

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 615.451.16:615.322
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-4-391-401>

Поступила в редакцию 24.06.2020
Received 24.06.2020

Е. В. Вязов¹, Т. Г. Каляга¹, Е. А. Филипчик¹, О. Ю. Сафонова¹, Н. В. Шалыго¹, А. Н. Гриц²,
Е. Н. Карасева², Т. Б. Макарова², Е. И. Рыбинская², А. Л. Ольшаникова², Т. Г. Янчевская²

¹Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

²Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННОЙ ЖАСМОНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ЗАЩИТНОЙ СИСТЕМЫ РАССАДЫ КАРТОФЕЛЯ (*SOLANUM TUBEROSUM* L.) ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ НА ИСКУССТВЕННОМ ИОНООБМЕННОМ СУБСТРАТЕ И ЗАРАЖЕНИИ X-ВИРУСОМ КАРТОФЕЛЯ

Аннотация. Изучены содержание активных форм кислорода (АФК), активность ферментов аскорбат-глутатионового цикла, проанализировано количество низкомолекулярных антиоксидантов: аскорбата и глутатиона, активность фенольной пероксидазы, содержание водорастворимых фенолов и уровень экспрессии гена маркера гиперчувствительного ответа (*HSR*) и генов PR-белков (*Chit*, *Glu* и *TLP*) в рассаде картофеля, выращенной на ионообменном субстрате в присутствии жасмоновой кислоты (ЖК) в концентрациях 10^{-8} и 10^{-6} М, при заражении X-вирусом картофеля (ХВК). Показано накопление АФК, увеличение содержания восстановленного аскорбата и интенсивное потребление восстановленного глутатиона в рассаде картофеля под действием ЖК, а также резкое усиление экспрессии генов *HSR*, *Chit*, *Glu* и *TLP* в листьях рассады картофеля, выращиваемой на субстрате с добавлением 10^{-6} М ЖК, до заражения ХВК. В контрольных растениях уровень экспрессии генов *HSR* и *TLP* увеличивался только после заражения ХВК.

Ключевые слова: *Solanum tuberosum*, картофель, PR-белки, индуцированная устойчивость, X-вирус картофеля, защитная система, активные формы кислорода, жасмоновая кислота

Для цитирования: Влияние экзогенной жасмоновой кислоты на функционирование защитной системы рассады картофеля (*Solanum tuberosum* L.) при выращивании на искусственном ионообменном субстрате и заражении X-вирусом картофеля / Е. В. Вязов [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2020. – Т. 65, № 4. – С. 391–401. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-4-391-401>

Yauhen V. Viazau¹, Tatsiana G. Kaliaha¹, Elena A. Filipchik¹, Olga Y. Safonova¹, Nikolai V. Shalygo¹,
Aleksandr N. Grits², Elena N. Karasiova², Tatsiana B. Makarova², Katsiarina I. Rybinskaya²,
Anna L. Olshanskaya², Tamara G. Yanchevskaya²

¹Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

²V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

INFLUENCE OF EXOGENOUS JASMONIC ACID ON THE FUNCTIONING OF A DEFENSE SYSTEM OF POTATO SEEDLINGS (*SOLANUM TUBEROSUM* L.) GROWN ON ARTIFICIAL ION EXCHANGE SUBSTRATE AND INFECTED WITH POTATO VIRUS X

Abstract. The content of reactive oxygen species, the activities of ascorbate-glutathione cycle enzymes, the content of low molecular weight antioxidants: ascorbate and glutathione, the activity of phenolic peroxidase, the content of water-soluble phenols and the expression level of the hypersensitive response marker gene (*HSR*) and PR protein genes (*Chit*, *Glu* and *TLP*) in potato seedlings grown on an ion-exchange substrate in the presence of jasmonic acid at a concentration of 10^{-8} and 10^{-6} M and infected with potato virus X were studied. Accumulation of reactive oxygen species, an increase in the content of reduced ascorbate and an intensive consumption of reduced glutathione upon action of jasmonic acid, as well as a sharp increase in the expression of *HSR*, *Chit*, *Glu*, and *TLP* genes in the leaves of potato seedlings grown on a substrate with the addition of 10^{-6} M jasmonic acid before infection were shown. In control plants, the expression of the *HSR* and *TLP* genes increased only after infection with potato virus X.

Keywords: *Solanum tuberosum*, potato, PR proteins, induced resistance, potato X virus, defense system, reactive oxygen species, jasmonic acid

For citation: Viazau Y. V., Kaliaha T. G., Filipchik E. A., Safonova O. Y., Shalygo N. V., Grits A. N., Karasiova E. N., Makarova T. B., Rybinskaya K. I., Olshanskaya A. L., Yanchevskaya T. G. Influence of exogenous jasmonic acid on the functioning of a defense system of potato seedlings (*Solanum tuberosum* L.) grown on artificial ion exchange substrate and infected with potato virus X. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 4, pp. 391–401 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-4-391-401>

Введение. Большинство химических средств защиты растений являются опаснейшими пестицидами. Кроме того, в популяциях патогенов появляются резистентные к ним формы, что приводит к снижению эффективности действия этих средств защиты. Поэтому поиск альтернативных, экологически чистых путей решения проблемы защиты растений направлен на биохимическую регуляцию иммунного потенциала растений и формирование устойчивости к определенным патогенам. Для этих целей можно использовать ряд экологически безопасных индукторов, среди которых салициловая кислота, жасмоновая кислота (ЖК), хитозан, α -токоферол и микробиологические препараты [1, 2]. Под их воздействием в растении формируется как системная приобретенная устойчивость (*systemic acquired resistance*), вызываемая в естественных условиях патогенами и насекомыми, так и индуцированная системная устойчивость (*induced systemic resistance*), вызываемая обычно бактериями и грибами, обитающими в корнеобитаемой среде [3–5].

