

ISSN 1029-8940 (Print)
ISSN 2524-230X (Online)
УДК 577.218
<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-4-426-432>

Поступила в редакцию 04.03.2021
Received 04.03.2021

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

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ГЕН ЯБЛОНИ *MD13G1109800* ОТНОСИТСЯ К ТРАНСКРИПЦИОННЫМ ФАКТОРАМ СЕМЕЙСТВА TRIHELIX И ЭКСПРЕССИРУЕТСЯ В ОТВЕТ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ АБИОТИЧЕСКИХ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ

Аннотация. В ответе растения на различные виды абиотического стресса важную роль играет семейство транскрипционных факторов Trihelix. В представленной работе методами биоинформатики в геноме яблоны сорта Golden Delicious *in silico* был идентифицирован ген *MD13G1109800*, принадлежащий к этому семейству. Анализ хромосомной локализации показал, что он расположен на 13-й хромосоме и имеет четыре интрона. Кодированный им гипотетический белок имеет длину 365 аминокислотных остатков, молекулярную массу 42097,23 Да, изоэлектрическую точку $pI = 6,21$. Оценка его внутриклеточной локализации показала, что он находится в ядре. Анализ промоторной области гена *MD13G1109800* указывает на то, что кодируемый им белок является участником множества сигнальных путей, запускаемых как внешними, так и внутренними факторами. Уровень экспрессии гена *MD13G1109800* у подвоя яблоны ММ-106 возрастает при воздействии засухи, низкой и высокой температуры, засоления.

Ключевые слова: стресс, яблоны, Trihelix, абиотические факторы, экспрессия, qPCR, транскрипционные факторы, сорт ММ-106

Для цитирования: Кузмицкая, П. В. Ген яблоны *MD13G1109800* относится к транскрипционным факторам семейства Trihelix и экспрессируется в ответ на воздействие абиотических стрессовых факторов / П. В. Кузмицкая, Е. С. Королева, О. Ю. Урбанович // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2021. – Т. 66, № 4. – С. 426–432. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-4-426-432>

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

APPLE GENE *MD13G1109800* IS A MEMBER OF TRIHELIX FAMILY TRANSCRIPTION FACTORS AND EXPRESSED IN RESPONSE TO ABIOTIC STRESS

Annotation. The Trihelix family of transcription factors plays an important role in the plant's response to various abiotic stress types. In this work in apple Golden Delicious genome we identified apple gene *MD13G1109800* as a member of Trihelix family *in silico*. Analysis of chromosomal localization showed that it is located on chromosome 13 and has four introns. The hypothetical protein encoded by it has a length of 365 amino acid residues, a molecular weight of 42097.23 Da, an isoelectric point $pI = 6.21$ and located in the nucleus. Analysis of the promoter region of the *MD13G1109800* gene indicates that its product is a member of many signaling pathways triggered by both external and internal factors. The expression level of the *MD13G1109800* gene increases under drought, low and high temperatures, as well as salinity in the MM-106 apple rootstock.

Keywords: stress, apple, Trihelix, abiotic factors, expression, qPCR, transcription factors, variety MM-106

For citation: Kuzmitskaya P. V., Karaleva K. S., Urbanovich O. Yu. Apple gene *MD13G1109800* is a member of Trihelix family transcription factors and expressed in response to abiotic stress. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2021, vol. 66, no. 4, pp. 426–432 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2021-66-4-426-432>

Введение. Молекулярные механизмы устойчивости растений к абиотическим стрессовым факторам являются одной из наиболее актуальных проблем современной генетики культурных растений, что объясняется ее большой экономической важностью. Различные стрессовые факторы, такие как засуха, засоление, низкие и высокие температуры, оказывают отрицательное влияние на рост и развитие растений, в том числе и культурных, в результате чего может снижаться их продуктивность и ограничиваться география возделывания сортов, не приспособленных к воздействию экстремальных факторов среды, но в то же время ценных по другим признакам. Изучение механизмов формирования устойчивости к неблагоприятным факторам может способ-

ствовать созданию новых сортов, пригодных для возделывания в странах с холодным климатом, к которым относится и Беларусь.

