



Влияние водного дефицита на накопление дегидринов в клетках каллусной культуры сосны обыкновенной

Н.Е. Коротаева✉, В.Н. Шмаков, С.Э. Молдавская

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, г. Иркутск, Российская Федерация

Аннотация. Внутривидовые различия в уровне стрессоустойчивости у древесных растений остаются малоисследованными, хотя данный признак важен для селекции деревьев. Дегидрины являются белками внутриклеточной защиты, предохраняющими другие белки, а также мембраны от повреждений, вызванных внутриклеточным обезвоживанием при действии водного дефицита. Целью настоящей работы было изучение возможности выявления дегидринов, связанных с ответом на водный дефицит, а также межиндивидуальных различий в накоплении дегидринов у сосны обыкновенной в условиях *in vitro*. В работе использовали каллусную культуру, полученную из тканей ветвей и почек двух деревьев сосны обыкновенной (д3 и д4), для которых были обнаружены количественные и качественные различия в составе дегидринов. Межиндивидуальные различия у каллусных культур выражались в варьировании частоты событий каллусообразования и индекса нарастания каллусной культуры. Влияние водного дефицита на каллусную культуру при добавлении в среду культивирования 5 или 8% полиэтиленгликоля выражалось в дозозависимом снижении в клетках каллусов содержания воды, накоплении стрессового белка Hsp70 и дегидринов с массами 47, 42, 27 кД. Состав и уровень накопления дегидринов различался для каллусов, полученных из д3 и д4, что позволяет предположить различный уровень устойчивости к действию водного дефицита у клеток данных каллусных культур. Существование таких различий может стать основой для выявления дегидринов сосны обыкновенной, связанных с защитой от водного дефицита.

Ключевые слова: *Pinus sylvestris* L., дегидрины, каллусная культура, водный дефицит

Благодарности. Работа выполнена на оборудовании Центра коллективного пользования научным оборудованием «Биоаналитика» Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН (г. Иркутск, Российская Федерация).

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-24-10035 (<https://rscf.ru/project/23-24-10035/>).

Для цитирования: Коротаева Н.Е., Шмаков В.Н., Молдавская С.Э. Влияние водного дефицита на накопление дегидринов в клетках каллусной культуры сосны обыкновенной // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2023. Т. 13. N 4. С. 579–588. DOI: 10.21285/2227-2925-2023-13-4-579-588. EDN: POQWFW.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

Effect of water stress on the accumulation of dehydrins in callus culture cells from *Pinus sylvestris* L.

Natalia E. Korotaeva✉, Vladimir N. Shmakov, Sofia E. Moldavskaya

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, Irkutsk, Russian Federation

Abstract. Intraspecific differences in the level of stress tolerance in woody plants remain understudied, even though this characteristic is important for tree breeding. Dehydrins are intracellular defense proteins that protect other proteins, as well as membranes, from damage caused by intracellular dehydration under water stress. The present paper aims to examine the possibility of detecting dehydrins produced in response to water stress, as well as interindividual differences in dehydrin accumulation in *Pinus sylvestris* L. (Scots pine) under *in vitro* conditions. In this work, callus culture derived from the branch and bud tissues of two Scots pine trees (T3 and T4) was used; for

these trees, quantitative and qualitative differences in the composition of dehydrins were found. Interindividual differences in callus cultures were expressed as variations in the frequency of callus formation events and callus culture growth index. With the addition of 5 or 8% polyethylene glycol to the culture medium, the effect of water stress on the callus culture was expressed in a dose-dependent decrease of water content in callus cells, as well as the accumulation of shock protein Hsp70 and dehydrins having masses of 47, 42, and 27 kDa. The composition of dehydrins and the level of their accumulation differed between calluses derived from T3 and T4, suggesting different levels of water stress tolerance in the cells of these callus cultures. The existence of such differences may provide a basis for detecting dehydrins in Scots pine produced in response to water stress.

Keywords: *Pinus sylvestris* L., dehydrins, callus culture, water stress

Acknowledgements. The work was carried out on the equipment of the Center for Collective use of scientific equipment "Bioanalitika", Siberian Institute of Physiology and Biochemistry SB RAS (Irkutsk, Russian Federation).

Funding. The study was carried out at the expense of a grant of the Russian Science Foundation no. 23-24-10035 (<https://rscf.ru/project/23-24-10035/>).

For citation: Korotaeva N.E., Shmakov V.N., Moldavskaya S.E. Effect of water stress on the accumulation of dehydrins in callus culture cells from *Pinus sylvestris* L. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2023;13(4):579-588. (In Russian). DOI: 10.21285/2227-2925-2023-13-4-579-588. EDN: POQFWF.

ВВЕДЕНИЕ

Лесовосстановление является актуальной задачей для Сибирского региона, т.к. леса данных территорий регулярно подвергаются воздействию пожаров и вырубкам¹. В то же время одним из препятствий к высокоэффективному восстановлению лесного покрова оказывается низкая устойчивость древесной рассады к неблагоприятным климатическим воздействиям [1, 2]. Весна в зоне Восточной Сибири характеризуется сезонными засухами [3]. Усиление засушливости климата способствует микробной инвазии и неблагоприятно действует на выживаемость хвойных пород в Прибайкалье [4, 5]. В сочетании с высокой интенсивностью освещенности засушливость климата, особенно в весенний период, весной делает погодные условия в Восточной Сибири близкими к экстремальным.

Накопление белков-дегидринов (ДГ) приводит к появлению у растений устойчивости к холоду и водному дефициту (ВД) [6]. Действие этих белков заключается в удержании внутри клеток молекул воды и в имитации вокруг полярных остатков молекул белков и мембранных липидов гидратной оболочки, потеря которой приводит к неспецифическим взаимодействиям и утрате белками и липидами их физиологических свойств [7, 8]. Еще одно важное назначение ДГ состоит в их способности связывать в клетках растений активные формы кислорода, повышенное содержание которых приводит к окислению биомолекул [9, 10]. Характерной структурной особенностью всех ДГ является наличие специфической полярной высококонсервативной С-концевой К-последовательности, богатой остатками лизина, которая определяет значительную термоустойчивость и растворимость этих белков и их основные функции внутри клетки [11, 12]. Было показано, что накопление ДГ приводит к появлению у растений холодо-, морозо- и засухоустойчивости, что позволяет рассматривать эти белки как факторы и маркеры холодо- и засухоустойчивости [7, 8].

Известно, что рост экспрессии генов отдельных ДГ происходит в ответ на действие ВД, холода, света, причем одно и то же воздействие может приводить к накоплению как специфических только для этого воздействия ДГ, так и ДГ, регулирующихся несколькими факторами [13, 14]. В естественных условиях невозможно отделить влияние холода, освещенности или ВД, что делает невозможным определение специфичности накопления тех или иных ДГ в ответ на определенный фактор среды.

