
1.5.20 – БИОЛОГИЧЕСКИЕ РЕСУРСЫ

1.5.20 – BIOLOGICAL RESOURCES

УДК 577.21+630*165.3

DOI 10.52575/2658-3453-2021-3-3-298-304

Апробация микросателлитных маркеров для генотипирования различных видов дуба: *Quercus robur* L., *Q. rubra* L. и *Q. mongolica* Fisch.

С.Г. Ржевский, А.М. Кондратьева

Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики, селекции и биотехнологии,
Россия, 394087, г. Воронеж, ул. Ломоносова, 105

E-mail: slavaosin@yandex.ru

Аннотация. В современном лесном хозяйстве широко применяется анализ генетического разнообразия на основе микросателлитных маркеров. Многие из разработанных для отдельных видов генетические маркеры в настоящее время ожидают проверки видовой специфичности. Целью данного исследования является апробация праймеров для микросателлитных участков на трех различных видах дуба (*Quercus robur* Linnaeus, 1753; *Q. rubra* Linnaeus, 1753; *Q. mongolica* Fischer ex Ledebour, 1850) для определения их специфичности. Исследование проводилось методом ПЦР-амплификации с применением SSR-маркеров. Протестировано шесть пар праймеров к микросателлитным локусам для видов рода *Quercus* (*Q. robur* и *Q. petraea* (Mattuschka) Lieblein, 1784), а также одна пара праймеров для рода *Fagus* (*F. sylvatica* Linnaeus, 1753 и *F. orientalis* Lipsky, 1898). Результат анализа показал, что представленный набор микросателлитных маркеров пригоден для генотипирования дуба черешчатого, красного и монгольского, а также позволяет выявлять межвидовые различия. Апробированные маркеры в дальнейшем могут применяться для генетической паспортизации представителей данных видов.

Ключевые слова: дуб, *Quercus*, генотипирование, микросателлиты, SSR, паспортизация древесных растений.

Благодарности: работа выполнена в рамках госбюджетной темы Федерального агентства лесного хозяйства, № АААА-А20-120012890091-9.

Для цитирования: Ржевский С.Г., Кондратьева А.М. 2021. Апробация микросателлитных маркеров для генотипирования различных видов дуба: *Quercus robur* L., *Q. rubra* L. и *Q. mongolica* Fisch. *Полевой журнал биолога*, 3 (3): 298–304. DOI: 10.52575/2658-3453-2021-3-3-298-304

Поступила в редакцию 10 августа 2021 года

Approbation of microsatellite markers for genotyping various oak species: *Quercus robur* L., *Q. rubra* L., and *Q. mongolica* Fisch.

Stanislav G. Rzhevsky, Anna M. Kondratyeva

All-Russian Research Institute of Forest Genetics, Breeding and Biotechnology,
105 Lomonosov St, Voronezh, 394087, Russia

E-mail: slavaosin@yandex.ru

Abstract. In modern forestry, the analysis of genetic diversity based on microsatellite markers is widely used. Many of the genetic markers developed for individual species are still awaiting specificity testing on different species. The aim of this study was to test microsatellite markers for three different oak species to determine their specificity. The study was carried out by PCR amplification using SSR markers. In order to identify interspecific differences, the results of testing microsatellite markers for three different oak species (*Quercus robur* Linnaeus, 1753; *Q. rubra* Linnaeus, 1753; *Q. mongolica* Fischer ex Ledebour, 1850) in this study are presented. Six pairs of primers for specific microsatellite loci for the species of the genus *Quercus* (*Q. robur* и *Q. petraea* (Mattuschka) Lieblein, 1784) and one pair of primers for the genus *Fagus* (*F. sylvatica* Linnaeus, 1753 и *F. orientalis* (Lipsky, 1898)) were tested. The result of the analysis shows that the set of microsatellite markers presented in this study is suitable for genotyping the pedunculate, red and Mongolian oak, and also allows one to identify interspecific differences. The tested markers can be further used for genetic certification of representatives of these species.

Keywords: oak, *Quercus*, genotyping, microsatellites, SSR, certification of woody plants.

Acknowledgements: Research of second author was carried out within framework of state budgetary theme of The Federal Agency for Forestry, No. AAAA-A20-120012890091-9.

