

## Изменение экспрессии генов циркадного ритма в ответ на холодовой стресс у сортов томата *Solanum lycopersicum* L.

Кочиева Е.З.\*, Щенникова А.В.

Институт биоинженерии ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии Российской академии наук», Москва, Россия

\* [ekochieva@yandex.ru](mailto:ekochieva@yandex.ru)

**Ключевые слова:** стрессовая память растения; циркадный ритм; Пасленовые

**Мотивация и цель:** В течение жизни растения подвергаются комплексному воздействию стрессовых факторов, что в случае сельскохозяйственных культур приводит к значительным потерям урожая. В ответ на стресс активируются защитные механизмы. При этом растения способны сохранять информацию о стрессовых событиях (явление наследуемой стрессовой памяти) и на основе полученного опыта оптимизировать свои реакции на повторные стрессы [1–3]. Целью нашей работы стало определение возможного участия генов циркадного ритма в ответе растений на стрессовые факторы у культурных видов сем. Пасленовые.

**Методы и алгоритмы:** Исследования проводили на сортах томата *Solanum lycopersicum* L., имеющих сходные морфологические характеристики и сроки созревания, но различающихся по холодостойкости. Проростки сортов, выращиваемые в нормальных условиях, подвергались имитации ночных похолоданий (краткосрочное воздействие низкой температуры (3 °C) в темновой фазе роста). В течение суточного цикла в проростке определялся профиль экспрессии (РВ-ПЦР) генов циркадного ритма. Далее растения подвергались повторным симуляциям холодового стресса; определялся профиль экспрессии генов, показавших дифференциальную экспрессию в первом цикле эксперимента. Контрольные растения параллельно выращивались в нормальных условиях. Одновременно с экспрессией генов в листьях проростков измерялось содержание хлорофиллов биохимическими методами. Данные экспрессионного и биохимического анализа обрабатывались статистически с учетом двух биологических и трех технических повторов.

**Результаты:** Адаптационная эволюция организмов, в том числе растений, связана с возникновением циркадных ритмов – повторяющихся колебаний в молекулярно-генетических процессах с периодом 24 ч, цикличностью «день–ночь» и сезонной спецификой [4]. Для оценки воздействия краткого похолодания в условиях ночи в листьях проростков трех сортов томата был определен уровень экспрессии генов циркадного ритма *GIGANTEA*, *FKF* и *CONSTANS*, а также генов фотосистем (*psaA*, *psbA*). В результате было обнаружено, что все анализируемые гены демонстрировали дифференциальную экспрессию в исследуемых образцах растений. Сравнение с контрольными растениями позволило оценить причины дифференциальной экспрессии, вычлест фотозффект смены суточного ритма (день–ночь) и вычлестить воздействие именно низкой температуры. Было показано, что низкая температура в разной степени усиливает циркадные колебания экспрессии каждого из целевых генов. При этом для содержания

хлорофиллов зависимость от температуры также присутствовала, но была менее выражена. В случае повторных воздействий холодового стресса в темновой фазе было обнаружено, что гены фотосистем характеризуются сходными между повторами стресса изменениями в экспрессионном уровне, тогда как гены циркадной системы меняли модель экспрессии. Используемые сорта томата, несмотря на схожесть морфологических характеристик, различались по силе ответа (экспрессия генов) на холодовой стресс и его повторы, что согласуется с предполагаемыми различиями степени стрессоустойчивости сортов.

**Выводы:** На основании полученных результатов можно предположить, что гены циркадного ритма (*GIGANTEA*, *FKF* и *CONSTANS*) и фотосистем (*psaA*, *psbA*) участвуют в реакции растений томата на холодовой стресс. Динамика экспрессии данных генов в ответ на похолодание может быть ассоциирована с холодостойкостью сортов томата.

**Финансирование:** Исследование поддержано грантом РФФИ (№ 24-16-00043).

## **Changes in the expression of circadian rhythm genes in response to cold stress in tomato *Solanum lycopersicum* L. varieties**

Kochieva E.Z.\*, Shchennikova A.V.

