DOI: 10.12731/2658-6649-2025-17-2-1115 **EDN: WKRCPL**
УДК 631.52

CC BY NC ND

Научная статья

ГЕНОТИПИРОВАНИЕ *GLEDITSIA TRIACANTHOS* L. ПО ЭКСПРЕССИИ ГЕНА RBCL И С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ISSR-МАРКЕРОВ В УСЛОВИЯХ АРИДНОГО КЛИМАТА

П.А. Крылов, П.А. Кузьмин

Аннотация

Обоснование. Борьба с опустыниванием является одним из приоритетов в мире. *Gleditsia triacanthos* L. является перспективным видом для защитного лесоразведения так как обладает высокой засухоустойчивостью. Генотипирование *G. Triacanthos* на основе изучения фотосинтетической продуктивности путем оценки экспрессии гена большой субъединицы гена RuBisCo – *RbcL* и привязки к ISSR ранее не проводилось.

Цель. Провести генотипирование особей популяции *G. Triacanthos* по оценке количественной экспрессии большой субъединицы гена RuBisCo – *RbcL* и их привязки к ISSR-маркерам.

Материалы и методы. Исследование проводилось на базе питомника древесных растений ФНЦ агроэкологии РАН, где были отобраны 10 особей *G. triacanthos* с хорошим жизненным состоянием. Оценка экспрессии *RbcL* проводилась с помощью метода ОТ-ПЦР-РВ. Для изучения генетической структуры исследуемых особей *G. Triacanthos* использовался ISSR-анализ. Статистическая обработка экспериментальных данных осуществлялась с помощью пакета прикладных программ Statistica 12.0 (StatSoft, USA) и POPGENE версии 1.31.

Результаты. По результатам оценки экспрессии *RbcL* были выявлены особи с различной транскрипционной активности, а именно 20% особей *G. Triacanthos* имели высокую экспрессию, 40% умеренную и 40% низкую. В ходе проведения ISSR-анализа были выявлены эффективные праймеры из группы UBC: 836 и 873 у особей *G. Triacanthos*. Генотипирование по ISSR позволило выявить две группы особей *G. Triacanthos* с высокой и низкой экспрессией *RbcL*.

Заключение. Полученные данные могут быть в перспективе использованы в молекулярной селекции *G. Triacanthos* для получения не только устойчивых

к засухе, но и с высокой фотосинтетической продуктивностью для решения задач агролесомелиорации.

Ключевые слова: фотосинтетическая продуктивность; экспрессия генов; *RbcL*; ISSR; *Gleditsia triacanthos* L.; аридные территории

Для цитирования. Крылов, П. А., & Кузьмин, П. А. (2025). Генотипирование *Gleditsia triacanthos* L. по экспрессии гена *RbcL* и с использованием ISSR-маркеров в условиях аридного климата. *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*, *17*(2), 82-97. https://doi.org/10.12731/2658-6649-2025-17-2-1115

Original article

GENOTYPING OF *GLEDITSIA TRIACANTHOS* L. BASED ON RBCL GENE EXPRESSION AND USING ISSR MARKERS IN ARID CLIMATE CONDITIONS

P.A. Krylov, P.A. Kuzmin

Abstract

Background. Fighting against desertification is one of the priorities in the world. *Gleditsia triacanthos* L. is a promising species for afforestation as it has high drought resistance. Genotyping of *G. triacanthos* has not been previously conducted based on the study of photosynthetic productivity by evaluating the expression of the large subunit gene of RuBisCo - *RbcL* and linking it to ISSR markers.

Purpose. To conduct the genotyping of individuals in the *G. triacanthos* population by evaluation the quantitative expression of the large subunit gene of RuBisCo - *RbcL* and their linkage to ISSR markers.

Materials and methods. The study was carried out at the arboretum of the FSC of agroecology RAS, where 10 individuals of *G. triacanthos* in good vital state were selected. The expression of *RbcL* was evaluated using RT-PCR. ISSR analysis was performed to examine the genetic structure of the studied *G. triacanthos* individuals. Statistical analysis of experimental data was performed using the software package Statistica 12.0 (StatSoft, USA) and POPGENE version 1.31.

Results. Based on the results of the *RbcL* expression evaluation, individuals with different transcriptional activity were identified: 20% of G. *triacanthos* individuals had high expression, 40% had moderate expression, and 40% had low expression. Effective primers from the UBC group, 836 and 873, were identified during ISSR analysis in *G. triacanthos* individuals. Genotyping by ISSR revealed two groups of *G. triacanthos* individuals with high and low *RbcL* expression.

Conclusion. The acquired data can potentially be used in molecular breeding of *G. Triacanthos* to obtain not only drought-resistant genotypes, but also genotypes with high photosynthetic productivity to address agroforestry tasks.

Keywords: Photosynthetic productivity; gene expression; *RbcL*; ISSR; *Gleditsia triacanthos* L.; arid areas

For citation. Krylov, P. A., & Kuzmin, P. A. (2025). Genotyping of *Gleditsia triacanthos* L. based on *RbcL* gene expression and using ISSR markers in arid climate conditions. *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*, *17*(2), 82-97. https://doi.org/10.12731/2658-6649-2025-17-2-1115

Введение

Борьба с деградацией территорий Юга России, в частности опустынивания, является одной из приоритетных задач агролесомелиорации [4; 9]. К самому распространённому и экономически выгодному способу борьбы, из уже существующих, можно отнести создание новых лесозащитных полос. Видовой состав лесозащитных полос может быть очень разнообразным, например, в Волгоградской области с характерным аридным климатом, который включает в себя представителей родов дуб, тополь, ясень, сосна и другие виды древесно-кустарниковых растений [3]. Несмотря на большое число аборигенных видов древесных растений под действием неблагоприятных факторов внешней среды, таких как опустынивание, происходит снижение биологического разнообразия [6].

