



DOI 10.21178/2079–6080.2020.4.4
УДК 630*232.13

Изменение экспрессии *CBL*-генов у генотипов тополя различных морфолого-систематических групп в условиях абиотического стресса

© С.Г. Ржевский, Т.А. Гродецкая, В.А. Царев, Т.П. Федулова

Changes in the expression of *CBL*-genes in poplar genotypes of various morphological and systematic groups under abiotic stress

S.G. Rzhovsky, T.A. Grodetzkaya, V.A. Tsarev, T.P. Fedulova (“All-Russian Research Institute of Forest Genetics, Breeding and Biotechnology”, Voronezh)

The study of the response to the impact of abiotic stress factors, conducted on genotypes of poplar belonging to different morphological and systematic groups is presented. Artificial modeling of salt and drought stress was performed. RNA was isolated from control and stress-affected samples, and then the expression of *CBL1* and *CBL2* genes was measured. It was found that the primers of transcription factors selected for the *Populus trichocarpa* species successfully amplify with other related poplar species and hybrids belonging to the same section and allow the expression level to be determined; however, for varieties and hybrids derived from white and black poplar, amplification gives a non-specific result. As a result, different responses of different poplar genotypes to drought and salinization were revealed. The analysis revealed a different response of individual poplar genotypes to drought and salinity. Changes in the expression of the *CBL1* and *CBL2* genes for the same genotypes also have a different character. Comparison of the response of the same genotypes to salinity and drought showed that a non-uniform result is observed for most of the samples. Different reactions of genes of the *CBL* family of selected genotypes in response to salt stress and drought, may be due to the genotypic features of varietal intrasectional and intersectional representatives. To identify general trends in the response of the considered genes to stress, needed further research, including the determination of changes in expression in dynamics.

Keywords: poplar, gene expression, *CBL1*, *CBL2*, salinity, drought

Изменение экспрессии *CBL*-генов у генотипов тополя различных морфолого-систематических групп в условиях абиотического стресса

С.Г. Ржевский, Т.А. Гродецкая, В.А. Царев, Т.П. Федулова

В данной работе представлено исследование реакции на воздействие абиотических стрессовых факторов, проведенное на генотипах тополя, принадлежащих к различным морфолого-систематическим группам. Осуществлено искусственное моделирование солевого стресса и засухи. Из контрольных и подвергнутых стрессовому воздействию образцов выделялась РНК, далее было проведено измерение экспрессии генов *CBL1* и *CBL2*. Установлено, что праймеры факторов транскрипции, подобранные к виду *Populus trichocarpa*, успешно дают амплификацию с другими видами и гибридами тополя, относящимися к той же секции, и позволяют определять уровень экспрессии, однако, для сортов и гибридов, производных от тополя белого и черного, амплификация дает не специфичный результат. В результате анализа выявлена различная реакция разных генотипов тополя на засуху и засоление. Изменение экспрессии генов *CBL1* и *CBL2* для одних и тех же генотипов также имеет разный характер. Сравнение реакции отдельных генотипов на засоление и засуху показало, что для большинства образцов наблюдается не единообразный результат. Различная реакция генов семейства *CBL* отобранных генотипов в ответ на воздействие солевого стресса и засухи может быть обусловлена генотипическими особенностями сортовых представителей как внутри одной секции, так и между разными секциями. Для выявления общих тенденций реагирования рассматриваемых генов на стрессовое воздействие необходимо дальнейшее исследование, включающее определение изменения экспрессии в динамике, а также подбор специфичных праймеров к сортам и гибридам тополя, относящимся к различным секциям рода.

Ключевые слова: тополь, экспрессия гена, *CBL1*, *CBL2*, засоление, засуха

Ржевский Станислав Геннадьевич – младший науч. сотр. лаборатории биохимии, молекулярной генетики и физиологии растений

E-mail: slavaosin@yandex.ru

Гродецкая Татьяна Александровна – младший науч. сотр. лаборатории биотехнологии

Федулова Татьяна Петровна – ведущий науч. сотр., д-р биол. наук

Царев Вадим Анатольевич – старший науч. сотр. лаборатории селекции, канд. с.-х. наук

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

394000, Воронеж, ул. Ломоносова, 105

E-mail: ilgis@lesgen.vrn.ru

Введение

Тополь является одним из быстрорастущих древесных видов, широко распространенных в умеренном поясе России и других стран. Интерес к данной культуре обусловлен востребованностью в различных отраслях промышленности, использованием в защитных, озеленительных и рекреационных целях [4]. Для получения высококачественного сырья необходимо применение улучшенного сортового посадочного материала [8].