В литературе широко обсуждаются вопросы влияния ЖК на функционирование защитной системы растений, в том числе ее участие в механизмах инициации индуцированной устойчивости, однако многие данные крайне противоречивы [6, 7]. Предполагается, что ЖК участвует в формировании индуцированной системной устойчивости через накопление жасмонатов и активацию широкого спектра защитных реакций [4]. Имеются данные о том, что ЖК активирует иммунитет против фитофагов и некротрофов [8]. ЖК и ее конъюгаты, такие как метилжасмонат и жасмонат-изолейцин, широко распространены в растительном мире и являются естественными регуляторами физиологических процессов. В первую очередь в систему защиты растений от патогенов вовлекаются жасмонаты. В последние десятилетия фитофизиологами активно изучаются функции оксипинов – биологически активных молекул, образующихся в ходе окисления полиненасыщенных жирных кислот. Интерес, проявляемый в настоящее время к окислительному метаболизму жирных кислот в растениях, в значительной степени связан с успехами в исследовании простагландинов, лейкотриенов, липоксинов и тромбоксанов, получивших групповое название «эйкозаноиды». Сигнально-регуляторные функции этих соединений в животных клетках, включая экспрессию генов, изучены весьма подробно [9]. Для растений наиболее характерны ненасыщенные жирные кислоты октадекановидного ряда [3], к которым относится ЖК и ее производные. Механизмы активации экспрессии жасмонат-чувствительных генов к настоящему времени известны лишь в общих чертах. Первичный рецептор, воспринимающий сигнал ЖК, до сих пор не известен [4]. Считается, что одним из участников передачи сигнала ЖК является белок JAR1, проявляющий активность аминотрансферазы, которая конъюгирует аминокислоты с ЖК [5]. ЖК как индуктор болезнестойкости относится к числу химических средств защиты непрямого (не биоцидного) действия, оказывающих влияние на возбудителей болезней через усиление в растениях природных реакций болезнестойкости. Такие индукторы могут длительное время защищать растения от заражения патогенами, что важно при микроразмножении растений картофеля *in vitro*, адаптации их *in vivo* и получении из них мини-клубней. Особенно актуальна защита от одного из наиболее распространенных картофельных патогенов – X-вируса картофеля (ХВК) [10].

Для изучения особенностей функционирования защитной системы устойчивых растений можно использовать молекулярно-биологические подходы, в частности анализ уровней экспрессии генов, кодирующих антипатогенные защитные белки (в том числе PR-белки). На примере растений пшеницы показано, что повышенная экспрессия генов, кодирующих PR-белки β -1,3-глюканазу, хитиназу, тауматин-подобный белок и ингибитор протеиназ, регистрируется в сортах, которые в среднем более устойчивы к патогенам [11]. Помимо этого, активность защитной системы растения отражают такие показатели, как активность фенольной пероксидазы (ФПО), участвующей в лигнификации клеточной стенки [12], содержание фенольных соединений и активных форм кислорода (АФК), играющих важную роль в формировании ответной реакции растительного организма на внедрение патогена, а также активность и содержание компонентов аскорбат-глутатионового цикла – одного из основных путей нейтрализации образующихся при действии различных стрессоров АФК.

Цель настоящей работы – исследование защитного эффекта экологически безопасного природного индуктора устойчивости растений (жасмоновой кислоты в различных концентрациях) в составе корнеобитаемой среды при их выращивании на ионообменном субстрате торговой марки «Триона», разработанной в Институте экспериментальной ботаники НАН Беларуси.

В задачи исследования входил анализ содержания АФК, в том числе пероксида водорода, водорастворимых фенольных соединений и низкомолекулярных антиоксидантов (аскорбата и глутатиона), активности фенольной пероксидазы и ферментов аскорбат-глутатионового цикла, а также экспрессии генов PR-белков и гена маркера гиперчувствительного ответа в листьях рассады картофеля в условиях заражения Х-вирусом картофеля.

Объекты и методы исследования. В качестве объекта исследования использовали рассаду картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта Уладар, которую выращивали под лампами ДНаТ 400 (дуговые натриевые трубчатые лампы) на ионообменном субстрате, содержащем экологически безопасный индуктор устойчивости растений ЖК (10^{-8} и 10^{-6} М). В состав субстрата входили также цеолит, катионит Purolite C-100, анионит Tulsion A2ХМП и перлит в соотношении 14:1:5:20. В качестве контроля выступали растения, выращиваемые в тех же условиях, но без внесения ЖК в состав субстрата. Заражение ХВК проводили путем микроинъекции в верхушечную часть 30-дневных растений, одновременно натирая клеточным соком ХВК-доноров растений картофеля при помощи мелкозернистой наждачной бумаги [13]. Навески четвертого листа растения брали для исследования непосредственно перед заражением на 30-е сутки выращивания, а также через 1 неделю после заражения ХВК.

Определение общего содержания АФК проводили в экстрактах растений картофеля с помощью зонда – 2,7-дихлорфлуоресцеиндиацетата, способного окисляться в присутствии АФК до флуоресцирующего продукта дихлорфлуоресцеина. АФК определяли, регистрируя флуоресценцию дихлорфлуоресцеина ($\lambda_{\text{возб}} = 496$ нм, $\lambda_{\text{набл}} = 524$ нм) [14].

Содержание пероксида водорода определяли с помощью флуоресцентного метода, в основе которого лежит реакция окисления скополетина в присутствии H_2O_2 , катализируемая пероксидазой хрена. H_2O_2 определяли, регистрируя флуоресценцию скополетина ($\lambda_{\text{возб}} = 370$ нм, $\lambda_{\text{рег}} = 464$ нм) на спектрофлуориметре Solar (Беларусь) [15].

Для определения активности ФПО использовали методику, описанную в работе [16] и основанную на регистрации потребления гваякола в присутствии пероксида водорода. Кинетику реакции регистрировали в течение 8–10 мин при длине волны поглощения 436 нм. О скорости реакции судили по наклону кривой кинетики. Активность ФПО рассчитывали, используя коэффициент молярной экстинкции $\epsilon = 25,5 \text{ мМ}^{-1}\cdot\text{см}^{-1}$ [16].

Содержание водорастворимых фенольных соединений определяли спектрофотометрическим методом при 750 нм на спектрофотометре Solar и рассчитывали в относительных единицах [17].

Активность аскорбатпероксидазы (АПП) определяли, используя реакцию восстановления пероксида водорода аскорбатом. Кинетику потребления аскорбата регистрировали в течение 20 с при 290 нм на спектрофотометре Uvikon 931. Активность фермента рассчитывали, используя коэффициент экстинкции $\epsilon = 2,8 \text{ мМ}^{-1}\cdot\text{см}^{-1}$ [18]. Общую активность глутатионредуктазы (ГР) определяли по методу, описанному в работе [19], который основан на измерении скорости снижения оптической плотности при длине волны 340 нм, обусловленной окислением НАДФН⁺. Активность ГР рассчитывали, используя коэффициент экстинкции $\epsilon = 6,22 \text{ мкМ}^{-1}\cdot\text{см}^{-1}$ [19].

Уровни общего и восстановленного аскорбата определяли с помощью спектрофотометрического метода при 524 нм. Содержание аскорбата рассчитывали, используя коэффициент молярной экстинкции $8,7 \text{ мМ}^{-1}\cdot\text{см}^{-1}$ [20].

Содержание окисленного (GSSG) и восстановленного (GSH) глутатиона определяли с помощью спектрофлуориметрического метода, модифицированного в Институте биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, в основе которого лежит способность *o*-фталевого альдегида образовывать флуоресцирующий продукт с GSSG при pH 12,0 и с GSH при pH 8,0 [21].

