

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»

МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Медико-профилактический факультет с отделением микробиологии
Кафедра фундаментальной и прикладной микробиологии

На правах рукописи



Ибатуллина Гульназ Флюоровна

**СПОСОБНОСТЬ К КАЛЛУСООБРАЗОВАНИЮ РАСТЕНИЙ
СЕМЕЙСТВА ПАСЛЁНОВЫЕ**

Научный руководитель:

кандидат биологических наук,

доцент кафедры ФПМ



Хакимова Л.Р.

Уфа – 2023

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	6
1. Растения, как биофабрики	6
1.1. Растения как биофабрики для производства продуктов питания, лекарств и материалов для настоящей зеленой революции.....	6
1.2. Трансгенные растения.....	11
1.2.1. Временная экспрессия в растениях.....	13
1.2.2. Съедобные вакцины.....	14
1.3. <i>Nicotiana tabacum</i> L. – табак обыкновенный.....	17
1.4. <i>Solanum melongena</i> L. – баклажан.....	21
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	24
2.1. Объекты исследования.....	24
2.2. Составы использованных стандартных водных растворов и сред	24
2.3. Стерилизация листьев растений табака.....	26
2.4. Стерилизация семян растений баклажана.....	26
2.5. Получение каллусов на растениях баклажана.....	27
2.6. Статистический анализ.....	27
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	28
3.1. Описание сортов растений табака (<i>N. tabacum</i>) и баклажанов (<i>S. melongena</i>).....	28

3.2. Каллусогенез у растений табака (<i>N. tabacum</i>) <i>in vitro</i>	31
3.3. Каллусогенез у разных сортов <i>N. tabacum</i>	36
3.4. Каллусогенез у растений баклажана (<i>S. melongena</i>) <i>in vitro</i>	37
3.4.1. Концентрации гормонов для регенерационных сред.....	37
3.4.2. Каллусогенез <i>S. melongena</i> на среде МС I.....	38
3.4.3. Каллусогенез <i>S. melongena</i> на среде МС II.....	43
3.4.4. Каллусогенез <i>S. melongena</i> на среде МС III.....	45
3.4.5. Каллусогенез <i>S. melongena</i> на среде МС IV.....	49
3.4.6. Каллусогенез <i>S. melongena</i> на среде МС V.....	51
3.5. Анализ каллусогенеза у растений баклажана.....	53
Выводы	55
Заключение.....	56
Список литературы	57

ВВЕДЕНИЕ

Растения являются эффективной и недорогой альтернативой для производства рекомбинантного белка, минимизируя риск заражения человека патогенами и максимизации потенциала для крупномасштабного производства целевых метаболитов. В связи с этим большой интерес представляет создание трансгенных растений, которые бы синтезировали необходимые активные вещества. Для этого, в частности, используются растения из семейства Пасленовых. Одним из их представителей является растения табака (*Nicotiana tabacum* L.), которые имеют уникальную способность к быстрому и эффективному каллусообразованию. Существуют много работ, где первоначальное изучение изменений биохимических и физиологических параметров после генно-инженерных манипуляций в растениях рассматриваются именно на растениях табака, то есть данные растения выступают как модельная система.

Кроме того, интерес представляют и другие овощные культуры из семейства Пасленовые. Например, баклажан *Solanum melongena* L. является экономически значимым овощем во всем мире. В настоящее время интерес представляет направление в селекции, чтобы выводить новые сорта баклажанов с улучшенными качествами плодов, повышении урожайности и интродукции устойчивости к вредителям.

Цель: изучить способность растений семейства Паслёновые к регенерации с помощью листовых и семядольных эксплантов.

Задачи:

1. Изучение способности к каллусообразованию у растений табака *Nicotiana tabacum* L. сортов Вирджиния 202, Юбилейный новый 142, Махорка и Блэк Джек с помощью листовых эксплантов.
2. Исследование образования каллусов у растений баклажанов *Solanum melongena* L. с помощью семядольных эксплантов и гипокотилей на регенерационных средах с разным гормональным составом.

3. Подбор оптимальных концентраций гормонов для регенерации эксплантов *in vitro* и анализ полученных данных.

Практическая значимость. В нашем исследовании подобраны два сорта табака курительного – Вирджиния 202 и Блэк Джек, которые возможно использовать в исследованиях *in vitro*. Это дает возможность расширить спектр используемых сортов, которые хорошо адаптируются к росту *in vitro* и в лабораторных условиях.

В настоящее время интерес представляет направление в селекции, чтобы выводить новые сорта баклажанов с улучшенными качествами плодов, повышении урожайности и интродукции устойчивости к вредителям и болезням от диких сородичей, поэтому увеличение эффективности каллусогенеза является очень актуальным и перспективным вопросом.

Область применения результатов исследования. *In vitro* исследования по созданию трансгенных растений с нужными, хозяйственно полезными качествами.

Апробация результатов. Участие во Всероссийской конференции с международным участием «Геномика и биотехнология для медицины и сельского хозяйства», 30 ноября - 1 декабря 2022, г. Уфа.

Публикации:

Хакимова Л.Р., Ибатуллина Г.Ф., Вершинина З.Р. Каллусообразование у растений табака *Nicotiana tabacum* L. разных сортов // Сборник материалов Всероссийской научной конференции с международным участием, посвященной 60-летию Института биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра РАН. 2022. С. 125-126.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1. Растения, как биофабрики

1.1. Растения – биофабрики для производства продуктов питания, лекарств и других полезных веществ для человека

Правильное питание является основой здорового образа жизни; по данным ВОЗ, примерно 1/3 сердечно-сосудистых заболеваний и раковых образований можно избежать при сбалансированном и здоровом питании (Zarrelli, 2022). Например, многочисленные исследования *in vitro* и *in vivo* показали, что потребление плодов черноплодной рябины (*Aronia melanocarpa* L.) связано со значительным улучшением показателей артериальной гипертензии, окисления ЛПНП (липопротеинов низкой плотности), перекисного окисления липидов, общей антиоксидантной способности плазмы и дислипидемии (Kasprzak-Drozd et al., 2021).

Растения всегда были источниками полезных веществ для человека. В истории фармакологии так называемые лекарственные растения использовались из-за их терапевтического эффекта. Неслучайно, что 5 % лекарств на основе малых молекул являются натуральными продуктами (~850 из тех, что в настоящее время представлены на рынке), 27 % получены из натуральных продуктов и 31 % - синтетические продукты, вдохновленные натуральными продуктами (остальные 37 % - чисто синтетические продукты) (Harvey et al., 2015). Эти данные указывают на то, что молекулы природного происхождения обладают физико-химическими структурами, подходящими для взаимодействия с клеточными мишенями, представляющими фармакологический интерес. Известные примеры включают винкристин, алкалоид, экстрагированный из листьев *Catharanthus vinca*, обладающий высокоэффективной противоопухолевой активностью, и артемизинин, сесквитерпен,

экстрагированный из листьев *Artemisia annua*, считающийся наиболее эффективным противомаларийным соединением против резистентных штаммов паразитических простейших рода *Plasmodium*. Таким образом, растения представляют собой важный источник разработки новых лекарственных препаратов (Zarrelli, 2022).

В целом, природные пигменты, такие как каротиноиды, флавоноиды и антоцианы, не только определяют привлекательный цвет плодов, но и являются важными вторичными метаболитами, которые играют множество ролей во всем жизненном цикле растений и характеризуются мощной антиоксидантной активностью. После десятилетий исследований и разработок были изучены и признаны многочисленные преимущества этих натуральных пигментов для здоровья человека, которые показали высокий потенциал для их применения в пищевой, медицинской и косметической отраслях (Casanova et al., 2021).

Было показано, что флавоноид кверцетин предотвращает нефротоксичность на животных моделях и в ходе клинических испытаний, и поэтому он является очень многообещающим кандидатом для разработки. Однако, его клиническому применению препятствует его низкая растворимость, но мицеллярный состав мог бы помочь преодолеть эту проблему, улучшив его кинетические и биофармацевтические свойства при использовании более низких доз и способов введения, ориентированных на его клиническое применение (Soundararajan et al., 2021).

Однако, как правило, вторичные метаболиты в растениях синтезируются в очень низких концентрациях — обычно менее 1 % от сухого веса самого растения. Они производятся в таких малых количествах (например, 1 г винкристина получают из 5 центнеров растительного сырья), что затраты на их экстракцию и очистку очень высоки, и в любом случае имеющихся количеств часто недостаточно для характеристики их активности.

Чтобы удовлетворить постоянно растущий спрос на новые лекарства во все больших количествах, исследователи учатся использовать растения в качестве небольших «фабрик» по производству лекарств, снижая производственные затраты и гарантируя еще более высокие стандарты безопасности. Этот подход называется молекулярным выращиванием растений. За последние 20 лет генная инженерия позволила создать трансгенные линии растений с более высокими концентрациями желаемых химических веществ, что имеет немаловажные последствия для устойчивости продукта в целом, особенно с экономической и экологической точек зрения (Masek et al., 2021).

В мире существуют интересные работы с применением растительных метаболитов. Например, у ученых вызвало интерес к разработке биотехнологического процесса регуляции уровня остроты у растений. Капсаициноиды – это метаболиты *Capsicum annuum*, ответственные за остроту стручкового перца (перца чили). Острые блюда являются частью традиционной кухни многих стран, а капсаициноиды обладают многочисленными полезными свойствами для здоровья и промышленного применения.

Острота острого перца чили обусловлена накоплением группы алкалоидов, называемых капсаициноидами, основными представителями которых являются капсаицин и дигидрокапсаицин (Aza-González et al., 2011). Эти вторичные метаболиты образуются в результате сложной серии реакций, включающих конвергенцию фенилпропаноидных путей и путей жирных кислот с разветвленной цепью (Mazourek et al., 2009).

Растения представляют собой фундаментальный резервуар химических соединений, полезных для здоровья человека, главным образом получаемых благодаря их необычайно богатому вторичному метаболизму (Martin et al., 2013; Martin, Li, 2017). Острый перец также содержит различное количество капсаицинов, которые обладают противовоспалительными (Spiller et al., 2008), антиоксидантными (Bogusz

et al., 2018), противоопухолевыми (Chapa-Oliver, Mejía-Teniente, 2016) свойствами и способствуют снижению веса (Varghese et al., 2017). Все эти эффекты свидетельствуют о том, что регулярное потребление капсаициноидов полезно для здоровья и что, следовательно, острый перец можно считать функциональным продуктом питания (Hardy, 2000). Кроме того, местное применение капсаицина является эффективным обезболивающим средством с низким риском неблагоприятных взаимодействий между лекарственными средствами. Примечательно, что только плоды стручкового перца содержат эти соединения (Anand, Bley, 2011).

Сравнение генома стручкового перца с геномом томата выявило наличие в геноме томата всех необходимых генов для выработки капсаициноидов (Osorio et al., 2012; Kim et al., 2014). Поэтому авторы данной статьи (Naves et al., 2019) выбрали томат в качестве основы для манипулирования геномом. Они выбрали две стратегии геномного редактирования, которые могут быть использованы в тандеме для активации биосинтеза капсаициноидов в томате. Одним из них является использование эффекторов, подобных активаторам транскрипции (TALEs), набора белков, секретируемых патогенными бактериями *Xanthomonas* spp., когда они заражают растения-хозяева (Sanjana et al., 2012). Недавно были разработаны инструменты для надежной транскрипционной активации эндогенных генов, использующие индивидуальные TALEs, которые позволяют мультиплексировать активацию до четырех генов у растений (Lowder et al., 2018). Быстрая сборка генов TALE в единый вектор Т-ДНК возможна с использованием многоузловой системы рекомбинации Gateway (Cermak et al., 2011; Lowder et al., 2015) и позволила бы одновременно усиливать экспрессию PAL, KAS, COMT и FaTA.

Вторая стратегия – это использование геномной инженерии для целенаправленной замены промоторов. Осуществимость этого метода была продемонстрирована на томатах с использованием конститутивного

промотора 35S, вставленного перед геном ANT1, который кодирует фактор транскрипции R2R3–MYB, регулирующий биосинтез антоцианов (Cermák et al., 2015). Промоторные области неактивных генов капсаициноидного пути (BCAT, CS) могут быть заменены эндогенными промоторами, специфичными для плодов томата, такими как E8 (He et al., 2008), для получения цисгенных растений с транскрипционно активными генами (Schouten, Jacobsen, 2008; Hou et al., 2014). Однако еще нет информации о том, являются ли продукты этих генов полностью функциональными, биохимически активными и катализируют ли соответствующие реакции.

В то время как растения необходимы людям, которым они обеспечивают продовольствие и медикаменты, они также могут помочь всей планете Земля, переживающей глубокий экологический кризис, преодолеть проблемы в конкретных секторах, например, связанные с загрязнением окружающей среды пластиком. Фактически, некоторые практические применения этих полимеров являются фундаментальными и незаменимыми, например, их применение в медицинских устройствах, управление сроком службы, которых, к сожалению, остается проблематичным. Эта проблема требует перестройки всей цепочки поставок, открывая путь к альтернативам ископаемым пластмассам, таким как новые биоматериалы, которые снижают загрязнение выше по течению (Zarrelli, 2022).

Например, теперь стало возможным получать устойчивые и разлагаемые эластичные смеси путем сополимеризации натурального каучука и полимолочной кислоты, армированные льняным волокном и монтмориillonитом. Полученный продукт показал значительные улучшения в пластификации, прочности, эластичности и старении. Следовательно, такие материалы могут стать конкурентоспособной и экологически чистой альтернативой широко используемым полимерным продуктам на основе нефтяных соединений (Masek et al., 2021).

В конечном счете, разнообразие молекул, которые могут быть получены из растений, все еще в значительной степени не изучено, но спрос на них в больших количествах найдет эффективный и устойчивый отклик в передовых биотехнологиях, ускоряя время появления на рынке новых или хорошо известных продуктов и открывая сектор для новых решений. Таким образом, использование растений оказывается конкурентоспособным с точки зрения затрат и качества продукции по сравнению с традиционными системами, обеспечивая большую доступность методов лечения как в общих, так и в особо неблагоприятных условиях. Растения находят широкое применение в тех областях, где преимущества могут сделать биофабрики предпочтительным выбором (Zarrelli, 2022).

1.2. Трансгенные растения

За последние 40 лет произошло значительное развитие технологий экспрессии рекомбинантных белков, появилось множество систем *in vivo* и *in vitro*, каждая из которых обладает сильными и слабыми сторонами в своей способности экспрессировать ряд чужеродных белков. Ожидается, что в ближайшем будущем спрос на рекомбинантные биофармацевтические белки и промышленные ферменты резко возрастет. Однако нынешние мощности и стоимость производства большинства рекомбинантных белков ограничивают их доступность. Таким образом, важно оценить различные производственные системы и выбрать ту, которая обеспечивает функциональный, но в то же время экономичный продукт (Daniell et al., 2001).

Становится очевидным, что растения предлагают альтернативу эффективному и недорогому производству рекомбинантного белка, сводя к минимуму риск заражения патогенами человека и максимально увеличивая потенциал крупномасштабного производства биофармацевтических препаратов для удовлетворения глобального спроса. Первый

рекомбинантный фармацевтический белок растительного происхождения, человеческий сывороточный альбумин, был получен из трансгенного табака в 1990 году. Концепция экспрессии на растительной основе с тех пор расширилась и включает промышленные ферменты, компоненты крови, цитокины, факторы роста, гормоны, терапевтические средства, такие как антитела, а также вакцины для человека и ветеринарии (Goldstein et al., 2004; Ma et al., 2005). Аналогичным образом, подходы к производству целевого белка в растениях быстро эволюционировали, включая новые трансгенные и транзиторные системы экспрессии. В целом, нацеливание экспрессируемых белков на соответствующие субклеточные органеллы может обеспечить надлежащую среду для фолдинга и посттрансляционных модификаций, включая образование дисульфидных связей и гликозилирование. Следует отметить, что в растениях трипептиды Asn-X-Ser или Asn-X-Thr могут функционировать как акцепторы гликанов точно так же, как и в полипептидах млекопитающих. Как и в клетках млекопитающих, механизм переработки гликанов в растительных клетках расположен в эндоплазматическом ретикулуме (с высоким содержанием маннозы) и аппарате Гольджи (сложного типа; дополнительные остатки фукозы и ксилозы). Молекулы могут быть нацелены на эндоплазматический ретикулум, чтобы избежать гликозилирования сложного типа в целом. Существует некоторая озабоченность по поводу гликопротеинов, вырабатываемых в растениях. После оценки нескольких гликопротеинов растительного происхождения на различных моделях животных, включая моноклональные антитела, не было обнаружено никаких симптомов, которые могли бы представлять угрозу безопасности (Mett, 2008).

Производство рекомбинантных белков в трансгенных растениях первоначально было основано на интеграции гена-мишени в ядерный геном, а позже включало трансформацию генома хлоропластов. Производство белка обычно направлено на ткани листьев, которые

являются крупнейшим источником белков (Daniell et al., 2001), или на семена (Ma et al., 2005). Производство на основе семян обладает дополнительными преимуществами стабильности целевого белка (Daniell et al., 2001) и способностью к длительному хранению при температуре окружающей среды без заметного разложения или потери активности целевого белка (Ma et al., 2005). Подсчитано, что стоимость производства рекомбинантного белка в трансгенных растениях может быть в 10-50 раз ниже, чем производство того же белка при ферментации *E. coli*, в зависимости от культуры (Giddings et al., 2000). Несмотря на преимущества производства на основе растений, временные затраты, необходимые для разработки линий трансгенных растений с необходимыми уровнями выработки белка, ограничили внедрение этой системы (Goldstein et al., 2004). Методы трансформации на основе тканевых культур и скрининг стабильных линий с высокой экспрессией требуют много времени (Mett, 2008).

1.2.1. Временная экспрессия в растениях

По сравнению с ядерными и хлоропластными трансгенами, системы временной экспрессии позволяют обойти некоторые проблемы, связанные с использованием трансгенных растений, включая длительное время развития и низкие целевые уровни накопления. Этот подход основан на введении экспрессионного вектора в растительную ткань либо непосредственно в виде плазмидной ДНК или синтезированных *in vitro* транскриптов РНК, либо опосредованно с помощью экспрессионной кассеты, доставляемой агробактериями. Основными преимуществами метода временной экспрессии являются экономия времени, высокие уровни экспрессии целевого белка, однородность и последовательность накопления целевого белка, масштабируемость и меньшие экологические проблемы из-за производства в замкнутом пространстве.

Понимание критериев получения рекомбинантного белка, включая тип и безопасность продукта, а также стоимость производства, может адекватно определить наиболее подходящую систему экспрессии. Растительное производство биофармацевтических препаратов и промышленных белков имеет высокий потенциал в будущем (Mett, 2008).

1.2.2. Съедобные вакцины

Вакцины – это биологические препараты, которые стимулируют иммунную систему организма распознавать антигены. В современном мире перспективным является появление новой формы вакцин, которая будет способна снижать риски присущие обычным вакцинам. Этот тип вакцины был получен из растений, которые были генетически модифицированы. При производстве пищевых вакцин бактериальный или вирусный возбудитель, кодирующий ген, вызывающий заболевание, может быть внедрен в растения без потери его иммуногенных свойств. Основным механизмом действия съедобных вакцин заключается в активации реакций системного иммунитета и иммунитета слизистых оболочек против чужеродного болезнетворного организма. Съедобные вакцины могут быть получены путем введения трансгена в выбранную растительную клетку.

