

ГЕНЕТИКА

УДК 575.2:575.22:574.3

Я. В. Пришневская^{a,b}, В. П. Красильников^a, С. В. Боронникова^a

^a Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

^b Естественнонаучный институт Пермского государственного национального исследовательского университета, Пермь, Россия

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПОПУЛЯЦИЙ *PINUS SYLVESTRYS* L. НА ВОСТОКЕ РУССКОЙ РАВНИНЫ НА ОСНОВАНИИ ПОЛИМОРФИЗМА ISSR-МАРКЕРОВ

Проведены молекулярно-генетический анализ и идентификация четырех популяций *Pinus sylvestris* L., расположенных в Республике Коми и в Кировской обл., с использованием ISSR-метода анализа полиморфизма ДНК. У четырех изученных популяций *P. sylvestris* выявлены 117 ISSR-маркеров; установлена высокая доля полиморфных локусов ($P_{95}=0.949$). Один ISSR-праймер инициировал у *P. sylvestris* синтез в среднем 16.7 ISSR-маркеров. В изученных популяциях выявлено 16 редких ISSR-маркеров. Выявлены идентификационные мономорфные видовые и полиморфные ISSR-маркеры, а также их сочетания для молекулярно-генетической идентификации изученных популяций. Составлены молекулярно-генетические формулы и штрихкоды четырех изученных популяций. Полученные данные могут быть использованы для идентификации популяций и древесины *P. sylvestris* в изученных регионах.

Ключевые слова: полиморфизм ДНК, ISSR-маркеры, молекулярно-генетическая идентификация, *Pinus sylvestris* L.

Ya. V. Prishnevskaya^{a,b}, V. P. Krasilnikov^a, S. V. Boronnikova^a

^a Perm State University, Perm, Russian Federation

^b Natural Sciences Institute of Perm State University, Perm, Russian Federation

MOLECULAR GENETIC IDENTIFICATION OF POPULATIONS OF *PINUS SYLVESTRYS* L. IN THE EAST OF THE RUSSIAN PLAIN BASED ON POLYMORPHISM ISSR-MARKERS

A molecular genetic analysis and identification of the four populations of *Pinus sylvestris* L., located in the Komi Republic and Kirov region, using ISSR-method of DNA polymorphism analysis. In four studied populations *P. sylvestris* identified 117 ISSR-markers; a high percentage of polymorphic loci ($P_{95} = 0.949$). One ISSR-primer initiated synthesis in *P. sylvestris* on average 16.7 ISSR-markers. In the studied populations of *P. sylvestris* identified 16 rare ISSR-markers. Revealed the identity of the monomorphic species and polymorphic ISSR-markers, and combinations there of for the molecular genetic identification of the populations studied. Compiled by molecular genetic formula and barcodes four studied populations of *P. sylvestris*. The data obtained can be used to identify populations and wood of *P. sylvestris* in the studied region.

Key words: DNA polymorphism, ISSR-markers, molecular genetic identification, *Pinus sylvestris* L.

Введение

Сохранение биологического разнообразия лесов как основы стабильности экосистем является важной проблемой современности. По разным оценкам площади лесов ежегодно сокращаются на 7–9 млн га. Известно, что за счёт сокращения эффек-

тивной численности особей в популяциях древесных растений вследствие проведения сплошнолесосечных рубок, гибели насаждений в результате пожаров, болезней, ветровала, загрязнения окружающей среды наблюдается неуклонное снижение генетического разнообразия лесов [Geburek, Turok, 2005]. Поколения леса, возникшие в результате ес-

тественного или искусственного возобновления от ограниченного количества особей, будут генетически менее разнообразными, а, следовательно, исходя из наличия взаимосвязи уровня генетической изменчивости, с одной стороны, и интенсивности роста и гомеостазом – с другой [Левонтин, 1978; Грант, 1984], и менее продуктивными, менее устойчивыми к экологическим факторам.