Поскольку растения неподвижны, единственный способ выжить в непостоянных и не всегда оптимальных условиях окружающей среды заключается в их быстрой и эффективной адаптации к изменяющимся условиям. В ответ на разнообразные стрессовые абиотические факторы окружающей среды (засуха, высокие и низкие температуры, засоление) запускается экспрессия множества генов, продукты которых защищают растение. Некоторые из них индуцируются исключительно при воздействии определенных условий, например только при засухе или только при низких температурах, в то время как другие экспрессируются при воздействии различных экологических факторов [1–3]. В ответе растения на различные виды абиотического стресса важную роль играет семейство транскрипционных факторов Trihelix. Изучение паттернов экспрессии генов, кодирующих белки с доменом Trihelix, показало, что они участвуют во множестве процессов, происходящих в течение жизни растения. У риса экспрессия транскрипционных факторов семейства Trihelix происходит в четырех тканях на шести стадиях развития, однако паттерны их экспрессии различаются. Количественная ОТ-ПЦР показала, что на уровень их экспрессии влияет абиотический стресс (засуха, засоление), а также сигнальные молекулы, такие как абсцизовая кислота и пероксид водорода [4]. У арабидопсиса гены, относящиеся к подсемейству GT1, могут участвовать в ответе на засоление и атаку патогенов [5]. У проростков сои транскрипционные факторы GmGT-2A и GmGT-2B, относящиеся к семейству Trihelix, индуцируются абсцизовой кислотой, засухой, высоким уровнем солей и холодом [6].

В последние годы семейство транскрипционных факторов Trihelix активно исследуется. Систематические работы проведены на таких растениях, как арабидопсис, томат, хризантема и рис. Так, у арабидопсиса обнаружено 30 членов этого семейства, которые относились к нескольким подсемействам (GT-1, GT-2, GT γ , SH4 и SIP1) [7]. У томата выявлено 96 относящихся к семейству Trihelix белков, которые классифицированы в 6 подсемейств (GT-1, GT-2, SH4, SIP1, GT γ и GT δ) [8]. Последнее семейство не обнаружено у арабидопсиса. В геноме риса обнаружен 41 ген, кодирующий транскрипционные факторы семейства Trihelix, которые представлены членами 5 подсемейств (SIP1, GT γ , GT, SH4 и GT δ) [4].

Яблоня является наиболее значимой плодовой культурой для Беларуси. Ее урожайность зависит от множества факторов среды, включая освещенность, температурный и водный режимы, состав почвы и многие другие. Идентификация и изучение генов, влияющих на реакцию растений на стрессовые воздействия, позволят улучшить понимание молекулярных механизмов их роста и развития.

Цель работы – идентификация одного из генов, кодирующих транскрипционные факторы семейства Trihelix, в геноме яблони домашней сорта Golden Delicious, анализ структурной организации кодируемого им гипотетического белка, оценка его промоторной области и изучение его экспрессии в ответ на воздействие четырех стрессовых факторов – пониженной (4 °C) и повышенной (40 °C) температуры, засоления (NaCl, 200 mM), засухи.

Материалы и методы исследования. Для идентификации гена *MD13G1109800* использовали НММ-основанный поиск. Белковая модель домена Myb/SANT-LIKE (PF13837), характерного для транскрипционных факторов семейства Trihelix, была загружена из базы данных PFAM [9] и использована для поиска совпадений среди гипотетических белковых последовательностей яблони с помощью hmmer3 (<http://hmmer.org/>). Нуклеотидные и гипотетические белковые последовательности генов яблони (*Malus × domestica*, сорт Golden Delicious) получены из базы данных Genome Database for Rosaceae (<https://www.rosaceae.org/>), последовательности хромосом – из базы данных NCBI GenBank. Обнаруженные потенциальные совпадения протестированы путем сканирования с помощью SMART (<http://smart.embl-heidelberg.de/>). Последовательности, содержащие домен Myb/SANT-LIKE, рассматривались как кандидаты на роль транскрипционных факторов, относящихся к семейству Trihelix. Одним из них был ген *MD13G1109800*.

