

Оригинальная статья

DOI: <https://doi.org/10.34220/issn.2222-7962/2023.2/2>

УДК 630*232.13+58.085+582.632.1



Фенотипическая и генетико-селекционная оценка березы повислой (*Betula pendula* ROTH) и березы пушистой (*Betula pubescens* EHRH.) *ex situ* и *in vitro*

Игорь Ю. Исаков¹ ✉, labgen@vglta.vrn.ru 0000-0003-2927-3275

Татьяна М. Табацкая², tatyana.tabacky@gmail.com 0000-0003-1104-4255

Наталья И. Внукова², natalya.vnuckova@yandex.ru 0000-0002-7807-4179

Ольга С. Машкина^{2,3}, mashkinaos@mail.ru 0000-0001-8252-2192

Вячеслав И. Михин¹, Dr.Mikhin@yandex.ru 0000-0002-7090-0800

Зоран Говедар⁴, zoran.govedar@sf.unibl.org orcid.org/0000-0001-9791-4113

¹ФГБОУ ВО «Воронежский государственный лесотехнический университет имени Г. Ф. Морозова», ул. Тимирязева, 8, Воронеж, 394087, Россия

²ФГБУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики, селекции и биотехнологии», ул. Ломоносова, 105, Воронеж, 394087, Россия

³ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», Университетская площадь, 1, Воронеж, 394018, Россия

⁴Государственный Университет Баня Лука, Петра Бойовик, 1а, Баня Лука, Босния и Герцеговина

Результаты изучения испытательных культур берез, полученных разными способами опыления *ex situ* и введенных в культуру *in vitro*, представлены в настоящей статье. Для выявления фенотипических, культуральных и цитологических характеристик у двух видов берёз, естественно растущих в Центральном-Черноземном Регионе – березы повислой (диплоид) и березы пушистой (тетраплоид), – были специально созданы испытательные культуры семенного происхождения F₁ и F₂. В статье выявлены данные по фенотипической (росту в высоту в ювенильном и репродуктивном периодах онтогенеза), генетико-селекционной (система семенного размножения) изменчивости и некоторые характеристики введения в культуру *in vitro* семенного потомства F₁ селекционных форм местных видов берез. Для прогнозирования ростовых характеристик семенного потомства селекционных форм местных видов берез, полученных при разных способах опыления – самоопылении и свободном опылении в разные отрезки онтогенеза (в возрасте 2 и 10 лет), проведена статистическая обработка признака роста в высоту семей с использованием рангового коэффициента корреляции Спирмена ρ . Дана характеристика видовой специфики по реакции на разные способы опыления, морфогенной активности самофертильных и самостерильных форм березы повислой и березы пушистой на питательной среде $\frac{1}{2}$ МС + 6-бензиламинопурин 1 мг/л, первичного побегообразования эксплантов и регенерационной способности у этих видов, характера морфогенеза (формирование основного побега). Для полиплоидного вида (береза пушистая) установлен более высокий уровень самофертильности, а также более интенсивный рост побегов в высоту в условиях *in vitro*, чем для березы повислой; первичные экспланты у первой имели иной характер морфогенеза (наблюдалась совместная инициация основного побега с адвентивными), чем у березы повислой (формирование основного побега), что говорит о большем адаптивном потенциале для полиплоидных видов древесных пород и их больших возможностях для включения в генетико-селекционные эксперименты и получения ценных селекционных форм.

Ключевые слова: береза повислая, береза пушистая, самофертильность, самостерильность, ювенильный возраст, культура *in vitro*, полиплоидия, первичный эксплант, коэффициент мультипликации, метафазная пластинка

Финансирование: исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда № 22-64-00036, <https://rscf.ru/project/22-64-00036/>

Благодарности: авторы благодарят рецензентов за вклад в экспертную оценку статьи.


Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.


Для цитирования: Фенотипическая и генетико-селекционная оценка березы повислой и березы пушистой *ex situ* и *in vitro* / И. Ю. Исаков, Т. М. Табацкая, Н. И. Внукова, О. С. Машкина, В. И. Михин, З. Говедар // Лесотехнический журнал. – 2023. – Т. 13. – № 2 (50). – С. 25–42. – Библиогр.: с. 38–41 (27 назв.). – DOI: <https://doi.org/10.34220/issn.2222-7962/2023.2/2>.


Поступила 24.03.2023. Пересмотрена 12.08.2023. Принята 13.08.2023. Опубликовано онлайн 18.09.2023.


Article


Phenotypical and genetic breeding evaluation silver birch (*Betula pendula* ROTH) and downy birch (*Betula pubescens* Ehrh.) *ex situ* and *in vitro*


Igor Yu. Isakov¹ ✉, labgen@vglta.vrn.ru  0000-0003-2927-3275

Tatyana M. Tabatskaya², tatyana.tabacky@gmail.com  0000-0003-1104-4255

Natalya I. Vnukova², natalya.vnuckova@yandex.ru  0000-0002-7807-4179

Olga S. Mashkina^{2,3}, mashkinaos@mail.ru  0000-0001-8252-2192

Vyacheslav I. Mikhin¹, Dr.Mikhin@yandex.ru  0000-0002-7090-0800

Zoran Govedar⁴, zoran.govedar@sf.unibl.org  orcid.org/0000-0001-9791-4113

¹Voronezh State University of Forestry and Technologies named after G.F. Morozov, Timiryazeva str., 8, Voronezh city, 394087, Russian Federation

²All-Russian Research Institute of Forest Genetics, Breeding and Biotechnology, Lomonosov str., 105, Voronezh city, 394087, Russian Federation

³Voronezh State University, Universitetskaya pl., 1, Voronezh city, 394018, Russian Federation

⁴State University in Banja Luka, Petra Bojovik 1A, Banja Luka, Bosnia and Herzegovina

Abstract

The results of a study of birch test cultures obtained by different methods of *ex situ* pollination and introduced into culture *in vitro* are presented. To identify the phenotypic, cultural and cytological characteristics of two birch species naturally growing in the Central Black Earth Region - silver birch (diploid) and downy birch (tetraploid), test cultures of seed origin F₁ and F₂ were specially created. The article presents data on phenotypic (growth in height in the juvenile and reproductive periods of ontogeny), genetic selection (seed propagation system) variability and some characteristics of the introduction of F₁ seed progeny of breeding forms of local birch species into *in vitro* culture. To predict the growth characteristics of seed progeny of breeding forms of local birch species obtained by different methods of pollination - self-pollination and open pollination at different stages of ontogeny (at the age of 2 and 10 years), a statistical processing of the feature of growth in height of families was carried out using the rank Spearman's correlation coefficient ρ . Species specificity was shown in response to different pollination methods, morphogenic activity of self-

fertile and self-sterile forms of these birch species on a nutrient medium $\frac{1}{2}$ MC + 6-benzylaminopurine 1 mg/l, primary shoot formation of explants and regenerative capacity in these species, the nature of morphogenesis (formation of the main escape). For the polyploid species (downy birch), a higher level of self-fertility was established, as well as a more intensive growth of shoots in height than for drooping birch; primary explants in the former had a different character of morphogenesis (there was a joint initiation of the main shoot with adventitious ones) than in silver birch (formation of the main shoot), which indicates a greater adaptive potential for polyploid species and their greater opportunities for inclusion in genetic breeding experiments and obtaining valuable breeding forms.

Keywords: *Betula pendula* Roth., *Betula pubescens* Ehrh., self-fertility, self-sterility, juvenile age, in vitro culture, polyploidy, primary explant, multiplication factor, metaphase plate

Funding: the study was supported by the grant of the Russian Science Foundation No. 22-64-00036, <https://rscf.ru/project/22-64-00036/>

Acknowledgements: the authors thank the reviewers for their contribution to the expert evaluation of the article.

Conflict of interest: the authors declares no conflict of interest.

For citation: Isakov I. Yu., Tabatskaya T. M., Vnukova N. I., Mashkina O. S., Mikhin V. I., Govedar Z. (2023). Phenotypical and genetic breeding evaluation silver birch and downy birch *ex situ* and *in vitro*. *Lesotekhnicheskii zhurnal* [Forestry Engineering journal], Vol. 13, No. 2 (50), pp. 25-42 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.34220/issn.2222-7962/2023.2/2>.

Received 24.03.2023. **Revised** 12.08.2023. **Accepted** 13.08.2023. **Published online** 18.09.2023.

Введение

Древесные растения являются важным экологическим ресурсом планеты, так как сохраняют до 80 % наземного видового биоразнообразия [FAO и ЮНЕП. Состояние лесов мира, 2020]. Деревья из рода Берёза широко используются как древесное топливо и древесный уголь, в домостроении, фармацевтике и других целях [FAO Global wood production growth accelerates, 2017;1]. Поэтому актуальным является расширение знаний о полиморфизме естественных популяций древесных пород, его потенциале, особенностях регенерации.