Обычные вакцины имеют много ограничений. Одной из главных проблем является биобезопасность. Сбои в инаktivации иногда могут привести к возврату вирулентной формы микроорганизма. Иногда тесты по контролю качества могут не пройти, и это может привести к загрязнению вакцины другими вирусами или бактериями. Еще одним ограничением является необходимость хранения в охлажденных условиях. Большинство вакцин вводится парентеральным путем, и это требует наличия обученного персонала, многократных доз или добавления адъюванта, специальных условий хранения и транспортировки. Инъекционные вакцины способны стимулировать системные гуморальные реакции только в том случае, если активность Т-лимфоцитов и иммунитет

слизистых оболочек необходимы для профилактики инфекционных заболеваний. Парентеральное введение вакцины иногда вызывает некоторые вторичные эффекты, такие как местное воспаление в месте прививки, лихорадка и редко некоторые проблемы с гиперчувствительностью. Также невозможно разработать вакцины против всех болезней обычными методами (Wang et al., 2004; Lycke, Bemark, 2010; Lycke, 2012). Из-за множества подводных камней возникает мысль об альтернативных методах доставки вакцин, и это приводит к разработке вакцин на растительной основе, так называемых «съедобных вакцин» (Holmgren, Czerkinsky, 2005; Penney et al., 2011).

Съедобные вакцины – это не что иное, как трансгенные вакцины растительного и животного происхождения или те, которые содержат вещества, вызывающие иммунный ответ организма. Проще говоря, фармацевтические препараты растительного или животного происхождения представляют собой съедобные вакцины. В 1989 году Хайатт и его коллеги разработали способ получения вакцины на растительной основе (Penney et al., 2011). В 1990 году доктор Арнтцен представил концепцию использования трансгенных растений для производства и доставки субъединичных вакцин. Эта идея Арнтцена доказала, что съедобная вакцина может снять ограничения при производстве традиционных вакцин. В растении табака (мутанты *Streptococcus*) экспрессируется поверхностный антиген гепатита В по Mason et al. это важная веха в производстве съедобных вакцин (Saxena, Rawat, 2014). Параллельно с производством съедобной вакцины в растениях табака они также начали производство гепатита В и термолабильного токсина В в картофеле (Penney et al., 2011). Эти вакцины обладают неопровержимым преимуществом перед традиционными вакцинами. Особенно в развивающихся странах пищевая вакцина открывает возможности для снижения таких заболеваний, как гепатит В и диарея, где хранение и введение вакцины часто являются серьезными

проблемами. Для производства съедобных вакцин или антител желательно иметь возможность выбирать подходящие растения, водоросли, дрожжи и молочнокислые бактерии, продукты которых употребляются в сыром виде (Saxena, Rawat, 2014; Criscuolo et al., 2019).

Вакцины играют важную роль в профилактике инфекции. Они помогли человеку подвергнуться воздействию многих инфекционных агентов бессимптомно или переболеть в легкой форме. Опасные заболевания, такие как полиомиелит и корь, теперь находятся под контролем только благодаря разработке вакцин. Благодаря им возможно значительно сократить использование антибиотиков, и они могут сыграть решающую роль в эпоху, когда устойчивость к антибиотикам становится серьезной проблемой. Обычные вакцины очень дороги, требуют охлаждения, в основном вводятся парентерально и вызывают лишь умеренную реакцию слизистой оболочки. Новые исследования могут улучшить доступные в настоящее время методы вакцинации и обеспечить более эффективную профилактику инфекционных заболеваний. Открытие съедобной вакцины является одним из важнейших достижений в области биотехнологии, и ее успех требует широкого признания и внимания. По сравнению с традиционными вакцинами, пищевые вакцины не требуют сложного оборудования и машин для производства вакцин. Съедобные вакцины более безопасны и не требуют стерильных условий для инъекций, хранения и т.д. Съедобные вакцины стимулируют как системные, так и слизистые реакции. Главной проблемой съедобной вакцины является ее одобрение общественностью, поскольку существуют некоторые мнения, например, что генетически модифицированные продукты наносят вред обществу и окружающей среде. При выращивании растений для производства пищевых вакцин необходим тщательный мониторинг, поскольку существует вероятность перекрестного заражения между генетически модифицированными растениями и немодифицированными во время опыления. Существует вероятность случайного попадания

фармацевтического препарата в пищевую цепочку человека, а также он может повлиять на дикую природу. Съедобная вакцина может продуцировать сложные мультимерные белки, которые не могут экспрессироваться микробной системой, и является безопасным и эффективным методом вакцинации. Поскольку преимущества съедобных вакцин достаточно очевидны, чтобы преодолеть их побочные эффекты, требуются надлежащие исследования и разработки в этой области, и это может привести к наступлению эры лучшего контроля над инфекционными заболеваниями (Kurup, Thomas, 2020).

1.3. *Nicotiana tabacum* L. – табак обыкновенный

Табак (*Nicotiana tabacum* L.) – одна из основных технических культур, широко выращиваемая во многих странах, относится к семейству Паслёновые (*Solanaceae* Juss.). Все виды табака распространены главным образом в тропиках Америки, где они встречаются в диком состоянии. В культуре распространены два вида: табак настоящий (*N. tabacum* L.) и табак махорка (*N. rustica* L.).

N. tabacum L. описывается как однолетнее травянистое растение высотой 1–2 м, несущее на прямостоячем стебле от 10 до 20 крупных, широкоовальных или яйцевидных листьев. Всё растение покрыто клейкими выделениями железистых волосков. Растения табака возделывается из-за листьев, содержащих алкалоид никотин (1–4%), углеводы (2–20%), белок (1–13%), органические кислоты (5–17%), смолы (4–12%), эфирные масла (0,1–1,7%). Аромат табака зависит от эфирных масел. Кроме того, в листьях имеется целый ряд других веществ, некоторые из них канцерогенны (Демьянова, 2007). Многие дикие виды растений табака обладают рядом ценных свойств: иммунитетом к болезням и вредителям табака, холодостойкостью, высокой продуктивностью, приятным ароматом и другими положительными качествами, благодаря чему их используют в селекционной работе.

Главным образом культуру табака выращивают для получения урожая листьев – они имеют основную хозяйственную значимость как материал для изготовления курительных изделий (Sun, 2020).

Одним из важных свойств растений является способность к регенерации *in vitro* из недифференцированных соматических тканей с получением нормальных, фертильных растений. Это свойство тотипотентности позволяет получать генномодифицированные растения через культуру тканей. Растения табака имеют уникальную способность к быстрому и эффективному каллусообразованию. Благодаря этому *N. tabacum* L. возможно трансформировать плазмидами с целевыми генами и получать взрослые растения, которые не только несут внесённые гены, но также могут передавать их будущим поколениям (Щелкунов, 2004).

За последние десятилетия описаны очень много работ, где первоначальное изучение изменений биохимических и физиологических параметров после генно-инженерных манипуляций в растениях рассматриваются именно на растениях табака, то есть *N. tabacum* выступает как модельная система. Много таких работ по изучению сверхэкспрессии генов, ассоциированных с адаптацией растений к абиотическим стрессам, которые могут повышать устойчивость к ним экономически важных сельскохозяйственных культур (Agarwal, 2010; Широких, 2020). Например, были получены растения табака сорта Самсун с геном холиноксидазы (*codA*), отвечающим за синтез глицинбетаина - осмолита, способствующего стабилизации клеток при абиотических стрессах (Широких, 2020, 2022). Отобраны линии табака сорта Wisconsin, несущие два гена ацил-липидных десатураз цианобактерий, экспрессия которых в растениях позволяет изменить состав жирных кислот мембран и повысить их холодоустойчивость (Герасименко, 2010).

Методом агробактериальной трансформации получены растения табака сорта Самсун с геном антимикробного пептида бомбинина (*bom*). Экспрессия данного гена в трансгенных растениях показана по

ингибированию роста фитопатогенных бактерий *Erwinia carotovora* экстрактами трансформированных растений. Трансгенные растения имели нормальный фенотип (Захарченко, 2013). Также описана работа, где получены трансгенные растения табака того же сорта со встроенным геном антимикробного пептида цекропина P1 (CP1). Уровень синтеза цекропина P1 в различных линиях составлял 0.02–0.2% от общего растворимого белка листьев растений. Трансгенные растения проявляли по сравнению с контрольными растениями повышенную устойчивость к фитопатогенным микроорганизмам и к окислительному стрессу (Захарченко, 2005; 2015).

Трансформация растений табака генами Mn-SOD и Fe-SOD арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana* L.) приводила к потенцированию антиоксидантной системы в клеточных компартментах, что увеличивало не только активность СОД за счет ее дополнительного количества, но и увеличивалась активность компонентов защитной системы, участвующих в детоксикации пероксида водорода (Савина, 2015). Кроме того, *N. tabacum* L. используют и в детоксикации окружающей среды. Например, чтобы изучить возможность повышения способности растений к детоксикации взрывчатого 2,4,6-тринитротолуола (ТНТ), который является наиболее широко используемым военным взрывчатым веществом (токсичен для биологических систем и не распадается в окружающей среде), были созданы трансгенные растения табака NC89, конститутивно экспрессирующие ген нитроредуктазы *nsfI* из *Enterobacter cloacae*. Трансгенные линии растений при добавлении ТНТ оказались способны удалять его из среды (Sun, 2012).

Большое количество экспериментов проведено на *N. tabacum* L. сорта Petit Havana линии SR1. В работах были получены трансгенные растения с использованием генов транскрипционных факторов AINTEGUMENTA: PnANTL1 и PnANTL2 тополя черного (Кулуев и др., 2012), BnaX.ANT.b рапса (Кулуев и др., 2013), NtANTL табака (Kuluev et al., 2015); белков с OSR-доменом: ARGOS и ARGOS-LIKE *A. thaliana*

(Кулуев и др., 2014), PnARGOS-LIKE тополя черного (Kuluev et al., 2016); экспансинов NtEXPA1, NtEXPA4 и NtEXPA5 табака (Кулуев и др., 2013; Кулуев и др., 2014), AtEXPA10 *A. thaliana* (Кулуев и др., 2012), PnEXPA1 и PnEXPA3 тополя черного (Кулуев и др., 2013); ксилоглюканэндотрансгликозилаз NtEXGT табака (AB017025.1), PnXTH1 тополя черного (XM_002304589), tXET-B2 томата (X82684.1); глутатионсинтазы BnGSH рапса (NC_027758); глутатион-S-трансферазы AtGST1 *A. thaliana* (Y11727.1). Данные целевые гены были клонированы в бинарные вектора семейства pCambia, под контролем конститутивных промоторов 35S или промотора вируса мозаики георгина (Кулуев и др., 2013). Полученные генно-инженерные конструкции трансформировали в клетки *Agrobacterium tumefaciens* штамма AGL0. Затем проводили агробактериальную трансформацию листовых эксплантов. По каждому варианту генно-инженерных конструкций получали от 5 до 25 линий трансгенных растений табака со вставкой одной копии трансгена и с его стабильной экспрессией в ряду поколений (Кулуев, 2016).

Производство моноклональных антител и фармацевтических белков в трансгенных растениях было в центре внимания многих исследовательских усилий в течение почти 30 лет. Использование растений в качестве биореакторов снижает затраты на крупномасштабное производство и сводит к минимуму риск заражения человека патогенами. Стабильная ядерная трансформация генома растений дает явное преимущество в сельскохозяйственных платформах для производства белка, ограниченных только количеством гектаров, которые могут быть обработаны. Здесь впервые сообщается об успешной и стабильной экспрессии адалимумаба в трансгенных растениях *N. tabacum*. Адалимумаб растительного происхождения оказался полностью активным и, как было показано, спасал клетки L929 от летального действия rhTNFα *in vitro* так же эффективно, как и коммерчески доступный адалимумаб, полученный из CHO (Humira). Эти результаты указывают на то, что

сельскохозяйственное биофармирование является эффективной альтернативой платформам экспрессии на основе клеток млекопитающих для крупномасштабного производства рекомбинантных антител.

1.4. *Solanum melongena* L. – баклажан

Solanum melongena L. – баклажан является экономически хорошо известной культурой, выращиваемой во многих странах, особенно в регионах с тропическими и умеренными условиями (Collonnier et al., 2001). Он принадлежит к семейству Пасленовых (*Solanaceae*) и имеет общего предка с другими хорошо известными членами этого семейства, такими как помидоры, картофель, перец и табак (Fukuoka et al., 2010). Как правило, баклажаны делятся на три основные категории в зависимости от формы их плодов. Они имеют яйцевидную форму (*S. melongena* var. *esculentum*), карлик (*S. melongena* var. *depressum*) и длинной тонкой формы (*S. melongena* var. *serpentium*) (Kashyap et al., 2003). Баклажаны могут хорошо расти в регионах с большим количеством осадков и высокой температурой, при таких условиях они дают более высокий урожай (Bhatti et al., 2013). Цветки баклажана пурпурного, красноватого или белого цвета в зависимости от сорта, дающего плоды шаровидной или длинной формы, от пурпурного, белого, зеленого, коричневого или желтого цвета (Daunay et al., 2008). Баклажаны широко известны своей питательной ценностью, а также лечебными свойствами для рациона человека. Баклажаны используются в кухнях всего мира, особенно в Азии, а также являются популярным ингредиентом вегетарианских блюд. Баклажаны богаты растворимой клетчаткой и минералами, такими как кальций, железо, калий и фосфор. Витамины, такие как витамин С, витамин В6, витамин К, фолиевая кислота и холин, содержатся в большом количестве в фруктах, что делает их полезными для здоровья человека (Bhatti et al.,

2013). Низкое содержание калорий и жира в плодах баклажанов также способствует снижению веса и снижению риска сердечно-сосудистых заболеваний (Robinson, Saranya, 2013). Употребление в пищу плодов баклажанов также было связано с профилактикой ряда заболеваний, таких как бронхит, астма, диабет и артрит, в основном благодаря наличию в плодах фенольных соединений, таких как хлорогеновая кислота (Pratap et al., 2011; Scalzo et al., 2016). Предыдущие исследования показали важность хлорогеновой кислоты для повышения толерантности к глюкозе в организме человека и последующего снижения риска диабета и ожирения у человека (Rodriguez, Hadley, 2002; Niggeweg et al., 2004; Van Dijk et al., 2009).

Для повышения устойчивости баклажанов к атакам вредителей и патогенов ученые использовали несколько методов, включая традиционную селекцию растений и биотехнологические методы. Однако введение гена устойчивости в растение либо с помощью традиционных методов скрещивания, либо путем слияния протопластов приводит к проблемам стерильности растений в потомстве (Fari et al., 1995).

За многие годы ученые старались значительно улучшить сорта баклажанов, например, посредством *in vitro* селекции, соматической гибридизации и генной инженерии (Swamynathan et al., 2010; Rattan et al., 2015). Интенсивные исследования методом *in vitro* регенерации баклажанов была успешно проведена на культуре клеточной суспензии (Wang et al., 2013), культуре пыльников (Salas et al., 2012; Rotino 2016) и *in vitro* органоогенез побегов (Bhat et al., 2013; Bhatti et al., 2014). Согласно обзору Маджиоли и Мансура (Magioli, Mansur, 2005), эффективность органоогенеза баклажанов *in vitro* в значительной степени зависит от типа используемых эксплантов и комбинаций регуляторов роста растений.

Цитокинин и ауксин являются широко известными

регуляторами роста растений, широко используемыми при регенерации эксплантатов, поскольку различные соотношения этих двух комбинаций могут привести к значительным различиям в процессах регенерации. Цитокинины обычно используются в культуре тканей растений для инициации роста клеток, а также для индукции образования побегов, благодаря чему они активно участвуют в различных физиологических процессах растений (Davies, 1995). Это включает размножение побегов (Kaviani et al., 2013; Bhat et al., 2013; Abu-Romman et al., 2015), образование клубневидных корней (Deshwal, Trivedi, 2011), индукция каллуса (Borjian, Arak, 2013), старение листьев (Riefler et al., 2006) и регуляторы активности апикальной меристемы побегов (Tucker, Laux, 2007). Известно, что цитокинин, такой как кинетин, инициирует клеточное деление в присутствии ауксина и широко используется вместе с ауксином для образования каллуса или для индуцирования побегов там, где доступен низкий уровень ауксина. С другой стороны, цитокинин, такой как 6-бензиламинопури́н (БАП) или бензиладенин, используется для ускорения роста.

Генетическую трансформацию сельскохозяйственных культур посредством агробактериальной опосредованной трансформации ученые использовали для введения генов устойчивости к вредителям в баклажаны для повышения выживаемости растений и выхода продукта (Rotino, Gleddie, 1990). Разработка протокола регенерации трансформированных тканей *in vitro* является важным этапом, необходимым для получения трансгенных растений (Billings et al., 1997; Franklin et al., 2004; Rahman et al., 2006).

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объекты исследования

Объектами исследования были растения из семейства Паслёновых (*Solanaceae*):

1. Табак обыкновенный (*Nicotiana tabacum* L.): сорта –
 - Вирджиния 202 (ООО Агрофирма «Седек»);
 - Юбилейный новый 142 (Агрохолдинг «Поиск»);
 - Махорка (ООО «ССПК Агрофирмы МАРС»);
 - Блэк Джек (ООО «Агрофирма АЭЛИТА»).
2. Баклажан обыкновенный (*Solanum melongena* L.): сорта –
 - Белоснежка (ООО Агрофирма «Гавриш»);
 - Снежок (ООО «Агрофирма АЭЛИТА»).

2.2. Составы использованных стандартных водных растворов и сред

Таблица 1 – Состав растворов и сред

питательная среда MS (жидкая), мг/л	Макросоли: NH_4NO_3 (1650.0 мг/л), KNO_3 (1900.0 мг/л), KH_2PO_4 (170.0 мг/л), MgSO_4 (180.7 мг/л), CaCl_2 (332.2 мг/л), Микросоли: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ -, K_2SO_4 -, NaH_2PO_4 - H_3BO_3 (6.2 мг/л), $\text{MnSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$ (16.9 мг/л), $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ (8.6 мг/л), KJ (0.83 мг/л), $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ (0.25 мг/л), $\text{CoCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ (0.025 мг/л), $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ (0.025 мг/л), $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ (37.26 мг/л), $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ (27.8 мг/л), $\text{NiCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ - Витамины: Инозитол (100.0 мг/л), Никотиновая кислота (0.5 мг/л), Пиридоксин (0.5 мг/л), Тиамин (0.1 мг/л), Глицин (2.0 мг/л), Аскорбиновая кислота - Пантотеновая кислота -
-------------------------------------	--

питательная среда MS (твердая)	Макросоли: NH_4NO_3 (1650.0 мг/л), KNO_3 (1900.0 мг/л), KH_2PO_4 (170.0 мг/л), MgSO_4 (180.7 мг/л), CaCl_2 (332.2 мг/л), Микросоли: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ -, K_2SO_4 -, NaH_2PO_4 - H_3BO_3 (6.2 мг/л), $\text{MnSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$ (16.9 мг/л), $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ (8.6 мг/л), KJ (0.83 мг/л), $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ (0.25 мг/л), $\text{CoCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ (0.025 мг/л), $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ (0.025 мг/л), $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ (37.26 мг/л), $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ (27.8 мг/л), $\text{NiCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ - Витамины: Инозитол (100.0 мг/л), Никотиновая кислота (0.5 мг/л), Пиридоксин (0.5 мг/л), Тиамин (0.1 мг/л), Глицин (2.0 мг/л), Аскорбиновая кислота - Пантотеновая кислота - +агар
6-БАП (0,5 мг/мл)	50 % стерильная вода + 50 % этанол (96%)
НУК (0,5 мг/мл)	50 % стерильная вода + 50 % этанол (96%)
Кинетин (0,5 мг/мл)	50 % стерильная вода + 50 % этанол (96%)

Гормоны для регенерации эксплантов:

6-БАП – 6-Бензиламинопурин;

НУК – 1-нафталинуксусная кислота;

Кинетин – цитокинин, растительный гормон, который способствует делению клеток.