Содержание общего белка определяли по методу Бредфорда [22].

Для определения уровня экспрессии гена маркера гиперчувствительного ответа *HSR* и генов *Chit*, *Glu*, *TLP*, кодирующих PR-белки (хитиназу, β -1,3-глюканазу и тауматин-подобный белок

соответственно), из листьев картофеля выделяли общую рибонуклеиновую кислоту (РНК) с помощью реагента TRIzolTM (AppliChem, Германия). Количество выделенной РНК определяли по поглощению при 260 нм на спектрофотометре NanoDrop 2000c (Thermo Scientific, США). Степень чистоты полученных образцов оценивали по соотношению A_{260}/A_{280} (данный показатель должен быть больше 1,7) [23]. Для получения кДНК на матрице РНК использовали реакцию обратной транскрипции с применением обратной транскриптазы вируса мышиной лейкемии Молони. Синтез кДНК проводили с использованием ProtoScript II Reverse Transcriptase (BioLabs, США) в амплификаторе MJ Mini (Bio-Rad, США). Полученную кДНК хранили в морозильной камере при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ [21]. Подбор олигонуклеотидных праймеров, специфичных к генам защитных белков, проводили, используя последовательности мРНК выбранных генов, найденных в базе данных Nucleotide NCBI. Праймеры синтезировали в лаборатории ДНК-праймеров Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси. Дизайн праймеров для генов *Chit*, *Glu*, *TLP* и *HSR* осуществляли самостоятельно. Нуклеотидная последовательность праймеров для гена-нормализатора *EF* (кодирует фактор элонгации 1α), используемого при количественных расчетах уровня экспрессии изучаемых генов, была взята из работы [24]. Уровень экспрессии генов определяли методом ПЦР-анализа в реальном времени (ПЦР-РВ). Реакционная смесь (10 мкл) содержала: 1 мкл кДНК, 10 пмоль каждого праймера, 4 мкл 2,5×реакционной смеси для проведения ПЦР-РВ в присутствии EVA Green («Синтол», Россия) и воду. ПЦР-РВ проводили с использованием термоциклера C1000 Touch Thermal Cycler с оптическим реакционным модулем CFX96 (Bio-Rad, США) в следующих условиях: предварительная денатурация – при $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 5 мин; плавление – при $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 15 с; отжиг – при $55\text{--}60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 45 с. Количество циклов амплификации – 40–50. Для обработки полученных результатов использовали программу Bio-Rad CFX Maestro. Уровень экспрессии генов определяли в относительных единицах, нормируя его по экспрессии гена-нормализатора *EF*.

Для статистической обработки экспериментальных данных использовали программы Excel 2010 (Microsoft, США) и SigmaPlot 12.5 (SYSTAT Software). Рассчитывали среднее арифметическое значений отдельных повторностей, стандартную ошибку среднего и достоверность отличий между средними величинами [25]. Все описанные эксперименты проводили в трехкратной биологической повторности.

Результаты и их обсуждение. Изучено влияние ЖК на содержание АФК, а также на содержание и активность компонентов антиоксидантной системы рассады картофеля.

Показано, что исходно (до заражения) количество АФК в контроле и при использовании 10^{-8} М ЖК было одинаковым. При более высокой концентрации ЖК (10^{-6} М) уровень АФК в рассаде превышал контрольное значение на 24 % (рис. 1, *a*). Напротив, содержание H_2O_2 исходно возрастало по мере увеличения концентрации ЖК (рис. 1, *b*). В инфицированных ХВК растениях через 1 неделю после заражения происходило повышение содержания АФК в 1,5–2 раза по сравнению с исходным уровнем и оказалось практически одинаковым во всех изученных вариантах, в то время как содержание пероксида водорода резко возрастало (в 9 раз) только в контроле. В опытных вариантах (10^{-8} и 10^{-6} М ЖК) в таких условиях содержание H_2O_2 уменьшилось, особенно при использовании 10^{-8} М ЖК (рис. 1, *b*). Таким образом, при использовании ЖК в концентрации 10^{-6} М наиболее высокий уровень АФК в рассаде картофеля отмечается как до, так и после заражения ХВК.

Анализ активности АПР и содержания аскорбата показывает, что активность фермента в растениях картофеля до заражения вирусом в контрольных и опытных образцах достигала в среднем $20\text{ нмоль}\cdot\text{мкг}^{-1}\text{ белка}\cdot\text{ч}^{-1}$ (рис. 2, *a*). При этом количество восстановленного аскорбата возрастало по мере увеличения концентрации ЖК (рис. 2, *b*).

На рис. 3 показан уровень активности ГР и соотношение GSH/GSSG в 30-дневной рассаде картофеля до заражения. Из рис. 3 видно, что активность ГР была приблизительно на одном уровне во всех вариантах и составляла в среднем $1,9\text{ нмоль}\cdot\text{мкг}^{-1}\text{ белка}\cdot\text{ч}^{-1}$ (рис. 3, *a*). Вместе с тем в рассаде картофеля, выращенной на ионообменном субстрате, наибольшее соотношение GSH/GSSG было в контрольном образце, а при обработке 10^{-8} и 10^{-6} М ЖК данный показатель снижался в среднем в 1,4 раза (рис. 3, *b*). Уменьшение соотношения GSH/GSSG в опытных образцах

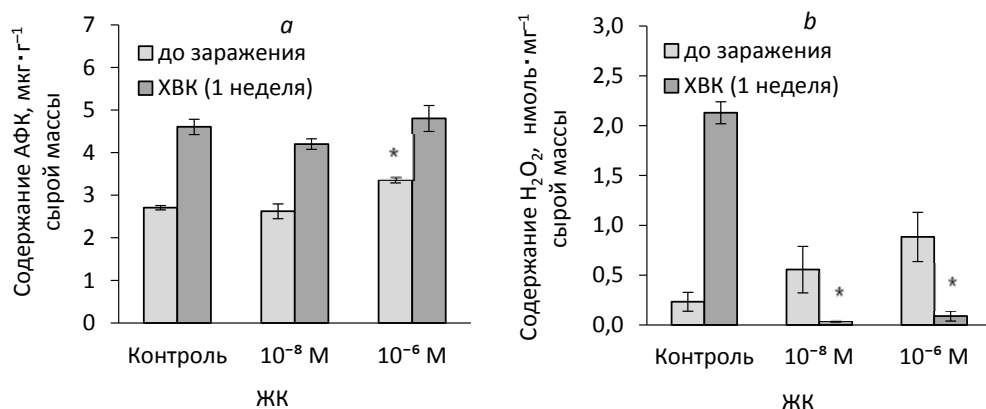


Рис. 1. Общее содержание АФК (a) и H₂O₂ (b) в листьях рассады картофеля, выращенной на субстрате, содержащем ЖК в концентрациях 10⁻⁸ и 10⁻⁶ М, и зараженной ХВК. Контроль – без добавления ЖК. Здесь и далее: * – статистически значимые отличия от контроля ($p \leq 0,05$)

