

УДК 581.1:581.151

ГЕН *SIWRKY33* СПОСОБСТВУЕТ ТОЛЕРАНТНОСТИ РАСТЕНИЙ ТОМАТА К СОЛЕВОМУ И ВОДНОМУ СТРЕССАМ

К.Г. ГАСЫМОВ, Л.А. НАДЖАФОВА

*Институт ботаники Национальной академии наук Азербайджана
AZ-1073 Баку, Патамдарское шоссе, 40
e-mail: gasimov-k@botany-az.org; lalenecefova@gmail.com*

Засоление, засуха и низкая температура являются основными абиотическими стрессорами, влияющими на рост и развитие растений, что может приводить к значительным потерям урожая сельскохозяйственных культур. Большинство реакций растений на стрессоры контролируется на уровне транскрипции при участии транскрипционных факторов (ТФ), в частности, входящих в семейство WRKY. В данной работе идентифицирован и охарактеризован ген *WRKY33* томата (*Solanum lycopersicum* L.), обозначенный как *SIWRKY33*. Он принадлежит к генам *WRKY* группы I и состоит из 1587 пн, ORF которого кодирует предполагаемый белок из 529 аминокислот. Исследование профилей экспрессии гена *SIWRKY33* методами ОТ-ПЦР и гибридизации *in situ* показало значительное его индуцирование при воздействии засоления NaCl и в меньшей степени при водном дефиците.

Ключевые слова: *Solanum lycopersicum* L., транскрипционный фактор, клонирование, абиотический стресс.

Растения на всем протяжении своего жизненного цикла сталкиваются с действием различных абиотических и биотических стрессоров. Стрессы прямо или опосредованно влияют как качественно, так и количественно на продуктивность растений, особенно сельскохозяйственных культур. В ходе эволюционного процесса растения выработали различные стратегии восприятия и реагирования на разные абиотические стрессоры [23], и эти механизмы толерантности и сопротивляемости в основном контролируются сетью структурных генов, регулируемых транскрипционными факторами (ТФ) [2]. ТФ являются белками, способными специфически связываться с *cis*-действующими (*cis*-acting) элементами промоторов эукариотических генов, активируя или угнетая их транскрипцию [14].

Одним из крупнейших семейств ТФ в растениях является WRKY. Каждый белок WRKY содержит по крайней мере один ДНК-связывающий домен, называемый WRKY, который состоит из около 60 аминокислотных остатков. Особенностью этого домена является наличие весьма консервативного гептапептида WRKYGQK и последующего неканонического мотива «цинковые пальцы» (*zinc finger*) (C-X4-5-C-X22-23-N-X1-N или C-X7-C-X23-N-X1-C) в его C-концевом домене [3]. ТФ WRKY могут специфически связываться с *cis*-действующими (*cis*-acting) элементами, называемыми W-боксы, у которых основной последователь-

ностью является TTGACC/T, и в дальнейшем активировать или подавлять экспрессию структурных генов [24]. По количеству и типу доменов WRKY они делятся на три группы. I группа содержит два WRKY-домена и мотив «цинковые пальцы» C-X4-5-C-X22-23-H-X1-H, а II и III группы — только один WRKY-домен со своими мотивами «цинковые пальцы» соответственно C-X4-5-C-X22-23-H-X1-H и C-X7-C-X23-H-X1-C [3].

ТФ WRKY представлены в различных видах растений, причем для каждого из них характерно значительное варьирование особенностей. Например, у арабидопсиса имеются по крайней мере 74 фактора WRKY [4], а у риса — 109 [21]. Кроме того, ТФ WRKY были определены также и за пределами растительного царства. Так, белок, имеющий два домена WRKY, был определен у одноклеточного простейшего нефотосинтезирующего эукариота *Giardia lamblia* [26], что является свидетельством древнего происхождения белков WRKY.

Показано, что гены *WRKY* быстро индуцируются в ответ на действие абиотических стрессоров. У табака ген *wizz*, кодирующий *WRKY*, индуцировался после ранения растений в течение 10 мин, а его транскрипты достигали максимума через 30 мин, указывая на то, что *wizz* вовлечен в ответ на ранение растений [6]. Сверхэкспрессия ТФ гена арабидопсиса *AtWRKY33* может повышать уровень толерантности трансгенных растений к NaCl [9]. Кроме защиты при абиотических стрессах было доказано, что *WRKY* играют также важную роль в реакции на биотические стрессы в процессах роста и развития растений [22, 24].

