

УДК 57.08 : 582.681.26(571.1/.5)

Молекулярно-генетические исследования сибирских видов рода *Viola* L.

Molecular genetic studies of Siberian species of the genus *Viola* L.

Т. В. Елисафенко, И. Н. Кубан, О. В. Дорогина

T. V. Elisafenko, I. N. Kuban, O. V. Dorogina

Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, Золотодолинская 101, Новосибирск-90, 630090
E-mail: tveli@ngs.ru, irinakuban@gmail.com, olga-dorogina@yandex.ru

Реферат. Рассмотрены направления исследований видов рода *Viola* L. в России. Выявлены возможности изучения сибирских фиалок методами SDS-электрофореза запасных белков и ДНК (ISSR-анализ). Установлена стабильность генотипа при длительном культивировании (20–30 лет) изученных видов *V. acuminata*, *V. incisa* и *V. irinae*. Показано гибридное происхождение *V. incisa*, генетическое сходство *V. irinae* и *V. jenseensis*, полиморфизм *V. dissecta* и *V. milanae*.

Summary. The directions of research of the genus *Viola* L. in Russia were considered. The possibilities for application of the method electrophoretic spectra and DNA-analysis (ISSR-markers) for Siberian violets were studied. The genotype stability during long-term cultivation (20–30 years) was established for studied species *V. acuminata*, *V. incisa* and *V. irinae*. The results of hybrid origin *V. incisa*, genetic similarity *V. irinae* and *V. jenseensis*, polymorphism *V. dissecta* and *V. milanae* were obtained.

В мировой флоре насчитывают 550 видов рода *Viola* L. (Violaceae) (Ballard, 1999). Род известен с VIII века, однако подробные сведения о сибирских видах относятся к началу 20 века. Во флоре Азиатской России Б. А. Федченко (1915) на основе работ А. К. Беккер рассмотрел некоторые сибирские виды с иллюстрациями гинцея. Позже в своей работе М. Г. Попов (1979) представил обзор рода *Viola* в Сибири, где им приведены для Средней Сибири 31 вид, 8 вариаций и подвидов. В конце 20 века – начале 21 века предпринята новая попытка переосмысления таксономии рода В. В. Никитиным (1986–2006). Итогом его работы явился критический анализ рода для Алтайского края (Никитин, Силантьева, 2006). В этот же период опубликована сводка видов Сибири В. В. Зуевым (1996). Данная работа имеет ряд расхождений с обработкой В. В. Никитина.

Основные исследования видов рода *Viola* до 21 века касались европейских и североамериканских представителей и были связаны, главным образом, с вопросами таксономии. Это кариологический анализ североамериканских видов рода с гипотезой филогении (Clausen, 1929), обзоры по региональным видам семейства (McKinney, 1992; Ballard, 1999). Существует и ряд работ по морфологии, антэкологии и размножению представителей американской флоры (Beattie, 1975; Mayers, Lord, 1983), по изучению клейстогамии (Urhof, 1938), ультраскульптуры спермодермы (Nir, 1998), популяционные исследования (Solbrig, 1981). Исследования в России касались, в основном, представителей европейской и дальневосточной флоры и кроме обзора региональных флор, это изучение жизненных форм видов рода *Viola* (Смирнова, Кагарлицкая, 1972; Серебрякова, Богомолова, 1984), онтогенеза, антэкологии и репродуктивной биологии (Верещагина, 1980; Ракова, 1980; Богомолова, 1984). В начале 21 века начинается интенсивное изучение в направлении молекулярно-генетических исследований, опять главным образом североамериканских фиалок (Culley, 2001; Marcussen et al., 2005; Nordal et al., 2005; Navran et al., 2009). Исследования сибирских видов до настоящего времени относились к изучению интродукционных популяций и морфологии (Безделева, Безделев, 2003; Елисафенко, Семенова, 2004; Семенова, 2007); для некоторых видов проводились популяционные исследования (Елисафенко, Жмудь, 2011; Степанцова 2014).

Основная проблема фрагментарности изучения этого рода – таксономическая путаница. Различные авторы понимают многие виды рода по-разному. До сих пор остается не выясненным таксономический статус некоторых видов, что связано с отсутствием комплексного исследования биологических особенностей видов. На данном этапе можно считать, что флора Сибири включает 47 видов, 5 подвидов, 10 гибридов рода *Viola* (Никитин, Силантьева, 2006; Зуев, 2012; Елисафенко, Овчинникова, 2015). Таким образом, к настоящему времени для сибирских видов становятся актуальными комплексные исследования, включающие молекулярно-генетические методы.

