

ВЛИЯНИЕ ХОЛОДОВОГО СТРЕССА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ ФАКТОРОВ ТРАНСКРИПЦИИ У СЕЛЕКЦИОННО-ЦЕННЫХ ГЕНОТИПОВ ТОПОЛЯ

С. Г. Ржевский, Т. А. Гродецкая, П. М. Евлаков, Т. П. Федулова

ФГБУ «Всероссийский научно-исследовательский институт
лесной генетики, селекции и биотехнологии»

Поступила в редакцию 25.07.2019 г.

Аннотация. В данной работе представлено исследование стрессовых реакций, проведенное на восьми биотипах настоящих и белых тополей. Стресс моделировался путём промораживания образцов в холодильной камере при -50°C , далее следовало отращивание контрольных и опытных образцов с регистрацией динамики распускания вегетативных почек. В результате выявлено, что различные сорта и гибриды тополя демонстрируют разную реакцию на промораживание. Самую раннюю вегетацию проявили образцы «тополь китайский» и «тополь волосистоплодный». Гибрид 'Сакрау-59' дал распускание почек в наиболее поздние сроки. У одних представителей подвергнутые холодовому стрессу почки распускались медленнее ('Ивантеевский', 'Ведуга', «тополь Китайский», а также 'Э.с.-38' – в незначительной степени). У сорта 'ПОК' ('Пирамидально-осокоревый Камышинский') наблюдалось ускоренное отрастание промороженных образцов. Для экземпляров 'Сакрау-59' реакция на холодовой стресс оказалась незначительной. И, наконец, у тополя волосистоплодного характер динамики изменился со временем: в начале более интенсивно распускались опытные образцы, к концу наблюдения — контрольные. По итогам определения фенологических параметров, было отобрано два образца (гибрид 'ПОК' и представитель вида тополь китайский) для оценки экспрессии генов факторов транскрипции *DREB2*, *NAC036* и *NAC034*, отвечающих за метаболические стрессовые реакции. Результат исследования продемонстрировал различную реакцию исследуемых генов на воздействие низких температур. Установлено, что относительный уровень транскриптов генов *NAC036* в почках образца тополя китайского снижался после промораживания, в то время как экспрессия *NAC034* и *DREB2* достоверно не изменялась. У образца 'ПОК' также показано снижение уровня транскриптов гена *DREB2* в ответ на влияние холодового стресса. На основе полученных сведений сделаны выводы о специфике реакции различных биотипов тополя на экстремальное низкотемпературное воздействие, что может способствовать установлению связи функционирования отдельных генов факторов транскрипции и физиологических проявлений стрессовых реакции и отбору генетических маркеров стрессоустойчивости древесных растений.

Ключевые слова: тополь, экспрессия, *DREB2*, *NAC034*, *NAC036*, стресс, морозоустойчивость.

Представители рода *Populus* имеют широкое распространение в разных климатических зонах. Помимо экономической и экологической значимости, различные виды тополя служат модельными объектами для исследования физиологических и молекулярных механизмов стрессоустойчивости древесных растений. Поиск и отбор устойчивых форм лесных культур необходим для создания и восстановления посадок в регионах с жестким климатом, а также на участках, подверженных интенсивному антропогенному воздействию [1]. Вы-

явление устойчивых генотипов осуществляется посредством оценки влияния природных и искусственно моделируемых стрессовых воздействий на физиологические параметры растительного организма [2]. Показателями стрессовой реакции могут служить морфологические, биохимические и генетические маркеры [3, 4]. Перспективную область исследований представляет молекулярно-генетическая оценка уровня экспрессии генов, контролирующих синтез белков, ответственных за стрессоустойчивость у лесных древесных растений [5].

Целью данной работы являлась оценка влияния искусственно смоделированного холодового

© Ржевский С. Г., Гродецкая Т. А., Евлаков П. М., Федулова Т. П., 2019

стресса на скорость распускания вегетативных почек селекционно-ценных форм тополя, а также экспрессию генов факторов транскрипции, ассоциированных с развитием стрессовых реакций.

