

## ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ПРОМОТОРІВ ГЕНІВ ТРАНСКРИПЦІЙНИХ ФАКТОРІВ DREB2B У *DESCHAMPSIA ANTARCTICA* ТА ІНШИХ ЗЛАКІВ

О.М. БУБЛИК \*, І.О. АНДРЕЄВ, В.А. КУНАХ

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ, 03143 Україна

E-mail: o.m.bublyk@imbg.org.ua

*Досліджено організацію промоторів генів-ортологів ТФ DREB2B, що залучені до відповіді на абіотичні стреси, у рослини-екстремофіла D. antarctica E. Desv. та ще 12 видів злаків із різною холодо- та посухостійкістю. Еволюційні дистанції між послідовностями промоторів у середньому становили 0,621, між кодувальними послідовностями, включно з інтронами, – 0,442, значення нуклеотидної різноманітності ( $\pi$ ) цих ділянок становили 0,410 і 0,274, відповідно. Кластеризація послідовностей загалом відповідала прийнятному систематичному поділу родини Poaceae на підродини. Виявлено 54 цис-елементи, залучені до відповіді на дію абіотичних та біотичних стресів, світла, гормонів, зокрема абсцизової кислоти, ауксину, метилжасмонату, етилену, гібереліну та саліцилової кислоти, тканиноспецифічні цис-елементи. Велика частка знайдених цис-елементів були пов'язані із відповіддю на абіотичний стрес, що узгоджується з даними про функції ТФ DREB2B. За виключенням одиничних особливостей, представники різних підродин злаків та D. antarctica були подібними за загальним набором цис-елементів у складі промотора DREB2B, що свідчить про подібність регуляції експресії цього гена і його потенційних функцій у відповіді на стрес у досліджених видів.*

**Ключові слова:** абіотичний та біотичний стрес, транскрипційні фактори DREB2B, цис-елементи, злаки.

**Вступ.** У процесі еволюції у рослин, які ведуть прикріплений спосіб життя, сформувалися різноманітні молекулярні, клітинні та фізіологічні механізми адаптації до виживання у несприятливих умовах. Наразі накопичено інформацію про велику кількість генів, які індукуються абіотичними стресами та забезпечу-

ють дію цих механізмів (VanWallendael et al, 2019). Показано, що ці гени контролює складна мережа транскрипційних факторів (ТФ). Регуляція експресії генів відбувається шляхом зв'язування ТФ із цис-регуляторними елементами – специфічними короткими мотивами ДНК довжиною 5–25 п.н., що знаходяться у промоторних ділянках генів. Вивчення цис-елементів дозволяє визначити, які саме родини ТФ залучені до регуляції окремих генів, а при комплексному аналізі наблизитися до розуміння складної мережі реакцій рослин на стрес, та взаємодії різних сигнальних шляхів під час адаптації до несприятливого середовища (Yamaguchi-Shinozaki and Shinozaki, 2005).

DREB (dehydration-responsive element-binding protein) є однією з ключових підродин транскрипційних факторів (ТФ) рослин, які регулюють експресію багатьох генів відповіді на абіотичний стрес. Ця підродина належить до родини ТФ AP2/ERF (APETALA2/ethylene-responsive element binding factor) та розділена на 6 груп на основі подібності ДНК-зв'язувального домену. Ключовими групами ТФ, що задіяні у відповіді на стреси, є DREB2, CBF/DREB1 і DREB4. Загалом відомо, що гени ТФ з груп CBF/DREB1 і DREB4 індукуються холодом, в той час як активація генів DREB2 відбувається під впливом зневоднення і засолення ґрунту. Водночас дослідження регуляторних мереж показують, що багато з цих сигнальних шляхів перекриваються, також є повідомлення про індукцію окремих генів із групи DREB2, головним чином ортологів *DREB2B*, під впливом холодого і теплового стресу (Nakashima et al, 2009). ТФ DREB та їх функції були широко

вивчені у різних видів рослин (Erpen et al, 2018; Singh et al, 2021; Feng et al, 2020), однак їх регуляція та цис-елементи промоторів, а також нуклеотидна різноманітність досліджені недостатньо.

Дослідження промоторів має не лише фундаментальне значення для розуміння регуляції експресії генів у рослин, але і знаходить прикладне застосування у генній інженерії. Конститутивна експресія генів відповіді на стрес може призвести до пригнічення росту та аномальної морфології. Натомість експресія цих генів у трансгенних рослин під контролем стрес-індукованих промоторів значно покращує стійкість без затримки розвитку, що зокрема показано і для ТФ DREB (Kovalchuk et al, 2013).

Раніше ми передбачили *in silico* та проаналізували нуклеотидні послідовності двох генів ТФ з групи DREB2 *Deschampsia antarctica* E. Desv. (Poaceae) – *DaDREB2A* і *DaDREB2B*. Зокрема в другому екзоні гена *DaDREB2B* ми виявили точкову мутацію, наслідком якої є утворення нового старт-кодону, що створює передумови для компенсації механізму регулювання експресії шляхом альтернативного сплайсингу, який є консервативним для багатьох генів-ортологів інших злаків (Bublyk et al, 2016).

*D. antarctica* – один із двох видів квіткових рослин, які пристосувалися до виживання в морській Антарктиці, що характеризується дуже несприятливими умовами – низькими температурами, високою засоленістю ґрунту та дефіцитом доступної води (Bertini et al, 2021). Цей вид є перспективним об'єктом для вивчення пристосувань рослин до абіотичних стресів (Parnikoza et al, 2011; Ozheredova et al, 2015). Також до порівняльного дослідження було залучено 12 видів злаків із різною холодо- та посухостійкістю з трьох підродин (Pooideae, Parnicoideae та Oryzoideae), які зростають в різних умовах довкілля.

Метою роботи був аналіз промоторних ділянок генів-ортологів із групи *DREB2B* за допомогою біоінформатично-філогенетичного підходу у *D. antarctica* та інших злаків – вивчення нуклеотидної різноманітності, пошук наявних цис-елементів і виявлення потенційних особливостей регуляції.

**Матеріали і методи.** Пошук фрагментів промоторної послідовності довжиною 1000 п.н., яка

знаходиться перед геном *DaDREB2B*, проводили за допомогою програми BLAST (Camacho et al, 2009) в архіві *SRA* (sequence read archive) із бази даних GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), що містить дані розшифрування геномної ДНК *D. antarctica* (SRX465632) (Lee et al, 2014). Послідовність гена *DaDREB2B* була описана нами раніше (Bublyk et al, 2016). Збирання послідовності промотора із фрагментів архіву *SRA* шляхом «нарощування» вже існуючої послідовності гена в напрямку 5'-кінця виконували за допомогою модуля ContigExpress програми VectorNTI («InforMax», США).

У базі даних просикенованих геномів GenBank за допомогою програми BLAST здійснили пошук промоторних послідовностей *DREB2B* для ще 11 злаків (у дужках вказано номер архіву): *Hordeum vulgare* (LR721633.1), *Secale cereale* (FKKI010531596.1), *Brachypodium distachyon* (CM000881.3), *Setaria viridis* (CP050797.1), *Setaria italica* (CM003530.1), *Cenchrus americanus* (CM007982.2), *Zea mays* (LR618881.1), *Sorghum bicolor* (CM000768.3), *Oryza sativa* (NC\_029260\_1), *Oryza coarctata* (WLYV01012334.1), *Oryza officinalis* (BDMV01000005.1). Для видів, у яких не були описані гени-ортологи *DREB2B*, провели пошук повних послідовностей генів. Як референсні послідовності застосовували гени *Hordeum vulgare* *HvDRF1.3* (AY223807.1), *Zea mays* *ZmDREB2A* (JF915834.1), *Sorghum bicolor* *SbDREB2* (JF915838.1) і *Oryza sativa* *OsDREB2B* (JF915842.1), представлені у GenBank. Послідовності гена і промотора *Aegilops tauschii* (KF731663.1) взяті з роботи (Tavakol et al, 2014).

