



DOI: 10.21178/2079–6080.2025.4.43  
УДК 58.01/.07

## Влияние дефицита влаги на изменение экспрессии генов у засухоустойчивого генотипа *Quercus robur* L.

© Т.С. Тихомирова<sup>1,2</sup>, В.Г. Лебедев<sup>2</sup>, Е.О. Видягина<sup>2</sup>, А.А. Попова<sup>3</sup>,  
П.М. Евлаков<sup>3</sup>, Т.А. Гродецкая<sup>3</sup>, И.М. Нартова<sup>3</sup>, К.А. Шестибратов<sup>2</sup>

**The effect of moisture deficiency on changes in gene expression in the drought-resistant genotype of *Quercus robur* L.**

**T.S. Tikhomirova, V.G. Lebedev, E.O. Vidyagina, A.A. Popova, P.M. Evlakov, T.A. Grodetzkaya, I.M. Nartova, K.A. Shestibratov** (Institute for Biological Instrumentation of the Russian Academy of Sciences, Federal Research Center «Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences»; Branch of Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences; Voronezh State University of Forestry and Technologies named after G.F. Morozov)

*Quercus robur* L. is a dominant oak species in the temperate deciduous and mixed forests of Europe. Valued for its high-quality timber, it also plays a significant ecological role in forest biocenose structuring. However, as a mesophyte, *Q. robur* is highly susceptible to hydrothermal stress. With climate change driving increased frequency and intensity of droughts, widespread decline and mortality are observed in *Q. robur* stands. Therefore, identifying drought-resistant genotypes is a critical goal for modern forest breeding. In this study the transcriptome analysis of a drought-resistant *Q. robur* genotype under water-deficit conditions was performed to identify differentially expressed genes (DEGs). A total of 53 DEGs (28 upregulated and 25 downregulated) were identified. Functional annotation indicated their involvement in diverse biological processes, including cellular respiration, reactive oxygen species (ROS) scavenging, RNA splicing, growth and development, stomatal movement, phytohormone biosynthesis, and ribosome biogenesis. The observed drought tolerance in this genotype associated with modifications in abiotic stress response, photosynthesis, and oxidoreductase activity. Notably, among downregulated DEGs, 2-alkenal reductase (NADP(+)-dependent)-like, glutathione transferase GST 23-like, and cytochrome P450 CYP736A12-like are of particular interest. Given their roles in oxidative stress response, these genes represent promising molecular markers for drought tolerance. These

findings contribute to an understanding of the molecular mechanisms underlying abiotic stress adaptation in woody plants and provide a basis for utilizing molecular markers in breeding programs to develop drought-tolerant oak genotypes.

**Keywords:** *Quercus robur*, oak, drought, transcriptome, differentially expressed genes

**Влияние дефицита влаги на изменение экспрессии генов у засухоустойчивого генотипа *Quercus robur* L.**

**Т.С. Тихомирова, В.Г. Лебедев, Е.О. Видягина, А.А. Попова, П.М. Евлаков, Т.А. Гродецкая, И.М. Нартова, К.А. Шестибратов**

Дуб черешчатый *Quercus robur* L. является одним из наиболее распространенных видов дубов в смешанных лесах умеренной зоны Европы. Данный вид имеет важное лесохозяйственное значение благодаря высококачественной древесине и играет ключевую экологическую роль в формировании специфических условий в лесных биоценозах. Являясь мезофитом, *Q. robur* проявляет высокую чувствительность к гидротермическому стрессу. Поэтому в условиях наблюдающегося изменения климата, сопровождающегося увеличением частоты и интенсивности засух, отмечается повсеместное ослабление и гибель древостоев. В связи с этим актуальной задачей современной лесной селекции является идентификация и сохранение засухоустойчивых генотипов для обеспечения устойчивости лесных экосистем. В данной работе был проведен транскриптомный анализ образцов засухоустойчивого генотипа *Q. robur*. Выявлено 53 гена, экспрессия которых была изменена относительно контроля в условиях водного дефицита. Данные гены принимают участие в клеточном дыхании, утилизации активных форм кислорода, сплайсинге, росте и развитии, движении устьиц, биосинтезе фитогормонов и биогенезе рибосом. Засухоустойчивость рассматриваемого генотипа *Q. robur* обусловлена изменениями в механизмах ответа на абиотический стресс, фотосинтеза и оксидоредуктазной активности. Среди 25 генов с пониженным уровнем экспрессии особый интерес представляют НАДФ(+)–подобная 2-алкенальредуктаза, GST 23-подобная глутатионтрансфераза и CYP736A12-подобный цитохром P450. Данные гены ассоциированы с реакцией на окислительный стресс и могут рассматриваться в качестве потенциальных маркеров. Полученные данные вносят вклад в понимание молекулярно-генетических основ адаптации древесных растений к абиотическим стрессам и открывают перспективы для применения молекулярных маркеров в селекционных программах по созданию генотипов дубов толерантных к засухе.

**Ключевые слова:** *Quercus robur* L., дуб, засуха, транскриптом, дифференциальный анализ экспрессии генов

Тихомирова Татьяна Сергеевна – научный сотрудник лаборатории биотехнологии ИБП РАН

E-mail: tts1210@yandex.ru

Лебедев Вадим Георгиевич – старший научный сотрудник, группа лесной биотехнологии, канд. биол. наук

E-mail: vglebedev@mail.ru

Видягина Елена Олеговна – научный сотрудник, группа лесной биотехнологии, канд. биол. наук

E-mail: vidjagina@mail.ru

Попова Анна Александровна – и.о. зав. кафедрой лесной генетики, биотехнологии и физиологии растений, д-р с.-х. наук

E-mail: logachevaaa@rambler.ru

Евлаков Петр Михайлович – заведующий лабораторией анализа ПЦР НИИ ИТЛК, канд. биол. наук

E-mail: peter.evlakov@yandex.ru

Гродецкая Татьяна Александровна – научный сотрудник лаборатории анализа ПЦР НИИ ИТЛК, канд. биол. наук

E-mail: tatyana.pokusina@yandex.ru

Нартова Ирина Михайловна – аспирант

Шестибратов Константин Александрович – старший научный сотрудник, группа лесной биотехнологии, канд. биол. наук

E-mail: schestibratov.k@yandex.ru

<sup>1</sup>Федеральный исследовательский центр «Пушинский научный центр биологических исследований Российской Академии наук» (ФИЦ ПНЦБИ РАН), Институт биологического приборостроения с опытным производством (ИБП РАН)

142290, г. Пушкино, Московская обл., ул. Институтская, д. 7

Телефон: +7(4967)33–05–22

<sup>2</sup>Филиал ГНЦ ФГБУН Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ФИБХ)

142290, г. Пушкино, Московская обл., Проспект Науки, д. 6

Телефон: +7(4967)33–09–66

<sup>3</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный лесотехнический университет имени Г.Ф. Морозова»

394087, г. Воронеж, ул. Тимирязева, д. 8

Телефон: +7(473)233–41–66

## Введение

Засуха представляет собой ключевой абиотический стресс-фактор, приводящий к дегидратации растений и негативно воздействующий на их рост и продуктивность [49]. В условиях глобального изменения климата возрастающие частота и интенсивность засух снижают продуктивность лесных экосистем и повышают вероятность гибели деревьев в глобальном масштабе [1]. Наибольшую угрозу засухи несут для южных границ ареалов лесов, где доступность влаги является лимитирующим фактором их распространения [11]. В связи с этим задачи сохранения и восстановления лесов, особенно в южных регионах, обуславливают потребность в генотипах, обладающих повышенной устойчивостью к водному дефициту. Прямой отбор таких генотипов по фенотипическим признакам на ранних стадиях развития затруднен. Альтернативным подходом является селекция с использованием маркерных последовательностей ДНК, ассоциированных с генами устойчивости к засухе.

