arabidopsis* through phosphorylation of ABSCISIC ACID-INSENSITIVE5. *Plant Physiol.* 2015;168(2):659-676. doi 10.1104/pp.114.255455
- Zhu S.Y., Yu X.C., Wang X.J., Zhao R., Li Y., Fan R.C., Shang Y., Du S.Y., Wang X.F., Wu F.Q., Xu Y.H., Zhang X.Y., Zhang D.P. Two calcium-dependent protein kinases, CPK4 and CPK11, regulate abscisic acid signal transduction in *Arabidopsis*. *Plant Cell.* 2007;19(10):3019-3036. doi 10.1105/tpc.107.050666

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 17.10.2024. После доработки 20.11.2024. Принята к публикации 20.11.2024.