Вирівнювання нуклеотидних послідовностей за алгоритмом MUSCLE (Edgar, 2004), розрахунок еволюційних дистанцій відповідно до моделі найбільшої комбінованої правдоподібності (*maximum composite likelihood*) з урахуванням кількості нуклеотидних замін на позицію (Tamura et al, 2004) та наступну кластеризацію методом об'єднання найближчих сусідів (*neighbor-joining*) (Saitou and Nei, 1987) проводили у програмі MEGAX (Kumar et al, 2018). Кодувальну ділянку гена аналізували включно з інтронами. За допомогою програми DnaSP 6 (Rozas et al, 2017) розраховували кількість поліморфних сайтів (таких, що сегрегують) (S), значення нуклеотидної різноманітності ( $\pi$ ) (Nei, 1987), а також графік її

розподілу вздовж нуклеотидної послідовності з параметрами: довжина ковзаючого вікна розрахунків — 100 позицій, розмір кроку — 25 позицій, позиції з пробілами не враховані. Пошук цис-елементів у послідовностях промоторів проводили за допомогою програми PlantCare (Lescot et al, 2002).

**Результати.** Дослідження поліморфізму нуклеотидних послідовностей генів *DREB2B* злаків. Досліджено поліморфізм промоторів та кодувальних послідовностей генів-ортологів *DREB2B* у 13 злаків із різною холодо- та посухостійкістю (див. табл. 1). Еволюційні дистанції, визначені методом найбільшої комбінованої правдоподібності в одиницях кількості нуклеотидних замінів на позицію, між промоторними послідовностями генів *DREB2B* досліджених видів становили 0,004–0,906, у середньому 0,621; дистанції між кодувальними послідовностями були меншими і становили 0,012–0,618, у середньому 0,442 (табл. 1).

На дендрограмі, побудованій методом об'єднання найближчих сусідів на основі еволюційних дистанцій між промоторними послідовностями генів-ортологів *DREB2B*, сформувалися три кластери, що відповідали підродинам родини Poaceae: Pooideae (*D. antarctica*, *H. vulgare*,

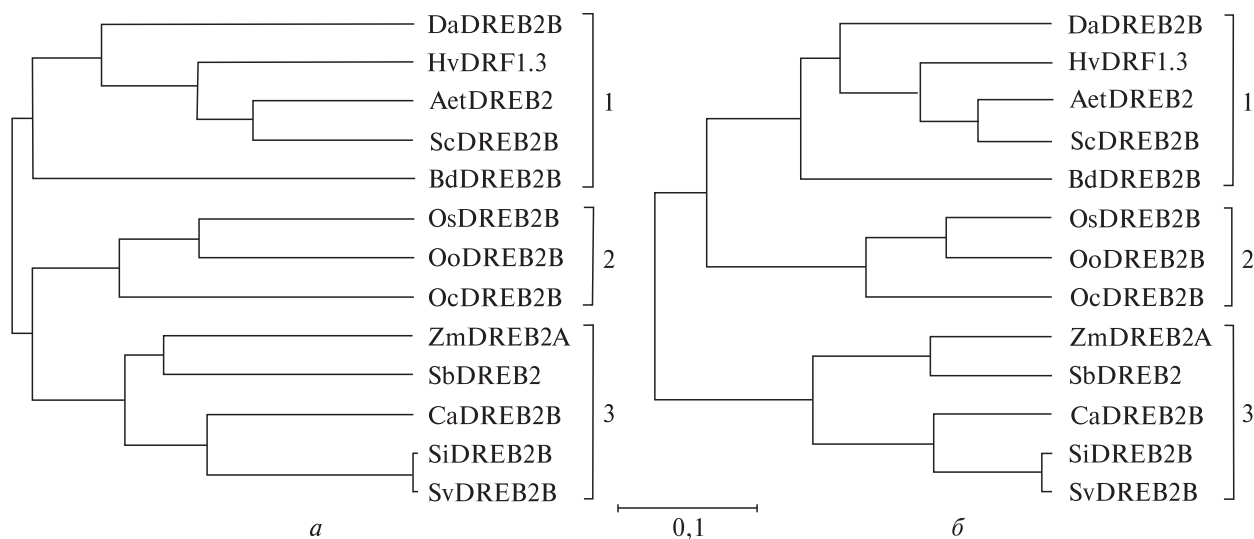
*Ae. tauschii*, *S. cereale*, *B. distachyon*), Oryzoideae (*O. sativa*, *O. coarctata*, *O. officinalis*) та Panicoideae (*S. italica*, *S. viridis*, *C. americanus*, *Z. mays*, *S. bicolor*) (рис. 1, а). Подібну картину кластеризації отримано і для кодувальних послідовностей цих генів (рис. 1, б).

Значення нуклеотидної різноманітності ( $\pi$ ) для промоторів та кодувальних послідовностей генів *DREB2B* злаків відповідно становили 0,410 і 0,274. Кількість поліморфних сайтів (таких, що сегрегують) (S) становила 332 і 1103 відповідно. Графік розподілу нуклеотидної різноманітності вздовж послідовностей генів *DREB2B* демонструє ту ж тенденцію — вище різноманіття промоторних ділянок. Крім того, на ньому видно ділянки гена з вищим поліморфізмом, які відповідають інтронам, та з нижчим, які відповідають ексонам та консервативним ДНК-зв'язувальному AP2/ERF-доміну та характерним мотивам. Розподіл нуклеотидної різноманітності вздовж промоторних ділянок також неоднорідний, подібність промоторів у цілому зростає із наближенням до старт-кодону (рис. 2). Поряд із попереднім підходом, здійсненим за принципом вікна розрахунків, ми обчислили значення нуклеотидної різноманітності для промоторних по-