Многие ТФ *WRKY* были определены у арабидопсиса [10–12, 27], однако, несмотря на то что томат (*Solanum lycopersicum* L.) является одной из важных в экономическом отношении культур, у него найдены только несколько функциональных ТФ *WRKY*, причем они не были достаточно глубоко изучены. Поскольку сверхэкспрессия *WRKY33* арабидопсиса может привести к значительному повышению уровня толерантности растений к NaCl, представлялось интересным определить, существует ли гомолог гена *WRKY33* арабидопсиса в растениях томата, что расширит представление о структурно-функциональной организации этого гена культурных растений и даст возможность использовать его для генетического улучшения растений томата.

В данной работе представлены результаты исследований полного размера последовательности кДНК гена *WRKY* томата *SlWRKY33* и определения профилей экспрессии при солевом и водном стрессах.

Методика

Растительный материал. Семена томата стерилизовали в 7 %-м растворе гипохлорита натрия и промывали бидистиллированной водой. Затем семена размещали на двух слоях увлажненной фильтровальной бумаги и инкубировали в темноте при 25 °С в течение 3 сут. Проростки переносили в гидропонную культуру на питательный раствор 0,1 × МС и выращивали в камере при температуре 25±2 °С и освещенности 150 мкмоль/(м² · с) с фотопериодом 15/9 ч (свет/темнота). Воздействие стрессором проводили по достижении растениями 5-недельного возраста.

Метод гидропоники был выбран потому, что при культивировании в почве на эффекты солевого стресса оказывают влияние многие факторы [18], тогда как использование гидропоники позволяет не только точ-

но поддерживать на одном уровне концентрацию NaCl и продолжительность стрессорного воздействия, но и дает возможность вызывать более быстро симптомы стресса.

Выделение тотальной РНК и синтез кДНК. Фракцию тотальной РНК выделяли из 200 мг апикальной части побегов с помощью Tri Reagent (MRC Ohio, USA) по прописи производителя; кДНК была синтезирована обратной транскриптазой (ОТ) на выделенной тотальной фракции РНК с последующей ПЦР-реакцией. Для ОТ-ПЦР был использован «Quantitative RT-PCR ReadyMix kit» (Sigma, USA). Реакция основывалась на «Moloney Murine Leukemia Virus Reverse Transcriptase (M-MLV RT)», где на матрице мРНК синтезировалась кДНК. Реакция ОТ-ПЦР проведена в соответствии с инструкциями изготовителя.

Клонирование *SIWRKY33* и анализ его последовательности. Аминокислотную последовательность ТФ WRKY33 арабидопсиса (Номер GenBank поступления: NP_181381.2) использовали в качестве запрашиваемой (query) последовательности для поиска по базе данных EST томата (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/dbEST/>) с использованием программы «tblastn» (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). В соответствии с собранной последовательностью предполагаемого гена *SIWRKY33* были разработаны специфические праймеры FL-FW (прямой) и FL-RW (обратный) (таблица) для амплифицирования полной последовательности *SIWRKY33* из матрицы смесей кДНК, полученной ОТ-ПЦР. Реакцию ПЦР с Taq-ДНК полимеразой проводили по следующей схеме: 94 °С в течение 5 мин, затем 30 циклов: 94 °С в течение 1 мин, 59 °С в течение 1 мин и 72 °С в течение 100 с, а затем 72 °С в течение 10 мин. Продукты ПЦР были клонированы в векторе pBluescript SK(-) (Agilent Technologies, USA) по рестрикционным сайтам Hind III и BamH I и секвенированы. Последовательность кДНК *SIWRKY33* проанализирована с помощью процедуры поиска BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>). Для экспрессии транскрибируемая часть гена (ORF) была субклонирована в экспрессионный вектор pET-15b (Novagen, USA). С этой целью ее амплифицировали с использованием ПЦР реакции с праймерами ORF-FW, ORF-RW (см. таблицу). Реакцию ПЦР с Pfu-ДНК полимеразой проводили по следующей схеме: 94 °С в течение 5 мин, затем 30 циклов: 94 °С