Род *Quercus* (семейство Fagaceae) объединяет несколько сотен листопадных и вечнозелёных видов дубов, которые широко распространены в Северном полушарии [41]. Представители этого рода выступают доминантами во многих типах лесных экосистем, таких как умеренные листопадные, умеренные и субтропические вечнозелёные, а также тропические горные леса [7]. Древесина дубов имеет высокую экономическую ценность и используется в судостроении, производстве мебели, напольных покрытий и бочек для выдержки алкогольных напитков. Проведение классической селекции видов *Quercus* сопряжено с трудностями, обусловленными длительным ювенильным периодом, низкой семенной продуктивностью, отсутствием чёткой корреляции между ювенильными и зрелыми признаками, а также сложностью вегетативного размножения [47]. Перспективной альтернативой для генетического улучшения этих долгоживущих видов является

анализ фенотипического разнообразия с применением биотехнологических методов, которые позволяют идентифицировать продуктивные и устойчивые генотипы для целей селекции и лесовосстановления [9]. Создание молекулярных маркеров, ассоциированных с засухоустойчивостью, способно значительно ускорить реализацию селекционных программ.

Современные исследования активно изучают физиологические реакции видов рода *Quercus* на засуху. Установлено, что разные виды дуба демонстрируют различные адаптивные стратегии. К ним относятся: накопление растворимых сахаров (отмечено у *Quercus pubescens* и *Quercus robur*) [28, 36], модуляция активности антиоксидантной системы (*Q. pubescens*) [5], снижение фотосинтетической активности и изменение устьичной проводимости (*Quercus ilex*) [33]. Данные физиологические сдвиги являются следствием активации специфических метаболических путей, контролируемых определёнными группами генов. Транскриптомные исследования идентифицировали две основные категории генов, индуцируемых в условиях дефицита воды: гены, кодирующие белки, непосредственно участвующие в стрессовом ответе, и гены, кодирующие белки-регуляторы [13]. Несмотря на значительный прогресс, генетические и метаболические механизмы, лежащие в основе адаптации дубов к водному стрессу, остаются недостаточно изученными. Это связано со сложностью метаболических сетей и выраженной видоспецифичностью ответных реакций.

*Quercus robur* L. является ключевым лесобразующим видом дубов в смешанных широколиственных лесах Европы [30], отличающийся наибольшей засухоустойчивостью в роде *Quercus* [28]. К сожалению, популяция таких дубов сокращается во многих европейских регионах. При этом засуха в данном процессе рассматривается как основной негативный фактор [27]. Поэтому в настоящее время

внимание исследователей сфокусировано не только на изучении особенностей роста и развития *Q. robur* [15, 19, 51], но и на раскрытии механизмов его реакции на различные стрессовые факторы [20], включая дефицит влаги [21, 28, 39, 40].

Таким образом, целью настоящего исследования явилось комплексное изучение транскриптомного ответа на засуху у засухоустойчивого генотипа дуба черешчатого *Q. robur* с применением технологии RNA-seq. В задачи входило выявление дифференциально экспрессирующихся генов, ассоциированных с устойчивостью к водному дефициту, и последующий анализ вовлеченных молекулярных механизмов.

#### **Объекты и методы исследования**

**Растительный материал.** В работе были использованы растения, выращенные из желудей 46-летнего дуба черешчатого *Q. robur* L. из Семилукского лесного питомника в Воронежской области (Центральная часть Российской Федерации, 51°42'47" с. ш.; 38°57'08" в. д.). Дерево 339/57, являющееся потомком дуба из Шипова леса, расположенного на границе степной и лесостепной зон, было отобрано на основе многолетних наблюдений, включая сильные засухи 1992 и 2010 годов, как генотип, толерантный к водному стрессу. Сеянцы культивировали в условиях теплицы в 4-литровых горшках с использованием смеси нейтрализованного верхового торфа с перлитом (3:1).

**Условия выращивания.** Условия водного дефицита на однолетних сеянцах моделировали, поддерживая опытные растения при низком содержании почвенной влаги (СПВ). Контрольные растения поддерживали при  $80 \pm 5$  % СПВ, в опытных вариантах – до  $45 \pm 5$  % СПВ. Для поддержания заданного СПВ каждый горшок взвешивали три раза в неделю и добавляли количество воды, равное убыли массы. Дефицит воды поддерживали в течение 60 суток эксперимента. Листовой материал собирали до и после эксперимента, фиксировали методом мгновенного замора-

живания в жидком азоте и хранили при температуре  $-80$  °С до дальнейших исследований.

**RNA-Seq.** Собранные ткани листьев быстро замораживали в жидком азоте и измельчали, после чего проводили выделение РНК с использованием модифицированного протокола СТАВ [12]. Измельченные образцы растворяли в экстракционной среде, содержащей 2 % поливинилпирролидона (ПВП), 100 мМ Трис-НСl (рН 8,0), 20 мМ ЭДТА, 1,4 М NaCl, и помещали в твердотельный термостат на 40 минут при температуре 65 °С. Соотношение образца и экстракционного буфера составляло 1:10, что обеспечивало достаточную текучесть. Выделенные образцы растворяли в 50 мкл деионизированной воды и хранили при температуре  $-80$  °С до дальнейшего использования.

Качество РНК оценивали методом электрофореза в 1 % агарозном геле с бромистым этидием. Визуализацию образцов РНК проводили с помощью системы VilberLourmat (Франция). Концентрацию РНК определяли на флуориметре Qubit 2.0 с использованием набора RNA BR Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, США).

Библиотеки для RNA-Seq были подготовлены с помощью набора TruSeq Stranded mRNA (Illumina) в соответствии с протоколом производителя. Полученную библиотеку секвенировали на платформе Illumina Novaseq 6000. Исходные данные секвенирования были преобразованы в необработанные риды.

**Анализ данных.** Необработанные риды были отфильтрованы для удаления последовательностей низкого качества с помощью FastQC [2] и Trimmomatic [3]. Риды высокого качества были сопоставлены с референсным геномом GCF\_932294415.1 ([https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCF\\_932294415.1/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCF_932294415.1/)) с использованием публичного сервера Galaxy [38] и hisat2 [18] как инструмента выравнивания последовательностей. Дифференциально экспрессируемые гены (ДЭГ) были определены с помощью

программного обеспечения featureCounts [24] и DESeq2 [26]. Анализ обогащения Gene Ontology (GO-анализ) и принадлежности генов тому или иному метаболическому пути (KEGG – Kyoto encyclopedia of genes and genomes) были выполнены с помощью онлайн-инструмента DAVID (<https://davidbioinformatics.nih.gov/>) [35]. Визуализация результатов GO-анализа и результатов DESeq2 была выполнена с использованием пакетов ggplot2 и GPlot [42] в R и библиотек matplotlib и pandas в Python3.

### Результаты и их обсуждение

Для изучения ответа на водный дефицит у засухоустойчивого генотипа *Q. robur* и идентификации маркерных генов был проведен транскриптомный анализ однолетних сеянцев. Количество необработанных парных ридов каждого образца варьируется от 29 803 008 до 42 248 310. Содержание GC в образцах составляло от 42 до 48 %, что типично для транскриптомов *Quercus spp.* [16, 23, 43]. Оценка качества Q30 полученных прочтений состави-

ла  $\geq 87,48$  %. Эта метрика считается эталоном качества в секвенировании нового поколения (NGS – next-generation sequencing) и логарифмически связана с вероятностью ошибки чтения или неоднозначности ([https://www.illumina.com/documents/products/technotes/technote\\_Q-Scores.pdf](https://www.illumina.com/documents/products/technotes/technote_Q-Scores.pdf)). Результаты картирования удовлетворительны и использовались для анализа дифференциальной экспрессии.

*Анализ дифференциальной экспрессии генов между контрольными образцами и образцами, подвергшимися засухе*

Опытные сеянцы засухоустойчивого генотипа *Q. robur* L. были подвергнуты двухмесячной засухе, имитирующей сухую и жаркую погоду второй половины лета в умеренном климатическом поясе. В ходе анализа дифференциальной экспрессии генов было идентифицировано 70 ДЭГ (42 с повышенной и 28 с пониженной экспрессией) при FDR (false discovery rate)  $< 0,05$ , из которых 36 генов (16 с повышенной и 20 с пониженной экспрессией) были значимыми при FDR  $< 0,01$  (рис. 1).