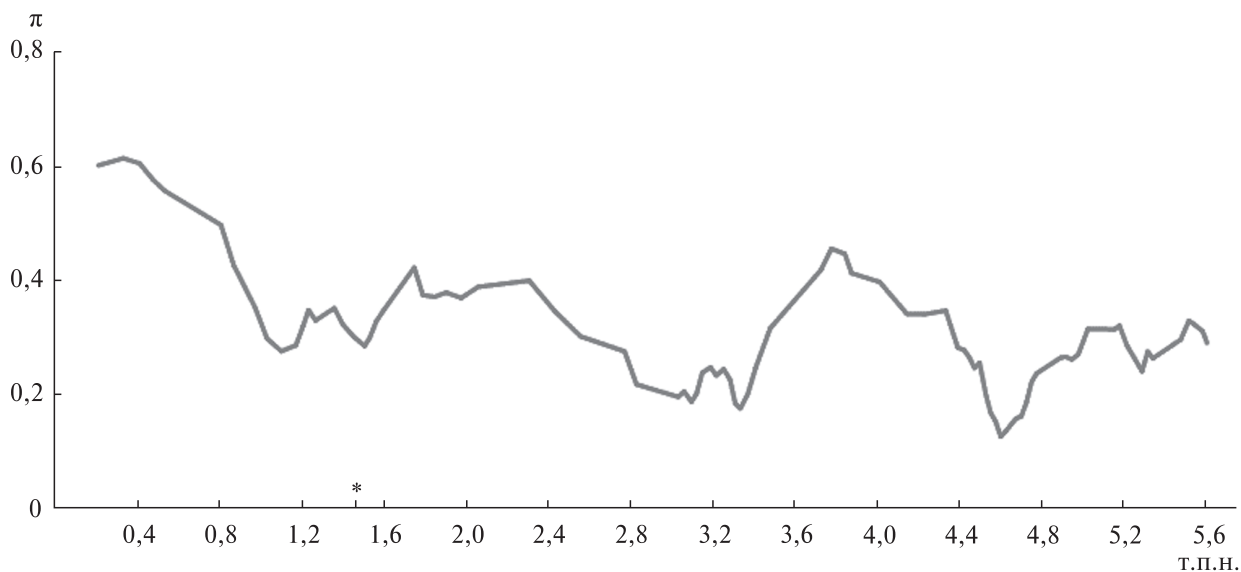
Таблиця 1. Еволюційні дистанції між промоторними послідовностями генів-ортологів *DREB2B* (під діагоналлю) та кодувальними послідовностями (над діагоналлю) у 13 видів Poaceae

Види	Da	Hv	Aet	Sc	Bd	Si	Sv	Ca	Zm	Sb	Os	Oc	Oo
Da	—	0,312	0,293	0,319	0,347	0,549	0,559	0,564	0,576	0,573	0,474	0,469	0,464
Hv	0,509	—	0,195	0,196	0,350	0,546	0,553	0,547	0,586	0,578	0,482	0,460	0,472
Aet	0,492	0,421	—	0,105	0,332	0,536	0,543	0,526	0,586	0,574	0,474	0,459	0,464
Sc	0,481	0,449	0,326	—	0,352	0,561	0,570	0,553	0,618	0,603	0,479	0,471	0,470
Bd	0,672	0,771	0,671	0,737	—	0,527	0,527	0,535	0,551	0,561	0,452	0,444	0,431
Si	0,605	0,669	0,642	0,648	0,736	—	0,012	0,115	0,328	0,299	0,501	0,500	0,496
Sv	0,603	0,669	0,637	0,641	0,733	0,004	—	0,113	0,329	0,298	0,502	0,505	0,495
Ca	0,629	0,696	0,608	0,674	0,684	0,316	0,313	—	0,352	0,317	0,527	0,529	0,527
Zm	0,624	0,753	0,668	0,694	0,768	0,466	0,466	0,495	—	0,183	0,547	0,560	0,537
Sb	0,631	0,642	0,639	0,753	0,698	0,420	0,418	0,473	0,441	—	0,546	0,543	0,534
Os	0,688	0,741	0,737	0,762	0,906	0,716	0,711	0,721	0,714	0,676	—	0,209	0,089
Oc	0,586	0,727	0,702	0,722	0,811	0,641	0,636	0,602	0,726	0,682	0,628	—	0,192
Oo	0,607	0,680	0,645	0,708	0,767	0,611	0,614	0,572	0,653	0,626	0,496	0,557	—

Примітка. Позначення видів: Da — *Deschampsia antarctica*, Hv — *Hordeum vulgare*, Aet — *Aegilops tauschii*, Sc — *Secale cereale*, Bd — *Brachypodium distachyon*, Si — *Setaria italica*, Sv — *Setaria viridis*, Ca — *Cenchrus americanus*, Zm — *Zea mays*, Sb — *Sorghum bicolor*, Os — *Oryza sativa*, Oc — *Oryza coarctata*, Oo — *Oryza officinalis*



**Рис. 1.** Дендрограма побудована методом об'єднання найближчих сусідів за еволюційними дистанціями між послідовностями: *a* – промоторів генів-ортологів *DREB2B*, *б* – їх кодувальних ділянок у різних видів. Розшифровку скорочень видових назв наведено у примітці до табл. 1. Дужками позначено кластери, що відповідають підродинам: 1 – Pooideae, 2 – Oryzoideae, 3 – Panicoideae



**Рис. 2.** Графік розподілу нуклеотидної різноманітності  $\pi$  вздовж послідовностей генів-ортологів *DREB2B* 13 видів злаків. Положення старт-кодону позначено зірочкою (1469–1471 п.н.)

слідовностей різної довжини. Значення  $\pi$  для промотора, початок якого знаходиться від старт-кодону на відстані 900 п.н. становило 0,385, 800 п.н. – 0,400, 700 п.н. – 0,400, 600 п.н. – 0,350, 500 п.н. – 0,332, 400 п.н. – 0,306, 300 п.н. – 0,336, 200 п.н. – 0,333, 100 п.н. – 0,340. Коливання рівня різноманітності частково пов'язані із наявністю

інсерцій і делецій у окремих промоторах, внаслідок чого коротші послідовності вирівнюються гірше. Найкраще вирівнювалися послідовності довжиною близько 400 п.н.

*Аналіз цис-елементів промоторів.* Аналіз *in silico* промоторів генів-ортологів *DREB2B*, проведений за допомогою програми PlantCare (Les-

Таблиця 2. Типи та кількість цис-елементів у промоторах ортологів DREB2B різних видів злаків (перелік видів та скорочення див. табл. 1)

Цис-елемент	Підродина, вид												
	Pooideae					Panicoideae					Oryzoideae		
	Da	Hv	Aet	Sc	Bd	Si	Sv	Ca	Zm	Sb	Os	Oc	Oo
<i>Елементи корового промотора</i>													
CAAT-бокс	2	8	11	10	8	9	9	8	5	10	10	8	8
TATA-бокс	15	6	5	9	2	2	2	3	15	17	16	6	4
<i>Відповідь на абіотичний і біотичний стрес</i>													
ABRE	8	7	8	9	5	4	4	6	3	5			1
ARE				1	1			2	2	1		1	
ССААТ-бокс		1		1	1	1	1		2		1	1	
CGTCA-мотив	2	2	3	3	5	2	2	1	1	1	2	1	1
DRE		2	1	2	1			1			1		
ERE	1					1	1						
GC-мотив				1								1	
JERE	1												
LTR			1									2	
MYB	1	2	2	3	2	3	3	5	4	2	1	2	1
MYC		2	1	1	1			1	1	1		4	1
P-box	1									1			
STRE	3	5	2	1	1	2	2	2		2		1	2
TCA-елемент	1	1							1				2
TGACG-мотив (as-1)	2	2	3	3	5	2	2	1	1	1	1	1	1
W-бокс				1				1			2		
WRE3								1		1		1	
WUN-мотив											1	3	1
Бокс S						1	1	1		1			
<i>Відповідь на світло</i>													
A-бокс		2			1				1	2			
AE-бокс		1									1		
ATC-мотив		1											
ATCT-мотив				1				1		1			
chs-CMA1a			1										
GA-мотив			1										
Gap-бокс												1	
GATA-мотив	1											1	
GATT-мотив													1
GT1-мотив					1						1		1
G-бокс	6	6	6	8	3	4	4	5	3	4			1
I-бокс				1							1		
MRE			1										1
Sp1		1				1	1	1					1
TCCC-мотив								1			1	1	
Бокс 4		3								4	2	2	3

