

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ РАЗМНОЖЕННЫХ *IN VITRO* КЛОНОВ *BETULA L.* МЕТОДОМ МИКРОСАТЕЛЛИТНОГО АНАЛИЗА

Т. А. Гродецкая¹, С. Г. Ржевский¹, О. Ю. Баранов², Т. П. Федулова¹,
Т. М. Табацкая¹, О. С. Машкина^{1,3}

¹ФГБУ «Всероссийский научно-исследовательский институт
лесной генетики, селекции и биотехнологии»

²Институт леса НАН Беларуси

³Воронежский государственный университет

Поступила в редакцию 04.09.2020 г.

Аннотация. В данной работе изложены результаты сравнительного анализа образцов *in vitro* клонов березы повислой (*Betula pendula* Roth), карельской (*Betula pendula* Roth var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti), далекарлийской (*Betula pendula* f. '*dalecarlica*' (L.f.) Schneid.) и пушистой (*Betula pubescens* Ehrh.) с использованием генетических маркеров к микросателлитным локусам. В исследовании использовались молодые листья размноженных *in vitro* клонов березы из коллекции ФГБУ «ВНИИЛГИСбиотех». С помощью метода ПЦР-анализа была осуществлена генетическая паспортизация изучаемых образцов. Размеры полученных продуктов амплификации определялись методом капиллярного электрофореза. С целью оценки генетического родства генотипов различных видов березы, на основе выбранных SSR-локусов был осуществлен биоинформатический анализ, с использованием метода расчета евклидовых расстояний построена дендрограмма, отражающая генетическое сходство и различие рассматриваемых образцов. Также проведена оценка информативности микросателлитных маркеров, путем расчета индекса информационного полиморфизма (PIC). Анализ образцов березы пушистой показал, что две фенотипически различающиеся линии одного и того же клона обладают сходным генотипом. Показано, что контрастные по проявлению признака рассеченнолистности клоны березы далекарлийской являются уникальными генотипами. Выполненное исследование позволило установить генетическое родство культивируемых *in vitro* клонов березы карельской и линий березы пушистой, что свидетельствует о единстве происхождения данных экземпляров. Показана высокая генетическая однородность и отсутствие изменчивости в процессе длительного культивирования у проанализированных клонов березы. Обнаружен высокой полиморфизм для микросателлитных локусов L1.10, L10.1, L2.2, L7.3, L5.4, L7.8, что позволяет рекомендовать их для генетической идентификации образцов березы различных видов. Полученные данные о плоидности образцов соответствуют результатам ранее проведенных цитологических исследований. Использование капиллярного электрофореза в качестве метода разделения продуктов ПЦР оказалось хорошим инструментом для оценки генетической однородности по сравнению с исходным материалом для введения в культуру, а также стабильности образцов во время культивирования *in vitro* в сочетании с использованием цитологических методов анализа.

Ключевые слова: *Betula pendula*, *Betula pendula* Roth. var. *carelica*, *Betula pendula* f. '*dalecarlica*', *Betula pubescens*, микросателлитный анализ, генетическая паспортизация, плоидность.

В настоящее время, в связи с увеличивающейся скоростью деградации лесов, актуальным становится вопрос естественного лесовосстановления. Береза является лесообразующей породой, распространенной в умеренной и арктической зонах северного полушария (Европа, Гренландия, Малая Азия, Кавказ, Сибирь, Гималаи, Китай,

Корея, Япония и Северная Америка). Многие ее виды приспособлены к экстремальным почвенным и климатическим условиям. Береза произрастает на бедных, песчаных или болотистых почвах, на больших высотах. Характеризуется высокой скоростью роста, что является важным условием восстановления естественного лесного покрова после вырубок, пожаров, ущерба, причиняемого ветром и насекомыми.