Молекулярная масса, изоэлектрическая точка и внутриклеточная локализация гипотетического белка яблони рассчитаны с помощью сервиса <https://www.exPASy.org/>. Для изучения регуля-

торных элементов гена проведен анализ последовательности ДНК длиной 2000 п. н. выше первого кодона. Выявление цис-регуляторных элементов проводили с помощью PlantPAN 2.0 (<http://plantpan2.itps.ncku.edu.tw/>).

В исследовании были использованы двухлетние клоновые подвои яблони сорта ММ-106. Считается, что подвои ММ-106 обладают средней морозоустойчивостью и низкой устойчивостью к засухе. Подвои выращивали в условиях длинного светового дня 16 ч/8 ч (день/ночь) при температуре 22 °С. Для изучения экспрессии гена *MD13G1109800* растения были поделены на 5 групп, одна из которых (контрольная) оставалась в описанных выше условиях, вторую группу подвергли действию пониженной температуры (4 °С), третью – воздействию NaCl в концентрации 200 mM, четвертую – воздействию повышенной температуры (40 °С), пятую – воздействию засухи путем извлечения растений из земли и помещения сухих корней на фильтровальную бумагу. В каждой группе было по три дерева. Отбор листьев осуществляли на 0, 2, 4, 24-м часу воздействия всех вышеперечисленных факторов. В этих же точках проводили отбор материала у контрольных растений. Нулевая точка отбора была непосредственно после воздействия стрессового фактора. Отобранные листья незамедлительно замораживали в жидком азоте.

Выделение РНК из замороженных листьев проводили с использованием СТАВ (цетил-триметил-аммоний-бромид) метода [10]. Качество выделенной РНК определяли с помощью электрофореза в агарозном геле. Концентрацию полученной РНК измеряли с помощью прибора NanoDrop (ND-8000 Spectrophotometer, Thermo scientific). Очистку РНК от ДНК осуществляли реактивом DNase I, RNase-free (Thermo Scientific, EU) в соответствии с протоколом. Синтез минус-цепи кДНК был проведен с помощью RevertAid H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Scientific, EU) в соответствии с протоколом производителя.

К гену *MD13G1109800*, идентифицированному в этом исследовании, нами были сконструированы праймеры для постановки qRT-PCR (прямой – GGTGCAATATACCGCGGTG, обратный – CCTTGCACAGTGGCCTC). При оценке эффективности представленной пары праймеров по реакции qRT-PCR на матрице кДНК сорта ММ-106 было установлено, что она входит в диапазон допустимых значений – 90–110 % [11]. По приведенной выше реакции была оценена специфичность приведенной пары праймеров, график кривой плавления показал наличие одного острого пика, что гарантирует амплификацию уникального фрагмента кДНК. Реакцию амплификации проводили с помощью прибора CFX96 Real Time System (Bio-Rad, США). Конечный объем реакционной смеси составил 20 мкл, в состав которой входит 4 мкл qPCRmix-HS SYBR (Евроген), 1 мкл (5 pmol/мкл) праймеров F и R, 2 мкл кДНК, 12 мкл стерильной деионизированной воды. Программа амплификации: предварительная денатурация при 95 °С (5 мин), затем 38 циклов при 95 °С (20 с), 58 °С (20 с) и 72 °С (20 с). На каждом цикле происходило считывание флуоресценции красителя SYBR-green. В качестве внутреннего контроля был выбран фактор элонгации *Ef-1a* [12]. В качестве отрицательного контроля вместо кДНК использовали равное количество деионизированной воды. Для анализа экспрессии гена, кодирующего *MD13G1109800*, в ответ на действие абиотических стрессовых факторов было использовано по три биологических повтора на каждое условие. Подсчет относительного уровня экспрессии исследуемых генов осуществляли по методу $2^{-\Delta\Delta CT}$, где $\Delta\Delta CT = (CT_D - CT_B) - (CT_C - CT_A)$, где А, В – референсные гены контрольных и подвергнутых действию стресса растений; С, D – исследованные гены контрольных и подвергнутых действию стресса растений соответственно [13].