В работе была использована стандартная питательная среда MS (Murashige, Skoog, 1962).

2.3. Стерилизация листьев растений табака

Для экспериментов листья табака брали наиболее плоские листья от крепкого здорового растения, росшего в хороших условиях освещения, температуры и полива, а также хорошо политого за сутки до проведения опыта (5 клк, 16/8 часов, день/ночь). Стерилизацию проводили следующим образом: листья табака промывали стерильной дистиллированной водой, затем добавляли 70%-ный этанол, чтобы полностью покрывал материал. Аккуратно перемешивали в течение 15 секунд, после чего сливали спирт и в сосуд наливали 10% раствор хлорного отбеливателя «Белизна» с добавлением 10 мкл Твин-20. Следили, чтобы раствор также полностью покрывал кусочки листьев. Стерилизацию проводили в течение 10 минут при осторожном периодическом перемешивании и покачивании. Затем сливали стерилизующий раствор и промывали кусочки листьев 5 раз стерильной дистиллированной водой. Далее переносили листья в стерильные чашки Петри, обрезали побелевшие края и скальпелем нарезали на отдельные экспланты размером приблизительно 1х1 см без крупных жилок. Готовые экспланты переносили на среду МС нижней стороной листа вверх. Каллусогенез проводили на среде, содержащей 1.0 мг/л 6-БАП и 0,1 мг/л НУК.

2.4. Стерилизация семян растений баклажана

Семена растений баклажана стерилизовали в течение 1 мин в 70% спирте, а после – 20 мин в 10% растворе гипохлорита натрия (Вершинина и др., 2021). Далее семена выращивали в постоянных условиях в Binder при 25°C (5 клк, 16/8 часов, день/ночь). На 7-10 сутки получали семядольные листочки у проростков растений баклажана. Для экспериментов были взяты как семядольные листья, так и гипокотили. Для анализа образования каллусов было использовано по 50 растений в каждом варианте опыта при трехкратной повторности.

2.5. Получение каллусов на растениях баклажана

Семядольные листья и гипокотили от 2-х недельных сеянцев использовали в качестве эксплантатов для выращивания побегов. Стерильно отделяли необходимые части от проростков и обрезали с обоих концов. Затем семядоли и гипокотили культивировали нижней стороной листьев вверх на плотной полноценной среде MS, содержащей разные концентрации и сочетания гормонов (таблица 2).

Таблица 2 – Концентрации гормонов для регенерационных сред

Вариант I (МС I)	Вариант II (МС II)	Вариант III (МС III)	Вариант IV (МС IV)	Вариант V (МС V)
0.5 мг/л 6-БАП	5.0 мг/л 6-БАП	2.0 мг/л 6-БАП	2.0 мг/л 6-БАП	10.0 мг/л 6-БАП
2.0 мг/л НУК	0.1 мг/л НУК	0.1 мг/л НУК	2.0 мг/л кинетин	0.2 мг/л НУК

Экспланты пересеивали каждые две недели на свежую питательную среду с тем же составом.

2.6. Статистический анализ

В таблицах представлены средние арифметические значения из n -числа повторностей (где $n \geq 10$) и их стандартные отклонения. Для сравнения независимых выборок, подчиняющихся закону нормального распределения, использовали параметрический критерий Стьюдента, значения t -критерия находили для 95% уровня значимости.

Данные в таблицах представляют средние арифметические величины и стандартные ошибки, количество повторений указано для каждого случая отдельно.

Результаты обработаны с использованием стандартных пакетов программы Microsoft Excel 2010.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Описание сортов растений табака (*N. tabacum*) и баклажанов (*S. melongena*)

Изначально растения табака (*N. tabacum*) 4-х сортов были выращены из покупных семян в лабораторных условиях при комнатной температуре при хороших условиях полива и подкормках.

Вирджиния 202 (ООО Агрофирма «Седек») (рисунок 1) описывается как один из самых распространенный сортов табака, предназначенный для курения любым способом, с низким содержанием смол и приятным сладковатым вкусом. Вегетационный период 115-130 дней. Растение крупное, высотой 1,8-2 м, с прямым стеблем, крупными светло-зелеными листьями и розоватыми воронковидными цветками.

Сорт Юбилейный новый 142 (Агрохолдинг «Поиск») (рисунок 1) считается стандартом качества и с ним сравнивают все ново выведенные разновидности табака. Положение листьев на стеблях торчащее, 25-27 штук, высота растения – 180-200 см.

Махорка (ООО «ССПК Агрофирмы МАРС») (рисунок 1) – однолетнее пахучее растение высотой около 90 см. Листья крупные, морщинистые, светло или темно-зеленого цвета, хозяйственной годности достигают через 60-90 дней после высадки рассады на постоянное место. За период вегетации с одного растения можно собрать в среднем 20 листьев высшего качества. В листьях и стебле содержится никотин, обладающий большой инсектицидной активностью и широко применяемый для борьбы с сельскохозяйственными вредителями. Кроме этого, из листьев махорки выделяется никотиновая кислота, которая используется в традиционной медицине, при сердечно-сосудистых и кожных заболеваниях и при патологии пищеварительной системы. Содержание никотина в листьях несколько раз выше, чем у большинства сортов курительного табака. Используется для изготовления махорочной

(курительной) крутки, жевательного и нюхательного табака, а также для защиты растений от вредителей. Технически зрелые листья характеризуются плотной тканью, отвисают к земле, покрываются светло-желтыми пятнами, приобретают хрупкость.

Блэк Джек (ООО «Агрофирма АЭЛИТА») (рисунок 1) – крупный травянистый однолетник. Растения мощные, прямостоячие, высотой 1,2-2 м. Стебель заканчивается душистым соцветием. Листья крупные – 50-90 см длиной и до 30 см шириной. На растении формируется в среднем 26-30 листьев. Вегетационный период от высадки рассады до последнего сбора листьев 90-100 дней. Сорт обладает комплексной устойчивостью к болезням табака и хорошей пластичностью к условиям выращивания. Кроме традиционного назначения, сорт можно использовать в декоративных целях.





Рисунок 1. Семена табака, использованные в работе

Баклажан (*Solanum melongena* L.) - популярная овощная культура, культивируемая во всем мире. Цвет кожуры плодов является одним из наиболее важных качественных признаков баклажанов и, следовательно, является основной целью селекции. Плоды баклажанов имеют много цветов, включая фиолетово-черный, фиолетово-красный, зеленый, белый, розовый и другие. Цвет плодов баклажанов определяется двумя типами пигментов: антоцианами, которые являются основными пигментами биосинтеза флавоноидным путем, и хлорофиллами (Daunay et al., 2004). В ходе данного исследования были взяты белоплодные сорта, так как они имеют большую сельскохозяйственную ценность из-за отсутствия горечи во вкусе.

Баклажан Белоснежка (ООО Агрофирма «Гавриш») (рисунок 2) – среднерослый (до 1 м в теплицах) сорт с аппетитными овальными плодами

массой 180-200 г. созревают через 110-115 дней, меняя свою окраску с белой на желтую. Мякоть плотная, белая, абсолютно без горечи.

Баклажан Снежок (ООО «Агрофирма АЭЛИТА») (рисунок 2) – скороспелый сорт с красивыми, вкусными белокожими плодами. Вступает в плодоношение спустя 93-110 дней от массовых всходов. Формирует полураскидистые растения высотой 110-120 см. плоды цилиндрические, длиной 23 см, диаметром 7 см, массой до 400 г. шипы на чашечке редкие. Мякоть белая, с незначительным количеством семян. Не горчит, поскольку практически лишена соланина.



Рисунок 2. Семена баклажанов, использованные в работе

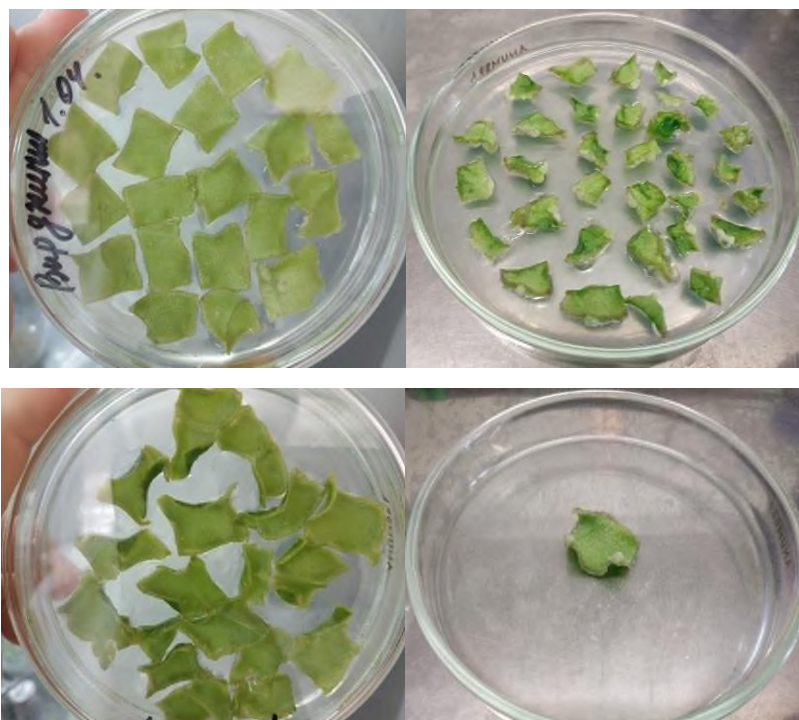
3.2. Каллусогенез у растений табака (*N. tabacum*) *in vitro*

Для экспериментов листья табака брали наиболее плоские и от крепких здоровых растений. Листья стерилизовали, затем переносили в стерильные чашки Петри, обрезали побелевшие края и скальпелем нарезали на отдельные экспланты размером приблизительно 1x1 см без

крупных жилок. Готовые экспланты переносили на среду МС нижней стороной листа вверх. Каллусогенез проводили на среде, содержащей 1.0 мг/л 6-БАП и 0.1 мг/л НУК (таблица 3).

Таблица 3 – Этапы каллусогенеза растений табака

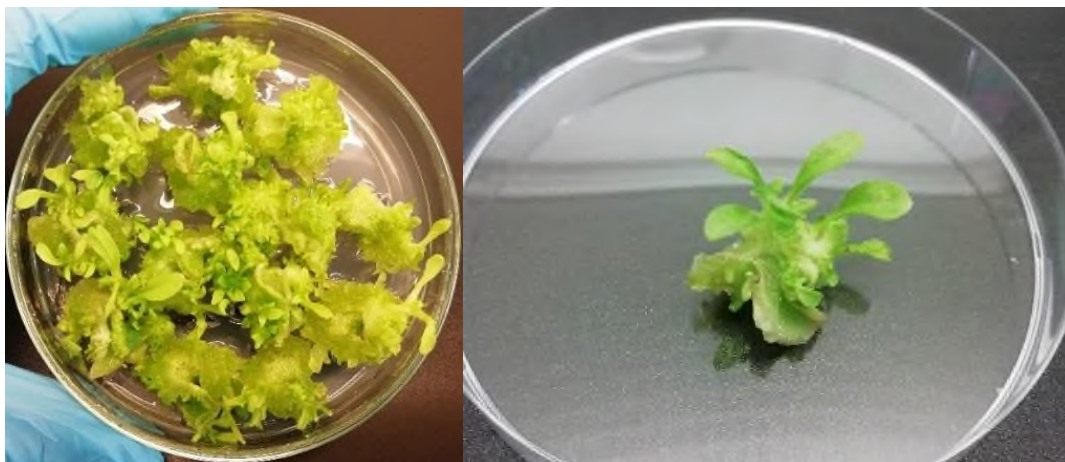
1 – начало морфологических изменения эксплантов через неделю инкубации



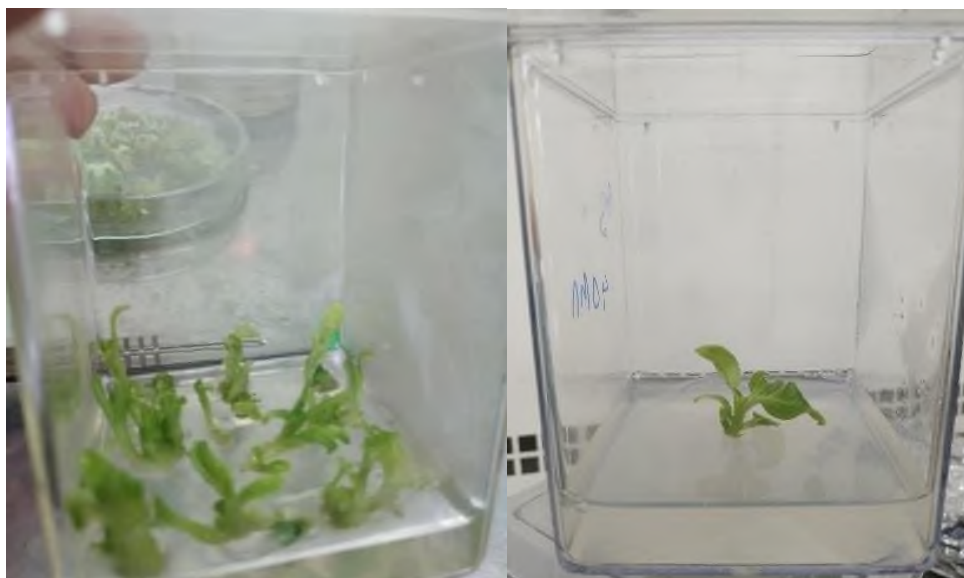
2 – начало каллусогенеза через 2 недели инкубации



3 – образование морфогенного каллуса с видимыми листиками маленьких растений (еще через 2 недели)



4 – рассаживание сегментов микрорастений для адаптации и образования корней



5 – растения табака с образовавшимися корнями



6 – адаптация растений на рост в почве при лабораторных условиях



Первые видимые изменения на эксплантах начали появляться через неделю, еще через неделю образовывался видимый каллус на краях растений. Еще через 10 дней были видимые маленькие побеги полноценных растений табака. Далее такие ростки были пересажены в высокие стерильные стаканы фирмы Magenta для увеличения морфологических размеров растений. На этапе получения полноценных маленьких растений концентрация 6-БАП в среде была уменьшена на 25%. Затем растения адаптировали в лабораторных условиях (таблица 4).

Таблица 4 – Процесс адаптации и рост растений при комнатных условиях

Возраст растений	Фотографии растений
Адаптация 6-недельных побегов	
2 недели роста растений при комнатных условиях	
Взрослые 2-месячные растения	

Цветение и созревание семян



Было замечено, что сорт Юбилейный новый 142 имел очень долгий период роста и практически не цвел при комнатных условиях и соответственно не давал зрелые семена. В виду этого данный сорт не подходит для использования его как модельная система для экспериментов *in vitro*. Наиболее подходящими оказались табаки сортов Вирджиния 202 и Блэк Джек, которые отлично росли при комнатных условиях, имели достаточный период роста и давали зрелый урожай семян.

3.3. Каллусогенез у разных сортов *N. tabacum*

Одним из наиболее информативных показателей эффективности каллусогенеза является получение правильных морфогенных побегов и прироста каллусной массы у эксплантов (Гвасалия и др., 2020).

Через 4 недели рассчитывали сколько побегов образовалось на каждом экспланте и была вычислена эффективность каллусообразования (таблица 5).

Таблица 5 – Количество полученных растений табака

сорт	количество эксплантов	количества каллуса	количество побегов через 4 недели	количество адаптированных растений <i>in vitro</i>

Юбилейный новый 142	40	75	86	52
Вирджиния 202	40	86	95	75
Махорка	40	79	88	67
Блэк Джек	40	82	91	69

Количество побегов было рассчитано через 4 недели, так как известно, что каллусы способны регенерировать новые побеги еще долгое время при благоприятных условиях культивирования. В результате все 4 сорта показали хороший каллусогенез, экспланты активно образовывали каллусы при стандартных условиях культивирования. От всех сортов было получено достаточное количество побегов. Среди исследуемых сортов наибольшее количество каллусов было получено у растений табака сорта Вирджиния 202, также он быстро образовывал большое количество побегов, и они хорошо адаптировались в условиях *in vitro*, а в дальнейшем и в почве в лабораторных условиях.

Таким образом, из исследуемых сортов растений табака выбраны 2 сорта табака Вирджиния 202 и Блэк Джек, которые подходят для исследований в качестве модельной системы в создании трансгенных растений с целевыми генами.

3.4. Каллусогенез у растений баклажана (*S. melongena*) *in vitro*

3.4.1. Концентрации гормонов для регенерационных сред

Семядольные листья и гипокотили от 2-х недельных сеянцев использовали в качестве эксплантатов для выращивания побегов. Стерильно отделяли необходимые части от проростков и обрезали с обоих концов. Затем семядоли и гипокотили культивировали нижней стороной листьев вверх на плотной полноценной среде MS, содержащей разные

концентрации и сочетания гормонов. Концентрации и различные сочетания гормонов были подобраны согласно литературным данным (таблица 6).