Для успешного лесоразведения тополя необходимо знать такие качества его культиваров, как устойчивость к биотическим и абиотическим факторам окружающей среды. Подобные исследования проводятся либо в результате многолетнего сортоиспытания в различных почвенно-климатических условиях среды [3, 7], либо в лабораторных условиях путем создания искусственно моделируемого стресса. В полевых условиях определяемыми параметрами являются рост, сохранность и продуктивность, а в лабораторных условиях основными изучаемыми характеристиками — физиологические показатели, уровни биохимических маркеров, а также изменение экспрессии ключевых метаболических генов.

Для анализа уровня экспрессии различных генов применяется количественная ПЦР, которая в реальном времени является надежным методом измерения количества мРНК. В настоящее время механизмы устойчивости древесных растений к внешним воздействиям остаются малоизученными, однако результаты многочисленных исследований показывают наличие достоверных изменений в экспрессии генов, ассоциированных с развитием стрессового ответа на воздействие абиотических и биотических факторов [14, 15].

Осмотическая регуляция в растительных организмах связана с транспортом ионов K^+ и Na^+ . В дополнение к системе транспортировки ионов в них имеется сеть путей передачи сигналов, с помощью которых они адаптируются к воздействию солевой нагрузки окружающей среды. Кальций — зависимый меха-

низм является важным звеном в регуляции ионного гомеостаза растений [13]. Ион кальция служит для передачи «сигналов критического состояния» во многих процессах адаптации и развития. Клеточные кальциевые сигналы обнаруживаются и передаются чувствительными молекулами, такими как кальций-связывающие белки. У растений семейство кальциневрин-подобного белка (*CBL*) представляет собой уникальную группу сенсоров, где кальций играет ключевую роль, специфически взаимодействуя и регулируя функционирование протеинкиназ (*CIPKs*). Семейство *CBL* содержит несколько белков, активность которых, по-видимому, направлена на модификацию плазматической мембраны. Его представители обладают консервативной структурой, проявляя сходство до 96 % у различных белков [16].

В растениях сигналы от окружающей среды, такие как высокое содержание соли, холод, недостаточное питание и присутствие фитогормонов, вовлекают кальций в качестве сигнального промежуточного звена. Генетические исследования мутантов *CBL* и *CIPKs* показали, что эти белки являются важными регуляторами реакций на стресс. Установлено, что комплексы *CBL/CIPKs* воздействуют на нижестоящие мишени, такие как ионные каналы и транспортеры, и тем самым обеспечивают выживание растений в неблагоприятных условиях [10].

Исследования генов, продуцирующих белки семейства *CBL*, проводились и на представителях вида *Populus*. Так, анализ транскриптов *CBL Populus euphratica* (азиатского соле- и засухоустойчивого вида) в условиях абиотического стресса позволяет предположить, что семь членов семейства генов *CBL* (*PeCBL1*, 2, 3, 4, 5, 9 и 10) могут играть важную роль в механизмах адаптации в соответствии со специфическими внешними стимулами. *CBL1* экспрессируется в ответ на засуху, засоление, холод и ранение [16].

Целью данной работы являлось исследование стрессовой реакции генотипов тополя различных морфолого-систематических

групп путем измерения экспрессии генов *CBL1* и *CBL2* в условиях засухи и засоления. Для достижения данной цели были поставлены задачи по искусственному моделированию абиотических стрессовых воздействий и оценки их влияния на экспрессию данных генов.

Объекты и методы исследования

Для проведения опытов по оценке стрессоустойчивости на коллекционно-маточной

плантации, созданной на территории лесопаркового участка ФГБУ «ВНИЛГИСбиотех» [6, 7] в конце января при температуре воздуха около -10°C были отобраны образцы верхушечных побегов тополя, включая новые сорта селекции «ВНИЛГИСбиотех» [5]. Для опыта и контроля были взяты фрагменты с 6 побегов каждого культивара длиной по 20 см. Всего в исследование были включены 8 различных культиваров тополя, принадлежащих к 5 морфолого-систематическим группам (табл. 1).