К настоящему моменту накоплено мало информации о внутривидовой вариативности способности накапливать ДГ хвойными. Известно, что экспрессия генов этих белков существенно варьирует для различных популяций у *Pinus sylvestris* и *Pinus pinaster* [6, 15]. При этом высокие активность и разнообразие экспрессирующихся генов отмечаются для деревьев, произрастающих в более суровых условиях по признаку эффектора такой экспрессии [6]. Ранее были показаны межиндивидуальные различия в накоплении ДГ в хвое сосны обыкновенной [16] и в однолетних побегах лиственницы Каяндера [17] в период зимнего покоя у деревьев, произрастающих в Якутии. Выявление среди долгоживущих растений отдельных образцов с повышенным накоплением ДГ, которые являются маркерами устойчивости к разнообразным неблагоприятным факторам, может иметь важное хозяйственное значение с точки зрения селекции этих растений и их использования для лесовосстановления в зонах с неблагоприятными климатическими условиями.

Использование в дополнение к традиционно применяемым методам культуры клеток, органов и тканей *in vitro* открывает перспективы для детального изучения действия какого-либо конкретного фактора на растительную клетку и ее реакции на это воздействие в строго контролируемых условиях при максимальном устранении влияния других сопутствующих факторов. Дополнительно применение этих методов позволяет разделить устойчивость и адаптацию растений на уровне

¹Государственный доклад о состоянии и об охране окружающей среды в Иркутской области в 2021 году. Ижевск: ООО «Принт», 2022. 252 с.

организма и клеточный уровень устойчивости, на основе клеточной селекции отобрать устойчивые к токсиканту клоны или линии, а далее и целые растения.

Целью данного исследования стало изучение возможности использования каллусной культуры сосны обыкновенной для выявления ДГ, накопление которых вызывается действием ВД, а также для поиска межиндивидуальных различий в накоплении ДГ в ответ на ВД. Для достижения поставленной цели были использованы каллусные культуры, полученные из побегов ветвей и почек взрослых деревьев сосны обыкновенной.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для характеристики условий среды в период сбора проб использовали информацию из доклада Всероссийского научно-исследовательского института гидрометеорологической информации – Мирового центра данных «Климатические условия на территории России. Погода на территории Российской Федерации в 2022 году»².

В работе использовали два дерева (д3 и д4) сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), произрастающие на экспериментальном участке Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН. Данный участок был заложен из однолетних саженцев в 1985 г. на окраине г. Иркутска. Почва на участке серая лесная неоподзоленная суглинистая. Грунтовые воды залегают на значительной глубине (11–50 м) и не оказывают заметного влияния на режим влажности почв. Возраст деревьев в период проведения исследования – 37–38 лет.

Сбор побегов ветвей и почек для анализа содержания ДГ был произведен в марте 2023 г. Для этого образцы измельчали, замораживали в жидком азоте и хранили в криостате при минус 70 °С. Для получения каждого измельченного образца использовали не менее трех побегов с каждого дерева и не менее 10 почек с разных побегов.

Для получения каллусов образцы собирали в сентябре – октябре 2022 г. В качестве растительного материала для получения каллусов сосны обыкновенной брали верхушки ветвей из нижней трети кроны (примерно 3–4 см) с хвоей и почками. Перед стерилизацией хвою удаляли и стерилизовали почки с участками несущих побегов с использованием последовательно 3%-го раствора перекиси водорода (30 мин), 0,1%-го раствора хлорида ртути (10 мин) и двукратной отмычки по 30 мин в 3%-м растворе перекиси водорода.

Для получения эксплантов стерильные почки с участками несущих побегов переносили на стерильные фильтры (в чашках Петри). Из средних частей почек и несущих побегов вырезали поперечные диски толщиной 2–3 мм и помещали срезом горизонтально на питательную среду Мурасиге – Скуга, содержащую половинный состав макро- и микросолей с добавлением 0,8 мг/л тиамина, 0,4 мг/л пиридоксина, 0,4 мг/л никотиновой кислоты, 100 мг/л инозитола, 200 мг/л гидролизата казеина и 20 г/л сахарозы; в качестве регуляторов роста использовали 2,4-дихлорфеноксиуксусную кислоту (2 мг/л) и 6-бензиламинопурин (0,5 мг/л). Экспланты и

полученные из них каллусы культивировали в темноте при постоянной температуре 25 °С. Продолжительность одного цикла культивирования полученного каллуса составляла 28 суток. Для создания действия ВД каллусы на 10 суток пересаживали на среду культивирования, содержащую 5 или 8% полиэтиленгликоля (ПЭГ), контрольные образцы на это же время пересаживали на среду без добавления ПЭГ.

Каллусогенез анализировали по трем признакам: 1) скорость инициации каллусной ткани – время образования первых следов каллуса на экспланте (сут.); 2) частота случаев каллусообразования – число эксплантов, сформировавших каллус, относительно общего количества эксплантов (%) (определяли на 2-е, 3-е, 5-е, 10-е, 15-е и 20-е сутки культивирования); 3) интенсивность каллусогенеза – оценивали по индексу нарастания, где 1 балл – объем каллусной ткани меньше объема экспланта, 2 балла – объем каллусной ткани примерно равен объему экспланта, 3 балла – объем каллусной ткани больше объема экспланта (оценку по данному параметру вели в завершающей фазе каллусогенеза (на 20-е сутки) в процентах относительно общего количества эксплантов) [18].

Определение содержания общей воды в каллусах проводили по изменению веса каллусов. Прирост каллусов вычисляли как разницу в сыром весе каллуса перед переносом на питательную среду, содержащую ПЭГ 2000 (LOBA Chemie Fischamend, Австрия) (или среду без ПЭГ для контрольных образцов), и того же каллуса через 10 суток культивирования, выраженную в процентах от первоначального веса.

Для выделения общего белка использовали образцы каллуса либо пробы измельченного материала побега или почек весом 0,5 г, зафиксированные в жидком азоте и хранившиеся в криостате при минус 70 °С. Пробу растирали в жидком азоте с кварцевым песком в 2,5 мл буфера, содержащего 100 мМ трис–HCl (pH 7,4–7,6), 0,1% додецилсульфата натрия (ДДС–Na), 12 мМ β-меркаптоэтанол, 1 мМ фенолметилсульфонилфлюорида и нерастворимый поливинилпирролидон (10% от веса пробы). После центрифугирования (18000 g, 10 мин) белок из полученного супернатанта осаждали пятикратным объемом охлажденного до минус 20 °С ацетона (8500 g, 10 мин). Осадок общего клеточного белка растворяли в буфере для образца, содержащем 0,125 М трис–HCl (pH 6,8), 10% ДДС–Na, 10 мМ β-меркаптоэтанол, 1 мМ этилендиаминтетрауксусную кислоту, 20%-й глицерин, с последующим нагреванием при 97 °С в течение 3 мин на водяной бане и центрифугированием при 12000 g в течение 10 мин. Концентрацию белка в получившихся пробах определяли с помощью флуориметра Qubit™ (Invitrogen, США) согласно инструкции с использованием набора реактивов (Quant-iT Protein Assay kits, Invitrogen, США).