Таблица 6 – Концентрации гормонов для регенерационных сред

Обозначения вариантов	Концентрации гормонов	Ссылка на источник
Вариант I (МС I)	0.5 мг/л 6-БАП	Zayova et al. (2008)
	2.0 мг/л НУК	
Вариант II (МС II)	5.0 мг/л 6-БАП	подошел для <i>Capsicum annuum</i> (стручковый (острый) перец) Ashrafuzzaman et al. (2009)
	0.1 мг/л НУК	
Вариант III (МС III)	2.0 мг/л 6-БАП	Foo et al. (2018); используется для томатов (<i>Solanum lycopersicum</i>)
	0.1 мг/л НУК	
Вариант IV (МС IV)	2.0 мг/л 6-БАП	Foo et al. (2018)
	2.0 мг/л кинетин	
Вариант V (МС V)	10.0 мг/л 6-БАП	Foo et al. (2018)
	0.2 мг/л НУК	

3.4.2. Каллусогенез *S. melongena* на среде МС I

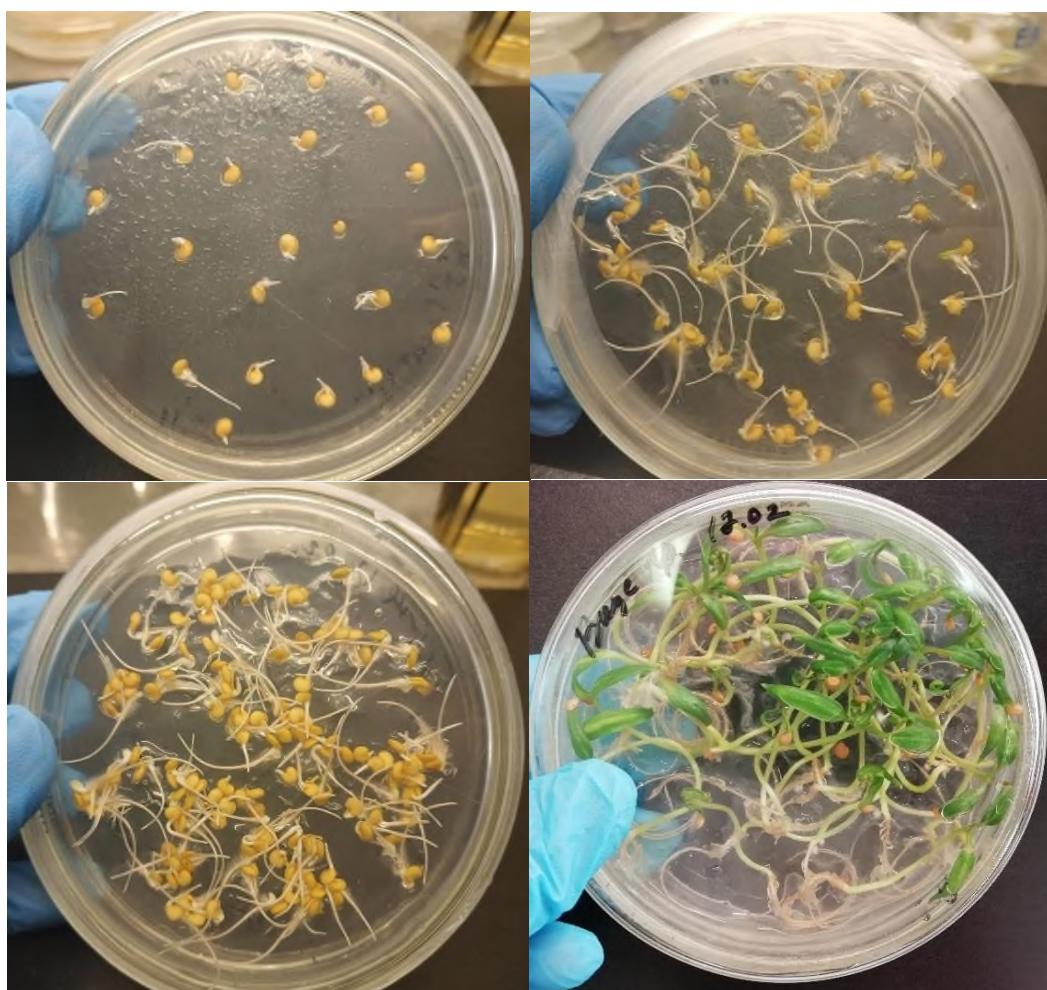
Исследование каллусогенеза на среде МС I, содержащей **0.5 мг/л 6-БАП** и **2.0 мг/л НУК** велось по стандартной схеме (таблица 7). Все эксперименты были проведены на двух сортах: Белоснежка и Снежок.

Таблица 7 – Этапы эксперимента

Стерилизация и посадка семян на среду МС

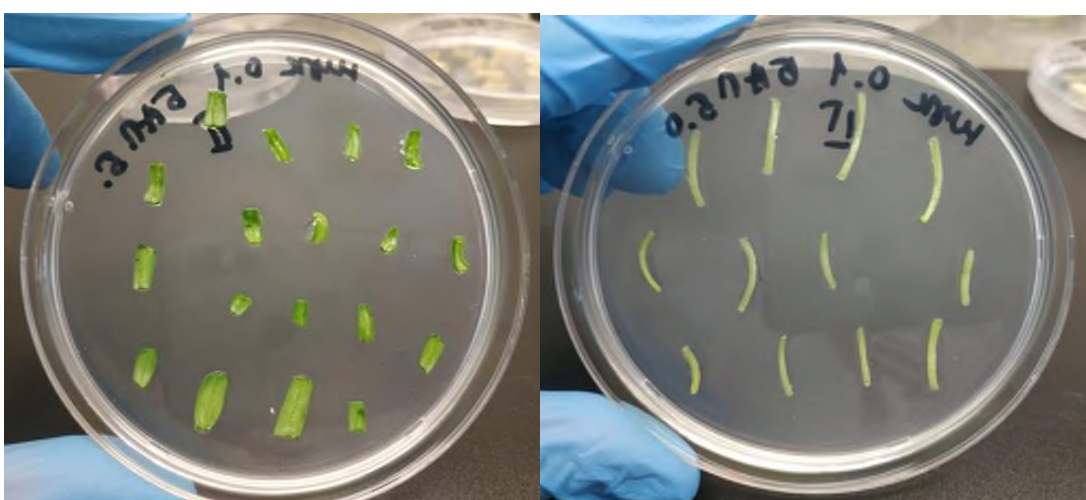


Проращивание семян в стерильных условиях

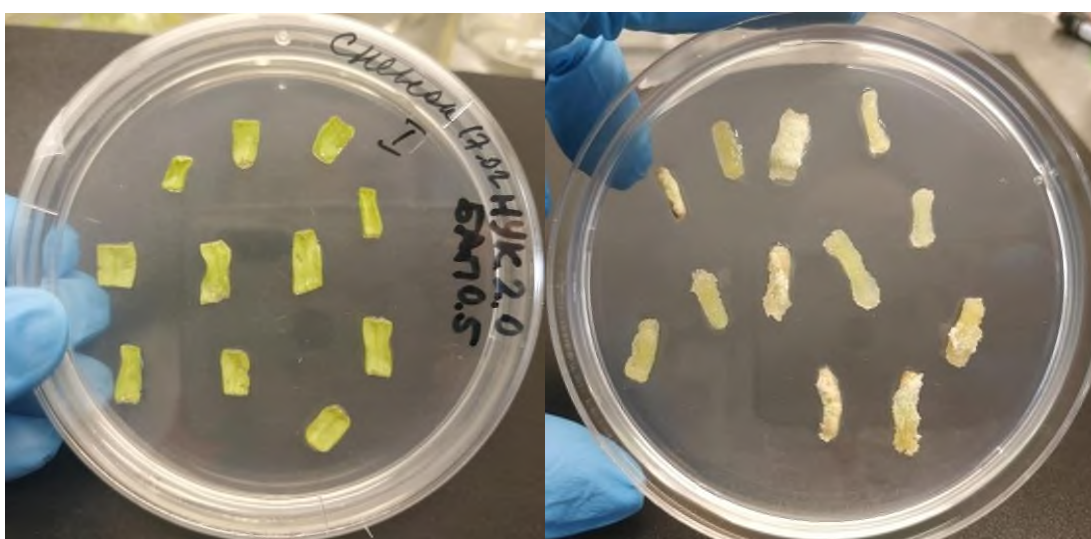




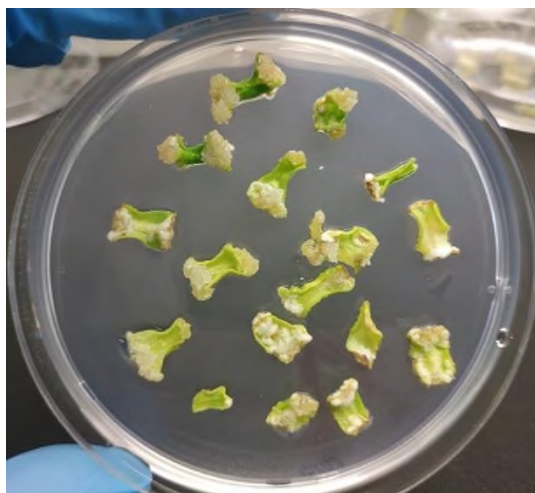
Посадка эксплантов на определённую среду



Состояние эксплантов через неделю культивирования



Состояние эксплантов через 2 недели культивирования



Состояние эксплантов через 3 недели культивирования



Состояние эксплантов через 4 недели культивирования



Состояние эксплантов через 6 недель культивирования



Через 6 недель культивирования образовавшиеся каллусы по морфологии имели обводненную сильно рыхлую структуру желтой окраски, из которых в дальнейшем не образовывались микрорастения. Соответственно состав данной среды не подходит для каллусогенеза растений баклажанов исследуемых сортов.

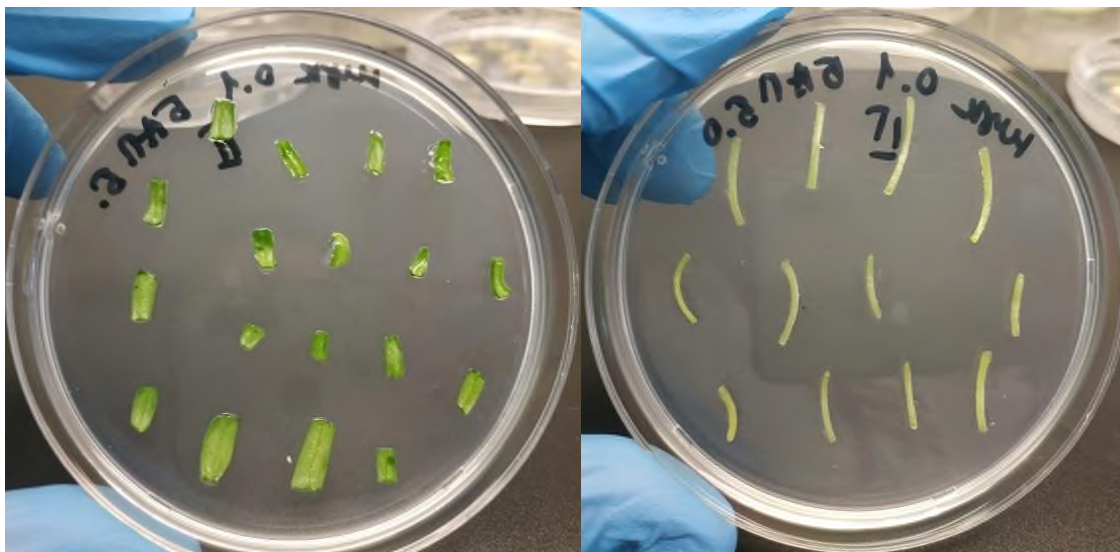
3.4.3. Каллусогенез *S. melongena* на среде МС II

Исследование каллусогенеза на среде МС II, содержащей 5.0 мг/л 6-БАП 0.1 мг/л НУК велось по стандартной схеме (таблица 8). Все эксперименты были проведены на двух сортах: Белоснежка и Снежок.

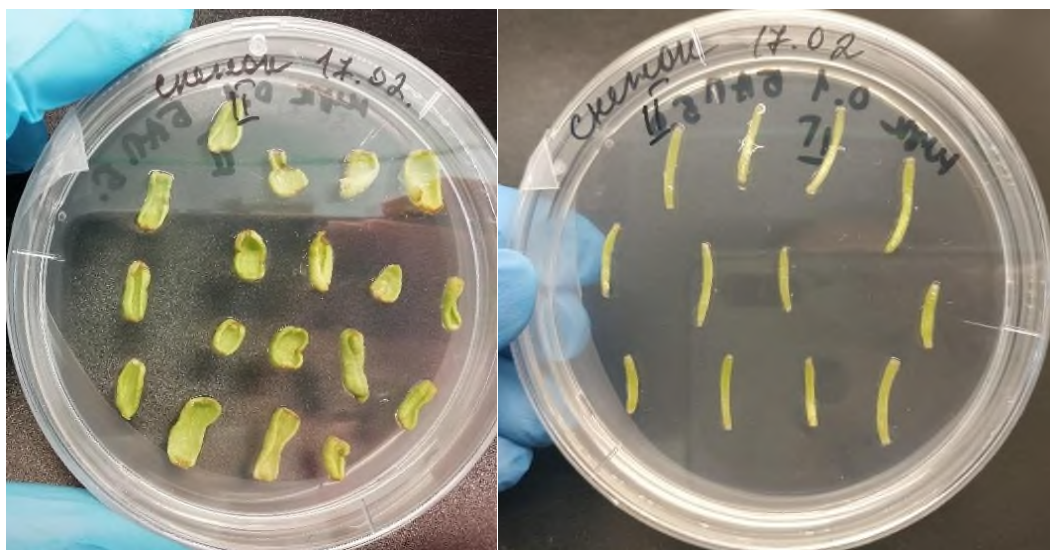
Через 5 недель культивирования гипокотили по морфологии имели сильно обводненную рыхлую структуру желтого цвета. Семядольные экспланты культивировались до 7-8 недели, где образовали наросты в виде корней. Исходя из полученных результатов следует, что состав данной среды не подходит для каллусогенеза растений баклажанов исследуемых сортов.

Таблица 8 – Этапы эксперимента

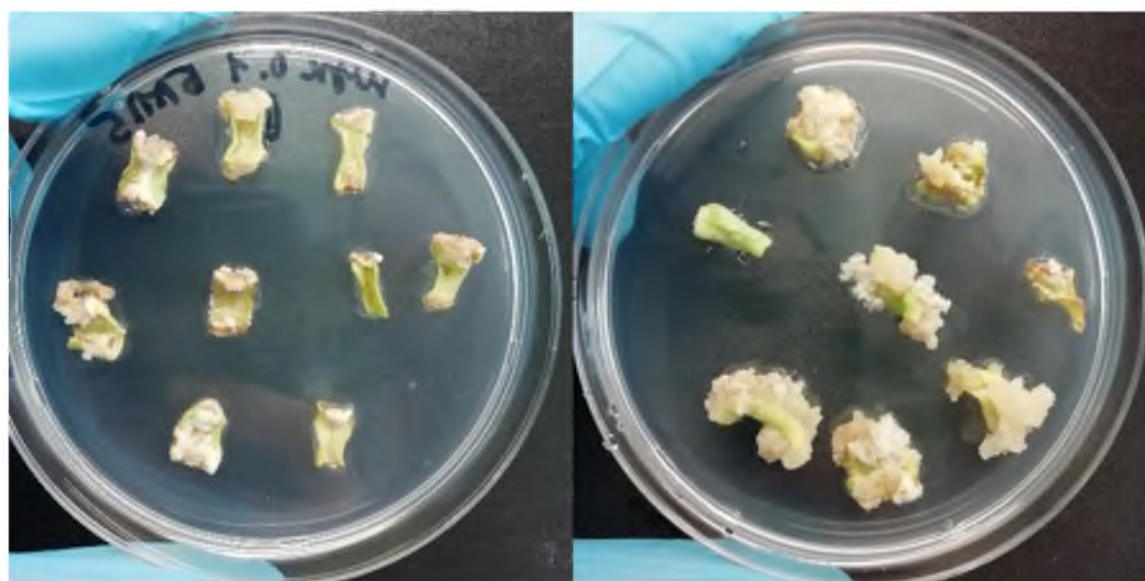
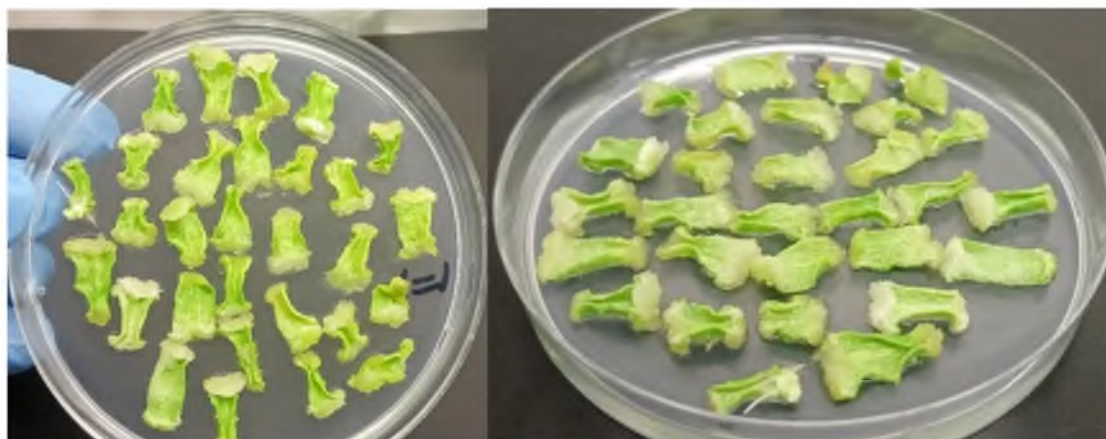
Состояние эксплантов через неделю культивирования