For citation: Rzhevsky S.G., Kondratyeva A.M. 2021. Approbation of microsatellite markers for genotyping various oak species: *Quercus robur* L., *Q. rubra* L., and *Q. mongolica* Fisch. *Field Biologist Journal*, 3 (3): 298–304 (in Russian). DOI: 10.52575/2658-3453-2021-3-3-298-304

Received August 10, 2021

Введение

Для паспортизации древесных растений с успехом применяются молекулярно-генетические методы, которые позволяют составить специфические профили каждого генотипа на основании применения различных молекулярных маркеров [Баранов и др., 2015; Падутов и др., 2014]. К таким методам относится паспортизация при помощи микросателлитных маркеров (SSR, Simple Sequence Repeats) [Politov et al., 2015]. Суть молекулярно-генетической паспортизации методом SSR-маркеров заключается в выявлении наличия или отсутствия искомого микросателлитного фрагмента в хромосомах исследуемого вида, а также в определении количества его различных аллелей [Календарь, Глазко, 2002].

Одним из ценных в плане хозяйственного применения видов лесных древесных растений является дуб (*Quercus* sp.). На территории Воронежской области в естественных условиях произрастает дуб черешчатый (*Q. robur* Linnaeus, 1753), также имеется несколько интродуцированных видов данного рода. Дуб черешчатый распространен в России (европейская часть), на Кавказе, в Западной Европе. Произрастает на богатых питательными веществами почвах, формирует дубравы и входит в состав смешанных лесов разных типов.

Дуб красный (*Q. rubra* Linnaeus, 1753) в диких условиях произрастает на североамериканском континенте. В европейской части России выращивается в качестве декоративного дерева, устойчивого к антропогенным факторам. Яркой отличительной особенностью является красное окрашивание молодых весенних и осенних листьев [Федорова, Михеева, 2008]. Дуб монгольский (*Q. mongolica* Fischer ex Ledebour, 1850) – азиатский вид, распространен во Внутренней Монголии Китая, в Северной и Южной Корее, а также в

Японии; в России – на Дальнем востоке и в Восточной Сибири. Образует леса, может входить в состав хвойно-лиственных лесов. Интродуцирован в Европейской части России [Малеев, Соколов, 1951; Barstow, 2018].

Микросателлитные маркеры позволяют выявить гомо- и гетерозиготные особи, а также косвенно характеризуют эволюционное расхождение между видами и другими таксономическими единицами. Они применимы как для исследований популяций внутри одного вида, так и для сравнения нескольких видов одного рода. Зачастую праймеры к SSR-локусам обладают широкой межвидовой специфичностью внутри рода. Гипотетически праймеры, подобранные и апробированные к одному виду дуба, могут дать продукты амплификации и с другими видами.

Для дуба монгольского были разработаны и апробированы специфические микросателлитные маркеры [Ueno, Tsumura, 2008]. Однако представляет интерес генотипирование данного вида с другими SSR-маркерами, ранее примененными для иных видов дуба.

Генотипирование с использованием микросателлитных маркеров позволяет решать широкий круг задач. В частности, для *Q. robur* проводился анализ генетического полиморфизма в естественных популяциях [Демкович, 2014], с помощью маркеров SSR и EST-SSR оценивались нейтральные и потенциально адаптивные генетические вариации у *Q. rubra* и *Q. ellipsoidalis* E.J. Hill, 1899 [Lind, 2013], также с применением микросателлитных маркеров было проведено исследование *in vitro* гаплоидных клонов из культур пыльников *Quercus suber* Linnaeus [Gomez, 2001].

Целью данного исследования являлась апробация микросателлитных маркеров для трех различных видов дуба *Q. robur*, *Q. rubra*, и *Q. mongolica* для определения их видовой специфичности.

Было проведено генотипирование образцов трех видов дуба с набором из семи микросателлитных маркеров. Данный анализ должен предоставить ответы на три вопроса:

1) будут ли на генетическом материале *Q. mongolica* и *Q. rubra* амплифицироваться праймеры, подобранные для других видов дуба (*Q. robur* и *Q. petraea* (Mattuschka) Lieblein, 1784);

2) будут ли на генетическом материале различных видов дуба амплифицироваться праймеры, подобранные для бука (*Fagus sylvatica* Linnaeus, 1753 и *Fagus orientalis* (Lipsky, 1898));

3) позволит ли используемый набор микросателлитных маркеров дифференцировать различные виды дуба с учетом полиморфизма между особями внутри каждого вида.