Цис-елемент	Підродина, вид												
	Pooideae					Panicoideae					Oryzoideae		
	Da	Hv	Aet	Sc	Bd	Si	Sv	Ca	Zm	Sb	Os	Oc	Oo
<i>Ріст та розвиток</i>													
АС-I													1
АС-II				1									
AuxRR-кор			1							1		1	
CAT-бокс	1		1	1		1	1	1	1	1	1	1	1
GCN4_мотив											1		
dOCT	1										1		
MSA-подібний		1											
O2-сайт			1	1		1	1	2					
RY-елемент						1	1						
TGA-бокс	1					1	1			1	1	1	
TGA-елемент	1								1	1			
<i>Циркадний</i>													
circadian									1				
<i>Інший</i>													
5UTR Ру-збагачена послідовність									1				
Загальна кількість типів	17	18	17	19	14	16	16	19	16	20	18	21	17

*Примітка.* Послідовності цис-елементів: 5'UTR Ру-збагачена послідовність – TTTCTCTCCTCTTTTTTCCCTC, A-бокс – CCGTCC, ABRE – ACGTG, CACGTG, TACGTG, CACGTA, CGCACGTGTC, CCACGTGG, TACGGTC, GCAACGTGTC, AACCCGG, GACACGTGGC, AC-I – (T/C)C(T/C)(C/T)ACC(T/C)ACC, AC-II – TCACCAACCCCC, AE-бокс – AGAACTT, ARE – AAACCA, ATC-мотив – AGTAATCT, ATCT-мотив – AATCTAATCC, AuxRR-кор – GGTCCAT, Бокс 4 – ATTAAT, Бокс S – AGCCACC, СААТ-бокс – СААТ, ССААТ, САААТ, САТ-бокс – GCCACT, ССААТ-бокс – САACGG, CGTCA-мотив – CGTCA, chs-CMA1a – TTACTTAA, circadian – СААAGATATC, dOCT – CACGGATC, DRE – A/GCCGAC, ERE – ATTTTAAA, GA-мотив – ATAGATAA, Гар-бокс – СААATGAA(A/G)A, GATA-мотив – GATAGGA, GATT-мотив – CTCCTGATTAGC, G-бокс – CACGTT, CACGTG, TACGTG, ACACGTG(G/t)CACC, TAACACGTAG, GCCACGTGGA, CACGTC, ACACGTG(G/t)CACC, CACGAC, CACGTC, ACACGTGGC, CAGACGTGGCA, ACACGTGGC, TACGTG, CAGACGTGGCA, tgACACGTGGCA, GC-мотив – CCCCCG, GCN4\_мотив – TGAGTCA, GT1-мотив – GGTТАА, GGTТААТ, I-бокс – cCATATCCAAT, AGATAAGG, JERE – AGACCGCC, LTR – CCGAAA, MRE – AACCTAA, MSA-подібний – (T/C)C(T/C)AACGG(T/C)(T/C)A, MYB – САACAG, САACCA, CCGTTG, ТАACCA, САACTG, ТАACTG, MYC – САТТТG, САТGTG, СААТТG, O2-сайт – GATGACATGG, GTTGACGTGA, P-бокс – CCTTTTG, RY-елемент – САТGCATG, Sp1 – GGGCGG, STRE – AGGGG, ТАТА-бокс – АТТАТА, ТАТАА, ТАТА, ТАТАТАА, ТАТАТА, АТАТАА, АТАТАТ, ТАТАТА, ТАТАСА, tcТАТАААТAgg, ТААAGATТ, ТАСАААА, ccТАТАААаа, ТАТААААТ, ТАТААА, ТАТАААА, ТАТАAGAA, ТАТАААТ, ТСА-елемент – ССАТСТТТТТ, ТСАGAAGAGG, ТСАТСТТТСАТ, ТССС-мотив – ТСТСССТ, ТГА-бокс – TGACGTAA, TGACG-мотив (as-1) – TGACG, ТГА-елемент – AACGAC, W-бокс – TTGACC, WRE3 – CCACCT, WUN-мотив – АААТТТССТ, ТТАТТАСАТ, АААТТТСТТ, АААТТАСТ.

cot et al, 2002), виявив 54 цис-елементи. У різних | елемента (вказано кількість типів, незалежно видів у промоторах виявлено від 14 до 21 цис- | від кількості копій даного цис-елемента) (табл.

2). Цис-елементи з невідомою функцією не розглядали.

Було виявлено по декілька елементів корового промотора – ТАТА-боксов (табл. 2), які є місцем зв'язування фактора ініціації транскрипції TFIIID. Вони були знайдені не лише у ділянці корового промотора, але і в його проксимальних та дистальних частинах. У функціональній позиції промотора генів *DREB2B* (приблизно за 25–30 п.н. до точки початку транскрипції) ТАТА-боксови були знайдені у переважній більшості видів, за виключенням *O. sativa*. У цього виду послідовність ТАТААА, типова для інших досліджених злаків, у коровій частині промотора замінена на ГАТААА.

Інші елементи корової частини промотора – СААТ-боксови, що зазвичай знаходяться за 80 п.н. перед точкою початку транскрипції, у досліджених ортологів *DREB2B* були виявлені лише у проксимальних та дистальних ділянках промотора.

Також у складі промоторів генів-ортологів *DREB2B* було знайдено 52 інших типи цис-елементів (табл. 2). Для зручності аналізу ми розділили їх на групи, що асоційовані із відповіддю на абіотичні та біотичні стреси, світло, із процесами росту і розвитку, та циркадні, хоча деякі цис-елементи можна було віднести до кількох груп.

Із відповіддю на абіотичні та біотичні стреси були пов'язані дев'ятнадцять цис-елементів. До цієї групи ми віднесли цис-елементи, чутливі до гормонів, задіяних у відповіді на стрес, – абсцизової кислоти (Emenecker and Strader, 2020) (ABRE), метилжасмонату (Xi Xia et al, 2018) (CGTCA-мотив, TGACG-мотив (as-1)), етилену (Dubois et al, 2018) (ERE), саліцилової кислоти (Zhang and Li, 2019; Mohamed et al, 2020) (TCA-елемент) і гібереліну (Binenbaum et al, 2018) (P-боксов). Крім того, були виявлені цис-елементи, пов'язані з реакцією на аноксію (ARE, GC-мотив), на низькі температури (LTR), на спеку, осмотичний стрес та брак поживних речовин (STRE); сайти зв'язування ТФ MYBHv1 (ССААТ-боксов), ТФ DREB (DRE), ТФ MYB (MYB), ТФ MYC (MYC) та ТФ WRKY (W боксов); цис-елементи, асоційовані з дією патогенів (Бокс S, JERE) та пораненням (Бокс S, WRE3, WUN-мотив). Серед них JERE чутливий до жасмонової кислоти, а W-боксов –

до гібереліну. Особливістю цис-елементів із цієї групи є те, що багато з них зустрічалися у промоторах більшості досліджених видів, причому відрізнялися за локалізацією. Так CGTCA-мотив, MYB та TGACG-мотив (as-1) були знайдені в усіх видів, ABRE та STRE – в одинадцяти, MYC – у дев'яти, ССААТ-боксов – у восьми видів.

Друга група включала сімнадцять цис-елементів, пов'язаних із відповіддю на світло (А-боксов, АЕ-боксов, АТС-мотив, АТСТ-мотив, Бокс 4, chs-CMA1a, GA-мотив, Gap-боксов, GATA-мотив, GATT-мотив, G-боксов, GT1-мотив, I-боксов, MRE, Sp1, TCCC-мотив). Цис-елементи з цієї групи знайдено у всіх видів, проте окремі їх типи зустрічалися у промоторах лише одного-п'яти видів, окрім G-боксова, який був присутнім у одинадцяти видів.