Вырубка леса, в особенности несанкционированная, ликвидируя часть генотипов, неминуемо ведет к генетическому обеднению популяций и уменьшению генетического разнообразия [Ветчинникова, Титов, Кузнецова, 2013]. Согласно данным Министерства природных ресурсов и экологии РФ, ущерб от незаконных рубок в 2014 г. составил 14 млрд руб. [Материалы ..., 2012]. Для сокращения количества несанкционированных рубок необходимы точные сведения о популяции, в которой произведена заготовка древесины. Существуют разнообразные технологии, направленные на идентификацию места происхождения древесины после ее вырубки, например, методы дендрохронологии. Однако этот подход имеет ограниченное применение [Основные ..., 2013]. В качестве альтернативы могут использоваться методы, основанные на молекулярно-генетической идентификации. Известно, что генетический контроль является наиболее надежным способом идентификации популяций и определения географического происхождения древесины [Исаев, Коровин, 2009]. В связи с этим молекулярно-генетическая идентификация популяций хвойных видов растений является весьма актуальной.

Материал и методы

Молекулярно-генетическая идентификация проведена у четырех популяций *P. sylvestris*, которые расположены на востоке Русской равнины: Ps1 – около пос. Мордино Республики Коми, Ps2 – около пос. Визинга Республики Коми, Ps3 – из Шабалинского лесничества Кировской обл., Ps4 – из Ежихинского лесничества Кировской обл. Для проведения исследований материал собирался в каждой популяции индивидуально с 46 деревьев, расположенных на расстоянии не менее 100 м друг от друга. Молекулярно-генетический анализ и выявление идентификационных молекулярных маркеров проводилось по результатам ПЦР с пробами ДНК, выделенными как из хвои, так и из древесины.

Для молекулярно-генетического анализа *P. sylvestris* был избран ISSR (Inter Simple Sequence Repeats)-метод [Zietkiewicz, Rafalski, Labuda, 1994]. Метод основан на использовании полимеразной цепной реакции (ПЦР) с одним или несколькими праймерами длиной 15–24 нуклеотида, состоящих из тандемных коротких 2–4 нуклео-

тидных повторов и одного селективного нуклеотида на 3'-конце праймера [Боронникова, Календарь, 2010]. Концентрацию ДНК определяли с помощью спектрофотометра SmartSpec™ Plus Nano Drop («BioRad», USA). Праймеры для ПЦР синтезированы в ЗАО «Синтол» (Москва). Тотальная ДНК выделена из древесины и хвои 184 деревьев с использованием модифицированной нами методики выделения ДНК С.О. Роджерса и Э. Дж. Бендича [Rogers, Bendich, 1985] в которой в качестве сорбента использовался PVPP, то есть поливинилполипирролидон [Нечаева, 2011]. При выделении ДНК брали навеску 100 мг. Для ПЦР-анализа использовали пробы с концентрацией 5 нг/мкл. Амплификацию проводили в амплификаторе GeneAmp PCR System 9700 («Applied Biosystems», USA) по типичной для ISSR-метода программе [Боронникова, 2009]. Температура отжига в зависимости от G/C-состава праймеров варьировала от 46 до 64°C. Для проверки достоверности полученных ДНК-спектров опыт повторяли не менее трех раз. В качестве отрицательного (К-) контроля в реакционную смесь добавляли вместо ДНК 5 мкл деионизированной воды. Продукты амплификации разделяли путем электрофореза в 1.7%-ном агарозном геле в 1x TBE буфере. Гели окрашивали бромистым этидием и фотографировали в проходящем ультрафиолетовом свете в системе Gel-Doc XR («Bio-Rad», USA). Для определения длины фрагментов ДНК использовали маркер молекулярной массы (100 bp +1.5 + 3 Kb DNA Ladder; «ООО-СибЭнзим-М», Москва). Определение длин фрагментов проводилось с использованием программы Quantity One в системе гель-документации Gel-Doc XR («Bio-Rad», USA).

Результаты и их обсуждение

При молекулярно-генетическом анализе *P. sylvestris* выявлено 117 ISSR-маркеров (табл. 1), из которых 111 были полиморфными ($P_{95} = 0.949$). Число ISSR-маркеров *P. sylvestris* варьировало в зависимости от праймера от 13 (праймер M27) до 21 (праймеры X10 и CR215), а их размеры – от 150 до 1400 пн. В среднем один ISSR-праймер инициировал у *P. sylvestris* синтез 16.7 ISSR-маркеров. Число полиморфных маркеров в общей выборке *P. sylvestris* варьировало от 19 до 28, а доля полиморфных локусов в зависимости от ISSR-праймера колебалась от 0.880 до 1.000. Для характеристики генетической структуры популяций важны редкие, то есть встречающиеся с частотой менее 5%, маркеры. В изученных популяциях *P. sylvestris* выявлено 16 редких ISSR-маркеров, из которых в популяции Ps1 выявлено 7, в популяции Ps2 – 3, в популяции Ps3 – 2, а в популяции Ps4 – 4 уникальных ISSR-маркеров.