Результаты и их обсуждение. Ген *MD13G1109800* идентифицирован как имеющий характерный домен для транскрипционных факторов семейства Trihelix с помощью ПО hmmer3 и HMM-профиля, загруженного из базы данных PFAM. Подтверждение его принадлежности к семейству

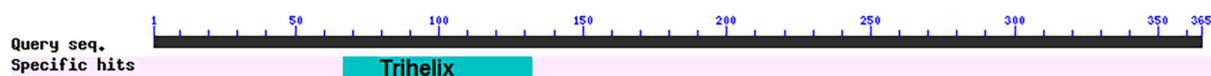


Рис. 1. Расположение характерного консервативного домена Trihelix в последовательности гипотетического белка, кодируемого геном *MD13G1109800*

Fig. 1. Location of the conserved Trihelix domain in a hypothetical protein sequence encoded by the *MD13G1109800* gene



Рис. 2. Экзон-интронная структура гена *MD13G1109800*, кодирующего белок из семейства Trihelix. Цифрами отмечена локализация гена на хромосоме

Fig. 2. Exon-intron structure of the *MD13G1109800* gene encoding a protein from the Trihelix family. The numbers indicate the localization of the gene on the chromosome

Trihelix выполнено с помощью SMART. Расположение характерного консервативного домена Trihelix в последовательности гипотетического белка, кодируемого геном *MD13G1109800*, представлено на рис. 1.

Анализ хромосомной локализации показал, что он расположен на 13-й хромосоме и имеет четыре интрона (рис. 2). Кодированный им гипотетический белок имеет длину 365 аминокислотных остатков, молекулярную массу 42097,23 Да, изоэлектрическую точку $pI = 6,21$. Оценка его внутриклеточной локализации показала, что он находится в ядре.

Анализ промоторной области гена *MD13G1109800* показал, что кодируемый им белок является участником множества сигнальных путей, запускаемых как внешними, так и внутренними факторами. По всей видимости, одним из наиболее значимых регуляторов экспрессии *MD13G1109800* является свет. Об этом свидетельствуют обнаруженные в его промоторной области элементы 3-AF1 binding site, AE-box, ATC-motif, G-box, GTGGC-motif, GT-1, Spl, TCC-motif, TCCC-motif.

Продукт гена *MD13G1109800* может являться участником сигнальных каскадов, запускаемых растительными гормонами: гибберелином (на это указывает обнаруженный в его промоторной области TACT-box), абсцизовой кислотой (о чем свидетельствует наличие элементов ABRE, ABRE3a, ABRE4), ауксином (TGA). Кроме того, регуляторная область гена *MD13G1109800* содержит W-box (последовательность ДНК, с которой происходит связывание транскрипционных факторов семейства WRKY). Они широко представлены в растительных геномах и выполняют множество функций, включая формирование устойчивости к болезням, стрессам, процессам онтогенеза и прочим, включая гормональную регуляцию. Так, геном яблони кодирует 127 его представителей, участие некоторых из них было установлено при воздействии переувлажнения и засухи на растения [14].