Список праймеров, использованных для экспериментов

Название	Последовательность праймеров (5'→3')	Применение
FL-FW	TAGCTAAAGCTTATAAAATCTAAGTACTCATC	Праймеры для получения полной длины кДНК
FL-RW	CTATAGGGATCCACACGAAAAAATATATCAAC	
ORF-FW	CATGTACATATGGCTTCTTCAGGTGGAAATATG	Праймеры для получения транскрибируемой части кДНК
ORF-RW	GATATCGGATCCCTCAGTTAAGGAAAGAGCTGAAG	
NH-FW	ATGGCTTCTTCAGGTGGAAATATG	Праймеры для нозерн-гибридизации
NH-RW	TGACTCCCTTTATAAACTATCTC	
in situ-FW	TAGCTAAAGCTTATCGCCAACACAGGGAGTTTG	Праймеры для получения матрицы in situ
in situ-RW	CTATAGGGATCCCTGACTCCCTTTATAAACTATCTC	

в течение 1 мин, 59 °С в течение 1 мин, 72 °С в течение 2,5 мин, а потом 72 °С в течение 10 мин.

Праймеры, использованные в исследованиях, были произведены компанией «Integrated DNA Technologies, Inc.», (Iowa, USA).

Анализ экспрессии *SIWRKY33*. Транскрипты гена *SIWRKY33* были получены ПЦР амплификацией WRKY-домена кДНК с помощью ОТ-ПЦР после культивирования растений в стрессовых условиях. Уровень экспрессии гена *SIWRKY33* определяли методом нозерн-гибридизации тотальной фракции РНК, выделенной из растений после различной продолжительности воздействия стрессового фактора. Дигоксигенин (DIG)-меченые пробы (зонды) для гибридизации были синтезированы на матрице нуклеотидной последовательности WRKY-домена кДНК гена *SIWRKY33*. Мечение проведено с использованием DIG Probe Synthesis Kit (Roche USA) по методу изготовителя.

Экспрессия гена *SIWRKY33* также определена методом гибридизации *in situ*. Различные ткани растений томата (побеги, листья, соцветия) были зафиксированы и использованы для гибридизации *in situ*. Пробы РНК для гибридизации синтезировали на последовательности первого WRKY-домена кДНК *SIWRKY33*. Все растительные ткани отбирали после 1, 6, 12, 24-часовой выдержки в стрессовых условиях параллельно с контрольными растениями. Для фиксирования тканей и процедуры гибридизации *in situ* использовали метод Лангдейла [13] с некоторыми модификациями.

Воздействие стресса. Растения томата 5-недельного возраста подвергали воздействию двух абиотических факторов: хлоридного засоления и водного дефицита. Для этого проростки помещали на раствор питательной среды 0,1 × МС с добавлением ПЭГ6000 или NaCl в конечных концентрациях соответственно 20 % или 250 мМ. Апикальные части молодых побегов отбирали через 1, 6, 12 и 24 ч после инкубирования. Все растительные материалы объединяли в группы (не менее 10 образцов в каждой группе), немедленно замораживали в жидком азоте и хранили при –80 °С до выделения РНК [5]. Каждый анализ проводили в двух параллельных повторностях.

Результаты и обсуждение

Клонирование и секвенирование *SIWRKY33*. Предполагаемая последовательность 1938 пн полноразмерной кДНК успешно получена на основе ОТ-ПЦР и клонирована в бинарный вектор. Выведенная полная длина последовательности составила 1590 пн ORF, которая кодирует белок из 529 аминокислотных остатков. Кроме того, были предсказаны 84 пн в 5'-нетранслируемой области (UTR) и 264 пн в 3'-нетранслируемой области. Данный предполагаемый ген томата был получен в соответствии с *WRKY33* арабидопсиса, и поэтому он был обозначен как *SIWRKY33*. С целью проверки результата клонирования были использованы специфические праймеры ORF-FW и ORF-RW для амплификации фрагмента *SIWRKY33* ORF методом ПЦР амплификации из суммарной кДНК, полученной с использованием обратной транскриптазы. В результате размер полученного ORF-фрагмента кДНК, состоящего из 1590 пн, был полностью идентичен последовательности клонированной и субклонированной ДНК.

Экспрессия *SIWRKY33* в различных тканях томата. Профиль экспрессии *SIWRKY33* в различных тканях томата был изучен с помощью ОТ-ПЦР реакций. Транскрипты обнаружены во всех исследованных тканях, однако уровни экспрессии в разных тканях различались. Самый высокий уровень экспрессии гена наблюдался в молодых листьях и апикальной части побегов. Исходя из этого, дальнейшие исследования проводили на этих тканях.

