

УДК 581.1

# ПРЕДПОЛАГАЕМЫЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ АСПЕКТЫ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ДЕГИДРОГЕНАЗЫ ПОЛУАЛЬДЕГИДА ЯНТАРНОЙ КИСЛОТЫ В ЛИСТЯХ ПШЕНИЦЫ (*Triticum aestivum* L.) ПРИ СОЛЕВОМ СТРЕССЕ<sup>1</sup>

© 2024 г. Д. Н. Федорин<sup>а</sup>, А. С. Бородин<sup>а</sup>, А. Т. Епринцев<sup>а</sup>. \*

<sup>а</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования  
“Воронежский государственный университет”, Воронеж, Россия  
\*e-mail: bc366@bio.vsu.ru

Поступила в редакцию 10.11.2023 г.

После доработки 04.01.2024 г.

Принята к публикации 09.01.2024 г.

Установлено повышение активности фермента в листьях мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) при солевом стрессе, что связано с поддержанием скорости функционирования цикла трикарбоновых кислот за счет притока дополнительных субстратов. Увеличение активности дегидрогеназы полуальдегида янтарной кислоты (ПЯКДГ) в листьях пшеницы при солевом стрессе, вызванном хлоридом натрия (NaCl), достигает максимального значения на 6 ч и составляет 12.2 Е/г сырой массы. Активация исследуемого фермента обеспечивает поддержание необходимого уровня АТФ за счет дополнительного поступления дыхательного субстрата в ЦТК при действии стрессового фактора. Установлена генетическая детерминация ПЯКДГ. На основании мРНК гомеологичных генов *SSADH* разработаны специфические праймеры для оценки уровня их транскриптов. Показано изменение содержания транскриптов генов фермента ПЯКДГ в листьях пшеницы при действии солевого стресса. Сравнительный анализ изменения активности ПЯКДГ и экспрессии исследуемых генов в листьях пшеницы в условиях солевого стресса свидетельствует о регуляции данного энзима за счет изменения их транскрипционной активности. Базовый вклад в изменение содержания транскриптов ПЯКДГ вносит ген *SSADH* А-субгена. Выявлено наличие специфического сайта связывания солезависимого транскрипционного фактора WRKY в составе промотора гена *SSADHA*. Увеличение содержания транскриптов WRKY может обеспечивать регуляцию экспрессии гена *SSADHA* при адаптации растений к стрессовому воздействию при взаимодействии со специфическим сайтом связывания, расположенном в области инициации транскрипции его промотора.

**Ключевые слова:** *Triticum aestivum*, дегидрогеназа полуальдегида янтарной кислоты, солевой стресс, транскрипционный фактор, экспрессия

DOI: 10.31857/S0015330324010088, EDN: NVTDMР

## ВВЕДЕНИЕ

Засоление почв представляет собой один из самых распространенных факторов, влияющих на продуктивность сельскохозяйственных культур, в том числе важнейшей зерновой культуры, которой является пшеница (*Triticum aestivum* L.) [1]. Воздействие засоления пагубно влияет на пшеницу, понижая урожайность и выживаемость растения.

Геном пшеницы состоит из 42 хромосом, разделенных на 3 близкородственных субгена (AA, BB, DD). Гены и хромосомы, принадлежащие разным видам, и объединенные благодаря

аллополиплоидизации в одном геноме, называются гомеологичными [2]. Гомеологи имеют высокий уровень сходства нуклеотидных последовательностей, что затрудняет оценку вклада генов из каждого субгена в общий уровень экспрессии [3].