В работе исследовалось функционирование генов *NAC*, представляющих собой одно из самых больших семейств транскрипционных факторов растительных организмов. Аббревиатура “*NAC*” происходит от названия трех генов, для которых было обнаружено содержание специфичного домена: это гены *NAM*, *ATAF1*, *ATAF2*, и *CUC2* [6]. Соответствующие *NAC*-белки контролируют развитие меристем и формирование растительных органов, а также участвуют в передаче ауксинового сигнала [7]. Установлено, что экспрессия генов, кодирующих белки данного семейства, индуцировалась воздействием стрессовых факторов: ранением, холодовым шоком и обезвоживанием [8].

Также в данном исследовании был использован генетический маркер стрессовой реакции, относящийся к семейству *DREB* (*dehydration responsive element binding*). Гены данного семейства контролируют важные факторы транскрипции, которые влияют на экспрессию многих генов, индуцируемых стрессом [9, 10]. Установлено, что уровни транскрипции представителя данного семейства *PeDREB2A* (из генома бамбука мосо, *Phyllostachys edulis*), увеличиваются после воздействия засухи и солевого стресса. В то же время, ген *PeDREB1A* проявлял сильный отклик на холодовой стресс, но продемонстрировал лишь незначительный отклик на засуху и засоление [11, 12].

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Для постановки опыта использовались образцы верхушечных однолетних побегов тополя, отобранные из коллекционно-маточной плантации на территории лесопаркового участка ФГБУ «ВНИЛГИСБиотех», в конце января, при температуре воздуха около -10 °С. Для опыта и контроля бралось шесть фрагментов с каждого побега длиной по 20 см (по одному фрагменту из опытной и контрольной партии для каждой формы тополя в дальнейшем было отобрано для выделения РНК). Материал для исследования был предоставлен к.с-х.н. Царевым В.А. и к.с-х.н. Царевой Р.П. Всего в исследовании были задействованы восемь гибридов, видов и сортов тополя, относящихся к разным секциям (табл. 1).

Исследование стрессовых реакций осуществлялось на восьми биотипах настоящих и белых тополей. Стресс моделировался путём промораживания образцов в холодильной камере при -50°С (в течение 8 часов). Контрольные образцы при этом находились в условиях комнатной температуры. Далее следовало отращивание опытных и контрольных экземпляров в лабораторных условиях, при искусственном освещении с фотопериодом 8 часов. Попутно осуществлялась регистрация количества распутившихся почек с периодичностью в двое суток, начиная с седьмого дня после постановки эксперимента, и заканчивая двадцать пятым. По результатам наблюдения динамики распускания вегетативных почек было отобрано два образца: тополь ‘ПОК’ (гибрид Пирамидально-осокоревый Камышинский) и представитель вида тополь китайский, проявивших

Таблица 1

Характеристика отобранных стеблевых черенков тополя [13, 14, 15]

№, п/п.	Наименование	Происхождение, автор гибрида (сорта)
I. Белые тополя с пирамидальной формой кроны		
1	‘Ведуга’	сорт А.П. Царева (<i>P. alba</i> L. × <i>P. bolleana</i> Louche)
II. Черные тополя с пирамидальной формой кроны		
2	‘ПОК’ (Пирамидально-осокоревый Камышинский)	Селекция Альбенского А.В. (<i>P. pyramidalis</i> Roz. × <i>P. nigra</i> L.)
III. Бальзамические тополя		
3	Китайский	Вид <i>P. simonii</i> Carrière
4	Волосистоплодный	Вид <i>P. trichocarpa</i> Torr. & A.Gray ex. Hook.
5	Максимовича	Вид <i>P. maximowiczii</i> A.Henry
IV. Черные тополя с раскидистой формой кроны		
6	‘Сакрау-59’	Евроамериканский гибрид <i>P. nigra</i>
V. Межсекционные гибриды		
7	‘Э.с.-38’	Гибрид М.М. Вересина (<i>P. deltoides</i> W. Bartram ex Marshall × <i>P. balsamifera</i> L., получен в присутствии смеси пыльцы <i>P. alba</i> и <i>P. tremula</i>)
8	‘Ивантеевский’	Селекция Яблокова А.С. (<i>P. suaveolens</i> Fisch. × <i>P. berolinensis</i> Dipp.)