© Гродецкая Т. А., Ржевский С. Г., Баранов О. Ю., Федулова Т. П., Табацкая Т. М., Машкина О. С., 2020

Род *Betula* считается таксономически сложной группой. Изменчивость многих видовых признаков березы очень велика, что связывают, прежде всего, с естественной межвидовой гибридизацией [1]. Большое многообразие видов, форм и гибридов березы трудно охарактеризовать только морфометрическими методами. Для этих целей все чаще применяют молекулярно-генетический подход [2]. Для изучения эволюционного происхождения и генетического картирования березы [3], а также соотношения фенотипических характеристик с молекулярным генотипом используют нейтральные молекулярные маркеры, такие как микросателлиты [2]. Микросателлитная ДНК, или простые повторы последовательностей (simple sequence repeats, SSR), являются отдельным классом высокоинформативных генетических ДНК-маркеров. Это обширно распространенные полиморфные элементы в ядерных геномах, состоящие из тандемных повторов коротких мотивов последовательности ДНК [4].

Для сохранения и массового тиражирования ценных генотипов в настоящее время широко используются технологии культивирования *in vitro*. При этом довольно часто клональное микроразмножение сопровождается соматическая изменчивость (изменение геномов ядер и органелл), что приводит к появлению особей, генетически отличающихся от исходного растения [5-9]. Генетическую однородность клонов и их соответствие с материнскими деревьями оценивают с использованием молекулярных маркеров и проведения хромосомного анализа (в частности, анализа пloidности) [10, 11]. Сохранение ценных генотипов путем помещения в культуру *in vitro* требует применения точных механизмов оценки однородности материала в процессе длительного культивирования. Эффективность использования молекулярных маркеров для оценки стабильности генетического материала показана для многих видов древесных растений [12]. Возможность использования

микросателлитных маркеров для генотипирования и идентификации межвидовых гибридов и клонов, а также индивидуальных генотипов была ранее показана для *in vitro* клонов тополя и осины [13]. Применение молекулярных маркеров позволяет провести точную оценку исходного материала для введения в культуру *in vitro*, а также исследовать генетическую изменчивость микроклонов в процессе длительного культивирования *in vitro*.

Целью данного исследования являлся анализ генетической структуры и ее однородности в процессе длительного культивирования размноженных *in vitro* клонов березы методом микросателлитного анализа.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Объектом исследования являлись молодые листья размноженных *in vitro* клонов березы из коллекции ФГБУ «ВНИИЛГИСБиотех» [14]. Образцы карельской березы представлены клонами 18к и Тр, полученными в разные годы от одного и того же маточного дерева; березы пушистой – двумя различающимися по фенотипу линиями (Зпш-8 и Зпш-9) одного и того же клона; березы далекарлийской – клонами R1 и R2, контрастными по проявлению признака рассеченности при культивировании *in vitro*; березы повислой – клоном д.5.

Экстракцию ДНК исследуемых образцов проводили модифицированным СТАВ-методом [15]. Концентрацию препаратов ДНК измеряли на спектрофотометре «Nano Photometer p330» (Implen, Германия). Разделение ДНК осуществляли методом электрофореза в 1% агарозном геле, визуализацию осуществляли в УФ-излучении, после прокраски геля раствором бромистого этидия.

Микросателлитный анализ образцов осуществляли по 6 локусам (L1.10, L10.1, L2.2, L7.3, L5.4, L7.8), ранее выявившим значительный полиморфизм у различных генотипов березы [3], табл. 1.

Таблица 1

Характеристика микросателлитных локусов и праймеров для клонов березы

SSR-маркер	Повтор	Последовательность праймера (5'→3')
L 1.10	(GA) ₄ AA(GA) ₁₀	ACGCTTTCTTGATGTCAGCC (F) TCACCAAGTTCCTGGTGGAT (R)
L 10.1	(AT) ₈	AGCGACCCAATGCAGTTATC (F) CCGGCCACTCTTAGGTTTT (R)
L 2.2	(TC) ₈ (TTTC) ₂	AGACCATGCCTGGGCCTT (F) CGCAACAAAACACGATGAGA (R)
L 7.3	(GT) ₁₈ (GA) ₁₄	GGGGATCCAGTAAGCGGTAT (F) CACACGAGAGATAGAGTAACGGAA (R)
L 5.4	(TC) ₂₆	AAGGGCACCTGCAGATTAGA (F) AAAATTGCAACAAAACGTGC (R)
L 7.8	(CT) ₁₁ GC(AATG) ₂	GGCCAACAGATATAAAAACGACG (F) TTTAAATGCCACCTTCCC (R)