Повышенная концентрация солей в почвенном растворе приводит к двум основным воздействиям на растение. Во-первых, снижается способность растения поглощать воду. Во-вторых, накопление Na<sup>+</sup> и Cl<sup>-</sup> до высоких уровней приводит к токсическому воздействию на клетки [4]. Солевой стресс вызывает активацию многочисленных мессенджерных систем, такие как волны повышения концентрации Ca<sup>2+</sup>, сигнальные пути активных форм кислорода, каскад фос-

<sup>1</sup> Дополнительные материалы размещены в электронном виде по DOI статьи: 10.31857/S0015330324010088

форилирования/дефосфорилирования белков, гормональные ответы и др. [5]. В конечном итоге происходят изменения в метаболизме растения, связанные с индукцией или репрессией большого количества белков, участвующих в адаптивных реакциях. Эти процессы затрагивают, в том числе, ферменты цикла трикарбоновых кислот (ЦТК), компоненты электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) растений и альтернативные и шунтирующие метаболические пути, такие как шунт  $\gamma$ -аминомасляной кислоты [6]. Роли шунта  $\gamma$ -аминомасляной кислоты в адаптации растений к стрессовым условиям уделяется большое внимание в настоящее время [7, 8].

Дегидрогеназа полуальдегида янтарной кислоты (ПЯКДГ, КФ 1.2.1.16) является ферментом шунта  $\gamma$ -аминомасляной кислоты, катализирующим превращение янтарного полуальдегида в янтарную кислоту, с образованием НАД $\cdot$ H. Данный этап шунта обеспечивает не только обходной путь ЦТК, но и его координацию и трансформацию ЭТЦ, в связи с образованием субстрата для второго комплекса цепи – дегидрогеназы янтарной кислоты [9].

Согласно опубликованным данным, большое количество генов мягкой пшеницы являются дифференциально экспрессируемыми при солевом стрессе [10]. Изменения экспрессии направлены на противодействие влиянию засоления. Особую роль в данном случае играют факторы транскрипции, которые непосредственно активируют или подавляют транскрипцию генов в ответ на солевое воздействие. Одним из крупнейших семейств транскрипционных факторов растений является WRKY. Известно, что белки WRKY участвуют в адаптации растений к солевому стрессу [11].

В связи с этим, целью работы является исследование влияния солевого стресса на функционирование дегидрогеназы полуальдегида янтарной кислоты в листьях пшеницы.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования были 14-дневные проростки мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), выращенные гидропонным методом при 14-часовом световом дне с интенсивностью света 90 мкмоль квантов/(м<sup>2</sup> с), при температуре окружающей среды 25°C.

Солевой стресс инициировался помещением проростка пшеницы, с предварительно удаленной корневой системой, в 150 мМ водный раствор хлорида натрия. Удаление корней осуществляли для изучения непосредственного влияния Na<sup>+</sup> и Cl<sup>-</sup> на регуляцию метаболических процессов в листьях пшеницы, поскольку корневая система служит селективным барьером для радиального транспорта ионов до того,

как они попадут в стелу и далее в ткани листьев. Концентрации было достаточно, чтобы вызвать изменения в обмене веществ без серьезного повреждения растений [12]. Инкубация в солевом растворе опытной группы прерывалась спустя 1, 3, 6, 12 и 24 ч после начала эксперимента. В контрольной группе были растения, помещенные на 24 ч в воду.

Активность ПЯКДГ измерялась спектрофотометрически, основываясь на увеличении оптической плотности в кювете при  $\lambda = 340$  нм, связанном с образованием НАДН [13]. За ферментативную единицу (Е) принимали количество фермента, катализирующего превращение 1 мкмоль янтарного полуальдегида за 1 мин при 25°C.

Для оценки экспрессии генов ПЯКДГ пшеницы были сконструированы праймеры (табл. 1, Дополнительные материалы), для каждого из гомеологичных генов (*SSADHA* – LOC123132549, *SSADHB* – LOC123136622, *SSADHD* – LOC123144134) [14]. Нуклеотидные последовательности мРНК генов ПЯКДГ *Triticum aestivum* были взяты из международной базы данных NCBI.

Подбор праймеров для гена *WRKY3* (LOC100192142) осуществлялся с использованием программы Primer-BLAST на основе нуклеотидных последовательностей из международной базы данных NCBI. Олигонуклеотидные последовательности праймеров: прямой 5'-GTCCCCTGTTTTTCAGGTTCA-3', обратный 5'-GCTCAGTCTCCTGTGGGAAG-3'.