Для молекулярно-генетической идентификации отобраны наиболее информативные ISSR-праймеры, с помощью которых выявлены родовые (надвидовые), видовые и полиморфные ISSR-маркеры и про-

веден отбор идентификационных молекулярных маркеров, а также определены их сочетания для идентификации популяций (табл. 2).

Таблица 1

Характеристика ISSR-маркеров в четырех популяциях *P. sylvestris*

ISSR-праймеры	Нуклеотидная последовательность (5'→3')	Длина фрагментов, пн	Число полиморфных ISSR-маркеров в популяциях					
			Ps1	Ps2	Ps3	Ps4	на общую выборку	
							всего	полиморфных
ISSR-1	(AC)8T	220-1115	11 (0.733)	12 (0.857)	9 (0.563)	8 (0.533)	20	20 (1.000)
CR-212	(CT)8TG	250-1400	12 (0.706)	12 (0.750)	6 (0.462)	8 (0.500)	25	22 (0.880)
CR-215	(CA)6GT	150-1280	18 (0.857)	18 (0.900)	8 (0.533)	8 (0.533)	22	22 (1.000)
M27	(GA)8C	150-1020	11 (0.647)	9 (0.642)	7 (0.438)	6 (0.400)	21	19 (0.905)
X10	(AGC)6C	200-1400	13 (0.722)	21 (0.913)	9 (0.529)	10 (0.588)	29	28 (0.966)
Всего ISSR-маркеров (в скобках – их частота)			65 (0.739)	72 (0.827)	39 (0.506)	40 (0.513)	117	111 (0.949)

Таблица 2

Характеристика идентификационных ISSR-маркеров популяций *P. sylvestris*

Обозначение праймера	Нуклеотидная последовательность (5'→3')	Размеры ISSR-маркеров, пн	ISSR-маркеры, избранные для паспортизации
Мономорфные ISSR-маркеры			
CR-212	(CT)8TG	1400-250	PSv670CR212 PSv450CR212 PSv390CR212
M27	(GA)8C	1020-150	PSv500M27 PSv460M27
X10	(AGC)6C	1400-200	PSv440X10
Полиморфные ISSR-маркеры			
ISSR-1	(AC)8T	1115-220	Ps1p930IS1
CR-212	(CT)8TG	1400-250	Ps1p260CR212 Ps4p290CR212 Ps4p250CR212
CR-215	(CA)6GT	1280-150	Ps3p1400CR215 Ps3p1200CR215
M27	(GA)8C	1020-150	Ps1p210M27 Ps1p180M27 Ps1p170M27 Ps2p350M27
X10	(AGC)6C	1400-200	Ps3p410X10 Ps2p250X10 Ps2p200X10 Ps4p1650X10 Ps4p900X10

Примечание. PSv – ISSR-маркеры, характерные для всех популяций; Ps1p, Ps2p, Ps3p и Ps4p – полиморфные ISSR-маркеры, характерные для отдельных популяций.

Молекулярные маркеры, избранные для идентификации четырех популяций *P. sylvestris*, представлены в виде молекулярно-генетической формулы, при составлении которой использовались так называемые «видовые» и «полиморфные» ISSR-маркеры. «Родовые» ISSR-маркеры использованы не были, так как для их обнаружения необходимо исследовать как минимум еще один вид рода *Pinus*. Мономорфные ISSR-маркеры, характерные для вида, обозначены как PSv, а полиморфные как Ps1p – для популяции Ps1, Ps2p – для популяции Ps2, Ps3p – для популяции Ps3, Ps4p – для популяции Ps4. Основная характеристика молекулярного маркера (его длина) указана большими буквами после указания типа маркера – Ps1p260_{CR212}. В молекулярно-генетической форму-

ле приведены тип и номер праймера нижним индексом. Так, молекулярный маркер Ps3p1200_{CR215} выявлен ISSR-методом с использованием праймера CR215. В случае, когда праймер возможно записать в виде короткой формулы как при ISSR-анализе, запись молекулярного маркера можно представить в следующем виде Ps3p1200_{(CA)6GT}. Данная форма записи молекулярного маркера является самой информативной. Таким образом, в предлагаемой записи молекулярно-генетической формулы указан вид растения, тип амплифицированного ISSR-маркера, его размер и дана характеристика исследуемой части генома посредством указания метода анализа полиморфизма ДНК и номера или последовательности праймера.