Таблица 1

Характеристика отобранных стеблевых черенков тополя

Наименование тополя	Происхождение (родительские пары)	Автор гибрида (сорта)
I – Белые тополя с пирамидальной формой кроны		
‘Ведуга’	Сорт белых тополей (<i>P. alba</i> L. × <i>P. bolleana</i> Lauche)	А.П. Царев
‘Болид’	Сорт белых тополей (<i>P. alba</i> L. × <i>P. bolleana</i> Lauche)	А.П. Царев
II – Черные тополя с пирамидальной формой кроны		
‘ПОК’	Гибрид черных тополей (<i>P. pyramidalis</i> Roz. × <i>P. nigra</i> L.)	А.В. Альбенский
III – Черные тополя с раскидистой формой кроны		
‘Сакрау-59’	Евро-американский спонтанный гибрид (<i>P. × euramericana</i> (Dode) Guinier cv. ‘Sacrau-59’)	–
IV – Бальзамические тополя		
китайский	Вид – <i>Populus simonii</i> Carr.	–
волосистоплодный	Вид – <i>Populus trichocarpa</i> Torr. Et Gray	–
Максимовича	Вид – <i>Populus maximowiczii</i> Henry	–
V – Межсекционные гибриды		
‘Ивантеевский’	Сложный гибрид (<i>P. suaveolens</i> Fisch. × <i>P. berolinensis</i> Dipp.)	А.С. Яблоков

Контрольные образцы тополя (ветки с распустившимися в процессе лабораторного отращивания листьями, каждого образца – по три экземпляра) находились в воде, опытные – в растворе 0,2М NaCl. Отбор проб осуществлялся при постановке эксперимента, далее – через 6 ч после постановки.

Для исследования влияния обезвоживания контрольные образцы 9 культиваров тополя

были высажены в кассеты с грунтом, контрольные экземпляры поливались с периодичностью раз в три дня, опытные были оставлены без полива. Отбор проб производился при постановке эксперимента, далее – через 6 дней.

Выделение РНК из исследуемых образцов выполнялось стандартным фенол-хлороформным способом [1]. Проверка концентрации выделенной РНК была проведена при

помощи флюориметра «Qubit 2.0» с использованием стандартного набора реактивов «Qubit RNA BR AssayKit». Оценка качества выделенной РНК была проведена путем электрофоретической визуализации в 1 % агарозном геле с применением ТАЕ-буфера (содержащем ТРИС, ЭДТА и ацетат натрия).

Далее на матрице выделенной РНК были приготовлены препараты кДНК с использованием реакции обратной транскрипции, про-

веденной в ПЦР-амплификаторе со стандартным набором реактивов, содержащим ревертазу (Диаэм, Россия).

Полученные препараты кДНК использовались для проведения ПЦР. В качестве красителя использовался SYBR Green I в составе стандартной ПЦР-смеси. Амплификация гена 18S субъединицы рибосом, взятого в роли нормализатора реакции, проводилась со специфическими праймерами (табл. 2).

Таблица 2

Нуклеотидные последовательности праймеров исследуемых генов

Ген	Последовательность нуклеотидов (5'→3')
<i>CBL1</i>	F: GTTCCGTGGTTGATGATGGG R: CGCTCAATGAATCCCGTGTT
<i>CBL2</i>	F: TGTGGGATTGGCTAGCAGAA R: ATCATCAATCACGGCACTGC
<i>18S</i>	F: GGCTCTGCCCGTTGCTCT R: CGTCACCCGTCACCACCA

Поскольку последовательности *CBL* генов обладают консервативным строением, были подобраны универсальные праймеры на основе сравнения генов *CBL1* и *CBL2* различных культиваров тополя, представленных в базе данных NCBI.

Оптимизация температуры отжига проводилась при помощи градиентной ПЦР с диапазоном температур 55–63 °С, качество продуктов проверялось с помощью электрофореза, в итоге было отдано предпочтение температуре 63 °С. Окончательный протокол ПЦР-реакции составлял 38 циклов со следующими параметрами: 94 °С – 3 мин, 94 °С – 30 с, 63 °С – 30 с, 72 °С – 30 с, а также финальная элонгация: 72 °С – 3 мин. Уровень относительной экспрессии исследуемых генов определялся с применением 2-ΔΔCt-метода с использованием программного обеспечения CFX Manager (Bio-Rad, США).

Результаты и их обсуждение

Измерение экспрессии метаболических генов у контрольных и подвергнутых засоле-

нию образцов тополя показало наличие изменений относительных уровней транскрипции (рис. 1).