Материал и методы исследования

Образцы дуба красного отбирались в лесопарковом участке Всероссийского научно-исследовательского института лесной генетики, селекции и биотехнологии (г. Воронеж), дуба черешчатого и монгольского – в Семилукском лесопитомнике (Воронежская область). Экстракция ДНК осуществлялась из распустившихся листьев.

Выделение ДНК, проведение ПЦР и электрофореза осуществлялись по методике, описанной ранее [Гусева, Ржевский, 2021; Машкина и др., 2016; Федулова и др., 2017].

Во время эксперимента было использовано шесть пар микросателлитных праймеров, специфичных для видов рода *Quercus*, а также одна пара праймеров для рода *Fagus* [Pastorelli, 2003], относящегося к тому же семейству, что и дубы, – Fagaceae [Dzialuk, Chybicki, Burczyk, 2005; Kampfer et al., 1998] (см. таблицу).

Отметим, что в указанных публикациях данные праймеры использовались для видов *Q. robur* и *Q. petraea* и не апробировались для дуба красного и монгольского. Амплификацию проводили в соответствии со схемой: 1) предварительная денатурация в течение 5 минут, 96 °С; 2) 1 минута, 94 °С – денатурация; 3) 1 минута – отжиг при специфической для праймеров температуре; 4) 30 секунд, 72 °С – элонгация (стадии 2–4 повторялись 28–35 циклов); 5) 8–10 минут, 72 °С – финальная элонгация.

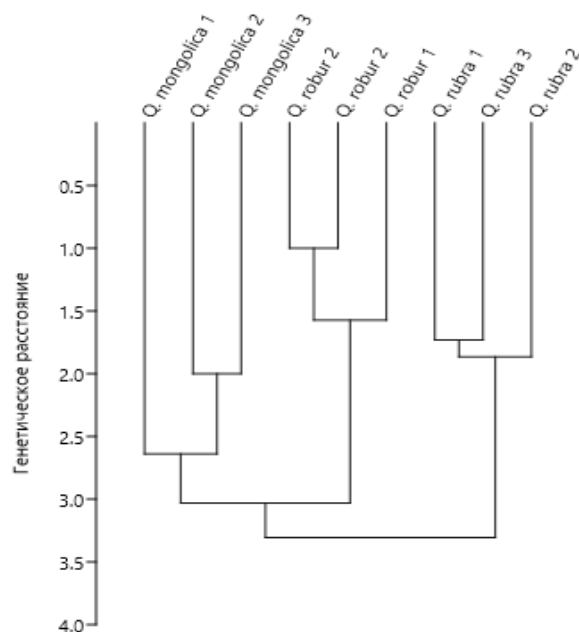
Характеристика микросателлитных локусов, использованных в исследовании
 Characterization of microsatellite loci used in the study

Локус	Последовательность (прямая и обратная)	Температура отжига, °С
QrZAG_7	F: CAACTTGGTGTTCGGATC R: GTGCATTTCTTTTATAGCATTCAC	50
QrZAG_20	F: CCATTAAGAAGCAGTATTTTGT R: GCAACACTCAGCCTATATCTAGAA	50
QrZAG_4	F: CGTCTATAAGTTCTTGGGTGA R: GTAACATGATGTGATTCTTACTTCA	50
QpZAG_9	F: GCAATTACAGGCTAGGCTGG R: GTCTGGACCTAGCCCTCATG	50
QpZAG_36	F: GATCAAAATTTGGAATATTAAGAGAG R: ACTGTGGTGGTGAGTCTAACATGTAG	50
QrZAG_31	F: CTTAGTTTGGTTGGGAAGAT R: GCAACCAAACAATGAAAT	50
FS3-04	F: AGATGCACCACTTCAAATTC R: TCTCCTCAGCAACATACCTC	60

Размер ПЦР-продуктов на цифровых изображениях устанавливался при помощи программы Labimage. Для статистической обработки данных и построения дендрограммы использовалась программа Past v3.24 (с применением метода Евклидовых расстояний).

Результаты и их обсуждение

Проведенный анализ показал, что все используемые маркеры дали продукты амплификации со всеми образцами дуба, при этом был выявлен полиморфизм как по количеству продуктов, так и по их размеру. У одного из образцов дуба монгольского обнаружен тройной ПЦР-продукт по локусу QrZAG_20. На рисунке представлена дендрограмма результатов кластерного анализа, представляющая статистическую обработку результатов генотипирования исследованных образцов.



