

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 577.218
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2024-69-2-143-152>

Поступила в редакцию 27.07.2023
Received 27.07.2023

П. В. Кузмицкая, Е. С. Королева, О. Ю. Урбанович

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ПРОФИЛИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ СТРЕСС-АССОЦИИРОВАННЫЕ БЕЛКИ ЯБЛОНИ

Аннотация. Стресс-ассоциированные белки (SAP, stress-associated proteins) принимают участие в формировании у растений ответа на действие неблагоприятных биотических и абиотических факторов. В представленной работе с помощью количественной ПЦР (qPCR) проведена оценка профилей экспрессии 14 генов яблони, кодирующих SAP (MdSAP), при воздействии низких и высоких температур, а также засоления. Показано, что наиболее значимое изменение уровней экспрессии наблюдалось при воздействии повышенной температуры (гены *MdSAP11*, *MdSAP2*, *MdSAP3*), в условиях пониженной температуры (*MdSAP1*, *MdSAP2*, *MdSAP4*, *MdSAP6*) и при воздействии раствора соли (*MdSAP1*, *MdSAP8*, *MdSAP11*). При этом наблюдалась тенденция к повышению экспрессии генов ко 2-му и/или 4-му часу воздействия с последующим ее снижением к 24-му часу. Анализ корреляции уровней экспрессии генов *MdSAP* в стрессовых условиях показал, что для них характерны как положительные, так и отрицательные линейные связи.

Полученные результаты позволяют уточнить роль отдельных генов, кодирующих SAP, в формировании стрессового ответа яблони на воздействие низких и высоких температур, а также засоления.

Ключевые слова: SAP, *Malus*, экспрессия, qPCR, температурный стресс, засоление

Для цитирования: Кузмицкая, П. В. Влияние некоторых абиотических факторов на профили экспрессии генов, кодирующих стресс-ассоциированные белки яблони / П. В. Кузмицкая, Е. С. Королева, О. Ю. Урбанович // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2024. – Т. 69, № 2. – С. 143–152. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2024-69-2-143-152>

Polina V. Kuzmitskaya, Katsiaryna S. Karaleva, Oksana Yu. Urbanovich

Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

INFLUENCE OF SOME ABIOTIC FACTORS ON THE APPLE STRESS-ASSOCIATED PROTEIN GENE EXPRESSION PROFILES

Abstract. In plants, stress-associated proteins (SAP) play a crucial role in responding to adverse biotic and abiotic factors. In this study, we evaluated the expression profiles of 14 apple SAP genes (MdSAP) under the influence of low and high temperatures, as well as salinity, using the quantitative polymerase chain reaction (qPCR). The results showed that the most significant changes in expression levels were observed in the genes *MdSAP11*, *MdSAP2*, and *MdSAP3* under high temperature conditions, *MdSAP1*, *MdSAP2*, *MdSAP4*, and *MdSAP6* under low temperature conditions, and *MdSAP1*, *MdSAP8*, and *MdSAP11* under salt stress. Furthermore, there was a tendency for gene expression to increase at 2 and/or 4 hours of exposure followed by a decrease at 24 hours. The analysis of the correlation between the expression levels of MdSAP genes revealed both positive and negative linear relationships.

These findings will help elucidate the specific roles of individual SAP genes in shaping the apple stress response to low and high temperatures, as well as salinity.

Keywords: SAP, *Malus*, expression, qPCR, stress, salinization

For citation: Kuzmitskaya P. V., Karaleva K. S., Urbanovich O. Yu. Influence of some abiotic factors on the apple stress-associated protein gene expression profiles. *Vesti Natsyynal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2024, vol. 69, no. 2, pp. 143–152 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2024-69-2-143-152>

Введение. Абиотические стресс-факторы, к которым относят засуху, засоление, экстремальные температуры, дефицит питательных веществ и воздействие токсичных металлов, отрицательно сказываются на росте и продуктивности растений, что представляет собой серьезную угрозу сельскохозяйственному производству и продовольственной безопасности, вызывая зна-

чительное снижение урожайности растений [1]. Снижение влияния этих факторов на продуктивность растений может быть достигнуто за счет выведения новых сортов растений, устойчивых к неблагоприятным факторам и способных давать высокие урожаи на землях, подверженных разного рода абиотическим стрессам. Этому препятствует отсутствие информации о генах (или генных сетях), которые могут обеспечить такую устойчивость. Одной из перспективных в этом отношении групп генов являются стресс-ассоциированные белки (SAP, от англ. *stress-associated proteins*). В последнее время они активно исследуются различными научными центрами. SAP являются транскрипционными факторами и содержат один или два домена цинковых пальцев – A20 и/или AN1 на N- и C-концах соответственно [2]. Оба эти домена принимают участие в регуляции различных стрессовых ответах и были обнаружены у всех эукариотических организмов, включая растения [3]. Впервые домен A20 был идентифицирован у цитокинин-индуцируемого белка A20 эндотелиальных клеток пупочной вены человека [4]. Этот белок индуцируется фактором некроза опухоли (TNF) и ингибирует вызванный им апоптоз [3]. Другой домен цинковых пальцев, AN1, впервые был обнаружен в структуре убиквитин-подобного белка, выделенного из анимального полюса икры и эмбрионов на ранних стадиях развития *Xenopus laevis* [5]. Некоторые стресс-ассоциированные белки содержат домен AN1 в комбинации с доменом A20 или C2H2 [6]. Домен цинковых пальцев AN1 обнаружен также в содержащих убиквитин-подобный домен белках, которые участвуют в пути убиквитинирования [5]. Гены, кодирующие SAP, идентифицированы у многих растений, включая *Arabidopsis thaliana*, рис [6], хлопчатник [7], томат [8], тополь [9], клещевину [10], огурец [11]. Под воздействием стрессовых факторов урони экспрессии генов, кодирующих белки с доменами A20/AN1, изменяются. У растений SAP, являясь частью системы гормональной регуляции и сигнальной трансдукции, могут принимать участие в формировании реакции на заражение, а также в других процессах [12–14]. Например, у тополя *P. euphratica* все гены, кодирующие SAP, показывают повышенный уровень экспрессии в ответ на действие засухи, засоления и повышенной температуры [9]. Так, у риса наблюдается повышенная экспрессия гена *OsSAP1* в ответ на действие засухи, холода, засоления и др. [15]. Поиск и изучение генов, кодирующих транскрипционные факторы, имеет большое значение, поскольку они способны влиять на множество генов, участвующих в ответе на различные виды стрессов.

Яблоня является одной из важнейших культур для стран умеренного климатического пояса, включая и Беларусь, поэтому изучение генетических механизмов, участвующих в формировании стрессового ответа, имеет как научное, так и прикладное значение, поскольку может значительно расширить возможности селекции. Ранее нами был идентифицирован 21 ген, кодирующий SAP, в геноме *Malus domestica* сорта Golden Delicious [16]. Параллельно с нами этот вопрос изучали также Dong с соавт. [17].