Анализ потенциальных сайтов связывания факторов транскрипции WRKY в промоторных областях генов *SSADH* пшеницы был выполнен с использованием базы данных PlantRegMap (<http://plantregmap.gao-lab.org/>). Нуклеотидные последовательности промоторных областей генов дегидрогеназы янтарного полуальдегида были взяты из базы данных NCBI.

Выделения нуклеиновых кислот проводили фенол-хлороформным методом [15].

Обратную транскрипцию для синтеза кДНК проводили с помощью набора реактивов “MMLV RT kit” (Евроген, Россия) согласно рекомендациям производителя.

Полимеразная цепная реакция в реальном времени проводилась с использованием ранее полученной кДНК из суммарной клеточной РНК. Красителем служил SYBR Green I, а для нормализации реакции использовался ген фактора элонгации *ef-1 $\alpha$*  [16].

Реакция осуществлялась на приборе LightCycler 96 (Roche, Швейцария). Параметры амплификации: первичная денатурация при 95°C в течение 5 мин, затем цикл: 95°C – 20 с, 54–59°C – 30 с, 72°C – 40 с, финальная элонгация при 72°C в течение 10 мин. При помощи программного обеспечения Opticon Monitor™

Software (Biorad, США) с применением  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ -метода были определены относительные уровни транскриптов [17].

Опыты проводили в трех биологических и четырех аналитических повторностях. Данные были подвергнуты двустороннему дисперсионному анализу (ANOVA) с использованием программного обеспечения для анализа данных STATISTICA версии 9.0 (Statsoft Wipro, USA). Результаты представлены в виде средних значений и стандартных отклонений (SD). Обсуждаются статистически значимые различия при  $P < 0.05$  [18].

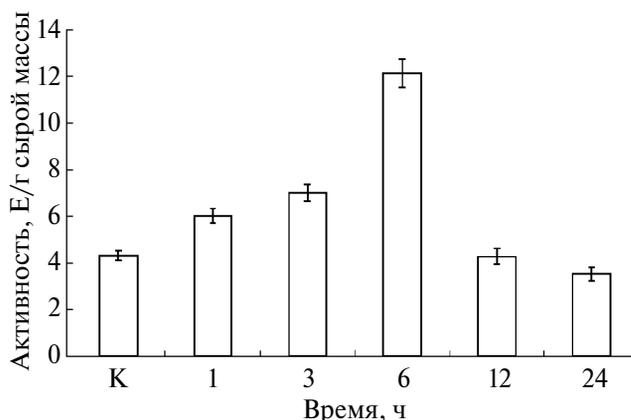
### РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты исследования активности ПЯКДГ в листьях пшеницы при солевом стрессе указывают на увеличение анализируемого показателя сразу после третьего часа инкубации в солевом растворе, достигая максимума на 6 ч и составляя 12.15 Е/г сырой массы (рис. 1). Это значение превышает контрольное в 2.82 раза. Затем активность снижалась, приближаясь к уровню в контрольных образцах (рис. 1), достигая величины 3.85 Е/г сырой массы на 24 ч эксперимента.

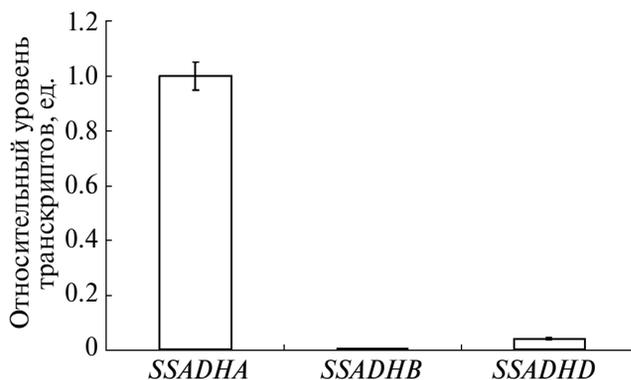
Результаты анализа относительных уровней транскриптов гомеологичных генов *SSADH* в листьях пшеницы показали, что в нормальных условиях основной вклад в общий уровень экспрессии вносит ген *SSADHA*. Ген *SSADHB* практически не экспрессируется в норме. Относительный уровень экспрессии гена *SSADHD* в 23.9 раз ниже такового для *SSADHA* (рис. 2).