Однако электрофоретическая оценка продуктов амплификации продемонстрировала, что далеко не со всеми из задействованных в данном исследовании генотипов используемые праймеры дают четкие, специфические продукты амплификации. По причине проявления неспецифического отжига праймеров были отбракованы результаты амплификации 4 из 8 исследованных генотипов. В качестве достоверных рассматривались данные оценки уровней экспрессии по четырем следующим генотипам: тополь волосистоплодный, тополь Максимовича, тополь китайский и 'тополь Ивантеевский'. Следует отметить, что виды тополь китайский, тополь волосистоплодный и тополь Максимовича относятся к одной секции бальзамических тополей и, по-видимому, имеют сходное строение исследуемых генов. Что касается сорта 'тополь Ивантеевский', он является гибридом тополя душистого *P. suaveolens* Fisch, также

входящего в данную секцию. В то же время, гибриды, производные от тополя белого и тополя черного, дают с данными праймерами

результаты амплификации, которые, по всей видимости, не могут служить для достоверной оценки уровней экспрессии.

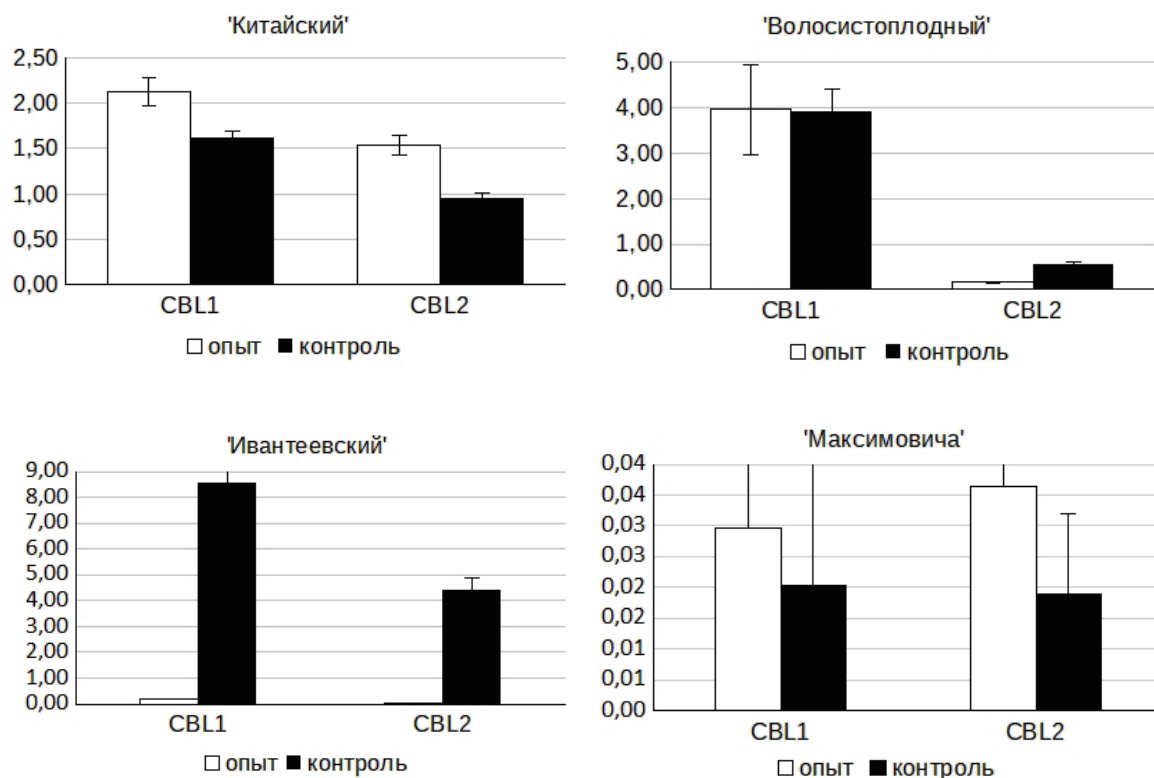


Рис. 1. Экспрессия генов *CBL1*, *CBL2*, *CBL9* у контрольных и подвергнутых засолению образцов тополя (по вертикали – относительный уровень транскриптов, ед.)

Полученные результаты показывают, что различные генотипы тополя по-разному реагируют на солевой стресс. Изменение экспрессии генов *CBL1* и *CBL2* для одних и тех же генотипов также имеет разный характер. Так, у одних образцов ('тополь Ивантеевский') после стрессового воздействия наблюдается снижение экспрессии всех рассматриваемых генов, у других (тополь китайский, тополь Максимовича) – экспрессия данных генов несколько повышается, для тополя волосистоплодного обнаруженная разница незначительна.

Полученные данные следует сравнить с результатами оценки изменения экспрессии вследствие воздействия засухи, представленными на рисунке 2.