Для изученных популяций *P. sylvestris* установлены шесть видовых ISSR-маркеров, выявленные у всех изученных популяций: PSv670_{CR212} PSv500M2 PSv460_{M27} PSv450_{CR212} PSv440_{X10} PSv390_{CR212}. На основе ISSR-спектров удалось установить идентификационные ISSR-маркеры или их сочетания для популяций, с достаточно высокой частотой встречаемости в популяции. Для популяции Ps1 идентификационными маркерами являются Ps1p930_{IS1}

Pslp260_{CR212} Pslp210_{M27} Pslp180_{M27} Pslp170_{M27}; для популяции Ps2 – Ps2p350_{M27} Ps2p250_{X10} Ps2p200_{X10}; для Ps3 – Ps3p1400_{CR215} Ps3p1200_{CR215} Ps3p410_{X10}; для Ps4 – Ps4p1650_{X10} Ps4p900_{X10} Ps4p290_{CR212} Ps4p250_{CR212}. На основании полученных данных были составлены молекулярно-генетические формулы для изученных популяций *P. sylvestris* (табл. 3).

Таблица 3

Молекулярно-генетические формулы четырех популяций *P. sylvestris*

Популяции	Тип ISSR-маркера	ISSR-маркеры, избранные для паспортизации
Ps1	vid	PSv670CR212 PSv500M27 PSv460M27 PSv450CR212 PSv440X10 PSv390CR212
	polimorph	Pslp930IS1 Pslp260CR212 Pslp210M27 Pslp180M27 Pslp170M27
Ps2	vid	PSv670CR212 PSv500M27 PSv460M27 PSv450CR212 PSv440X10 PSv390CR212
	polimorph	Ps2p350M27 Ps2p250X10 Ps2p200X10
Ps3	vid	PSv670CR212 PSv500M27 PSv460M27 PSv450CR212 PSv440X10 PSv390CR212
	polimorph	Ps3p1400CR215 Ps3p1200CR215 Ps3p410X10
Ps4	vid	PSv670CR212 PSv500M27 PSv460M27 PSv450CR212 PSv440X10 PSv390CR212
	polimorph	Ps4p1650X10 Ps4p900X10 Ps4p290CR212 Ps4p250CR212

Примечание. PSv – ISSR-маркеры, характерные для всех популяций; Pslp, Ps2p, Ps3p и Ps4p – полиморфные ISSR-маркеры, характерные для отдельной популяции; vid – видовые ISSR-маркеры; polimorph – полиморфные ISSR-маркеры.

На основании полученных молекулярно-генетических формул рекомендуется составлять штрихкоды [Боронникова, 2013]. Как молекулярно-генетическая формула, так и штрихкод позволят идентифицировать принадлежность особей не только к роду и виду, но и к определенной популяции.

Родовые маркеры предлагается обозначить толстой линией, видовые – линией средней толщины, а полиморфные маркеры – тонкой линией. Для штрихкода предлагается использовать от 9 до 12 штрихов. ISSR-маркеры в штрихкоде располагаются в зависимости от их длины от большего к меньшему (рисунок).

Маркер молекулярной массы, пн	Штрихкод	№ ISSR-маркера	Обозначение маркера
1500	_____	1	Ps3p1400 _{CR215}
	_____	2	Ps3p1200 _{CR215}
1000	_____		
700	_____	3	PSv670 _{CR212}
600	_____		
500	_____	4	PSv500 _{M27}
	_____	5	PSv460 _{M27}
	_____	6	PSv450 _{CR212}
	_____	7	PSv440 _{X10}
	_____	8	Ps3p410 _{X10}
400	_____	9	PSv390 _{CR212}

Штрихкод популяции Ps3, расположенной в Шабалинском лесничестве Кировской обл.