Дендрограмма генетических расстояний исследованных образцов дуба
 Dendrogram of genetic distances of the studied oak samples

По результату проведенного анализа видно, что в кластеры сгруппированы образцы, относящиеся к одному виду. Таким образом, мы наблюдаем три кластера, соответствующих *Q. robur*, *Q. rubra* и *Q. mongolica*. Причем дуб черешчатый и дуб монгольский входят в состав общего обширного кластера, дуб красный обособлен от них, что соответствует исходному ареалу произрастания данных видов: *Q. robur* и *Q. mongolica* происходят из евразийского континента, *Q. rubra* – из Северной Америки.

Продукты амплификации обнаруживают полиморфизм двоякого рода: по количеству ампликонов и по их размеру. Следует заметить, что количество продуктов амплификации отражает гомо- или гетерозиготность особи и может варьировать внутри одного вида. Более существенным параметром для определения эволюционных расстояний является разница в размере ампликонов, указывающая на накапливающиеся в них мутации (дополнительные вставки стереотипно повторяющихся последовательностей микросателлитов). В проведенном анализе выявлена тенденция наличия ампликонов определенного размера, характерных для отдельных видов, хотя и имеются продукты, общие для нескольких видов.

Заключение

На генетическом материале *Q. mongolica* и *Q. rubra* успешно амплифицируются праймеры, подобранные для *Q. robur* и *Q. petraea*. Также на генетическом материале различных видов дуба амплифицируется праймер, подобранный для *F. sylvatica* и *F. orientalis*. Используемый набор микросателлитных маркеров позволяет дифференцировать различные виды дуба с учетом полиморфизма между особями каждого вида.

Подводя итоги проведенной апробации, стоит заключить, что представленный в данном исследовании набор микросателлитных маркеров пригоден для генотипирования дуба черешчатого, красного и монгольского, а также позволяет выявлять межвидовые различия на генотипическом уровне.

Список литературы

1. Баранов О.Ю., Пантелеев С.В., Гончарова Л.В., Спиридович Е.В., Тарасевич А.В. 2015. Молекулярно-генетическое изучение видового разнообразия лесных древесных растений (на примере ботанических коллекций родов *Betula* L. и *Pinus* L.). В кн.: Проблемы сохранения биологического разнообразия и использования биологических ресурсов. Материалы III международной конференции, посвященной 110-летию со дня рождения академика Н.В. Смольского (г. Минск, 7–9 октября 2015 г.). Минск: 255–258.
2. Гродецкая Т.А., Ржевский С.Г., Гусева О.Ю. 2020. Молекулярно-генетическая оценка селекционного материала дуба черешчатого для введения в культуру *in vitro*. В кн.: Организация и регуляция физиолого-биохимических процессов. Межрегиональный сборник научных работ. Воронеж, Воронежский государственный университет: 42–46.
3. Гусева О.Ю., Ржевский С.Г. 2021. Оптимизация методики выделения ДНК из листьев дуба. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*, 39 (S1-2): 24.
4. Демкович А.Е., Коршиков И.И., Макогон И.В. 2014. Полиморфизм дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) на Донском краю по микросателлитным локусам. *Фактори експериментальної еволюції організмів*, 14: 17–21.
5. Календарь Р.Н., Глазко В.И. 2002. Типы молекулярно-генетических маркеров и их применение. *Физиология и биохимия культурных растений*, 34 (4): 279–296.
6. Малеев В.П., Соколов С.Я. (сост.). 1951. Род 6. *Quercus* – Дуб. В кн.: Деревья и кустарники СССР. Т. 2. Покрытосеменные. М.-Л., Наука: 422–493.
7. Машкина О.С., Федулова Т.П., Табацкая Т.М., Кондратьева А.М., Шабанова Е.А. 2016. Молекулярно-генетическая и цитогенетическая оценка перспективных гибридов и размноженных *in vitro* клонов тополя и осины. *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация*, 2: 60–69.