Полимеразно-цепную реакцию (ПЦР) проводили на приборе «Gene Max Tc-s» (Bioer, Китай) по следующей программе: 94°C – 3 мин, 40 циклов из стадий 94°C – 20 сек, 55°C – 20 сек, 72°C – 20 сек. Размеры полученных ПЦР-продуктов определялись методом капиллярного электрофореза на приборе ABI Prism 310 (Applied Biosystems, США). Визуализацию продуктов осуществляли в программе «Data collector». Размеры ампликонов определяли по электрофоретической подвижности относительно внутреннего стандарта длин ДНК-фрагментов. Анализ полученных данных производили в программе «Gene Mapper».

Оценку информативности микросателлитных маркеров проводили путем расчета индекса информационного полиморфизма (Polymorphism information content – PIC), определяющего полиморфизм в популяции в зависимости от числа обнаруживаемых аллелей и распределения их частот. Индекс PIC рассчитывается на основе оценки количества продуктов амплификации по каждому локусу, его значение может варьировать от 0 до 1 [16]. Дендрограмма генетических расстояний построена в программе «Statistica 10».

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

По результатам анализа с микросателлитными праймерами были составлены генетические формулы образцов березы (таблица 2).

Разделение ПЦР-продуктов методом капиллярного электрофореза выявило три продукта (три аллеля) по четырем из шести SSR-локусам у проанализированных образцов березы карельской (таблица 2), что может свидетельствовать об их триплоидной природе. Клоны 18к и Тр березы карельской, полученные в разные годы

от одного маточного дерева, характеризуются одинаковым набором продуктов амплификации по всем проанализированным локусам, и, соответственно, обладают единым генотипом, что свидетельствует о единстве их происхождения и отсутствии соматической изменчивости в процессе длительного культивирования. Эффективность использования молекулярных, в том числе, микросателлитных маркеров для оценки устойчивости в процессе длительного культивирования *in vitro* была показана для многих древесных растений [12]. Проведенные нами исследования подтверждают возможность использования SSR-маркеров для анализа устойчивости микроклонов березы карельской в процессе культивирования *in vitro*.

Анализ образцов березы пушистой показал, что две фенотипически различающиеся линии (Зпш-8 и Зпш-9) одного и того же клона Зпш обладают сходным генотипом, поскольку не наблюдается различий в количестве и составе аллелей в исследуемых микросателлитных локусах (таблица 2). Наличие 4 пиков (аллелей) по локусам 2.2 и 7.8 свидетельствует о тетраплоидном наборе хромосом исследуемых образцов (рисунок 1), что согласуется с ранее полученными данными их цитогенетического анализа ($2n=56$) [14].

Показано, что контрастные по проявлению признака рассеченнолистности клоны березы далекарлийской (R1 и R2) различаются по всем проанализированным микросателлитным локусам, т.е. являются уникальными генотипами (таблица 2). Наличие диаллельных спектров на электрофореграмме указывает на их диплоидную природу, что соответствует данным хромосомного анализа ($2n=28$) [14].