Було виявлено одинадцять цис-елементів, залучених до регуляції росту та розвитку: чутливі до ауксину (Emenecker and Strader, 2020) (AuxRR-кор, TGA-боксов, TGA-елемент); пов'язані з тканино-специфічною експресією генів, зокрема в судинних елементах (АС-I, АС-II), у меристемі (CAT-боксов, dOCT), в ендоспермі (GCN4-мотив); з участю у регуляції клітинного циклу (MSA-подібний), з участю у регуляції метаболізму зеїну (O2-сайт), з регуляцією в насінні (RY-елемент). Найпоширенішим був САТ-боксов, який зустрічався у одинадцяти видів, решта цис-елементів були знайдені у одного-шести видів. У *B. distachyon* не виявлено цис-елементів із цієї групи.

Додатково у *Z. mays* виявлено один цис-елемент, пов'язаний із регуляцією циркадних ритмів (circadian), та один цис-елемент, пов'язаний з високим рівнем транскрипції (5'UTR Ру-збагачена послідовність).

У *D. antarctica* були виявлені цис-елементи корового промотора ТАТА-боксов і СААТ-боксов. Знайдено низку цис-елементів, пов'язаних із гормонами і стресом: абсцизовою кислотою (ABRE), метилжасмонатом (CGTCA-мотив, TGACG-мотив (as-1)), етиленом (ERE), гібереліном (P-боксов), саліциловою кислотою (TCA-елемент), ауксином (TGA-боксов, TGA-елемент), сайт зв'язування ТФ MYB, цис-елемент STRE, пов'язаний із реакцією на спеку, осмотичний стрес та брак поживних речовин. Виявлено унікальний для дослідженої вибірки JERE,

асоційований із реакцією на патогени та жасмонову кислоту. Цис-елементи, задіяні у відповіді на світло, представлені GATA-мотивом і G-боксом. Тканиноспецифічні цис-елементи САТ-бокс, dOCT обидва пов'язані з експресією у меристемі. Загалом виявлено 17 типів цис-елементів. У групі асоційованих із стресом цис-елементів були відсутні ССААТ-бокс, DRE і MYC, характерні для багатьох інших видів із дослідженої вибірки.

Поширені цис-елементи у деяких випадках були колокалізовані у споріднених видів із високою подібністю послідовностей промоторів (рис. 1), проте жоден з них не був колокалізований в усіх видів. Виявлено лише один цис-елемент, характерний для окремої підродини злаків, – WUN-мотив у *Oryzoideae*. Були знайдені 12 унікальних для окремих видів цис-елементи: JERE у *D. antarctica*, chs-CMA1a і GA-мотив у *Ae. tauschii*, AC-I і Gap-бокс у *O. coarctata*, AC-II у *S. cereale*, ATC-мотив і MSA-подібний у *H. vulgare*, Circadian і 5UTR Рубгачена послідовність у *Z. Mays*, GATT-мотив у *O. officinalis*, GCN4\_motif у *O. sativa*.

**Обговорення.** Порівняльне дослідження нуклеотидної різноманітності ( $\pi$ ) промоторів та кодуювальних послідовностей генів-ортологів *DREB2B* тринадцяти злаків із підродин *Pooideae*, *Oryzoideae* і *Panicoideae* показало загальну відповідність рівня подібності нуклеотидних послідовностей та еволюційної спорідненості видів (рис. 1). Отримані нами значення нуклеотидної різноманітності були порівнянні із даними, отриманими у дослідженні (Filiz and Tombuloglu, 2014).

Аналіз розподілу нуклеотидної різноманітності  $\pi$  вздовж послідовностей генів *DREB2B* показав вище різноманіття промоторних ділянок, яке зменшувалося із наближенням до старт-кодону (рис. 2). Виявлено відмінності за рівнем різноманітності між окремими ділянками гена, а саме поліморфними інтронами, більш консервативними екзонами та висококонсервативним ДНК-зв'язувальним AP2/ERF-доменом та характерними мотивами. Це узгоджується з літературними даними, за якими некодувальні області мали вищу нуклеотидну різноманітність порівняно з кодуювальними (Alves et al, 2018). У складі промоторів різних видів найвищу подібність мала ділянка довжиною

близько 400 п.н. перед старт-кодоном. Імовірно, це пов'язано із її важливим значенням для регуляції гена. У дослідженні (Walther et al, 2007) частину промотора довжиною 500 п.н., яка розташована перед старт-кодоном, було визначено як найважливішу для контролю експресії на основі найвищої позитивної кореляції між шириною відповіді гена та кількістю цис-елементів.

Біоінформатичний аналіз промоторів генів-ортологів *DREB2B* тринадцяти злаків виявив загалом 54 цис-елементи, серед яких численні елементи корового промотора ТАТА- і СААТ-бокси. У функціональній позиції ТАТА-бокси були знайдені у переважній більшості генів. Відомо, що ТАТА-бокс підвищує швидкість і пластичність регуляції генів і часто зустрічається у стрес-індукованих генах (Roelofs et al, 2010). Як і у нашому дослідженні, є дані щодо наявності численних копій ТАТА-боксів у промоторах інших генів відповіді на стрес, які розміщені по всій довжині промотора (Yue et al, 2019). СААТ-бокси були виявлені лише у проксимальних та дистальних ділянках промотора.

Серед решти цис-елементів найбільшу групу склали елементи, задіяні у відповіді на стрес. Багато з них зустрічалися у більшості видів нашої вибірки у кількох копіях. Насиченість досліджених промоторів цис-елементами із даної групи добре узгоджується з функцією генів *DREB2B* – відповідь на абіотичні стреси. У літературі показано їх індукцію під дією посухи, засолення, високих і низьких температур (Xue and Loveridge, 2004; Qin et al, 2007; Li et al, 2014; Herath, 2016; Akbudak et al, 2018).

До цієї групи належать цис-елементи ABRE, пов'язані із регуляцією експресії абсцизовою кислотою (АК), яка відіграє важливу роль у відповіді рослин на посуху та засолення, і може індукувати деякі гени відповіді на холод (Emenecker and Strader, 2020). За літературними даними, для транскрипції, індукованої АК, однієї копії ABRE недостатньо, необхідні або додаткові копії, або інші елементи, що діють сумісно з ними (Nakashima et al, 2009). Наявність кількох ABRE у промоторах генів *DRE2B* представників *Pooideae* і *Panicoideae* свідчить про потенційну роль АК у регуляції експресії цих ТФ.



У промоторах *DREB2B* частини видів, але не у *D. antarctica*, було виявлено цис-елемент DRE – сайт зв'язування ТФ DREB. У *A. thaliana* показано регуляцію експресії деяких генів *DREB* ТФ-членами тієї ж родини: *CBF2/DREB1C* є негативним регулятором *CBF1/DREB1B* та *CBF3/DREB1A*, а мутанти *cbf2* більш толерантні до різних абіотичних стресів (Novillo et al, 2004). Відсутність цього цис-елемента у *D. antarctica* та деяких інших досліджених видів може свідчити про відсутність у них негативної регуляції *DREB2B* транскрипційними факторами DREB.