Анализ результатов оценки уровней экспрессии в данном эксперименте также показывает разные типы реакции на воздействие засухи. У опытных образцов тополя волосистоплодного экспрессия рассматриваемых генов понизилась, для экземпляров тополя Максимовича и тополя китайского после стрессового воздействия экспрессия обоих генов повысилась. Для тополя 'Ивантеевский' выявленные различия имели незначительный характер.

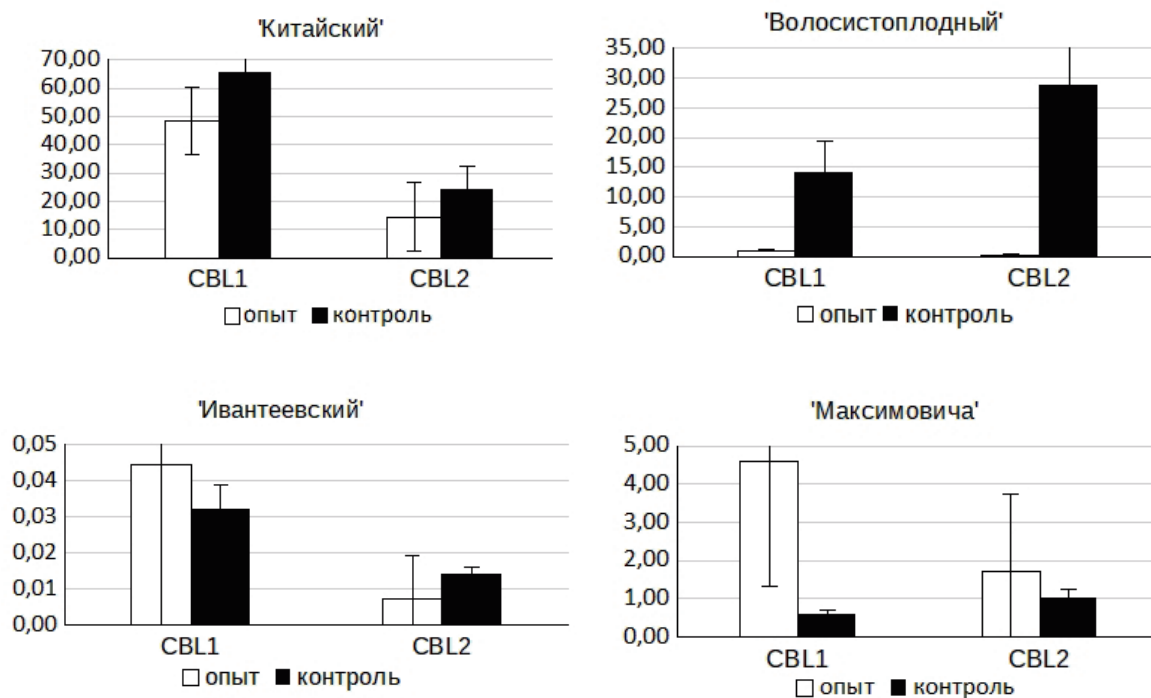


Рис. 2. Экспрессия генов *CBL1*, *CBL2*, *CBL9* у контрольных и подвергнутых засухе образцов тополя (по вертикали – относительный уровень транскриптов, ед.)

Для оценки механизмов реакции транскриптома на воздействие абиотических стрессовых факторов следует сравнить паттерны реагирования одних и тех же образцов тополя на засоление и засуху. В данном случае среди генотипов, продемонстрировавших специфичный отжиг используемых праймеров, повторяющийся паттерн реакции можно выявить у тополя китайского и тополя Максимовича, однако в опыте с засолением повышение экспрессии *CBL1*, *CBL2* было незначительным, что не позволяет сделать однозначных выводов.

Стоит отметить, что экспрессия рассматриваемых генов может меняться в динамике. В данном исследовании были выбраны наиболее распространенные в подобных опытах контрольные точки: 6 часов для засоления и 6 дней для засухи. Есть сведения, что при холодовом воздействии экспрессия *PeCBL1*, *PeCBL2*, *PeCBL9* (генов *P. euphratica* (Olivier) Dode) достигала максимума через 24 ч. При

создании засухи уровни экспрессии *PeCBL1*, *PeCBL2*, *PeCBL3*, *PtCBL5* и *PeCBL9* достигли максимума через 6 часов, тогда как для *PeCBL4* и *PeCBL10* становились максимальными через 3 часа. При обработке солью экспрессия *PeCBL1*, *PeCBL4* и *PeCBL9* достигла максимума через 12 часов, тогда как для *PeCBL2*, *PeCBL3* и *PtCBL5* понадобилось 3 часа [17].