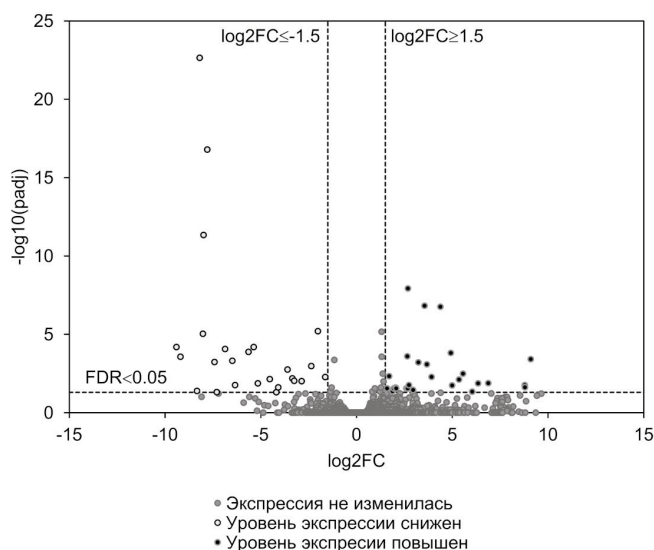


Рис. 1. Диаграмма типа «вулкан» для визуализации результатов анализа дифференциальной экспрессии для засухоустойчивого генотипа *Quercus robur* L. Белые и черные точки на диаграмме обозначают ДЭГ с пониженной и повышенной экспрессией, соответственно. Серые точки обозначают отсутствие дифференциальной экспрессии между образцами, подвергшимися засухе, и контрольными образцами. Отбор DEGs проводился при FDR  $< 0,05$  и  $|\log_2FC| \geq 1,5$

После фильтрации генов по условиям  $FDR < 0,05$  и  $|\log_2FC| \geq 1,5$ , количество ДЭГ было сокращено до 59 (34 с повышенным уровнем экспрессии и 25 со сниженным). Для

визуализации глубин картирования ридов между контрольными и засушливыми образцами была построена кластеризованная тепловая карта (рис. 2).

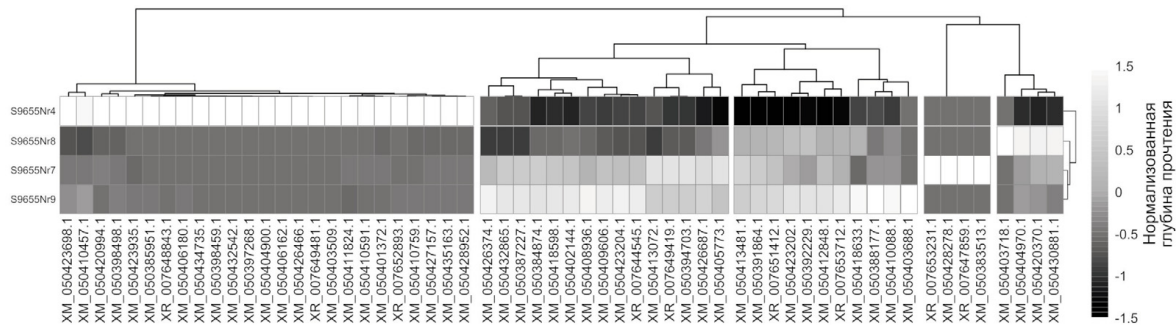


Рис. 2. Кластеризованная тепловая карта глубин картирования ДЭГ для засухоустойчивого генотипа *Quercus robur* L. Каждая строка тепловой карты представляет один образец, показывающий профиль экспрессии для каждого ДЭГ. Цвета на карте отображают нормализованную глубину прочтений. Кластеризация выполнялась методом k-средних

Среди ДЭГ с повышенным уровнем экспрессии шесть генов (XR\_007647859.1, XM\_050403688.1, XM\_050383513.1, XM\_050403718.1, XM\_050428278.1, XR\_007653231.1) являются артефактами, обусловленными их перепредставленностью лишь в одном образце, в то время как в двух других их экспрессия была сопоставима с контролем (см. рис. 2). Таким образом, общее количество достоверно определенных ДЭГ составило 53 (28 с повышенным уровнем экспрессии и 25 со сниженным). Ниже представлены ДЭГ, для которых значение  $-\log_{10}(padj) > 5$  (см. рис. 1), а также ДЭГ с максимально измененной экспрессией ( $\text{Log}_2FC < -8$  и  $\text{Log}_2FC > 6$  для генов с пониженной и повышенной экспрессией, соответственно) (табл.).

Среди наиболее достоверных ДЭГ с пониженной экспрессией интерес представляет фибрилларин-1-подобная 2'-О-метилтрансфераза рибосомной РНК (рРНК) (XM\_050397268.1) и CYP736A12-подобный цитохром P450 (XM\_050406162.1). Метилтрансферазы играют значительную роль в биогенезе рибосом у растений. Чаще всего они ассоциированы с фибриларином и катализируют метилирование рРНК по 2'-ОН группе рибозы. Данная

модификация придает рРНК структурную стабильность, защищает её от гидролиза и регулирует взаимодействия с другими молекулами РНК и белками [31]. Кроме того, данный процесс может динамически регулироваться в ответ на абиотические стрессы, потенциально защищая целостность рибосом и обеспечивая непрерывную трансляцию стресс-чувствительных белков [32]. Снижение экспрессии гена фибрилларин-1-подобной 2'-О-метилтрансферазы при засухе у засухоустойчивого генотипа *Q. robur* L., вероятно, отражает перестройку рибосомного биогенеза для обеспечения баланса между выживанием в неблагоприятных условиях и продуктивностью [8]. В свою очередь, CYP736A12-подобный цитохром P450 является многофункциональным белком, участвующим в различных процессах. В частности, у гибрида тополя *Populus alba* × *Populus glandulosa* св. наблюдалось ускорение процесса утилизации активных форм кислорода (АФК) вследствие активации гена *PagCYP736A12* под воздействием высокой концентрации соли [44]. Сверхэкспрессия гена *PgCYP736A12* из *Panax ginseng* в трансгенном *Arabidopsis thaliana* значительно увеличивала уровень экспрессии гена гиббереллин-2-оксидазы 1 и снижала экс-

прессию гена гиббереллин-20-оксидазы 2 [17], которые участвуют в биосинтезе дитерпеноидов, а именно гиббереллиновых кислот (ГК) (KEGG ec00904). ГК синтезируются во всех сосудистых растениях и играют важную роль в росте и развитии, а также повышают устойчивость к засухе и абиотическому стрессу [14]. Следует отметить, что у засухоустойчивого генотипа *Q. robur* L. также наблюдалось снижение экспрессии гена гиббереллин-2-оксидазы 1, называемого геном гиббереллин-2-бета-диоксигеназы 1 (XM\_050423698.1), что может быть косвенно ассоциировано со снижением экспрессии CYP736A12-подобного цитохрома

P450. Согласно пути биосинтеза дитерпеноидов, снижение экспрессии гена гиббереллин-2-бета-диоксигеназы может способствовать накоплению гиббереллиновой кислоты 3 (ГК<sub>3</sub>). Экзогенная ГК<sub>3</sub> в сочетании с метилжасмонатом значительно увеличивала содержание общего хлорофилла и растворимых углеводов и снижала содержание АФК и маломолекулярного диальдегида (МДА) у *Brassica napus* L., подвергнутого солевому стрессу [6]. Учитывая эти результаты, можно предположить, что у рассматриваемого засухоустойчивого генотипа *Q. robur* L. активируется механизм ГК<sub>3</sub>-опосредованного гомеостаза АФК.