Для определения содержания стрессового белка Hsp70 и ДГ 30 мкг белка из каждой пробы разделяли электрофоретически в полиакриламидном геле в присутствии ДДС–Na и переносили на нитроцеллюлозную

²Аржанова Н.М., Давлетшин С.Г., Дементьева Т.В., Клещенко Л.К., Коршунова Н.Н., Швецов Н.В. Погода на территории Российской Федерации в 2022 году // Федеральная служба по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды. Режим доступа: <http://meteo.ru/climate/93-klimaticheskie-usloviya/179-klimaticheskie-usloviya-na-territorii-rossii> (дата обращения: 16.06.2023).

мембрану в системе mini-Protean III (BioRad, США) в соответствии с прилагаемой инструкцией. Белки детектировали с помощью антител. Использовали первичные моноклональные антитела против общего Hsp70 (Hsp70/Hsc70; SPA-820, StressGen Bioreagents, Канада; разведение 1:1000) и поликлональные антитела против ДГ (AS07 206, Agrisera, Швеция; разведение 1:500). Антитела визуализировали с помощью вторичных антител, конъюгированных со щелочной фосфатазой (Sigma, США), с использованием субстрата BCIP/NBT (Gerbu, Германия). Молекулярную массу (*Mr*) выявленных ДГ определяли с использованием белковых маркеров PageRuler Unstained Protein Ladder (Thermo Scientific, США) с помощью программного обеспечения Image Laboratory (версия 5.2) (Bio Rad, США).

Интенсивность окрашивания белкового пятна на мембране определяли денситометрически после сканирования в цифровом формате с помощью сканера Gel Doc™ XR+ (Bio Rad, США) и программного обеспечения Image Laboratory (версия 5.2) (Bio Rad, США). Окрашивание измерялось как количество окрашенных пикселей на изображении. Интенсивность окрашивания белка на нитроцеллюлозной мембране пропорциональна количеству специфических антител, связавшихся с мембраной после инкубации, и количеству исследуемого белка в образце, фракционированном методом электрофореза. Интенсивность окрашивания в каждом экспериментальном образце выражали в условных единицах относительно окрашивания в контрольном образце, принятом за 1.

Измерения проводили не менее чем в трех повторностях, вычисляли среднее арифметическое и стандартное отклонение.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Условия среды, предшествующие сбору растительного материала – побегов ветвей и почек взрослых деревьев сосны обыкновенной, в том числе и для получения каллусной культуры, можно охарактеризовать как аномально теплые. В период зимы 2021–2022 и весны 2022 г. превышение среднемесячных температур составляло 2–4° С; в декабре 2022 г. – 2° С. Повышенными были уровень осадков (февраль 2022 г. – 120–160% от нормы; август 2022 г. – 120–200% от нормы) и продолжительность солнечного сияния (112 и 109% в январе – феврале и 105% в мае – июне 2022 г.)². Продолжительность солнечного сияния была аномально низкой в августе 2022 г. (86%, значение вошло в список пяти минимальных по России), а температура воздуха – в октябре. Декабрь 2022 г. в общем соответствовал норме по температуре и осадкам, хотя в первой декаде было аномально тепло (как отмечалось ранее, превышение среднемесячных температур составляло 2° С). Описание условий произрастания позволяет сделать вывод о том, что деревья перед отбором образцов для получения каллусов не подвергались экстремальному воздействию дефицита влаги.

В образцах побегов ветвей и почек д3 и д4 были выявлены ДГ с *Mr* 150, 140, 70, 23, 21, 19, 17 и 14 кД (рис. 1, а). В побегах было обнаружено большее разнообразие среднемолекулярных ДГ (*Mr* 23–17 кД), тогда как высокомолекулярные ДГ с *Mr* 150 и 140 кД были выявлены только в образцах белка из почек. Причем

только у д4 был обнаружен ДГ с *Mr* 140 кД, что указывает на существование межиндивидуальных различий в способности накапливать ДГ у д3 и д4. В образцах побегов и почек д3 и д4 был обнаружен низкомолекулярный ДГ с *Mr* 14 кД. Известно, что накопление этого белка в хвое сопряжено с воздействием отрицательной температуры [16, 19]. Появление морозоустойчивости связано с повышением содержания *Mr* ДГ до 14 кД [20]. Перечисленные ДГ ранее были обнаружены в хвое сосны обыкновенной, произрастающей на территории Иркутской области, накопление этих белков происходило в холодное время года [21, 22]. Таким образом, на основе полученных результатов можно сделать предположение о связи этих ДГ с холодовым воздействием. Накопление большего количества ДГ с *Mr* 70 и 14 кД в образце из побегов и белка с *Mr* 140 кД в образце из почек у д4 (рис. 1, б) может говорить в пользу большей устойчивости к неблагоприятным факторам внешней среды клеток почек и побегов этого дерева.

На первом этапе исследования каллусов проводилась оценка параметров каллусогенеза в зависимости от генотипа исходных деревьев. На эксплантах почек как д3, так и д4 первые следы каллуса стали появляться уже на 2-е сутки, а на эксплантах побегов – на 5-е сутки культивирования. Результаты изучения частоты случаев каллусообразования на эксплантах представлены в табл. 1. Данный показатель различался как между генотипами, так и между эксплантами различного происхождения внутри каждого из исследуемых генотипов. Частота случаев каллусообразования к концу фазы каллусогенеза (20-е сутки, далее каллус больше не образовывался) для эксплантов почек д3 составляла 99,2%. В случае д4 все экспланты, полученные из почек, формировали каллус. При этом каллус на эксплантах побегов д3 к 20-му дню образовался в 96,3% случаев, а для д4 этот показатель составил 75%. Частота событий каллусообразования для эксплантов различного происхождения и генотипов в значительной мере варьировала и по конкретным промежуточным датам оценки этого показателя – на 2-е, 3-е, 5-е, 10-е, 15-е сутки культивирования (см. табл. 1).