наиболее контрастные результаты в расхождении фенологических характеристик у контрольных и опытных образцов. Из распустившихся листьев данных биотипов была выделена РНК, затем произведена оценка экспрессии генов транскрипционных факторов *DREB2*, *NAC034*, *NAC036*.

Для выделения РНК использовались колонки NucleoSpin® Plant RNA с реактивами, входящими в комплект. Концентрация выделенной РНК измерялась при помощи флюориметра «Qubit 2.0» с использованием стандартного набора реактивов Qubit RNA BR AssayKit. Оценка качества выделенной РНК осуществлялась при помощи электрофореза в 1% агарозном геле с применением ТАЕ-буфера. На матрице выделенной РНК были приготовлены препараты кДНК, посредством реакции обратной транскрипции, проведенной со стандартным набором реактивов, содержащим ревертазу, на ПЦР-амплификаторе Biorad CFX96 [16]. Протокол ПЦР-реакции составлял 38 циклов со следующими параметрами: 94° С – 3 мин, далее 45 циклов: 94°С – 30 с, 60°С – 30 с, 72°С – 30 с, а также финальная элонгация: 72°С – 3 мин. Праймеры к исследуемым генам были подобраны с использованием программы Primer3, а также по литературным источникам (табл. 2) [17, 18]. В качестве нормализатора использовали праймеры к гену актина *Act*. Температуры отжига для каждого гена подбирались индивидуально, оптимизировались путем постановки ПЦР с температурным градиентом. Уровень относительной экспрессии исследуемых генов определялся с применением 2-ΔΔCt-метода с использованием программного обеспечения CFX Manager (Bio-Rad, США).

Таблица 2

Нуклеотидные последовательности праймеров исследуемых генов и гена-нормализатора

Ген	Последовательность нуклеотидов
<i>DREB2</i>	F: TGATGCTCGTATGCTCGT R: TCCTCATACAGCAGACCTC
<i>NAC034</i>	F: GTGTATTTGACACGTCAGATTCT R: ATACATGAACATGTCCTGAAGCG
<i>NAC036</i>	F: ACGAAATCTGGGTTCCAGGGAGC R: GAGTTCCTCCGTCCTCGTT
<i>Act</i>	F: GTCCTCTCCAGCCATCTC R: TTCGGTCAGCAATACCAGG

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

При анализе фенологических особенностей исследуемых образцов в динамике выявлено, что различные сорта и гибриды тополя демонстрируют разную реакцию на промораживание, что позволяет распределить их по этому признаку на следующие группы:

1. Подвергнутые холодовому стрессу почки распускались медленнее («Ивантеевский», «Ведуга», «Китайский», а также 'Э.с.-38' – в незначительной степени).

2. Реакция на проморозку оказалась незначительной ('Сакрау-59')

3. Наблюдалось ускоренное отрастание промороженных образцов ('ПОК').

4. Характер динамики изменился со временем: в начале более интенсивно распускались опытные образцы, к концу наблюдения — контрольные («Волосистоплодный»).

Самую раннюю вегетацию в данном исследовании продемонстрировали образцы «Китайский» и «Волосистоплодный». Тополь 'Сакрау-59' проявил распускание почек в наиболее поздние сроки. В целом, эти данные согласуются с ранее полученными [19].

Наиболее явно влияние низкотемпературного воздействия сказалось на вегетации образцов «тополь китайский» и 'ПОК'. Тополь китайский проявил отставание в распускании промороженных почек, которое было выражено в течение первых недель эксперимента, однако затем показатели сравнялись. Тополь 'ПОК', напротив в начале эксперимента не проявлял сильных отличий между фенологией контрольных и опытных образцов, но на третьей неделе отрастания промороженные образцы стали распускаться более интенсивно. На примере этих экземпляров мы наблюдаем два противоположных типа реакции на холодовой стресс: замедление и активацию распускания почек (рис. 1).