Цель настоящей работы – анализ профилей экспрессии генов яблони, кодирующих SAP, в условиях, моделирующих повышенную и низкую положительную температуры, а также засоление.

Материалы и методы исследования. Для изучения экспрессии генов, кодирующих SAP, использовали клоновые подвои яблони сорта ММ-106. Они характеризуются средней морозоустойчивостью и низкой устойчивостью к засухе. Подвои выращивали в условиях длинного светового дня (16 ч день/8 ч ночь) при температуре 22 °С. Растения были разделены на четыре группы, одна из которых, контрольная, находилась в описанных выше условиях. Вторую группу подвергли воздействию повышенной температуры (40 °С), третью – воздействию пониженной температуры (4 °С). Растения четвертой группы поливали раствором соли в концентрации 0,2 моль/л. Каждая группа была представлена тремя деревьями, условия освещения не изменяли.

Отбор листьев осуществляли на 0, 2, 4, 24-м часу. Отбор на 0-м часу проводили непосредственно после воздействия стрессовых факторов на растения. Отобранные листья сразу же замораживали в жидком азоте.

Выделение РНК из замороженных листьев проводили с использованием СТАВ-метода [18]. Качество выделенной РНК определяли с помощью электрофореза в агарозном геле. Концентрацию полученной РНК измеряли с помощью прибора NanoDrop (ND-8000 Spectrophotometer,

Thermo Scientific). Для очистки РНК от ДНК использовали реактив DNase I, RNase-free (Thermo Scientific), для построения минус-цепи кДНК – RevertAid H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Scientific, EU) в соответствии с протоколами производителей.

Последовательности праймеров для постановки qPCR представлены в табл. 1.

Таблица 1. Название и последовательность олигонуклеотидов, используемых в качестве праймеров при постановке ПЦР в режиме реального времени

Table 1. Name and sequence of oligonucleotides used as primers in real-time PCR

Название гена	Праймеры для qRT-PCR
<i>MdSAP1</i> (MD01G1186300)	F: GCAGTTTGCTAAGCCTGCAGCC R: ACCCCTCATTTGTCTCAAACCTCCACT
<i>MdSAP2</i> (MD02G1204500)	F: TGACAGAGCGTCCCTGTCTGC R: CCATGGCGGACTCTGCCCTC
<i>MdSAP3</i> (MD02G1204600)	F: TGTCACCCTTGCAGAGCGGG R: TTCAGTGCCGCTGTGGTGGT
<i>MdSAP4</i> (MD02G1314600)	F: GCGTCAACAACGCGGCGTC R: TTACGGCAGGTCTCGGCAGC
<i>MdSAP6</i> (MD07G1007300)	F: GCGTCAACAACGCGGCGTC R: CCGCGGACGAAGACGACGAT
<i>MdSAP8</i> (MD07G1258500)	F: GCAGTTTGCTAAGCCTGCAGCC R: CACTCAGTGAAGTCAAGCTCC
<i>MdSAP11</i> (MD12G1023200)	F: GATCGCCAGGAGCAACCCGT R: AGATCGACGGTCCGCGTGG
<i>MdSAP12</i> (MD14G1020200)	F: GATCGCCAGGAGCAACCCGT R: TCAGTTCCGCGGACAGCCTG
<i>MdSAP16</i> (MD12G1065100)	F: GAATGGCGGCGGCAGCAG R: CCAACGCGCTTTCGGCAAGT
<i>MdSAP17</i> (MD14G1065100)	F: GCGTCGATGGCAGCAGCAAC R: CCAACGCGCTTTCGGCAAGT
<i>MdSAP18</i> (MD09G1039300)	F: TTCGCCGGTGCAAGGAGATTC R: GCGGGTAATGGCGTCAGCT
<i>MdSAP19</i> (MD17G1040300)	F: TTCGCCGGTGCAAGGAGATTC R: CGTCGTTGGTGGGGAAGCCT
<i>MdSAP20</i> (MD12G1077300)	F: CCGGGACTACATAATCCCGCCG R: GCGACGTAGCAATGCCTACCCA
<i>MdSAP21</i> (MD14G1070700)	F: AAAACTAGGGCGGCCGTGGC R: GCGACGTAGCAATGCCTACCCA

Примечание. Названия генов даны в соответствии с [16].

Оценка эффективности праймеров по реакции qPCR на матрице кДНК яблоки сорта ММ-106 показала, что для каждой пары праймеров данный показатель входит в диапазон допустимых значений – 90–110 % [19]. В качестве внутреннего контроля был выбран фактор элонгации *Efl-α* [20]. В качестве отрицательного контроля вместо кДНК использовали равное количество деионизированной воды. Для анализа экспрессии генов, кодирующих SAP, в ответ на действие абиотических стрессовых факторов осуществляли по три биологических повтора в каждом из экспериментальных условий.

Относительный уровень экспрессии исследуемых генов определяли по методу $2^{(-\Delta\Delta CT)}$ [21]. Коэффициент корреляции Пирсона был рассчитан по формуле $r = (n\sum(XY) - \sum X \sum Y) / \sqrt{(n\sum X^2 - (\sum X)^2)(n\sum Y^2 - (\sum Y)^2)}$, где r – коэффициент корреляции Пирсона, n – количество наблюдений, \sum – сумма значений, X и Y – переменные, связь между которыми устанавливается. Коэффициент корреляции Пирсона может принимать значения от -1 до 1 , где 1 означает идеальную положительную корреляцию, -1 – идеальную отрицательную корреляцию, а 0 – отсутствие корреляции.

Результаты и их обсуждение. Ранее [16] нами *in silico* проведена полногеномная идентификация генов, кодирующих SAP, в геноме яблоки Golden Delicious и проанализированы их

промоторные области. Полученные результаты позволяют предположить, что экспрессия SAP у яблони, так же как у других изученных растений, будет изменяться в ответ на стресс [7–10, 15]. В представленной работе нами оценены профили экспрессии выбранных случайным образом 14 отдельных генов, кодирующих SAP, у подвоев яблони сорта ММ-106 в условиях температурного стресса и засоления.

Для изучения высокотемпературного стресса растения в течение суток подвергали воздействию температуры 40 °С. По результатам, приведенным на рис. 1, видно, в условиях повышенной температуры наблюдается значительное увеличение экспрессии отдельных генов, кодирующих SAP, по сравнению с началом воздействия. Это характерно для *MdSAP2*, *MdSAP3*, *MdSAP11*, *MdSAP12*, при этом у некоторых из них (например, у *MdSAP2* и *MdSAP3*) к 4-му часу воздействия происходит снижение уровня экспрессии. В случае гена *MdSAP11* его экспрессия немного снижается к 4-му часу воздействия, а затем значительно возрастает к 24-му часу. Уровень экспрессии этого гена в данной точке эксперимента является максимальным среди всех исследуемых генов *MdSAP* в условиях повышенной температуры. Ген *MdSAP18* в данных условиях экспрессирован не был.