Таким образом, в основу методики молекулярно-генетической идентификации популяций заложен молекулярный анализ высоко полиморфных областей геномов изучаемых видов. Молекулярно-генетическая идентификация популяций включает в себя молекулярно-генетический анализ на основании полиморфизма ISSR-маркеров, выявление идентификационных маркеров, редких и уникаль-

ных аллелей, составление для каждой популяции молекулярно-генетической формулы и штрихкода.

Заключение

У четырех изученных популяций *P. sylvestris* выявлено 117 ISSR-маркеров. Установлено, что доля полиморфных локусов у этих популяций высока ($P_{95} = 0.949$), поэтому они могут быть исполь-

зованы для идентификации на популяционном уровне. Выявлены идентификационные видовые для *P. sylvestris* и полиморфные ISSR-маркеры, а также их сочетания для молекулярно-генетической идентификации изученных популяций. Составлены молекулярно-генетические формулы и штрих-коды четырех изученных популяций *P. sylvestris*. Полученные данные могут быть использованы для идентификации популяций и древесины *P. sylvestris* в изученных регионах.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы «Участник молодежного научно-инновационного конкурса» (УМНИК) Фонда содействия развития малых форм предприятий в научно-технической сфере» 2016–2018 гг., договор № 9000ГУ/2015 от 22.12.2015.

Библиографический список

- Боронникова С.В. Исследование генетической изменчивости популяций редкого вида Урала *Adenophora lilifolia* (L.) DC. на основании анализа полиморфизма ISSR-маркеров // Генетика. 2009. Т. 45, № 5. С. 652–655.
- Боронникова С.В. Молекулярно-генетический анализ и оценка состояния генофондов ресурсных видов растений Пермского края: монография. Пермь, 2013. 223 с.
- Боронникова С.В., Календарь Р.Н. Использование IRAP-метода для анализа генетической изменчивости популяций ресурсных и редких видов растений // Генетика. 2010. Т. 46, № 1 С. 44–50.
- Ветчинникова Л.В., Титов А.Ф., Кузнецова Т.Ю. Карельская береза: биологические особенности, динамика ресурсов и воспроизводство. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2013. 312 с.
- Грант В. Видообразование у растений. М.: Мир, 1984. 528 с.
- Исаев А.С., Коровин Г.Н. Актуальные проблемы национальной лесной политики / Центр по проблемам экологии и продуктивности лесов Российской академии наук. М., 2009. 108 с.
- Левонтин Р.С. Генетические основы эволюции. М.: Мир, 1978. 351 с.
- Материалы к заседанию "круглого стола" на тему «Законодательное обеспечение основных направлений развития лесного хозяйства на базе инновационных научно-технических достижений». 2012. URL: <http://council.gov.ru/media/files/41d4935c0f740f5e1a2b.pdf> (дата обращения: 03.04.2016).
- Нечаева Ю.С. Оптимизация методики выделения ДНК некоторых хвойных видов растений Пермского края // Материалы международной конференции «Синтез знаний в естественных науках. Рудник будущего: проекты, технологии,

оборудование». Пермь, 2011. С. 278–282.

Основные результаты работы Министерства природных ресурсов и экологии Российской Федерации за 2013 г. URL: http://government.ru/dep_news/11859/ (дата обращения: 02.04.2016).

Geburek T., Turok J. Conservation and sustainable management of forest genetic resources in Europe - an introduction // Conservation and Management of Forest Genetic Resources in Europe. Arbora Publishers, Zvolen, 2005. P. 3–8.

Rogers S.O., Bendich A.J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues // Plant Molecular Biology. 1985. Vol. 1, № 19. P. 69–76.

Zietkiewicz E. Rafalski A., Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification // Genomics. 1994. Vol. 20. P. 176–183.