В результате оценки экспрессии стрессовых генов данных двух образцов тополя выявлено, что относительный уровень транскриптов генов *DREB2* и *NAC036* в почках тополя китайского снижался после промораживания, в то время как экспрессия *NAC034* не отличалась от контрольных вариантов (однако, изменение экспрессии *DREB2* не выходит за пределы статистической погрешности). У образца 'ПОК' также показано снижение уровня транскриптов гена *DREB2* в ответ на действие холодового стресса, а экспрессия генов *NAC034* и *NAC036* достоверно не отличалась от контрольных образцов. Результат анализа экспрессии генов рассматриваемых образцов представлен на рисунке 2.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что гены факторов транскрипции семейств DREB и NAC изменяют свою экспрессию в ответ на воздействие низких температур. При со-

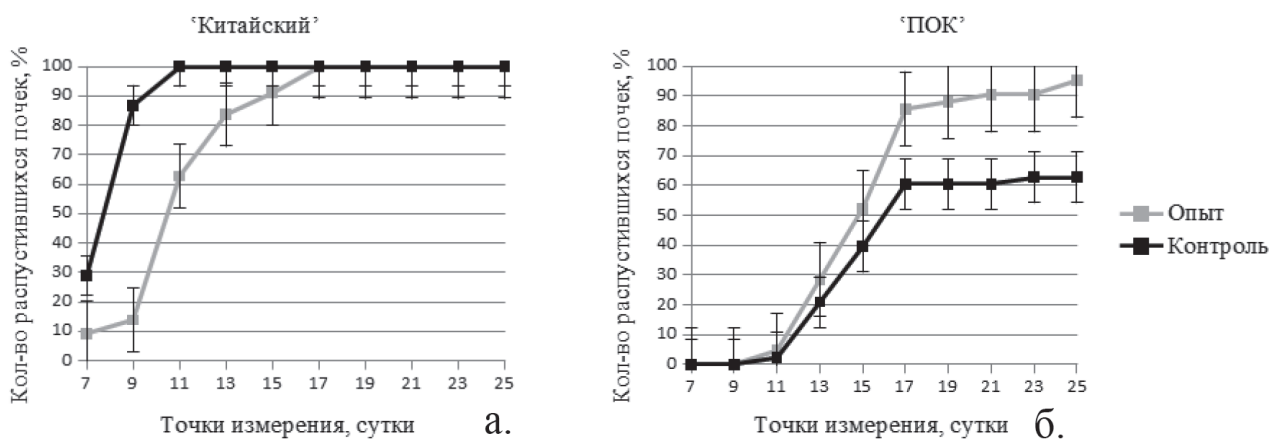


Рис. 1. Динамика распускания вегетативных почек образцов тополя в норме и после проморожки (отсчет точек измерения начат после распускания первых почек на седьмые сутки эксперимента): а) тополь китайский, б) тополь 'ПОК'