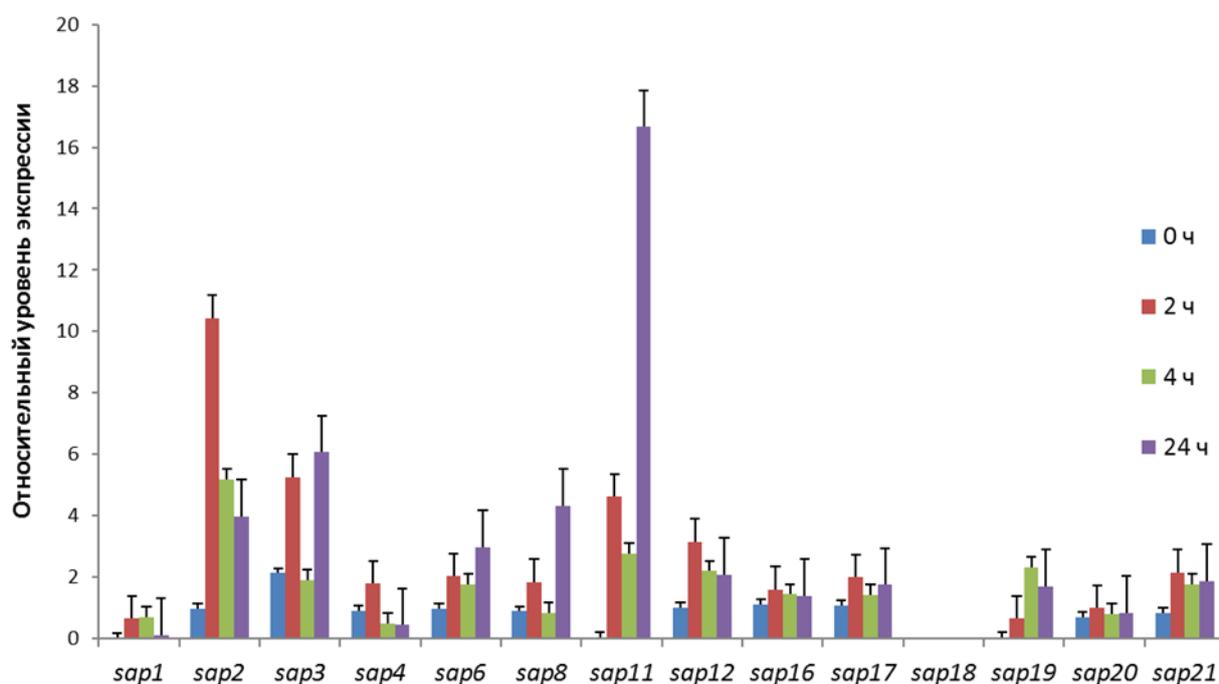


Рис. 1. Профиль экспрессии генов яблони сорта ММ-106, кодирующих MdSAP, в условиях повышенной температуры с точками измерения на 0, 2, 4 и 24-й час. Данные были нормализованы относительно гена домашнего хозяйства яблони *Ef1-α*. Здесь и на рис. 2, 3 вертикальные полосы отображают стандартную ошибку среднего, уровень значимости составляет $\alpha = 0,05$

Fig. 1. MdSAP gene expression profiles under the condition of high temperature on the MM-106 apple variety with measurement points at 0, 2nd, 4th, and 24th hour. The data were normalised in relation to the apple housekeeping gene *Ef1-α*. Here and in Fig. 2, 3, the vertical stripes show the standard error of the mean, the significance value is $\alpha = 0.05$

Оценку корреляции уровней экспрессии генов проводили с помощью коэффициентов корреляции Пирсона (табл. 2). Следует отметить, что большинство генов имеют как положительную, так и отрицательную взаимосвязь друг с другом при повышенной температуре, при этом сильная положительная корреляция между генами наблюдается достаточно часто. Например, *MdSAP21* имеет коэффициенты корреляции 0,85 и выше с 5 генами (*MdSAP2*, *MdSAP12*, *MdSAP16*, *MdSAP17*, *MdSAP20*), *MdSAP12* – коэффициенты 0,93 и выше также с 5 генами (*MdSAP2*, *MdSAP16*, *MdSAP17*, *MdSAP20*, *MdSAP21*), что указывает на сильную положительную линейную связь между ними.

Реже можно наблюдать случаи отрицательной корреляции. Наиболее сильная отрицательная корреляция ($-0,61$) наблюдается между генами *MdSAP4* и *MdSAP19*, более слабая – между генами *MdSAP1* и *MdSAP8* ($-0,38$) и *MdSAP11* и *MdSAP4* ($-0,36$), в остальных случаях отрицательная линейная связь между генами более слабая.

Т а б л и ц а 2. Коэффициенты корреляции Пирсона для относительных уровней экспрессии генов *MdSAP* в условиях повышения температуры

Table 2. Pearson correlation coefficients for *MdSAP* relative expression gene levels under elevated temperature

Ген	<i>MdSAP1</i>	<i>MdSAP2</i>	<i>MdSAP3</i>	<i>MdSAP4</i>	<i>MdSAP6</i>	<i>MdSAP8</i>	<i>MdSAP11</i>	<i>MdSAP12</i>	<i>MdSAP16</i>	<i>MdSAP17</i>	<i>MdSAP19</i>	<i>MdSAP20</i>	<i>MdSAP21</i>
<i>MdSAP1</i>	–	0,78	–0,10	0,37	0,04	–0,38	–0,28	0,76	0,78	0,47	0,44	0,60	0,66
<i>MdSAP2</i>	0,78	–	0,47	0,71	0,34	0,05	0,05	0,98	0,94	0,87	0,12	0,97	0,85
<i>MdSAP3</i>	–0,10	0,47	–	0,25	0,83	0,87	0,81	0,56	0,54	0,83	0,03	0,68	0,66
<i>MdSAP4</i>	0,37	0,71	0,25	–	–0,22	–0,24	–0,36	0,55	0,42	0,49	–0,61	0,70	0,27
<i>MdSAP6</i>	0,04	0,34	0,83	–0,22	–	0,90	0,95	0,52	0,58	0,72	0,56	0,49	0,74
<i>MdSAP8</i>	–0,38	0,05	0,87	–0,24	0,90	–	0,98	0,21	0,24	0,54	0,25	0,28	0,44
<i>MdSAP11</i>	–0,28	0,05	0,81	–0,36	0,95	0,98	–	0,24	0,29	0,53	0,42	0,26	0,50
<i>MdSAP12</i>	0,76	0,98	0,56	0,55	0,52	0,21	0,24	–	0,99	0,93	0,29	0,96	0,95
<i>MdSAP16</i>	0,78	0,94	0,54	0,42	0,58	0,24	0,29	0,99	–	0,91	0,43	0,92	0,97
<i>MdSAP17</i>	0,47	0,87	0,83	0,49	0,72	0,54	0,53	0,93	0,91	–	0,20	0,96	0,93
<i>MdSAP19</i>	0,44	0,12	0,03	–0,61	0,56	0,25	0,42	0,29	0,43	0,20	–	0,05	0,52
<i>MdSAP20</i>	0,60	0,97	0,68	0,70	0,49	0,28	0,26	0,96	0,92	0,96	0,05	–	0,87
<i>MdSAP21</i>	0,66	0,85	0,66	0,27	0,74	0,44	0,50	0,95	0,97	0,93	0,52	0,87	–

П р и м е ч а н и е. Здесь и в табл. 3, 4 цветом выделены градации значений уровней экспрессии от низкого к высокому (красный → синий).