Береза является одной из лесообразующих и хозяйственно-ценных пород России. Род *Betula* L. относится к перекрестноопыляющимся (аллогамным) видам. Известно, что многообразие форм в пределах вида обусловлено именно прогрессивным влиянием аутбридинга¹ [2].

В роде *Betula* L. количество видов значительно варьирует, от 35 до 140 [3, 4, 5, 6]. Очевидно, это связано с тем, что среди видов берез широко распространена естественная гибридизация, которая приводит к фенотипическому разнообразию и способности к образованию алло- и аутополиплоидов в этом роде. Большое внимание в последние годы уделяется возможности интрогрессивной гибридизации у березы, которая может привести к расширению генетической изменчивости и является основой для успешной адаптации видов к неблагоприятным условиям окружающей среды. Так, полагают, что значительная фенотипическая и генотипическая изменчивость тетраплоидной березы пушистой в Ирландии и Исландии связана с потоком генов от диплоидной карликовой березы (*B. nana* L.) посредством интрогрессивной гибридизации, что подтверждено на морфологическом, хромосомном и молекулярном уровнях [7, 8].

Виды этого рода образуют полиплоидный ряд – диплоиды ($2n=28$), триплоиды ($2n=42$), тетра-

¹ Дарвин, Ч. Действие перекрестного опыления и самоопыления в растительном мире. М.-Л.: ОГИЗ-Сельхозгиз. 1939. 340 с.

плоиды ($2n=56$), пентаплоиды ($2n=70$), гексаплоиды ($2n=84$) и октаплоиды ($2n=112$). Береза повислая является диплоидным видом, а береза пушистая, приспособленная к более суровым условиям местобитания (произрастает в северной части лесостепи, менее требовательна к свету, более влаголюбива, переносит суровые зимы), – тетраплоидным видом [9]. Оба вида являются видами-пионерами, быстро заселяющими освободившиеся земли (т.е. относительно устойчивыми к внешним факторам среды). Однако в последние годы с увеличением числа засух в европейской части России в защитных полосах, состоящих из березы повислой, наблюдается усыхание значительного количества деревьев этой породы [10]. Затенённость в жаркое время является достаточно значимым фактором, наряду с влагообеспеченностью препятствующим усыханию деревьев. В этой связи очень важно использовать для дерева максимально возможное время нахождения в тени в период воздушной/почвенной засухи. Это обстоятельство может обеспечить нахождение деревьев в группе по отношению к движению солнца в дневное время. Показано, что одной из причин этого явления также считается географическая направленность таких полос по сторонам света [11].

В европейской части РФ наиболее часто встречаются береза повислая (*Betula pendula* Roth) и береза пушистая (*Betula pubescens* Ehrh.). В Центральной лесостепи на долю березы повислой приходится около 2 % общей площади лесных культур (третье место после культур сосны и дуба) [12], она занимает около 13 % общей площади защитных насаждений [13]. Показано, что местные виды берез обладают рядом особенностей, благоприятствующих их вовлечению в селекционный процесс [14]. К их числу относятся: быстрый рост в высоту; ежегодное (обильное) плодоношение; раннее (на 5-7-й год) вступление в репродуктивную стадию онтогенеза и, следовательно, небольшой временной период между смежными генерациями; потенциальная способность к разным способам опыления (аут-, кросс- и инбридингу); скрещиваемость при межвидовой и внутривидовой гибридизации и др.

В ВГЛТУ созданы испытательные культуры семенного происхождения двух местных видов берез F_1 и I_1 ; F_2 и I_2 (частично) – б. повислой и б. пушистой, а также получены реципрочные гибриды между ними и интродуцированными видами. Важным при этом является проведение генетико-селекционных исследований для изучения их природы и выявления наиболее устойчивых (к засухе и другим стрессирующим факторам) и продуктивных генотипов березы.

Большие перспективы сохранения (консервации *ex situ*) и воспроизводства представителей ценного генофонда лесных древесных растений открывает использование в программах по селекции биотехнологических методов (технологий культуры *in vitro*) [15]. Одним из приоритетных направлений лесной биотехнологии является создание биокolleкций *in vitro*, основанных на хранении живых образцов (клеток, тканей, органов, микрорастений) элитных растений в строго контролируемых асептических условиях с помощью различных методов и подходов [16, 17]. Такие биокolleкции *in vitro* являются не только стратегическим резервом элитного лесного генофонда (в том числе березы), но и основой для эффективного выращивания посадочного материала ценных генотипов и создания лесных культур целевого назначения. Созданная в ВНИИЛГИСбиотех коллекция *in vitro* включает более 70 клонов (в виде микрорастений) ценных генотипов березы, тополя, осины и ивы [18, 19]. Среди них – клоны и гибриды березы повислой и березы пушистой селекции Исакова И.Ю. и Козьмина А.В. Длительность хранения образцов – 6 лет. В 2018 г. коллекция была зарегистрирована на сайте «Научно-технологическая инфраструктура Российской Федерации» (<http://ckp-rf.ru/usu/569228/>). Одним из условий целесообразности и эффективности подобных биологических систем является их стабильность (морфометрическая, генетическая, хромосомная). В значительной степени указанное условие выполняется с помощью периодического биотестирования коллекционных образцов.

Цель настоящего исследования – сравнительная оценка генетических, селекционных и ростовых характеристик двух разноплоидных местных видов берез (березы повислой и березы пуши-

стой) в условиях *ex situ* (испытательные культуры) и *in vitro* (коллекционные клоны).

В задачи работы входило:

1. Определение рангового коэффициента вариации у семей б. повислой и б. пушистой, полученных при разных способах опыления (в возрасте 2 и 10 лет).

2. Биотехнологическая оценка влияния условий хранения коллекционных клонов березы в культуре *in vitro* на жизнеспособность, сохранность адаптивного и регенерационного потенциалов.

3. Оценка статуса пloidности коллекционных клонов.

Материалы и методы

Испытательные культуры двух местных видов берез – березы повислой и березы пушистой и гибридов – созданы посадочным материалом, полученным разными типами скрещивания. В качестве исходных объектов были использованы деревья из автохтонных популяций березы повислой (обозначение в дальнейшем С – суходол) и березы пушистой (болото – Б). Растительный материал (F₁) получен путем скрещивания (самоопыления) материнских деревьев березы повислой (61 дерево) и б. пушистой (36 деревьев) в Воронежском государственном природном биосферном заповеднике им. В.М. Пескова в 1981 году сотрудниками лаборатории селекции НИИ ЦНИИЛГиС ВНПО «Союзлесселекция» д.б.н. Ю.Н. Исаковым и к.с.-х.н. В.В. Иевлевым по общепринятой методике [Пятницкий, 1961]. В том же году зрелые семена от самоопыления и свободного опыления указанных деревьев, а также гибридные (с б. карельской, б. бумажной, б. вишневой, б. белокитайской, б. маньчжурской и межвидовые гибриды местных видов) были высеяны в посевном отделении Ступинского стационара. Общее количество деревьев F₁ – 1570. В возрасте 2 лет они были пересажены на лесокультурную площадь в борозды по схеме 3 × 1. В проанализированных семьях (9 – б. повислая, 13 – б. пушистая) количество деревьев в выборке варьировало от 6 до 25.

Для грамотного ведения лесного хозяйства актуальным является выяснение возможности ранней диагностики роста деревьев в высоту, когда по

росту в молодом возрасте можно предсказать рост в более старшем возрасте. В этой связи был проведен сравнительный анализ хода роста некоторых семей березы повислой и пушистой, полученных при разных способах опыления (само- и свободном опылении), в двух- и десятилетнем возрасте. Двухлетние растения были ранжированы по росту, затем были определены значения высот у семей аналогичного происхождения и вычислен коэффициент ранговой корреляции Спирмена ρ между ростом в двух- и десятилетнем возрасте. Коэффициент ранговой корреляции Спирмена позволяет определить, существует ли между двумя переменными зависимость, выражаемая монотонной функцией (то есть при росте одной переменной увеличивается и вторая, и наоборот) [20].

Материалом для биотехнологических исследований (*in vitro*) служили микрорастения 8 клонов березы из коллекции *in vitro*: березы пушистой (клоны 1пш (Б-12 со), 2пш (Б-12 св), 3пш (Б-12 со), 6пш (гибрид х б. белокитайская), 7 гб (гибрид х б. белокитайская)) и березы повислой (д.1, д.5, ПВ1). Коллекционные клоны получены от взрослых (35-45 лет) исходных деревьев селекции Исакова И.Ю., Козьмина А.В.