В анализируемой области обнаружены также сайты связывания транскрипционных факторов семейства MYB. Они принимают участие в регуляции ответов на биотический и абиотический стресс, включая эпигенетический контроль, гормональные сигнальные пути, регуляцию дифференциации и формы клеток, биосинтез фенилпропаноидов, а также регуляторные элементы, предназначенные для связывания транскрипционных факторов из семейства MYC. Последние являются частью системы гормональной регуляции жасмоновой и салициловой кислотами, участвуют в координации процессов роста и развития растения, в ответе на различные виды стрессовых воздействий и других биологических процессов, например созревании плодов, что было показано для фактора транскрипции MdMYC2, который активируется жасмонатом и в свою очередь является регулятором ERF (ethylene response factor), принимая участие в процессе биосинтеза этилена [15].

Таким образом, обнаруженные в промоторной области гена *MD13G1109800* регуляторные элементы указывают на то, что его продукт принимает участие в регуляции молекулярного ответа на различные воздействия внешней среды, а также на внутренние факторы, обусловленные, например, стадией развития растения. Можно предположить, что экспрессия гена *MD13G1109800* у яблони происходит в нормальных условиях, но ее уровень может меняться в зависимости от типа ткани, стадии жизненного цикла растения, а также воздействия различных факторов внешней среды, в том числе неблагоприятных. Чтобы проверить это предположение, нами проведена оценка профилей экспрессии этого гена у растений яблони, подвергаемым воздействию различных стрессовых факторов (засухи, высокой и низкой температуры, засоления).

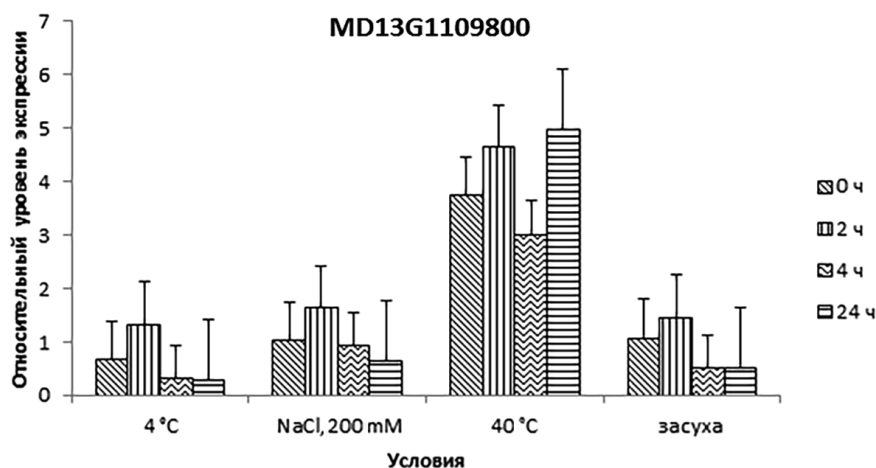


Рис. 3. Профиль экспрессии гена *MD13G1109800*, кодирующего Trihelix, в условиях действия на подвой яблони сорта ММ 106 пониженной температуры (4 °C), засоления (NaCl, 200 mM), повышенной температуры (40 °C), засухи на протяжении 0, 2, 4, 24 ч. Данные нормализованы относительно гена домашнего хозяйства яблони *Ef1-α*. Вертикальные полосы отображают стандартную ошибку среднего. Уровень значимости – $\alpha = 0,05$

Fig. 3. Profile of the *MD13G1109800* gene encoding Trihelix under conditions of low temperature (4 °C), salinity (NaCl, 200 mM), elevated temperature (40 °C), drought on apple stocks of MM 106 variety for 0, 2, 4, 24 h. Data were normalized for the apple housekeeping gene *Ef1-α*. The vertical bars represent the standard error of the mean. Significance level is $\alpha = 0.05$