Таблица

DEGs с максимально измененной экспрессией и наибольшей статистической достоверностью

ID	Продукт	Log2FC	padj	-log10(padj)
XM_050406162.1	CYP736A12-подобный цитохром P450	-8.19	2.25E-23	22.649
XM_050397268.1	Фибрилларин-1-подобная 2'-О-метилтрансфераза рРНК	-7.99	4.59E-12	11.338
XM_050404900.1	LOC126705727, мРНК	-7.80	1.61E-17	16.792
XM_050384874.1	LOC126689650, мРНК	2.69	1.18E-08	7.927
XM_050394703.1	sHPS18.1	3.55	1.50E-07	6.824
XM_050410088.1	Хлорофилл a/b-связывающий белок типа LHСII	4.38	1.74E-07	6.760
XR_007649481.1	LOC126709769, некодирующая РНК	-9.41	6.49E-05	4.188
XM_050403509.1	НАДФ(+)-зависимая 2-алкенальредуктаза	-9.20	0.0003	3.569
XM_050426466.1	At3g47200-подобный белок UPF0481 (vX1)	-8.33	0.04	1.386
XM_050398459.1	GST 23-подобная глутатионтрансфераза	-8.02	9.24E-06	5.035
XM_050404970.1	Митохондриальная АТФ-синтаза (субъединица 9)	6.35	0.0135	1.871
XM_050430881.1	Матураза К	6.88	0.0131	1.884
XM_050405773.1	LOC126706353, мРНК	8.79	0.017	1.760
XR_007653712.1	LOC126720860, некодирующая РНК	8.80	0.024	1.622
XM_050418633.1	71A1-подобный цитохром P450	9.10	0.0004	3.415

С другой стороны, экспрессия генов малого белка теплового шока (sHSP18.1 – small heat shock protein) с молекулярной массой 18,1 кДа (XM\_050394703.1) и хлорофилл а/б-связывающий белок типа ЛНСII 1 (XM\_050410088.1) повышена, что ожидается при воздействии абиотического стресса [37, 45]. sHSP18.1 предотвращают агрегацию денатурированных белков и способствуют их сворачиванию. Сверхэкспрессия CaHSP18.1a из *Capsicum annuum* L. в трансгенном *Arabidopsis* положительно влияла на содержание хлорофилла и активность антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы, каталазы и аскорбатпероксидазы), что вносило значительный вклад в уменьшение окислительного повреждения за счет нейтрализации активных форм кислорода (АФК) [25]. В свою очередь хлорофилл а/б-связывающие белки являются важнейшими компонентами светособирающего комплекса II (ЛНСII), который улавливает и переносит световую энергию для фотосинтеза. В условиях абиотического стресса эти белки помогают поддерживать эффективность фотосинтеза, защищают от окислительного повреждения и регулируют распределение энергии между фотосистемами [34, 48, 50].

Среди генов с наименьшим уровнем экспрессии следует выделить НАДФ(+)-зависимую 2-алкенальредуктазу (XM\_050403509.1) и GST 23-подобную глутатионтрансферазу (XM\_050398459.1) (см. табл.), которые принимают участие в реакции на окислительный стресс. В частности, сверхэкспрессия гена 2-алкенальредуктазы у трансгенной *Zea mays* в условиях длительного азотного голодания способствовала увеличению биомассы побегов и усвоению азота, влияя на активность нитратредуктазы и скорость фотосинтеза, а также снижала содержание АФК, смягчая окислительный стресс [46]. В свою очередь, повышенная экспрессия гена глутатионтрансферазы GST 23 (*GmGSTU23*) из *Glycine max* L. в трансгенном *A. thaliana* в условиях высокой концентрации соли снизила содер-

жание малонового диальдегида (МДА) и увеличила уровень экспрессии генов пероксидазы (POD), супероксиддисмутазы (SOD) и каталазы (CAT) [22].

Роль At3g47200-подобного белка UPF0481 в настоящее время неясна. Транскриптомный анализ каллусов *Eucalyptus camaldulensis* и *Eucalyptus grandis* × *E. urophylla* показал, что уровень экспрессии гена At3g47200-подобного белка UPF0481 на всех стадиях развития каллусной массы (от первичного до зрелого и стареющего) возрастал [52]. При этом на стадии регенерации побегов экспрессия данного гена снижалась. В то же время у шестимесячных сеянцев холодоустойчивой *Hevea brasiliensis*, характеризующихся низкой скоростью утечки электролитов, высокой скоростью фотосинтеза и высокой устьичной проводимостью на ранних стадиях холодового воздействия, наблюдалась сверхэкспрессия гена At3g47200-подобного белка UPF0481 в первые 12 часов [4, 29]. Таким образом, можно предположить, что подавление гена At3g47200-подобного белка UPF0481 в засухоустойчивом генотипе *Q. robur* L. может способствовать росту и развитию молодых побегов, а также влиять на движение устьиц в условиях засухи.

Следует отметить, что неохарактеризованные LOC126709769 и LOC126720860 представляют собой некодирующие РНК (см. табл. 1). Длинные и короткие некодирующие РНК (lncRNA – long non-coding RNA – и sncRNA) играют важную роль в устойчивости растений к засухе [10]. LncRNA модулируют экспрессию генов, главным образом посредством регуляции транскрипции и подавления активности генов, в то время как sncRNA (малые интерферирующие и микроРНК) влияют как на транскрипционную, так и на посттранскрипционную регуляцию генов.

Таким образом, рассмотренные гены могут служить молекулярными маркерами в селекционных программах. Для определения свойств, обуславливающих засухоустойчивость рассматриваемого генотипа *Q. robur* L.

был выполнен анализ обогащения по функциональной принадлежности ДЭГ.

#### Анализ функциональной принадлежности ДЭГ

Анализ обогащения Gene Ontology (GO-анализ) является широко используемым методом функциональной характеристики набора генов. Он выявляет GO-термины, кото-

рые статистически значимо чаще встречаются в целевом наборе генов. Это позволяет определить биологические процессы, молекулярные функции и компоненты клетки, статистически значимо определяемые в эксперименте.

В ходе GO-анализа ДЭГ для засухоустойчивого генотипа *Q. robur* L. было определено, что 20 GO-терминов и путей KEGG были значимо обогащены (рис. 3).