Экспланты взрослых деревьев (одноузловые стеблевые сегменты) были однократно введены в культуру *in vitro*, из них регенерированы микрорастения по разработанной нами методике [18, 19] с использованием безгормональной питательной среды Мурасиге и Скуга [21] с половинным содержанием макросолей (½ МС). Коллекционные клоны поддерживали *in vitro* двумя способами: 1) в стандартных условиях культивирования (при температуре 25±2 °С, фотопериоде 16 ч день / 8 ч ночь, освещенности 2.0 клк) путем редкого (один раз в 3-5 месяцев) микрочеренкования микрорастений и 2) при пониженной положительной температуре (4±1 °С), слабой освещенности (0.5 клк), коротком фотопериоде (6 ч день / 18 ч ночь) [18]. Культуральные сосуды – биологические пробирки объемом 50 мл и колбы объемом 250 мл. Эксперименты осуществляли в трех повторностях по 30 культур (микропобегов) для каждого клона.

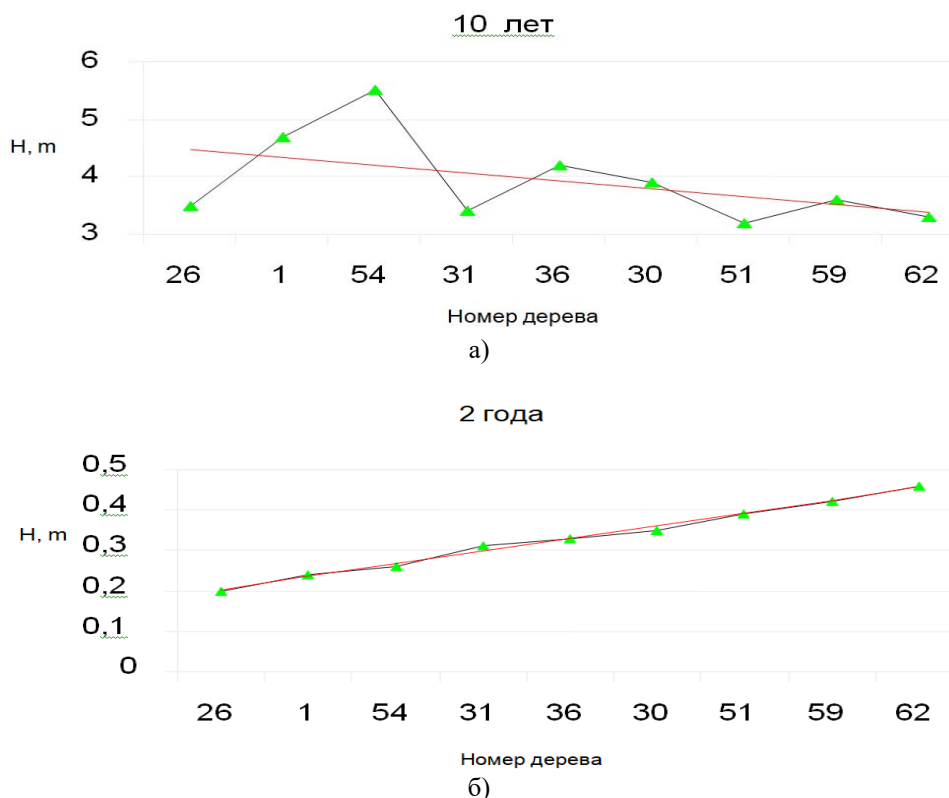
Эффективность хранения культур оценивали по основным биотехнологическим параметрам: росту и жизнеспособности культур, сохранности их регенерационного и адаптивного потенциалов к условиям культивирования. Оценку соматической изменчивости проводили по морфологическим признакам (хлороз, аномалии развития, некрозы и др.).

Определение пloidности (числа хромосом) коллекционных клонов проводили в меристеме кончиков корешков микрорастений. Материал фиксировали в спиртово-уксусной смеси (3:1) с предварительной обработкой 0,002 молярным раствором 8-оксихинолина при температуре 10-14 °С в течение 3 часов. Давленные препараты, окрашенные ацетогематоксилином, изготавливали по методике [22] в нашей модификации. В каждом образце анализировали не менее 20-30 метафазных пластинок. Просмотр микропрепаратов осуществляли на световом микроскопе AXIO Lab. A1 (CarlZeiss Microscopy GmbH) с использованием объектива 40× и 100×. Микрофото съемку осуществляли с помощью цифровой камеры AxioCam ICs 1.

Результаты и обсуждение

Генетико-селекционная оценка испытательных культур березы (*ex situ*)

Общим для двух изученных видов (б. повислой и б. пушистой) является то, что они имеют одинаковую структуру выборок первой генерации семенного потомства по отношению к инбридингу в возрасте 10 лет. Кроме того, при самоопылении величина коэффициента изменчивости (C_v) у семей, полученных при самоопылении, варьировала в более широких пределах (4-39 % у б. пушистой и 13-46 % у б. повислой), чем при свободном опылении (соответственно, 8-25 % и 4-31 %). В то же время между ростом семенного потомства в двух- и десятилетнем возрасте у этих видов при разных способах опыления выявлена неоднозначная связь. У березы повислой в десятилетнем возрасте рост инбредного потомства не отличался существенно от контроля, за исключением семьи № 54, где рост особей от самоопыления превышал контроль на 27 %. У этого вида и инбредное (рис. 1, а, б), и аутбредное (рис. 1, в, г) потомство показало явно выраженную отрицательную связь (соответственно, $\rho = -0.45$ и $\rho = -0.37$).



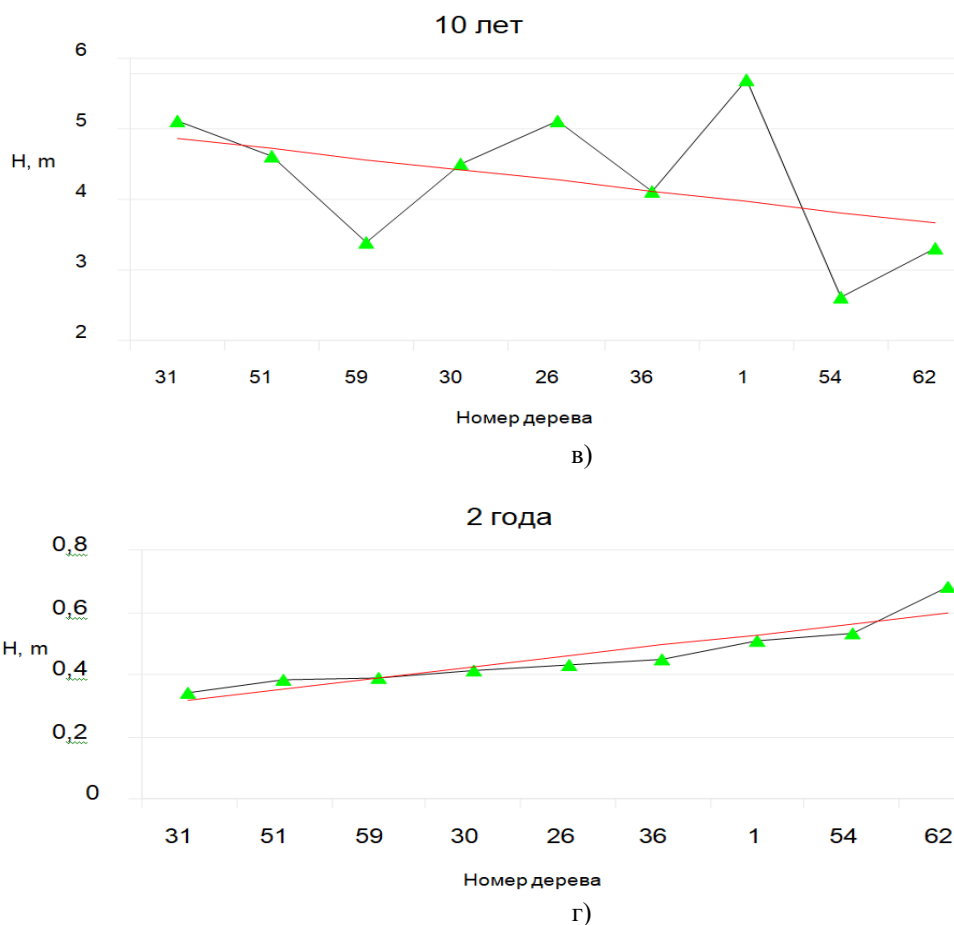
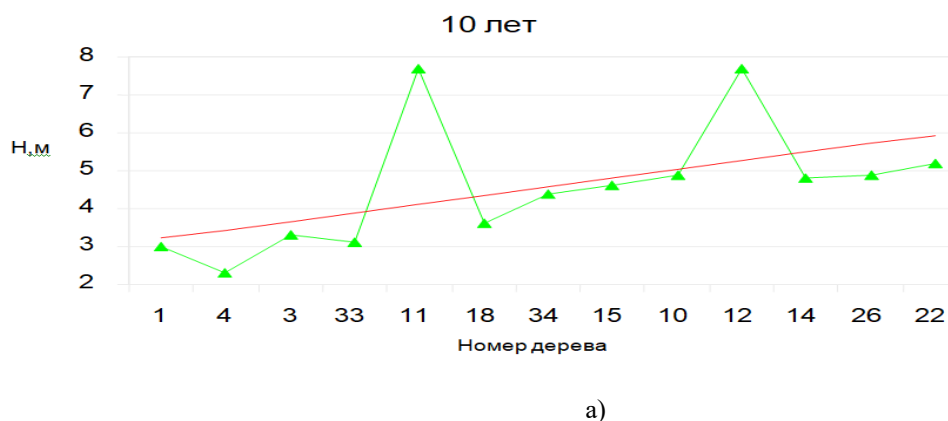