*Institute of Bioengineering, Federal Research Center "Fundamentals of Biotechnology" of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

\* [ekochieva@yandex.ru](mailto:ekochieva@yandex.ru)

**Key words:** stress memory; plants, circadian rhythm; Solanaceae

**Motivation and Aim:** During their lifetime, plants, including crops, are exposed to complex stress factors, which lead to significant yield losses and stimulate defense mechanisms. It is remarkable that plants are able to retain information about stressful events (the phenomenon of inherited stress memory) and, based on the experience gained, optimize their reactions to repeated stresses [1–3]. The aim of our work was to determine the possible involvement of circadian rhythm genes in the response of plants to stress factors in Solanaceae cultivated species.

**Methods and Algorithms:** Research was carried out on tomato varieties with similar morphological characteristics and maturation periods, but differing in resistance to cold stress. Seedlings grown under normal conditions were subjected to simulated nighttime cold stress (short-term exposure to low temperature (3 °C) in the dark growth phase). During the daily cycle, the expression profile of circadian rhythm genes was determined in the seedling by qRT-PCR. Next, the plants were subjected to repeated exposure of cold stress; the expression profile of genes showing differential expression in the first cycle of the experiment was determined. The control plants were grown in parallel under normal conditions. Additional to gene expression, chlorophyll content in the leaves was measured using biochemical methods. All experiments were carried out in two biological and three technical repeats.

**Results:** The adaptive evolution of organisms, including plants, is associated with the circadian rhythms emergence – repetitive fluctuations in molecular genetic processes with a period of 24 hours, a day–night cycle and seasonal specificity [4]. To assess the effects of a short-time cold stress at night in seedlings of three tomato varieties, the expression level of the circadian rhythm genes *GIGANTEA*, *FKF* and *CONSTANS*, as

well as the genes of photosystems (*psaA*, *psbA*) was determined, and the chlorophyll (*a* and *b*) content was measured. As a result, it was found that all the analyzed genes showed differential expression in the studied tomato accessions. Comparison with control plants made it possible to assess the causes of differential expression, subtract the photoelectric effect of the circadian rhythm (day–night) change and reveal the effect of low temperature. It has been shown that exposure to low temperature increases circadian fluctuations in the expression of each of the target genes in various degrees. At the same time, temperature dependence was also present for the content of chlorophylls, but it was less pronounced. In the case of repeated cold stress effects in the dark phase, it was found that the photosystem genes are characterized by similar changes in the expression level in each cycle of stress repeats, whereas circadian system genes changed their expression pattern in relation to the level of change. The tomato varieties used, despite the similarity of morphological characteristics, differed in the strength of the response (gene expression) to cold stress and number of stress cycles, which is consistent with the assumed differences in the degree of stress resistance of these varieties.

**Conclusion:** Based on the results obtained, it can be assumed that the genes of circadian rhythm (*GIGANTEA*, *FKF* and *CONSTANS*) and photosystems (*psaA*, *psbA*) are involved in the response of tomato plants to cold stress. The dynamics of expression of these genes in cold stress response may be associated with the cold resistance of tomato varieties.

**Funding:** The study was supported by Russian Science Foundation (grant No. 24-16-00043).

#### *Список литературы/References*

1. Li Y., Luo Z.Q., Yuan J., Wang S., Liu J., Su P., Zhou J.H., Li X., Yang J., Guo L.P. Metabolic and transcriptional stress memory in sorbus pohuashanensis suspension cells induced by yeast extract. *Cells*. 2022;11(23):3757. doi 10.3390/cells11233757
2. Nishad A., Nandi A.K. Recent advances in plant thermomemory. *Plant Cell Rep.* 2021;40(1):19-27. doi 10.1007/s00299-020-02604-1
3. Zuo D.D., Ahammed G.J., Guo D.L. Plant transcriptional memory and associated mechanism of abiotic stress tolerance. *Plant Physiol Biochem.* 2023;201:107917. doi 10.1016/j.plaphy.2023.107917
4. Hut R.A., Beersma D.G. Evolution of time-keeping mechanisms: early emergence and adaptation to photoperiod. *Philos Trans R Soc Lond B Biol. Sci.* 2011;366:2141. doi 10.1098/rstb.2010.0409