Fig. 1. Total reactive oxygen species (a) and H₂O₂ (b) contents in the leaves of potato seedlings grown on a substrate containing 10⁻⁸ and 10⁻⁶ M jasmonic acid and infected with potato virus X. Control – without jasmonic acid. Here and elsewhere: * – statistically significant difference from control ($p \leq 0,05$)

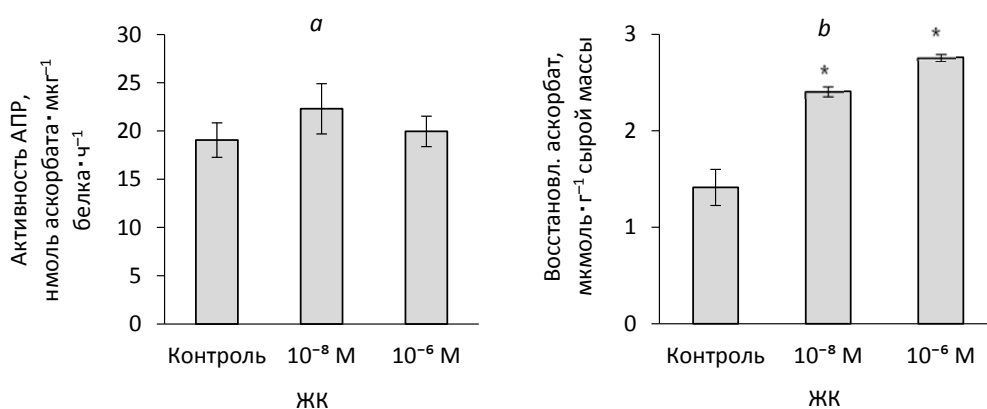


Рис. 2. Активность АПР (a) и содержание восстановленного аскорбата (b) в листьях рассады картофеля, выращенной на субстрате, содержащем ЖК в концентрациях 10⁻⁸ и 10⁻⁶ М. Контроль – без добавления ЖК

Fig. 2. Ascorbate peroxidase activity (a) and reduced ascorbate content (b) in the leaves of potato seedlings grown on a substrate containing 10⁻⁸ and 10⁻⁶ M jasmonic acid. Control – without jasmonic acid

растений картофеля, по-видимому, связано с расходом GSH на пополнение уровня восстановленного аскорбата, содержание которого увеличивается при действии ЖК (10⁻⁶ и 10⁻⁸ М), что показано выше.

Содержание водорастворимых фенолов в растениях, выращенных на субстрате, содержащем в качестве индуктора устойчивости ЖК, было ниже контроля как исходно, так и в зараженных ХВК. Наиболее низкий уровень водорастворимых фенолов регистрировали в растениях при использовании ЖК в концентрации 10⁻⁶ М (рис. 4, a). Повышение активности ФПО зарегистрировано только в контрольном варианте до заражения растений ХВК (рис. 4, b). Через 1 неделю после заражения активность данного фермента снижалась. Полученные данные свидетельствуют о том, что внесение ЖК в состав корнеобитаемой среды рассады картофеля приводит к снижению общего содержания водорастворимых фенолов и активности ФПО. Необходимо отметить, что как водорастворимые фенольные соединения, так и ФПО играют важную роль в защите растения от патогенов, участвуя в лигнификации клеточной стенки и нейтрализации образующихся АФК [12, 26]. Поэтому полученные результаты представляют особый интерес с учетом известной роли ЖК в активации антипатогенного ответа растения. Снижение количества фенолов на фоне практически не изменяющейся активности АПР можно объяснить необходимостью

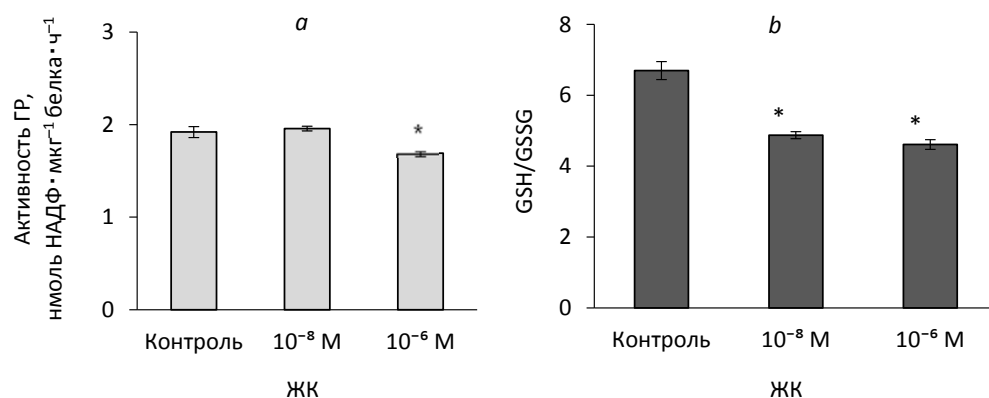


Рис. 3. Активность ГР (a) и соотношение GSH/GSSG (b) в листьях рассады картофеля, выращенной на субстрате, содержащем ЖК в концентрациях 10^{-8} и 10^{-6} М. Контроль – без добавления ЖК

Fig. 3. Glutathione reductase activity (a) and GSH/GSSG ratio (b) in the leaves of potato seedlings grown on a substrate containing 10^{-8} and 10^{-6} M jasmonic acid. Control – without jasmonic acid

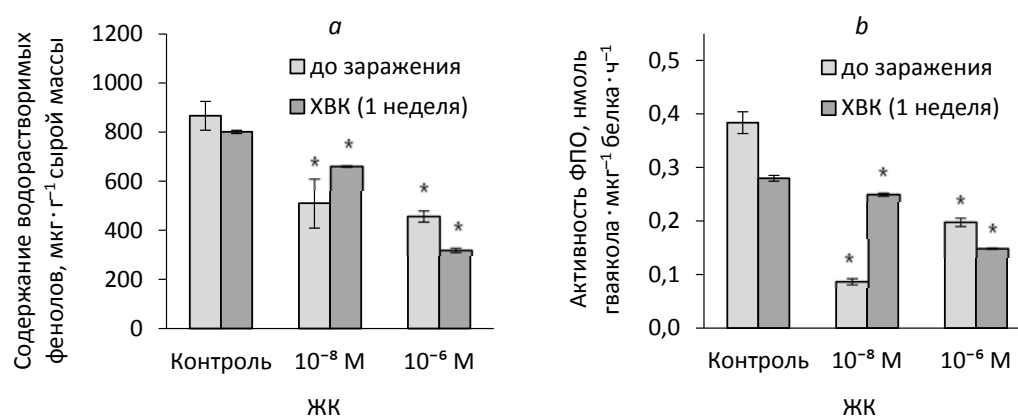


Рис. 4. Общее содержание водорастворимых фенолов (a) и активность ФПО (b) в листьях рассады картофеля, выращенной на субстрате, содержащем ЖК в концентрациях 10^{-8} и 10^{-6} М, и зараженной ХВК. Контроль – без добавления ЖК