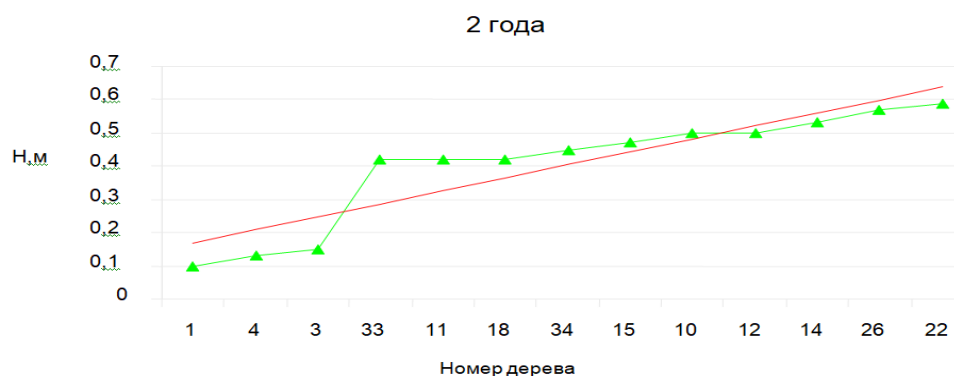
Рисунок 1. Динамика роста и степень подобия у семенного потомства б. повислой в двух- и десятилетнем возрасте, а) и б) – самоопыление, $\rho = -0.45$; в) и г) – свободное опыление, $\rho = -0.37$

Figure 1. Dynamics of growth and degree of similarity in seed progeny of silver birch at two and ten years of age, а) and б) – self-pollination, $\rho = -0.45$; в) and г) – open pollination, $\rho = -0.37$

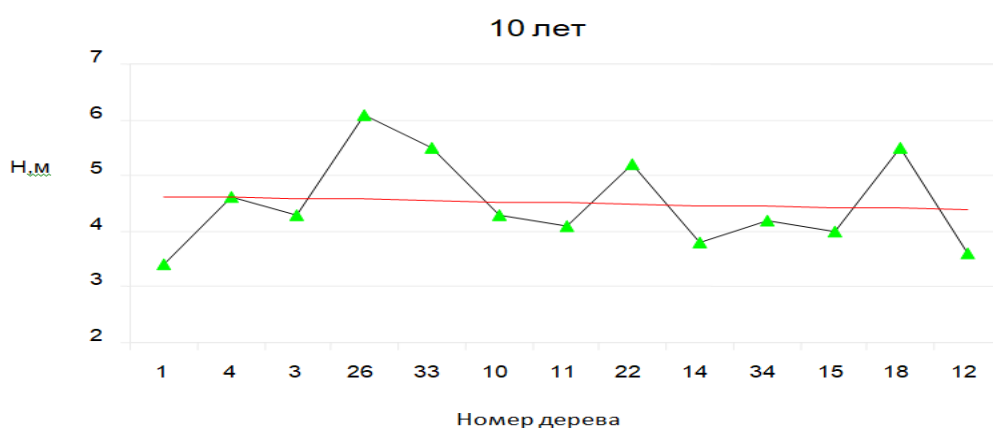
Источник: собственная композиция авторов

Source: author's composition

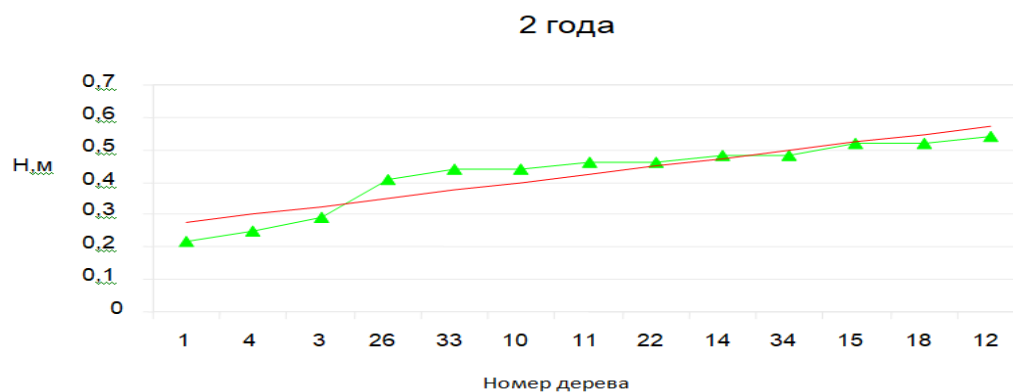




б)



в)



г)

Рисунок 2. Динамика роста и степень подоби́я у семенного потомства б. пушистой в двух- и десятилетнем возрасте, а) и б) – самоопыление, $\rho = 0.77$; в) и г) – свободное опыление, $\rho = 0.01$

Figure 2. Dynamics of growth and degree of similarity in seed progeny of downy birch at two and ten years of age, а) and б) – self-pollination, $\rho = 0.77$; с) and д) – open pollination, $\rho = 0.01$

Источник: собственная композиция авторов

Source: author's composition

Сильная положительная связь выявлена у березы пушистой (рис. 2, а, б) при самоопылении – $\rho = 0.77$, в то время как при свободном опылении она отсутствовала, $\rho = 0.01$ (рис. 2, в, г).

Ранее [23] у указанных селекционных форм этих видов берез было проведено изучение экспрессии генов, кодирующих белки метаболических путей, которые активируются в ответ на абиотический стресс (фенилпропаноидный путь).

Он связан с патогенезом белков (PR1 и PR10), факторов транскрипции (DREB2) и белков позднего эмбриогенеза (LEA). В результате воздействия стресса (засухи) в анализируемых образцах было обнаружено значительное увеличение экспрессии генов *PAL*, *PR-1*, *PR-10* и *DREB2*. Образцы березы 29-58 (Б-12, высокосамофертильная форма) и 233 (межвидовой гибрид, Б-4 x Б. вишневая 1, свободное опыление) были отобраны в качестве наиболее стабильных, демонстрирующих адаптивную реакцию для всех проанализированных генов. Была выявлена активация защитных путей синтеза вторичных метаболитов, а также транскрипционных факторов, участвующих в регуляции генов, вовлеченных в процессы развития стрессоустойчивости, что является свидетельством высокой приспособленности высокосамофертильной формы березы пушистой и межвидового гибрида на основе березы пушистой к меняющимся условиям среды.

По результатам исследований были отобраны лучшие по сохранности и росту селекционные формы и гибриды, часть из которых передана в ВНИИЛГИСбиотех для их клонального микроразмножения и включения в коллекцию *in vitro* для долговременного хранения.

Биотехнологическая оценка коллекционных клонов березы повислой и березы пушистой в культуре in vitro

Воспроизводимость всех этапов культивирования и формирования клонов *in vitro* для различных видов березы с сохранением фенотипических и генетико-селекционных особенностей исходных экземпляров – одно из важных условий успеха биотехнологических разработок. Разработанная нами ранее технология клонального микроразмножения березы *in vitro* достаточно универсальна и воспроизводима [18, 19]. Однако, как показали наши исследования, на всех этапах (получение первичных культур, клонирование, хранение) проявляются межвидовые генотипические особенности. Так, морфогенная активность (которая оценивалась по частоте первичных эксплантов с побегообразованием) демонстрирует заметные различия как по количеству ответов, так и по характеру их проявления (рис. 3, 4). В целом морфогенная активность первичных эксплантов б. повислой в 1,3 раза выше по сравнению с б. пушистой (65 % и 51,2 % соответственно).