Для оценки влияния пониженной температуры ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$) на профили экспрессии генов, кодирующих стресс-ассоциированные белки, яблони подвергались воздействию пониженной температуры в течение 24 ч. По результатам проведенного исследования, представленным на рис. 2, можно отметить, что для многих генов *MdSAP* характерно значительное повышение уровня экспрессии на 2-м и/или 4-м часу воздействия низкой положительной температуры с последующим снижением к 24-му часу. Например, уровни экспрессии генов *MdSAP1* и *MdSAP2* растут ко 2-му часу, снижаются к 4-му (но все равно остаются выше, чем в начале эксперимента), а на 24-м часу воздействия снижаются еще больше: у *MdSAP1* уровень экспрессии близок к уровню 0-го часа, а у *MdSAP2* – ниже. Максимальный уровень экспрессии на 4-м часу воздействия характерен, например, для *MdSAP4* и *MdSAP6*. У первого из них уровень экспрессии и на 2-м часу воздействия не отличается значительно от 0-го, у второго – заметно повышается, при этом у обоих происходит снижение уровня экспрессии к 24-му часу. В целом среди протестированных генов максимальные уровни экспрессии в условиях пониженной температуры наблюдались у *MdSAP1*, *MdSAP2*, *MdSAP4*, *MdSAP6*. Ген *MdSAP18* в данных условиях экспрессирован не был.

Для расчета коэффициентов корреляции Пирсона между значениями экспрессии генов была использована статистическая формула, которая позволяет оценить силу линейной связи между двумя переменными. Для каждой пары генов были рассчитаны значения коэффициента корреляции Пирсона (табл. 3) на основе значений их относительных уровней экспрессии. Следует отметить, что для уровней экспрессии многих генов наблюдается сильная положительная корреляция в условиях пониженной температуры. Например, *MdSAP1* имеет коэффициенты корреляции больше 0,85 с семью генами (*MdSAP2*, *MdSAP8*, *MdSAP11*, *MdSAP12*, *MdSAP16*, *MdSAP17*, *MdSAP19*). Сильные положительные линейные связи со многими другими представителями семейства стресс-ассоциированных белков характерны также для *MdSAP2*, *MdSAP8*, *MdSAP11*,

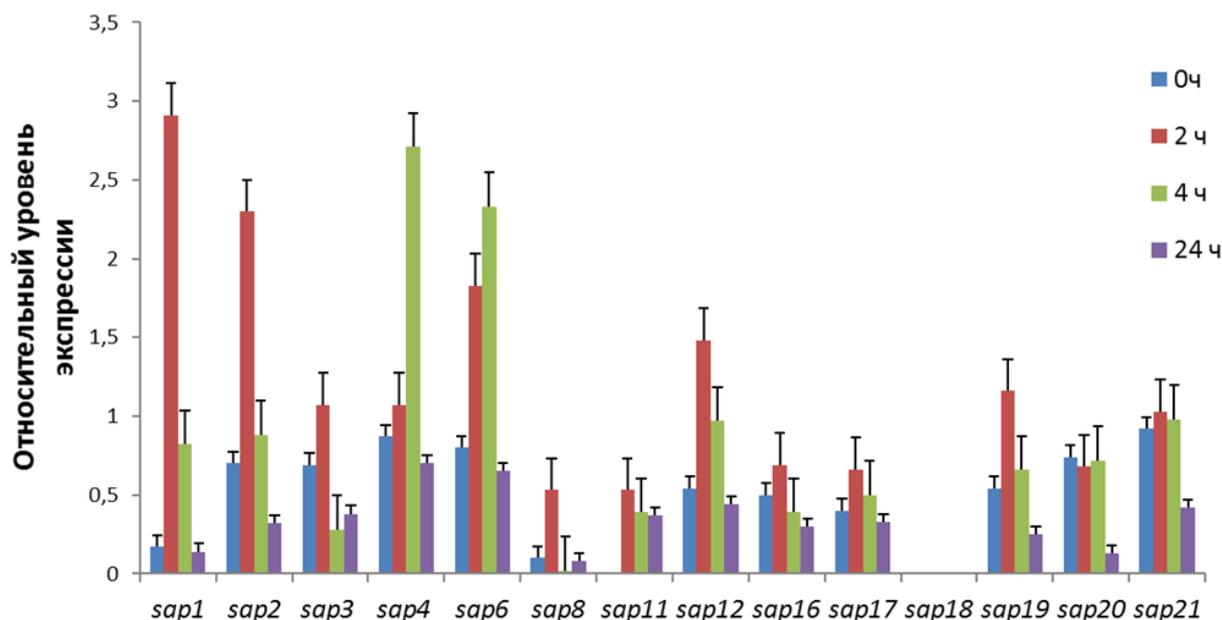


Рис. 2. Профиль экспрессии генов яблони сорта ММ-106, кодирующих *MdsAP*, в условиях пониженной температуры с точками измерения на 0, 2, 4 и 24-й час. Данные были нормализованы относительно гена домашнего хозяйства яблони *Ef1-α*

Fig. 2. MM-106 apple variety *MdsAP* gene expression profiles under low temperature with measurement points at 0, 2nd, 4th, and 24th hour. The data were normalised in relation to the apple housekeeping gene *Ef1-α*

MdSAP12, *MdSAP16*, *MdSAP17*, *MdSAP19*. В целом большинство изученных генов имеют значительную взаимосвязь друг с другом при пониженной температуре, в то время как между некоторыми генами связи сравнительно слабые. Наиболее сильная отрицательная корреляция ($-0,47$) наблюдается между генами *MdSAP4* и *MdSAP3*. С остальными генами *MdSAP4* имеет слабые положительные или отрицательные линейные связи, за исключением *MdSAP6*, с которым он имеет достаточно сильную положительную корреляцию ($0,85$). При этом следует отметить, что большинство генов имеют как положительную, так и отрицательную взаимосвязь друг с другом при воздействии пониженной температуры.