Очевидно, что неединообразная реакция «стрессовых» генов, выявленная в рассматриваемых экспериментах, является далеко не исключительной ситуацией. Ранее выполненное нами исследование влияния холодового стресса на экспрессию генов *DREB2* а также *NAC36* и *NAC34*, в котором использовались образцы тополя 'ПОК' и тополя китайского, также показали существенную разницу в реакции на стресс, как между генотипами, так и для родственных генов внутри одного генотипа [2].

Результаты данной работы выявили дифференциальную экспрессию генов *CBL1* и

CBL2 у исследуемых генотипов тополя. Семейство кальциневрин-белков насчитывает большое количество представителей, формируя сложную метаболическую сеть, способствующую развитию комплексного ответа на различные стрессовые воздействия. Увеличение экспрессии *CBL1* и/или *CBL2* у образцов тополя свидетельствует о развитии стрессового ответа на воздействие засухи и засоления, проявляющегося в активации кальций-связывающих белков, способных регулировать экспрессию различных генов. Наличие большого числа представителей кальциневрин-белков и их дифференциальная экспрессия могут свидетельствовать о вовлечении других представителей семейства *CBL* в развитие стрессового ответа [11, 12].

Выводы

Подводя итоги данного исследования, можно сделать следующие выводы.

1. Установлено, что праймеры факторов транскрипции, подобранные к виду *Populus trichocarpa*, успешно дают амплификацию с другими видами и гибридами тополя, принадлежащими к той же секции, в частности с тополем китайским, тополем Максимовича и

гибридом 'тополь Ивантеевский', и позволяют определять их уровень экспрессии. Однако в случае других гибридов, произведенных от тополя белого и тополя черного, наблюдается образование неспецифичных продуктов.

2. У разных генотипов тополя в обоих экспериментах изменение экспрессии факторов транскрипции *CBL1* и *CBL2* имеет различный характер.

3. Экспрессия *CBL1* и *CBL2* у одних и тех же генотипов (при сравнении между генами) в сходных условиях также меняется различным образом.

Примененный в данном исследовании метод можно использовать для исследования физиологических особенностей широкого спектра представителей вида *Populus*. Разница в обнаруженной реакции на стресс различных образцов тополя может быть обусловлена генотипическими особенностями сортовых представителей внутри одной секции и между разными секциями. Однако для выявления общих тенденций реагирования рассматриваемых генов на стрессовое воздействие необходимо дальнейшее исследование, включающее определение изменения экспрессии в динамике.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Епринцев, А.Т. Идентификация и исследование экспрессии генов: Учебно-методическое пособие для вузов / А.Т. Епринцев, В.Н. Попов, Д.Н. Федорин. – Воронеж: Издательско-полиграфический центр Воронежского государственного университета, 2008. – С. 3–15.
2. Ржевский, С.Г. Влияние холодового стресса на экспрессию генов факторов транскрипции у селекционно-ценных генотипов тополя / С.Г. Ржевский, Т.А. Гродецкая, П.М. Евлаков, Т.П. Федулова // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2019. – № 4. – С. 67–73.
3. Царев, А.П. Динамика сохранности и продуктивности настоящих тополей при испытании в условиях умеренного климата / А.П. Царев, Р.П. Царева, В.А. Царев // Информационный вестник ВОГиС. – 2010. – Т. 14. – № 2. – С. 255–264.
4. Царев, А.П. Многообразие использования древесины тополей / А.П. Царев // Известия высших учебных заведений. Лесной журнал. – 2018. – № 5 (365). – С. 48–64.
5. Царев, А.П. Новые сорта тополей Всероссийского НИИ лесной генетики, селекции и биотехнологии / А.П. Царев, Р.П. Царева, В.А. Царев // Биотехнология, генетика, селекция в лесном и сельском хозяйстве, мониторинг экосистем: Материалы международной научно-технической конференции 21–22 июня 2017 г. – 2017, – Воронеж: ООО «Издательство РИТМ». – С. 229–234.