Определение уровня экспрессии *SIWRKY33* методом нозерн-гибридизации. Чтобы изучить уровень экспрессии гена *SIWRKY33* в условиях стресса, был использован метод нозерн-гибридизации.

Диоксигенинмеченая проба была синтезирована на последовательности первого WRKY-домена кДНК размером 750 пн, начиная с первого (старт) кодона. Как видно из рис. 1, при солевом стрессе транскрипты *SIWRKY33* начинали значительно увеличиваться после 1 ч экспозиции. При 12 ч экспозиции экспрессия гена повышалась до максимума. Наблюдаемый паттерн экспрессии был аналогичен таковому *AtWRKY33*, когда 6 ч воздействия NaCl приводило почти к 30-кратному повышению уровня транскриптов [9].

Определение профиля экспрессии *SIWRKY33* по гибридизации *in situ*. Для дальнейшего исследования экспрессионного профиля *SIWRKY33* проведена гибридизация *in situ* в различных тканях растений томата (рис. 2). DIG-меченые пробы РНК для гибридизации включали первый домен WRKY гена *SIWRKY33* и последовательности до и после него — по 450 пн. Вначале эта последовательность была амплифицирована методом ПЦР с праймерами (см. таблицу) *in situ*-FW, *in situ*-RW и субклонирована в вектор pBluescript SK(-) под промоторами T7 и T3. Для гибридизации смысловые пробы синтезировали под промотором T7, антисмысловые — под промотором T3.

Обе DIG-меченые пробы РНК использовали для гибридизации на фиксированных срезах тканей растений томата, подвергнутых воздействию NaCl в течение 0, 1, 6, 12 и 24 ч (см. рис. 2). Гибридизация с антисмысловыми пробами показала существенное повышение уровня экспрессии гена *SIWRKY33* во всех использованных тканях. Индукция экспрессии начиналась с первого часа обработки NaCl (см. рис. 2, Б) и

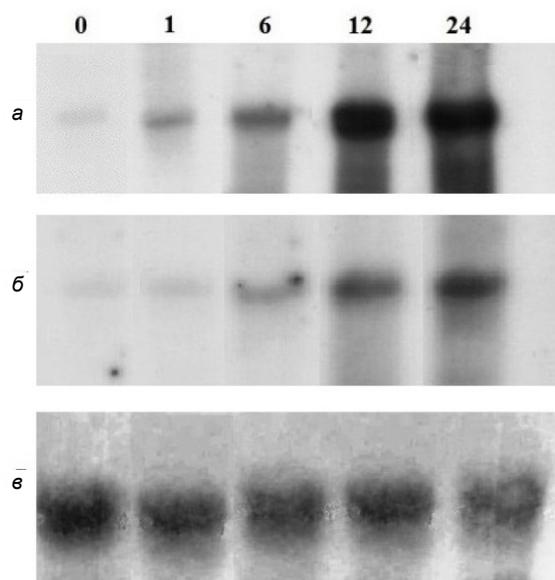


Рис. 1. Нозерн-гибридизация мРНК *SIWRKY33* во фракциях суммарной РНК:

a — гибридизация РНК, выделенной из растений, обработанных NaCl; *b* — РНК, выделенная из растений на фоне водного дефицита; обоих случаях DIG-меченые пробы были синтезированы на кДНК *SIWRKY33*; *c* — контрольная гибридизация мембран с пробами, полученными на последовательности актина-41 из *Solanum lycopersicum* (0 — контроль, 1, 6, 12 и 24 — продолжительность действия стрессовых факторов, ч)