Т а б л и ц а 3. Коэффициенты корреляции Пирсона для относительных уровней экспрессии генов *MdsAP* в условиях воздействия низкой температуры

Table 3. Pearson correlation coefficients for *MdsAP* relative expression gene levels under low temperature

Ген	<i>MdSAP1</i>	<i>MdSAP2</i>	<i>MdSAP3</i>	<i>MdSAP4</i>	<i>MdSAP6</i>	<i>MdSAP8</i>	<i>MdSAP11</i>	<i>MdSAP12</i>	<i>MdSAP16</i>	<i>MdSAP17</i>	<i>MdSAP19</i>	<i>MdSAP20</i>	<i>MdSAP21</i>
<i>MdSAP1</i>	–	0,98	0,77	0,05	0,57	0,93	0,99	0,96	0,85	0,96	0,95	0,37	0,57
<i>MdSAP2</i>	0,98	–	0,83	0,03	0,54	0,93	0,99	0,95	0,92	0,97	0,98	0,49	0,67
<i>MdSAP3</i>	0,77	0,83	–	$-0,47$	0,02	0,92	0,97	0,63	0,94	0,68	0,78	0,37	0,48
<i>MdSAP4</i>	0,05	0,03	$-0,47$	–	0,85	$-0,33$	$-0,23$	0,30	$-0,16$	0,28	0,17	0,46	0,47
<i>MdSAP6</i>	0,57	0,54	0,02	0,85	–	0,22	0,34	0,76	0,32	0,74	0,64	0,58	0,70
<i>MdSAP8</i>	0,93	0,93	0,92	$-0,33$	0,22	–	0,98	0,80	0,89	0,81	0,85	0,22	0,40
<i>MdSAP11</i>	0,99	0,99	0,97	$-0,23$	0,34	0,98	–	0,91	0,99	0,91	0,94	0,55	0,65
<i>MdSAP12</i>	0,96	0,95	0,63	0,30	0,76	0,80	0,91	–	0,79	0,99	0,96	0,52	0,71
<i>MdSAP16</i>	0,85	0,92	0,94	$-0,16$	0,32	0,89	0,99	0,79	–	0,85	0,92	0,62	0,74
<i>MdSAP17</i>	0,96	0,97	0,68	0,28	0,74	0,81	0,91	0,99	0,85	–	0,99	0,60	0,77
<i>MdSAP19</i>	0,95	0,98	0,78	0,17	0,64	0,85	0,94	0,96	0,92	0,99	–	0,64	0,80
<i>MdSAP20</i>	0,37	0,49	0,37	0,46	0,58	0,22	0,55	0,52	0,62	0,60	0,64	–	0,97
<i>MdSAP21</i>	0,57	0,67	0,48	0,47	0,70	0,40	0,65	0,71	0,74	0,77	0,80	0,97	–

Для оценки изменения уровня экспрессии 14 генов *MdSAP* в условиях действия стресса, вызванного засолением, проводился полив растений раствором соли в концентрации 0,2 моль/л. Профили экспрессии генов приведены на рис. 3. Как видно из представленных данных, значительное увеличение уровней экспрессии генов, отреагировавших на засоление, приходится на 2-й час. К таким генам можно отнести *MdSAP1*, *MdSAP3*, *MdSAP8*, *MdSAP11*, *MdSAP18* и *MdSAP21*. После повышения ко 2-му часу уровни экспрессии, как правило, снижались к 4-му часу. У некоторых генов (*MdSAP3*, *MdSAP8*, *MdSAP11*) наблюдалось повторное повышение на 24-м часу воздействия, хотя и не такое значительное, как ко 2-му часу.

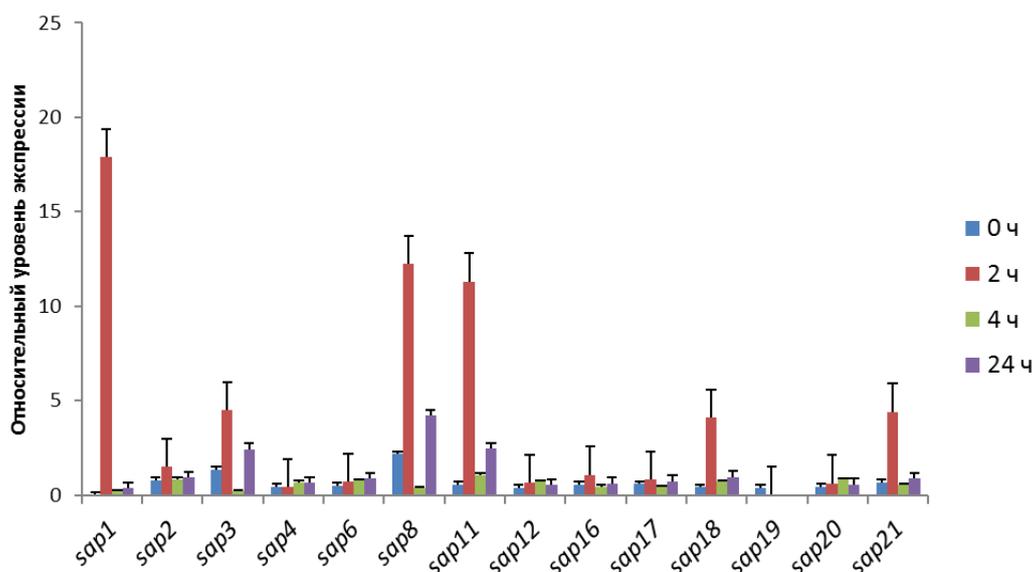


Рис. 3. Профиль экспрессии генов яблони сорта ММ-106, кодирующих *MdSAP*, в условиях засоления с точками измерения на 0, 2, 4 и 24-й час. Данные были нормализованы относительно гена домашнего хозяйства яблони *Ef1-α*

Fig. 3. *MdSAP* gene expression profiles under the condition of salinization on the MM-106 apple variety with measurement points at 0, 2nd, 4th, and 24th hour. The data were normalised in relation to the apple housekeeping gene *Ef1-α*

Из приведенных в табл. 4 данных видно, что для большинства генов характерна положительная или отрицательная корреляция уровней их экспрессии. Довольно часто наблюдается сильная положительная корреляция.

Т а б л и ц а 4. Коэффициенты корреляции Пирсона для относительных уровней экспрессии генов *MdSAP* в условиях засоления

Table 4. Pearson correlation coefficients for *MdSAP* relative expression gene levels under salinity conditions