Fig. 4. Total water-soluble phenolics content (a) and the activity of phenolic peroxidase (b) in the leaves of potato seedlings grown on a substrate containing 10^{-8} and 10^{-6} M jasmonic acid and infected with potato virus X. Control – without jasmonic acid

поддерживать повышенный уровень АФК с целью обеспечения реализации их сигнальной роли и последующей активации защитных генов, а также непосредственным участием АФК в гиперчувствительном ответе растения на внедрение патогена.

С помощью ПЦР-РВ было изучено влияние ЖК на экспрессию 4 генов, кодирующих антипатогенные защитные белки: белок-маркер гиперчувствительного ответа, хитиназу, β -1,3-глюканазу и тауматин-подобный белок (*HSR*, *Chit*, *Glu* и *TLP* соответственно). Показано наличие экспрессии гена *HSR* как в контрольных, так и в опытных растениях до заражения ХВК. При этом наиболее высокий уровень экспрессии *HSR* зарегистрирован в варианте с использованием 10^{-6} М ЖК (рис. 5, a). Кроме того, в растениях этого варианта до заражения вирусом регистрировали также и максимальные уровни экспрессии генов *Chit*, *Glu* и *TLP* (рис. 5, b–d). Полученные данные свидетельствуют о том, что в растениях, выращенных на среде с добавлением 10^{-6} М ЖК, антипатогенная защитная система была активирована. Через 1 неделю после заражения ХВК динамика изменения уровней экспрессии изученных генов в контроле и в опытных растениях существенно отличалась (рис. 5, b–d). Так, в контрольных растениях резко (в 3,28 раза по сравнению с исходным уровнем) возростала экспрессия гена *HSR*, а кроме того, отмечалась активация экспрессии гена *TLP*.

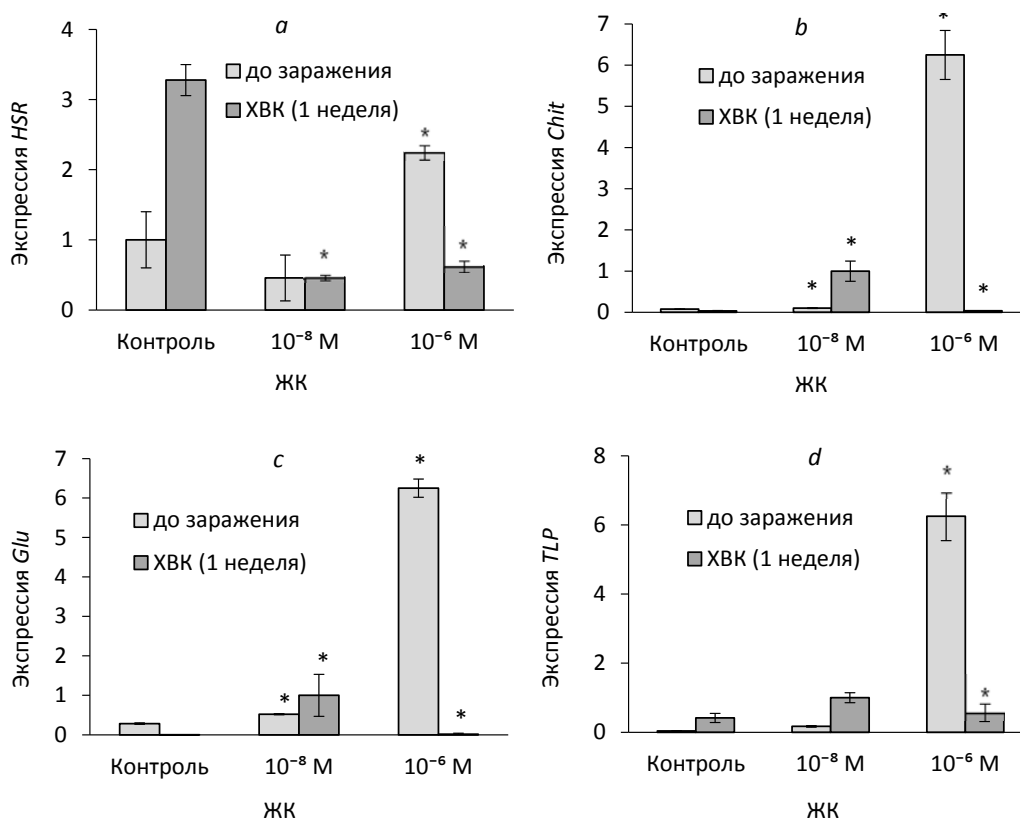


Рис. 5. Уровень экспрессии генов (a – *HSR*; b – *Chit*; c – *Glu*; d – *TLP*), кодирующих антипатогенные защитные белки, в листьях рассады картофеля, выращенной на субстрате, содержащем ЖК в концентрациях 10^{-8} и 10^{-6} М, и зараженной ХВК. Контроль – без добавления ЖК

Fig. 5. Expression of genes (a – *HSR*; b – *Chit*; c – *Glu*; d – *TLP*), encoding antipathogenic defense proteins in the leaves of potato seedlings grown on a substrate containing 10^{-8} and 10^{-6} M jasmonic acid and infected with potato virus X. Control – without jasmonic acid

В зараженных ХВК растениях, выращиваемых с добавлением 10^{-8} М ЖК, повышалась экспрессия генов *Chit*, *Glu* и *TLP*, а уровень экспрессии гена *HSR* практически не изменялся относительно исходного значения. В зараженных растениях варианта 10^{-6} М ЖК уровень экспрессии гена *HSR* был ниже по сравнению с инфицированными растениями контроля, а также ниже исходного уровня, зарегистрированного в этом же варианте. Выявленные различия в уровнях экспрессии генов вполне объяснимы. Гиперчувствительный ответ – один из основных механизмов препятствования распространению микробных патогенов в растении, характеризующийся гибелью клеток, которые окружают инфицированную область и запускают процессы, формирующие системную устойчивость растения. Гены *Chit*, *Glu* и *TLP* кодируют важнейшие белки защитной системы. Хитиназа и β -1,3-глюканаза расщепляют хитин и β -1,3-глюкан грибковых патогенов. Тауматин-подобный белок участвует в разрушении мембран грибковых патогенов. Известно участие ЖК в активации генов, кодирующих защитные белки, играющие роль в ответе растения на действие ряда стрессоров [27–29]. Отсутствие увеличения экспрессии генов *HSR*, *Chit*, *Glu* и *TLP* в инфицированных ХВК растениях, выращенных на субстрате с добавлением 10^{-6} М ЖК, может быть обусловлено высокой исходной экспрессией этих генов, достаточной для защиты от вируса. Напротив, контрольные растения характеризовались низким исходным уровнем экспрессии изученных генов. В этом случае при заражении рассады ХВК в растениях реализовались механизмы защиты через гиперчувствительный ответ. На это указывает резкое возрастание в них экспрессии гена *HSR* и высокий уровень пероксида водорода. Отдельно следует отметить повышение экспрессии гена *TLP* в контрольных растениях, зараженных ХВК. По-видимому, тауматин-подобный белок, кодируемый этим геном, важен для защиты растений картофеля от X-вируса.