Для поддержания биологического разнообразия используется интродукция видов древесных растений, обладающих высокой продуктивностью или теми или иными хозяйственно-ценными признаками [13]. Одним из перспективных интродуцированных видов древесных растений является *Gleditsia triacanthos* L. (Гледичия трехколючковая), которая используется в агролесомелиорации [1; 7].

Продуктивность древесных растений зависит от функционирования фотосинтетического аппарата [19]. На молекулярно-генетическом уровне хлоропластный ген фермента рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазы/ оксигеназы (RuBisCo) отвечает за продуктивность путем участия в регуляции цикла Кальвина и фотодыхания у всех растений, за счет преобразования CO_2 в углеводы [14; 19; 22].

Важным фактором является установление взаимосвязи(-ей) какого-либо признака, в данном исследовании – экспрессии большой субъединицы гена RuBisCo – RbcL, с тем или иным маркером. Особенностью

маркер-опосредованного анализа является возможность его проведения на любой стадии онтогенеза древесного растения. Существует широкое разнообразие неспецифических и специфических молекулярно-генетические маркеры, так как: ISSR [9], RAPD [12], и другие [15; 21]. С учетом отсутствия аннотированного генома *G. triacanthos*, несмотря на наличие черновых секвенированных фрагментов, эффективным является использование ISSR-маркеров, так как они являются неспецифическими маркерами мультилокусного типа и обладают более высокой информативностью и часто используются с целью генотипирования [8, 11, 17].

Цель исследования

Провести генотипирование особей популяции *G. Triacanthos* по оценке количественной экспрессии большой субъединицы гена RuBisCo – *RbcL* и их привязки к ISSR-маркерам.

Материалы и методы исследования

Растительный материал. Исследование проводилось на базе кластерных дендрологических коллекций (кадастр №34:34:000000:122 – питомник древесных растений ФНЦ агроэкологии РАН). Семенная популяции *G. triacanthos* включала 10 взрослых особей на данном участке. Все особи имели хорошее жизненное состояние. Отбор образцов листовой пластинки для изучения экспрессии большой субъединицы гена RuBisCo (*RbcL*) и ISSR-маркеров проводился 18 июля 2023 года с каждой отдельной особи и помещались в фиксирующий раствор IntactRNA (cat: #BC031, Евроген, Россия), после чего транспортировались в лабораторию и хранились при -80°C в течение суток.

Выделение ДНК и РНК. Геномная ДНК экстрагировалась из 50 мг листвой пластинки с использованием модифицированного метода CTAB с добавлением 0,2% β-меркаптоэтанола [18]. Выделение РНК из листовой пластинки осуществлялось согласно протоколу из коммерческого набора HiPure Plant RNA Mini Kit (Magen, Китай) из 100 мг растительной ткани без использования жидкого азота. Концентрацию и качество (A260/A280) ДНК и РНК в образцах оценивали с помощью флуориметра Qubit 4.0. (Thermo Fisher Scientific Inc., США) и спектрофотометр SpectrostarNano (BMG Labtech, Германия) соответственно.

Оценка количественной экспрессии с помощью ОТ-ПЦР-РВ и скрининг праймеров ISSR. Для оценки экспрессии *RbcL* и выявления ISSR были использованы праймеры, синтезированные ЗАО Evrogen, Россия (табл. 1)

Таблица 1.

Наименование и последовательность ISSR праймеров

Наименование	Последовательность	Tm, °C
RbcL	F: CTTGAATGCTACTGCAGGTA R: ATCCCGGCAATAATGAGC	55.1 54.8
EF1alpha	F: AACGGTGATGCTGGTATG R: CTCCTTCTTCTCTACATTCTTG	60,2 58,8
	Последовательность ′5–3′	
UBC807	AGAGAGAGAGAG AGAGT	50.0
UBC808	AGAGAGAGAGAGAGAGC	50.6
UBC811	GAGAGAGAGAGAGAGAC	54.2
UBC823	TCTCTCTCTCTCTCTCC	50.7
UBC826	ACACACACACACACACC	54.7
UBC834	AGAGAGAGAGAGAGAGY	51.5
UBC835	AGAGAGAGAGAGAGAGYC	54.0
UBC836	AGAGAGAGAGAGAGAGYA	51.5
UBC840	GAGAGAGAGAGAGAGAYT	51.5
UBC841	GAGAGAGAGAGAGAGAYC	54.0
UBC873	GACAGACAGACAGACA	50.0
UBC890	VHVGTGTGTGTGTGTGT	50.0

Количественную ОТ-ПЦР-РВ и ISSR-ПЦР проводили на амплификаторе Applied Biosystems QuantStudio 5 (Thermo Fisher Scientific, США) с использованием коммерческого набора 50X SYBR Green I для ОТ-ПЦР-РВ (cat: #PB025S, Евроген, Россия) и qPCRmix-HS (cat: #PK145L, Евроген, Россия) соответственно, согласно инструкциями производителя в трех технических проворностях.