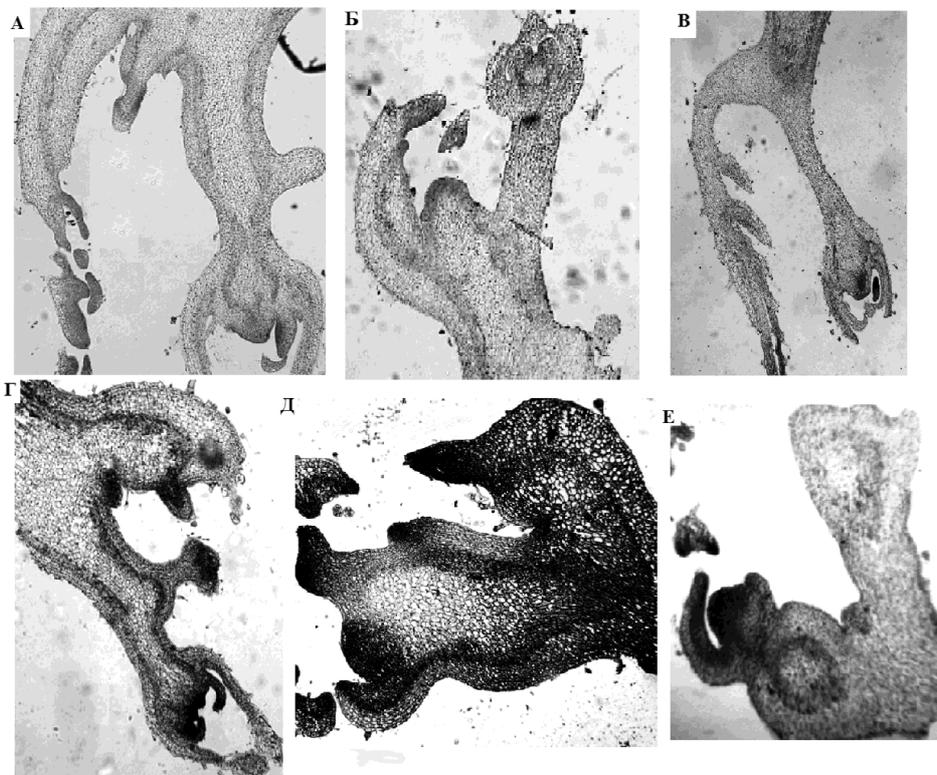


Рис. 2. Профиль экспрессии *SIWRKY33* в тканях растений томата, подвергнутых действию 250 мМ NaCl. Профиль экспрессии определен методом гибридизации *in situ* (А — 0, Б — 1, В — 6, Г — 12, Д и Е — 24 ч экспозиции растений в условиях засоления). Все срезы гибридизированы с антисмысловой РНК-пробой. Пробы антисмысловой РНК синтезированы на последовательности WRK домена кДНК *SIWRKY33*

ее высокий уровень достигался после 12 и 24 ч экспозиции растений на солевой среде (см. рис. 2, Г—Е). При этом наиболее сильный сигнал был получен в апикальной части молодых побегов. В условиях водного дефицита экспрессия *SIWRKY33* имела аналогичную тенденцию, но на более низком уровне (рис. 3). В условиях обезвоживания, на момент времени после 1 ч обработки, уровень транскриптов *SIWRKY33* был почти таким же, как в контроле (см. рис. 3, А, Б), а затем начинал постепенно повышаться, достигая максимума после 24 ч экспозиции (см. рис. 3, В—Д), т.е. начало повышения уровня транскрипции *SIWRKY33* наступало позже, чем в условиях воздействия NaCl.

ТФ WRKY составляют обширное суперсемейство транскрипционных факторов в растениях и играют важную роль в регуляции роста и развития растений [22]. Большое количество ТФ WRKY изучено у модельного растения арабидопсиса и риса [1, 9, 20, 25], тогда как очень немногие белки WRKY исследованы у такой важной культуры, как томат. Еще в меньшей степени изучены WRKY-факторы, связанные с абиотическим стрессом. Обширный геномный анализ ТФ WRKY у *Solanum lycopersicum* позволил идентифицировать 81 ген *SIWRKY*. Впоследствии они были разделены на три группы, из которых вторая насчитывает 5 подгрупп [7].