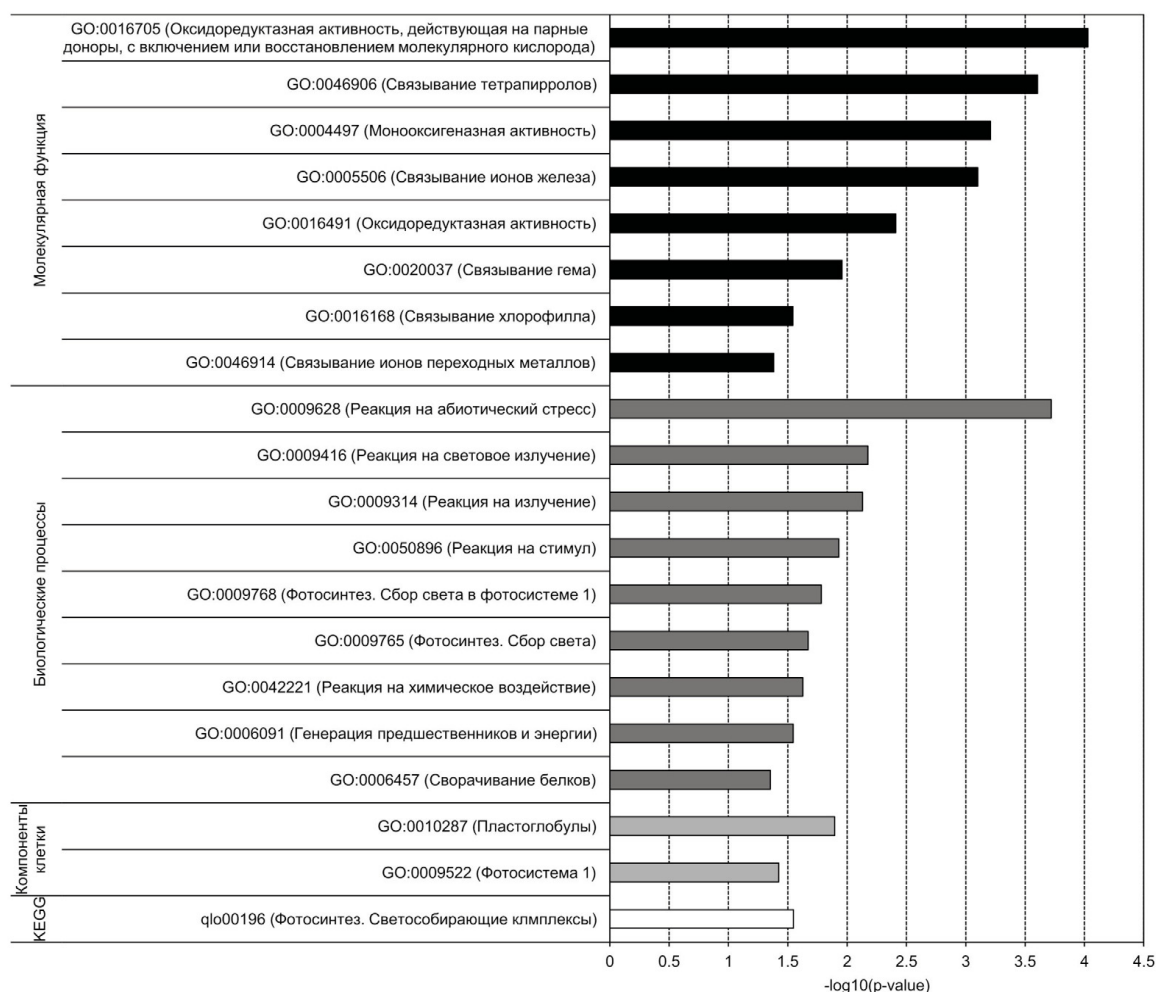


Рис. 3. Значимые GO-термины и метаболические пути (KEGG) для ДЭГ засухоустойчивого генотипа *Q. robur* L. Вероятность того, что конкретный путь действительно обогащен во входном наборе генов определяется p-value. Для приведенных GO-терминов p-value  $\leq 0,05$

Согласно полученным результатам, статистически значимые GO-термины в категории биологических процессов в основном были связаны с реакцией на внешнее воздействие (реак-

ция на химическое воздействие (GO:0042221), реакция на стимул (GO:0050896), реакция на излучение (GO:0009314), реакция на световое излучение (GO:0009416) и реакция на абиотиче-

ский стресс (GO:0009628)) и фотосинтезом (GO:0009765 и GO:0009768). С фотосинтезом также были ассоциированы метаболический путь (qlo00196) и GO-термины из категорий молекулярной функции (связывание тетрапиррола (GO:0046906), связывание ионов железа (GO:0005506), связывание хлорофилла (GO:0016168), связывание гемма (GO:0020037)) и компонентов клетки (пластоглобулы (GO:0010287) и фотосистема I (GO:0009522)). Другие статистически значимые GO-термины из категории молекулярной функции были связаны с оксидоредуктазной активностью (оксидоредуктазная активность, действующая на парных донорах, с включением или восстановлением молекулярного кислорода (GO:0016705), монооксигеназная активность (GO:0004497) и оксидоредуктазная активность (GO:0016491)).

Следует также отметить, что гены хлорофилл a-b-связывающего белка 5 (XM\_050391864.1) и хлорофилл a/b-связывающего белка типа LHCP 1 (XM\_050410088.1) с повышенной экспрессией были отнесены к наибольшему количеству GO-терминов, что указывает на их критическую важность в реакции на стресс, вызванный засухой. Кроме того, четыре ДЭГ, относящиеся к суперсемейству генов цитохрома P450, характеризовались большим количеством GO-терминов. Уровень экспрессии двух из них был снижен (CYP82D47-подобный цитохром P450 (XM\_050401372.1), CYP736A12-подобный цитохром P450 (XM\_050406162.1)), в то время как экспрессия двух других (71A1-подобный цитохром P450 (XM\_050418633.1), 71AU50-подобный цитохром P450 (XM\_050426687.1)) была повышена. Данная особенность может указывать на оптимизацию каталитической активности в условиях стресса. Ген гиббереллин-2-бета-диоксигеназы 1 (XM\_050423698.1), упомянутый ранее, также вовлечен во множество процессов, среди которых

реакция на различные стимулы и оксидоредуктазную активность.

Таким образом, можно сделать вывод, что засухоустойчивость рассматриваемого генотипа *Q. robur* L. обусловлена изменением в работе систем фотосинтеза и ответа на внешние стимулы.

### Заключение

В ходе транскриптомного анализа для выявления механизмов устойчивости к водному дефициту у засухоустойчивого генотипа дуба черешчатого *Q. robur* L. было обнаружено 53 ДЭГ (28 с повышенным уровнем экспрессии и 25 с пониженным). ДЭГ с наибольшим уровнем экспрессии (АТФ-синтаза субъединица 9, матураза K, 71A1-подобный цитохром P450) принимают участие в клеточном дыхании, утилизации АФК, сплайсинге и реакции на воздействие высоких концентраций солей. С другой стороны, ДЭГ с пониженной экспрессией (НАДФ(+)-зависимая 2-алкенаальредуктаза, At3g47200-подобный URF0481 (X1), CYP736A12-подобный цитохром P450, GST23-подобная глутатионтрансфераза, фибрилларин-1-подобная 2'-О-метилтрансфераза рРНК) также участвуют в утилизации АФК, развитии каллуса, движении устьиц, биосинтезе фитогормонов и биогенезе рибосом. Данные гены могут быть использованы как маркерные гены, изменяющие уровень экспрессии в условиях засухи. Анализ GO-обогащения показал, что устойчивость к водному дефициту у рассматриваемого генотипа дуба обусловлена изменениями в фотосинтезе, оксидоредуктазной активности и системах ответа на абиотический стресс.

*Исследования выполнены при финансовой поддержке Российского научного фонда (Соглашение № 22-64-00036).*

### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Allen, C.D. A global overview of drought and heat-induced tree mortality reveals emerging climate change risks for forests / C.D. Allen, A.K. Macalady, H. Chenchouni [et al.] // *Forest Ecology and Management*. – 2010. – Vol. 259. – No. 4. – P. 660–684.

2. Andrews, S. FastQC a quality control tool for high throughput sequence data [Электронный ресурс] / S. Andrews. – URL: <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/> (дата обращения: 26.04.2023).
3. Bolger, A.M. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data / A.M. Bolger, M. Lohse, B. Usadel // *Bioinformatics* (Oxford, England). – 2014. – Vol. 30, no. 15. – P. 2114–2120.
4. Campos Mantello, C. Deep expression analysis reveals distinct cold-response strategies in rubber tree (*Hevea brasiliensis*) / C. Campos Mantello, L. Boatwright [et al.] // *BMC Genomics*. – 2019. – Vol. 20, no. 1. – P. 455.
5. Contran, N. Physiological and biochemical responses of *Quercus pubescens* to air warming and drought on acidic and calcareous soils / N. Contran, M.S. Günthardt-Goerg, T.M. Kuster [et al.] // *Plant Biology* (Stuttgart, Germany). – 2013. – Vol. 15, suppl. 1. – P. 157–168.
6. Danish, S. Effect of methyl jasmonate and GA3 on canola (*Brassica napus* L.) growth, antioxidants activity, and nutrient concentration cultivated in salt-affected soils / S. Danish, S. Sana, M.B. Hussain [et al.] // *BMC Plant Biology*. – 2024. – Vol. 24. – P. 363.
7. Denk, T. An updated infrageneric classification of the oaks: Review of previous taxonomic schemes and synthesis of evolutionary patterns / T. Denk, G.W. Grimm, P.S. Manos [et al.]. – Cham: Springer International Publishing, 2017. – P. 13–38.
8. Dias-Fields, L. Engineering ribosomes to alleviate abiotic stress in plants: A perspective / L. Dias-Fields, K.P. Adamala // *Plants*. – 2022. – Vol. 11, no. 16. – P. 2097.
9. Escandón, M. Molecular research on stress responses in *Quercus* spp.: From classical biochemistry to systems biology through omics analysis / M. Escandón, M.Á. Castillejo, J.V. Jorrín-Novo, M.-D. Rey // *Forests*. – 2021. – Vol. 12, no. 3. – P. 364.
10. Gelaw, T.A. Non-coding RNAs in response to drought stress / T.A. Gelaw, N. Sanan-Mishra // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – Vol. 22, no. 22. – P. 12519.
11. Gouvenain, R.C. de. Temperate forests / R.C. de Gouvenain, J.A. Silander // Elsevier. – 2017. – P. 112–127.
12. Grodetskaya, T. Optimized method for RNA extraction from leaves of forest tree species / T. Grodetskaya, O. Fedorova, P. Evlakov. – Voronezh : IOP Publishing, 2021. – P. 012008.
13. Gugger, P.F. Whole-transcriptome response to water stress in a California endemic oak, *Quercus lobata* / P.F. Gugger, J.M. Peñaloza-Ramírez, J.W. Wright, V.L. Sork // *Tree Physiology*. – 2017. – Vol. 37, no. 5. – P. 632–644.
14. Hedden, P. The current status of research on gibberellin biosynthesis / P. Hedden // *Plant & Cell Physiology*. – 2020. – Vol. 61, no. 11. – P. 1832–1849.
15. Huang, X. Physiological and transcriptomic analyses reveal the regulatory mechanisms for the adaptation of *Quercus robur* to shade conditions / X. Huang, Q. Hu, M. Dou [et al.] // *BMC plant biology*. – 2025. – Vol. 25, no. 1. – P. 821.
16. Joudaki, F. Transcriptome analysis of gall oak (*Quercus infectoria*): *De novo* assembly, functional annotation and metabolic pathways analysis / F. Joudaki, A. Ismaili, S.S. Sohrabi [et al.] // *Genomics*. – 2023. – Vol. 115, no. 2. – P. 110588.
17. Khanom, S. Overexpression of ginseng cytochrome P450 CYP736A12 alters plant growth and confers phenylurea herbicide tolerance in *Arabidopsis* / S. Khanom, J. Jang, O. R. Lee // *Journal of Ginseng Research*. – 2019. – Vol. 43, no. 4. – P. 645.
18. Kim, D. HISAT: a fast spliced aligner with low memory requirements / D. Kim, B. Langmead, S.L. Salzberg // *Nature Methods*. – 2015. – Vol. 12, no. 4. – P. 357–360.
19. Kościelniak, P. Comparative RNA sequencing-based transcriptome profiling of *Quercus robur*: specific sets of genes involved in taproot and lateral roots emergence / P. Kościelniak, P. Glazińska, A. Bagniewska-Zadworna [et al.] // *Tree Physiology*. – 2025. – Vol. 45, no. 6. – P. tpaf067.