Индекс нарастания каллусной культуры на эксплантах представлен в табл. 2. Установлено, что интенсивность роста каллуса, определяемая по степени обрастания каллусом первичных эксплантов к концу фазы каллусогенеза, была выше на растительном материале, полученном из почек. Это характерно для обоих исследуемых деревьев. Первичный каллус значительно превышал размеры экспланта, на котором он формировался, в 61,3% случаев для эксплантов почек д3 и в 58,7% случаев для эксплантов почек д4. Для эксплантов побегов д3 характерно относительно равное распределение количества эксплантов с низкой, средней и высокой скоростью нарастания каллуса согласно оценке индекса нарастания по баллам. При этом преобладали каллусы с высоким индексом нарастания (38,7%). Для эксплантов побегов д4, наоборот, количество каллусов с высокой степенью обрастания экспланта было наименьшим (13,6%). Наибольшее количество каллусов имело среднюю степень обрастания, соответствующую 2 баллам (36,7%), что говорит о более низкой скорости роста каллуса на эксплантах побегов д4 к концу фазы каллусогенеза по сравнению с аналогичным материалом, полученным

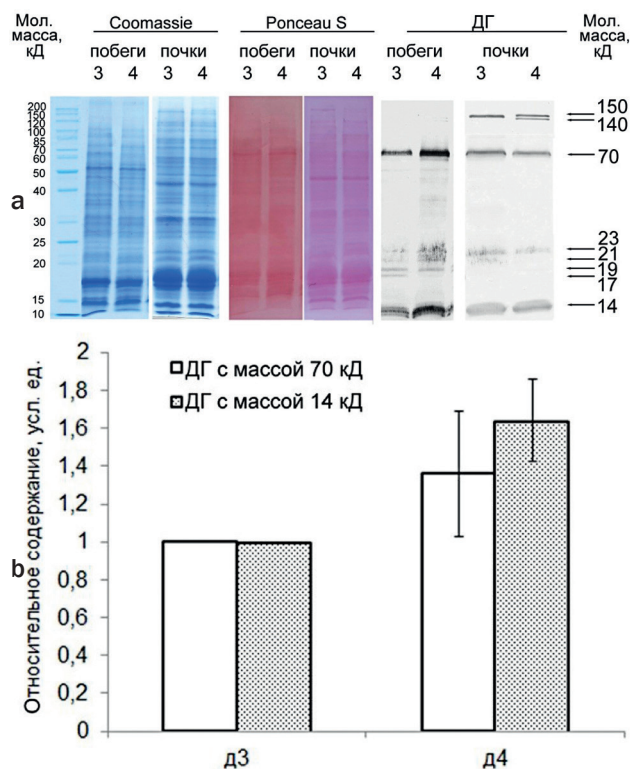


Рис. 1. Дегидрины побегов и почек сосны обыкновенной (3 – д3; 4 – д4): а – Coomassie – окраска полиакриламидного геля после электрофореза, Ponceau S – окраска нитроцеллюлозной мембраны после Western Blot, ДГ – окраска нитроцеллюлозной мембраны после инкубирования с антителами против дегидринов (использованные антитела специфически связываются со специфической К-последовательностью, обнаруженной у всех дегидринов, исследованных к настоящему времени; слева представлены молекулярные массы маркерных белков, справа – молекулярные массы дегидринов); б – денситометрическая оценка содержания дегидринов с массой 70 и 14 кД в побегах д3 и д4 (представленная величина выражает интенсивность окрашивания белка, выраженную в условных единицах относительно интенсивности окрашивания д3, принятого за 1; ошибка представляет стандартное отклонение)

Fig. 1. Shoots and buds dehydrins of scots pine (3 – tree 3, T3; 4 – tree 4, T4): а – Coomassie – polyacrylamide gel staining after electrophoresis, Ponceau S – nitrocellulose membrane staining after Western Blot, ДГ – nitrocellulose membrane staining after incubation with antibodies against dehydrins (on the right are the molecular weights of dehydrins); б – densitometric assessment of the content of dehydrins 70 and 14 kDa in T3 and T4 shoots (the presented value expresses the intensity of protein staining, expressed in conventional units relative to the intensity of T3 staining, taken as 1)

от д3. Исследование особенностей роста и развития каллусных культур позволяет заключить, что по этому признаку между образцами д3 и д4 существуют различия.

Для выявления реакции клеток каллусов на ВД полученные из побегов и почек д3 и д4 каллусы были подвергнуты действию 5 и 8% ПЭГ в течение 10 суток. При этом в клетках каллусов всех образцов было зафиксировано небольшое дозозависимое снижение содержания общей воды, которое не превышало 5% (рис. 2, б). Это свидетельствует в пользу создания в эксперименте условий ВД. Однако из литературных данных известно, что внесение в питательную среду для роста культур ПЭГ в дозе 5 и 8% нельзя считать воздействием, которое может вызывать в клетках сильный защитный физиологический ответ [23]. Этот факт может объяснять отсутствие достоверного подавления прироста каллусной ткани в нашем эксперименте (рис. 2, б). Свидетельством неблагоприятного воздействия на клетки каллуса считается потемнение каллусной ткани и расширение площади темных участков, которое происходит в результате происходящих в клетках культуры окислительных процессов [18]. Таких изменений по мере повышения концентрации ПЭГ мы не наблюдали (рис. 2, а). При этом накопление стрессового белка Hsp70 в клетках всех исследованных каллусов при действии 5% ПЭГ (рис. 3, 4) говорит о небольшом влиянии ВД, которое можно назвать в большей мере адаптирующим, но не повреждающим. Отсутствие роста содержания Hsp70 после экспозиции на среде с 8% ПЭГ по сравнению с контролем во всех образцах, кроме побегов д4, может говорить в пользу актуализации других защитных механизмов помимо Hsp70 при воздействии 8% ПЭГ по сравнению с 5% ПЭГ. К таким механизмам, действующим при снижении содержания воды в клетках растений, согласно данным литературы, можно отнести накопление осмолитов и усиление активности антиоксидантной системы [24].

В образцах белка из каллусов д3 и д4 были обнаружены ДГ с *Mr* 76, 71, 46, 42 и 27 кД (см. рис. 3), из которых ДГ с *Mr* 71 кД по молекулярной массе близок к ДГ с *Mr* 70 кД, выявленному в образцах побегов и почек, вероятно, это один и тот же белок. ДГ с *Mr* 76 кД ранее был описан для хвои сосны обыкновенной [22]. Остальные ДГ обнаружены только в клетках каллусов. Появление этих белков в клетках каллусов не только при обработке ПЭГ, но и в контрольных образцах, возможно, объясняется потенциально стрессовыми условиями, в которых находятся клетки каллусной культуры при выращивании в условиях *in vitro*, а также тем, что накопление ДГ контролируется на уровне организма и наблюдать рост их содержания можно при снятии такого контроля.