Для оценки изменения уровня экспрессии гена яблони *MD13G1109800*, принадлежащего к семейству Trihelix, в условиях действия стресса, вызванного пониженной температурой (4 °C), засолением, повышенной температурой (40 °C) и засухой, проведена количественная ПЦР в режиме реального времени. Для постановки этой реакции были использованы праймеры, приведенные в разделе *Материалы и методы*. Результат проведенной реакции отображен на рис. 3 в виде графика. Согласно полученным результатам, максимальный уровень экспрессии гена *MD13G1109800* при воздействии всех стрессовых факторов, за исключением повышенной температуры, наблюдается на 2-м часу их воздействия, при повышенной температуре – на 24-м часу воздействия. Как видно из графика, воздействие повышенной температуры вызывает повышенный уровень экспрессии гена *MD13G1109800* относительно других условий стрессового воздействия. Так, максимум экспрессии *MD13G1109800* на 2-м часу воздействия повышенной температуры составил 4,64, а на 24-м часу – 4,97. В условиях действия трех стрессовых факторов – пониженной температуры, засоления и засухи – у исследуемого гена можно отметить наличие тенденции к увеличению уровня его экспрессии с максимумом на 2-м часу воздействия факторов и последующим его снижением к 24-му часу, причем на 4-м и 24-м часу уровень его экспрессии ниже относительно 0-го часа воздействия (за 0-й час принято время отбора материала после помещения растений в экспериментальные условия). Распределение уровня экспрессии *MD13G1109800* по часам в ответ на воздействие повышенной температуры имеет совершенно другую тенденцию: повышенный уровень экспрессии можно отметить как на 2-м, так и на 24-м часу воздействия, однако в отличие от воздействия других приведенных выше стрессовых факторов максимальный уровень экспрессии приходится на 24-й час.

Полученные данные соотносятся с результатами исследований экспрессии генов семейства Trihelix на других объектах (арабидопсис, томат, рис). Так, показано, что большинство из них экспрессируется в нормальных условиях, но при воздействии стресса уровень их экспрессии может значительно изменяться [4, 7, 8]. Например, у риса все 12 генов, экспрессирующихся в листьях, так или иначе отреагировали на стрессовые воздействия либо на обработку стрессовыми сигнальными молекулами, но уровни их экспрессии отличались [4]. Анализ экспрессии генов, кодирующих транскрипционные факторы семейства Trihelix у *Phyllostachys edulis*, одного из видов бамбука, показал, что большинство генов высоко экспрессируется в условиях засухи, однако при низких температурах и воздействии солевого стресса их экспрессия снижается [16].

Заклученне. Методамі біоінфарматыкі ген яблони *MD13G1109800* ідэнтыфіцыраван як адзін з транскрыпцыйных фактараў сямейства Trihelix. Аналіз хромасомнай лакалізацыі паказаў, што ён размешчаны на 13-й хромасоме і мае чатыры інтрона. Кодзіруемы ім гіпотэтычны белок мае даўжыню 365 амінакіслотных астаткаў, молекулярную масу 42097,23 Да, ізoeлектрычную точку $pI = 6,21$. Ацэнка яго вnutрыклеточнай лакалізацыі паказала, што ён знаходзіцца ў ядры. Аналіз праматорнай абласці гена *MD13G1109800* указвае на тое, што кодзіруемы ім белок з'яўляецца ўдзельнікам мноства сігнальных шляхаў, запускаяемых як вонешнімі, так і вnutрыннімі фактарамі. Уровень экспрэсіі гена *MD13G1109800* у падвоя яблони ММ-106 павялічваецца пры ўздзеянні засухі, нізкай і высокай тэмпературы, а таксама засалення.