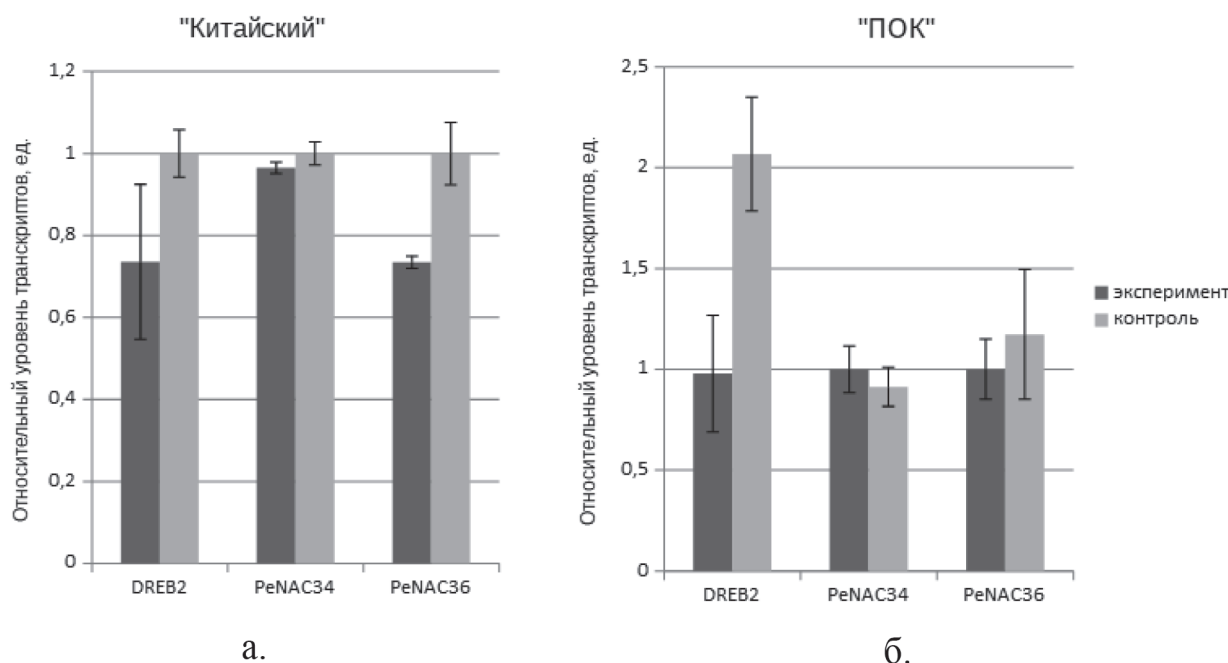


Рис. 2. Результат анализа экспрессии генов NAC036, NAC034 и DREB2: а) тополь китайский, б) тополь 'ПОК'

поставлении этого изменения с фенологическими данными, следует отметить, что замороженные образцы тополя китайского продемонстрировали отставание в распускании почек, сопровождавшееся снижением экспрессии *NAC036* и *DREB2*. В то же время, у тополя 'ПОК' замороженные образцы, распускавшиеся активнее, показали уменьшение экспрессии *DREB2*. Однако этих данных еще не достаточно для установления однозначных корреляций между экспрессией отдельных генов и изменениями фенологических параметров растений.

Для отбора устойчивых форм деревьев необходимо верно интерпретировать стрессовые реакции. Замедление распускания почек вследствие

промораживания, равно как и ускорение, может свидетельствовать о повышенной чувствительности биотипа к холодному воздействию. Наиболее устойчивыми к воздействию данного абиотического фактора, могут считаться экземпляры, не выявившие существенных отклонений в развитии после промораживания. В данном исследовании таковым оказался образец тополя 'Сакрау-59', экземпляр гибрида 'Эс-38', также продемонстрировал лишь незначительное отставание в распускании почек опытных образцов. Ранее проведенное исследование показало, промораживание спящих почек до -38°C у экземпляров тополя 'Сакрау-59' также не привело к значительным фенологиче-

ским отличиям между опытными и контрольными образцами; в то же время экземпляры тополя 'Э.с.-38' в начале проявляли более интенсивное распускание контрольных образцов, затем – опытных [19]. По итогам двух проведенных экспериментов, можно предполагать, что 'Сакрау-59' и 'Э.с.-38' являются в значительной мере холодоустойчивыми биотипами тополя.

В работах других исследователей изменение экспрессии в ответ на воздействие холода было показано для генов DREB1 у тополя черного, в то время как семейство DREB2 ассоциировалось с влиянием солевого стресса у различных растений [20]. По имеющимся данным, ген *PeDREB1A* *Phyllostachys edulis* проявлял сильный отклик на холодовой стресс, но продемонстрировал лишь незначительную реакцию на засуху и солевой стресс [11, 12]. Однако также известно, что уже в первые часы воздействия холодового стресса экспрессия гена *PeDREB2* увеличивается у тополя евфратского [20]. Kim и Wu также высказали предположение, что могут существовать перекрестные пути между семействами DREB1 и DREB2, поскольку некоторые гены DREB1 индуцируются осмотическим стрессом и повышенными концентрациями соли, что обычно наблюдается для генов DREB2. В работе Lu с соавт. показано, что сверхэкспрессия *PeNAC036* у арабидопсиса дикого типа и внедрение *PeNAC036* в мутантную линию *anac072* повышали устойчивость к засолению и засухе, в то время как сверхэкспрессия *PeNAC034* в растениях дикого типа и внедрение в мутантные линии *atafl* увеличивали чувствительность растений к стрессу.