Таблица 2

Генетические формулы клонов образцов березы, построенные на основании метода SSR-маркирования

№ п/п	Образец	Клон	Локус, размер продукта (п.н)					
			L 1.10	L 10.1	L 2.2	L 7.3	L 5.4	L 7.8
1	береза повислая	д.5	190/199	256	132	203/205	255/270	290/304
2	береза карельская	18к	176/186/ 192	240/253/ 256	129/134	204/206/ 212	239/244/ 252	296
3		Тр	176/186/ 192	240/253/ 256	129/134	204/206/ 212	239/244/ 252	296
4	береза далекарлийская	R1	188/193	253/256	132/138	203/204	246/260	293/305
5		R2	180/188	256	132	204/208	250/270	298/305
6	береза пушистая	3 пш-8	180/186/ 190/192	256	129/130/ 133/137	201/206/ 210	247/253/ 266	293/297/ 303/307
7		3 пш-9	180/186/ 190/192	256	129/130/ 133/137	201/206/ 210	247/253/ 266	293/297/ 303/307

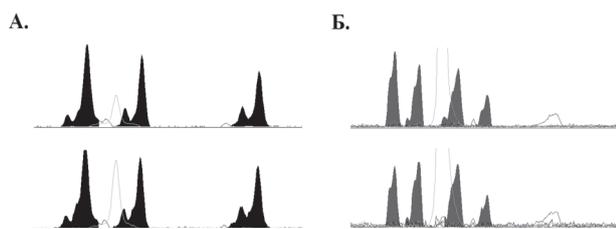


Рис. 1. Электрофореграммы образцов 3 пш-8 (верхняя) и 3 пш-9 (нижняя). Пики соответствуют ПЦР продуктам по локусам: а) 5.4 и б) 7.8

Проведение капиллярного электрофореза ампликонов образцов клона березы повислой (д.5) позволило выявить наличие двух пиков на электрофореграмме по четырем из шести проанализированных локусов, что указывает на диплоидную природу данного образца.

Для определения генетического родства генотипов различных видов березы, использованных в данном исследовании, на основе выбранных SSR-локусов был проведен анализ с использованием метода расчета евклидовых расстояний, результат в виде дендрограммы генетических расстояний представлен на рисунке 2.

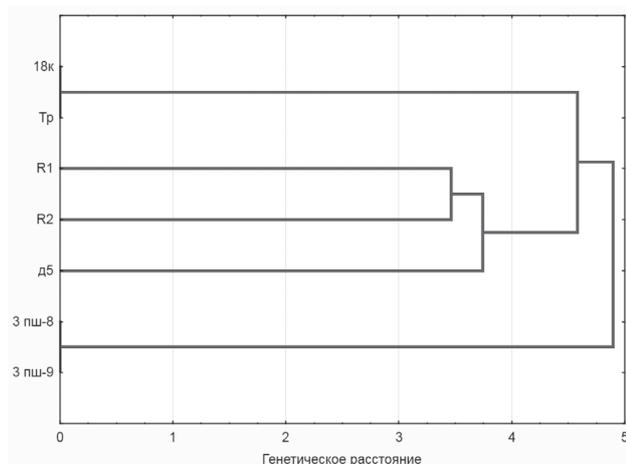


Рис. 2. Дендрограмма генетических расстояний для образцов березы

По результатам проведенного исследования клоны R1 и R2 березы далекарлийской наиболее генетически близки к клону д.5 березы повислой, образуя общий кластер с клонами березы карельской, что подтверждает их генетическое родство. Ранее генетические взаимоотношения различных клонов березы были изучены с использованием RAPD-метода [17]. Проведенный анализ по 6 микросателлитным локусам, три из которых (1.10, 7.3 и 5.4) соответствовали представленным в данном исследовании, показал родство клонов Ia и An березы карельской и их генотипическое различие с клонами 3 пш1 и 3 пш2 березы пушистой, что

подтверждает возможность использования SSR-метода для установления идентичности клонов различных видов [18].

Все проанализированные SSR-локусы продемонстрировали наличие широкого спектра продуктов амплификации, что свидетельствует об их полиморфизме. Ранее высокая разрешающая способность микросателлитных маркеров для идентификации генотипов березы была продемонстрирована в ряде исследований [3, 19, 20]. Дискриминационная (разрешающая) способность маркеров по локусам L1.10, L10.1, L2.2, L7.3, L5.4, L7.8 была определена методом оценки их информационного полиморфизма (polymorphism information content, PIC) (таблица 3).