References

- Boronnikova S.V. *Molekuljarno-geneticheskiy analiz i ocenka sostojaniya genofondov resursnykh vidov rastenij Permskogo kraja* [Molecular genetic analysis and assessment of gene pools of resource species of plants of Perm region: monograph]. Perm, 2013. 223 p. (In Russ.).
- Boronnikova S.V. Genetic variation in Ural populations of the rare plant species *Adenophora lilifolia* (L.) D. on the basis of analysis of polymorphism of ISSR-markers. *Russian Journal of Genetics*. 2009, V. 45, N 5, pp. 571–574.
- Boronnikova S.V., Kalendar R.N. Using IRAP-markers for analysis of genetic variability in populations of resource and rare species of plants. *Russian Journal of Genetics*. 2010, N 1 (46), pp. 36–42.
- Geburek T., Turok J. Conservation and sustainable management of forest genetic resources in Europe - an introduction. Conservation and Management of Forest Genetic Resources in Europe. Arbora Publishers, Zvolen, 2005, pp. 3–8.
- Grant B. *Vidoobrazovanie u rastenij* [Speciation in plants]. Moscow, Mir Publ., 1984. 528 p. (In Russ.).
- Isaev A.S., Korovin G.N. *Aktual'nye problemy nacional'noj lesnoj politiki* [Actual problems of the National Forest Policy]. Moscow, 2009. 108 p. (In Russ.).
- Lewontin R.S. *Geneticheskie osnovy evolyucii* [Genetic bases of the evolution]. Moscow, Mir Publ., 1978. 351 p. (In Russ.).
- Materials for the meeting of the "round table" on "Legislative support of the main directions of forestry development based on innovative scientific and technological achievements." 2012. URL: <http://council.gov.ru/media/files/41d4935c0f740f5e1>

- a2b.pdf (reference date 03/04/2016). (In Russ.).
- Nechaeva Yu.S. [Optimization of DNA extraction methods of some coniferous species of plants of Perm region]. *Materialy meždunarodnoj konferencii "Sintez znaniy v estestvennykh naukach. Rudnik buduščego: proekty, tehnologii, oborudovanie"* [Proceedings of the international conference «Knowledge Synthesis in the natural sciences. Rudnik future: projects, technologies and equipment»]. Perm, 2011, pp. 278- 282. (In Russ.).
- Rogers S.O., Bendich A.J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues. *Plant Molecular Biology*, 1985, V. 1, N 19, pp. 69-76.
- The main results of the Ministry of Natural Resources and Ecology of the Russian Federation in 2013. URL: http://government.ru/dep_news/11859/ (reference date 02/04/2016). (In Russ.).
- Vetchinnikova L.V., Titov A.F., Kuznetsova T.Y. *Karel'skaja bereza: biologičeskie osobennosti, dinamika resursov i vosproizvodstvo* [Karelian birch: biological features, dynamics and reproduction of resources]. Petrozavodsk, Karelian Research Centre of Russian Academy of Science, 2013. 312 p. (In Russ.).
- Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) - anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 1994, V. 20, pp. 176-183.

Поступила в редакцию 12.04.2016

Об авторах

Пришнивская Яна Викторовна, аспирант кафедры ботаники и генетики растений ФГБОУВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет» 614990, Пермь, ул. Букирева, 15; yana_prishnivskaya@mail.ru; (342)2396729 инженер-исследователь лаборатории молекулярной биологии и генетики Естественнонаучный институт ПГНИУ 614990, г. Пермь, ул. Генкеля, 4

Красильников Виталий Павлович, магистрант биологического факультета ФГБОУВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет» 614990, Пермь, ул. Букирева, 15; trait969@gmail.com

Боронникова Светлана Витальевна, доктор биологических наук, профессор, зав. кафедрой ботаники и генетики растений ФГБОУВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет» 614990, Пермь, ул. Букирева, 15; svboronnikova@yandex.ru; (342)2396229

About the authors

Prishnivskaya Yana Viktorovna, PhD student of the Department of Botany and Plant Genetics Perm State University. 15, Bukirev str., Perm, Russia, 614990; yana_prishnivskaya@mail.ru; (342)2396729 engineer-researcher of the laboratory of molecular biology, and finally genetics Natural Science Institute Perm State University. 4, Genkelja str., Perm, Russia, 614990

Krasilnikov Vitaliy Pavlovich, graduate student faculty of Biology Perm State University. 15, Bukirev str., Perm, Russia, 614990; trait969@gmail.com

Boronnikova Svetlana Vitalievna, Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Botany and Plant Genetics Perm State University. 15, Bukirev str., Perm, Russia, 614990; svboronnikova@yandex.ru; (342)2396229