Заклучение. Добавление ЖК в ионообменный субстрат при выращивании рассады картофеля без заражения ХВК приводит к увеличению общего содержания АФК, в том числе пероксида водорода. В таких условиях наблюдается накопление восстановленного аскорбата и интенсивное потребление GSH в листьях рассады. Показано, что использование высокой концентрации ЖК (10^{-6} М) вызывает резкую активацию экспрессии гена маркера гиперчувствительного ответа *HSR* и генов PR-белков – *Chit*, *Glu* и *TLP*, кодирующих хитиназу, β -1,3-глюканазу и тауматин-подобный белок соответственно, еще в незараженных растениях. Установлено, что при заражении такой рассады ХВК через 1 неделю после инфицирования экспрессия указанных генов снижается, а функционирование антиоксидантной системы синхронизируется, что может свидетельствовать об успешном противодействии распространению вируса. Контрольные растения, выращиваемые без добавления ЖК, характеризовались низким уровнем экспрессии генов *Chit*, *Glu* и *TLP*. При заражении ХВК в них резко возрастала экспрессия гена *HSR*, а также увеличивался уровень экспрессии гена *TLP*, что указывает на реализацию механизма защиты через гиперчувствительный ответ и на важную роль тауматин-подобного белка в защите растений картофеля от Х-вируса.

Благодарности. Работа финансирована в рамках Государственной программы Республики Беларусь «Наукоёмкие технологии и техника» (мероприятие 34, 2016–2020 гг.).

Acknowledgements. This work was supported by the State Program of the Republic of Belarus “Science-intensive technologies and equipment”, grant 34 (2016–2020).

Список использованных источников

1. Янчевская, Т. Г. Физиолого-биохимическая оптимизация минерального питания растений / Т. Г. Янчевская. – Б. м. : LAP LAMBERT Academic Publishing, 2018. – 547 с.
2. Stimulation of cellular mechanisms of potato antiviral resistance by the action of a preparation based on *Bacillus subtilis* bacteria / T. G. Yanchevskaya [et al.] // Appl. Biochem. Microbiol. – 2018. – Vol. 54, N 3. – P. 324–330. <https://doi.org/10.1134/S0003683818030158>
3. Поликсенова, В. Д. Индуцированная устойчивость растений к патогенам и абиотическим стрессовым факторам (на примере томата) / В. Д. Поликсенова // Вестн. БГУ. Сер. 2. Химия. Биология. География. – 2009. – № 1. – С. 48–60.
4. Choudhary, D. K. Induced systemic resistance (ISR) in plants: mechanism of action / D. K. Choudhary, A. Prakash, B. N. Johri // Indian J. Microbiol. – 2007. – Vol. 47, N 4. – P. 289–297. <https://doi.org/10.1007/s12088-007-0054-2>
5. Induced Systemic Resistance (ISR) and Fe deficiency responses in dicot plants / F. J. Romera [et al.] // Front. Plant Sci. – 2019. – Vol. 10. – Art. 287. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00287>
6. Hormonal modulation of plant immunity / C. M. Pieterse [et al.] // Annu. Rev. Cell Dev. Biol. – 2012. – Vol. 28, N 1. – P. 489–521. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-092910-154055>
7. Disease resistance or growth: the role of plant hormones in balancing immune responses and fitness costs / N. Denancé [et al.] // Front Plant Sci. – 2013. – Vol. 4. – Art. 155. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00155>
8. Pieterse, C. M. J. Different shades of JAZ during plant growth and defense / C. M. J. Pieterse, R. Pierik, S. C. M. van Wees // New Phytol. – 2014. – Vol. 204, N 2. – P. 261–264. <https://doi.org/10.1111/nph.13029>
9. Vasyukova, N. I. Jasmonate-dependent defense signaling in plant tissues / N. I. Vasyukova, O. L. Ozeretskoyevskaya // Rus. J. Plant Physiol. – 2009. – Vol. 56, N 5. – P. 581–590. <https://doi.org/10.1134/S102144370905001X>
10. Salazar, L. F. Potato viruses and their control / L. F. Salazar. – Lima, Peru : Intern. Potato Center (CIP), 1996. – 214 p.
11. PR-белки как маркеры устойчивости озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) к листовым патогенам / Е. В. Вязов [и др.] // Вестн. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2019. – Т. 64, № 3. – С. 286–291.
12. Peroxidases and lignification in relation to the intensity of water-deficit stress in white clover (*Trifolium repens* L.) / V.-R. Lee [et al.] // J. Exp. Botany. – Vol. 58, N 6. – P. 1271–1279. <https://doi.org/10.1093/jxb/erl280>
13. Инокуляция, накопление и идентификация вируса PVY картофеля в тест-растениях *Nicotiana tabacum* / В. Т. Хасанов [и др.] // Вестн. КАТУ им. С. Сейфуллина. – 2012. – № 4 (75). – С. 31–36.
14. Kozel, N. V. Barley leaf antioxidant system under photooxidative stress induced by Rose Bengal / N. V. Kozel, N. V. Shalygo // Rus. J. Plant Physiol. – 2009. – Vol. 56, N 3. – P. 316–322. <https://doi.org/10.1134/S1021443709030030>
15. A highly sensitive fluorescent micro-assay of H₂O₂ release from activated human leukocytes using a dihydroxyphenoxazine derivative / J. G. Mohanty [et al.] // J. Immunol. Meth. – 1997. – Vol. 202, N 2. – P. 133–141. [https://doi.org/10.1016/S0022-1759\(96\)00244-X](https://doi.org/10.1016/S0022-1759(96)00244-X)
16. Different responses of tobacco antioxidant enzymes to light and chilling stress / T. Gechev [et al.] // J. Plant Physiol. – 2003. – Vol. 160, N 5. – P. 509–515. <https://doi.org/10.1078/0176-1617-00753>
17. Запрометов, М. Н. Фенольные соединения: распространение, метаболизм и функции в растениях / М. Н. Запрометов. – М. : Наука, 1993. – 272 с.
18. Mittler, R. Detection of ascorbate peroxidase activity in native gels by inhibition of the ascorbate dependent reduction of nitroblue tetrazolium / R. Mittler, B. A. Zilinskas // Anal. Biochem. – 1993. – Vol. 212, N 2. – P. 540–546. <https://doi.org/10.1006/abio.1993.1366>