Таблица 3

Значение индекса информационного полиморфизма (PIC) для исследуемых микросателлитных локусов

PIC	Локус					
	L 1.10	L 10.1	L 2.2	L 7.3	L 5.4	L 7.8
	0.85	0.57	0.84	0.85	0.9	0.86

Установлено, что исследуемые локусы обладают значительным полиморфизмом (от 0.57 до 0.9 при максимальном значении 1), что позволяет рекомендовать их для генетической идентификации образцов березы различных видов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный микросателлитный анализ позволил установить генетическое родство двух культивируемых *in vitro* клонов 18к и Tr березы карельской и двух линий 3пш-8 и 3пш-9 березы пушистой, что свидетельствует о единстве происхождения данных экземпляров, полученных от одного материнского дерева. Не выявлено генетической изменчивости у исследованных клонов березы в процессе длительного культивирования, что свидетельствует о высокой генетической однородности материала. Показан высокой полиморфизм микросателлитных локусов L1.10, L10.1, L2.2, L7.3, L5.4, L7.8, что позволяет рекомендовать их для генетической идентификации образцов березы различных видов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Коропачинский И. Ю. // Сибирский экологический журнал. 2013. Т. 20. № 4. С. 459-479.
2. DeWoody J., Rowe C.A., Hipkins V.D., Mock K.E. // Western North American Naturalist. 2008. Vol. 68. No. 4, pp. 493-497.
3. Kulju K.K.M., Pekkinen M., Varvio S. // Molecular Ecology Notes. 2004. No. 4, pp. 471-473.

4. Rahman M.H., Dayanandan S., Rajora O.P. // Genome. 2000. Vol. 43. No. 2, pp. 293-297.
5. Rodriguez-Enriquez J., Dickinson H.G., Grant-Downton R.T. // Trends in plant science. 2011. Vol. 16. No. 5, pp. 242-248.
6. Neelakandan A.K., Wang K. // Plant cell reports. 2012. Vol. 31. No. 4, pp. 597-620.
7. Shan X., Li Y., Tan M., Zhao Q. // African Journal of Biotechnology. 2012. Vol. 11. No. 19, pp. 4338-4344.
8. Żabicki P., Sliwinska E., Mitka J., Sutkowska A., Tuleja M., Migdałek G., Kuta E. // Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC). 2019. Vol. 136. No. 2, pp. 339-352.
9. Kritskaya T.A., Kashin A.S., Kasatkin M.Y. // Russian Journal of Developmental Biology. 2019. Vol. 50. No. 4, pp. 209-215.
10. Sebastiani M.S., Ficcadenti N. // Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC). 2016. Vol. 124. No. 1, pp. 69-79.
11. Avila-Treviño J.A., Muñoz-Alemán J.M., Pérez-Molphe-Balch E. // South African Journal of Botany. 2017. Vol. 108, pp. 149-156.
12. Butiuc-Keul A., Farkas A., Cristea V. // Studia Universitatis Babeş-Bolyai Biologia. 2016. Vol. 61. No. 1, pp. 107-114.
13. Табацкая Т.М., Машкина О.С. // Организация и регуляция физиолого-биохимических процессов: межрегиональный сборник научных работ. Воронеж: ООО «Центрально-Черноземное книжное изд-во», 2017. Вып. 19, С. 185-189.
14. Табацкая Т.М., Машкина О.С. // Лесоведение. 2020. № 2. С. 147-161.
15. Рябушкина Н.А., Омашева М.Е., Галиакбаров Н.Н. // Eurasian Journal of Applied Biotechnology. 2012. № 2. С. 9-26.
16. Чесноков Ю.В., Артемьева А.М. // Сельскохозяйственная биология, 2015. Т. 50. №5. С. 571-578.
17. Матвеева Т.В., Машкина О.С., Исаков Ю.Н., Лутова Л.А. // Экологическая генетика. 2008. Т. 6. № 3. С. 16-21.
18. Гродецкая Т.А., Ржевский, С.Г., Федулова Т.П., Табацкая Т.М., Машкина О.С. // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2018. №. 3. С. 121-128.
19. Truong C., Palmé A.E. Felber F., Naciri-Graven Y. // Molecular Ecology Notes. 2005. Vol. 5. No. 1, pp. 96-98.
20. Igarashi Y., Aihara H., Handa Y., Katsumata H., Fujii M., Nakano K., Hirao T. // Applications in plant sciences. 2017. Vol. 5. No. 5, pp. 1700016.