Состояние эксплантов через 2 недели культивирования

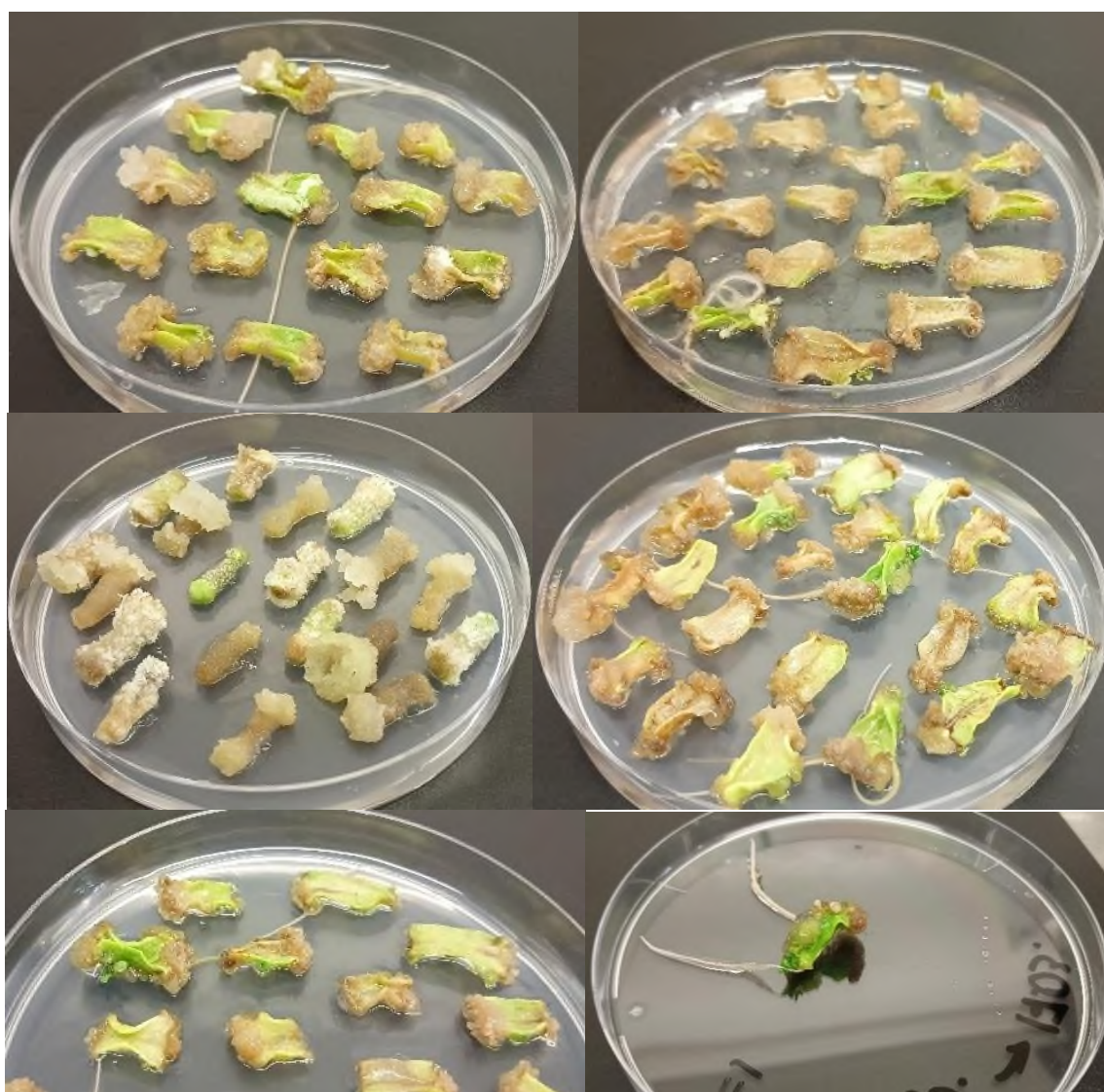


Состояние эксплантов через 3 недели культивирования

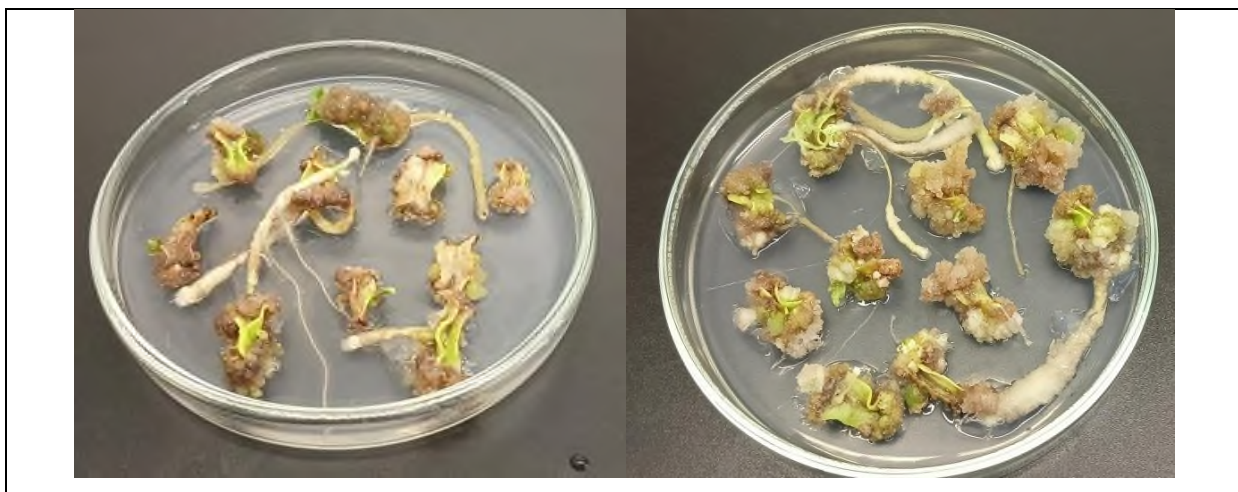




Состояние эксплантов через 5 недель культивирования



Состояние эксплантов через 7 недель культивирования

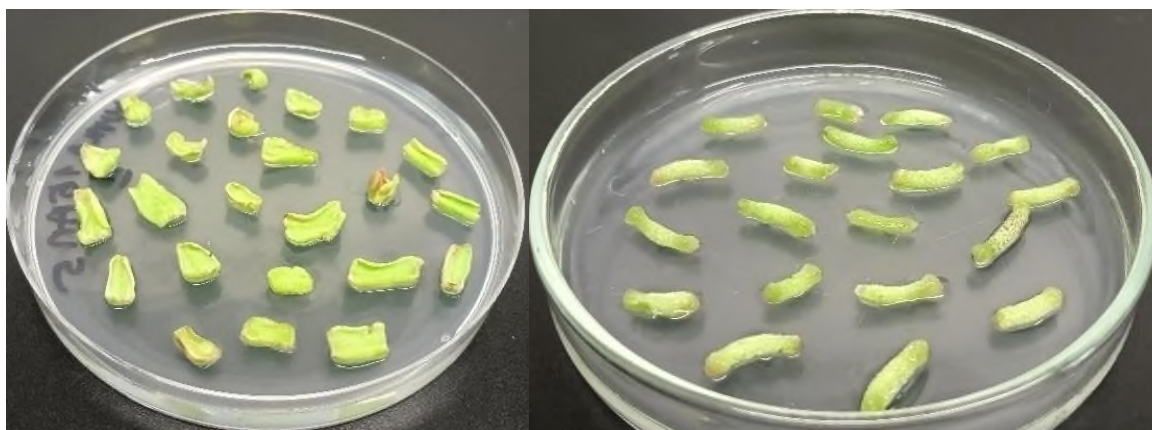


3.4.4. Каллусогенез *S. melongena* на среде МС III

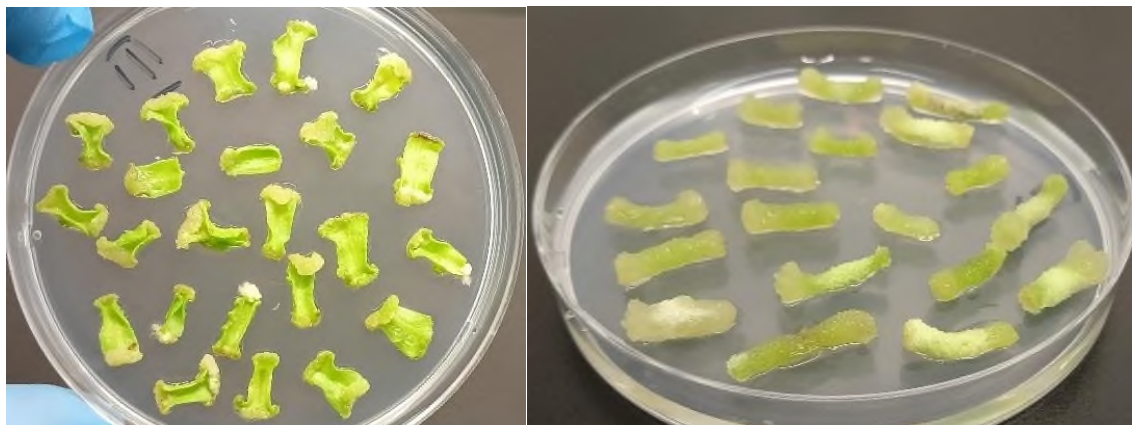
Исследование каллусогенеза на среде МС III, содержащей 2.0 мг/л 6-БАП 0.1 мг/л НУК велось по стандартной схеме (таблица 9). Все эксперименты были проведены на двух сортах: Белоснежка и Снежок.

Таблица 9 – Этапы эксперимента

Состояние эксплантов через неделю культивирования



Состояние эксплантов через 2 недели культивирования



Состояние эксплантов через 3 недели культивирования



Состояние эксплантов через 6 недель культивирования



Через 6 недель культивирования гипокотили по морфологии имели сильно обводненную рыхлую структуру светло-зеленого цвета. Семядольные экспланты культивировались до 7-8 недели, где некоторые каллусы образовали наросты в виде корней, а у некоторых появлялись зачатки микрорастений, которые в дальнейшем пожелтели и погибли. Исходя из полученных результатов, следует, что состав данной среды не подходит для каллусогенеза растений баклажанов исследуемых сортов.

3.4.5. Каллусогенез *S. melongena* на среде МС IV

Исследование каллусогенеза на среде МС IV, содержащей 2.0 мг/л 6-БАП 2.0 мг/л кинетин велось по стандартной схеме (таблица 10). Все эксперименты были проведены на двух сортах: Белоснежка и Снежок.

Таблица 10 – Этапы эксперимента

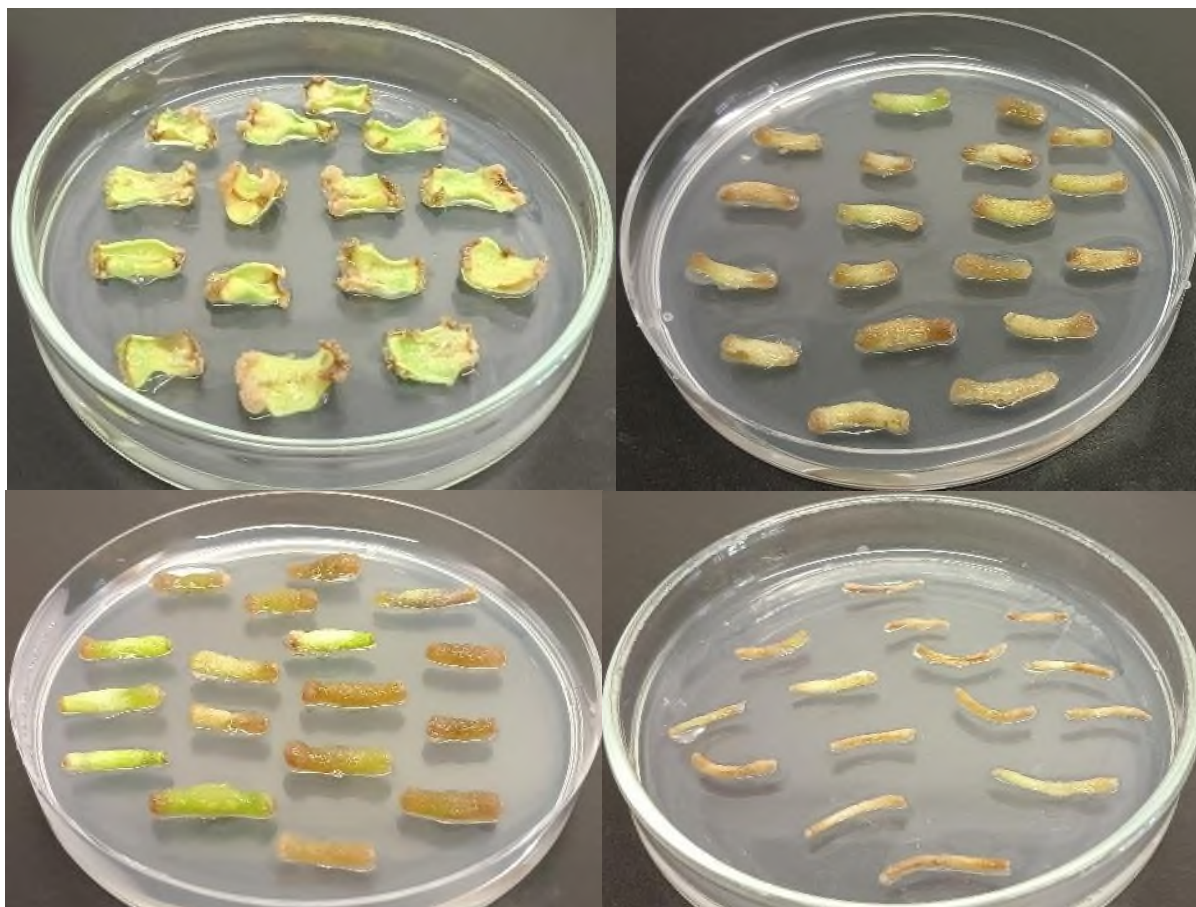
Состояние эксплантов через 1 неделю культивирования



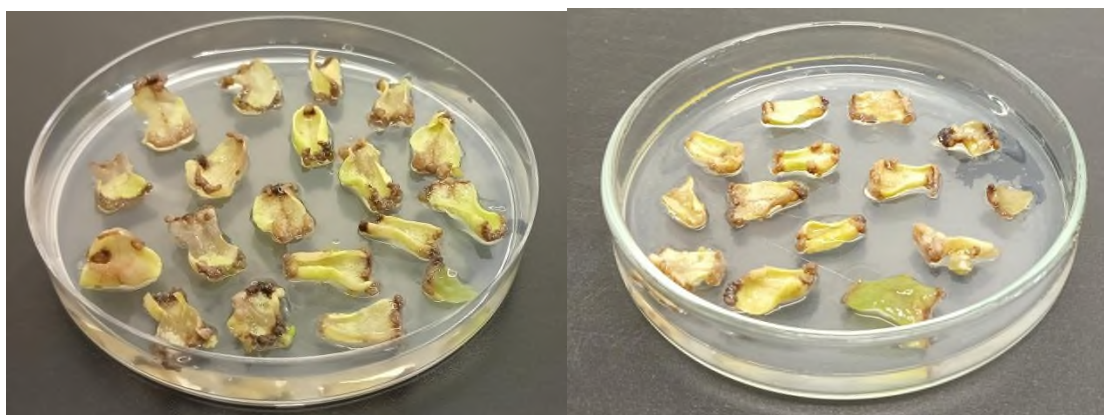
Состояние эксплантов через 2 недели культивирования



Состояние эксплантов через 3 недели культивирования



Состояние эксплантов через 6 недель культивирования



Через 6 недель культивирования гипокотили по морфологии имели обводненную структуру темно-зеленого или коричневого цвета. Семядольные экспланты культивировались до 7 недель, каллусы по краям окрашивались в коричневый цвет и со временем погибали. Исходя из

полученных результатов, следует, что состав данной среды не подходит для каллусогенеза растений баклажанов исследуемых сортов.

3.4.6. Каллусогенез *S. melongena* на среде MC V

Исследование каллусогенеза на среде MC V, содержащей 10.0 мг/л 6-БАП 0.2 мг/л НУК велось по стандартной схеме (таблица 11). Все эксперименты были проведены на двух сортах: Белоснежка и Снежок.

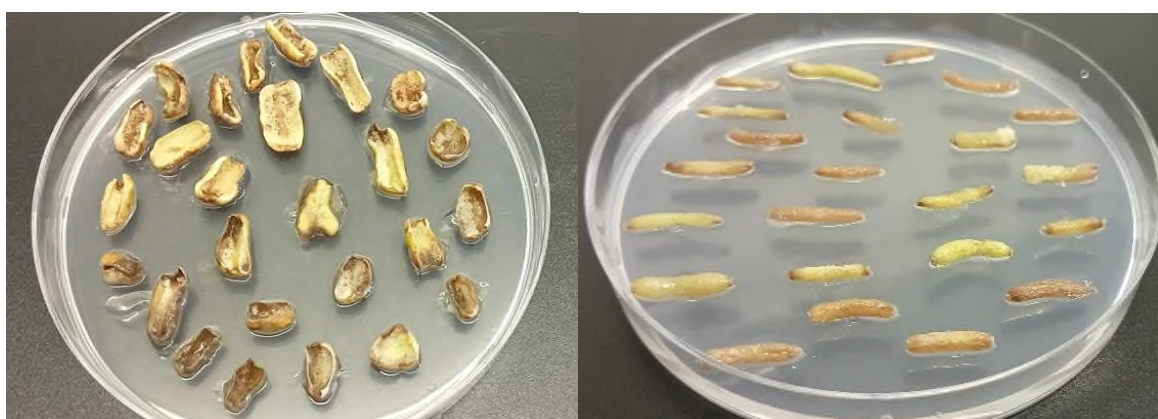
Через 6 недель культивирования гипокотили по морфологии имели обводненную структуру темно-зеленого или коричневого цвета. Семядольные экспланты окрашивались в коричневый цвет сначала по краям, а потом и полностью, затем погибали. Исходя из полученных результатов, следует, что состав данной среды не подходит для каллусогенеза растений баклажанов исследуемых сортов.

Таблица 11 – Этапы эксперимента





Состояние эксплантов через 6 недель культивирования



3.5. Анализ каллусогенеза у растений баклажана

В результате исследований для белоплодных сортов баклажана Белоснежка и Снежок не были подобраны оптимальные регенерационные среды. Через 5-6 недель культивирования гипокотили во всех вариантах сред по морфологии имели обводненную рыхлую структуру от светло-зеленого до коричневого цвета. Семядольные экспланты культивировались до 7-8 недель, кроме варианта 1, где экспланты погибли уже через 5 недель. В варианте 2 некоторые каллусы образовали наросты в виде корней, а у некоторых появлялись зачатки микрорастений, которые в дальнейшем пожелтели и погибли (рисунок 3).



А



Б

Рисунок 3. Начало морфогенеза у семядольных эксплантов в 2 варианте регенерационной среды: А – через 5 недель культивирования; Б – через 7 недель культивирования

В варианте 3 образовывался очень рыхлый каллус белого или светло-коричневого цвета, на которых также появлялись зачатки микрорастений (рисунок 4), но в дальнейшем они также погибли.



Рисунок 4. Образование каллуса на семядольных эксплантах в варианте 3

В вариантах 4 и 5 семядольные экспланты окрашивались в коричневый цвет сначала по краям, а потом и полностью, затем погибали.

Исходя из полученных результатов, следует, что составы использованных регенерационных сред не подходят для каллусогенеза растений баклажанов исследуемых сортов.

ВЫВОДЫ

1. Растения табака *Nicotiana tabacum* L. показали хороший каллусогенез, экспланты активно образовывали каллусы при стандартных условиях культивирования. Наиболее эффективным по образованию каллусов оказался сорт Вирджиния 202, который также хорошо адаптировался в условиях *in vitro*, а в дальнейшем и в почве в лабораторных условиях.

2. Семядольные экспланты и гипокотили растений баклажана *Solanum melongena* L. на пяти регенерационных средах с разными сочетаниями гормонов не образовывали морфогенного каллуса.

3. Для исследуемых сортов табака подходит стандартная регенерационная среда с добавлением гормонов 1.0 мг/л 6-БАП и 0.1 мг/л НУК, для исследуемых сортов баклажана не были подобраны оптимальные сочетания гормонов и их концентрации для эффективного роста каллусов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Одним из важных свойств растений является способность к регенерации *in vitro* из недифференцированных соматических тканей с получением нормальных, фертильных растений. Это свойство тотипотентности позволяет получать генно-модифицированные растения через культуру тканей. Растения табака имеют уникальную способность к быстрому и эффективному каллусообразованию. Благодаря этому *N. tabacum* L. возможно трансформировать плазмидами с целевыми генами и получать взрослые растения, которые не только несут внесённые гены, но также могут передавать их будущим поколениям.

За последние десятилетия описаны очень много работ, где первоначальное изучение изменений биохимических и физиологических параметров после генно-инженерных манипуляций в растениях рассматриваются именно на растениях табака, то есть *N. tabacum* L. выступает как модельная система. Много таких работ по изучению сверхэкспрессии генов, ассоциированных с адаптацией растений к абиотическим стрессам, которые могут повышать устойчивость к ним экономически важных сельскохозяйственных культур. В нашем исследовании подобраны 2 сорта табака курительного – Вирджиния 202 и Блэк Джек, которые возможно использовать в исследованиях *in vitro*. Это дает возможность расширить спектр используемых сортов, которые хорошо адаптируются к росту *in vitro* и в лабораторных условиях.