6. Царев, А.П. Рост однолетних побегов в специализированной коллекционно-маточной плантации тополей / А.П. Царев, Р.П. Царева, В.А. Царев // Повышение эффективности лесного комплекса: Материалы третьей Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Петрозаводский Гос. Университет. – Петрозаводск: изд-во ПетрГУ, 2017. – 299 с.
7. Царев, А.П. Селекция и сортоиспытание тополей: монография / А.П. Царев, Ю.В. Плугатарь, Р.П. Царева, под общ. ред. А.П. Царева. – Симферополь: ИТ “АРИАЛ”, 2019. – 252 с.
8. Царев, А.П. Сортоведение тополя: монография / А.П. Царев. – Воронеж: Издательство ВГУ, 1985. – 152 с.
9. Царев, В.А. Ювенилизация хозяйственно ценных генотипов тополей и их репродуктивная способность в ЦЧР / В.А. Царев // Тезисы докладов Международного конгресса «VII съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров (ВОГиС), посвященный 100-летию кафедры генетики СПбГУ и ассоциированные симпозиумы» в г. Санкт-Петербурге 18–22 июня 2019 г. – Санкт-Петербург: СПбГЛТУ. – 2019. – С. 892.
10. Batistič, O. Plant calcineurin B-like proteins and their interacting protein kinases / O. Batistič, J. Kudla // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Cell Research*. – 2009. – vol. 1793. – № 6. – P. 985–992.
11. Ma, T. Genomic insights into salt adaptation in a desert poplar / T. Ma, J. Wang, G. Zhou et al. // *Nature communications*. – 2013. – Vol. 4. – No. 1. – P. 1–9.
12. Ma, X. The *CBL–CIPK* Pathway in Plant Response to Stress Signals / X. Ma, Q.H. Li, Y.N. Yu, Y.M. Qiao, Z.H. Gong // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2020. – Vol. 21. – No. 16. – P. 5668.
13. Tang, R.J. Poplar calcineurin B-like proteins *PtCBL10A* and *PtCBL10B* regulate shoot salt tolerance through interaction with *PtSOS2* in the vacuolar membrane / R.J. Tang, Y. Yang, L. Yang, H. Liu, C.T. Wang, M.M. Yu, H.X. Zhang // *Plant, cell & environment*. – 2014. – Vol. 37. – No. 3. – P. 573–588.
14. Wang, J. *PvNAC1* increases biomass and enhances salt tolerance by decreasing Na⁺ accumulation and promoting ROS scavenging in switchgrass (*Panicum virgatum* L.) / J. Wang, L. Zhang, X. Wang, L. Liu, X. Lin, W. Wang, Y. Zhang // *Plant science*. – 2019. – Vol. 280. – P. 66–76.
15. Wang, L. Differentially expressed genes in *Populus simonii* × *Populus nigra* in response to NaCl stress using cDNA-AFLP / L. Wang, B. Zhou, L. Wu, B. Guo, T. Jiang // *Plant science*. – 2011. – Vol. 180. – No. 6. – P. 796–801.
16. Zhang, H. Calcineurin B-Like family in *Populus*: comparative genome analysis and expression pattern under cold, drought and salt stress treatment / H. Zhang, W. Yin, X. Xia // *Plant Growth Regulation*. – 2008. – Vol. 56. – No. 2. – C. 129–140.
17. Zhang, H. The calcium sensor PeCBL1, interacting with PeCIPK24/25 and PeCIPK26, regulates Na⁺/K⁺ homeostasis in *Populus euphratica* / H. Zhang, L. Fuling, H. Xiao, X. Xinli, Y. Weilun // *Plant cell reports*. – 2013. – Vol. 32. – No. 5. – P. 611–621.

REFERENCES

1. Eprintsev A.T., Popov V.N., Fedorin D.N. Identifikatsiya i issledovanie ekspressii genov: Uchebno-metodicheskoe posobie dlya vuzov. Voronezh, 2008, pp. 3–15. (In Russian)
2. Rzhhevskij S.G., Grodeckaja T.A., Evlakov P.M., Fedulova T.P. Vlijanie holodovogo stressa na jekspressiju genov faktorov transkripcii u selekcionno-cennyh genotipov topolja. *Vestnik voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Serija: Himija. Biologija. Farmacija*, 2019, no. 4, pp. 67–73. (In Russian)
3. Tsarev A.P., Tsareva R.P., Tsarev V.A. Dynamyka sokhrannosty y produktyvnosty nastoiashchyx topolei pry ispytanii v uslovyakh umerennoho klymata. *Vestnyk-VOHyS*, 2010, vol. 14, no. 2, pp. 255–264. (In Russian)