В клетках каллусов при действии ПЭГ происходит рост содержания ДГ с *Mr* 27 кД (д3, д4 побеги; д3 почки), 42 кД (д4 побеги, почки; д3 почки), 47 кД (д3 побеги,

Таблица 1. Скорость инициации каллусной ткани и частота случаев каллусообразования

Table 1. Initiation rate of callus tissue and cases frequency of callus formation

Вариант	Материал	Каллусогенез по дням культивирования, %					
		2-й день	3-й день	5-й день	10-й день	15-й день	20-й день
д3	Почки	10,4	20,8	68,8	88,0	88,0	99,2
	Побеги	0,0	0,0	4,4	36,6	57,8	96,3
д4	Почки	8,8	13,5	66,9	85,3	95,3	100,0
	Побеги	0,0	0,0	1,8	16,1	25,6	75,0

Таблица 2. Интенсивность каллусогенеза

Table 2. Intensity of callus formation

Вариант	Материал	Индекс нарастания, %			
		Без каллусогенеза	1 балл	2 балла	3 балла
д3	Почки	0,8	12,1	25,8	61,3
	Побеги	3,7	24,7	32,9	38,7
д4	Почки	0,0	18,4	22,9	58,7
	Побеги	25,0	24,7	36,7	13,6

почки) (см. рис. 4). Наиболее ярко дозозависимый рост содержания ДГ при действии ВД, вызванного ПЭГ, выявлен у образца д3 (почки) (см. рис. 4). Таким образом, воздействие ВД способно привести к изменению содержания ДГ в каллусных клетках. Подобным образом был показан рост содержания ДГ с *Mr* 24 кД и появление ДГ с *Mr* 42 кД в клетках соматических

эмбрионов, полученных из эмбрионных клеточных линий *Picea glauca*, подвергнутых различной степени ВД [25], а рост содержания ДГ с *Mr* 65 кД и транскриптов генов ДГ *PsDhn4* и *PsDhn2* наблюдали в хвое и побегах трехмесячных ростков сосны обыкновенной при действии ВД [26]. Межиндивидуальные качественные различия в содержании ДГ наиболее выражены в накоплении ДГ с *Mr* 47 кД в образцах побегов, остальные различия можно отнести к количественным.

На уровне органов качественные межиндивидуальные различия в накоплении ДГ были зафиксированы в клетках почек, а на уровне культуры клеток такие различия наблюдали для каллусных культур побегов. Таким образом, межиндивидуальные различия в накоплении ДГ на уровне органов и на уровне клеточной культуры могут быть неодинаковы и нужно с осторожностью относиться к тому, чтобы прогнозировать накопление ДГ на уровне органа или организма в ответ на ВД, основываясь на данных о накоплении ДГ в клетках каллусной культуры, и наоборот.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследования были выявлены межиндивидуальные различия между образцами двух деревьев сосны обыкновенной в накоплении ДГ в весенний период. Накопление ДГ с *Mr* 150, 70, 23, 21, 19, 17 и 14 кД в образцах побегов д4 оказалось выше, что может ука-

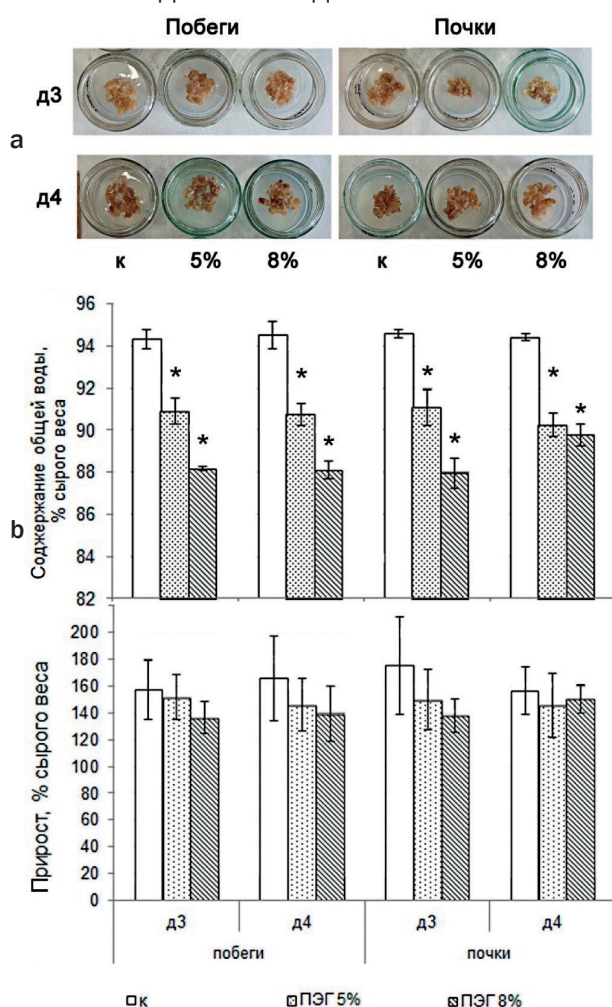


Рис. 2. Влияние водного дефицита на внешний вид (а), а также прирост и содержание общей воды (б) каллусов д3 и д4 ($M \pm m$, $n = 3-9$, к – контроль; * – отличие от контроля значимо при $p < 0,05$. Для оценки значимости различий был использован софт Statistica, t-тест и ранговый тест Манна – Уитни)

Fig. 2. Effect of water deficit on the appearance (a), growth and total water content (b) of T3 and T4 calluses ($M \pm m$, $n = 3-9$, к – control; * – the difference from the control is significant at $p < 0.05$. To assess the significance of the differences, the Statistica soft, the t-test and the Mann – Whitney rank sum test were used)

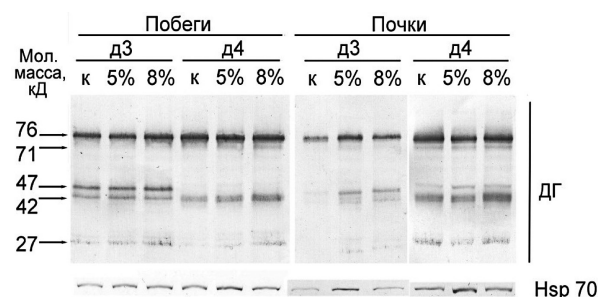


Рис. 3. Влияние водного дефицита на содержание дегидринов и стрессового белка Hsp70 в каллусах д3 и д4 (к – контроль, 5% и 8% – содержание полиэтиленгликоля в среде культивирования). Представлен результат Western Blot после электрофоретического фракционирования. Слева обозначены молекулярные массы дегидринов. На рисунке представлена типичная мембрана

Fig. 3. Effect of water deficit on the content of dehydrins and Hsp70 in T3 and T4 callus (к – control, 5% and 8% – polyethylene glycol content in the cultivation medium). The result of Western Blot after electrophoretic fractionation is presented. The molecular weights of dehydrins are indicated on the left. The figure shows a typical membrane