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

Гродецкая Т. А., Младший научный сотрудник лаборатории биотехнологии

E-mail: tatyana.pokusina@yandex.ru.

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

E-mail: slavaosin@yandex.ru.

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

E-mail: biotechnologiya@mail.ru

Машкина О. С., кандидат биологических наук, доцент. Заведующий лаборатории биотехнологии

E-mail: mashkinaos@mail.ru

Табацкая Т. М., Старший научный сотрудник лаборатории биотехнологии

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

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

E-mail: tatyana.pokusina@yandex.ru.

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

E-mail: slavaosin@yandex.ru.

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

E-mail: biotechnologiya@mail.ru

Mashkina O. S., PhD., Associate Professor. Head of the Laboratory of Biotechnology

E-mail: mashkinaos@mail.ru

Tabatskaya T. M., Senior Researcher, Laboratory of Biotechnology

ГНУ «Институт леса НАН Беларуси»
Баранов О. Ю., кандидат биологических наук,
ведущий научный сотрудник
E-mail: forestgenetics@mail.ru

State Scientific Institution "Forest Institute of the
National Academy of Sciences of Belarus"
Baranov O. Y., PhD., leading researcher
E-mail: forestgenetics@mail.ru

RESEARCH OF THE GENETIC STRUCTURE OF BREEDING IN VITRO BETULA L. CLONES BY MICROSATELLITE ANALYSIS

T.A. Grodetskaya¹, S.G. Rzhovsky¹, O. Yu. Baranov², T.P. Fedulova¹,
T.M. Tabatskaya¹, O.S. Mashkina^{1,3}

¹All-Russian Research Institute of Forest Genetics, Breeding and Biotechnology

²Forest Institute of the National Academy of Sciences of Belarus

³Voronezh State University

Abstract. This work presents the results of a comparative analysis of *in vitro* samples of birch clones *Betula pendula* Roth, *Betula pendula* Roth var. *carelica* (Mercklin) Hämet-Ahti, *Betula pendula* f. '*Dalecarlica*' (L.f.) Schneid. and *Betula pubescens* Ehrh. using genetic markers to microsatellite loci. The study used young leaves of birch clones propagated *in vitro* from the collection of All-Russian Research Institute of Forest Genetics, Breeding and Biotechnology. Using the method of PCR analysis, genetic certification of the studied samples was carried out. The sizes of the obtained amplification products were determined by capillary electrophoresis. To determine the deviation from the modal value of the chromosome sets in the studied clones, the level of mixoploidy was analyzed based on the results of the analysis using microsatellite markers. In order to assess the genetic relationship of the genotypes of various birch species, based on the selected SSR loci, bioinformatic analysis was carried out using the method of calculating Euclidean distances. The informational content of microsatellite markers was also assessed by calculating the information polymorphism index (PIC). Analysis of *Betula pubescens* samples showed that two phenotypically different lines of the same clone have a similar genotype. It was shown that clones of *Betula pendula* var. *carelica*, contrasting in the manifestation of the trait of dissected leaves, are unique genotypes. The study made it possible to establish the genetic relationship of *in vitro* cultivated clones of Karelian birch and downy birch lines, which indicates the unity of the origin of these specimens. High polymorphism was found for microsatellite loci L1.10, L10.1, L2.2, L7.3, L5.4, L7.8, which makes it possible to recommend them for genetic identification of birch samples of various species. The obtained data on the ploidy of the samples correspond to the results of previously conducted cytological studies. The use of capillary electrophoresis as a method for separating PCR products has proven to be a good tool for assessing genetic homogeneity in comparison with the original material for introduction into culture, as well as the stability of samples during *in vitro* cultivation, in combination with the use of cytological methods of analysis.