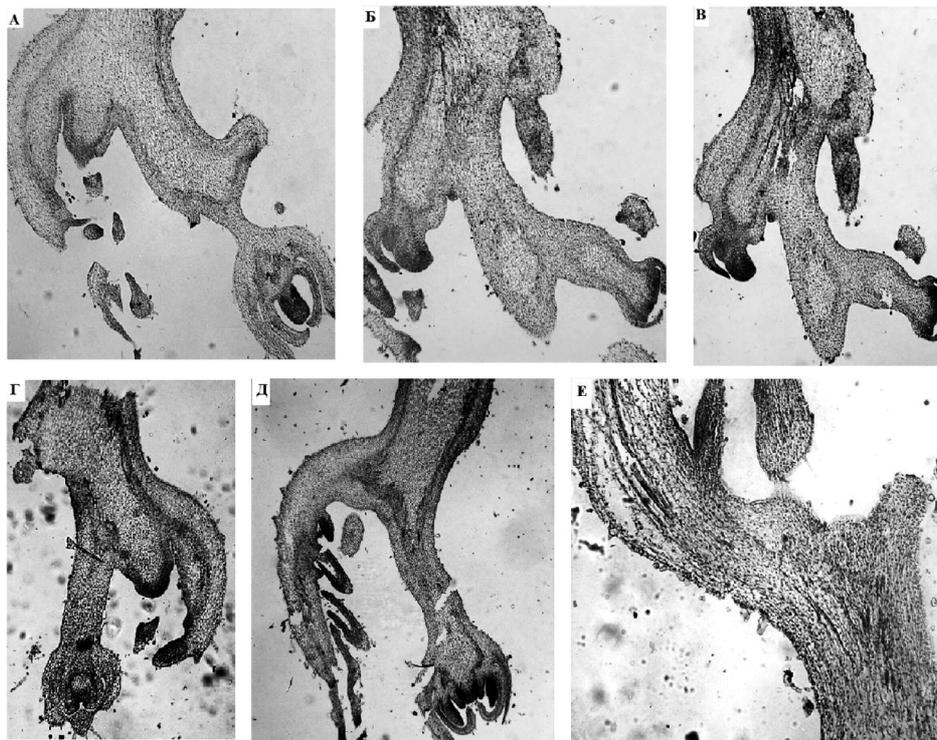


Рис. 3. Профиль экспрессии *SIWRKY33* в тканях томата в условиях водного дефицита, полученный методом гибридизации *in situ* (А — 0, Б — 1, В — 6, Г — 12, Д и Е — 24 ч экспозиции растений в условиях водного дефицита). Все срезы за исключением Е гибридизированы с пробой антисмысловой РНК, срез Е гибридизирован с пробой смысловой РНК. Пробы смысловой и антисмысловой РНК синтезированы на последовательности WRKY домена кДНК *SIWRKY33*

Различные *SIWRKY* клонированы, исследована их роль в реакции растений томата на стрессовые факторы окружающей среды [7, 8, 16, 19], однако большинство работ связано с выяснением воздействия патогенов. Клонированный в данном исследовании *SIWRKY33* может представлять интерес в связи с его участием в повышении уровня устойчивости растений к засолению и водному дефициту.

В условиях осмотических стрессов профили экспрессии *SIWRKY33* походили на таковые своего ортолога *AtWRKY33*, но не были полностью идентичными. Общим являлось то, что они оба сильно индуцировались при воздействии NaCl, и момент времени начала транскрипции совпадал. Однако паттерн экспрессии в различных тканях не был одинаковым. У арабидопсиса высокий уровень экспрессии наблюдался в корнях, а в растениях томата — в молодых стеблях и апикальной части побегов. Кроме того, в отличие от *AtWRKY33* ген *SIWRKY33* сильно индуцировался не только при обработке растений NaCl, но и под воздействием водного дефицита. Сделано также предположение, что *SIWRKY33* индуцируется и при воздействии патогенов.

Транскрипты *SIWRKY33* быстро и значительно увеличивались после 1 ч воздействия обсуждаемых осмотических стрессов. Это свидетельствует в пользу того, что *SIWRKY33* может принимать участие в сигнальных путях, связанных с повышением уровня толерантности

растений к NaCl и (или) водному дефициту. Один из таких путей связан с абсцизовой кислотой (АБК) [15, 17]. В связи с этим отметим, что ZmWRKY33 в проростках кукурузы индуцируется при влиянии АБК [3]. В нашей работе также не исключена связь между *SlWRKY33* и АБК-зависимыми путями передачи сигналов. Таким образом, мы предполагаем, что *SlWRKY33* играет важную роль в реакции растений на абиотические стрессы через некоторый сигнальный путь, требующий дальнейшего выяснения.

Выражаем благодарность заведующему лабораторией биотехнологии Тофигу Гарагезову за консультации по культивированию исходного растительного материала и критические замечания при работе над рукописью статьи, а также заведующему лабораторией биоинформатики Ильхаму Шахмурадову за помощь в поиске баз данных.