К сожалению, в рамках нашего исследования не были подобраны оптимальные сочетания гормонов, которые подходили бы для эффективного каллусогенеза разных сортов баклажанов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Вершинина З.Р., Чубукова О. В., Никоноров Ю. М., Хакимова Л. Р., Лавина А. М., Каримова Л. Р., Баймиев Ан. Х., Баймиев А. Х. Влияние сверхэкспрессии гена *rosR* на образование биопленок бактериями *Rhizobium leguminosarum* // Микробиология. 2021. Т. 90. № 2. С. 191-203. doi: 10.31857/S0026365621020154
2. Гвасалия М.В., Маляровская В.И., Рахмангулов Р.С. Влияние регуляторов роста на индукцию каллусогенеза *in vitro* растений чая (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) // Вестник Мичуринского государственного аграрного университета. 2020.
3. Демьянова, Е.И. Ботаническое ресурсоведение: учеб. пособие по спецкурсу / Е.И. Демьянова; Перм. гос. ун-т. Пермь, 2007. 172 с.
4. Захарченко Н.С., Локтюшов Е.В., Рукавцова Е.Б. [и др.] / Получение трансгенных растений, экспрессирующих ген антимикробного пептида бомбини́на // Известия Тульского государственного университета. Естественные науки. 2013. № 3. С. 287-296.
5. Захарченко Н.С., Рукавцова Е.Б., Гудков А.Т., Бурьянов Я.И. Повышенная устойчивость к фитопатогенным бактериям у трансгенных растений табака с синтетическим геном антимикробного пептида цекропина Р1 // Генетика. 2005. Т. 41. С. 1445–1452.
6. Захарченко Н.С., Стрижов Н.И., Школьная Л.А. [и др.] / Новая экспрессионная система для повышенного синтеза антимикробного пептида цекропина Р1 в растениях // Физиология растений. – 2015. – Т. 62. – № 4. – С. 571. – DOI 10.7868/S001533031504020X. – EDN TXUGKV.
7. Кулуев Б.Р., Князев А.В., Бережнева З.А. [и др.] / Трансгенные растения табака как модельный объект при исследовании продуктивности и стрессоустойчивости // Трансгенные растения: технологии создания, биологические свойства, применение, биобезопасность : Сборник статей по материалам VI Всероссийского симпозиума, Москва, 16–21 ноября 2016

года. Москва: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, 2016. С. 105-108.

8. Кулуев Б.Р., Князев А.В., Ильясова А.А., Чемерис А.В. Эктопическая экспрессия генов PnANTL1 и PnANTL2 тополя черного в трансгенных растениях табака // Генетика. 2012. Т. 48. №10. С. 1162–1170.

9. Кулуев Б.Р., Князев А.В., Лебедев Я.П., Чемерис А.В. Морфофизиологическая характеристика трансгенных растений табака, экспрессирующих гены экспансинов AtEXPA10 арабидопсиса и PnEXPA1 тополя // Физиология растений. 2012. Т. 59. №1. С. 108–117.

10. Кулуев Б.Р., Князев А.В., Никоноров Ю.М., Чемерис А.В. Роль генов NtEXPA1 и NtEXPA4 в регуляции клеточного растяжения при росте листьев табака // Генетика. 2014. Т. 50. №5. С. 560–569.

11. Кулуев Б.Р., Князев А.В., Никоноров Ю.М., Чемерис А.В. Эстрадиолиндуцибельная и цветоспецифичная экспрессия генов ARGOS и ARGOS-LIKE в трансгенных растениях табака // Генетика. 2014. Т. 50. №8. С. 918–929.

12. Кулуев Б.Р., Князев А.В., Чемерис А.В., Вахитов В.А. Морфологические особенности трансгенных растений табака, экспрессирующих ген AINTEGUMENTA рапса под контролем промотора вируса мозаики георгина // Онтогенез. 2013. Т. 44. №2. С. 110–114.

13. Кулуев Б.Р., Сафиуллина М.Г., Князев А.В., Чемерис А.В. Влияние эктопической экспрессии гена NtEXPA5 на размеры клеток и рост органов трансгенных растений табака // Онтогенез. 2013. Т. 44. №1. С. 34–41.

14. Хакимова Л.Р., Ибатуллина Г.Ф., Вершинина З.Р. Каллусообразование у растений табака *Nicotiana tabacum* L. разных сортов. // Сборник материалов Всероссийской научной конференции с международным участием, посвященной 60-летию Института биохимии и

генетики Уфимского федерального исследовательского центра РАН. 2022. С. 125-126.

15. Щелкунов С.Н. Генетическая инженерия / С.Н. Щелкунов. Новосибирск: Сибир. Универс., 2004. 496 с.

16. Abu-Romman S.M., Al-Hadid K.A. and Arabiyyat A.R. Kinetin is the most effective cytokinin on shoot multiplication from cucumber. *Journal of Agricultural Science*, 2015.7(10): 159–165.

17. Anand P. and Bley K. Topical capsaicin for pain management: therapeutic potential and mechanisms of action of the new high-concentration capsaicin 8% patch. *Br. J. Anaesth.* 2011; 107: 490–502

18. Arpaia S., Mennella G., Onofaro V., Perri E., Sunseri F. and Rotino G.L. Production of transgenic eggplant (*Solanum melongena* L.) resistant to Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say). *Theoretical and Applied Genetics*, 1997; 95(3): 329–334. <https://doi.org/10.1007/s001220050567>.

19. Ashrafuzzaman M., Hossain M.M., Ismail M.R., Haque M.S., Shahidullah S.M. and Uz-zaman S. Regeneration potential of seedling explants of chilli (*Capsicum annum*). *African Journal of Biotechnology*, 2009; 8(4): 591–596.

20. Aza-González C. et al. Molecular biology of capsaicinoid biosynthesis in chili pepper (*Capsicum* spp.). *Plant Cell Rep.* 2011; 30, 695–706.

21. Bhat S.V., Jadhav A.S., Pawar B.D., Kale A.A., Chimote V.P. and Pawar S.V. In vitro shoot organogenesis and plantlet regeneration in brinjal (*Solanum melongena* L.). *The Bioscan*, 2013; 8(3): 821–824.

22. Bhatti K.H., Jamil M.D. and Tufail.M. Direct organogenesis (shoot and root) of eggplant (*Solanum melongena* L.) through tissue culture. *World Applied Sciences Journal*, 2014; 30(3): 317–321.

23. Bhatti K.H., Kausar N., Rashid U., Hussain K., Nawaz K. and Siddiqi E.H. Effects of biotic stresses on eggplant (*Solanum melongena* L.). *World Applied Sciences Journal*, 2013; 26(3): 302–311.

24. Billings S., Jelenkovic G., Chin C.K. and Eberhardt J. The effect of growth regulators and antibiotics on eggplant transformation. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 1997; 122(2): 158–162.
25. Bogusz S. et al. Brazilian Capsicum peppers: capsaicinoids content and antioxidant activity. *J. Sci. Food Agric.* 2018; 98, 217–224.
26. Borjian L. and Arak.H. A study on the effect of different concentration of plant hormones (BAP, NAA, 2, 4-D, and Kinetin) on callus induction in *Brassica napus*. *International Research Journal of Applied and Basic Sciences*, 2013; 5: 519–521.
27. Casanova A.G., Prieto M., Colino C.I., Gutiérrez-Millán C., Ruszkowska-Ciastek B., de Paz E., Martin A., Morales A.I., López-Hernández F.J. A micellar formulation of quercetin prevents cisplatin nephrotoxicity. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 729.
28. Cermak T. et al. Efficient design and assembly of custom TALEN and other TAL effector-based constructs for DNA targeting. *Nucleic Acids Res.* 2011; 39, e82.
29. Cermák T. et al. High-frequency, precise modification of the tomato genome. *Genome Biol.* 2015; 16, 232.
30. Chapa-Oliver A. and Mejía-Teniente L. Capsaicin: from plants to a cancer-suppressing agent. *Molecules*, 2016; 21, 931
31. Chen Q., Jelenkovic G., Chin C.K., Billings S., Eherhardt J., Goffreda J.C. and Day P. Transfer and transcriptional expression of Coleopteran CryIIIB endotoxin gene of *Bacillus thuringiensis* in eggplant. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 1995; 120(6): 921–927.
32. Collonnier C., Fock I., Kashyap V., Rotino G.L., Daunay M.C., Lian Y., Mariska I.K., Rajam M.V., Servaes A., Ducreux G. and Sihachakr D. (2001). Applications of biotechnology in eggplant. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2001; 65(2): 91–107. <https://doi.org/10.1023/A:1010674425536>.

33. Criscuolo, E., et al. Alternative methods of vaccine delivery: An overview of edible and intradermal vaccines. *Journal of Immunology Research*, 2019, 13.
34. Daniell H., Streatfield S.J., Wycoff K. Medical molecular farming: production of antibodies, biopharmaceuticals and edible vaccines in plants. *Trends Plant Sci* 2001; 6:219e26.
35. Daunay M.C., Aubert S., Frary A. et al. Eggplant (*Solanum melongena*) fruit color: pigments, measurements and genetics. In: *Proceedings of the 12th EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum and Eggplant*. Noordwijkerhout, The Netherlands, 2004;108–16.
36. Daunay M.C., Laterrot H. and Janick.J. Iconography and history of Solanaceae: Antiquity to the 17th century. In J Janick (ed.), *Horticultural Reviews*, Volume 34. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc., pp. 2008. <https://doi.org/10.1002/9780470380147.ch1>
37. Davies P.J. The plant hormones: Their nature, occurrence, and functions. In: P.J. Davies (ed.), *Plant hormones: Physiology, biochemistry and molecular biology*. Dordrecht: Springer Netherlands, 1995; 1–12. https://doi.org/10.1007/978-94-011-0473-9_1.
38. Deshwal R.K. and Trivedi P. Effect of kinetin on enhancement of tuberous root production of *Chlorophytum borivillianum*. *International Journal of Innovations in Biological and Chemical Sciences*, 2001; 1: 28–31.
39. Díaz A.H., Koop H.U. *Nicotiana tabacum*: PEG-mediated plastid transformation. *Methods Mol Biol*. 2014; 1132:165-75. doi: 10.1007/978-1-62703-995-6_9. PMID: 24599852.
40. Fári M., Nagy I., Csányi M., Mitykó J. and Andrásfalvy A. Agrobacterium mediated genetic transformation and plant regeneration via organogenesis and somatic embryogenesis from cotyledon leaves in eggplant (*Solanum melongena* L. cv. ‘Kecskemetilila’). *Plant Cell Reports*, 1995; 15(1–2): 82–86. <https://doi.org/10.1007/BF01690259>.
41. Foo P.C., Lee Z.H., Chin C.K., Subramaniam S. and Chew B.L.

Shoot induction in white eggplant (*Solanum melongena* L. cv. bulat putih) using 6-benzylaminopurine and kinetin. Tropical Life Sciences Research, 2018; 29(2): 119–129. <https://doi.org/10.21315/tlsr2018.29.2.9>

42. Franklin G., Sheeba C.J. and Sita G.L. Regeneration of eggplant (*Solanum melongena* L.) from root explants. In Vitro Cellular and Developmental Biology–Plant, 2004; 40(2): 188–191. <https://doi.org/10.1079/IVP2003491>.

43. Fukuoka H., Yamaguchi H., Nunome T., Negoro S., Miyatake K. and Ohyama A. Accumulation, functional annotation, and comparative analysis of expressed sequence tags in eggplant (*Solanum melongena* L.), The third pole of the genus *Solanum* species after tomato and potato. Gene, 2010; 450(1): 76–84. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2009.10.006>

44. Giddings G., Allison G., Brooks D., Carter A. Transgenic plants as factories for biopharmaceuticals. Nat Biotechnol, 2000; 18:1151e5.

45. Goldstein D.A., Thomas J.A. Biopharmaceuticals derived from genetically modified plants. Q J Med, 2004; 97:705e16.

46. Hardy G. Nutraceuticals and functional foods: introduction and meaning. Nutrition, 2000; 16: 688–689.

47. Harvey A.L., Edrada-Ebel R., Quinn R.J. The re-emergence of natural products for drug discovery in the genomics era. Nat. Rev. Drug Discov. 2015, 14, 111.

48. He Z.-M. et al. Assessment of the utility of the tomato fruit-specific E8 promoter for driving vaccine antigen expression. Genetica, 2008; 133, 207–214

49. Holmgren J., Czerkinsky C. Mucosal immunity and vaccines. Nature Medicine, 2005; 11, 45–53.

50. Hou H. et al. New biotechnology enhances the application of cisgenesis in plant breeding. Front. Plant Sci. 2014; 5, 389.

51. Huang T.K., Armstrong B., Schindele P., Puchta H. Efficient gene targeting in *Nicotiana tabacum* using CRISPR/SaCas9 and temperature tolerant

LbCas12a. Plant Biotechnol J. 2021 Jul;19(7):1314-1324. doi: 10.1111/pbi.13546. Epub 2021 Jan 28. PMID: 33511745; PMCID: PMC8313123.

52. Huda A., Bari M.A., Rahman M. and Nahar N. Somatic embryogenesis in two varieties of eggplant (*Solanum melongena* L.). Research Journal of Botany, 2007; 2: 195–201. <https://doi.org/10.3923/rjb.2007.195.201>

53. Jamil M.D., Parvaiz M., Tufail M., Arshad J., Hussain S. and Imtiaz S. Callogenesis, regeneration of shoot and root of brinjal (*Solanum melongena* L.). World Applied Sciences Journal, 2013; 26: 1039–1045.

54. Kashyap V., Kumar S.V., Collonnier C., Fusari F., Haicour R., Rotino G.L. and Rajam M.V. Biotechnology of eggplant. Scientia Horticulturae, 2003; 97(1): 1–25. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(02\)00140-1](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(02)00140-1)

55. Kasprzak-Drozd K., Oniszczyk T., Soja J., Gancarz M., Wojtunik-Kulesza K., Markut-Miotła E., Oniszczyk A. The efficacy of black chokeberry fruits against cardiovascular diseases. Int. J. Mol. Sci. 2021, 22, 6541.

56. Kaviani B., Hesar A.A., Tarang A., Zanjani S.B., Hashemabadi D. and Ansari M.H. Effect of kinetin (Kn) and naphthalene acetic acid (NAA) on the micropropagation of *Matthiola incana* using shoot tips, and callus induction and root formation on the leaf explants. African Journal of Agricultural Research, 2013; 8(30): 4134–4139.

57. Kim S. et al. Genome sequence of the hot pepper provides insights into the evolution of pungency in *Capsicum* species. Nat. Genet. 2014; 46, 270–278.

58. Kuluev B.R., Avalbaev A.M., Nurgaleeva E.Z., Knyazev A.V., Nikonorov Y.M., Chemeris A.V. Role of AINTEGUMENTA-like gene NtANTL in the regulation of tobacco organ growth // Journal of Plant Physiology. 2015. V. 189. P. 11–23.

59. Kuluev B.R., Knyazev A.V., Mikhaylova E.V., Ermoshin A.A., Nikonorov Y.M., Chemeris A.V. The poplar ARGOS-LIKE gene promotes leaf initiation and cell expansion, and controls organ size // *Biologia Plantarum*. 2016. V. 60. P. 513–522.
60. Kurup V.M., Thomas J. Edible Vaccines: Promises and Challenges. *Mol Biotechnol*. 2020 Feb;62(2): 79-90. doi: 10.1007/s12033-019-00222-1. PMID: 31758488; PMCID: PMC7090473.
61. Lowder L.G. et al. A CRISPR/Cas9 toolbox for multiplexed plant genome editing and transcriptional regulation. *Plant Physiol*. 2015 169, 971–985
62. Lowder L.G. et al. Robust transcriptional activation in plants using multiplexed CRISPR–Act2. 0 and mTALE–Act systems. *Mol. Plant*, 2018; 11, 245–256
63. Lu W., Shi Y., Wang R., Su D., Tang M., Liu Y., Li Z. Antioxidant activity and healthy benefits of natural pigments in fruits: A Review. *Int. J. Mol. Sci*. 2021, 22, 4945.
64. Lycke N. Recent progress in mucosal vaccine development: Potential and limitations. *Nature Reviews Immunology*, 2012; 12(8), 592–605.
65. Lycke N., Bemark M. Mucosal adjuvants and longterm memory development with special focus on CTA1-DD and other ADP-ribosylating toxins. *Mucosal Immunology*, 2010; 3(6), 556–566.
66. Ma J.K., Barros E., Bock R., Christou P., Dale P.J., Dix P.J., et al. European Union Framework 6 Pharma-Planta Consortium: molecular farming for new drugs and vaccines. *EMBO Rep* 2005; 6:593e9.
67. Ma J.K.C., Drake P.M.W., Christou P. The production of recombinant pharmaceuticals in plants. *Nat Rev Genet* 2003; 4:794e805.
68. Magioli C. and Mansur E. Eggplant (*Solanum melongena* L.): Tissue culture, genetic transformation and use as an alternative model plant. *Acta Botanica Brasilica*, 2005; 19(1): 139–148. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062005000100013>
69. Magioli C., Pinheiro M.M. and Mansur E. Establishment of an

efficient *Agrobacterium*-mediated transformation system for eggplant and study of a potential biotechnologically useful promoter. *Journal of Plant Biotechnology*, 2000; 2(1): 43–49.

70. Magioli C., Rocha A.P.M, De Oliveira D.E. and Mansur E. Efficient shoot organogenesis of eggplant (*Solanum melongena* L.) induced by thidiazuron. *Plant Cell Reports*, 1998; 17(8): 661–663. <https://doi.org/10.1007/s002990050461>.

71. Martin C. and Li J. Medicine is not health care, food is health care: plant metabolic engineering, diet and human health. *New Phytol.* 2017; 216, 699–719

72. Martin C. et al. Plants, diet, and health. *Annu. Rev. Plant Biol.* 2013; 64, 19–46.8

73. Masek A., Cichosz S., Piotrowska M. Biocomposites of epoxidized natural rubber/poly (lactic acid) modified with natural fillers (Part I). *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 3150.

74. Mazourek M. et al. A dynamic interface for capsaicinoid systems biology. *Plant Physiol.* 2009; 150, 1806–1821.

75. Mett V., Farrance C.E., Green B.J., Yusibov V. Plants as biofactories. *Biologicals*, 2008; 36: 354–358. [doi:10.1016/j.biologicals.2008.09.001](https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2008.09.001).

76. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant.* 1962. V. 15. P. 473–497.