У всіх досліджених видів у промоторах були виявлені цис-елементи MYB, у більшості по кілька копій. Також у більшості видів знайдені цис-елементи MYC (табл. 2). Це може вказувати на важливу роль ТФ MYB і MYC у регуляції досліджених генів *DREB2B*. За літературними даними ці ТФ регулюють експресію генів *DREB* також і в інших видів. ICE1 – ТФ типу MYC активує експресію *CBF/DREB1* у відповідь на низькі температури, а MYB15 пригнічує експресію *DREB1/CBF* і знижує морозостійкість у *A.thaliana* (Nakashima et al, 2009).

У всіх досліджених видів знайдено CGTCA- і TGACG-(as-1) мотиви, які пов'язані з реакцією на метилжасмонат. Жасмонова кислота та її похідні, такі як метилжасмонат, відіграють важливу роль у реакції рослин на абіотичні стреси: холод, спеку, посуху, важкі метали, осмотичний, озоновий, сольовий та УФ-стресові чинники. Вони також задіяні в регуляції відповіді на патогени, різних фізіологічних процесах та процесах розвитку, зокрема індукції старіння, пригніченні росту, розвитку квітки, дозріванні плодів та ін. (Xi Xia et al, 2018; Wang et al, 2020). Жасмонати модулюють індукцію каскаду CBF/DREB1 у *A. thaliana*, *O. sativa*, *Solanum lycopersicum*, *Musa accuminata* (Per et al, 2018). У промоторі *DaDRE2B* на додачу до вищезгаданих мотивів нами виявлено цис-елемент JERE, пов'язаний з реакцією на жасмонову кислоту та еліситори. Отже, потенційно цей ТФ ще більш залежний від регуляції жасмонатами.

У всіх досліджених видів у промоторах генів *DRE2B* було знайдено цис-елементи, пов'язані із відповіддю на світло. У вищих рослин продемонстровано взаємодію шляхів від-

повіді на світло і абіотичний стрес. У *A. thaliana* світловий сигналінг, опосередкований фітохромом, відіграє важливу роль в регуляції індукованої холодом експресії генів за участі цис-елемента DRE (Kim et al, 2002). Аналогічно, експресія *WDreb2* у *T. aestivum* при низьких температурах посилюється на світлі і пригнічується у темряві (Egawa et al, 2006). Найбільш поширеним цис-елементом із цієї групи був G-бокс, кілька копій якого міститься у промоторі *DREB2B* видів підродин Pooideae і Panicoideae, одну копію виявлено у *O. officinalis*. Показано, що він також бере участь у низці абіотичних та біотичних відповідей (Zhang et al, 2019).

Наявність численних цис-елементів у промоторах *DREB2B* злаків свідчить про існування складної мережі регуляції цих ТФ за дії абіотичних та біотичних стресів і зовнішніх чинників, зокрема світла. Проте варто зазначити, що однієї лише наявності мотивів цис-елементів недостатньо для визначення місць зв'язування ТФ. Значний вплив на їх положення мають інші чинники, наприклад вторинна структура нуклеотидної послідовності, що оточує цис-елемент, а також присутність інших цис-елементів, що функціонують сумісно (Yamaguchi-Shinozaki and Shinozaki, 2005), тому питання регуляції ТФ *DREB2B* у злаків потребує подальших поглиблених досліджень.

Для вивчення особливості регуляції *DREB2B* у різних видів ми порівняли 13 злаків із трьох підродин, пристосованих до різних умов довкілля. Члени підродини Pooideae (*D. antarctica*, *H. vulgare*, *Ae. tauschii*, *S. cereale*, *B. distachyon*) зростають у помірних широтах і є холодостійкими (Schubert et al, 2019). Серед них модельний вид *B. distachyon* поширений переважно на Середньому Сході та в Середземномор'ї і тому не пристосований до екстремального зимового клімату (Neji et al, 2021). Досліджені види підродини Panicoideae (*S. italica*, *S. viridis*, *C. americanus*, *Z. mays*, *S. bicolor*) та Oryzoideae (*O. sativa*, *O. coarctata*, *O. officinalis*) походять із тропічних регіонів і є уразливими до холоду. З них види підродини Panicoideae більш стійкі до посухи і високих температур (Pardo and VanBuren, 2021).

Ми не виявили загальних відмінностей у наборі цис-елементів, присутніх у промоторах

*DREB2B*, між представниками підродин злаків із різною холодо- та посухостійкістю, вони відрізнялися лише за окремими цис-елементами. Це свідчить про подібність регуляції експресії цих генів і їх потенційних функцій у відповіді на стрес у досліджених видів.

Можливо, це пов'язано із тим, що регуляція *DREB2B* відбувається переважно шляхом альтернативного сплайсингу та посттрансляційних модифікацій, таких як фосфорилування і сумоїлювання (Qin et al, 2007; Matsukura et al, 2010; Herath, 2016).

Особливістю підродини *Oryzoideae* була відсутність у промоторах *DREB2B* характерних для решти підродин кількох копій ABRE. Це може свідчити про відсутність механізмів регуляції за АК-залежним шляхом, який у генів-ортологів деяких видів відповідає за холодову індукцію гена на відміну від активації під дією теплового стресу, посухи і засолення, яка є АК-незалежною. Індукція АК зокрема показана для *HvDRF1* у *H. vulgare* (Xue and Loveridge, 2004), *WDreb2* у *T. aestivum* (Egawa et al, 2006) та *SiARDP* у *S. italica* (Li et al, 2014). Підтвердженням цього факта є знайдені нами декілька копій ABRE в промоторах *DREB2B* *H. vulgare*, *S. italica* та *Ae. tauschii*, який є одним з трьох предкових видів *T. aestivum*. На противагу цьому показано, що у кукурудзи АК не індукуює експресію *ZmDREB2A*, хоча остання відбувається у відповідь на холодострес, а не лише на підвищену температуру, посуху та засолення (Qin et al, 2007). У нашому аналізі ми також виявили у промоторі цього гена цис-елемент ABRE, хоча і меншу кількість копій порівняно з іншими видами.

Подібно до ABRE, елемент G-бокс у представників *Oryzoideae* був відсутній або присутній у меншій кількості копій, що також може бути пов'язано з нижчою стресостійкістю цієї родини. Цікаво відмітити, що найбільше копій G-box, а саме 8, в промоторі *ScDREB2B* виявлено у *S. cereale* – виду з дуже високою холодо- та посухостійкістю, та стійкістю до низки захворювань, таких як борошнеста роса, стеблова, листкова і жовта іржа (Jung and Seo, 2019).

Промотор *DaDREB2B* *D. antarctica* за загальним набором цис-елементів виявився ти-

повим серед інших злаків, ми не знайшли особливостей в його організації, які могли б кардинально змінити регуляцію гена у цього виду за дії стресових чинників. Отже, якщо в експресії *DaDREB2B* існують якісь особливості, вони найімовірніше пов'язані з іншими регуляторними механізмами на рівні сплайсингу РНК та посттрансляційних модифікацій.