19. Over-expression of ascorbate oxidase in the apoplast of transgenic tobacco results in altered ascorbate and glutathione redox states and increased sensitivity to ozone / M. Sanmartin [et al.] // *Planta*. – 2003. – Vol. 216. – P. 918–928. <https://doi.org/10.1007/s00425-002-0944-9>
20. Козел, Н. В. Фотоокислительные процессы, индуцированные в растениях ячменя и табака сенсibilizаторами кантеновой природы : дис. ... канд. биол. наук : 03.00.02 / Н. В. Козел. – Минск, 2009. – 146 л.
21. Спектрофлуориметрический метод определения окисленного и восстановленного глутатиона в растениях / Н. В. Шалыго [и др.] // *Физиология и биохимия культурных растений*. – 2007. – Т. 39, № 3. – С. 264–270.
22. Bradford, M. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding / M. Bradford // *Anal. Biochem.* – 1976. – Vol. 72, N 1–2. – P. 248–254. <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>
23. Технология ДНК-типирования генов устойчивости ячменя к засухе : метод. указания / сост. : И. Н. Доманская [и др.]. – Минск : Право и экономика, 2011. – 31 с.
24. Пасалари, Х. Экспрессия генов защитного ответа в листьях трансгенного картофеля после обработки глифосатом / Х. Пасалари, А. Н. Евтушенков // *Вестн. БГУ. Сер. 2. Химия. Биология. География*. – 2016. – № 1. – С. 31–35.
25. Рокицкий, П. Ф. Биологическая статистика : учеб. пособие / П. Ф. Рокицкий. – Изд. 3-е, испр. – Минск : Выш. школа, 1973. – 318 с.
26. Артюхов, В. Г. Биологические мембраны: структурная организация, функции, модификация физико-химическими агентами / В. Г. Артюхов, М. А. Накваскина. – Воронеж : Изд-во Воронеж. гос. ун-та, 2000. – 294 с.
27. Wasternack, C. Jasmonates: an update on biosynthesis, signal transduction and action in plant stress response, growth and development / C. Wasternack // *Ann. Bot.* – 2007. – Vol. 100, N 4. – P. 681–697. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm079>
28. Expression profiling of *Chondrus crispus* (Rhodophyta) after exposure to methyl jasmonate / J. Collén [et al.] // *J. Exp. Bot.* – 2006. – Vol. 57, N 14. – P. 3869–3881. <https://doi.org/10.1093/jxb/erl171>
29. Characterization of alternative oxidase (AOX) gene expression in response to methyl salicylate and methyl jasmonate pre-treatment and low temperature in tomatoes / R. W. M. Fung [et al.] // *J. Plant Physiol.* – Vol. 163, N 10. – P. 1049–1060. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.11.003>

References

1. Yanchevskaya T. G. *Physiological and biochemical optimisation of mineral nutrition of plants*. S. 1., LAP LAMBERT Academic Publishing, 2018. 547 p. (in Russian).
2. Yanchevskaya T. G., Grits A. N., Kolomiets E. I., Romanovskaya T. V., Yarullina L. G., Ibragimov R. I., Tsvetkov V. O. Stimulation of cellular mechanisms of potato antiviral resistance by the action of a preparation based on *Bacillus subtilis* bacteria. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2018, vol. 54, no. 3, pp. 324–330. <https://doi.org/10.1134/S0003683818030158>
3. Poliksenova V. D. Induced resistance of plants to pathogens and abiotic stress factors (on the example of tomato). *Vestnik Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya 2. Khimiya. Biologiya. Geografiya* [Bulletin of the Belarusian State University. Series 2. Chemistry. Biology. Geography], 2009, no. 1, pp. 48–60 (in Russian).
4. Choudhary D. K., Prakash A., Johri B. N. Induced systemic resistance (ISR) in plants: mechanism of action. *Indian Journal of Microbiology*, 2007, vol. 47, no. 4, pp. 289–297. <https://doi.org/10.1007/s12088-007-0054-2>
5. Romera F. J., García M. J., Lucena C., Martínez-Medina A., Aparicio M. A., Ramos J., Alcántara E., Angulo M., Pérez-Vicente R. Induced Systemic Resistance (ISR) and Fe deficiency responses in dicot plants. *Frontiers in Plant Science*, 2019, vol. 10, art. 287. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00287>
6. Pieterse C. M., Van der Does D., Zamioudis C., Leon-Reyes A., Van Wees S. C. Hormonal modulation of plant immunity. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 2012, vol. 28, no. 1, pp. 489–521. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-092910-154055>
7. Denancé N., Sánchez-Vallet A., Goffner D., Molina A. Disease resistance or growth: the role of plant hormones in balancing immune responses and fitness costs. *Frontiers in Plant Science*, 2013, vol. 4, art. 155. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00155>
8. Pieterse C. M. J., Pierik R., van Wees S. C. M. Different shades of JAZ during plant growth and defense. *New Phytologist*, 2014, vol. 204, no. 2, pp. 261–264. <https://doi.org/10.1111/nph.13029>
9. Vasyukova N. I., Ozeretskovskaya O. L. Jasmonate-dependent defense signaling in plant tissues. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2009, vol. 56, no. 5, pp. 581–590. <https://doi.org/10.1134/S102144370905001X>
10. Salazar L. F. *Potato viruses and their control*. Lima, Peru, Intern. Potato Center (CIP), 1996. 214 p.
11. Viazau Y. V., Radyuk M. S., Filipchik E. A., Shalygo N. V. PR-proteins as markers of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) resistance to leaf pathogens. *Vesti Natsyyanal'noi akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2019, vol. 64, no. 3, pp. 286–291 (in Russian).
12. Lee B. R., Kim K. Y., Jung W. J., Avice J. C., Ourry A., Kim T. H. Peroxidases and lignification in relation to the intensity of water-deficit stress in white clover (*Trifolium repens* L.). *Journal of Experimental Botany*, vol. 58, no. 6, pp. 1271–1279. <https://doi.org/10.1093/jxb/erl280>
13. Khasanov V. T., Muranets A. P., Orazbaeva G. K., Bukaev A. A. Inoculation, accumulation and identification of potato PVY virus in *Nicotiana tabacum* test plants. *Vestnik nauki Kazakhskogo agrotekhnicheskogo universiteta imeni S. Seifullina* [Science bulletin of S. Seifullin Kazakh Agrotechnical University], 2012, no. 4 (75), pp. 31–36 (in Russian).
14. Kozel N. V., Shalygo N. V. Barley leaf antioxidant system under photooxidative stress induced by Rose Bengal. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2009, vol. 56, no. 3, pp. 316–322. <https://doi.org/10.1134/S1021443709030030>