Количественную оценку экспрессии *RbcL* оценивали в программе QuantStudio Design and Analysis Software v1.5.1 (Thermo Fisher Scientific Inc., США) на основе построения стандартной кривой и метода $2^{-\Delta\Delta Ct}$ [23] с нормализацией по экспрессии гена «домашнего хозяйства» *EF1 alpha* в каждом образце. Для избежания недостоверных результатов количественной ПЦР, были поставлены отрицательные контроли без добавления ревертазы. Программа амплификации включала: стадию обратной транскрипции при 55ºС в течение 15 мин, инактивация ревертазы при 95ºС в течение 1 мин, затем 40 циклов по 20 с при 95ºС, 30 с при 56ºС и 1 мин при 72ºС. Кроме того, стадия кривой плавления была использована для проверки специфичности праймеров.

Программа амплификации для выявления ISSR-маркеров включала: начальную денатурацию при 95°С в течение 10 мин с последующим про-

ведением 40 циклов, 95°C в течение 30 с, температура отжига для различных праймеров при 55°C в течение 30 с и окончательное удлинение при 72°C в течение 4 мин.

Гель-электрофорез. Визуализация результатов ПЦР проводилось путем разделения ПЦР-продуктов в 2% агарозном геле. Размер полос ДНК на геле рассчитывали с использованием ДНК-маркера длиной более 100 п.н. (cat: #NL002, Евроген, Россия). Для окрашивания агарозного геля использовали бромид этидия (Хеликон, Россия). Визуализацию результатов проводили с использованием гель-документирующей системы iBright CL750 Imaging Systems (Thermo Fisher Scientific, США). Частота полиморфизмов и количество полос, продуцируемых каждым праймером, были рассчитаны индивидуально.

Анализ данных. Локусы ISSR оценивались как присутствующие «1» или отсутствующие «0», каждый из которых рассматривался как независимый. Данные были собраны в двоичную матрицу данных 0/1 с использованием MS Excel. Сгенерированные двоичные данные были использованы для расчета характеристик связывания праймера с использованием POPGENE версии 1.31 [Louati, M. 2019].

Количественные данные обрабатывались с помощью программы Statistica 12.0 (StatSoft Inc., USA), где рассчитывались медиана [1-й квартиль, 3-й квартиль]. Для выявления статистически значимой связи между экспрессией *RbcL* и исследуемыми локусами был использован точный критерий Фишера для непараметрической выборки при достоверности $p<0.05$.

Результаты исследования

По результатам выделения ДНК из всех образцов были получены концентрации от 33.2 до 48.6 нг/мкл с высокими значениями A260/A280. Наилучшее качество, выше 1.8 по соотношению A260/A280, выделенной РНК было обнаружено в пробах с концентрацией выше 15 нг/мкл. Перед постановкой обычной ПЦР и ОТ-ПЦР-РВ все образцы, концентрация которых была свыше 10 нг/мкл, разбавили до этого значения стерильной дистиллированной водой свободной от ДНКаз и РНКаз. Дополнительно для исследования количественной экспрессии *RbcL*, к исследуемым образцам была взята общая проба для построения стандартной кривой. Стандартная кривая содержала 7 разведений и выполнялась в трех технических проворностях, эффективность ПЦР, которой составила 95.09%.

По результатам амплификации была рассчитана количественная экспрессия *RbcL* в листьях исследуемых особей *G. triacanthos*, произрастающих в засушливых условиях (Рис. 1).

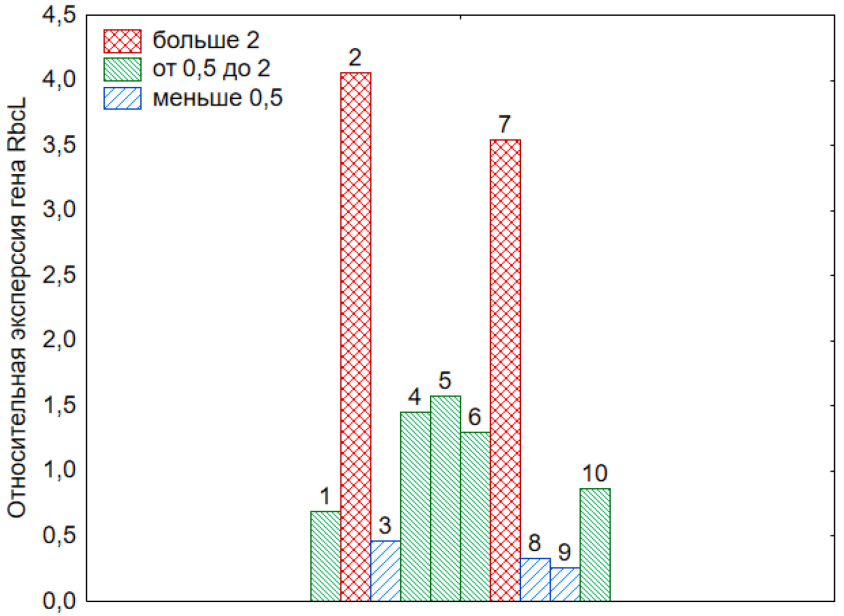

Рис. 1. Относительная экспрессия генов *RbcL* у особей *G. triacanthos*.