**Висновки.** Порівняльний аналіз нуклеотидної різноманітності промоторів та кодувальних послідовностей генів-ортологів *DREB2B* тринадцяти злаків із підродин *Pooideae*, *Oryzoideae* і *Panicoideae*, що відрізняються за холодо- та посухостійкістю, показав, що еволюційні дистанції між послідовностями промоторів у середньому склали 0,621, між кодувальними послідовностями, включно з інтронами – 0,442; значення нуклеотидної різноманітності ( $\pi$ ) відповідно склали 0,410 і 0,274. Виявлено загальну відповідність між рівнем подібності цих нуклеотидних послідовностей та еволюційною спорідненістю видів. Показано, що промоторні ділянки мають вищу нуклеотидну різноманітність, а їх подібність зростає із наближенням до старт-кодону. Виявлено відмінності за рівнем нуклеотидної різноманітності між окремими ділянками гена, а саме поліморфними інтронами, більш консервативними екзонами та висококонсервативним ДНК-зв'язувальним AP2/ERF-доменом та характерними мотивами. Аналіз регуляторних елементів у складі промоторів *DREB2B* досліджених видів злаків виявив 54 цис-елементи, задіяні у відповіді на абіотичні, біотичні стреси, світло, гормони, зокрема абсцизову кислоту, ауксин, метилжасмонат, етилен, гіберелін та саліцилову кислоту, тканиноспецифічні цис-елементи. Цис-елементи, пов'язані із відповіддю на абіотичні стреси, становили велику частку серед виявлених, що узгоджується із загальноприйнятими уявленнями про функції ТФ DREB2B. Види злаків із трьох підродин із різною холодо- та посухостійкістю та вид-екстремофіл *D. antarctica* були подібними за загальним набором цис-елементів у складі промоторів *DREB2B*, що свідчить про подібність регуляції експресії цих генів і їх потенційних функцій у відповіді на стрес у досліджених видів. Отримані результати є внеском у розуміння особливостей регуляції

генів *DREB2* у злаків та створюють підгрунття для наступних досліджень взаємодії DREB2B з іншими ТФ у стрес-індукованих сигнальних шляхах.

**Конфлікт інтересів.** Автори заявляють про відсутність будь-якого конфлікту інтересів.

**Дотримання етичних стандартів.** Автори підтверджують відсутність конфлікту інтересів та порушень договору про нерозголошення. Ця стаття не містить жодних досліджень, виконаних на тваринах або людях.

**Фінансування.** Робота виконувалася в рамках НДР «Генетичні і фізіолого-біохімічні механізми адаптації рослин до екстремальних умов довкілля» (2021–2025 рр.), № 0120U105249.

COMPARATIVE ANALYSIS  
OF GENE PROMOTERS OF DREB2B  
TRANSCRIPTION FACTORS  
IN *DESCHAMPSIA ANTARCTICA*  
AND SOME OTHER CEREALS

O.M. Bublyk\*, I.O. Andreev, and V.A. Kunakh

Institute of Molecular Biology and Genetics,  
National Academy of Sciences of Ukraine,  
Kyiv, 03143 Ukraine

E-mail: o.m.bublyk@imbg.org.ua

The organization of promoters of DREB2B TF orthologous genes involved in the response to abiotic stress was studied in extremophile plant *D. antarctica* E. Desv and 12 other grass species with different cold and drought resistance. The average evolutionary distances were 0.621 between the promoter sequences and 0.442 between coding sequences, including introns; the values of nucleotide diversity ( $\pi$ ) for these regions were 0.410 and 0.274, respectively. Clustering of sequences was generally consistent with the accepted taxonomy of the Poaceae family. In total, 54 cis-elements involved in the response to abiotic and biotic stresses, light, hormones, such as abscisic acid, auxin, methyl jasmonate, ethylene, gibberellin and salicylic acid, and tissue-specific cis elements were identified. A large proportion of these cis elements were associated with abiotic stress response that is consistent with known functions of DREB2B TF. Except for a few isolated differences, the studied grass species of different subfamilies and *D. antarctica* had a similar set of cis elements in the *DREB2B* promoter, a finding that indicates the similarity in the control of this gene expression and its potential functions in these species.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

Akbudak MA, Filiz E, Kontbay K. (2018) 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 8(10):426. doi: 10.1007/s13205-018-1454-1

Alves GSC, Torres LF, de Aquino SO et al. (2018) Nucleotide diversity of the coding and promoter regions of DREB1D, a candidate gene for drought tolerance in Coffea species Trop Plant Biol 11:31–48. doi: 10.1007/s12042-018-9199-x

Bertini L, Cozzolino F, Proietti S et al. (2021) What antarctic plants can tell us about climate changes: temperature as a driver for metabolic reprogramming. Biomolecules 11(8):1094. doi: 10.3390/biom11081094

Binenbaum J, Weinstain R, Shani E. (2018) Gibberellin localization and transport in plants Trends Plant Sci 23(5):410–421. doi: 10.1016/j.tplants.2018.02.005

Bublyk OM, Andreev IO, Kunakh VA (2016) *In silico* identification and analysis of stress-inducible DREB2 transcription factors genes in *Deschampsia antarctica* Desv. Factors in Experimental Evolution of Organisms 19:202–207. (in Ukrainian)

Camacho C, Coulouris G, Avagyan V et al. (2009) BLAST+: architecture and applications. BMC Bioinform 10:421. doi: 10.1186/1471-2105-10-421

Dubois M, Van den Broeck L, Inzé D. (2018) The pivotal role of ethylene in plant growth Trends Plant Sci 23(4):311–323. doi: 10.1016/j.tplants.2018.01.003

Edgar RC. (2004) MUSCLE: a multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity BMC Bioinform 5:113. doi: 10.1186/1471-2105-5-113

Egawa C, Kobayashi F, Ishibashi M et al. (2006) Differential regulation of transcript accumulation and alternative splicing of a DREB2 homolog under abiotic stress conditions in common wheat Genes Genet Syst 81:77–91. doi: 10.1266/ggs.81.77

Emenecker RJ, Strader LC. (2020) Auxin-abscisic acid interactions in plant growth and development Biomolecules 10(2):281. doi: 10.3390/biom10020281

Erpen L, Devi HS, Grosser JW et al. (2018) Potential use of the DREB/ERF, MYB, NAC and WRKY transcription factors to improve abiotic and biotic stress in transgenic plants Plant Cell Tiss Organ Cult 132:1–25. doi: 10.1007/s11240-017-1320-6

Feng K, Hou X-L, Xing G-M et al. (2020) Advances in AP2/ERF super-family transcription factors in plant Crit Rev Biotechnol 40(6):750–776. doi: 10.1080/07388551.2020.1768509

Filiz E, Tombuloğlu H. (2014) *In silico* analysis of DREB transcription factor genes and proteins in grasses Appl Biochem Biotechnol 174:1272–1285. doi: 10.1007/s12010-014-1093-x