Ген	<i>MdSAP1</i>	<i>MdSAP2</i>	<i>MdSAP3</i>	<i>MdSAP4</i>	<i>MdSAP6</i>	<i>MdSAP8</i>	<i>MdSAP11</i>	<i>MdSAP12</i>	<i>MdSAP16</i>	<i>MdSAP17</i>	<i>MdSAP18</i>	<i>MdSAP19</i>	<i>MdSAP20</i>	<i>MdSAP21</i>
<i>MdSAP1</i>	–	0,99	0,87	–0,59	0,04	0,96	0,99	0,48	0,97	0,71	0,99	–1,00	0,05	1,00
<i>MdSAP2</i>	0,99	–	0,90	–0,51	0,16	0,97	1,00	0,52	0,97	0,75	1,00	–1,00	0,07	0,99
<i>MdSAP3</i>	0,87	0,90	–	–0,60	0,16	0,98	0,91	0,18	0,97	0,96	0,89	–1,00	–0,30	0,90
<i>MdSAP4</i>	–0,59	–0,51	–0,60	–	0,69	–0,61	–0,52	0,39	–0,66	–0,55	–0,51	1,00	0,66	–0,60
<i>MdSAP6</i>	0,04	0,16	0,16	0,69	–	0,12	0,16	0,59	0,04	0,21	0,15	–1,00	0,49	0,05
<i>MdSAP8</i>	0,96	0,97	0,98	–0,61	0,12	–	0,98	0,32	1,00	0,88	0,96	–1,00	–0,15	0,97
<i>MdSAP11</i>	0,99	1,00	0,91	–0,52	0,16	0,98	–	0,50	0,97	0,77	1,00	–1,00	0,05	0,99
<i>MdSAP12</i>	0,48	0,52	0,18	0,39	0,59	0,32	0,50	–	0,29	–0,01	0,53	–1,00	0,88	0,44
<i>MdSAP16</i>	0,97	0,97	0,97	–0,66	0,04	1,00	0,97	0,29	–	0,86	0,96	–1,00	–0,18	0,98
<i>MdSAP17</i>	0,71	0,75	0,96	–0,55	0,21	0,88	0,77	–0,01	0,86	–	0,73	–1,00	–0,47	0,75
<i>MdSAP18</i>	0,99	1,00	0,89	–0,51	0,15	0,96	1,00	0,53	0,96	0,73	–	–1,00	0,09	0,99
<i>MdSAP19</i>	–1,00	–1,00	–1,00	1,00	–1,00	–1,00	–1,00	–1,00	–1,00	–1,00	–1,00	–	–1,00	–1,00
<i>MdSAP20</i>	0,05	0,07	–0,30	0,66	0,49	–0,15	0,05	0,88	–0,18	–0,47	0,09	–1,00	–	0,00
<i>MdSAP21</i>	1,00	0,99	0,90	–0,60	0,05	0,97	0,99	0,44	0,98	0,75	0,99	–1,00	0,00	–

Например, для гена *MdSAP2* коэффициент корреляции 0,90 и выше отмечается с 7 генами (*MdSAP1*, *MdSAP3*, *MdSAP8*, *MdSAP11*, *MdSAP16*, *MdSAP18*, *MdSAP21*), 0,75 – с 1 (*MdSAP17*). Для генов *MdSAP4* и *MdSAP19* характерны в основном отрицательные линейные связи с другими представителями семейства *MdSAP*, поскольку их уровни экспрессии снижаются на протяжении эксперимента. Однако между собой уровни экспрессии этих генов имеют сильную положительную линейную связь (их коэффициент корреляции составляет 1,00).

Расчет коэффициентов корреляции между полученными значениями экспрессии всех изученных генов *MdSAP* показал их очень слабую положительную связь в разных условиях: 0,13 – для высокой и низкой температур, а также для повышенной температуры и засоления; 0,29 – для пониженной температуры и засоления.

Положительная корреляция экспрессии генов может быть обусловлена несколькими факторами. Так, поскольку существует вероятность участия коэкспрессированных генов в одних и тех же онтогенетических или биохимических путях, корреляция экспрессии генов может свидетельствовать о том, что они вовлечены в один и тот же функциональный путь. Например, исследование на *Arabidopsis thaliana* показало, что гены, связанные с регуляцией цветения, имеют положительную корреляцию экспрессии [22], как и гены, участвующие в накоплении запасных веществ семени [23] или в формировании клеточной стенки [24]. К положительной корреляции экспрессии генов могут приводить и генетические факторы. Гены с похожим профилем экспрессии имеют тенденцию к кластеризации, что может отражать динамику структуры и компактности хроматина [25]. Факторы окружающей среды тоже могут оказывать влияние на совместную экспрессию генов, принимающих участие в формировании стрессового ответа [26]. Исходя из этого, можно предположить, что гены *MdSAP*, имеющие высокие положительные коэффициенты корреляции, имеют сходные функции при формировании ответа на действие отдельных видов абиотического стресса. Однако необходимо провести дополнительный анализ и исследование данных генов для получения более точных выводов о их функциях и роли в биологических процессах.

Заключение. Анализ профилей экспрессии генов, кодирующих стресс-ассоциированные белки яблони, показал их участие в стрессовом ответе на воздействие низких и высоких температур, а также засоления. Наиболее значительное изменение уровней экспрессии наблюдалось у генов *MdSAP11*, *MdSAP2*, *MdSAP3* при воздействии повышенной температуры, у генов *MdSAP1*, *MdSAP2*, *MdSAP4*, *MdSAP6* в условиях пониженной температуры, у генов *MdSAP1*, *MdSAP8*, *MdSAP11* при воздействии раствора соли. При этом наблюдалась тенденция к повышению экспрессии генов ко 2-му и/или 4-му часу воздействия с последующим ее снижением к 24-му часу. Анализ корреляции уровней экспрессии генов *MdSAP* показал, что для них характерны как положительные, так и отрицательные линейные связи.

Полученные результаты позволяют уточнить роль отдельных генов, кодирующих SAP, в формировании стрессового ответа яблони на воздействие низких и высоких температур, а также засоления.

Список использованных источников

1. Genomic analysis of stress associated proteins in soybean and the role of GmSAP16 in abiotic stress responses in *Arabidopsis* and soybean / X.-Z. Zhang [et al.] // Front. Plant Sci. – 2019. – Vol. 10. – P. 1453. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01453>
2. SAPs as novel regulators of abiotic stress response in plants / J. Giri [et al.] // Bioessays. – 2013. – Vol. 35, N 7. – P. 639–648. <https://doi.org/10.1002/bies.201200181>
3. Opirari, A. W. (Jr.). The A20 cDNA induced by tumor necrosis factor alpha encodes a novel type of zinc finger protein / A. W. Opirari, Jr., M. S. Boguski, V. M. Dixit // J. Biol. Chem. – 1990. – Vol. 265, N 25. – P. 14705–14708.
4. Tumor necrosis factor-alpha induction of novel gene products in human endothelial cells including a macrophage-specific chemotaxin / V. M. Dixit [et al.] // J. Biol. Chem. – 1990. – Vol. 265, N 5. – P. 2973–2978.
5. Identification and cloning of localized maternal RNAs from *Xenopus* eggs / M. R. Rebagliati [et al.] // Cell. – 1985. – Vol. 42, N 3. – P. 769–777.
6. Vij, S. Genome-wide analysis of the stress associated protein (SAP) gene family containing A20/AN1 zinc-finger (s) in rice and their phylogenetic relationship with *Arabidopsis* / S. Vij, A. K. Tyagi // Mol. Genet. Genom. – 2006. – Vol. 276, N 6. – P. 565–575. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2014.09.017>
7. Genome-wide identification and expression analysis of stress-associated proteins (SAPs) containing A20/AN1 zinc finger in cotton / W. Gao [et al.] // Mol. Genet. Genom. – 2016. – Vol. 291, N 6. – P. 2199–2213. <https://doi.org/10.1007/s00438-016-1252-6>