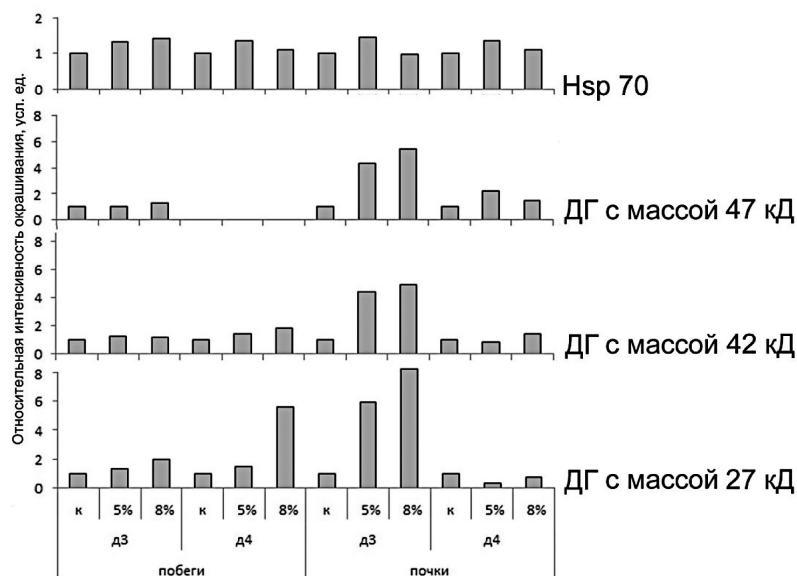


Рис. 4. Изменение относительного содержания дегидринов и стрессового белка Hsp70 в клетках каллусов побегов и почек д3 и д4 под действием водного дефицита (к – контроль, 5% и 8% – содержание полиэтиленгликоля в среде культивирования). Интенсивность окрашивания в каждом экспериментальном образце выражали в условных единицах относительно окрашивания в контрольном образце, принятом за 1

Fig. 4. Change in the relative content of dehydrins and Hsp70 in the cells of shoot's and bud's calluses of T3 and T4 under water deficit (к – control, 5% and 8% – polyethylene glycol content in the cultivation medium). The intensity of staining in each experimental sample was expressed in conventional units relative to the staining in the control sample, taken as 1

зывать на большую холодо- и засухоустойчивость д4. Обнаруженные в каллусной культуре из побегов и почек ДГ с *Mr* 76, 71, 46, 42 и 27 кД связаны по уровню накопления с действием ВД, при этом межиндивидуальные различия между д3 и д4 выражаются в различном уровне накопления отдельных ДГ. Хотя в образце д4 накопление ДГ в побегах и почках было выше, каллусы из побегов и почек д4 не обладали однозначными преимуществами по этим показателям, таким образом, нельзя говорить о том, что накопление ДГ в образце растения имеет прямую связь с накоплением в каллусе, полученном из тканей этого же растения. Однако в каллусах присутствуют межиндивидуальные различия в накоплении ДГ, что говорит в пользу существования различного уровня устойчивости к действию ВД на клеточном

уровне у каллусных культур различного происхождения. Существование таких различий может стать основой для выявления связи между уровнем накопления ДГ и засухоустойчивостью на уровне клеток. Применение каллусной культуры позволило обнаружить ДГ, которые не выявляются на уровне органа или организма, что делает использование такого подхода полезным для выявления протеомных факторов засухоустойчивости у сосны обыкновенной. Поскольку использование клеточных культур позволяет четко разделить устойчивость и адаптацию растений на уровне организма и клеточный уровень устойчивости, ДГ с *Mr* 46, 42 и 27 кД можно считать перспективными для дальнейшего изучения с целью селекции устойчивых культур клеток сосны обыкновенной, а в дальнейшем и целых растений.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Гоф А.А., Жигулин Е.В., Залесов С.В. Причины низкой приживаемости сеянцев сосны обыкновенной с закрытой корневой системой в ленточных борах Алтая // Успехи современного естествознания. 2019. N 12. С. 9–13. EDN: XDILUZ.
2. Гоф А.А., Жигулин Е.В., Залесов С.В., Оплетев А.С. Опыт создания лесных культур сеянцами с закрытой корневой системой на горах Алтайского края // Международный научно-исследовательский журнал. 2019. N 12. С. 125–130. DOI: 10.23670/IRJ.2019.90.12.073. EDN: ZMBMPW.
3. Густокашина Н.Н. Многолетние изменения основных элементов климата на территории Предбайкалья: монография. Иркутск: Изд-во ИГ СО РАН, 2003. 107 с. EDN: QKENXJ.
4. Kharuk V.I., Im S.T., Petrov I.A., Golyukov A.S., Ranson K.J., Yagunov M.N. Climate-induced mortality of Siberian pine and fir in the Lake Baikal Watershed, Siberia // Forest Ecology and Management. 2017. Vol. 384. P. 191–199. DOI: 10.1016/j.foreco.2016.10.050.
5. Воронин В.И., Морозова Т.И. Устойчивость тем-нохвойных лесов Прибайкалья к «новым» болезням // Экология и география растений и растительных сообществ: материалы IV Междунар. науч. конф. (г. Екатеринбург, 16–19 апреля 2018 г.). Екатеринбург: Изд-во АНО ВО «Гуманитарный университет», 2018. С. 155–159. EDN: RWCJWD.
6. Velasco-Conde T., Yakovlev I., Majada J.P., Aranda I., Johnsen Ø. Dehydrins in maritime pine (*Pinus pinaster*) and their expression related to drought stress response // Tree Genetics & Genomes. 2012. Vol. 8. P. 957–973. DOI: 10.1007/s11295-012-0476-9.
7. Aziz M.A., Sabeem M., Mullath S.K., Brini F., Mas-moudi K. Plant group II LEA proteins: intrinsically dis-ordered structure for multiple functions in response to environmental stresses // Biomolecules. 2021. Vol. 11, no. 11. P. 1662. DOI: 10.3390/biom11111662.