Изменение уровня экспрессии генов в проведенном нами исследовании свидетельствует о развитии стрессозащитных механизмов у растений. Снижение экспрессии исследуемых генов у образцов тополя китайского может быть связано с индуцированием таких путей защиты от абиотического стресса, как, например, АБК-путь. В то же время, регуляция функционирования *NAC036* и *DREB2*, предположительно, сопряжена с активацией других представителей факторов транскрипции и изменением экспрессии их генов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Реакция на воздействие низких температур у различных видов и сортов тополя является специфичной: в одних случаях промораживание ускоряет распускание почек в лабораторных условиях, в других – замедляет. Изменение экспрессии стрессовых генов также является сортоспецифичным.

Образцы тополя 'Сакрау-59' и 'Э.с.-38' показали незначительную физиологическую реакцию на промораживание, что позволяет предположительно отнести их к холодоустойчивым биотипам.

Из изученных образцов наиболее контрастную реакцию на промораживание продемонстрировали тополь китайский и тополь пирамидально-осокоревый Камышинский. В первом случае наблюдалось замедление распускания промороженных образцов, во втором – ускорение. При этом у подвергнутых холодовому стрессу экземпляров тополя китайского снижалась экспрессия *NAC036* и *DREB2*, у опытных экземпляров 'ПОК' – снижалась экспрессия *DREB2*.

Полученные данные могут способствовать установлению связи функционирования отдельных генов факторов транскрипции и физиологическим проявлением реакции на стрессовое воздействие и отбору генетических маркеров стрессоустойчивости древесных растений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Царев А.П., Царева Р.П., Царев В.А. // Информационный вестник ВОГИС. 2010. Т. 14. №. 2. С. 255-264.
2. Albertos P., Wagner K., Poppenberger B. // Plant, cell & environment. 2019. Vol. 42, No. 3, pp. 846-853.
3. Кафи М., Стюарт В.С., Борланд А.М. // Физиология растений. 2003. Т. 50. № 2. С.174-182.
4. Кулуев Б.Р., Бережнева З.А., Князев А.В., Никоноров Ю.М., Чемерис А.В. // Физиология растений. 2018. Т. 65. №.1. С. 26-37.
5. Hu L., Lu H., Liu Q., Chen X., Jiang X. // Tree physiology. 2005. Vol. 25. No. 10. pp.1273-1281.
6. Nuruzzaman M., Sharoni A.M., Kikuchi S. // Front Microbiol. 2013. Vol. 4, pp. 248. DOI:10.3389/fmicb.2013.00248.
7. Медведев С.С., Шарова Е.И. // Journal of Siberian Federal University. Biology. 2010. Vol. 3, pp. 109-129.
8. Lu X., Dun H., Lian C., Zhang X., Yin W., Xia X. // Plant physiology and biochemistry. 2017. Vol. 115, pp.418-438.
9. Zhao T., Liang D., Wang P., Liu J., Ma F.G. // Molecular genetics and genomics. 2012. Vol. 287. No. 5, pp. 423-436.
10. Agarwal P.K., Agarwal P., Reddy M.K., Sopory S.K. // Plant cell reports. 2006. Vol. 25. No. 12, pp. 1263-1274.
11. Kim J.S., Mizoi J., Yoshida T., Fujita Y., Nakajima J., Ohori T., Yamaguchi-Shinozaki K. //

Plant Cell Physiol. 2011. No. 52(12), pp. 2136-46.

12. Wu H.L., Li L., Cheng Z.C., Ge W., Gao J., Li X.P. // Genetics and Molecular Research. 2015. No. 14 (3), pp. 10206-10223

13. Царев А.П. Сортоведение тополя. Воронеж: ВГУ, 1985. 152 с

14. Царев А.П., Царева Р.П., Царев В.А. // Вестник Московского государственного университета леса – Лесной Вестник. 2012. Т. 84, Вып. 1. С. 91-98.