8. Characterization and phylogenetic analysis of environmental stress-responsive SAP gene family encoding A20/AN1 zinc finger proteins in tomato / A. U. Solanke [et al.] // *Mol. Genet. Genom.* – 2009. – Vol. 282, N 2. – P. 153–164. <https://doi.org/10.1007/s00438-009-0455-5>
9. Genome-wide survey and expression analysis of the stress-associated protein gene family in desert poplar, *Populus euphratica* / H. Jia [et al.] // *Tree Genet. Genom.* – 2016. – Vol. 12, N 4. – P. 78. <https://doi.org/10.1007/s11295-016-1033-8>
10. Genomic characterization and expression profiles of stress-associated proteins (SAPs) in castor bean (*Ricinus communis*) / Z. Wang [et al.] // *Plant Diversity.* – 2020. – Vol. 43, no. 2. – P. 152–162. <https://doi.org/10.1016/j.pld.2020.07.010>
11. Identification and expression analysis of stress-associated proteins (SAPs) containing A20/AN1 zinc finger in cucumber / W. Lai [et al.] // *Plants.* – 2020. – Vol. 9, N 3. – Art. 400. <https://doi.org/10.3390/plants9030400>
12. Redox-dependent regulation of the stress-induced zinc-finger protein SAP12 in *Arabidopsis thaliana* / E. Ströher [et al.] // *Mol. Plant.* – 2009. – Vol. 2, N 2. – P. 357–367. <https://doi.org/10.1093/mp/ssn084>
13. An A20/AN1-type zinc finger protein modulates gibberellins and abscisic acid contents and increases sensitivity to abiotic stress in rice (*Oryza sativa*) / Y. Zhang [et al.] // *J. Exp. Bot.* – 2016. – Vol. 67, N 1. – P. 315–326. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv464>
14. Rice SAPs are responsive to multiple biotic stresses and overexpression of OsSAP1, an A20/AN1 zinc-finger protein, enhances the basal resistance against pathogen infection in tobacco / H. Tyagi [et al.] // *Plant Sci.* – 2014. – Vol. 225. – P. 68–76. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.05.016>
15. Mukhopadhyay, A. Overexpression of a zinc-finger protein gene from rice confers tolerance to cold, dehydration, and salt stress in transgenic tobacco / A. Mukhopadhyay, S. Vij, A. K. Tyagi // *Proc. of the Nat. Acad. of Sci.* – 2004. – Vol. 101, N 16. – P. 6309–6314. <https://doi.org/10.1073/pnas.0401572101>
16. Идентификация генов, кодирующих стресс-ассоциированные белки, содержащие домены A20/AN1, в геноме яблоки *in silico* и анализ их филогенетических связей / П. Кузмицкая, О. Урбанович, А. Кильчевский // Докл. Нац. Акад. наук Беларуси. – 2018. – Т. 62. – С. 455–462.
17. Genome-wide analysis and cloning of the apple stress-associated protein gene family reveals MdSAP15, which confers tolerance to drought and osmotic stresses in transgenic *Arabidopsis* / Q. Dong [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2018. – Vol. 19, N 9. – Art. 2478. <https://doi.org/10.3390/ijms19092478>
18. Isolation of high quality RNA from bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) fruit / L. Jaakola [et al.] // *Mol. Biotechnol.* – 2001. – Vol. 19, N 2. – P. 201–203. <https://doi.org/10.1385/MB:19:2:201>
19. The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments / S. A. Bustin [et al.] // *Clin. Chem.* – 2009. – Vol. 55, N 4. – P. 611–622. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.112797>
20. Genome-wide analysis and expression profiling of the DREB transcription factor gene family in *Malus* under abiotic stress / T. Zhao [et al.] // *Mol. Genet. Genom.* – 2012. – Vol. 287, N 5. – P. 423–436. <https://doi.org/10.1007/s00438-012-0687-7>
21. An improvement of the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method for quantitative real-time polymerase chain reaction data analysis / X. Rao [et al.] // *Biostatistics, Bioinformatics and Biomathematics.* – 2013. – Vol. 3, N 3. – P. 71–85.
22. FlowerNet: a gene expression correlation network for anther and pollen development / S. Pearce [et al.] // *J. Plant Physiol.* – 2015. – Vol. 167, N 4. – P. 1717–1730. <https://doi.org/10.1104/pp.114.253807>
23. Peng, F. Y. Gene coexpression clusters and putative regulatory elements underlying seed storage reserve accumulation in *Arabidopsis* / F. Y. Peng, R. J. Weselake // *BMC Genomics.* – 2011. – Vol. 12. – Art. 286. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-12-286>
24. Genome-scale identification of cell-wall related genes in *Arabidopsis* based on co-expression network analysis / S. Wang [et al.] // *BMC Plant Biol.* – 2012. – Vol. 12. – Art. 138. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-12-138>
25. Ghanbarian, A. T. Neighboring genes show correlated evolution in gene expression / A. T. Ghanbarian, L. D. Hurst // *Mol. Biol. Evol.* – 2015. – Vol. 32, N 7. – P. 1748–1766. <https://doi.org/10.1093/molbev/msv053>
26. Genome-scale cold stress response regulatory networks in ten *Arabidopsis thaliana* ecotypes / P. Barah [et al.] // *BMC Genomics.* – 2013. – Vol. 14, N 1. – Art. 722. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-722>

References

1. Zhang X.-Z., Zheng W.-J., Cao X.-Y., Cui X.-Y., Zhao S.-P., Yu T.-F. [et al.]. Genomic analysis of stress associated proteins in soybean and the role of GmSAP16 in abiotic stress responses in *Arabidopsis* and soybean. *Frontiers in Plant Science*, 2019, vol. 10, pp. 1–10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01453>
2. Giri J., Dansana P. K., Kothari K. S., Sharma G., Vij S., Tyagi A. K. SAPs as novel regulators of abiotic stress response in plants. *Bioessays*, 2013, vol. 35, no. 7, pp. 639–648. <https://doi.org/10.1002/bies.201200181>
3. Opirari A. W. (Jr.), Boguski M. S., Dixit V. M. The A20 cDNA induced by tumor necrosis factor alpha encodes a novel type of zinc finger protein. *Journal of Biological Chemistry*, 1990, vol. 265, no. 25, pp. 14705–14708.
4. Dixit V. M., Green S., Sarma V., Holzman L. B., Wolf F. W., O'Rourke K., Ward P. A., Prochownik E. V., Marks R. M. Tumor necrosis factor-alpha induction of novel gene products in human endothelial cells including a macrophage-specific chemotaxin. *Journal of Biological Chemistry*, 1990, vol. 265, no. 5, pp. 2973–2978.
5. Rebagliati M. R., Weeks D. L., Harvey R. P., Melton D. A. Identification and cloning of localized maternal RNAs from *Xenopus* eggs. *Cell*, 1985, vol. 42, no. 3, pp. 769–777. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(85\)90273-9](https://doi.org/10.1016/0092-8674(85)90273-9)
6. Vij S., Tyagi A. K. Genome-wide analysis of the stress associated protein (SAP) gene family containing A20/AN1 zinc-finger (s) in rice and their phylogenetic relationship with *Arabidopsis*. *Molecular Genetics and Genomics*, 2006, vol. 276, no. 6, pp. 565–575. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2014.09.017>
7. Gao W., Long L., Tian X., Jin J., Liu H., Zhang H., Xu F., Song C. Genome-wide identification and expression analysis of stress-associated proteins (SAPs) containing A20/AN1 zinc finger in cotton. *Molecular Genetics and Genomics*, 2016, vol. 291, no. 6, pp. 2199–2213. <https://doi.org/10.1007/s00438-016-1252-6>
8. Solanke A. U., Sharma M. K., Tyagi A. K., Sharma A. K. Characterization and phylogenetic analysis of environmental stress-responsive SAP gene family encoding A20/AN1 zinc finger proteins in tomato. *Molecular Genetics and Genomics*, 2009, vol. 282, no. 2, pp. 153–164. <https://doi.org/10.1007/s00438-009-0455-5>