Исследование влияния солевого стресса на изменение относительного уровня транскриптов генов ПЯКДГ в листьях пшеницы показало их дифференциальную экспрессию в разное время эксперимента. Для *SSADHA* относительный уровень транскриптов увеличивается, достигая максимального значения к 6 ч инкубации. В дальнейшем, уровень транскриптов исследуемого гена снижается, достигая значений ниже контрольных в 1.4 раза (рис. 3). Уровень транскриптов гена *SSADHB* на протяжении всего эксперимента уменьшается, к 24 ч достигая значения в 1.9 раза ниже контрольного (рис. 3). Характер изменения уровня транскриптов *SSADHD* схож с таковым для *SSADHA*. Максимальную величину показатель принимает за 6 ч инкубации, а к 24 ч снижается в 3.5 раза по сравнению с контрольным (рис. 3).

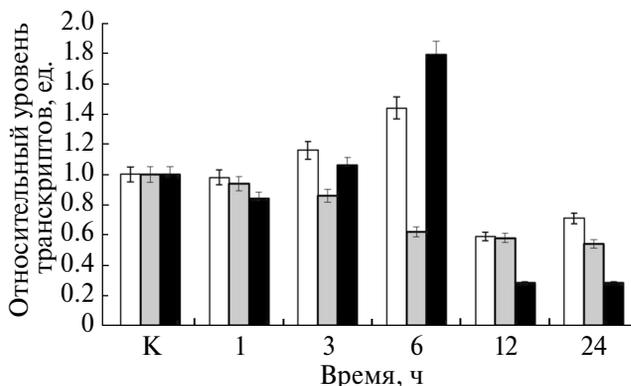
Установлено, что общий уровень транскриптов обусловлен экспрессией триады (А, В, D) гомеологичных генов, при этом, каждый из них вносит неравнозначный вклад (рис. 4). Основной вклад в уровень мРНК исследуемого фермента при солевом стрессе вносит ген *SSADHA* (от 95.4 до 98%). Засоление незначи-



**Рис. 1.** Активность дегидрогеназы полуальдегида янтарной кислоты в листьях пшеницы при засолении. Ось абсцисс – время инкубации в 150 мМ растворе NaCl; К – контрольный образец. За ферментативную единицу (Е) принимали количество фермента, катализирующего превращение 1 мкмоль янтарного полуальдегида за 1 мин при 25°C.



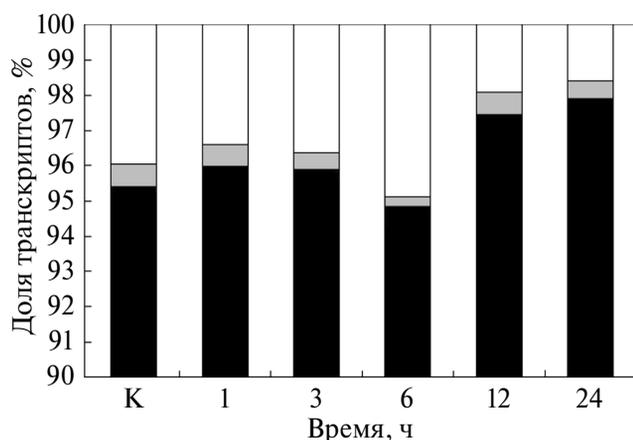
**Рис. 2.** Относительный уровень транскриптов генов *SSADHA*, *SSADHB* и *SSADHD* в листьях пшеницы, выращенной гидропонным методом с интенсивностью света 90 мкмоль квантов/(м<sup>2</sup> с), при температуре окружающей среды 25°C без инкубации в 150 мМ растворе NaCl.