Данные, полученные с помощью ОТ-ПЦР-РВ позволили определить две особи *G. triacanthos*, чья относительная экспрессия *RbcL* имела наивысшие значения. При этом стоит отметить, что наработка продукта начиналась на 14 цикле у этих двух особей. У трех особей (3, 8, 9) *G. triacanthos* экспрессия гена составила менее 0,5, что в 7-8 раз меньше по сравнению со 2 и 7 особью (пороговый цикл амплификации 16-17). У остальных пяти особей *G. triacanthos* относительная экспрессия *RbcL* была в диапазоне от 0,5 до 2, что среднем в 2 раза меньше, чем у 2 и 7 особи.

Для выявления внутривидового генетического разнообразия *G. Triacanthos*. и связи с экспрессией *RbcL* было протестировано 18 ISSR-праймеров. В результате проведенного тестирования было отобрано 12 ISSR-праймеров отличающиеся высокой эффективностью амплификации большего количества фрагментов геномной ДНК. Остальные 6 праймеров не аплифицировались с образцами выделенной геномной ДНК, поэтому были исключены из дальнейших исследований. В результате были получены генетические спектры всех десяти особей *G. Triacanthos* (прил. 2). На основе полученных спектров ампликонов у исследуемых

особей *G. Triacanthos*, было выявлено низкое внутрипопуляционное генетическое разнообразие, которое характеризовалось следующими показателями: общие число аллей (na) – 1.81±0.39, эффективное число аллелей (ne) – 1.46±0.36, генетическое расстояние по Нею (h) – 0.27±0.18 и индекс Шенона (I) – 0.41±0.25, что говорит о близкородственности деревьев в популяции. Расчет процента полиморфных локусов составил 81.2%.

В результате сопоставления ISSR-локусов исследуемых особей с экспрессией *RbcL* было обнаружено 2 группы по локусам UBC 836, представленных на рисунке (Рис. 2).

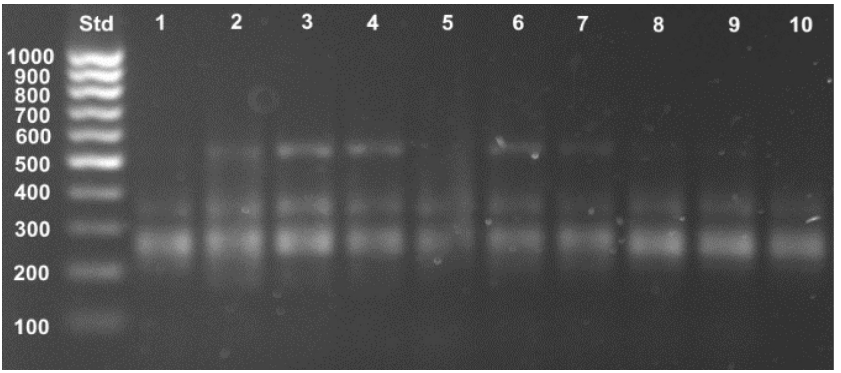

Рис. 2. Электрофореграмма ампликонов с UBC 836.

Первая группа с условно высокой экспрессией *RbcL* имела размеры локусов UBC 836 250, 350 и 500 п.н. (особи 2, 3, 4, 6, 7), несмотря на наличие третьей особи у которой наблюдалась низкая транскрипционная активность исследуемого гена. Вторая группа, включающая оставшиеся особи с умеренной и низкой экспрессией *RbcL* с размерами локусов UBC 836 250 и 350 п.н.

Частота встречаемости локуса UBC 836 составила 1.00 (250), 0.77 (350), и 0.70 (500) у особей в исследуемой популяции *G. Triacanthos*. По ISSR-праймеру UBC 873 исследуемые особи *G. Triacanthos* также разделились на две группы с высокой и умеренной экспрессией *RbcL*. У первой группы (особи 2, 5, 6, 7), с высокой экспрессией *RbcL* отсутствовали локусы по данному ISSR-праймеру, в то время как во второй группе с умеренной и низкой экспрессией *RbcL* были выявлены следующие локусы в различных комбинациях (прил. 2): 400 (0.05), 450 (0.11), 500 (0.05), 600 (0.22), 800 (0.22), 900 (0.36). По результатам анализа связи с помощью

точного критерия Фишера между экспрессией *RbcL* у разных особей *G. Triacanthos* сгруппированных по локусам по UBC 836 и UBC 873 была показана достоверность 0.004 и 0.0048 соответственно. Это может служить обоснованием использования данных маркеров для выявления высокопродуктивных особей для селекции.

Таким образом, из 18 протестированных ISSR-праймеров, двенадцать являются эффективными для анализа полиморфизма *G. Triacanthos*. Сравнительный анализ генетических структур по полилокусным спектрам продуктов амплификации исследуемых маркеров позволил определить в геноме определенные микросателлитные повторы.