9. Jia H., Li J., Zhang J., Ren Y., Hu J., Lu M. Genome-wide survey and expression analysis of the stress-associated protein gene family in desert poplar, *Populus euphratica*. *Tree Genetics and Genomes*, 2016, vol. 12, no. 4, p. 78. <https://doi.org/10.1007/s11295-016-1033-8>
10. Wang Z., Kuang J., Han B., Chen S., Liu A. Genomic characterization and expression profiles of stress-associated proteins (SAPs) in castor bean (*Ricinus communis*). *Plant Diversity*, 2020, vol. 43, no. 2, pp. 152–162. <https://doi.org/10.1016/j.pld.2020.07.010>
11. Lai W., Zhou Y., Pan R., Liao L., He J., Liu H., Yang Y., Liu S. Identification and expression analysis of stress-associated proteins (SAPs) containing A20/AN1 zinc finger in cucumber. *Plants*, 2020, vol. 9, no. 3, art. 400, pp. 1–16. <https://doi.org/10.3390/plants9030400>
12. Ströher E., Wang X.-J., Roloff N., Klein P., Husemann A., Dietz K. J. Redox-dependent regulation of the stress-induced zinc-finger protein SAP12 in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Plant*, 2009, vol. 2, no. 2, pp. 357–367. <https://doi.org/10.1093/mp/ssn084>
13. Zhang Y., Lan H., Shao Q., Wang R., Chen H., Tang H., Zhang H., Huang J. An A20/AN1-type zinc finger protein modulates gibberellins and abscisic acid contents and increases sensitivity to abiotic stress in rice (*Oryza sativa*). *Journal of Experimental Botany*, 2016, vol. 67, no. 1, pp. 315–326. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv464>
14. Tyagi H., Jha S., Sharma M., Giri J., Tyagi A. K. Rice SAPs are responsive to multiple biotic stresses and overexpression of OsSAP1, an A20/AN1 zinc-finger protein, enhances the basal resistance against pathogen infection in tobacco. *Plant Science*, 2014, vol. 225, pp. 68–76. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.05.016>
15. Mukhopadhyay A., Vij S., Tyagi A. K. Overexpression of a zinc-finger protein gene from rice confers tolerance to cold, dehydration, and salt stress in transgenic tobacco. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2004, vol. 101, no. 16, pp. 6309–6314. <https://doi.org/10.1073/pnas.0401572101>
16. Kuzmitskaya P. V., Urbanovich O. Yu., Kil'chevskii A. V. Identification of genes encoding stress-associated proteins containing the domains A20/AN1 in the apple genome in silico and analysis of their phylogenetic relationship. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2018, no. 62, pp. 455–462 (in Russian).
17. Dong Q., Duan D., Zhao S., Xu B., Luo J., Wang Q., Huang D., Liu C., Li C., Gong X., Mao K., Ma F. Genome-wide analysis and cloning of the apple stress-associated protein gene family reveals MdSAP15, which confers tolerance to drought and osmotic stresses in transgenic *Arabidopsis*. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, vol. 19, no. 9, art. 2478. <https://doi.org/10.3390/ijms19092478>
18. Jaakola L., Pirttilä A. M., Halonen M., Hohtola A. Isolation of high quality RNA from bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) fruit. *Molecular Biotechnology*, 2001, vol. 19, no. 2, pp. 201–203. <https://doi.org/10.1385/MB:19:2:201>
19. Bustin S. A., Benes V., Garson J. A., Hellems J., Huggett J., Kubista M. [et al.]. The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clinical Chemistry*, 2009, vol. 55, no. 4, pp. 611–622. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.112797>
20. Zhao T., Liang D., Wang P., Liu J., Ma F. Genome-wide analysis and expression profiling of the DREB transcription factor gene family in *Malus* under abiotic stress. *Molecular Genetics and Genomics*, 2012, vol. 287, no. 5, pp. 423–436. <https://doi.org/10.1007/s00438-012-0687-7>
21. Rao X., Huang X., Zhou Z., Lin X. An improvement of the 2^{-ΔΔCT} method for quantitative real-time polymerase chain reaction data analysis. *Biostatistics, Bioinformatics and Biomathematics*, 2013, vol. 3, no. 3, pp. 71–85.
22. Pearce S., Ferguson A., King J., Wilson Z. A. FlowerNet: a gene expression correlation network for anther and pollen development. *Journal of Plant Physiology*, 2015, vol. 167, no. 4, pp. 1717–1730. <https://doi.org/10.1104/pp.114.253807>
23. Peng F. Y., Weselake R. J. Gene coexpression clusters and putative regulatory elements underlying seed storage reserve accumulation in *Arabidopsis*. *BMC Genomics*, 2011, vol. 12, art. 286. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-12-286>
24. Wang S., Yin Y., Ma Q., Tang X., Hao D., Xu Y. Genome-scale identification of cell-wall related genes in *Arabidopsis* based on co-expression network analysis. *BMC Plant Biology*, 2012, vol. 12, art. 138. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-12-138>
25. Ghanbarian A. T., Hurst L. D. Neighboring Genes Show Correlated Evolution in Gene Expression. *Molecular Biology and Evolution*, 2015, vol. 32, no. 7, pp. 1748–1766. <https://doi.org/10.1093/molbev/msv053>
26. Barah P., Jayavelu N. D., Rasmussen S., Nielsen H. B., Mundy J., Bones A. M. Genome-scale cold stress response regulatory networks in ten *Arabidopsis thaliana* ecotypes. *BMC Genomics*, 2013, vol. 14, no. 1, art. 722. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-722>

Информация об авторах

Кузмицкая Полина Викторовна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 34, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0002-1929-4315>. E-mail: p.kuzmitskaya@igc.by

Королева Екатерина Сергеевна – мл. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 34, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: e.koroleva@igc.by

Урбанович Оксана Юрьевна – д-р биол. наук, доцент, заведующий лабораторией. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Ф. Скорины, 34, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: o.urbanovich@igc.by

Information about the authors

Polina V. Kuzmitskaya – Ph. D. (Biol.), Senior Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (34, F. Skoriny Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0002-1929-4315>. E-mail: p.kuzmitskaya@igc.by

Katsiaryna S. Karaleva – Junior Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (34, F. Skoriny Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: e.koroleva@igc.by

Oksana Yu. Urbanovich – D. Sc. (Biol.), Associate Professor, Head of the Laboratory. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (34, F. Skoriny Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: o.urbanovich@igc.by