Спісок іспользаваных істочнікаў

- Ingram, J. The molecular basis of dehydration tolerance in plants / J. Ingram, D. Bartels // *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 1996. – Vol. 47, N 1. – P. 377–403. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.47.1.377>
- Shinozaki, K. Gene expression and signal transduction in water-stress response / K. Shinozaki, K. Yamaguchi-Shinozaki // *Plant Physiol.* – 1997. – Vol. 115, N 2. – P. 327–334. <https://doi.org/10.1104/pp.115.2.327>
- Shinozaki, K. Molecular responses to dehydration and low temperature: differences and cross-talk between two stress signaling pathways / K. Shinozaki, K. Yamaguchi-Shinozaki // *Curr. Opin. Plant Biol.* – 2000. – Vol. 3, N 3. – P. 217–223. [https://doi.org/10.1016/s1369-5266\(00\)80068-0](https://doi.org/10.1016/s1369-5266(00)80068-0)
- Genome-wide characterization and identification of trihelix transcription factor and expression profiling in response to abiotic stresses in rice (*Oryza sativa* L.) / J. Li [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – Vol. 20, N 3. – P. 251. <https://doi.org/10.3390/ijms20020251>
- Murata, J. Characterization of a novel GT-box binding protein from Arabidopsis / J. Murata, H. Takase, K. Hiratsuka // *Plant Biotechnol.* – 2002. – Vol. 19, N 2. – P. 103–112. <https://doi.org/10.5511/plantbiotechnology.19.103>
- Soybean trihelix transcription factors GmGT-2A and GmGT-2B improve plant tolerance to abiotic stresses in transgenic Arabidopsis / Z.-M. Xie [et al.] // *PLoS ONE.* – 2009. – Vol. 4, N 9. – P. e6898. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006898>
- Repression of seed maturation genes by a trihelix transcriptional repressor in *Arabidopsis* seedlings / M. J. Gao [et al.] // *Plant Cell.* – 2009. – Vol. 21, N 1. – P. 54–71. <https://doi.org/10.1105/tpc.108.061309>
- Genome-wide identification and expression profiling analysis of trihelix gene family in tomato / C. Yu [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2015. – Vol. 468, N 4. – P. 653–659. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.11.010>
- The Pfam protein families database in 2019 / S. El-Gebali [et al.] // *Nucl. Acids Res.* – 2018. – Vol. 47, N D1. – P. D427–D432. <https://doi.org/10.1093/nar/gky995>
- 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>
- The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments / S. A. Bustin [et al.] // *Oxford University Press.* – 2009. – Vol. 55, N 4. – P. 611–622. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.112797>
- Genome-wide analysis and expression profiling of the DREB transcription factor gene family in *Malus* under abiotic stress / T. Zhao [et al.] // *Mol. Genet. Genomics.* – 2012. – Vol. 287, N 5. – P. 423–436. <https://doi.org/10.1007/s00438-012-0687-7>
- An improvement of the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method for quantitative real-time polymerase chain reaction data analysis / X. Rao [et al.] // *Biostat. Bioinform. Biomath.* – 2013. – Vol. 3, N 3. – P. 71–85.
- Genome-wide identification and characterization of WRKY transcriptional factor family in apple and analysis of their responses to waterlogging and drought stress / D. Meng [et al.] // *Plant Physiol. Biochem.* – 2016. – Vol. 103. – P. 71–83. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.02.006>
- The jasmonate-activated transcription factor MdMYC2 regulates ethylene response factor and ethylene biosynthetic genes to promote ethylene biosynthesis during apple fruit ripening / T. Li [et al.] // *Plant Cell.* – 2017. – Vol. 29, N 6. – P. 1316–1334. <https://doi.org/10.1105/tpc.17.00349>
- Genome-wide identification of trihelix genes in moso bamboo (*Phyllostachys edulis*) and their expression in response to abiotic stress / H. Gao [et al.] // *J. Plant Growth Reg.* – 2019. – Vol. 38. – P. 1127–1140. <https://doi.org/10.1007/s00344-019-09918-9>