8. Падутов В.Е., Баранов О.Ю., Каган Д.И., Ковалевич О.А, Острикова М.Я., Пантелеев С.В., Ивановская С.И., Кулагин Д.В. 2014. Применение молекулярно-генетических методов в лесном хозяйстве Беларуси. *Сибирский лесной журнал*, 4: 16–20.
9. Федорова А.И., Михеева М.А. 2008. Древесные растения г. Воронежа (биоразнообразие и устойчивость). Воронеж, Издательско-полиграфический центр Воронежского государственного университета: 23–25.
10. Федулова Т.П., Исаков Ю.Н., Корчагин О.М., Исаков И.Ю., Кондратьева А.М., Ржевский С.Г. 2017. Молекулярно-генетическая дифференциация генотипов березы на основе полиморфизма SSR-маркеров. *Лесотехнический журнал*, 7 (4): 6–16.
11. Barstow M. 2018. *Quercus mongolica*. The IUCN Red List of Threatened Species 2018: e.T194200A2303793. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2018-1.RLTS.T194200A2303793.en>.
12. Dzialuk A., Chybicki I., Burczyk J. 2005. PCR multiplexing of nuclear microsatellite loci in *Quercus* species. *Plant Molecular Biology Reporter*, 23 (2): 121–128.
13. Gomez A., Lind J.F., Gailing O. 2001. SSR markers for *Quercus suber* tree identification and embryo analysis. *Journal of Heredity*, 92 (3): 292–295.
14. Kampfer S., Lexer Ch., Glossl J., Steikellner H. 1998. Characterization of (GA) n microsatellite loci from *Quercus robur*. *Hereditas*, 129 (183): 1–86.
15. Lind J.F., Gailing O. 2013. Genetic structure of *Quercus rubra* L. and *Quercus ellipsoidalis* E.J. Hill populations at gene-based EST-SSR and nuclear SSR markers. *Tree genetics & genomes*, 9 (3): 707–722.
16. Pastorelli R., Smulders M.J.M., Vanöt Westende W.P.C., Vosman B., Giannini R., Vettori C., Vendramin G.G. 2003. Characterization of microsatellite markers in *Fagus sylvatica* L. and *Fagus orientalis* Lipsky. *Molecular Ecology Notes*, 3 (1): 76–78.
17. Politov D.V., Belokon M.M., Y.S. Belokon Y.S., Polyakova T.A., Shatokhina A.V., Mudrik E.A., Azarova A.B., Filippov M.V., Shestibratov K.A. 2015. Application of microsatellite loci for molecular identification of elite genotypes, analysis of clonality and genetic diversity in aspen *Populus tremula* L. (Salicaceae). *International journal of plant genomics* 2015: 1–11.
18. Ueno S., Tsumura Y. 2008. Development of ten microsatellite markers for *Quercus mongolica* var. *crispula* by database mining. *Conservation Genetics*, 9 (4): 1083–1085.

References

1. Baranov O.Ju., Pantelev S.V., Goncharova L.V., Spiridovich E.V., Tarasevich A.V. 2015. Molekuljarno-geneticheskoe izuchenie vidovogo raznoobrazija lesnyh drevesnyh rastenij (na primere botanicheskikh kolekcij rodov *Betula* L. i *Pinus* L.) [Molecular genetic study of species diversity of forest woody plants (on the example of botanical collections of the genera *Betula* L. and *Pinus* L.)]. In: Problemy sohraneniya biologicheskogo raznoobrazija i ispol'zovanija biologicheskikh resursov [Problems of biodiversity conservation and use of biological resources]. Materials of the III International Conference dedicated to the 110th anniversary of the birth of Academician N.V. Smolsky (Minsk, October 7–9, 2015). Minsk: 255–258.
2. Grodet'skaya T.A., Rzhavsky S.G., Guseva O.Yu. 2020. Molekuljarno-geneticheskaja ocenka selekcionnogo materiala duba chereschatogo dlja vvedeniya v kul'turu *in vitro* [Molecular genetic evaluation of pedunculate oak breeding material for introduction into *in vitro* culture]. In: Organizacija i reguljacija fiziologo-biohimicheskikh processov [Organization and regulation of physiological and biochemical processes]. Interregional collection of scientific works. Voronezh, Publ. Voronezh State University: 42–46.
3. Guseva O.Yu., Rzhavsky S.G. 2021. Optimization of the technique for DNA isolation from oak leaves. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*, 39 (S1-2): 24. (In Russian)
4. Demkovych A.Ye., Korshikov I.I., Makogon I.V. 2014. Polymorphism of *Quercus robur* L. Investigated by microsatellite loci in Donetskij kryazh. *Factors of Experimental Evolution of Organisms*, 14: 17–21 (in Ukrainian).
5. Kalendar R.N., Glazko V.I. 2002. Types of molecular-genetic markers and their application. *Physiology and Biochemistry of Cultural Plants*, 34 (4): 279–296 (in Russian).
6. Maleev V.P., Sokolov S.Ja. 1951. Rod 6. *Quercus* – Dub [Genus 6. *Quercus* – Oak]. In: Derev'ya i kustarniki SSSR. T. 2. Pokrytosemennyye [Trees and Shrubs of the USSR. Vol. 2. Angiosperms]. Moscow–Leningrad, Publ. Nauka: 422–493.