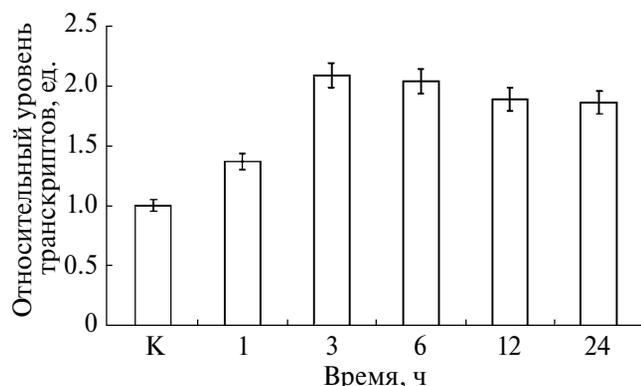
**Рис. 3.** Относительный уровень транскриптов генов *SSADHA* (белые столбцы), *SSADHB* (серые столбцы) и *SSADHD* (черные столбцы) в листьях пшеницы в стрессовых условиях. Ось абсцисс – время инкубации в 150 мМ растворе NaCl; К – контрольный образец.

тельно влияет на экспрессию гена *SSADHB*, что в целом указывает на невысокую долю транскриптов *SSADHB* в листьях пшеницы при действии стрессового фактора. Можно отметить активацию гена *SSADHD* в условиях солевого стресса и небольшое увеличение его доли в общем уровне транскрипции на 6 ч эксперимента (5% от общего уровня) (рис. 4).

У высших растений одним из крупнейших семейств транскрипционных факторов, играющих важную роль в ответной реакции на биотический и абиотический стресс, является семейство *WRKY* [19]. Транскрипционные факторы *WRKY* связывают специфическую промоторную последовательность гена-мишени, известную как W-box (T)TGAC(C/T), положительно или отрицательно регулируя экспрессию



**Рис. 4.** Доля генов *SSADH* А-субгеномов (черные столбцы), В-субгеномов (серые столбцы) и Д-субгеномов (белые столбцы) в общем уровне содержания транскриптов дегидрогеназы полуальдегида янтарной кислоты в листьях пшеницы в стрессовых условиях.



**Рис. 5.** Относительный уровень транскриптов гена транскрипционного фактора *WRKY3* в листьях пшеницы в стрессовых условиях. Ось абсцисс – время инкубации в 150 мМ растворе NaCl; К – контрольный образец.

генов-мишеней, которые принимают участие в физиологическом ответе на изменения в окружающей среде [20]. В промоторных областях *SSADHA* и *SSADHB* генома пшеницы были обнаружены потенциальные сайты связывания факторов транскрипции *WRKY* (W-боксы). Промотор *SSADHA* содержит 7 потенциальных сайтов связывания различных *WRKY*, среди которых был представлен *WRKY3*, активируемый при засолении (рис. 5). В промоторе *SSADHB* обнаружено 2 потенциальных сайта связывания *WRKY*. Один из них является репрессором транскрипции. В то же время, промотор *SSADHD* гена не содержал соответствующих сайтов.

В связи с этим проанализировано изменение экспрессии гена *WRKY3* и установлено увеличение содержания его мРНК в листьях пшеницы при засолении. Максимальное содержание транскриптов наблюдалось на 3 ч инкубации, превышая контрольные значения в 2 раза (рис. 5), что соотносится с высокой транскрипционной активностью гена *SSADHA* в этот период эксперимента. На протяжении дальнейшего времени экспозиции обнаружено незначительное снижение экспрессии гена *WRKY3* в листьях пшеницы.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Активация ПЯКДГ в листьях пшеницы при засолении обеспечивает реорганизацию ЦТК, связанную с обходом чувствительных к засолению митохондриальных ферментов, в особенности 2-оксоглутаратдегидрогеназы [21]. Увеличение каталитической активности исследуемого фермента необходимо для поддержания высокого уровня синтеза энергетических эквивалентов за счет дополнительного поступления дыхательного субстрата в ЦТК. Активация шунта  $\gamma$ -аминомасляной кислоты и ПЯКДГ, как фермента, поставляющего сукцинат в ЦТК, обеспечивает необходимый окислительно-восстановительный статус клетки в условиях солевого стресса [6].