15. Mohanty J. G., Jaffe J. S., Schulman E. S., Raible D. G. A highly sensitive fluorescent micro-assay of H₂O₂ release from activated human leukocytes using a dihydroxyphenoxazine derivative. *Journal of Immunological Methods*, 1997, vol. 202, no. 2, pp. 133–141. [https://doi.org/10.1016/s0022-1759\(96\)00244-x](https://doi.org/10.1016/s0022-1759(96)00244-x)
16. Gechev T., Willekens H., Van Montagu M., Inzé D., Van Camp W., Toneva V., Minkov I. Different responses of tobacco antioxidant enzymes to light and chilling stress. *Journal of Plant Physiology*, 2003, vol. 160, no. 5, pp. 509–515. <https://doi.org/10.1078/0176-1617-00753>
17. Zaprometov M. N. *Phenolic compounds: distribution, metabolism and functions in plants*. Moscow, Nauka Publ., 1993. 272 p. (in Russian).
18. Mittler R., Zilinskas B. A. Detection of ascorbate peroxidase activity in native gels by inhibition of the ascorbate dependent reduction of nitroblue tetrazolium. *Analytical Biochemistry*, 1993, vol. 212, no. 2, pp. 540–546. <https://doi.org/10.1006/abio.1993.1366>
19. Sanmartin M., Drogoudi P. A., Lyons T., Pateraki I., Barnes J., Kanellis A. K. Over-expression of ascorbate oxidase in the apoplast of transgenic tobacco results in altered ascorbate and glutathione redox states and increased sensitivity to ozone. *Planta*, 2003, vol. 216, pp. 918–928. <https://doi.org/10.1007/s00425-002-0944-9>
20. Kozel N. V. *Photooxidative processes induced in barley and tobacco plants by xanthene photosensitizers*. Ph. D. Thesis. Minsk, 2009. 146 p.
21. Shalygo N. V., Shcherbakov R. A., Domanskaya I. N., Radyuk M. S. Spectrofluorometrical method of oxidized and reduced glutathione determination in plants. *Fiziologiya i biokhimiya kulturnykh rastenii = Physiology and biochemistry of cultivated plants*, 2007, vol. 39, no. 3, pp. 264–270 (in Russian).
22. Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 1976, vol. 72, no. 1–2, pp. 248–254. <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>
23. Domanskaya I. N., Radyuk M. S., Budakova E. A., Samovich T. V., Spivak E. A., Shalygo N. V. *DNA typing technology for genes of barley resistance to drought: guidelines*. Minsk, Pravo i ekonomika Publ., 2011. 31 p. (in Russian).
24. Pasalari Kh., Evtushenkov A. N. PR-genes expression in the lives of transgenic potato plants after glyphosate treatment. *Vestnik Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya 2. Khimiya. Biologiya. Geografiya* [Bulletin of the Belarusian State University. Series 2. Chemistry. Biology. Geography], 2016, no. 1, pp. 31–35 (in Russian).
25. Rokitskii P. F. *Biological statistics. 3rd ed.* Minsk, Vysheishaya shkola Publ., 1973. 318 p. (in Russian).
26. Artyukhov V. G., Nakvaskina M. A. *Biological membranes: structural organization, functions, modification by physico-chemical agents*. Voronezh, Publishing House of Voronezh State University, 2000. 294 p. (in Russian).
27. Wasternack C. Jasmonates: an update on biosynthesis, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. *Annals of Botany*, 2007, vol. 100, no. 4, pp. 681–697. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm079>
28. Collén J., Hervé C., Guisle-Marsollier I., Léger J. J., Boyen C. Expression profiling of *Chondrus crispus* (Rhodophyta) after exposure to methyl jasmonate. *Journal of Experimental Botany*, 2006, vol. 57, no. 14, pp. 3869–3881. <https://doi.org/10.1093/jxb/erl171>
29. Fung R. W. M., Wang C. Y., Smith D. L., Gross K. C., Tao Y., Tian M. Characterization of alternative oxidase (AOX) gene expression in response to methyl salicylate and methyl jasmonate pre-treatment and low temperature in tomatoes. *Journal of Plant Physiology*, vol. 163, no. 10, pp. 1049–60. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.11.003>

Информация об авторах

Вязов Евгений Викторович – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: yauhen.viazau@gmail.com

Каляга Татьяна Геннадьевна – мл. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: t_kalyaga@mail.ru

Филипчик Елена Александровна – мл. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: lenafil050494@mail.ru

Сафонова Ольга Юрьевна – мл. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: olga.safonova.1995@mail.ru

Шальго Николай Владимирович – член-корреспондент, д-р биол. наук. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: shalygo@ibp.org.by

Information about the authors

Yauhen V. Viazau – Ph. D. (Biol.), Senior Researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: yauhen.viazau@gmail.com

Tatsiana G. Kaliha – Junior Researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: t_kalyaga@mail.ru

Elena A. Filipchik – Junior Researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: lenafil050494@mail.ru

Olga Y. Safonova – Junior Researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: olga.safonova.1995@mail.ru

Nikolai V. Shalygo – Corresponding Member, D. Sc. (Biol.). Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: shalygo@ibp.org.by

Гриц Александр Николаевич – науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: alexander196431@yahoo.com

Карасева Елена Николаевна – науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: ledymc_net@mail.ru

Макарова Татьяна Борисовна – науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: t62makarova@mail.ru

Рыбинская Екатерина Игоревна – мл. науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: kate.rybinskaya@gmail.com

Ольшаникова Анна Леонидовна – науч. сотрудник. Институт экспериментальной ботаники НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: annaolshanikova@mail.ru

Янчевская Тамара Георгиевна – канд. биол. наук. Институт экспериментальной ботаники НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: t_yanch@mail.ru

Aleksandr N. Grits – Researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: alexander196431@yahoo.com

Elena N. Karasiova – Researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ledymc_net@mail.ru

Tatsiana B. Makarova – Researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: t62makarova@mail.ru

Katsiarina I. Rybinskaya – Junior Researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kate.rybinskaya@gmail.com

Anna L. Olshanikova – Researcher. V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: annaolshanikova@mail.ru

Tamara G. Yanchevskaya – Ph. D. (Biol.). V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: t_yanch@mail.ru