1. Chen H., Lai Z.B., Shi J.W. et al. Roles of arabidopsis WRKY18, WRKY40 and WRKY60 transcription factors in plant responses to abscisic acid and abiotic stress // BMC Plant Biol. — 2010. — **10**. — P. 281–296.
2. Chen W.J., Zhu T. Networks of transcription factors with roles in environmental stress response // Trends Plant Sci. — 2004. — **9**. — P. 591–596.
3. Eulgem T., Rushton P.J., Robatzek S., Somssich I.E. The WRKY superfamily of plant transcription factors // Trends Plant Sci. — 2000. — **5**. — P. 199–206.
4. Eulgem T., Somssich I.E. Networks of WRKY transcription factors in defense signaling // Curr Opin Plant Biol. — 2007. — **10**. — P. 366–371.
5. Gao Y., Zhao Y., Li T., et al. Cloning and characterization of a G protein b subunit gene responsive to plant hormones and abiotic stresses in *Brassica napus* // Plant Mol. Biol. Rep. — 2010. — **28**. — P. 450–459.
6. Hara K., Yagi M., Kusano T., Sano H. Rapid systemic accumulation of transcripts encoding a tobacco WRKY transcription factor upon wounding // Mol. Gen. Genet. — 2000. — **263**. — P. 30–37.
7. Huang S., Gao Y., Liu J. et al. Genome-wide analysis of WRKY transcription factors in *Solanum lycopersicum* // Mol. Genet. Genomics. — 2012. — **286(6)**. — P. 495–513.
8. Hyun T.K., Kim J.-S. In-silico screening of WRKY transcription factors as possible substrates of mitogen activated protein kinase 3 in *Solanum lycopersicum* // Plant Omics J. — 2011. — **4(4)**. — P. 204–208.
9. Jiang Y., Deyholos M. Functional characterization of arabidopsis NaCl-inducible WRKY25 and WRKY33 transcription factors in abiotic stresses // Plant Mol. Biol. — 2009. — **69(1)**. — P. 91–105.
10. Journot-Catalino N., Somssich I.E., Roby D., Kroj T. The transcription factors WRKY11 and WRKY17 act as negative regulators of basal resistance in *Arabidopsis thaliana* // Plant Cell. — 2006. — **18**. — P. 3289–3302.
11. Kim K.C., Fan B., Chen Z. Pathogen-induced arabidopsis WRKY7 is a transcriptional repressor and enhances plant susceptibility to *Pseudomonas syringae* // Plant Physiol. — 2006. — **142**. — P. 1180–1192.
12. Knoth C., Ringler J., Dangel J.L., Eulgem T. Arabidopsis WRKY70 is required for full RPP4-mediated disease resistance and basal defense against *Hyaloperonospora parasitica* // Mol. Plant. Microbe Interact. — 2007. — **20**. — P. 120–128.
13. Langdale J.A. In situ hybridization // The Maize Handbook / Eds V.Walbot, M. Freeling. — New York: Springer-Verlag, 1993. — P. 165–180.
14. Latchman D.S. Transcription factor: an overview // Int. J. Biochem. Cell Biol. — 1997. — **29**. — P. 1305–1312.
15. Li H., Gao Y., Xu Y., Dai H. ZmWRKY33, a WRKY maize transcription factor conferring enhanced salt stress tolerances in arabidopsis // Plant Growth Regul. — 2013. — **70**. — P. 207–216.
16. Li J., Luan Y., Jin H. The tomato SlWRKY gene plays an important role in the regulation of defense responses in tobacco // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 2012. — **427(3)**. — P. 671–676.
17. Liu Q., Kasuga M., Sakuma Y. et al. Two transcription factors, DREB1 and DREB2, with an EREBP/AP2 DNA binding domain, separate two cellular signal transduction pathways in drought- and low temperature-responsive gene expression, respectively, in arabidopsis // Plant Cell. — 1998. — **10**. — P. 1391–1406.