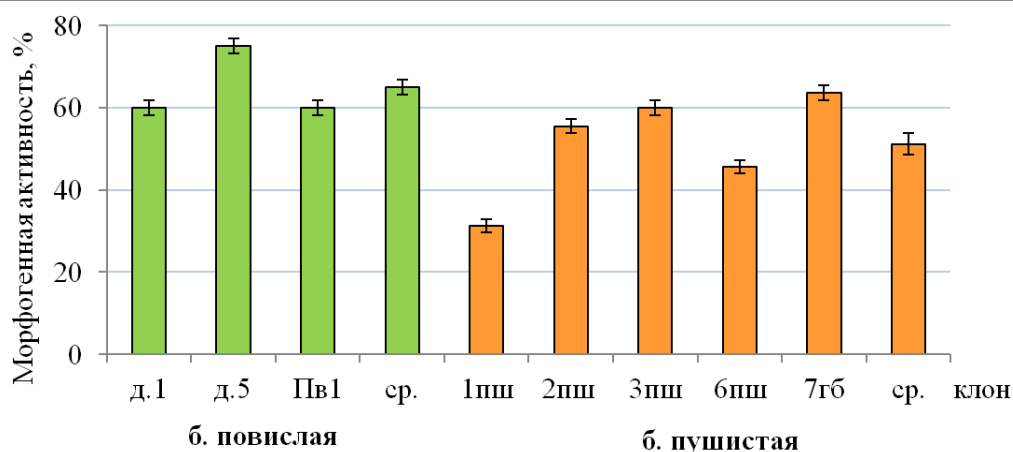


Рисунок 3. Морфогенная активность культур узловых сегментов березы повислой и березы пушистой на питательной среде $\frac{1}{2}$ MS + 6-бензиламинопурин 1 мг/л

Figure 3. Morphogenic activity of silver birch and downy birch's nodal segments cultures on nutrient medium $\frac{1}{2}$ MS + 6-benzylaminopurine 1 mg/l

Источник: собственная композиция авторов
Source: author's composition

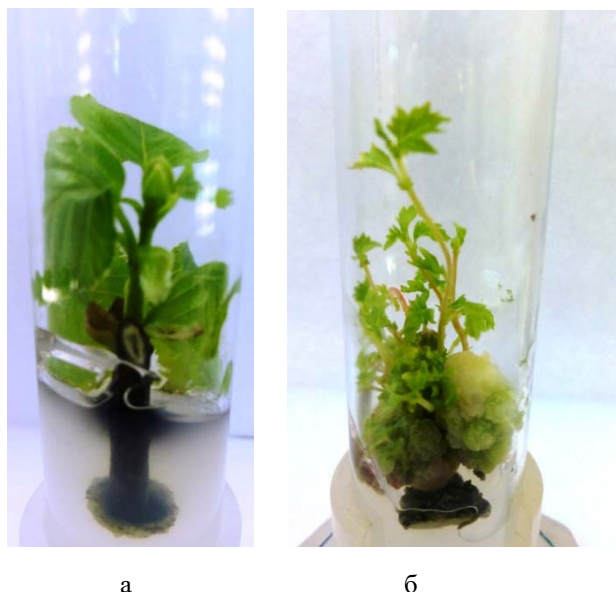


Рисунок 4. Особенности первичного побегообразования эксплантов (стеблевых узлов) березы повислой (а) и березы пушистой (б)

Figure 4. Peculiarities of the primary shoot formation of explants (stem nodes) in silver birch (a) and downy birch (b)

Источник: собственная композиция авторов

Source: author's composition

Межклоновые различия б. повислой по количеству морфогенных ответов незначительны и варьируют в пределах 60-75 %, тогда как для клонов б. пушистой эти различия более выражены – 31,2-63,6 %. При этом для березы повислой характерно образование основного пазушного побега, а для березы пушистой – основного совместно с адвентивными (рис. 4). Таким образом, в количественном отношении конечный выход индуцированных побегов у культур березы пушистой существенно выше, чем у березы повислой, что повышает эффективность дальнейших этапов культивирования.

Аномального развития побегов, а также морфологических различий между основными и адвентивными побегами не выявлено, что свидетельствует об отсутствии соматклональной изменчивости на данном этапе. В дальнейших экспериментах был задействован весь индуцированный материал.

В литературе приведены данные о том, что береза, в зависимости от видовой принадлежности, использует различные механизмы адаптации к условиям культивирования *in vitro* [24, 25, 15]. Например, микрорастения березы пушистой при

увеличении продолжительности циклов культивирования проявляют их дефолиацией нижних листьев при сохранении роста в высоту. Микрорастения березы повислой на фоне торможения роста реагируют сокращением длины междоузлий, увеличением размеров листьев. Наши исследования показали, что оптимизация условий культивирования березы с учетом ее видовых особенностей способна устранить подобные риски. Так, сокращение продолжительности цикла микрочеренкования у березы пушистой до 3 месяцев (против 5 месяцев у березы повислой) полностью исключает дефолиацию. Периодическая взаимозаменяемость минерального питания ($\frac{1}{2} MC \leftrightarrow \frac{1}{2} WPM$, питательная среда Woody Plant Medium² [26]) способствует восстановлению ростовых процессов культур березы пушистой.

Результаты анализа сохранности культур, характеризующей их жизнеспособность и адаптивность к условиям культивирования в коллекции, представлены на рис. 5 и 6.

² Lloyd G., McCown B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia* by use of shoot tip culture // Combined Proceedings, International Plant Propagators' Society. 1980; 30: 421-427.



Рисунок 5. Общий вид микрорастений березы пушистой и березы повислой в коллекции *in vitro* на безгормональной среде $\frac{1}{2}$ MS

Figure 5. General view of microplants of downy birch and silver birch in the *in vitro* collection on a hormone-free medium $\frac{1}{2}$ MS

Источник: собственная композиция авторов

Source: author's composition

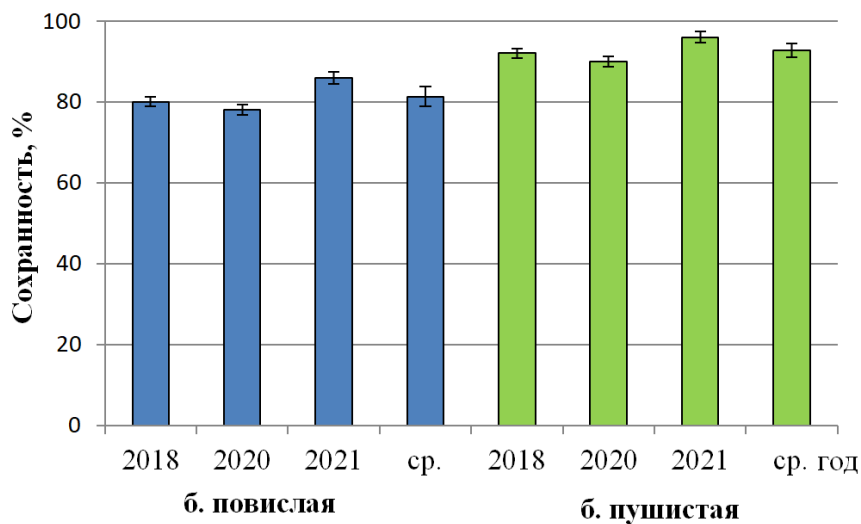


Рисунок 6. Сохранность культур березы в стандартных условиях культивирования *in vitro* на питательной среде $\frac{1}{2}$ MS (представлены усредненные данные 3 циклов микрочеренкования)

Figure 6. Preservation of birch cultures under standard conditions of cultivation *in vitro* on a nutrient medium $\frac{1}{2}$ MS (averaged data of 3 cycles of micrografting are presented)

Источник: собственная композиция авторов

Source: author's composition

В целом коллекционные клоны независимо от длительности хранения *in vitro* характеризовались стабильно высокой (до 96 %) сохранностью, активным спонтанным ризогенезом (до 100 %), формированием нормального морфотипа. Причем сохранность культур существенно не изменялась по годам исследований, но была более высокой у березы пушистой (рис. 6). Видовые особенности микрорклонов березы наиболее заметно проявлялись по

регенерационным показателям (росту в высоту, ризогенной активности, коэффициенту мультипликации). На протяжении всего срока поддержания культур в условиях *in vitro* сохраняется общая тенденция – стабильное проявление ростовых особенностей, как при периодичном черенковании (субкультивировании), так и по годам исследований (табл.).