8. Riyazuddin R., Nisha N., Singh K., Verma R., Gupta R. Involvement of dehydrin proteins in mitigating the negative effects of drought stress in plants // *Plant Cell Reports*. 2022. Vol. 41. P. 519–533. DOI: 10.1007/s00299-021-02720-6.
9. Halder T., Upadhyaya G., Basak C., Das A., Chakraborty C., Ray S. Dehydrins impart protection against oxidative stress in transgenic tobacco plants // *Frontiers in Plant Science*. 2018. Vol. 9. P. 136. DOI: 10.3389/fpls.2018.00136.
10. Szychowska Z., Rurek M. Plant dehydrins and dehydrin-like proteins: characterization and participation in abiotic stress response // *Frontiers in Plant Science*. 2023. Vol. 14. P. 1213188. DOI: 10.3389/fpls.2023.1213188.
11. Cuevas-Velazquez C.L., Rendón-Luna D.F., Covarrubias A.A. Dissecting the cryoprotection mechanisms for dehydrins // *Frontiers in Plant Science*. 2014. Vol. 5. P. 583. DOI: 10.3389/fpls.2014.00583.
12. Yu Z., Wang X., Zhang L. Structural and functional dynamics of dehydrins: a plant protector protein under abiotic stress // *International Journal of Molecular Sciences*. 2018. Vol. 19, no. 11. P. 3420. DOI: 10.3390/ijms19113420.
13. Richard S., Morency M.-J., Drevet C., Jouanin L., Séguin A. Isolation and characterization of a dehydrin gene from white spruce induced upon wounding, drought and cold stresses // *Plant Molecular Biology*. 2000. Vol. 43. P. 1–10. DOI: 10.1023/a:1006453811911.
14. Bassett C.L., Wisniewski M.E., Artlip T.S., Norelli J.L., Renaut J., Farrell Jr. R.E. Global analysis of genes regulated by low temperature and photoperiod in peach bark // *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 2006. Vol. 131, no. 4. P. 551–563. DOI: 10.21273/jashs.131.4.551.
15. Joosen R.V.L., Lammers M., Balk P.A., Brønnum P., Konings M.C.J.M., Perks M., et al. Correlating gene expression to physiological parameters and environmental conditions during cold acclimation of *Pinus sylvestris*, identification of molecular markers using cDNA microarrays // *Tree Physiology*. 2006. Vol. 26, no. 10. P. 1297–1313. DOI: 10.1093/treephys/26.10.1297.
16. Татаринова Т.Д., Перк А.А., Бубякина В.В., Васильева И.В., Пономарев А.Г., Максимов Т.Х. Стрессовые белки-дегидрины в хвое *Pinus sylvestris* L. в условиях экстремального климата Якутии // *Доклады Академии наук*. 2017. Т. 473. N 2. С. 233–236. DOI: 10.7868/S0869565217080242. EDN: VXONRY.
17. Татаринова Т.Д., Перк А.А., Пономарев А.Г., Васильева И.В. Связь дегидринов с адаптацией лиственницы Каяндера к условиям криолитозоны Якутии // *Физиология растений*. 2023. Т. 70. N 5. С. 537–546. DOI: 10.31857/S001533032360016X. EDN: WWJZME.
18. Аминова Е.Ю., Табацкая Т.М., Машкина О.С., Попов В.Н. Оценка засухоустойчивости отдельных генотипов *Pinus sylvestris* L. на основе метода культуры ткани *in vitro* в моделируемых стрессовых условиях // *Труды Санкт-Петербургского научно-исследовательского института лесного хозяйства*. 2017. N 1. С. 14–22. DOI: 10.21178/2079-6080.2017.1.14. EDN: YMHZGZ.
19. Petrov K.A., Sofronova V.E., Bubyakina V.V., Perk A.A., Tatarinova T.D., Ponomarev A.G., et al. Woody plants of Yakutia and low-temperature stress // *Russian Journal of Plant Physiology*. 2011. Vol. 58. P. 1011–1019. DOI: 10.1134/S1021443711060148.
20. Chang C.Y., Fréchette E., Unda F., Mansfield S.D., Ensminger I. Elevated temperature and CO₂ stimulate late-season photosynthesis but impair cold hardening in pine // *Plant Physiology*. 2016. Vol. 172, no. 2. P. 802–818. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.16.00753>.
21. Коротаева Н.Е., Иванова М.В., Суворова Г.Г., Боровский Г.Б. Дегидрины в адаптации сосны обыкновенной и ели сибирской к условиям произрастания в период вегетации // *Сибирский лесной журнал*. 2020. N 6. С. 54–63. DOI: 10.15372/SJFS20200605. EDN: TUJBFZ.
22. Korotaeva N., Romanenko A., Suvorova G., Ivanova M.V., Lomovatskaya L., Borovskii G., et al. Seasonal changes in the content of dehydrins in mesophyll cells of common pine needles // *Photosynthesis Research*. 2015. Vol. 124. P. 159–169. DOI: 10.1007/s11120-015-0112-2.
23. Newton R.J., Sen S., Puryear J.D. Free proline changes in *Pinus taeda* L. callus in response to drought stress // *Tree Physiology*. 1986. Vol. 1, no. 3. P. 325–332. DOI: 10.1093/treephys/1.3.325.
24. Wu J., Wang J., Hui W., Zhao F., Wang P., Su C., et al. Physiology of plant responses to water stress and related genes: a review // *Forests*. 2022. Vol. 13, no. 2. P. 324. DOI: 10.3390/f13020324.
25. Bomal C., Le V.Q., Tremblay F.M. Induction of tolerance to fast desiccation in black spruce (*Picea mariana*) somatic embryos: relationship between partial water loss, sugars, and dehydrins // *Physiologia Plantarum*. 2002. Vol. 115, no. 4. P. 523–530. DOI: 10.1034/j.1399-3054.2002.1150406.x.
26. Kartashov A.V., Zlobin I.E., Pashkovskiy P.P., Pojidaeva E.S., Ivanov Y.V., Mamaeva A.S., et al. Quantitative analysis of differential dehydrin regulation in pine and spruce seedlings under water deficit // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2021. Vol. 162. P. 237–246. DOI: 10.1016/j.plaphy.2021.02.040.

REFERENCES

1. Gof A.A., Zhigulin E.V., Zalesov S.V. Reasons of low survival rate of common pine seedlings with a closed root system in Altay strip-pine forests. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya = Advances in current natural sciences*. 2019;12:9-13. (In Russian). EDN: XDILUZ.
2. Gof A.A., Zhigulin E.V., Zalesov S.V., Opletaev A.S. Experience in forest crops creation by seedlings with closed roots on burnt spot of Altai krai. *Meždunarodnyj naučno-issledovatel'skij žurnal = International Research Journal*. 2019;12(90):125-130. (In Russian). DOI: 10.23670/IRJ.2019.90.12.073. EDN: ZMBMPW.
3. Gustokashina N.N. Long-term changes in the main elements of the climate in the territory of the Pred'Baikalye region. Irkutsk: V.B. Sochava Institute of Geography SB RAS; 2003, 107 p. EDN: QKEHXJ.
4. Kharuk V.I., Im S.T., Petrov I.A., Golyukov A.S., Ranson K.J., Yagunov M.N. Climate-induced mortality of Siberian pine and fir in the Lake Baikal Watershed, Siberia. *Forest Ecology and Management*. 2017;384:191-199. DOI: 10.1016/j.foreco.2016.10.050.
5. Voronin V.I., Morozova T.I. Resistance of dark-needle coniferous forests of the Baikal region to "new" diseases. In: *Ekologiya i geografiya rastenii i rastitel'nykh soobshchestv: materialy IV Mezhdunar. nauch. konf.* =

Ecology and geography of plants and plant communities: Proceedings of the 4th International Scientific Conference. 16–19 April 2018, Ekaterinburg. Ekaterinburg: Gumanitarnyi universitet; 2018, p. 155-159. (In Russian). EDN: RWCJWD.

6. Velasco-Conde T., Yakovlev I., Majada J.P., Aranda I., Johnsen Ø. Dehydrins in maritime pine (*Pinus pinaster*) and their expression related to drought stress response. *Tree Genetics & Genomes*. 2012;8:957-973. DOI: 10.1007/s11295-012-0476-9.

7. Aziz M.A., Sabeem M., Mullath S.K., Brini F., Masmoudi K. Plant group II LEA proteins: intrinsically disordered structure for multiple functions in response to environmental stresses. *Biomolecules*. 2021;11(11):1662. DOI: 10.3390/biom11111662.

8. Riyazuddin R., Nisha N., Singh K., Verma R., Gupta R. Involvement of dehydrin proteins in mitigating the negative effects of drought stress in plants. *Plant Cell Reports*. 2022;41:519-533. DOI: 10.1007/s00299-021-02720-6.