20. Krutovsky, K.V. Response of pedunculate oak (*Quercus robur* L.) to adverse environmental conditions in genetic and dendrochronological studies / K.V. Krutovsky, A.A. Popova, I.A. Yakovlev [et al.] // *Plants* (Basel, Switzerland). – 2025. – Vol. 14, no. 1. – P. 109.
21. Le Provost, G. Gene expression and genetic divergence in oak species highlight adaptive genes to soil water constraints / G. Le Provost, B. Brachi, I. Lesur [et al.] // *Plant Physiology*. – 2022. – Vol. 190, no. 4. – P. 2466–2483.
22. Li, X. *GmGSTU23* encoding a tau class glutathione S-transferase protein enhances the salt tolerance of soybean (*Glycine max* L.) / X. Li, Y. Pang, Y. Zhong [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 24, no. 6. – P. 5547.
23. Li, X. Growth, physiological, and transcriptome analyses reveal mongolian oak seedling responses to shading / X. Li, M. Jiang, Y. Ren [et al.] // *Forests*. – 2024. – Vol. 15, no. 3. – P. 538.
24. Liao, Y. featureCounts: an efficient general purpose program for assigning sequence reads to genomic features / Y. Liao, G.K. Smyth, W. Shi // *Bioinformatics*. – 2014. – Vol. 7, no. 5. – P. 923–930.
25. Liu, Y.-L. CaHSP18.1a, a small heat shock protein from pepper (*Capsicum annuum* L.), positively responds to heat, drought, and salt tolerance / Y.-L. Liu, S. Liu, J.-J. Xiao [et al.] // *Horticulturae*. – 2021. – Vol. 7, no. 5. – P. 117.
26. Love, M.I. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2 / M.I. Love, W. Huber, S. Anders // *Genome Biology*. – 2014. – Vol. 15, no. 12. – P. 550.
27. Macháčová, M. Oak decline caused by biotic and abiotic factors in central Europe: a case study from the Czech Republic / M. Macháčová, O. Nakládal, M. Samek [et al.] // *Forests*. – 2022. – Vol. 13, no. 8. – P. 1223.
28. Madritsch, S. Elucidating drought stress tolerance in european oaks through cross-species transcriptomics / S. Madritsch, E. Wischnitzki, P. Kotrade [et al.] // *G3: Genes|Genomes|Genetics*. – 2019. – Vol. 9, no. 10. – P. 3181–3199.
29. Mai, J. Contrasting strategies to cope with chilling stress among clones of a tropical tree, *Hevea brasiliensis* / J. Mai, S. Herbette, M. Vandame [et al.] // *Tree Physiology*. – 2010. – Vol. 30, no. 11. – P. 1391–1402.
30. Mölder, A. Success factors for high-quality oak forest (*Quercus robur*, *Q. petraea*) regeneration / A. Mölder, H. Sennhenn-Reulen, C. Fischer [et al.] // *Forest Ecosystems*. – 2019. – Vol. 6, no. 1. – P. 49.
31. Neumann, S.A. Plant ribosomes as a score to fathom the melody of 2'-O-methylation across evolution / S.A. Neumann, C. Gaspin, J. Sáez-Vásquez // *RNA Biology*. – 2024. – Vol. 21, no. 1. – P. 70–81.
32. Pandey, A. Genome-wide identification of the fibrillin gene family in chickpea (*Cicer arietinum* L.) and its response to drought stress / A. Pandey, P. Sharma, D. Mishra [et al.] // *International Journal of Biological Macromolecules*. – 2023. – Vol. 234. – P. 123757.
33. Peñuelas, J. Linking photorespiration, monoterpenes and thermotolerance in *Quercus* / J. Peñuelas, J. Llusà // *New Phytologist*. – 2002. – Vol. 155, no. 2. – P. 227–237.
34. Raza, A. Harnessing light-harvesting chlorophyll a/b-binding proteins for multiple abiotic stress tolerance in *Chlamydomonas reinhardtii*: Insights from genomic and physiological analysis / A. Raza, Y. Li, H.M. Rizwan [et al.] // *Physiologia Plantarum*. – 2024. – Vol. 176, no. 6. – P. e14653.
35. Sherman, B. T. DAVID: A web server for functional enrichment analysis and functional annotation of gene lists (2021 update) / B.T. Sherman, M. Hao, J. Qiu [et al.] // *Nucleic Acids Research*. – 2022. – Vol. 50, no. W1. – P. W216–W221.
36. Sperlich, D. Seasonal variability of foliar photosynthetic and morphological traits and drought impacts in a Mediterranean mixed forest / D. Sperlich, C.T. Chang, J. Peñuelas [et al.] // *Tree Physiology*. – 2015. – Vol. 35, no. 5. – P. 501–520.
37. Sun, W. Small heat shock proteins and stress tolerance in plants / W. Sun, M. Van Montagu, N. Verbruggen // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Gene Structure and Expression*. – 2002. – Vol. 1577, no. 1. – P. 1–9.