Показано, что солевой стресс активирует ПЯКДГ в листьях пшеницы на уровне генома за счет изменения транскрипции генов, кодирующих данный фермент. Установлена дифференциальная экспрессия гомологов гена *SSADH* с сильным доминированием *SSADHA*. Следовательно, регуляции каталитической активности ПЯКДГ в листьях пшеницы при солевом стрессе, вероятно, связана с изменением содержания транскриптов гена *SSADHA*. Значительное накопление мРНК гена *SSADHA* в листьях пшеницы на 6 ч экспозиции, вероятно, обуславливает синтез белковых компонентов исследуемого фермента, что приводит к увеличению его общей ферментативной активности. Наблюдаемые раз-

личия в экспрессии генов гомеологов ПЯКДГ могут быть обусловлены несколькими механизмами, включающими различие степени метилирования промоторов генов, модификациями гистонов или другими эпигенетическими особенностями организации генома пшеницы [10].

Механизмом регуляции экспрессии генов *SSADH* в листьях пшеницы могут выступать специализированные транскрипционные факторы [22]. Известно, что фактор транскрипции *WRKY* активируется в ответ на различные стрессовые условия и модулирует работу многих генов, участвующих в адаптации растений [23, 24]. Ранее было установлено, что увеличение экспрессии *WRKY3* в томатах усиливало транскрипционную активность генов, участвующих в управлении абиотическим стрессом, транспорте ионов и воды, а также клеточной детоксикации [25]. Следовательно, *WRKY3* является регулятором толерантности к осмотическому стрессу у растений, обеспечивающим контроль транскрипционной активности генов за счет взаимодействия со специфическими сайтами в их промоторных областях. Активация гена *SSADHA* может быть связана с усилением экспрессии гена *WRKY3*, так как данный транскрипционный фактор может связываться с промоторами генов *SSADHA* и *SSADHB* фермента ПЯКДГ, в составе которых обнаружены специфические сайты для данного фактора транскрипции. Анализ полученных данных по распределению сайтов транскрипционных факторов в промоторах генов ПЯКДГ свидетельствует о высокой вероятности их регуляции фактором *WRKY3*, участвующем в геномной регуляции листьев в условиях абиотического стресса [26]. В исследованных последовательностях промоторов генов ПЯКДГ был обнаружен набор различных сайтов связывания, соответствующих транскрипционным факторам типа *WRKY*, из них один расположен в области инициации транскрипции гена *SSADHA* на удалении 388 п.н. от структурной части гена и на удалении 324 п.н. от TATA-бокс, что является важным элементом контроля взаимодействия с РНК-полимеразой [27, 28].

Таким образом установлено, что солевой стресс вызывает увеличение активности дегидрогеназы янтарного полуальдегида в листьях пшеницы, что может быть обусловлено активацией транскрипции гена *SSADHA* при действии солевого стресса. Базовый вклад в изменение содержания мРНК фермента ПЯКДГ вносит ген *SSADHA*-субгенома, в промоторной области которого обнаружены специфические сайты для солевывисимого фактора транскрипции *WRKY*. Увеличение содержания транскриптов фактора *WRKY* в листьях пшеницы при солевом стрессе обеспечивает молекулярный механизм регуляции транскрипции гена *SSADHA* при адаптации