Обсуждение

Полученные результаты показали, что фотосинтетическая продуктивность может очень сильно варьировать между особями в одной популяции [19]. Важным аспектом фотосинтетической продуктивности является комплекс условий произрастания *G. Triacanthos*, которые характеризуются оптимальным сочетанием факторов среды обитания, влияющих на ее жизнедеятельность. Исследуемая популяция *G. Triacanthos* произрастает в условиях засухи, при дефиците влаги в почве, что может оказывать негативное влияние на их водный режим и продуктивность. Также немаловажным является тот факт, что фермент RuBisCo на биохимическом уровне зависит от гидротермического режима, а именно при высокой температуре воздуха, данный фермент может менять свою специфичность связывания O_2 и CO_2 [16].

С целью выявления перспективных особей в популяциях опираются на различные маркеры, среди которых наиболее точными является ДНК-маркеры, связанные с хозяйственно-ценными признаками. При изучении *G. Triacanthos* на геномным уровне в полной мере не представляется возможным так как ядерный и хлоропластный геномы не секвенированы [2]. В связи с этим нам пришлось сделать акцент на использовании неспецифических ДНК-маркеров, а именно ISSR. Комплекс используемых ISSR-маркеров позволил выявить два ISSR-праймера (UBC 836 и 873), которые были информативны в данной популяции и позволили выделить две группы по интенсивности экспрессии *RbcL* среди особей *G. Triacanthos* в данной популяции. Полученные данные могут быть использованы для дальнейшей селекционно-семеноводческой работы, которая позволить создать более продуктивные формы данного вида для условий почвенной и воздушной засухи [5], способных депонировать больший объем диоксида углерода.

Заключение

Исследование показало, что фотосинтетическая продуктивность особей *G. Triacanthos* внутри одной популяции может значительно различаться, при том, что они произрастают в одинаковых неблагоприятных условиях. По оценке экспрессии большой субъединицы гена RuBisCo было выявлено 2 особи *G. Triacanthos* обладающие высокой экспрессией *RbcL*, 4 особи умеренной и 4 оставшиеся с низкой. Использование ISSR-маркеров позволило выявить различия в локусах UBC 836 и 873 у исследуемых деревьев. Генотипирование с помощью ISSR-маркеров показало возможную связь наличия уникальных комбинаций локусов и степенью экспрессии *RbcL*. В итоге особи *G. Triacanthos* были разделены на две группы с высокой и низкой экспрессией *RbcL*. Полученные результаты исследования могут быть использованы для дальнейшей селекции *G. Triacanthos* обладающих устойчивостью к засухе и высокой фотосинтетической продуктивностью.

Информация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Информация о спонсорстве. Исследования проведены в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № FNFE-2022-0022 «Поиск и управление паттернами экспрессии генов лесных и культурных растений, отвечающих за адаптацию к неблагоприятным факторам внешней среды и продуктивность» и № FNFE-2022-0009 «Поиск селекционно-ценного генетического материала для создания новых генотипов древесно-кустарниковых пород методами молекулярной селекции».

Список литературы

1. Балакина, А. А., Нефедьева, Е. Э., & Ларикова, Ю. С. (2021). Исследование строения и состава семенной оболочки гледичии и некоторых изменений в ее структуре при набухании. *Аграрный вестник Урала*, *206*(3), 46-52. https://doi.org/10.32417/1997-4868-2021-206-03-46-52 EDN: https://elibrary.ru/BTTYJU
2. Беляев, А. И., Крылов, П. А., Пугачева, А. М., & Деревщикова, Л. В. (2023). Анализ наличия геномов древесно-кустарниковых растений, используемых в агролесомелиорации южных регионов России. *Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: Наука и высшее профессиональное образование*, *70*(2), 30-42. https://doi.org/10.32786/2071-9485-2023-02-03 EDN: https://elibrary.ru/TTKJCA
3. Крючков, С. Н., Солонкин, А. В., & Соломенцева, А. С. (2024). Интенсивные приемы выращивания посадочного материала мелкосемянных дре-

весных видов в условиях полупустыни. *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*, *16*(1), 144-163. https://doi.org/10.12731/2658-6649-2024-16-1-702 EDN: https://elibrary.ru/VWPTXX