38. The Galaxy platform for accessible, reproducible and collaborative biomedical analyses: 2022 update // *Nucleic Acids Research*. – 2022. – Vol. 50, no. W1. – P. W345–W351.
39. Tikhomirova, T.S. Molecular traits for adaptation to drought and salt stress in birch, oak and poplar species / T.S. Tikhomirova, K.V. Krutovsky, K.A. Shestibratov // *Forests*. – 2023. – Vol. 14, no. 1. – P. 7.
40. Trudić, B. Expression profiles of 11 candidate genes involved in drought tolerance of pedunculate oak (*Quercus robur* L.). Possibilities for genetic monitoring of the species / B. Trudić, G. Draškić, G. Le Provost [et al.] // *Silvae Genetica*. – 2021. – Vol. 70, no. 1. – P. 226–234.
41. Vieitez, A.M. Application of biotechnological tools to *Quercus* improvement / A.M. Vieitez, E. Corredoira, M.T. Martínez [et al.] // *European Journal of Forest Research*. – 2012. – Vol. 131, no. 3. – P. 519–539.
42. Walter, W. GOrplot: an R package for visually combining expression data with functional analysis / W. Walter, F. Sánchez-Cabo, M. Ricote // *Bioinformatics (Oxford, England)*. – 2015. – Vol. 31, no. 17. – P. 2912–2914.
43. Wang, G. Transcriptome sequencing and drought resistance gene annotation in *Quercus liaotungensis* leaves / G. Wang, L. Qin // *Acta Physiologiae Plantarum*. – 2021. – Vol. 43, no. 8. – P. 120.
44. Wang, L. PagWOX11/12a activates *PagCYP736A12* gene that facilitates salt tolerance in poplar / L. Wang, S. Wen, R. Wang [et al.] // *Plant Biotechnology Journal*. – 2021. – Vol. 19, no. 11. – P. 2249–2260.
45. Wang, L. Identification of the light-harvesting chlorophyll a/b binding protein gene family in peach (*Prunus persica* L.) and their expression under drought stress / L. Wang, J. Wei, X. Shi [et al.] // *Genes*. – 2023. – Vol. 14, no. 7. – P. 1475.
46. Wang, Y. Up-regulated 2-alkenal reductase expression improves low-nitrogen tolerance in maize by alleviating oxidative stress / Y. Wang, Y. Zhao, S. Wang [et al.] // *Plant, Cell & Environment*. – 2021. – № 44. – P. 559–573.
47. Wilhelm, E. Somatic embryogenesis in oak (*Quercus* spp.) / E. Wilhelm // *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. – 2000. – Vol. 36, no. 5. – P. 349–357.
48. Wu, R. Genome-wide identification of the light-harvesting chlorophyll a/b binding protein gene family in *Pyrus bretschneideri* and their transcriptomic features under drought stress / R. Wu, K. Ran, S. Zhao, F. Cheng // *Horticulturae*. – 2023. – Vol. 9, no. 5. – P. 522.
49. Xu, Z. Plant responses to drought and rewatering / Z. Xu, G. Zhou, H. Shimizu // *Plant Signaling & Behavior*. – 2010. – Vol. 5, no. 6. – P. 649–654.
50. Zhang, H. BcLhcb2.1, a light-harvesting chlorophyll a/b-binding protein from Wucai, plays a positive regulatory role in the response to abiotic stress / H. Zhang, Y. Wang, X. Song [et al.] // *Scientia Horticulturae*. – 2025. – Vol. 339. – P. 113759.
51. Zhang, J. Genome-wide identification and expression analysis of glycosyltransferase gene family 1 in *Quercus robur* L. / J. Zhang, L.-M. Lin, W.-W. Cheng [et al.] // *Journal of Applied Genetics*. – 2021. – Vol. 62, no. 4. – P. 559–570.
52. Zhang, Y. Gene expression programs during callus development in tissue culture of two *Eucalyptus* species / Y. Zhang, J. Li, C. Li [et al.] // *BMC Plant Biology*. – 2022. – Vol. 22, no. 1. – P. 1.

## REFERENCES

1. Allen C.D., Macalady A.K., Chenchouni H., Bachelet D., McDowell N., Vennetier M., Kitzberger T., Rigling A., Breshears D.D., Hogg E.H. (Ted), Gonzalez P., Fensham R., Zhang Z., Castro J., Demidova N., Lim J.-H., Allard G., Running S.W., Semerci A., Cobb N. A global overview of drought and heat-induced tree mortality reveals emerging climate change risks for forests. *Forest Ecology and Management*, 2010, vol. 259, no. 4, pp. 660–684.

2. Andrews S. FastQC a quality control tool for high throughput sequence data. 2023. URL: <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/> (accessed: 26.04.2023).
3. Bolger A.M., Lohse M., Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 2014, vol. 30, no. 15, pp. 2114–2120.
4. Campos Mantello C., Boatwright L., da Silva C.C., Scaloppi E.J., de Souza Goncalves P., Barbazuk W.B., Pereira de Souza A. Deep expression analysis reveals distinct cold-response strategies in rubber tree (*Hevea brasiliensis*). *BMC Genomics*, 2019, vol. 20, no. 1, p. 455.
5. Contran N., Günthardt-Goerg M.S., Kuster T.M., Cerana R., Crosti P., Paoletti E. Physiological and biochemical responses of *Quercus pubescens* to air warming and drought on acidic and calcareous soils. *Plant Biology (Stuttgart, Germany)*, 2013, vol. 15, suppl. 1, pp. 157–168.
6. Danish S., Sana S., Hussain M.B., Dawar K., Almoallim H.S., Ansari M.J., Hareem M., Datta R. Effect of methyl jasmonate and GA<sub>3</sub> on canola (*Brassica napus* L.) growth, antioxidants activity, and nutrient concentration cultivated in salt-affected soils. *BMC Plant Biology*, 2024, vol. 24, p. 363.
7. Denk T., Grimm G.W., Manos P.S., Deng M., Hipp A.L. An updated infrageneric classification of the oaks: Review of previous taxonomic schemes and synthesis of evolutionary patterns. Cham, Springer International Publishing, 2017, pp. 13–38.
8. Dias-Fields L., Adamala K.P. Engineering ribosomes to alleviate abiotic stress in plants: A perspective. *Plants*, 2022, vol. 11, no. 16, p. 2097.
9. Escandón M., Castillejo M.Á., Jorrín-Novo J.V., Rey M.-D. Molecular research on stress responses in *Quercus* spp.: From classical biochemistry to systems biology through omics analysis. *Forests*, 2021, vol. 12, no. 3, p. 364.
10. Gelaw T.A., Sanan-Mishra N. Non-coding RNAs in response to drought stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, vol. 22, no. 22, p. 12519.
11. de Gouvenain R.C., Silander J.A. Temperate forests. *Elsevier*, 2017. P. 112–127.
12. Grodet'skaya T., Fedorova O., Evlakov P. Optimized method for RNA extraction from leaves of forest tree species. Voronezh, IOP Publishing, 2021, p. 012008.
13. Gugger P.F., Peñaloza-Ramírez J.M., Wright J.W., Sork V.L. Whole-transcriptome response to water stress in a California endemic oak, *Quercus lobata*. *Tree Physiology*, 2017, vol. 37, no. 5, pp. 632–644.
14. Hedden P. The current status of research on gibberellin biosynthesis. *Plant & Cell Physiology*, 2020, vol. 61, no. 11, pp. 1832–1849.
15. Huang X., Hu Q., Dou M., Liu C., Fan J., Liu J., Zhu P. Physiological and transcriptomic analyses reveal the regulatory mechanisms for the adaptation of *Quercus robur* to shade conditions. *BMC plant biology*, 2025, vol. 25, no. 1, p. 821.
16. Joudaki F., Ismaili A., Sohrabi S.S., Hosseini S.Z., Kahrizi D., Ahmadi H. Transcriptome analysis of gall oak (*Quercus infectoria*): *De novo* assembly, functional annotation and metabolic pathways analysis. *Genomics*, 2023, vol. 115, no. 2, p. 110588.
17. Khanom S., Jang J., Lee O.R. Overexpression of ginseng cytochrome P450 CYP736A12 alters plant growth and confers phenylurea herbicide tolerance in Arabidopsis. *Journal of Ginseng Research*, 2019, vol. 43, no. 4, p. 645.
18. Kim D., Langmead B., Salzberg S.L. HISAT: a fast spliced aligner with low memory requirements. *Nature Methods*, 2015, vol. 12, no. 4, pp. 357–360.
19. Kościelniak P., Glazińska P., Bagniewska-Zadworna A., Mucha J., Zadworny M. Comparative RNA sequencing-based transcriptome profiling of *Quercus robur*: specific sets of genes involved in taproot and lateral roots emergence. *Tree Physiology*, 2025, vol. 45, no. 6, p. tpa067.