растений к стрессовому фактору. ПЯКДГ отвечает за поступление сукцината в цикл Кребса посредством окисления сукцинатного полуальдегида. Полученный НАДН в реакциях ЦТК затем может быть использован митохондриальной ЭТЦ, что позволяет модулировать окислительно-восстановительный и энергетический статус клетки при солевом стрессе.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания ВУЗам в сфере научной деятельности на 2023-2025 годы, проект № FZGU-2023-0009.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов. Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Долгополова Н.В., Скрипин В.А., Шершинева О.М., Алябьева Ю.В. Значение озимой и яровой пшеницы в производстве продуктов питания // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. 2009. Т. 5. №. 5. С. 52.
2. Glover N.M., Redestig H., Dessimoz C. Homoeologs: what are they and how do we infer them? // Trends Plant Sci. 2016. V. 21. P. 609. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.02.005>
3. Levy A.A., Feldman M. Evolution and origin of bread wheat // Plant Cell. 2022. V. 34. P. 2549. <https://doi.org/10.1093/plcell/koac130>
4. Tavakkoli E., Fatehi F., Coventry S., Rengasamy P., McDonald G.K. Additive effects of Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> ions on barley growth under salinity stress // J. Exp. Bot. 2011. V. 62. P. 2189. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq422>
5. Yang Y., Guo Y. Unraveling salt stress signaling in plants // J. I. Plant Biol. 2018. V. 60. P. 796. <https://doi.org/10.1111/jipb.12689>
6. Che-Othman M.H., Jacoby R.P., Millar A.H., Taylor N.L. Wheat mitochondrial respiration shifts from the tricarboxylic acid cycle to the GABA shunt under salt stress // New Phytol. 2020. V. 225. P. 1166. <https://doi.org/10.1111/nph.15713>
7. Yuan D., Wu X., Gong B., Huo R., Zhao L., Li J., Lü G., Gao H. GABA metabolism, transport and their roles and mechanisms in the regulation of abiotic stress (hypoxia, salt, drought) resistance in plants // Metabolites. 2023. V. 13. P. 347. <https://doi.org/10.3390/metabo13030347>
8. Wu X., Jia Q., Ji S., Gong B., Li J., Lü G., Gao H. Gamma-aminobutyric acid (GABA) alleviates salt damage in tomato by modulating Na<sup>+</sup> uptake, the GAD gene, amino acid synthesis and reactive oxygen species metabolism // BMC Plant Biol. 2020. V. 20: 465. <https://doi.org/10.1186/s12870-020-02669-w>