4. Кулик, К. Н. (2022). Современное состояние защитных лесонасаждений в Российской Федерации и их роль в смягчении последствий засух и опустынивания земель. *Научно-агрономический журнал*, *188*(3), 8-13. https://doi.org/10.34736/FNC.2022.118.3.001.08-13 EDN: https://elibrary.ru/LWWQFG
5. Кулик, К. Н., Беляев, А. И., & Пугачёва, А. М. (2023). Роль защитного лесоразведения в борьбе с засухой и опустыниванием агроландшафтов. *Аридные экосистемы*, *94*(1), 4-14. https://doi.org/10.24412/1993-3916-2023-1-4-14 EDN: https://elibrary.ru/CSZXWA
6. Мартынюк, А. А., Турчин, Т. Я., Чеплянский, И. Я., & Кулик, А. К. (2023). Современное состояние государственных защитных лесных полос степной и полупустынной зон, основные направления их сохранения и реабилитации. *Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: Наука и высшее профессиональное образование*, *69*(1), 78-81. https://doi.org/10.32786/2071-9485-2023-01-07 EDN: https://elibrary.ru/TLKSNA
7. Мельник, К. А., & Хужахметова, А. Ш. (2022). Особенности плодоношения интродуцированных представителей родового комплекса Gleditsia в возрастном аспекте. *Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: Наука и высшее профессиональное образование*, *68*(4), 184-193. https://doi.org/10.32786/2071-9485-2022-04-21 EDN: https://elibrary.ru/YWSHZO
8. Якушина, Л. Г., & Шхалахова, Р. М. (2021). Эффективность SSR- и ISSR-маркеров для оценки генетического полиморфизма сортов и гибридов хризантемы садовой (Chrysanthemum × hortorum Bailey). *Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии*, *20-1*, 520-525. https://doi.org/10.14258/pbssm.2021105
9. Abd-Dada, H., Bouda, S., Khachtib, Y., Bella, Y. A., & Haddioui, A. (2023). Use of ISSR markers to assess the genetic diversity of an endemic plant of Morocco (Euphorbia resinifera O. Berg). *Journal of Genetic Engineering & Biotechnology*, *21*(1), 91. https://doi.org/10.1186/s43141-023-00543-4 EDN: https://elibrary.ru/FWMQAY
10. Andablo-Reyes, A. D. C., Moreno-Calles, A. I., Cancio-Coyac, B. A., Gutiérrez-Coatecatl, E., Rivero-Romero, A. D., et al. (2023). Agri-silvicultures of Mexican Arid America. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, *19*(1), 39. https://doi.org/10.1186/s13002-023-00612-5 EDN: https://elibrary.ru/YEMDHA
11. Dorogina, O. V., Nuzhdina, N. S., Zueva, G. A., Gismatulina, Y. A., & Vasilyeva, O. Y. (2022). Specific shoot formation in Miscanthus sacchariflorus (Po-

aceae) under different environmental factors and DNA passportization using ISSR markers. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii*, *26*(1), 22-29. https://doi.org/10.18699/VJGB-22-04 EDN: https://elibrary.ru/AAYMFL

12. Kader, A., Sinha, S. N., & Ghosh, P. (2022). Clonal fidelity investigation of micropropagated hardened plants of jackfruit tree (Artocarpus heterophyllus L.) with RAPD markers. *Journal of Genetic Engineering & Biotechnology*, *20*(1), 145. https://doi.org/10.1186/s43141-022-00426-0 EDN: https://elibrary.ru/EJPWVA
13. Kalmykova, E., & Lazarev, S. (2023). Increasing the biodiversity of the dendroflora of sparsely wooded regions by adapted representatives of the genus Robinia L. *Agriculture*, *13*(3), 695. https://doi.org/10.3390/agriculture13030695 EDN: https://elibrary.ru/FVQNPY
14. Martin-Avila, E., Lim, Y. L., Birch, R., Dirk, L. M. A., Buck, S., Rhodes, T., et al. (2020). Modifying plant photosynthesis and growth via simultaneous chloroplast transformation of rubisco large and small subunits. *The Plant Cell*, *32*(9), 2898-2916. https://doi.org/10.1105/tpc.20.00288 EDN: https://elibrary.ru/FJTOLD
15. Müller, M., Kües, U., Budde, K. B., & Gailing, O. (2023). Applying molecular and genetic methods to trees and their fungal communities. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *107*(9), 2783-2830. https://doi.org/10.1007/s00253-023-12480-w EDN: https://elibrary.ru/VEICHK
16. Sharwood, R. E., Ghannoum, O., Kapralov, M. V., Gunn, L. H., & Whitney, S. M. (2016). Temperature responses of Rubisco from Paniceae grasses provide opportunities for improving C3 photosynthesis. *Nature Plants*, *2*, 16186. https://doi.org/10.1038/nplants.2016.186 EDN: https://elibrary.ru/WVMHWA
17. Sheikina, O. V., & Romanov, E. M. (2024). Variability of Scots pine (Pinus sylvestris L.) plus trees in the Middle and Upper Volga Region with the use of ISSR markers. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii*, *28*(2), 148-154. https://doi.org/10.18699/vjgb-24-17 EDN: https://elibrary.ru/TVPFSO
18. Shestibratov, K. A., Baranov, O. Y., Mescherova, E. N., Kiryanov, P. S., Panteleev, S. V., Mozharovskaya, L. V., et al. (2021). Structure and phylogeny of the curly birch chloroplast genome. *Frontiers in Genetics*, *12*, 625764. https://doi.org/10.3389/fgene.2021.625764 EDN: https://elibrary.ru/SLSAEC
19. Tao, Y., Chiu, L.-W., Hoyle, J. W., Dewhirst, R. A., Richey, C., Rasmussen, K., et al. (2023). Enhanced photosynthetic efficiency for increased carbon assimilation and woody biomass production in engineered hybrid poplar. *Forests*, *14*(4), 827. https://doi.org/10.3390/f14040827 EDN: https://elibrary.ru/WVJMEF
20. Xiao, F., Zhao, Y., Wang, X., & Jian, X. (2023). Full-length transcriptome characterization and comparative analysis of Gleditsia sinensis. *BMC Genomics*,

24(1), 757. https://doi.org/10.1186/s12864-023-09843-y EDN: https://elibrary.ru/FLFRPG

21. Zhao, Z., Zhang, H., Wang, P., Yang, Y., Sun, H., et al. (2023). Development of SSR molecular markers and genetic diversity analysis of Clematis acerifolia from Taihang Mountains. *PLOS ONE*, *18*(5), e0285754. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0285754 EDN: https://elibrary.ru/EOIASA
22. Zoschke, R., & Bock, R. (2018). Chloroplast translation: structural and functional organization, operational control, and regulation. *Plant Cell*, *30*(4), 745-770. https://doi.org/10.1105/tpc.18.00016 EDN: https://elibrary.ru/YIIWHJ