7. Mashkina O.S., Fedulova T.P., Tabatskaya T.M., Kondratyeva A.M., Shabanova E.A. 2016. Molecular genetic and cytogenetic evaluation of perspective hybrids and propagated *in vitro* clones of poplar and aspen. *Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*, 2: 60–69 (in Russian).
8. Padutov V.E., Baranov O.Yu., Kagan D.I., Kovalevich O.A., Ostrikova M.Ya., Panteleev S.V., Ivanovskaya S.I., Kulagin D.V. 2014. Application of Molecular Genetic Methods for Forestry in Belarus. *Siberian Journal of Forest Science*, 4: 16–20 (in Russian).
9. Fedorova A.I., Miheeva M.A. 2008. Drevesnye rasteniya g. Voronezha (bioraznoobrazie i ustojchivost') [Woody plants of Voronezh (biodiversity and resistance)]. Voronezh, Voronezh State University Publishing and Printing Center: 23–25.
10. Fedulova T.P., Isakov Y.N., Korchagin O.M., Isakov I.Y., Kondratyeva A.M., Rzhhevskiy S.G. Molecular-genetic differentiation of genotypes of birch on the basis of SSR-markers' polymorphism. *Lesotekhnicheskii Zhurnal*, 7 (4): 6–16 (in Russian).
11. Barstow M. 2018. *Quercus mongolica*. The IUCN Red List of Threatened Species 2018: e.T194200A2303793. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2018-1.RLTS.T194200A2303793.en>.
12. Dzialuk A., Chybicki I., Burczyk J. 2005. PCR multiplexing of nuclear microsatellite loci in *Quercus* species. *Plant Molecular Biology Reporter*, 23 (2): 121–128.
13. Gomez A., Lind J.F., Gailing O. 2001. SSR markers for *Quercus suber* tree identification and embryo analysis. *Journal of Heredity*, 92 (3): 292–295.
14. Kampfer S., Lexer Ch., Glossl J., Steikellner H. 1998. Characterization of (GA) n microsatellite loci from *Quercus robur*. *Hereditas*, 129 (183): 1–86.
15. Lind J.F., Gailing O. 2013. Genetic structure of *Quercus rubra* L. and *Quercus ellipsoidalis* E.J. Hill populations at gene-based EST-SSR and nuclear SSR markers. *Tree genetics & genomes*, 9 (3): 707–722.
16. Pastorelli R., Smulders M.J.M., Vanöt Westende W.P.C., Vosman B., Giannini R., Vettori C., Vendramin G.G. 2003. Characterization of microsatellite markers in *Fagus sylvatica* L. and *Fagus orientalis* Lipsky. *Molecular Ecology Notes*, 3 (1): 76–78.
17. Politov D.V., Belokon M.M., Y.S. Belokon Y.S., Polyakova T.A., Shatokhina A.V., Mudrik E.A., Azarova A.B., Filippov M.V., Shestibratov K.A. 2015. Application of microsatellite loci for molecular identification of elite genotypes, analysis of clonality and genetic diversity in aspen *Populus tremula* L. (Salicaceae). *International journal of plant genomics* 2015: 1–11.
18. Ueno S., Tsumura Y. 2008. Development of ten microsatellite markers for *Quercus mongolica* var. *crispula* by database mining. *Conservation Genetics*, 9 (4): 1083–1085.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Ржевский Станислав Геннадьевич, младший научный сотрудник отдела лесной генетики и биотехнологии Всероссийского научно-исследовательского института лесной генетики, селекции и биотехнологии, г. Воронеж, Россия

Кондратьева Анна Михайловна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела лесной генетики и биотехнологии Всероссийского научно-исследовательского института лесной генетики, селекции и биотехнологии, г. Воронеж, Россия

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Rzhevsky Stanislav G., Junior Researcher of Department of Forest Genetics and Biotechnology of All-Russian Research Institute of Forest Genetics, Breeding and Biotechnology, Voronezh, Russia

Kondratyeva Anna M., Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher of Department of Forest Genetics and Biotechnology of All-Russian Research Institute of Forest Genetics, Breeding and Biotechnology, Voronezh, Russia