9. Fedorin D.N., Eprintsev A.T., Florez Caro O.J., Igamberdiev A.U. Effect of salt stress on the activity, expression, and promoter methylation of succinate dehydrogenase and succinic semialdehyde dehydrogenase in maize (*Zea mays* L.) leaves // *Plants*. 2022. V. 12. P. 68. <https://doi.org/10.3390/plants12010068>
10. Ramirez-Gonzalez R.H., Borrill P., Lang D., Harrington S.A., Brinton J., Venturini L., Davey M., Jacobs J., van Ex F., Pasha A., Khedikar Y., Robinson S.J., Cory A.T., Florio T., Concia L. The transcriptional landscape of polyploid wheat // *Science*. 2018. V. 361. P. Eaar6089. <https://doi.org/10.1126/science.aar6089>
11. Banerjee A., Roychoudhury A. WRKY proteins: signaling and regulation of expression during abiotic stress responses // *Sci. World J.* 2015. V. 2015. Article ID 807560. <https://doi.org/10.1155/2015/807560>.
12. AbdElgawad H., Zinta G., Hegab M.M., Pandey R., Asard H., Abuelsoud W. High salinity induces different oxidative stress and antioxidant responses in maize seedlings organs // *Front. Plant Sci.* 2016. V. 7: 276. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00276>
13. Землянухин А.А. Большой практикум по физиологии растений. Воронеж: Изд-во Воронежского университета. 1996. 184 с.
14. Huang X.Q., Brule-Babel A. Development of genome-specific primers for homoeologous genes in allopolyploid species: the waxy and starch synthase II genes in allohexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) as examples // *BMC Res. Notes*. 2010. V. 3. P. 140. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-3-140>
15. Vennapusa A.R., Somayanda I.M., Doherty C.J., Jagadish S.K. A universal method for high-quality RNA extraction from plant tissues rich in starch, proteins and fiber // *Sci. Rep.* 2020. V. 10. P. 16887. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73958-5>
16. Nicot N., Hausman J.F., Hoffmann L., Evers D. House-keeping gene selection for real-time RT-PCR normalization in potato during biotic and abiotic stress // *J. Exp. Bot.* 2005. V. 56. P. 2907. <https://doi.org/10.1093/jxb/eri285>
17. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  method // *Methods*. 2001. V. 25. P. 402. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
18. Лакин Г.Ф. Биометрия. Москва: Высшая школа, 1990. 351 с.
19. Wei K., Chen J., Chen Y., Wu L., Xie D. Molecular phylogenetic and expression analysis of the complete WRKY transcription factor family in maize // *DNA Res.* 2012. V. 19. P. 153. <https://doi.org/10.1093/dnares/dsr048>
20. Silva Monteiro de Almeida D., Oliveira Jordão do Amaral D., Del-Bem L-E., Bronze dos Santos E., Raner José Santana S., Karina Peres G., Michel V., Fabienne M. Genome-wide identification and characterization of cacao WRKY transcription factors and analysis of their expression in response to witches' broom disease // *PLoS One*. 2017. V. 12: e0187346. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187346>
21. Che-Othman M.H., Millar A.H., Taylor N.L. Connecting salt stress signalling pathways with salinity-induced changes in mitochondrial metabolic processes in  $C_3$  plants // *Plant Cell Environ.* 2017. V. 40. P. 2875. <https://doi.org/10.1111/pce.13034>
22. Coleman S.T., Fang T.K., Rovinsky S.A., Turano F.J., Moye-Rowley W.S. Expression of a glutamate decarboxylase homologue is required for normal oxidative stress tolerance in *Saccharomyces cerevisiae* // *J. Biol. Chem.* 2001. V. 276. P. 244. <https://doi.org/10.1074/jbc.M007103200>
23. Zhou S., Zheng W.-J., Liu B.-H., Zheng J.-C., Dong F.-S., Liu Z.-F., Wen Z.-Y., Yang F., Wang H.-B., Xu Z.-S., Zhao H., Liu Y.-W. Characterizing the role of *TaWRKY13* in salt tolerance // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. V. 20. P. 5712. <https://doi.org/10.3390/ijms20225712>
24. Qin Y., Tian Y., Liu X. A wheat salinity-induced WRKY transcription factor *TaWRKY93* confers multiple abiotic stress tolerance in *Arabidopsis thaliana* // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2015. V. 464. P. 428. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.06.128>
25. Muhovski I.H.Y., Zizkova E., Dobrev P.I., Gharbi E., Franco-Zorrilla J.M., Lopez-Vidriero I., Solano R., Clippe A., Errachid A., Motyka V., Lutts S. The *Solanum lycopersicum* WRKY3 transcription factor SlWRKY3 is involved in salt stress tolerance in tomato // *Front. Plant Sci.* 2017. V. 8. P. 1343. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01343>
26. Kovalchuk N., Jia W., Eini O., Morran S., Pyvovarenko T., Fletcher S., Bazanova N., Harris J., Beck-Oldach K., Shavrukov Y., Langridge P., Lopato S. Optimization of TaDREB3 gene expression in transgenic barley using cold-inducible promoters // *Plant Biotechnol. J.* 2013. V. 11. P. 659. <https://doi.org/10.1111/pbi.12056>
27. Whitfield T.W., Wang J., Collins P.J., Partridge E.C., Aldred S.F., Trinklein N.D., Myers R.M., Weng Z. Functional analysis of transcription factor binding sites in human promoters // *Genome Biol.* 2012. V. 13: R50. <https://doi.org/10.1186/gb-2012-13-9-r50>
28. Shahmuradov I.A., Umarov R.Kh., Solovyev V.V. TSSPlant: a new tool for prediction of plant Pol II promoters // *Nucleic Acids Res.* 2017. V. 45: e65. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw1353>