References

1. Balakina, A. A., Nefedieva, E. E., & Larikova, Yu. S. (2021). Study of the structure and composition of the seed coat of Gleditsia and some changes in its structure during swelling. *Agrarian Bulletin of the Urals*, *206(3)*, 46-52. https://doi.org/10.32417/1997-4868-2021-206-03-46-52 EDN: https://elibrary.ru/BTTYJU
2. Belyaev, A. I., Krylov, P. A., Pugacheva, A. M., & Derevshchikova, L. V. (2023). Analysis of the presence of genomes of woody shrub plants used in agroforestry of the southern regions of Russia. *Izvestiya Nizhnevolzhskogo Agrouniversitetskogo Kompleksa: Nauka i Vysshee Professionalnoe Obrazovanie*, *70(2)*, 30-42. https://doi.org/10.32786/2071-9485-2023-02-03 EDN: https://elibrary.ru/TTKJCA
3. Kryuchkov, S. N., Solonkin, A. V., & Solomentseva, A. S. (2024). Intensive methods for growing seedlings of small-seeded woody species in semi-desert conditions. *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*, *16(1)*, 144-163. https://doi.org/10.12731/2658-6649-2024-16-1-702 EDN: https://elibrary.ru/VWPTXX
4. Kulik, K. N. (2022). Current state of protective plantations in the Russian Federation and their role in mitigating the consequences of droughts and desertification of lands. *Scientific and Agricultural Journal*, *188(3)*, 8-13. https://doi.org/10.34736/FNC.2022.118.3.001.08-13 EDN: https://elibrary.ru/LWWQFG
5. Kulik, K. N., Belyaev, A. I., & Pugacheva, A. M. (2023). The role of protective afforestation in combating drought and desertification of agricultural landscapes. *Arid Ecosystems*, *94(1)*, 4-14. https://doi.org/10.24412/1993-3916-2023-1-4-14 EDN: https://elibrary.ru/CSZXWA
6. Martynyuk, A. A., Turchin, T. Ya., Cheplyansky, I. Ya., & Kulik, A. K. (2023). Current state of state protective forest belts of the steppe and semi-desert zones, main directions of their preservation and rehabilitation. *Izvestiya Nizhnevolzhskogo Agrouniversitetskogo Kompleksa: Nauka i Vysshee Professionalnoe Obrazovanie*, *69(1)*, 78-81. https://doi.org/10.32786/2071-9485-2023-01-07 EDN: https://elibrary.ru/TLKSNA

7. Melnik, K. A., & Khuzakhmetova, A. Sh. (2022). Features of fruiting of introduced representatives of the Gleditsia genus complex in terms of age. *Izvestiya Nizhnevolzhskogo Agrouniversitetskogo Kompleksa: Nauka i Vysshee Professionalnoe Obrazovanie*, *68(4)*, 184-193. https://doi.org/10.32786/2071-9485-2022-04-21 EDN: https://elibrary.ru/YWSHZO
8. Yakushina, L. G., & Shkhalakhova, R. M. (2021). Efficiency of SSR and ISSR markers for assessing genetic polymorphism of varieties and hybrids of garden chrysanthemum (Chrysanthemum × hortorum Bailey). *Problems of Botany of Southern Siberia and Mongolia*, *20-1*, 520-525. https://doi.org/10.14258/pbssm.2021105
9. Abd-Dada, H., Bouda, S., Khachtib, Y., Bella, Y. A., & Haddioui, A. (2023). Use of ISSR markers to assess the genetic diversity of an endemic plant of Morocco (Euphorbia resinifera O. Berg). *Journal of Genetic Engineering & Biotechnology*, *21*(1), 91. https://doi.org/10.1186/s43141-023-00543-4 EDN: https://elibrary.ru/FWMQAY
10. Andablo-Reyes, A. D. C., Moreno-Calles, A. I., Cancio-Coyac, B. A., Gutiérrez-Coatecatl, E., Rivero-Romero, A. D., et al. (2023). Agri-silvicultures of Mexican Arid America. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, *19*(1), 39. https://doi.org/10.1186/s13002-023-00612-5 EDN: https://elibrary.ru/YEMDHA
11. Dorogina, O. V., Nuzhdina, N. S., Zueva, G. A., Gismatulina, Y. A., & Vasilyeva, O. Y. (2022). Specific shoot formation in Miscanthus sacchariflorus (Poaceae) under different environmental factors and DNA passportization using ISSR markers. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii*, *26*(1), 22-29. https://doi.org/10.18699/VJGB-22-04 EDN: https://elibrary.ru/AAYMFL
12. Kader, A., Sinha, S. N., & Ghosh, P. (2022). Clonal fidelity investigation of micropropagated hardened plants of jackfruit tree (Artocarpus heterophyllus L.) with RAPD markers. *Journal of Genetic Engineering & Biotechnology*, *20*(1), 145. https://doi.org/10.1186/s43141-022-00426-0 EDN: https://elibrary.ru/EJPWVA
13. Kalmykova, E., & Lazarev, S. (2023). Increasing the biodiversity of the dendroflora of sparsely wooded regions by adapted representatives of the genus Robinia L. *Agriculture*, *13*(3), 695. https://doi.org/10.3390/agriculture13030695 EDN: https://elibrary.ru/FVQNPY
14. Martin-Avila, E., Lim, Y. L., Birch, R., Dirk, L. M. A., Buck, S., Rhodes, T., et al. (2020). Modifying plant photosynthesis and growth via simultaneous chloroplast transformation of rubisco large and small subunits. *The Plant Cell*, *32*(9), 2898-2916. https://doi.org/10.1105/tpc.20.00288 EDN: https://elibrary.ru/FJTOLD
15. Müller, M., Kües, U., Budde, K. B., & Gailing, O. (2023). Applying molecular and genetic methods to trees and their fungal communities. *Applied Microbi-*