References

- Ingram J., Bartels D. The molecular basis of dehydration tolerance in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1996, vol. 47, no. 1, pp. 377–403. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.47.1.377>
- Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K. Gene expression and signal transduction in water-stress response. *Plant Physiology*, 1997, vol. 115, no. 2, pp. 327–334. <https://doi.org/10.1104/pp.115.2.327>
- Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K. Molecular responses to dehydration and low temperature: differences and cross-talk between two stress signaling pathways. *Current Opinion in Plant Biology*, 2000, vol. 3, no. 3, pp. 217–223. [https://doi.org/10.1016/s1369-5266\(00\)80068-0](https://doi.org/10.1016/s1369-5266(00)80068-0)
- Li J., Zhang M., Sun J., Mao X., Wang J., Wang J. [et al.]. Genome-wide characterization and identification of trihelix transcription factor and expression profiling in response to abiotic stresses in rice (*Oryza sativa* L.). *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, vol. 20, no. 3, p. 251. <https://doi.org/10.3390/ijms20020251>

5. Murata J., Takase H., Hiratsuka K. Characterization of a novel GT-box binding protein from Arabidopsis. *Plant Biotechnology*, 2002, vol. 19, no. 2, pp. 103–112. <https://doi.org/10.5511/plantbiotechnology.19.103>
6. Xie Z.-M., Zou H.-F., Lei G., Wei W., Zhou Q.-Y., Niu C.-F. [et al.]. Soybean trihelix transcription factors GmGT-2A and GmGT-2B improve plant tolerance to abiotic stresses in transgenic *Arabidopsis*. *PLoS ONE*, 2009, vol. 4, no. 9, p. e6898. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006898>
7. Gao M. J., Lydiate D. J., Li X., Lui H., Gjetvaj B., Hegedus D. D. [et al.]. Repression of seed maturation genes by a trihelix transcriptional repressor in Arabidopsis seedlings. *Plant Cell*, 2009, vol. 21, no. 1, pp. 54–71. <https://doi.org/10.1105/tpc.108.061309>
8. Yu C., Cai X., Ye Z., Li H. Genome-wide identification and expression profiling analysis of trihelix gene family in tomato. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2015, vol. 468, no. 4, pp. 653–659. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.11.010>
9. El-Gebali S., Mistry J., Bateman A., Eddy S. R., Luciani A., Potter S. C. [et al.]. The Pfam protein families database in 2019. *Nucleic Acids Research*, 2018, vol. 47, no. D1, pp. D427–D432. <https://doi.org/10.1093/nar/gky995>
10. 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>
11. Bustin S. A., Benes V., Garson J. A., Hellemans J., Huggett J., Kubista M. [et al.]. The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Oxford University Press*, 2009, vol. 55, no. 4, pp. 611–622. <https://doi.org/10.1093/clinchem.2008.112797>
12. 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>
13. 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.
14. Meng D., Li Y., Bai Y., Li M., Cheng L. Genome-wide identification and characterization of WRKY transcriptional factor family in apple and analysis of their responses to waterlogging and drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2016, vol. 103, pp. 71–83. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.02.006>
15. Li T., Xu Y., Zhang L., Ji Y., Tan D., Yuan H. [et al.]. The jasmonate-activated transcription factor MdMYC2 regulates ethylene response factor and ethylene biosynthetic genes to promote ethylene biosynthesis during apple fruit ripening. *Plant Cell*, 2017, vol. 29, no. 6, pp. 1316–1334. <https://doi.org/10.1105/tpc.17.00349>
16. Gao H., Huang R., Liu J., Gao Z., Zhao H., Li X. Genome-wide identification of trihelix genes in moso bamboo (*Phyllostachys edulis*) and their expression in response to abiotic stress. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2019, vol. 38, pp. 1127–1140. <https://doi.org/10.1007/s00344-019-09918-9>

Информация об авторах

Кузмицкая Полина Викторовна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: p.kuzmitskaya@igc.by

Королева Екатерина Сергеевна – мл. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, 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. Академическая, 27, 220072, 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 (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: p.kuzmitskaya@igc.by

Katsiaryna S. Karaleva – Junior Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, 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 (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: o.urbanovich@igc.by