Таблица

Регенерационная способность клонов березы пушистой и березы повислой в режиме хранения на питательной среде ½ MS *in vitro*

Table

Regeneration ability of downy birch and silver birch clones in storage mode on a nutrient medium ½ MS *in vitro*

Длительность культивирования, лет	Регенерационные показатели	береза пушистая	береза повислая
4	средняя высота, см	6.5 ± 0,1*	4.5 ± 0,1
	коэф. мультипликации	6.0 ± 0,3	4.0 ± 0,1
5	средняя высота, см	8.8 ± 0,1*	5.2 ± 0,2
	коэф. мультипликации	6.0 ± 0,2	–
6	средняя высота, см	9.2 ± 0,3*	5.8 ± 0,3
	коэф. мультипликации	6.0 ± 0,2	5.0 ± 0,4

Примечание: для каждого вида березы представлены средние значения 3 клонов; высоты побегов учитывали через 2 месяца культивирования. *Различия с березой пушистой достоверны при $p < 0,001$.

Note: for each species of birch, the average values of 3 clones are presented; shoot heights were taken into account after 2 months of cultivation. *Differences with downy birch are significant at $p < 0.001$.

Источник: собственные вычисления авторов

Source: own calculations

Побеги березы пушистой характеризовались более интенсивным ростом в высоту (значения средней высоты побегов статистически выше, чем у березы повислой). Данное соотношение, как и высокие показатели укоренения (до 100 %), стабильны в процессе субкультивирования по годам наблюдения. Значения коэффициента мультипликации, показателей регенерационных потенциалов в зависимости от видовой принадлежности составляют (варьируют) от 4 до 6, что соответствует норме для березы [27].

Одним из неблагоприятных факторов, с которым приходится сталкиваться растениям в течение своей жизни, является низкая температура. В условиях данного эксперимента выживаемость микрорастений *in vitro* после одного года хранения

в холодильной камере (4 ± 1 °C) в среднем составила 53,8 % для б. пушистой и 51,3 % для б. повислой. Для сравнения сохранность побегов карельской березы в аналогичных условиях хранения достигала 100 %. С сокращением срока хранения при пониженной положительной температуре до 6 месяцев доля регенерировавших растений увеличивалась до 76,3 % у березы пушистой и до 82,5 % у березы повислой. Кроме того, после повторного цикла 6-месячного хранения этих же клонов сохранность культур стала еще выше и составила 92,5 % и 90,0 % соответственно. Сравнивая выживаемость березы пушистой и березы повислой при хранении в условиях низкой положительной температуры (4 ± 1 °C), можно говорить об их сходной

адаптивной реакции, отличающейся, например, от реакции карельской березы.

Оценка плоидности коллекционных клонов березы повислой и березы пушистой

Анализ плоидности 8 клонов березы из коллекции *in vitro* подтвердил тетраплоидную природу (2n=56) клонов березы пушистой и диплоидную

(2n=28) – березы повислой, характерную и для их материнских деревьев (рис. 7). Причем в условиях длительного культивирования *in vitro* клоны сохранили свой уровень плоидности, что свидетельствует об их цитологической стабильности.

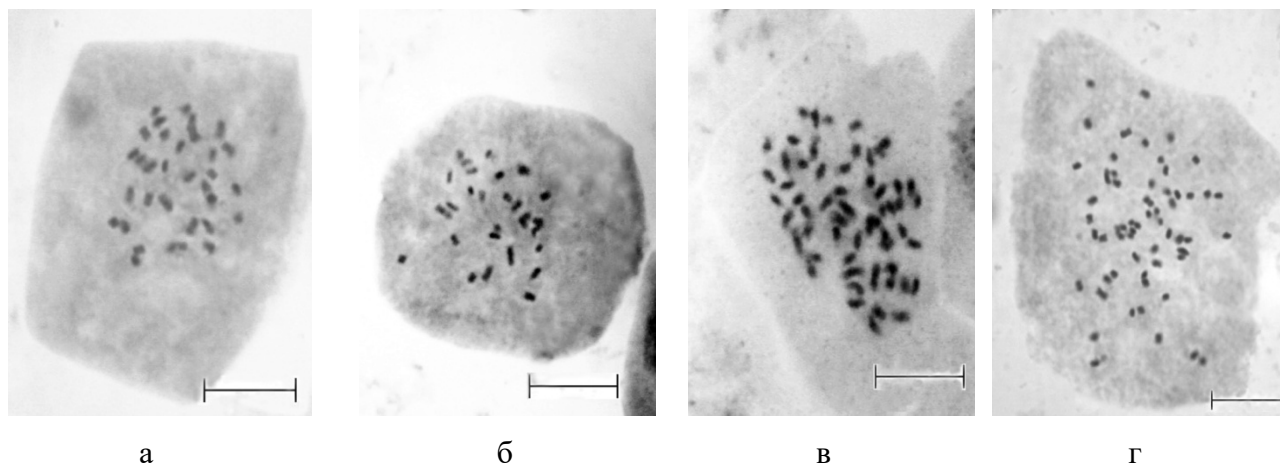


Рисунок 7. Метафазные пластинки клеток корневой меристемы микрорастений с диплоидным (2n=28) у клонов березы повислой (а, б) и тетраплоидным (2n=56) у клонов березы пушистой (в, г) числом хромосом. Линейка = 10 µm

Figure 7. Metaphase plates of cells of the root meristem of microplants with a diploid (2n=28) number of chromosomes in silver birch clones (a, b) and tetraploid (2n=56) chromosome numbers in downy birch clones (c, d). Ruler = 10 µm.

Источник: собственная композиция авторов
Source: author's composition

Заключение

Видовая специфика селекционных форм березы проявляется в величине и направлении связи между ростом в ювенильном и репродуктивном возрасте. Наибольшее значение коэффициента ранговой корреляции $\rho = 0,77$ отмечено у полиплоидного вида – березы пушистой, при однократном инбридинге. Это связано, очевидно, с тетраплоидным состоянием и более высоким уровнем самофертильности этого вида. Однократный инбридинг оказывает положительное влияние на активацию защитных путей синтеза вторичных метаболитов, а также транскрипционных факторов, участвующих в регуляции генов, вовлеченных в процессы развития стрессоустойчивости у самофертильных форм березы пушистой.

Экспериментально показано, что длительное хранение коллекционных клонов березы повислой и березы пушистой в условиях *in vitro* по разработанной нами методике [18] обеспечивает стабильно высокую выживаемость (сохранность) и регенерационную способность культур, их цитологическую стабильность. Сохраняются особенности роста клонов в высоту. Причем видовые особенности березы оказали более существенное влияние на активность и характер морфогенеза первичных эксплантов *in vitro*, рост и мультипликационную активность индуцированных побегов по сравнению с межклоновыми в пределах вида. Так, микрорастения клонов полиплоидной березы пушистой характеризовались более интенсивным ростом побегов в высоту, чем березы повислой; первичные экс-

планты имели иной характер морфогенеза (наблюдалась совместная инициация основного побега с адвентивными), чем у березы повислой (формирование основного побега).

Результаты исследований подтверждают, что целевое создание объектов единого генетико-селекционного комплекса (ЕГСК), использование биоресурсных и биотехнологических коллекций может существенно повысить эффективность консервации *ex situ* лесных генетических ресурсов и

клонального микроразмножения деревьев различных видов березы на разных стадиях онтогенеза с сохранением у микроклонов генетических и селекционных особенностей на видовом и индивидуальном уровнях. Это также найдет отражение в теории и практике создания плантационных насаждений березы различного целевого назначения, а использование полиплоидных видов является очень перспективным направлением в лесной генетике и селекции.