18. Mittler R. Abiotic stress, the field environment and stress combination // Trends Plant Sci. — 2006. — **11**. — P. 15–19.
19. Molan Y.Y., El-Komy M.H. Expression of Sl-WRKY1 transcription factor during *B. cinerea* tomato interaction resistant and susceptible cultivars // Int. J. Plant Breed. Genet. — 2010. — **4(1)**. — P. 1–12.
20. Qiu Y.P., Yu D.Q. Over-expression of the stress-induced OsWRKY45 enhances disease resistance and drought tolerance in arabidopsis // Environ. Exp. Bot. — 2009. — **65**. — P. 35–47.
21. Ross C.A., Liu Y., Shen Q.J. The WRKY gene family in rice (*Oryza sativa*) // J. Integr. Plant Biol. — 2007. — **49**. — P. 827–842.
22. Rushton P.J., Somssich I.E., Ringler P., Shen Q.X.J. WRKY transcription factors // Trends Plant Sci. — 2010. — **15**. — P. 247–258.
23. Seki M., Kamei A., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K. Molecular responses to drought, salinity and frost: common and different paths for plant protection // Curr. Opin Biotechnol. — 2003. — **14**. — P. 194–199.
24. Ulker B., Somssich I.E. WRKY transcription factors: from DNA binding towards biological function // Curr. Opin. Plant Biol. — 2004. — **7**. — P. 491–498.
25. Wu X.L., Shiroyo Y., Kishitani S. et al. Enhanced heat and drought tolerance in transgenic rice seedlings overexpressing OsWRKY11 under the control of HSP101 promoter // Plant Cell Rep. — 2009. — **28**. — P. 21–30.
26. Zhang Y.J., Wang L.J. The WRKY transcription factor superfamily: its origin in eukaryotes and expansion in plants // BMC Evol. Biol. — 2005. — **5**. — P. 1–28.
27. Zheng Z., Qamar S.A., Chen Z., Mengiste T. Arabidopsis WRKY33 transcription factor is required for resistance to necrotrophic fungal pathogens // Plant J. — 2006. — **48**. — P. 592–605.

Получено 27.03.2014

ГЕН *SIWRKY33* СПРИЯЄ ТОЛЕРАНТНОСТІ РОСЛИН ТОМАТУ ДО СОЛЬОВОГО ТА ВОДНОГО СТРЕСІВ

К.Г. Гасимов, Л.А. Наджафова

Інститут ботаніки Національної академії наук Азербайджану, Баку

Засолення, посуха і низька температура є основними абіотичними стресорами, які впливають на ріст і розвиток рослин, що може призводити до значних втрат урожаю сільськогосподарських культур. Більшість реакцій рослин на стресори контролюється на рівні транскрипції за участю транскрипційних факторів (ТФ), зокрема тих, що належать до родини WRKY. В цій роботі ідентифіковано і схарактеризовано ген *WRKY33* томату (*Solanum lycopersicum* L.), позначений як *SIWRKY33*. Він належить до генів *WRKY* групи I і складається із 1587 пн, ORF якого кодує передбачуваний білок із 529 амінокислот. Дослідження профілів експресії гена *SIWRKY33* методами ЗТ-ПЛІР і гібридизації in situ виявило його значне індуквання за дії засолення NaCl та меншою мірою за водного дефіциту.

SIWRKY33 GENE PROMOTES TOMATO PLANT TOLERANCE TO SALT AND WATER STRESS

K.G. Gasimov, L.A. Najafova

Institute of Botany, National Academy of Sciences of Azerbaijan
40 Patamdar Highway, Baku, AZ-1073, Azerbaijan

High salinity, drought, and low temperature are the major abiotic stresses affecting plant growth and development and can lead to serious yield losses of agricultural crops. In plants, the majority of responses to abiotic stresses are controlled at the transcriptional level, that is regulated by transcription factors (Tf). The family of WRKY is one of important superfamilies involved in response

of plants to abiotic stress. In this study a gene of the *WRKY33* from the superfamily of WRKY factor designated as *SIWRKY33*, was isolated and characterized in tomato plants (*Solanum lycopersicum* L.). *SIWRKY33*, belonging to the Group I *WRKY* gene, consists of 1587 bp ORF, which encodes a putative protein of 529 amino acids. PCR analysis and in situ hybridization were performed to determine the expression pattern of *SIWRKY33* under abiotic stresses — under the influence of elevated NaCl concentration and water deficit. Obtained results indicated a strong induction of *SIWRKY33* under salinity, and to a lesser extent under water stress.

Key words: *Solanum lycopersicum* L., transcription factor, cloning, abiotic stress.