15. Tsarev A.P., Wühlisch G. von, Tsareva R.P. Hybridization of Poplars in the Central Chernozem Region of Russia (Ed by the Thünen Institute of Forest Genetics Germany), 2017, 10 pp. DOI: <https://doi.org/10.1515/sg-2016-0011>.

16. Епринцев А.Т., Попов В.Н., Федорин Д.Н. Идентификация и исследование экспрессии генов. Учебно-методическое пособие для вузов. Воронеж, 2008. С. 3-15.

17. Wang L., Zhou B., Wu L., Guo B., & Jiang T. // Plant science. – 2011. Vol. 180. No. 6, pp. 796-801.

18. Wang J., Zhang L., Wang X., Liu L., Lin X., Wang W., Zhang Y. // Plant science. 2019. Vol. 280, pp. 66-76.

19. Ржевский С.Г., Гродецкая Т.А., Федулова Т.П., Евлаков П.М. // Лесотехнический журнал. 2018. № 8(4 (32)). С. 29-37.

20. Chen J., Xi X., Yin W. // Biochemical and Biophysical Research Communications. 2009. Vol. 378, pp. 483-487.

ФГБУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики, селекции и биотехнологии»

*Ржевский С. Г., младший научный сотрудник лаборатории биохимии, молекулярной генетики и физиологии растений

E-mail: slavaosin@yandex.ru

Гродецкая Т. А., младший научный сотрудник лаборатории биотехнологии

E-mail: tatyana.pokusina@yandex.ru

Федулова Т. П., доктор биологических наук. Ведущий научный сотрудник

E-mail: biotechnologiya@mail.ru

Евлаков П. М., кандидат биологических наук, Старший научный сотрудник

E-mail: peter.evlakov@yandex.ru

All-Russian Research Institute of Forest Genetics, Selection and Biotechnology

*Rzhevsky S. G., Junior Researcher of the Laboratory of Biochemistry, Molecular Genetics and Physiology of Plants

E-mail: slavaosin@yandex.ru

Grodetskaia T. A., Junior Researcher of the Laboratory of Biotechnology

E-mail: tatyana.pokusina@yandex.ru

Fedulova T. P., PhD., DSci., Leading researcher

E-mail: biotechnologiya@mail.ru

Evlakov P. M., PhD., Senior Researcher E-mail: peter.evlakov@yandex.ru

INFLUENCE OF THE COLD STRESS ON THE EXPRESSION OF TRANSCRIPTION FACTOR GENES IN BREEDING-VALUABLE GENOTYPES OF POPLAR

S. G. Rzhevsky, T. A. Grodetskaya, P. M. Evlakov, T. P. Fedulova

FGBU "All-Russian Scientific Research Institute of Forest Genetics, Breeding and Biotechnology"

Abstract. This paper presents a study of stress reactions conducted on eight biotypes of poplars. Stress was modeled by freezing of the samples in the refrigerating chamber at -50°C , followed by growth of the control and experimental samples with the registration of the dynamics of vegetative buds blooming. The study revealed that different varieties and hybrids of poplar show a different reaction to freezing. The earliest vegetation in this study was demonstrated by the *P. simonii* and *P. trichocarpa* samples. Poplar 'Sacrau-59' showed budding in the latest dates. In some representatives, cold-stressed buds bloomed more

slowly ('Ivanteevsky', 'Veduga', *P. simonii*, and 'E.s.-38' to an insignificant degree). In the cultivar 'POK', accelerated regrowth of frozen samples was observed. For 'Sacrau-59' specimens, the response to freezing was not significant. And, finally, dynamics of *P. trichocarpa* has changed over time: in the beginning, samples bloomed more intensively, and by the end of the observation – control samples. Following the determination of phenological parameters, two samples were selected (hybrid 'pyramidalno-osokorevy Kamyshinsky' ('POK') and representative of *P. simonii* species) to assess gene expression of transcription factors *DREB2*, *NAC036* and *NAC034*, which are responsible for metabolic stress reactions. It was established that the relative level of transcripts of the *NAC036* genes in the buds of *P. simonii* sample decreased after freezing, while the expression of *NAC034* and *DREB2* did not significantly change. The 'POK' sample also shows a decrease in the level of *DREB2* gene transcripts in response to the effects of cold stress. Based on the findings, conclusions were drawn about the specificity of the response of various biotypes of poplar to extreme low-temperature effects, which can help establish the connection between the functioning of individual genes of transcription factors and physiological manifestations of stress reactions and the selection of stress tolerance genetic markers of woody plants.