Список литературы

1. Staniszewski P., Moskalik T., Bilek M., Szwerc W., Kocjan R., Tomusiak R., Osiak P. The effect of tree age, daily sap volume and date of sap collection on the content of minerals and heavy metals in silver birch (*Betula pendula* Roth) tree sap / PLOS ONE. 2020; 15(12):1-19. DOI: 10.1371/journal.pone.0244435.
2. Bona A., Kulesza U., Jadwiszczak K. A. Clonal diversity, gene flow and seed production in endangered populations of *Betula humilis* Schrk. *Tree Genetics & Genomes*. 2019;15;4: 50. – DOI: <https://doi.org/10.1007/s11295-019-1357-2>.
3. Медведева С. О., Черепанова О. Е., Толкач О. В., Пономарев В. И., Малосиева Г. В. Данные по изменчивости региона ITS 1–2 ядерной рибосомальной ДНК *Betula turkestanica*, *B. tianschanica*, *B. procurva*. *Лесохозяйственная информация*. 2023;2: 127–135. DOI 10.24419/LHI.2304-3083.2023.2.10.
4. Bona A., Petrova G., Jadwiszczak K.A. Unfavourable habitat conditions can facilitate hybridisation between the endangered *Betula humilis* and its widespread relatives *B. pendula* and *B. pubescens*. *Plant Ecology and Diversity*. 2018;11(3): 295-306. doi: 10.1080/17550874.2018.1518497.
5. Anamthawat-Jónsson K., Karlsdóttir L., Þórsson Æ.T., Jóhannsson M. H. Naturally occurring triploid birch hybrids from woodlands in Iceland are partially fertile. *New Forests*. 2021;52: 659–678. doi: <https://doi.org/10.1007/s11056-020-09816-z>.
6. Zhang H., Ding J., Holstein N., Wang N. *Betula mcallisteri* sp. nov. (sect. *Acuminatae*, Betulaceae), a new diploid species overlooked in the wild and in cultivation, and its relation to the widespread *B. luminifera*. *Front. Plant Sci*. 2023; 14: 1113274. doi: 10.3389/fpls.2023.1113274.
7. Belton S., Cubry P., Fox E., Kelleher C. T. Novel Post-Glacial Haplotype Evolution in Birch – A Case for Conserving Local Adaptation. *Forests*. 2021;12, 1246. doi: <https://doi.org/10.3390/f120912>.
8. Anamthawat-Jónsson K. Hybrid introgression: the outcomes of gene flow in birch. *Science Asia*. 2019;45: 203–211. doi: 10.2306/scienceasia1513-1874.
9. Anamthawat-Jónsson K., Karlsdóttir L., Þórsson A.T., Hallsdóttir M. Microscopical palynology: Birch woodland expansion and species hybridisation coincide with periods of climate warming during the Holocene epoch in Iceland. *J Microsc*. 2023;291(1): 128-141. doi: 10.1111/jmi.13175. Epub 2023 Feb 28. PMID: 36779661.
10. Сингатуллин И. К., Шайхразиев Ш. Ш., Глушко С. Г. Естественное возобновление березы повислой (*Betula pendula* Roth) в лесостепной зоне республики Татарстан. *Лесной вестник. Forestry Bulletin*. 2021;25(5): 14-21. doi: 10.18698/2542-1468-2021-5-14-21. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=47276762>.
11. Полиморфизм и биоразнообразие лесообразующих пород в искусственных и естественных насаждениях Центральной лесостепи : моногр. / И. Ю. Исаков, В. И. Михин, Г. С. Сидоров [и др.]. – Воронеж, 2021. – 158 с. – URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=48044502>.
12. Попов, В. К. Березовые леса Центральной лесостепи России. – Воронеж : Изд-во Воронеж. гос. лесотехн. академии. 2003. – 424 с. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=19505353>.

13. Михин В. И., Михина Е. А. Особенности формирования защитных насаждений из берёзы повислой в Центральной лесостепи России. Лесотехнический журнал. 2019;9(4): 41-49. – URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=41748521>.
14. Isakov I. Yu. The effect of a single inbreeding on the growth and development of fast-growing tree species, *Betula pendula* and *Betula pubescens*. IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci. 2021;875 012014. doi: 10.1088/1755-1315/875/1/012014.
15. Yancheva S., Kondakova V. Plant tissue culture technology: Present and future development. Bioprocessing of plant in vitro systems. Cham, Springer. 2018; 39-63. doi: 10.1007/978-3-319-54600-1_16.
16. Третьякова И. Н., Пак М. Э., Орешкова Н. В., Падутов В. Е. Регенерационная способность клеточных линий лиственницы сибирской в культуре *in vitro*. Известия Российской академии наук. Серия биологическая. 2022; 6: 585-596. DOI: 10.31857/S1026347022050195. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=49297220>.
17. Ветчинникова Л. В., Титов А. Ф. Карельская береза – уникальный биологический объект. Успехи современной биологии. 2019; 139(5): 419–433. DOI: 10.1134/S0042132419050107. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=39796762>.
18. Машкина О. С., Табацкая Т. М., Внукова Н. И. Технология долгосрочного хранения в культуре *in vitro* ценных генотипов березы и выращивание на ее основе посадочного материала. Биотехнология. 2019; 35(3): 57-67. doi: 10.21519/0234-2758-2019-35-3-57-67. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=38304525>.
19. Табацкая Т. М., Машкина О. С. Опыт длительного хранения коллекции ценных генотипов березы с использованием безгормональных питательных сред. Лесоведение. 2020; (2): 147-161. DOI: 10.31857/S0024114820020084. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=42414256>.
20. Sedgwick P. Spearman's rank correlation coefficient. BMJ Clinical Research. 2018; 349: g7327. DOI: 10.1136/bmj.g7327.
21. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with Tobacco tissue cultures. Physiol. Plantarum. 2018; 15(3): 473-497. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.
22. Машкина О. С., Табацкая Т. М. Оценка длительно культивируемых *in vitro* коллекционных клонов ивы по данным хромосомного анализа. Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2023;2: 46-53. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=54070178>.
23. Grodetzkaya T., Evlakov P., Isakov I., Padutov V. The effect of drought on the expression of stress resistance genes in perspective forms of birch / IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. International Forestry Forum "Forest ecosystems as global resource of the biosphere: calls, threats, solutions". 2020; 012039. DOI:10.1088/1755-1315/595/1/012039.
24. Tikhomirova T. S., Krutovsky K. V., Shestibratov K. A. Molecular traits for adaptation to drought and salt stress in birch, oak and poplar species. Forests. 2023;14(1). Pp. 7. DOI: 10.3390/f14010007.
25. Ветчинникова Л. В., Титов А. Ф. Влияние кадмия на геммо- и ризогенез карельской березы. Физиология растений. 2022; 69(4): 408-416. DOI: 10.31857/S0015330322040194. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48658983>.
26. Gailis A., Samsone I., Šēnhofa S. et al. Silver birch (*Betula pendula* Roth.) culture initiation *in vitro* and genotype determined differences in micropropagation. New Forests. 2021;52;5: 791-806. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11056-020-09828-9>.
27. Лебедев В. Г., Шестибратов К. А. Широкомасштабное клональное микроразмножение древесных лесных пород для закладки лесных плантаций // Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология : тезисы докладов XI Межд. конф. (23-27 сентября 2018, Минск, Беларусь). – Беларусь, 2018. – С. 126–127. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=36622494>.

References

1. Staniszewski P., Moskalik T., Bilek M., Szwerc W., Kocjan R., Tomusiak R., Osiak P. The effect of tree age, daily sap volume and date of sap collection on the content of minerals and heavy metals in silver birch (*Betula pendula* Roth) tree sap. PLOS ONE. 2020; 15(12). DOI: 10.1371/journal.pone.0244435.
2. Bona A., Kulesza U., Jadwiszczak K. A. Clonal diversity, gene flow and seed production in endangered populations of *Betula humilis* Schrk. Tree Genetics & Genomes. 2019;15;4: 50. – DOI: <https://doi.org/10.1007/s11295-019-1357-2>.
3. Medvedeva S.O., Cherepanova O.E., Tolkach O.V., Ponomarev V.I., Malosieva G.V. Dannye po izmenchivosti regiona ITS 1–2 yadernoy ribosomal'noy DNK *Betula turkestanica*, *B. tianschanica*, *B. procurva*. Leso-kozyaystvennaya informatsiya. 2023;2: 127–135. DOI 10.24419/LHI.2304-3083.2023.2.10 (in Russ.).
4. Bona A., Petrova G., Jadwiszczak K.A. Unfavourable habitat conditions can facilitate hybridisation between the endangered *Betula humilis* and its widespread relatives *B. pendula* and *B. pubescens*. Plant Ecology and Diversity. 2018;11(3):295-306. doi: 10.1080/17550874.2018.1518497.
5. Anamthawat-Jónsson K., Karlsdóttir L., Þórsson Æ.T., Jóhannsson M. H. Naturally occurring triploid birch hybrids from woodlands in Iceland are partially fertile. New Forests. 2021;52: 659–678. <https://doi.org/10.1007/s11056-020-09816-z>.
6. Zhang H., Ding J., Holstein N., Wang N. *Betula mcallisteri* sp. nov. (sect. *Acuminatae*, *Betulaceae*), a new diploid species overlooked in the wild and in cultivation, and its relation to the widespread *B. luminifera*. Front. Plant Sci. 2023; 14:1113274. doi: 10.3389/fpls.2023.1113274.
7. Belton S., Cubry P., Fox E., Kelleher C.T. Novel Post-Glacial Haplotype Evolution in Birch—A Case for Conserving Local Adaptation. Forests. 2021;12, 1246. <https://doi.org/10.3390/f120912>.
8. Anamthawat-Jónsson K. Hybrid introgression: the outcomes of gene flow in birch. Science Asia. 2019;45: 203–211. DOI: 10.2306/scienceasia1513-1874.
9. Anamthawat-Jónsson K., Karlsdóttir L., Þórsson A.T., Hallsdóttir M. Microscopical palynology: Birch woodland expansion and species hybridisation coincide with periods of climate warming during the Holocene epoch in Iceland. J Microsc. 2023;291(1):128-141. doi: 10.1111/jmi.13175. Epub 2023 Feb 28. PMID: 36779661.
10. Singatullin I.K., Shaikhraiev S.S., Glushko S.G. *Betula pendula* Roth natural regeneration in forest-steppe zone of Tatarstan republic. Forestry Bulletin. 2021;25(5): 14-21. DOI: 10.18698/2542-1468-2021-5-14-21 <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=47276762> (in Russ.).
11. Isakov I. Yu., Mikhin V. I., Sidorov G. S. et al. Polymorphism and biodiversity of forest-forming species in artificial and natural plantings of the Central forest-steppe: Monograph. Voronezh, 2021; 158 p. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=48044502> (in Russ.).
12. Popov V. K. Birch forests of the Central forest-steppe of Russia. Voronezh: Publishing House Voronezh. gos. lesotechn. academies. 2003; 424 p. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=19505353> (in Russ.).
13. Mikhin V. I., Mikhina E. A. Features of the formation of protective stands of silver birch in the Central forest-steppe of Russia. Forestry Engineering Journal. 2019; 9(4): 41-49. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=41748521> (in Russ.).
14. Isakov I. Yu. The effect of a single inbreeding on the growth and development of fast-growing tree species, *Betula pendula* and *Betula pubescens*. IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci. 2021;875 012014: DOI 10.1088/1755-1315/875/1/012014.
15. Yancheva S., Kondakova V. Plant tissue culture technology: Present and future development. Bioprocessing of plant in vitro systems. Cham, Springer. 2018; 39-63. DOI: 10.1007/978-3-319-54600-1_16.
16. Tretyakova I. N., Park M. E., Oreshkova N. V., Padutov V. E. The Regenerative Capacity of Siberian Larch Cell Lines In Vitro. Biology Bulletin. 2022. 49(6): 609-619. DOI: 10.31857/S1026347022050195. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=49297220> (in Russ.).