- Herath V. (2016) Small family, big impact: *in silico* analysis of DREB2 transcription factor family in rice *Comput Biol Chem* 65:128–139. doi: 10.1016/j.compbiolchem.2016.10.012
- Jung WJ, Seo YW. (2019) Identification of novel C-repeat binding factor (CBF) genes in rye (*Secale cereale* L.) and expression studies. *Gene* 684:82–94. doi: 10.1016/j.gene.2018.10.055
- Kim H-J, Kim Y-K, Park J-Y, Kim J. (2002) Light signalling mediated by phytochrome plays an important role in cold-induced gene expression through the C-repeat/dehydration responsive element (C/DRE) in *Arabidopsis thaliana* *Plant J* 29:693–704. doi: 10.1046/j.1365-313X.2002.01249.x
- Kovalchuk N, Jia W, Eini O et al. (2013) Optimization of TaDREB3 gene expression in transgenic barley using cold-inducible promoters *Plant Biotechnol J* 11(6):659–670. doi: 10.1111/pbi.12056
- Kumar S, Stecher G, Li M et al. (2018) MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms *Mol Biol Evol* 35:1547–1549. doi: 10.1093/molbev/msy096
- Lee J, Kang Y, Shin SC et al. (2014) Combined analysis of the chloroplast genome and transcriptome of the Antarctic vascular plant *Deschampsia antarctica* *Desv.* *PLOS ONE* 9(3):e92501. doi: 10.1371/journal.pone.0092501
- Lescot M, Déhais P, Thijs G et al. (2002) PlantCARE, a database of plant cis-acting regulatory elements and a portal to tools for *in silico* analysis of promoter sequences *Nucl Acids Res* 30(1):325–327. doi: 10.1093/nar/30.1.325
- Li C, Yue J, Wu X et al. (2014) An ABA-responsive DRE-binding protein gene from *Setaria italica*, SiARDP, the target gene of SiAREB, plays a critical role under drought stress *J Exp Bot* 65(18):5415–5427. doi: 10.1093/jxb/eru302
- Matsukura S, Mizoi J, Yoshida T et al. (2010) Comprehensive analysis of rice DREB2-type genes that encode transcription factors involved in the expression of abiotic stress-responsive genes *Mol Genet Genomics* 283:185–196. doi: 10.1007/s00438-009-0506-y
- Mohamed HI, El-Shazly HH, Badr A. (2020) Role of salicylic acid in biotic and abiotic stress tolerance in plants. In: Lone R, Shuab R, Kamili A (eds) *Plant phenolics in sustainable agriculture*. Springer, Singapore, pp 533–554. doi: 10.1007/978-981-15-4890-1\_23
- Nakashima K, Yusuke I, Yamaguchi-Shinozaki K. (2009) Transcriptional regulatory networks in response to abiotic stresses in *Arabidopsis* and grasses *Plant Physiol* 149:88–95. doi: 10.1104/pp.108.129791
- Nei M. (1987) *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press, New York. doi: 10.7312/nei-92038
- Neji M, Geuna F, Gandour M et al. (2021) Patterns of morpho-phenological and genetic variation of *Brachypodium distachyon* (L.) P.Beauv. complex in Tunisia *Genet Resour Crop Evol.* doi.org/10.1007/s10722-021-01242-0
- Novillo F, Alonso JM, Ecker JR, Salinas J. (2004) CBF2/DREB1C is a negative regulator of CBF1/DREB1B and CBF3/DREB1A expression and plays a central role in stress tolerance in *Arabidopsis* *Proc Natl Acad Sci USA* 101(11):3985–3990. doi: 10.1073/pnas.0303029101
- Ozheredova IP, Parnikoza IYu, Poronnik OO et al. (2015) Mechanisms of Antarctic vascular plant adaptation to abiotic environmental factors *Cytol Genet* 49(2):139–145. doi: 10.3103/S0095452715020085
- Pardo J, VanBuren R. (2021) Evolutionary innovations driving abiotic stress tolerance in C4 grasses and cereals *Plant Cell* 33(11):3391–3401. doi.org/10.1093/plcell/koab205
- Parnikoza I, Kozeretska I, Kunakh V. (2011) Vascular plants of the Maritime Antarctic: origin and adaptation *Am J Plant Sci* 2(3):381–395. doi: 10.4236/ajps.2011.23044
- Per TS, Khan MIR, Anjum NA et al. (2018) Jasmonates in plants under abiotic stresses: Crosstalk with other phytohormones matters *Environ Exp Bot* 145:104–120. doi: 10.1016/j.envexpbot.2017.11.004
- Qin F, Kakimoto M, Sakuma Y et al. (2007) Regulation and functional analysis of ZmDREB2A in response to drought and heat stresses in *Zea mays* L. *Plant J* 50:54–69. doi: 10.1111/j.1365-313X.2007.03034.x
- Roelofs D, Morgan J, Sturzenbaum S. (2010) The significance of genome-wide transcriptional regulation in the evolution of stress tolerance *Evol Ecol* 24:527–539. doi: 10.1007/s10682-009-9345-x
- Rozas J, Ferrer-Mata A, Sónchez-DelBarrio JC et al. (2017) DnaSP 6: DNA Sequence polymorphism analysis of large data sets *Mol Biol Evol* 34(12):3299–3302. doi: 10.1093/molbev/msx248
- Saitou N, Nei M. (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees *Mol Biol Evol* 4(4):406–425.
- Schubert M, Grønvold L, Sandve SR et al. (2019) Evolution of cold acclimation and its role in niche transition in the temperate grass subfamily Pooideae *Plant Physiol* 180(1):404–419. doi: 10.1104/pp.18.01448
- Singh K, Chandra A. (2021) DREBs-potential transcription factors involve in combating abiotic stress tolerance in plants *Biologia* 76:3043–3055. doi: 10.1007/s11756-021-00840-8
- Tamura K, Nei M, Kumar S. (2004) *Prospects for*

- inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method Proc Natl Acad Sci USA 101:11030–11035. doi: 10.1073/pnas.0404206101
- Tavakol E, Sardaro MLS, Shariati V et al. (2014) Isolation, promoter analysis and expression profile of *Dreb2* in response to drought stress in wheat ancestors Gene 549(1):24–32. doi: 10.1016/j.gene.2014.07.020.
- VanWalleendael A, Soltani A, Emery NC et al. (2019) A molecular view of plant local adaptation: Incorporating stress-response networks Annu Rev Plant Biol 70:559–583. doi: 10.1146/annurev-arplant-050718-100114
- Walther D, Brunnemann R, Selbig J. (2007) The regulatory code for transcriptional response diversity and its relation to genome structural properties in *A. thaliana* PLoS Genet 3(2):e11. doi: 10.1371/journal.pgen.0030011
- Wang J, Song L, Gong X, Xu J, Li M. (2020) Functions of Jasmonic Acid in Plant Regulation and Response to Abiotic Stress Int J Mol Sci 21:1446. doi: 10.3390/ijms21041446
- Xi Xia Y, Wenjin Zh, Yu Zh et al. (2018) The roles of methyl jasmonate to stress in plants. Funct Plant Biol 46:197–212. doi: 10.1071/FP18106
- Xue GP, Loveridge CW. (2004) *HvDRF1* is involved in abscisic acid-mediated gene regulation in barley and produces two forms of AP2 transcriptional activators, interacting preferably with a CT-rich element Plant J 37:326–339. doi: 10.1046/j.1365-3113X.2003.01963.x
- Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. (2005) Organization of cis-acting regulatory elements in osmotic- and cold-stress-responsive promoters Trends Plant Sci 10(2):88–94. doi: 10.1016/j.tplants.2004.12.012
- Yue C, Cao H, Lin H et al. (2019) Expression patterns of alpha-amylase and beta-amylase genes provide insights into the molecular mechanisms underlying the responses of tea plants (*Camellia sinensis*) to stress and postharvest processing treatments Planta 250:281–298. doi: 10.1007/s00425-019-03171-w
- Zhang N, McHale LK, Finer JJ. (2019) Changes to the core and flanking sequences of G-box elements lead to increases and decreases in gene expression in both native and synthetic soybean promoters Plant Biotechnol J 17:724–735. doi: 10.1111/pbi.13010
- Zhang Y, Li X. (2019) Salicylic acid: biosynthesis, perception, and contributions to plant immunity Curr Opin Plant Biol 50:29–36. doi: 10.1016/j.pbi.2019.02.004

Надійшла в редакцію 26.01.22

Після доопрацювання 27.04.22

Прийнята до друку 18.09.22