ology and Biotechnology, *107*(9), 2783-2830. https://doi.org/10.1007/s00253-023-12480-w EDN: https://elibrary.ru/VEICHK
16. Sharwood, R. E., Ghannoum, O., Kapralov, M. V., Gunn, L. H., & Whitney, S. M. (2016). Temperature responses of Rubisco from Paniceae grasses provide opportunities for improving C3 photosynthesis. *Nature Plants*, *2*, 16186. https://doi.org/10.1038/nplants.2016.186 EDN: https://elibrary.ru/WVMHWA
17. Sheikina, O. V., & Romanov, E. M. (2024). Variability of Scots pine (Pinus sylvestris L.) plus trees in the Middle and Upper Volga Region with the use of ISSR markers. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii*, *28*(2), 148-154. https://doi.org/10.18699/vjgb-24-17 EDN: https://elibrary.ru/TVPFSO
18. Shestibratov, K. A., Baranov, O. Y., Mescherova, E. N., Kiryanov, P. S., Panteleev, S. V., Mozharovskaya, L. V., et al. (2021). Structure and phylogeny of the curly birch chloroplast genome. *Frontiers in Genetics*, *12*, 625764. https://doi.org/10.3389/fgene.2021.625764 EDN: https://elibrary.ru/SLSAEC
19. Tao, Y., Chiu, L.-W., Hoyle, J. W., Dewhirst, R. A., Richey, C., Rasmussen, K., et al. (2023). Enhanced photosynthetic efficiency for increased carbon assimilation and woody biomass production in engineered hybrid poplar. *Forests*, *14*(4), 827. https://doi.org/10.3390/f14040827 EDN: https://elibrary.ru/WVJMEF
20. Xiao, F., Zhao, Y., Wang, X., & Jian, X. (2023). Full-length transcriptome characterization and comparative analysis of Gleditsia sinensis. *BMC Genomics*, *24*(1), 757. https://doi.org/10.1186/s12864-023-09843-y EDN: https://elibrary.ru/FLFRPG
21. Zhao, Z., Zhang, H., Wang, P., Yang, Y., Sun, H., et al. (2023). Development of SSR molecular markers and genetic diversity analysis of Clematis acerifolia from Taihang Mountains. *PLOS ONE*, *18*(5), e0285754. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0285754 EDN: https://elibrary.ru/EOIASA
22. Zoschke, R., & Bock, R. (2018). Chloroplast translation: structural and functional organization, operational control, and regulation. *Plant Cell*, *30*(4), 745-770. https://doi.org/10.1105/tpc.18.00016 EDN: https://elibrary.ru/YIIWHJ

ВКЛАД АВТОРОВ

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку статьи для публикации.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

The authors contributed equally to this article.

ДАННЫЕ ОБ АВТОРЕ

Крылов Павел Андреевич, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией геномных и постгеномных технологий

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр агроэкологии, комплексных мелиораций и защитного лесоразведения Российской академии наук»
пр-т Университетский, 97, г. Волгоград, 400062, Российская Федерация
krylov-p@vfanc.ru

Кузьмин Петр Анатольевич, канд. с.-х. наук, доцент, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией молекулярной селекции
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр агроэкологии, комплексных мелиораций и защитного лесоразведения Российской академии наук»
пр-т Университетский, 97, г. Волгоград, 400062, Российская Федерация
kuzmin-p@vfanc.ru

DATA ABOUT THE AUTHORS

Pavel A. Krylov, Cand. Sc. (Biology), Leading Researcher, Head of the Laboratory of Genomic and Postgenomic Technologies
Federal Scientific Center of Agroecology, Complex Melioration, and Protective Afforestation RAS
97, Universitetsky pr., Volgograd, 400062, Russian Federation
krylov-p@vfanc.ru
SPIN-code: 9652-7459
ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9587-5886
ResearcherID: V-6884-2017
Scopus Author ID: 57213164834

Petr A. Kuzmin, Cand. Sc. (Agriculture), Docent, Leading Researcher, Head of the Laboratory of Molecular Breeding
Federal Scientific Center of Agroecology, Complex Melioration, and Protective Afforestation RAS
97, Universitetsky pr., Volgograd, 400062, Russian Federation
kuzmin-p@vfanc.ru
SPIN-code: 7551-8803
ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1303-765X
ResearcherID: N-4277-2016
Scopus Author ID: 56192995500

Поступила 25.07.2024 Received 25.07.2024
После рецензирования 03.09.2024 Revised 03.09.2024
Принята 01.10.2024 Accepted 01.10.2024