4. Tsarev A.P. Многообразие испол'зования древесины тополеi. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedenii. Lesnoi zhurnal*, 2018, no. 5 (365), pp. 48–64. DOI: 10.17238/issn0536-1036.2018.5.48. (In Russian)
5. Tsarev A.P., Tsareva R.P., Tsarev V.A. Novye sorta topolei Vserossiiskogo NII lesnoi genetiki, selektsii i biotekhnologii. *Biotekhnologiya, genetika, selektsiya v lesnom i sel'skom khozyaistve, monitoring ekosistem, Materialy mezhdunarodnoi nauchno-tekhnicheskoj konferentsii 21–22 iyunya 2017*, Voronezh, pp. 229–234. (In Russian)
6. Tsarev A.P., Tsareva R.P., Tsarev V.A. Rost odnoletnikh pobegov v spetsializirovannoi kollekcijno-matochnoi plantatsii topolei. *Povyshenie effektivnosti lesnogo kompleksa: Proceedings of the 5th All-Russian Scientific and Practical Conference with international participation*. Petrozavodsk, 2017, 299 p. (In Russian)
7. Tsarev A.P., Plugatar' Yu.V., Tsareva R.P. Selekcziya i sortoispytanie topolei: monografiya [Ed. by A.P. Tsarev]. Simferopol', 2019, 252 p. (In Russian)
8. Tsarev A.P. Sortovedenie topolya (monografija). Voronezh, 1985, 152 p. (In Russian)
9. Tsarev V.A. Yuvenilizatsiya khozyaistvenno-tsennykh genotipov topolei i ikh reproduktivnaya sposobnost' v TsChR. *Tezisy dokladov Mezhdunarodnogo kongressa "VII S"ezd Vavilovskogo Obshchestva Genetikov I Selekcijnerov (VOGiS), posvyashchennyi 100-letiyu kafedry genetiki SPbGU i assotsirovannye simpoziumy" v g. Sankt-Peterburg 18–22 iyunya 2019*. St. Petersburg, SPbGLTU, 2019, p. 892. (In Russian)
10. Batistič O., Kudla J. Plant calcineurin B-like proteins and their interacting protein kinases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Cell Research*, 2009, vol. 1793, no. 6, pp. 985–992.
11. Ma T., Wang J., Zhou G., Yue Z., Hu Q., Chen Y., Liu B., Qiu Q., Wang Z., Zhang J., Wang K., Jiang D., Gou C., Yu L., Zhan D., Zhou R., Luo W., Ma H., Yang Y., Pan S., Fang D., Luo Y., Wang X., Wang G., Wang J., Wang Q., Lu X., Chen Z., Liu J., Lu Y., Yin Y., Yang H., Abbott R.J., Wu Y., Wan D., Li J., Yin T., Lascoux M., Difazio S.P., Tuskan G.A., Wang J., Liu J. Genomic insights into salt adaptation in a desert poplar. *Nature communications*, 2013, vol. 4, no. 1, pp. 1–9.
12. Ma X., Li Q.H., Yu Y.N., Qiao Y.M., Gong Z.H. The *CBL*–*CIPK* Pathway in Plant Response to Stress Signals. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, vol. 21, no. 16, p. 5668.
13. Tang R.J., Yang Y., Yang L., Liu H., Wang C.T., Yu M.M., Zhang H.X. Poplar calcineurin B-like proteins *PtCBL10A* and *PtCBL10B* regulate shoot salt tolerance through interaction with *PtSOS2* in the vacuolar membrane. *Plant, cell & environment*, 2014, vol. 37, no. 3, pp. 573–588.
14. Wang J., Zhang L., Wang X., Liu L., Lin X., Wang W., Zhang Y. PvNAC1 increases biomass and enhances salt tolerance by decreasing Na⁺ accumulation and promoting ROS scavenging in switchgrass (*Panicum virgatum* L.). *Plant science*, 2019, vol. 280, p. 66–76.
15. Wang L., Zhou B., Wu L., Guo B., Jiang T. Differentially expressed genes in *Populus simonii* × *Populus nigra* in response to NaCl stress using cDNA-AFLP. *Plant science*, 2011, vol. 180, no. 6, pp. 796–801.
16. Zhang H., Yin W., Xia X. Calcineurin B-Like family in *Populus*: comparative genome analysis and expression pattern under cold, drought and salt stress treatment. *Plant Growth Regulation*, 2008, vol. 56, no. 2, pp. 129–140.
17. Zhang H., Fuling L., Xiao H., Xinli X., Weilun Y. The calcium sensor *PeCBL1*, interacting with *PeCIPK24/25* and *PeCIPK26*, regulates Na⁺/K⁺ homeostasis in *Populus euphratica*. *Plant cell reports*, 2013, vol. 32, no. 5, pp. 611–621.

Статья поступила в редакцию 26.08.2020