Keywords: *Betula pendula*, *Betula pendula* Roth. var. *carelica*, *Betula pendula* f. '*dalecarlica*', *Betula pubescens*, microsatellite analysis, genetic certification, ploidy.

REFERENCES

1. Koropachinskij I. Ju., Sibirskij jekologicheskij zhurnal, 2013, Vol. 20, No. 4, pp. 459-479.
2. DeWoody J., Rowe C.A., Hipkins V.D., Mock K.E., Western North American Naturalist, 2008, Vol. 68, No. 4, pp. 493-497.
3. Kulju K.K.M., Pekkinen M., Varvio S., Molecular Ecology Notes, 2004, No. 4, pp. 471-473.
4. Rahman M.H., Dayanandan S., Rajora O.P., Genome, 2000, Vol. 43, No. 2, pp. 293-297.
5. Rodriguez-Enriquez J., Dickinson H.G., Grant-Downton R.T., Trends in plant science, 2011, Vol. 16, No 5, pp. 242-248.
6. Neelakandan A.K., Wang K., Plant cell reports, 2012, Vol. 31, No. 4, pp. 597-620.
7. Shan X., Li Y., Tan M., Zhao Q., African Journal of Biotechnology, 2012, Vol. 11, No. 19, pp. 4338-4344.
8. Żabicki P., Sliwinska E., Mitka J., Sutkowska A., Tuleja M., Migdałek G., Kuta E., Plant Cell,

Tissue and Organ Culture (PCTOC), 2019, Vol. 136, No. 2, pp. 339-352.

9. Kritskaya T.A., Kashin A.S., Kasatkin M.Y., Russian Journal of Developmental Biology, 2019, Vol. 50, No. 4, pp. 209-215.

10. Sebastiani M.S., Ficcadenti N., Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 2016, Vol. 124, No. 1, pp. 69-79.

11. Avila-Treviño J.A., Muñoz-Alemán J.M., Pérez-Molphe-Balch E., South African Journal of Botany, 2017, Vol. 108, pp. 149-156.

12. Butiuc-Keul A., Farkas A., Cristea V. Studia Universitatis Babeş-Bolyai Biologia, 2016, Vol. 61, No. 1, pp. 107-114.

13. Tabackaja T.M., Mashkina O.S., Organizacija i reguljacija fiziologo-biohimicheskikh processov: mezhrregional'nyj sbornik nauchnyh rabot. Voronezh: OOO «Central'no-Chernozemnoe knizhnoe izd-vo», 2017, Vol. 19, pp. 185-189.

14. Tabackaja T.M., Mashkina O.S., Lesovedenie, 2020, No. 2, pp. 147-161.

15. Rjabushkina N.A., Omasheva M.E., Galiakparov N.N., Eurasian Journal of Applied Biotechnology, 2012, No. 2, pp. 9-26.

16. Chesnokov Ju.V., Artem'eva A.M., Sel'skohozjajstvennaja biologija, 2015, Vol. 50, No. 5, pp. 571-578.

17. Matveeva T.V., Mashkina O.S., Isakov Ju.N., Lutova L.A., Jekologicheskaja genetika, 2008, Vol. 6, No. 3, pp. 16-21.

18. Grodeckaja T.A., Rzhetskij, S.G., Fedulova T.P., Tabackaja T.M., Mashkina O.S., Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Serija: Himija. Biologija. Farmacija, 2018, No. 3, pp. 121-128.

19. Truong C., Palmé A.E. Felber F., Naciri-Graven Y., Molecular Ecology Notes, 2005, Vol. 5, No. 1, pp. 96-98.

20. Igarashi Y., Aihara H., Handa Y., Katsumata H., Fujii M., Nakano K., Hirao T., Applications in plant sciences, 2017, Vol. 5, No. 5, pp. 1700016.