Keywords: poplar, expression, *DREB2*, *NAC034*, *NAC036*, stress, cold resistance.

REFERENCES

1. Tsarev A.P., Tsareva R.P., Tsarev V.A., Vavilov journal of genetics and breeding, 2010, Vol. 14, No. 2, pp. 255-264.
2. Albertos P., Wagner K., Poppenberger B., Plant, cell & environment, 2019, Vol. 42, No. 3, pp. 846-853.
3. Kafi M., Stuart V.S., Borland A.M., Plant Physiology, 2003, Vol. 50, No. 2, pp.174-182.
4. Kuluev B.R., Berezhneva Z.A., Knyazev A.V., Nikonorov Yu.M., Chemeris A.V., Plant Physiology, 2018, Vol. 65, No. 1, pp. 26-37.
5. Hu L., Lu H., Liu Q., Chen X., & Jiang X., Tree physiology, 2005, Vol. 25, No. 10, pp.1273-1281.
6. Nuruzzaman M., Sharoni A.M., Kikuchi S., Front Microbiol, 2013, Vol. 4, pp. 248. DOI: 10.3389/fmicb.2013.00248.
7. Medvedev S.S., Sharova E.I., Journal of Siberian Federal University. Biology, 2010, Vol. 3, pp. 109-129.
8. Lu X., Dun H., Lian C., Zhang X., Yin W., Xia X., Plant physiology and biochemistry, 2017, Vol. 115, pp. 418-438.
9. Zhao T., Liang D., Wang P., Liu J., Ma F.G., Molecular genetics and genomics, 2012, Vol. 287, No. 5, pp. 423-436.
10. Agarwal P.K., Agarwal P., Reddy M.K., Sopory S.K., Plant cell reports, 2006, Vol. 25, No. 12, pp. 1263-1274.
11. Kim J.S., Mizoi J., Yoshida T., Fujita Y., Nakajima J., Otori T., Yamaguchi-Shinozaki K., Plant Cell Physiol., 2011, No. 52(12), pp. 2136-46.
12. Wu H.L., Li L., Cheng Z.C., Ge W., Gao J., Li X.P., Genetics and Molecular Research, 2015, No. 14 (3), pp. 10206-10223
13. Tsarev A.P. Poplar cultivation. Voronezh: VSU, 1985. 152 p.
14. Tsarev A.P., Tsareva R.P., Tsarev V.A., Bulletin of Moscow State University of Forest – Forest Bulletin, 2012, Vol. 84, No. 1, pp. 91-98.
15. Tsarev A., Wühlisch G. von, Tsareva R. Hybridization of Poplars in the Central Region of Russia (Ed by the Thünen Institute of Forest Genetics Germany), 2017, 10 pp. DOI: <https://doi.org/10.1515/sg-2016-0011>.
16. Eprintsev A.T., Popov V.N., Fedorin D.N., Identification and study of gene expression. Teaching guide for universities, Voronezh, 2008, pp. 3-15.
17. Wang L., Zhou B., Wu L., Guo B., Jiang, T., Plant science, 2011, Vol. 180, No. 6, pp. 796-801.
18. Wang J., Zhang L., Wang X., Liu L., Lin X., Wang W., Zhang Y., Plant science, 2019, Vol. 280, pp. 66-76.
19. Rzhnevsky S.G., Grodetzkaya T.A., Fedulova T.P., Evlakov P.M., Forestry engineering journal, 2018, No. 8 (4 (32)), pp. 29-37.
20. Chen J., Xia X., Yin W., Biochemical and Biophysical Research Communications, 2009, Vol. 378, pp. 483-487.