17. Vetchinnikova L. V., Titov A. F. Karel'skaya bereza – unikal'ny biologicheskiy ob'ekt. Uspehi sovremennoy biologii. 2019; 139(5): 419–433. (In Russ.). DOI: 10.1134/S0042132419050107. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=39796762>.
18. Mashkina O. S., Tabatskaya T. M., Vnukova N. I. Technologiya dolgosrochnogo hraneniya v kul'ture *in vitro* cennyh genotipov berezy i vyrashivaniye na ee osnove posadochnogo materiala // Biotechnologiya. 2019; 35(3): 57-67 (in Russ.). DOI: 10.21519/0234-2758-2019-35-3-57-67. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=38304525>.
19. Tabatskaya T. M., Mashkina O. S. Opyt dolgovremennogo hraneniya kollekcii cennyh genotipov berezy s ispol'zovaniem bezgormonal'nyh pitatel'nyh sred. Lesovedeniye. 2020; (2): 147-161 (in Russ.). DOI: 10.31857/S0024114820020084. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=42414256>.
20. Sedgwick P. Spearman's rank correlation coefficient. BMJ Clinical Research. 2014; 349: g7327. DOI: 10.1136/bmj.g7327.
21. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with Tobacco tissue cultures. Physiol. Plantarum. 2006; 15(3): 473-497. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.
22. Tabatskaya T. M., Mashkina O. S. Otsenka dlitel'no kul'tiviruemyh *in vitro* kollektionnyh klonov ivy po dannym chromosomnogo analiza. Vestnik Voronezhskogo Gosudarstvennogo Universiteta. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya. 2023;2: 46-53. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=54070178> (in Russ.).
23. Grodet'skaya T., Evlakov P., Isakov I., Padutov V. The effect of drought on the expression of stress resistance genes in perspective forms of birch / IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. International Forestry Forum "Forest ecosystems as global resource of the biosphere: calls, threats, solutions". 2020; C. 012039. DOI:10.1088/1755-1315/595/1/012039.
24. Tikhomirova T. S., Krutovsky K. V., Shestibratov K. A. Molecular traits for adaptation to drought and salt stress in birch, oak and poplar species. Forests. 2023;14(1). 7. DOI: 10.3390/f14010007.
25. Vetchinnikova L. V., Titov A. F. Effect of cadmium on gemmation and rhizogenesis in Karelian birch. Russian Journal of Plant Physiology. 2022; 69(4): 408-416. DOI: 10.31857/S0015330322040194 <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48658983>.
26. Gailis A., Samsone I., Šēnhofa S. et al. Silver birch (*Betula pendula* Roth) culture initiation *in vitro* and genotype determined differences in micropropagation. New Forests. 2021;52;5: 791-806. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11056-020-09828-9>.
27. Lebedev V. G., Shestibratov K. A. Large-scale clonal micropropagation of forest trees for short-rotation plantations // XI-th International conference «The biology of plant cells *in vitro* and biotechnology» (September 23–27, 2018, Minsk, Republic of Belarus). Belarus, 2018; 126-127 (in Russ.). URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=36622494>.

Сведения об авторах

✉ *Исаков Игорь Юрьевич* – кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры лесных культур, селекции и лесомелиорации ФГБОУ ВО «Воронежский государственный лесотехнический университет имени Г.Ф. Морозова», ул. Тимирязева, 8, г. Воронеж, Российская Федерация, 394087; e-mail: labgen@vglta.vrn.ru.

Табацкая Татьяна Михайловна – старший научный сотрудник отдела лесной генетики и биотехнологии ФГБУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики, селекции и биотехнологии», г. Воронеж, Российская Федерация; e-mail: tatyana.tabacky@gmail.com.

Внукова Наталья Ивановна – научный сотрудник отдела лесной генетики и биотехнологии ФГБУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики, селекции и биотехнологии», г. Воронеж, Российская Федерация; e-mail: natalya.vnuckova@yandex.ru

Машина Ольга Сергеевна – кандидат биологических наук, доцент кафедры генетики, цитологии и биоинженерии ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», ведущий научный сотрудник отдела

лесной генетики и биотехнологии ФГБУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики, селекции и биотехнологии», г. Воронеж, Российская Федерация; e-mail: mashkinaos@mail.ru.

Михин Вячеслав Иванович – доктор сельскохозяйственных наук, заведующий кафедрой лесных культур, селекции и лесомелиорации ФГБОУ ВО «Воронежский государственный лесотехнический университет имени Г.Ф. Морозова», ул. Тимирязева, 8, г. Воронеж, Российская Федерация, 394087; e-mail: Dr.Mikhin@yandex.ru.

Зоран Говедар – доктор лесных наук, действительный профессор, член-корреспондент Академии наук и искусств Республики Сербской, кафедра лесоводства, факультет лесного хозяйства Баня-Луки, Академия наук и искусств Республики Сербской, г. Баня-Лука, Республика Сербская/Босния и Герцеговина; e-mail: zoran.govedar@sf.unibl.org.

Information about the authors

✉ *Igor Yu. Isakov* – Candidate of Agricultural Sciences, Associate Professor of the Department of Forest Crops, Breeding and Forest Reclamation, Voronezh State University of Forestry and Technologies named after G.F. Morozov, Timiryazev str, 8, Voronezh, Russian Federation, 394087; e-mail: labgen@vglta.vrn.ru.

Tatiana M. Tabatskaya – Senior Researcher of Forest Genetics and Biotechnology Department, All-Russian Research Institute of Forest Genetics, Breeding and Biotechnology, Voronezh, Russian Federation; e-mail: tatyana.tabacky@gmail.com.

Natalya I. Vnukova – Researcher of Forest Genetics and Biotechnology Department; All-Russian Research Institute of Forest Genetics, Breeding and Biotechnology, Voronezh, Russian Federation; e-mail: natalya.vnuckova@yandex.ru.

Olga S. Mashkina – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Chair of Genetics, Cytology and Bioengineering, Voronezh State University, Leading Researcher of Forest Genetics and Biotechnology Department, All-Russian Research Institute of Forest Genetics, Breeding and Biotechnology, Voronezh, Russian Federation; e-mail: mashkinaos@mail.ru.

Vyacheslav I. Mikhin – Doctor of Agricultural Sciences, Head of the Department of Forest Crops, Breeding and Forest Reclamation, Voronezh State University of Forestry and Technologies named after G.F. Morozov, Timiryazev str., 8, Voronezh, Russian Federation, 394087; e-mail: Dr.Mikhin@yandex.ru.

Zoran Govedar – Doctor of Forestry Sciences, Full professor, Correspondence member of Academy of Science and Arts of the Republic of Srpska, Department of Silviculture, Faculty of Forestry Banja Luka, Academy of Science and Arts of the Republic of Srpska, Banja Luka, Republic of Srpska/Bosnia and Herzegovina, e-mail: zoran.govedar@sf.unibl.org.

✉ – Для контактов | Corresponding author