9. Halder T., Upadhyaya G., Basak C., Das A., Chakraborty C., Ray S. Dehydrins impart protection against oxidative stress in transgenic tobacco plants. *Frontiers in Plant Science*. 2018;9:136. DOI: 10.3389/fpls.2018.00136.

10. Szlachetowska Z., Rurek M. Plant dehydrins and dehydrin-like proteins: characterization and participation in abiotic stress response. *Frontiers in Plant Science*. 2023;14:1213188. DOI: 10.3389/fpls.2023.1213188.

11. Cuevas-Velazquez C.L., Rendón-Luna D.F., Covarrubias A.A. Dissecting the cryoprotection mechanisms for dehydrins. *Frontiers in Plant Science*. 2014;5:583. DOI: 10.3389/fpls.2014.00583.

12. Yu Z., Wang X., Zhang L. Structural and functional dynamics of dehydrins: a plant protector protein under abiotic stress. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018;19(11):3420. DOI: 10.3390/ijms19113420.

13. Richard S., Morency M.-J., Drevet C., Jouanin L., Séguin A. Isolation and characterization of a dehydrin gene from white spruce induced upon wounding, drought and cold stresses. *Plant Molecular Biology*. 2000;43:1-10. DOI: 10.1023/a:1006453811911.

14. Bassett C.L., Wisniewski M.E., Artlip T.S., Norelli J.L., Renaut J., Farrell Jr. R.E. Global analysis of genes regulated by low temperature and photoperiod in peach bark. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 2006;131(4):551-563. DOI: 10.21273/jashs.131.4.551.

15. Joosen R.V.L., Lammers M., Balk P.A., Brønnum P., Konings M.C.J.M., Perks M., et al. Correlating gene expression to physiological parameters and environmental conditions during cold acclimation of *Pinus sylvestris*, identification of molecular markers using cDNA microarrays. *Tree Physiology*. 2006;26(10):1297-1313. DOI: 10.1093/treephys/26.10.1297.

16. Tatarinova T.D., Perk A.A., Bubyakina V.V., Vasilieva I.V., Ponomarev A.G., Maximov T.C. Dehydrin stress proteins in *Pinus sylvestris* L. needles under conditions of extreme climate of Yakutia. *Doklady Akademii nauk*. 2017;473(2):233-236. (In Russian). DOI: 10.7868/S0869565217080242. EDN: VXONRY.

17. Tatarinova T.D., Perk A.A., Ponomarev A.G., Vasil'eva I.V. Connection of dehydrins with the adaptation of Kayander larch to the conditions of the Yakutia cryolithozone. *Fiziologiya rastenii*. 2023;70(5):537-546. (In Russian). DOI: 10.31857/S001533032360016X. EDN: WWJMZE.

18. Amineva E.Yu., Tabatskaya T.M., Mashkina O.S., Popov V.N. Assessment of drought resistance of individual genotypes of *Pinus sylvestris* L. on the basis of *in vitro* tissue culture method in simulated stress conditions. *Trudy Sankt-Peterburgskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta lesnogo khozyaistva = Proceedings of the Saint Petersburg Forestry Research Institute*. 2017;1:14-22. (In Russian). DOI: 10.21178/2079-6080.2017.1.14. EDN: YMHZGZ.

19. Petrov K.A., Sofronova V.E., Bubyakina V.V., Perk A.A., Tatarinova T.D., Ponomarev A.G., et al. Woody plants of Yakutia and low-temperature stress. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2011;58:1011-1019. DOI: 10.1134/S1021443711060148.

20. Chang C.Y., Fréchette E., Unda F., Mansfield S.D., Ensminger I. Elevated temperature and CO₂ stimulate late-season photosynthesis but impair cold hardening in pine. *Plant Physiology*. 2016;172(2):802-818. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.16.00753>.

21. Korotaeva N.E., Ivanova M.V., Suvorova G.G., Borovskii G.B. Dehydrins in the adaptation of common pine and Siberian spruce to growing conditions during vegetation period. *Sibirskii lesnoi zhurnal = Siberian Journal of Forest Science*. 2020;6:54-63. (In Russian). DOI: 10.15372/SJFS20200605. EDN: TUJBFZ.

22. Korotaeva N., Romanenko A., Suvorova G., Ivanova M.V., Lomovatskaya L., Borovskii G., et al. Seasonal changes in the content of dehydrins in mesophyll cells of common pine needles. *Photosynthesis Research*. 2015;124:159-169. DOI: 10.1007/s11120-015-0112-2.

23. Newton R.J., Sen S., Puryear J.D. Free proline changes in *Pinus taeda* L. callus in response to drought stress. *Tree Physiology*. 1986;1(3):325-332. DOI: 10.1093/treephys/1.3.325.

24. Wu J., Wang J., Hui W., Zhao F., Wang P., Su C., et al. Physiology of plant responses to water stress and related genes: a review. *Forests*. 2022;13(2):324. DOI: 10.3390/f13020324.

25. Bomal C., Le V.Q., Tremblay F.M. Induction of tolerance to fast desiccation in black spruce (*Picea mariana*) somatic embryos: relationship between partial water loss, sugars, and dehydrins. *Physiologia Plantarum*. 2002;115(4):523-530. DOI: 10.1034/j.1399-3054.2002.1150406.x.

26. Kartashov A.V., Zlobin I.E., Pashkovskiy P.P., Pojidaeva E.S., Ivanov Y.V., Mamaeva A.S., et al. Quantitative analysis of differential dehydrin regulation in pine and spruce seedlings under water deficit. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2021;162:237-246. DOI: 10.1016/j.plaphy.2021.02.040.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Коротаева Наталья Евгеньевна,
к.б.н., старший научный сотрудник,
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
✉ korotaeva73@sifibr.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4236-389X>

Шмаков Владимир Николаевич,
к.б.н., старший научный сотрудник,
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
scherckr@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-2965-1758>

Молдавская Софья Эдуардовна,
старший лаборант,
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
aria.zymys@bk.ru
<https://orcid.org/0009-0005-2039-8428>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад
в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта
интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили
окончательный вариант рукописи.*

Информация о статье

Поступила в редакцию 24.08.2023.
Одобрена после рецензирования 08.11.2023.
Принята к публикации 31.10.2023.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Natalia E. Korotaeva,
Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
✉ korotaeva73@sifibr.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4236-389X>

Vladimir N. Shmakov,
Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
scherckr@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-2965-1758>

Sofia E. Moldavskaya,
Senior Laboratory Assistant,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
aria.zymys@bk.ru
<https://orcid.org/0009-0005-2039-8428>

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

Conflict interests

The authors declare no conflict of interests
regarding the publication of this article.

*The final manuscript has been read and approved
by all the co-authors.*

Information about the article

The article was submitted 24.08.2023.
Approved after reviewing 08.11.2023.
Accepted for publication 31.10.2023.