20. Krutovsky K.V., Popova A.A., Yakovlev I.A., Yanbaev Y.A., Matveev S.M. Response of pedunculate oak (*Quercus robur* L.) to adverse environmental conditions in genetic and dendrochronological studies. *Plants (Basel, Switzerland)*, 2025, vol. 14, no. 1, p. 109.
21. Le Provost G., Brachi B., Lesur I., Lalanne C., Labadie K., Aury J.-M., Da Silva C., Postolache D., Leroy T., Plomion C. Gene expression and genetic divergence in oak species highlight adaptive genes to soil water constraints. *Plant Physiology*, 2022, vol. 190, no. 4, pp. 2466–2483.
22. Li X., Pang Y., Zhong Y., Cai Z., Ma Q., Wen K., Nian H. GmGSTU23 encoding a tau class glutathione S-transferase protein enhances the salt tolerance of soybean (*Glycine max* L.). *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, vol. 24, no. 6, p. 5547.
23. Li X., Jiang M., Ren Y., Pang J., Ren J., Li G., Yuan Y., Xing X., Zhou M., Wang J., Yang M. Growth, physiological, and transcriptome analyses reveal mongolian oak seedling responses to shading. *Forests*, 2024, vol. 15, no. 3, p. 538.
24. Liao Y., Smyth G.K., Shi W. featureCounts: an efficient general purpose program for assigning sequence reads to genomic features. *Bioinformatics*, 2014, vol. 30, no. 7, pp. 923–930.
25. Liu Y.-L., Liu S., Xiao J.-J., Cheng G.-X., Ul H.S., Gong Z.-H. CaHSP18.1a, a small heat shock protein from pepper (*Capsicum annuum* L.), positively responds to heat, drought, and salt tolerance. *Horticulturae*, 2021, vol. 7, no. 5, p. 117.
26. Love M.I., Huber W., Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biology*, 2014, vol. 15, no. 12, p. 550.
27. Macháčová M., Nakládal O., Samek M., Bařa D., Zumr V., Peřková V. Oak decline caused by biotic and abiotic factors in central Europe: a case study from the Czech Republic. *Forests*, 2022, vol. 13, no. 8, p. 1223.
28. Madritsch S., Wischnitzki E., Kotrade P., Ashoub A., Burg A., Fluch S., Brüggemann W., Sehr E.M. Elucidating drought stress tolerance in european oaks through cross-species transcriptomics. *G3: Genes|Genomes|Genetics*, 2019, vol. 9, no. 10, pp. 3181–3199.
29. Mai J., Herbette S., Vandame M., Cavaloc E., Julien J.-L., Ameglio T., Roeckel-Drevet P., Oren R. Contrasting strategies to cope with chilling stress among clones of a tropical tree, *Hevea brasiliensis*. *Tree Physiology*, 2010, vol. 30, no. 11, pp. 1391–1402.
30. Mölder A., Sennhenn-Reulen H., Fischer C., Rumpf H., Schönfelder E., Stockmann J., Nagel R.-V. Success factors for high-quality oak forest (*Quercus robur*, *Q. petraea*) regeneration. *Forest Ecosystems*, 2019, vol. 6, no. 1, p. 49.
31. Neumann S.A., Gaspin C., Sáez-Vásquez J. Plant ribosomes as a score to fathom the melody of 2'-O-methylation across evolution. *RNA Biology*, 2024, vol. 21, no. 1, pp. 70–81.
32. Pandey A., Sharma P., Mishra D., Dey S., Malviya R., Gayen D. Genome-wide identification of the fibrillin gene family in chickpea (*Cicer arietinum* L.) and its response to drought stress. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, vol. 234, p. 123757.
33. Peñuelas J., Llusià J. Linking photorespiration, monoterpenes and thermotolerance in *Quercus*. *New Phytologist*, 2002, vol. 155, no. 2, pp. 227–237.
34. Raza A., Li Y., Rizwan H.M., Khan A., Peng Y., Guo C., Hu Z. Harnessing light-harvesting chlorophyll a/b-binding proteins for multiple abiotic stress tolerance in *Chlamydomonas reinhardtii*: Insights from genomic and physiological analysis. *Physiologia Plantarum*, 2024, vol. 176, no. 6, p. e14653.
35. Sherman B.T., Hao M., Qiu J., Jiao X., Baseler M.W., Lane H.C., Imamichi T., Chang W. DAVID: A web server for functional enrichment analysis and functional annotation of gene lists (2021 update). *Nucleic Acids Research*, 2022, vol. 50, no. W1, pp. W216–W221.
36. Sperlich D., Chang C.T., Peñuelas J., Gracia C., Sabaté S. Seasonal variability of foliar photosynthetic and morphological traits and drought impacts in a Mediterranean mixed forest. *Tree Physiology*, 2015, vol. 35, no. 5, pp. 501–520.

37. Sun W., Van Montagu M., Verbruggen N. Small heat shock proteins and stress tolerance in plants. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Gene Structure and Expression*, 2002, vol. 1577, no. 1, pp. 1–9.
38. The Galaxy platform for accessible, reproducible and collaborative biomedical analyses: 2022 update. *Nucleic Acids Research*, 2022, vol. 50, no. W1, pp. W345–W351.
39. Tikhomirova T.S., Krutovsky K.V., Shestibratov K.A. Molecular traits for adaptation to drought and salt stress in birch, oak and poplar species. *Forests*, 2023, vol. 14, no. 1, p. 7.
40. Trudić B., Draškić G., Provost G.L., Stojnić S., Pilipović A., Ivezić A. Expression profiles of 11 candidate genes involved in drought tolerance of pedunculate oak (*Quercus robur* L.). Possibilities for genetic monitoring of the species. *Silvae Genetica*, 2021, vol. 70, no. 1, pp. 226–234.
41. Vieitez A.M., Corredoira E., Martínez M.T., San-José M.C., Sánchez C., Valladares S., Vidal N., Ballester A. Application of biotechnological tools to *Quercus* improvement. *European Journal of Forest Research*, 2012, vol. 131, no. 3, pp. 519–539.
42. Walter W., Sánchez-Cabo F., Ricote M. GOplot: an R package for visually combining expression data with functional analysis. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 2015, vol. 31, no. 17, pp. 2912–2914.
43. Wang G., Qin L. Transcriptome sequencing and drought resistance gene annotation in *Quercus liaotungensis* leaves. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2021, vol. 43, no. 8, p. 120.
44. Wang L., Wen S., Wang R., Wang C., Gao B., Lu M. *PagWOX11/12a* activates *PagCYP736A12* gene that facilitates salt tolerance in poplar. *Plant Biotechnology Journal*, 2021, Vol. 19, no. 11, pp. 2249–2260.
45. Wang L., Wei J., Shi X., Qian W., Mehmood J., Yin Y., Jia H. Identification of the light-harvesting chlorophyll a/b binding protein gene family in peach (*Prunus persica* L.) and their expression under drought stress. *Genes*, 2023, vol. 14, no. 7, p. 1475.
46. Wang Y., Zhao Y., Wang S., Liu J., Wang X., Han Y., Liu F. Up-regulated 2-alkenal reductase expression improves low-nitrogen tolerance in maize by alleviating oxidative stress. *Plant, Cell & Environment*, 2021, vol. 44, no. 2, pp. 559–573.
47. Wilhelm E. Somatic embryogenesis in oak (*Quercus* spp.). *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, 2000, vol. 36, no. 5, pp. 349–357.
48. Wu R., Ran K., Zhao S., Cheng F. Genome-wide identification of the light-harvesting chlorophyll a/b binding protein gene family in *Pyrus bretschneideri* and their transcriptomic features under drought stress. *Horticulturae*, 2023, vol. 9, no. 5, p. 522.
49. Xu Z., Zhou G., Shimizu H. Plant responses to drought and rewatering. *Plant Signaling & Behavior*, 2010, vol. 5, no. 6, pp. 649–654.
50. Zhang H., Wang Y., Song X., Yang Y., Li Y., Zhu Z., Hou J., Wang W., Wu J., Chen G., Tang X., Yuan L., Wang C. BeLhcb2.1, a light-harvesting chlorophyll a/b-binding protein from Wucai, plays a positive regulatory role in the response to abiotic stress. *Scientia Horticulturae*, 2025, vol. 339, p. 113759.
51. Zhang J., Lin L.-M., Cheng W.-W., Song X., Long Y.-H., Xing Z.-B. Genome-wide identification and expression analysis of glycosyltransferase gene family 1 in *Quercus robur* L. *Journal of Applied Genetics*, 2021, vol. 62, no. 4, pp. 559–570.
52. Zhang Y., Li J., Li C., Chen S., Tang Q., Xiao Y., Zhong L., Chen Y., Chen B. Gene expression programs during callus development in tissue culture of two *Eucalyptus* species. *BMC Plant Biology*, 2022, vol. 22, no. 1, p. 1.