77. Naves E.R., Lucas de Ávila Silva, Sulpice R., Araújo W.L., Nunes-Nesi A., Lázaro E.P. Peres and Agustin Zsögön. Capsaicinoids: Pungency beyond Capsicum. *Trends in Plant Science*, February 2019, Vol. 24, No. 2, 109–120

78. Niggeweg R., Michael A.J. and Martin C. Engineering plants with increased levels of the antioxidant chlorogenic acid. *Nature Biotechnology*, 2004; 22(6): 746–754. <https://doi.org/10.1038/nbt966>

79. Osorio S. et al. Integrative comparative analyses of transcript and metabolite profiles from pepper and tomato ripening and development stages uncovers species-specific patterns of network regulatory behavior. *Plant Physiol.* 2012; 159, 1713–1729.
80. Penney C.A., et al. Plant-made vaccines in support of the millennium development goals. *Plant Cell Reports*, 2011; 30, 789–798.
81. Prabhavathi V., Yadav J.S., Kumar P.A. and Rajam M.V. Abiotic stress tolerance in transgenic eggplant (*Solanum melongena* L.) by introduction of bacterial mannitol phosphodehydrogenase gene. *Molecular Breeding*, 2002; 9(2): 137–147. <https://doi.org/10.1023/A:1026765026493>.
82. Pratap D., Kumar S., Raj S.K. and Sharma A.K. Agrobacterium-mediated transformation of eggplant (*Solanum melongena* L.) using cotyledon explants and coat protein gene of cucumber mosaic virus. *Indian Journal of Biotechnology*, 2011; 10(1): 19–24.
83. Rahman M., Asaduzzaman M., Nahar N. and Bari M.A. Efficient plant regeneration from cotyledon and midrib derived callus in eggplant (*Solanum melongena* L.). *Journal of Biosciences*, 2006; 14: 31–38.
84. Rattan P., Kumar S., Salgotra R.K., Samnotra R.K. and Sharma F. Development of interspecific F1 hybrids (*Solanum melongena* × *Solanum khasianum*) in eggplant through embryo rescue technique. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2015; 120(1): 379–386. <https://doi.org/10.1007/s11240-014-0591-4>.
85. Riefler M., Novak O., Strnad M. and Schmülling T. Arabidopsis cytokinin receptor mutants reveal functions in shoot growth, leaf senescence, seed size, germination, root development, and cytokinin metabolism. *The Plant Cell*, 2006; 18: 40–54. <https://doi.org/10.1105/tpc.105.037796>.
86. Robinson J.P. and Saranya S. An improved method for the In Vitro propagation of *Solanum melongena* L. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2013; 2(6): 299–306.
87. Rodriguez de S.D.V. and Hadley M. Chlorogenic acid modifies

plasma and liver concentrations of: cholesterol, triacylglycerol, and minerals in (fa/fa) Zucker rats. *Journal of Nutritional Biochemistry*; 2002; 13(12): 717–726. [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(02\)00231-0](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(02)00231-0).

88. Rotino G.L. and Gleddie S. Transformation of eggplant (*Solanum melongena* L.) using a binary *Agrobacterium tumefaciens* vector. *Plant Cell Reports*, 1990; 9(1): 26–29. <https://doi.org/10.1007/BF00232129>

89. Rotino G.L. Anther culture in eggplant (*Solanum melongena* L.). *Methods in Molecular Biology*, 2016; 1359: 453–66. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3061-6_25.

90. Salas P., Rivas-Sendra A., Prohens J. and Seguí-Simarro J.M. Influence of the stage for anther excision and heterostyly in embryogenesis induction from eggplant anther cultures. *Euphytica*, 2012; 184(2): 235–250. <https://doi.org/10.1007/s10681-011-0569-9>.

91. Sanjana N.E. et al. A transcription activator-like effector toolbox for genome engineering. *Nat. Protoc.*, 2012; 7, 171–192.

92. Sarker R.H., Yesmin S. and Hoque M.I. Multiple shoot formation in eggplant (*Solanum melongena* L.). *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, 2006; 16(1): 53–61.

93. Saxena J., Rawat S. Edible vaccines. In *Advances in biotechnology*, 2014; pp. 207–226.

94. Scalzo R.L., Fibiani M., Francese G., D'Alessandro A., Rotino G.L., Conte P. and Mennell G. Cooking influence on physico-chemical fruit characteristics of eggplant (*Solanum melongena* L.). *Food Chemistry*, 2016; 194: 835–842. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.063>.

95. Schouten H.J. and Jacobsen E. Cisgenesis and intragenesis, sisters in innovative plant breeding. *Trends Plant Sci.*, 2008; 13, 260–261.

96. Shah S.H., Ali S., Jan S.A., Din J. and Ali G.M. Callus induction, in-vitro shoot regeneration and hairy root formation by the assessment of various plant growth regulators in tomato (*Solanum lycopersicum* Mill.). *Journal of Animal and Plant Sciences*, 2015; 25(2):

528–538.

97. Sharma P. and Rajam M.V. Genotype, explant and position effects on organogenesis and somatic embryogenesis in eggplant (*Solanum melongena* L.). *Journal of Experimental Botany*, 1995; 46(1): 135–141. <https://doi.org/10.1093/jxb/46.1.135>
98. Sidhu M.K., Dhatt A.S., Sandhu J.S. and Gosal S.S. Biolistic transformation of cry 1Ac gene in eggplant (*Solanum melongena* L.). *International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology*, 2014; 7(4): 679.
99. Soundararajan P., Park S.G., Won S.Y., Moon M.S., Park H.W., Ku K.M., Kim J.S. Influence of genotype on high glucosinolate synthesis lines of *Brassica rapa*. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 7301.
100. Spiller F. et al. Anti-inflammatory effects of red pepper (*Capsicum baccatum*) on carrageenan- and antigen-induced inflammation. *J. Pharm. Pharmacol.*, 2008; 60, 473–478
101. Sun H., Lang Z., Zhu L., Huang D. Acquiring transgenic tobacco plants with insect resistance and glyphosate tolerance by fusion gene transformation. *Plant Cell Rep.* 2012 Oct;31(10):1877-87. doi: 10.1007/s00299-012-1301-5. Epub 2012 Jul 10. PMID: 22777591.
102. Sun H., Sun X., Wang H., Ma X. Advances in salt tolerance molecular mechanism in tobacco plants. *Hereditas*, 2020; 157(1), 5. <https://doi.org/10.1186/s41065-020-00118-0>.
103. Swamynathan B., Nadanakunjidam S., Ramamourti A., Sindhu K. and Ramamoorthy D. In vitro plantlet regeneration through somatic embryogenesis in *Solanum melongena* (Thengaithittu variety). *Academic Journal of Plant Sciences*, 2010; 3(2): 64–70.
104. Tucker M.R. and Laux T. Connecting the paths in plant stem cell regulation. *Trends in Cell Biology*, 2007; 17(8): 403–410. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2007.06.002>.
105. Van Dijk A.E., Olthof M.R., Meeuse J.C., Seebus E., Heine R.J.

and Van Dam R.M. Acute effects of decaffeinated coffee and the major coffee components chlorogenic Acid and trigonelline on glucose tolerance. *Diabetes Care*, 2009; 32(6): 1023–1025. <https://doi.org/10.2337/dc09-0207>.

106. Varghese S. et al. Chili pepper as a body weight-loss food. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 2017; 68, 392–401.

107. Wang F., Li G., Chen S., Jiang Y. and Wang S. Callus induction and cell suspension culture of eggplant (*Solanum melongena* L.). *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2013; 14(9): 1220.

108. Wang J., et al. Single mucosal, but not parenteral, immunization with recombinant adenoviralbased vaccine provides potent protection from pulmonary tuberculosis. *Journal of Immunology*, 2004; 173(10), 6357–6365.

109. Zarrelli A. Plants as biofactories to produce Food, medicines, and materials for a true green revolution. *Int. J. Mol. Sci.*, 2022; 23, 5827. doi:10.3390/ijms23105827.

110. Zayova E., Nikova V., Ilieva K. and Philipov P. Callusogenesis of eggplant (*Solanum melongena* L.). *Comptes Rendus de l'Academie Bulgare Des Sciences*, 2008; 63(12): 1749–1756.

111. Zvirin T., Magrisso L., Yaari A., Shoseyov O. Stable Expression of Adalimumab in *Nicotiana tabacum*. *Mol Biotechnol.*, 2018 Jun;60(6):387-395. doi: 10.1007/s12033-018-0075-6. PMID: 29616400.

Отчет о проверке на заимствования №1



Автор: Ибатуллина Гульназ Флюровна
Проверяющий: Халитова Рита Камилевна
Организация: Башкирский государственный медицинский университет
Отчет предоставлен сервисом «Антиплагиат» - <http://bashgmu.antiplagiat.ru>

ИНФОРМАЦИЯ О ДОКУМЕНТЕ

№ документа: 2308
Начало загрузки: 31.05.2023 16:26:53
Длительность загрузки: 00:00:20
Имя исходного файла:
Ибатуллина_ВКР_Б-401Б.docx
Название документа:
Ибатуллина_ВКР_Б-401Б
Размер текста: 82 кБ
Тип документа: Выпускная квалификационная работа
Символов в тексте: 84389
Слов в тексте: 10363
Число предложений: 1378

ИНФОРМАЦИЯ ОБ ОТЧЕТЕ

Начало проверки: 31.05.2023 16:27:14
Длительность проверки: 00:02:26
Корректировка от 31.05.2023 16:54:10
Комментарии: [Автосохраненная версия]
Поиск с учетом редактирования: да
Проверенные разделы: основная часть с. 4-72
Модули поиска: ИПС Адилет, Модуль поиска "БГМУ", Библиография, Сводная коллекция ЭБС, Интернет Плюс*, Сводная коллекция РГБ, Цитирование, Переводные заимствования (RuEn), Переводные заимствования по eLIBRARY.RU (EnRu), Переводные заимствования по Интернету (EnRu), Переводные заимствования издательства Wiley, eLIBRARY.RU, СПС ГАРАНТ: аналитика, СПС ГАРАНТ: нормативно-правовая документация, Медицина, Диссертации НББ, Коллекция НБУ, Перефразирования по eLIBRARY.RU, Перефразирования по СПС ГАРАНТ: аналитика, Перефразирования по Интернету, Перефразирования по Интернету (EN), Патенты СССР, РФ, СНГ, СМИ России и СНГ, Шаблонные фразы, Кольцо вузов, Издательство Wiley, Переводные заимствования



СОВПАДЕНИЯ	САМОЦИТИРОВАНИЯ	ЦИТИРОВАНИЯ	ОРИГИНАЛЬНОСТЬ
9,13%	0%	0%	90,87%

Совпадения — фрагменты проверяемого текста, полностью или частично сходные с найденными источниками, за исключением фрагментов, которые система отнесла к цитированию или самоцитированию. Показатель «Совпадения» — это доля фрагментов проверяемого текста, отнесенных к совпадениям, в общем объеме текста.

Самоцитирования — фрагменты проверяемого текста, совпадающие или почти совпадающие с фрагментом текста источника, автором или соавтором которого является автор проверяемого документа. Показатель «Самоцитирования» — это доля фрагментов текста, отнесенных к самоцитированию, в общем объеме текста.

Цитирования — фрагменты проверяемого текста, которые не являются авторскими, но которые система отнесла к корректно оформленным. К цитированиям относятся также шаблонные фразы; библиография; фрагменты текста, найденные модулем поиска «СПС Гарант: нормативно-правовая документация». Показатель «Цитирования» — это доля фрагментов проверяемого текста, отнесенных к цитированию, в общем объеме текста.

Текстовое пересечение — фрагмент текста проверяемого документа, совпадающий или почти совпадающий с фрагментом текста источника.

Источник — документ, проиндексированный в системе и содержащийся в модуле поиска, по которому проводится проверка.

Оригинальный текст — фрагменты проверяемого текста, не обнаруженные ни в одном источнике и не отмеченные ни одним из модулей поиска. Показатель «Оригинальность» — это доля фрагментов проверяемого текста, отнесенных к оригинальному тексту, в общем объеме текста.

«Совпадения», «Цитирования», «Самоцитирования», «Оригинальность» являются отдельными показателями, отображаются в процентах и в сумме дают 100%, что соответствует полному тексту проверяемого документа.

Обращаем Ваше внимание, что система находит текстовые совпадения проверяемого документа с проиндексированными в системе источниками. При этом система является вспомогательным инструментом, определение корректности и правомерности совпадений или цитирований, а также авторства текстовых фрагментов проверяемого документа остается в компетенции проверяющего.

№	Доля в тексте	Доля в отчете	Источник	Актуален на	Модуль поиска	Комментарии
[01]	28,51%	0%	не указано	29 Сен 2022	Библиография	
[02]	12,24%	0,56%	http://www.tlsr.usm.my/tlsr29022018/29022018_09.pdf http://tlsr.usm.my	31 Мая 2023	Интернет Плюс*	
[03]	5,08%	0%	https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/122295/... https://riunet.upv.es	31 Мая 2023	Интернет Плюс*	
[04]	4,05%	0%	Development of Economically Important Stress Tolera... https://shodhganga.inflibnet.ac.in	31 Мая 2023	Интернет Плюс*	
[05]	3,58%	3,01%	Гумерова, Гульнар Рафиловна Физиологические ха... http://dlib.rsl.ru	01 Янв 2018	Сводная коллекция РГБ	
[06]	3,56%	0,07%	"Development of double haploids for production of ba... https://krishikosh.egranth.ac.in	31 Мая 2023	Интернет Плюс*	
[07]	3,24%	0%	Capsaicinoids: Pungency beyond Capsicum: Trends in ... https://cell.com	25 Мая 2023	Интернет Плюс*	
[08]	3,24%	0%	Capsaicinoids: Pungency beyond Capsicum: Trends in ... https://cell.com	28 Ноя 2022	Интернет Плюс*	
[09]	2,89%	0,24%	Физиологические характеристики трансформирова... http://ippras.ru	17 Окт 2019	Интернет Плюс*	
[10]	2,23%	0%	https://ippras.ru/Diss_Sovet/sostav-soveta-po-zashchi... https://ippras.ru	23 Мая 2022	Интернет Плюс*	
[11]	2,23%	0%	https://ippras.ru/Diss_Sovet/sostav-soveta-po-zashchi... https://ippras.ru	06 Июн 2022	Интернет Плюс*	
[12]	1,81%	0,16%	Ильсцова, Альбина Абузаровна диссертация ... канд... http://dlib.rsl.ru	раньше 2011	Сводная коллекция РГБ	

[13]	1,79%	0%	Кулуев, Булат Разяпович Молекулярные механизм... http://dlib.rsl.ru	27 Дек 2019	Сводная коллекция РГБ	
[14]	1,75%	0%	Кулуев, Булат Разяпович Молекулярные механизм... http://dlib.rsl.ru	24 Дек 2015	Сводная коллекция РГБ	
[15]	1,58%	0%	https://mdpi-res.com/d_attachment/ijms/ijms-23-0582... https://mdpi-res.com	31 Мая 2023	Интернет Плюс*	
[16]	1,54%	0,45%	МАТЕРИАЛЫ Часть I Второе издание - PDF https://docplayer.ru	18 Мая 2019	Интернет Плюс*	
[17]	1,44%	0%	https://biomicsj.ru/upload/iblock/92c/5.pdf https://biomicsj.ru	10 Фев 2022	Интернет Плюс*	
[18]	1,43%	0%	Biotechnology of eggplant. http://elibrary.ru	24 Авг 2003	eLIBRARY.RU	
[19]	1,4%	1,4%	Агробактериальная трансформация картофеля. http://elibrary.ru	15 Ноя 2015	Перефразирования по eLIBRARY.RU	
[20]	1,31%	0%	Верба, Вадим Михайлович диссертация ... кандидата... http://dlib.rsl.ru	раньше 2011	Сводная коллекция РГБ	
[21]	1,28%	0%	https://www.diamond-congress.hu/shared/eucarpia20... https://diamond-congress.hu	06 Сен 2022	Интернет Плюс*	
[22]	1,13%	0,97%	Е. И. Демьянова ; Федеральное агентство по образо... http://dlib.rsl.ru	21 Фев 2019	Сводная коллекция РГБ	
[23]	1,08%	0%	Capsicum annuum (hot pepper): An ancient Latin-Ame... https://doi.org	22 Янв 2021	Издательство Wiley	
[24]	1,04%	0%	http://agrosym.ues.rs.ba/article/showpdf/BOOK_OF_P... http://agrosym.ues.rs.ba	09 Апр 2022	Интернет Плюс*	
[25]	1,04%	0,13%	НОВАЯ ЭКСПРЕССИОННАЯ СИСТЕМА ДЛЯ ПОВЫШЕ... http://elibrary.ru	11 Июл 2015	eLIBRARY.RU	
[26]	1,02%	0%	«Ботаническое ресурсование» http://psu.ru	08 Дек 2016	Интернет Плюс*	
[27]	0,97%	0%	Phenylpropanoids Accumulation in Eggplant Fruit: Cha... https://frontiersin.org	01 Фев 2021	СМИ России и СНГ	
[28]	0,93%	0,04%	«Ботаническое ресурсование» http://psu.ru	30 Янв 2017	Перефразирования по Интернету	
[29]	0,89%	0%	https://biomicsj.ru/upload/iblock/120/7.pdf https://biomicsj.ru	09 Янв 2023	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[30]	0,88%	0%	http://www.sifibr.irk.ru/images/conference/ofr2018/mr... http://sifibr.irk.ru	07 Окт 2022	Интернет Плюс*	
[31]	0,8%	0%	Молекулярно-генетические и биохимические мето... http://bibliorossica.com	26 Мая 2016	Сводная коллекция ЭБС	
[32]	0,8%	0%	66252 http://e.lanbook.com	09 Мар 2016	Сводная коллекция ЭБС	
[33]	0,8%	0%	8803 http://e.lanbook.com	09 Мар 2016	Сводная коллекция ЭБС	
[34]	0,8%	0%	под ред. Вл. В. Кузнецова, В. В. Кузнецова, Г. А. Рома... http://dlib.rsl.ru	01 Дек 2014	Сводная коллекция РГБ	
[35]	0,78%	0%	https://ofr.su/assets/files/annual/proceedings_vol_1_e... https://ofr.su	04 Апр 2022	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[36]	0,78%	0%	Молекулярно-генетические и биохимические мето... http://studentlibrary.ru	20 Дек 2016	Медицина	
[37]	0,78%	0%	Молекулярно-генетические и биохимические мето... http://studentlibrary.ru	20 Дек 2016	Медицина	
[38]	0,66%	0%	https://biomicsj.ru/upload/iblock/739/bmcs19114378.p... https://biomicsj.ru	06 Июн 2022	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[39]	0,66%	0%	Лаборатории кафедры биохимии и биотехнологии ... https://bashedu.ru	23 Мар 2021	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[40]	0,66%	0%	не указано	29 Сен 2022	Шаблонные фразы	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[41]	0,66%	0,01%	Получение трансгенных растений картофеля, устой... http://dep.nlb.by	04 Июл 2017	Диссертации НББ	
[42]	0,65%	0%	Научная деятельность http://sifibr.irk.ru	27 Апр 2020	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[43]	0,64%	0%	https://ippras.ru/Diss_Sovet/sostav-soveta-po-zashchi... https://ippras.ru	22 Мая 2023	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[44]	0,64%	0,34%	НОВАЯ ЭКСПРЕССИОННАЯ СИСТЕМА ДЛЯ ПОВЫШЕ... http://elibrary.ru	11 Июл 2015	Перефразирования по eLIBRARY.RU	
[45]	0,62%	0%	РОЛЬ ГЕНОВ &i&tNtEXPA1&i&tI &i&tNtE... http://elibrary.ru	29 Авг 2014	eLIBRARY.RU	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[46]	0,61%	0%	Генетика. 2017. Т. 53, № 6 http://biblioclub.ru	21 Янв 2020	Сводная коллекция ЭБС	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[47]	0,6%	0%	Поздняков, Сергей Геннадьевич диссертация ... канд... http://dlib.rsl.ru	раньше 2011	Сводная коллекция РГБ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[48]	0,6%	0%	https://iasworld.org/wp-content/uploads/2021/11/Bio... https://iasworld.org	12 Июн 2022	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[49]	0,59%	0%	Somatic embryogenesis in eggplant. http://elibrary.ru	26 Авг 2004	eLIBRARY.RU	
[50]	0,59%	0%	ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНА АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИ... http://elibrary.ru	29 Авг 2009	eLIBRARY.RU	
[51]	0,57%	0%	Физиология растений. 2017. Т. 64, № 3 http://biblioclub.ru	21 Янв 2020	Сводная коллекция ЭБС	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[52]	0,57%	0%	Relationship between hexokinase and cytokinin in the ... https://doi.org	31 Мая 2011	Издательство Wiley	
[53]	0,56%	0%	The CRISPR/Cas revolution continues: From efficient ge... https://doi.org	31 Дек 2018	Издательство Wiley	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[54]	0,51%	0,51%	Отчет о выполнении НИР в 2013 году http://ibch.ru	01 Янв 2017	Перефразирования по Интернету	

[55]	0,5%	0%	Quantitative trait loci analysis of seed - specialized meta... https://doi.org	30 Сен 2020	Издательство Wiley	
[56]	0,47%	0%	АКТИВНОСТЬ ПРОМОТОРОВ ВИРУСА КОЛЬЦЕВОЙ Г... http://elibrary.ru	28 Авг 2014	Перефразирования по eLIBRARY.RU	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[57]	0,47%	0%	ПЕРЕНОС ТРАНСГЕНОВ ARGOS-LIKE И AtEXPA10 В HE... http://elibrary.ru	09 Янв 2014	eLIBRARY.RU	
[58]	0,47%	0%	Therapeutic potential of Moringa oleifera leaves in chro... https://frontiersin.org	02 Мар 2022	СМИ России и СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[59]	0,46%	0,46%	Потенцирование антиоксидантной системы в транс... http://elibrary.ru	12 Янв 2016	Перефразирования по eLIBRARY.RU	
[60]	0,46%	0%	Biotechnology of eggplant. http://dlib.rsl.ru	05 Янв 2017	Перефразирования по Интернету (EN)	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[61]	0,45%	0,45%	Купить Семена баклажанов от производителя . Инт... https://garden-zoo.ru	05 Июл 2021	Интернет Плюс*	
[62]	0,45%	0%	Therapeutic Potential of Moringa oleifera Leaves in Chr... https://ncbi.nlm.nih.gov	23 Янв 2023	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[63]	0,42%	0%	Колячкина, Светлана Викторовна синтез и биологи... http://dlib.rsl.ru	15 Мар 2014	Сводная коллекция РГБ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[64]	0,41%	0%	Погарская Фабрика » Биологические особенности т... https://pccf.ru	24 Мая 2022	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[65]	0,41%	0%	Hormonal Orchestration of Bud Dormancy Cycle in Dec... https://frontiersin.org	17 Ноя 2020	СМИ России и СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[66]	0,4%	0%	Рукавцова, Елена Борисовна диссертация ... доктора... http://dlib.rsl.ru	раньше 2011	Сводная коллекция РГБ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[67]	0,39%	0%	Modifications in Organic Acid Profiles During Fruit Deve... https://frontiersin.org	22 Мая 2020	СМИ России и СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[68]	0,38%	0%	Efficient and reproducible somatic embryogenesis and ... https://ncbi.nlm.nih.gov	05 Ноя 2020	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[69]	0,37%	0%	202667 http://e.lanbook.com	10 Мар 2016	Сводная коллекция ЭБС	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[70]	0,37%	0%	Transcriptional Regulation of Ripening in Chili Pepper F... https://ncbi.nlm.nih.gov	31 Мая 2023	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[71]	0,36%	0%	"Therapeutic applications of the 'NPGP' family of viral 2... https://doi.org	30 Ноя 2018	Издательство Wiley	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[72]	0,36%	0%	Frontiers Modifications in Organic Acid Profiles Durin... https://frontiersin.org	15 Ноя 2022	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[73]	0,36%	0%	Бакулина, Анна Владимировна Получение трансген... http://dlib.rsl.ru	19 Фев 2018	Сводная коллекция РГБ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[74]	0,36%	0%	Ермошин, Александр Анатольевич Морфофизиолог... http://dlib.rsl.ru	22 Авг 2019	Сводная коллекция РГБ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[75]	0,34%	0%	Куренина, Людмила Владимировна Разработка сист... http://dlib.rsl.ru	07 Окт 2010	Сводная коллекция РГБ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[76]	0,34%	0%	Получение трансгенных растений, экспрессирующ... http://elibrary.ru	06 Янв 2018	Перефразирования по eLIBRARY.RU	
[77]	0,33%	0%	Получение трансгенных растений, экспрессирующ... http://elibrary.ru	06 Янв 2018	eLIBRARY.RU	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[78]	0,33%	0%	Enhancing Vegetative Protein Production in Transgenic... http://freepatentsonline.com	04 Ноя 2016	Патенты СССР, РФ, СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[79]	0,33%	0%	Recovery of Capsaicinoids and Other Phytochemicals I... https://frontiersin.org	19 Янв 2021	СМИ России и СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[80]	0,32%	0%	Окислительные процессы при низкотемпературно... http://dep.nlb.by	16 Янв 2020	Диссертации НББ	
[81]	0,31%	0%	122610 http://e.lanbook.com	10 Мар 2016	Сводная коллекция ЭБС	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[82]	0,31%	0,31%	ВОПРОСЫ. ГИПОТЕЗЫ. ОТВЕТЫ: НАУКА XXI ВЕКА. http://elibrary.ru	26 Янв 2015	Перефразирования по eLIBRARY.RU	
[83]	0,31%	0%	IJMS Free Full-Text Modern Trends in Plant Genome... https://mdpi.com	16 Апр 2020	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[84]	0,3%	0%	Data Mining by Pluralistic Approach on CRISPR Gene E... https://frontiersin.org	07 Окт 2020	СМИ России и СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[85]	0,3%	0%	Hydroxycinnamic acids and human health: recent adva... https://doi.org	10 Фев 2022	Издательство Wiley	
[86]	0,3%	0%	Foods for the prevention of diabetes: how do they work? https://doi.org	31 Янв 2012	Издательство Wiley	
[87]	0,3%	0%	The future of starch bioengineering: GM microorganis... https://frontiersin.org	13 Янв 2021	СМИ России и СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[88]	0,3%	0%	ПЕРЕНОС ТРАНСГЕНОВ ARGOS-LIKE И AtEXPA10 В HE... http://elibrary.ru	09 Янв 2014	Перефразирования по eLIBRARY.RU	
[89]	0,29%	0%	КАК ЦИТОКИНИНЫ ДЕЙСТВУЮТ НА КЛЕТКУ. http://elibrary.ru	раньше 2011	eLIBRARY.RU	
[90]	0,29%	0%	RNA-Guided Cas9-Induced Mutagenesis in Tobacco Foll... https://frontiersin.org	06 Ноя 2020	СМИ России и СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[91]	0,29%	0%	Systematic review with meta- analysis: coffee consump... https://doi.org	31 Мар 2016	Издательство Wiley	
[92]	0,29%	0%	Доан Тху Тхуй диссертация ... кандидата биологичес... http://dlib.rsl.ru	15 Сен 2015	Сводная коллекция РГБ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[93]	0,28%	0%	Физиология растений. 2017. Т. 64, № 2 http://biblioclub.ru	21 Янв 2020	Сводная коллекция ЭБС	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[94]	0,28%	0%	Сотрудники кафедры http://bashgmu.ru	05 Янв 2017	Перефразирования по Интернету	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.

[95]	0,27%	0%	Metabolite Profiling of Peppers of Various Colors Revea... https://doi.org	31 Дек 2017	Издательство Wiley	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[96]	0,27%	0%	Review PAPER 'Movers and shakers ' in the regulation o... http://jxb.oxfordjournals.org	07 Янв 2018	Перефразирования по Интернету (EN)	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[97]	0,27%	0%	Transcriptional Repressors of Cytokinin Signaling and T... http://freepatentsonline.com	09 Ноя 2016	Патенты СССР, РФ, СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[98]	0,27%	0%	Нигматуллина, Лилия Ралисовна Бактериальный ад... http://dlib.rsl.ru	11 Июн 2020	Сводная коллекция РГБ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[99]	0,27%	0%	BRIEF COMMUNICATION Plastid transformation in egg... http://ask-force.org	07 Янв 2018	Перефразирования по Интернету (EN)	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[100]	0,27%	0%	Мусин, Халит Галеевич Физиологические основы ку... http://dlib.rsl.ru	27 Июн 2022	Сводная коллекция РГБ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[101]	0,26%	0%	Сведения об оппоненте http://ibpm.ru	07 Янв 2017	Перефразирования по Интернету	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[102]	0,26%	0%	Оздоровление и размножение сортов малины на ос... http://dep.nlb.by	11 Ноя 2016	Диссертации НББ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[103]	0,25%	0%	Абделаиз Валла Мохамед Абделмаксуд Культура из... http://dlib.rsl.ru	01 Янв 2019	Сводная коллекция РГБ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[104]	0,24%	0%	https://nauchkor.ru/uploads/documents/5f4d12ffcd3d... https://nauchkor.ru	25 Мая 2022	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[105]	0,23%	0%	https://conference2022.bg.sfedu.ru/images/All/Sbornik... https://conference2022.bg.sfedu.ru	02 Окт 2022	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[106]	0,22%	0%	Вирусные заболевания растений вида Humulus lupu... http://dep.nlb.by	06 Дек 2018	Диссертации НББ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[107]	0,22%	0%	African Journal of Agricultural http://academijournals.org	09 Янв 2018	Перефразирования по Интернету (EN)	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[108]	0,22%	0%	Research designs for proof-of-concept chronic pain clin... https://ncbi.nlm.nih.gov	31 Мая 2023	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[109]	0,22%	0%	Автореферат http://oldvak.ed.gov.ru	29 Янв 2017	Перефразирования по Интернету	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[110]	0,22%	0%	http://old.timacad.ru/catalog/disser/kd/Hvatkov/disse... http://old.timacad.ru	29 Мая 2022	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[111]	0,2%	0%	Репродуктивная способность представителей сем. ... http://dep.nlb.by	11 Ноя 2016	Диссертации НББ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[112]	0,2%	0%	Simultaneous Expression of PDH45 with EPSPS Gene l... https://frontiersin.org	14 Июл 2020	СМИ России и СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[113]	0,2%	0%	Optimized Blanching Reduces the Host Cell Protein Co... https://frontiersin.org	02 Апр 2021	СМИ России и СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[114]	0,2%	0%	Globulin 2 regulatory region and method of using sam... http://freepatentsonline.com	05 Ноя 2016	Патенты СССР, РФ, СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[115]	0,2%	0%	Regulatory region preferentially expressing to seed em... http://freepatentsonline.com	05 Ноя 2016	Патенты СССР, РФ, СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[116]	0,2%	0%	Ильясова, Альбина Абузаровна Конститутивная гет... http://dlib.rsl.ru	06 Мар 2013	Сводная коллекция РГБ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[117]	0,2%	0%	Сотрудники кафедры http://bashgmu.ru	05 Янв 2017	Переводные заимствования по Интернету (EnRu)	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[118]	0,2%	0%	Биохимия растений http://studentlibrary.ru	20 Дек 2016	Медицина	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[119]	0,19%	0%	PAIN RELIEF COMPOSITIONS, MANUFACTURE AND US... http://freepatentsonline.com	04 Ноя 2016	Патенты СССР, РФ, СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[120]	0,19%	0%	Arabidopsis argos, a novel gene involved in organ deve... http://freepatentsonline.com	05 Ноя 2016	Патенты СССР, РФ, СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[121]	0,19%	0%	ПОЛУЧЕНИЕ РАСТЕНИЙ, НЕСУЩИХ ГЕНЫ АЦИЛ-ЛИ... http://elibrary.ru	30 Авг 2014	Перефразирования по eLIBRARY.RU	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[122]	0,19%	0%	Остеоартроз крупных суставов нижних конечностей http://studentlibrary.ru	20 Янв 2020	Медицина	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[123]	0,19%	0%	Остеоартроз крупных суставов нижних конечностей http://studentlibrary.ru	20 Дек 2016	Медицина	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[124]	0,19%	0%	http://eprints.utm.my/53973/1/NishaPRajadranMFBM... http://eprints.utm.my	05 Янв 2018	Перефразирования по Интернету (EN)	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[125]	0,19%	0%	Applications of biotechnology in eggplant. http://elibrary.ru	02 Янв 2017	Перефразирования по Интернету (EN)	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[126]	0,19%	0%	Молекулярные механизмы регуляции размеров ор... http://earthpapers.net	08 Янв 2017	Перефразирования по Интернету	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[127]	0,19%	0%	Pharmaceutical Compositions Comprising Capsaicin Es... http://freepatentsonline.com	03 Ноя 2016	Патенты СССР, РФ, СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[128]	0,19%	0%	Реферат	12 Ноя 2022	Кольцо вузов	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[129]	0,19%	0%	Algal Lipids as Modulators of Skin Disease: A Critical Re... https://ncbi.nlm.nih.gov	10 Фев 2023	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[130]	0,19%	0%	Legend of the Sentinels: Development of Lung Residen... https://frontiersin.org	02 Фев 2021	СМИ России и СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[131]	0,18%	0%	https://jfrfm.ru/files/archive/18_1.pdf https://jfrfm.ru	11 Мая 2023	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[132]	0,17%	0%	Каллусогенез, морфогенез и генетическая трансфо... http://diss.natlib.uz	29 Авг 2014	Коллекция НБУ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[133]	0,17%	0%	Regulation of signaling pathways by β -elemene in canc... https://doi.org	31 Авг 2019	Издательство Wiley	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.

[134]	0,16%	0%	Маҳаллий ризобактериялар штаммлари асосида ғў... http://diss.natlib.uz	12 Фев 2019	Коллекция НБУ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[135]	0,16%	0%	Toward Eradication of B-Vitamin Deficiencies: Consider... https://frontiersin.org	13 Янв 2021	СМИ России и СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[136]	0,16%	0%	DELAYED FRUIT DETERIORATION ALLELE IN PLANTS A... http://freepatentsonline.com	08 Ноя 2016	Патенты СССР, РФ, СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[137]	0,16%	0%	Unraveling Plant Natural Chemical Diversity for Drug Di... https://frontiersin.org	21 Мая 2020	СМИ России и СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[138]	0,16%	0%	проверка 2	30 Мая 2022	Кольцо вузов	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[139]	0,16%	0%	Beyond the antigen receptor: editing the genome of T-... https://frontiersin.org	18 Авг 2020	СМИ России и СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[140]	0,16%	0%	Об утверждении состава рабочей группы по выраб... http://adilet.zan.kz	04 Окт 2017	ИПС Адилет	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[141]	0,16%	0%	Распоряжение Правительства Республики Башкорт... http://ivo.garant.ru	03 Мар 2018	СПС ГАРАНТ: нормативно-правовая документация	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[142]	0,16%	0%	Распоряжение Правительства РФ от 27 июня 2018 г. ... http://ivo.garant.ru	30 Июн 2022	СПС ГАРАНТ: нормативно-правовая документация	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[143]	0,16%	0%	Распоряжение Правительства РФ от 27 июня 2018 г. ... http://ivo.garant.ru	30 Июн 2022	СПС ГАРАНТ: нормативно-правовая документация	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[144]	0,16%	0%	Распоряжение Правительства РФ от 27 июня 2018 г. ... http://ivo.garant.ru	27 Фев 2021	СПС ГАРАНТ: нормативно-правовая документация	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[145]	0,16%	0%	Распоряжение Правительства РФ от 27 июня 2018 г. ... http://ivo.garant.ru	02 Авг 2021	СПС ГАРАНТ: нормативно-правовая документация	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[146]	0,16%	0%	http://biophenols.ru/2015/Files/Sbornik-Fen-symp201... http://biophenols.ru	20 Июн 2022	Интернет Плюс*	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[147]	0,15%	0%	Макеева, Инна Юрьевна Физиолого-биохимически... http://dlib.rsl.ru	01 Янв 2017	Сводная коллекция РГБ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[148]	0,15%	0%	Биологические мембраны : журнал мембранной и ... http://biblioclub.ru	21 Янв 2020	Сводная коллекция ЭБС	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[149]	0,15%	0%	Genetic Transformation and Genomic Resources for Ne... https://frontiersin.org	30 Июн 2020	СМИ России и СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[150]	0,15%	0%	Активность и физико-химические свойства белков-... http://dep.nlb.by	11 Ноя 2016	Диссертации НББ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[151]	0,15%	0%	Genome Engineering - PRESIDENT AND FELLOWS OF H... http://freepatentsonline.com	09 Ноя 2016	Патенты СССР, РФ, СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[152]	0,14%	0%	20221028_Пособие СХБТ ред 28.10.22	31 Окт 2022	Кольцо вузов	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[153]	0,14%	0%	Особенности андрогенеза in vitro в процессе создан... http://dep.nlb.by	06 Дек 2018	Диссертации НББ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[154]	0,14%	0%	Генетические основы селекции растений. В 4 т. Т. 3. ... http://ibooks.ru	раньше 2011	Сводная коллекция ЭБС	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[155]	0,14%	0%	Факторы устойчивости растений в экстремальных п... http://dlib.rsl.ru	05 Авг 2019	Сводная коллекция РГБ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[156]	0,14%	0%	Структурная адаптация некоторых видов рода SUAE... http://diss.natlib.uz	30 Апр 2017	Коллекция НБУ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[157]	0,13%	0%	Terpene Moiety Enhancement by Overexpression of G... https://frontiersin.org	22 Янв 2021	СМИ России и СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[158]	0,13%	0%	Role in lignification and growth for plant phenylcoumar... http://freepatentsonline.com	03 Ноя 2016	Патенты СССР, РФ, СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[159]	0,12%	0%	Aquaporins as Targets of Dietary Bioactive Phytocomp... https://frontiersin.org	13 Янв 2021	СМИ России и СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[160]	0,12%	0%	Phytoremediation of contaminant compounds via chlo... http://freepatentsonline.com	раньше 2011	Патенты СССР, РФ, СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[161]	0,11%	0%	Биосинтез терпеновых индольных алкалоидов в ра... http://dep.nlb.by	04 Июл 2017	Диссертации НББ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[162]	0,11%	0%	Физиолого-биохимические характеристики клеточ... http://dep.nlb.by	11 Ноя 2016	Диссертации НББ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[163]	0,11%	0%	Фенольные соединения Syringa vulgaris L., культиви... http://dep.nlb.by	20 Дек 2016	Диссертации НББ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[164]	0,11%	0%	IgA Responses Following Recurrent Influenza Virus Vac... https://frontiersin.org	24 Мар 2021	СМИ России и СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[165]	0,1%	0%	Phytohormone and Chromatin Crosstalk: The Missing ... https://frontiersin.org	08 Июл 2020	СМИ России и СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[166]	0,08%	0%	MACHINE HARVESTABLE PEPPER - VILMORIN & CIE (3/3) http://freepatentsonline.com	09 Ноя 2016	Патенты СССР, РФ, СНГ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.