В Центральном сибирском ботаническом саду с 1979 г. проводятся исследования сибирских видов рода *Viola*. Осенью 2015 г. коллекция состояла из 64 видов и гибридов (154 популяций), из них – 37 сибирских видов (76 популяций). Создана многолетняя семенотека рода *Viola*. Данная коллекция по своему объему и видовому составу позволяет решать задачи в различных областях ботаники.

Цель данной статьи – показать возможности молекулярно-генетических исследований сибирских видов рода *Viola* по запасным белкам семян методом SDS-электрофореза и анализа межмикросателлитных участков геномной ДНК при использовании ISSR-маркеров.

Запасные белки семян

Исследования запасных белков позволяют выявлять внутривидовой полиморфизм в независимости от условий произрастания растений, а также выявлять видоспецифичность электрофоретических спектров, которую можно использовать для идентификации растений (Агафонова (Дорогина), Агафонова, 2004). По изменчивости спектра можно косвенно судить о способе опыления у конкретной популяции, как это отмечено для видов семейства *Fabaceae* (Егги, Потокина, 1988). В литературе нами не найдены сведения об анализе запасных белков семян у фиалок. Особенностью биологии видов двух подродов *Nomimium* и *Dichidium* является способность образовывать два типа цветков: хазмогамные (ксеногамные) и клейстогамные (автогамные). Причем основное размножение у таких видов происходит за счет клейстогамных цветков, что должно приводить к снижению гетерогенности популяций. Остальные виды образуют только хазмогамные цветки. Поэтому одной из задач является проведение скрининга по запасным белкам с целью определения возможности идентификации видов по спектрам белков. Материалом послужили семена коллекции «*Viola-seae*» лаборатории Интродукции редких и исчезающих видов растений Центрального сибирского ботанического сада. В литературе встречаются неподтвержденные данные об изменчивости генотипа при интродукции. Поэтому следующей задачей было изучение изменчивости электрофоретических спектров запасных белков семян у культивируемых видов в течение длительного времени. Реализацию решения данной задачи обеспечило наличие созданной в ЦСБС семенотеки видов рода *Viola*, культивируемых в течение 10 лет, а некоторых видов – в течение 30 лет.

Для изучения электрофоретических спектров запасных белков семян с помощью метода SDS-электрофореза у видов фиалок за основу был взят метод Леммли (Laemmli, 1970). Было изучено 14 видов всех 4 подродов, 10 секций, урожая 2004–2014 гг. Исследования проводились в 2014–2015 гг. Нами выявлено, что помимо общих компонентов запасных белков, на электрофоретических спектрах присутствует небольшое число минорных компонентов.

Для изучения изменчивости электрофоретических спектров запасных белков семян у культивируемых видов в течение длительного времени были исследованы семена 3 видов (*V. acuminata* Ledeb., *V. incisa* Turcz. (Красноярский край) и *V. irinae* N. Zolot.) разных сроков сбора семян из коллекции при хранении в комнатных условиях (рис. 1). Первый сбор – в начале интродукции (1985, 1983, 1994 гг. соответственно), 2 сбор – в 2002 г., 3 сбор – в 2014 г. При длительном хранении семян только у *V. irinae* наблюдается деструкция некоторых компонентов и появления новых компонентов запасных белков. Вероятно, состав запасных белков эндосперма семян является консервативным и стабильным признаком, по крайней мере, на уровне подрода.

Анализ межмикросателлитных участков геномной ДНК при использовании ISSR-маркеров

Исследования проводили на гербарном материале, использовали листья. Брали по два образца из популяции. Экстракция ДНК проводилась методом СТАВ (Doyle J. J., Doyle J. L., 1987) с небольшими модификациями. Изначально использовали праймеры, указанные для трех видов из комплекса *Viola canadensis* (McCreary Cheryl, 2005), – 844A, 99B, HB10. Нами апробированы еще 8 праймеров: 98A, 98B, 99A, M1, M2, M10, M14, HB14. Для дальнейшего анализа были отобраны от 4 до 6 праймеров (98A, 98B, 99A, 99B, HB12, HB14) благодаря высокому полиморфизму амплифицированных фрагментов и репрезентативности полученного ISSR-профиля. В качестве эталонного спектра запасных белков использовали *Elymus sibiricus* L. Обработка результатов ПЦР анализа проводилась с помощью компьютерной программы «Treecon». По рассчитанным матрицам были построены соответствующие консенсусные дендрограммы методом UPGMA и проведен бутстреп-анализ достоверности кластеров. Нами были рассмотрены три группы видов, в соответствие с поставленными задачами.

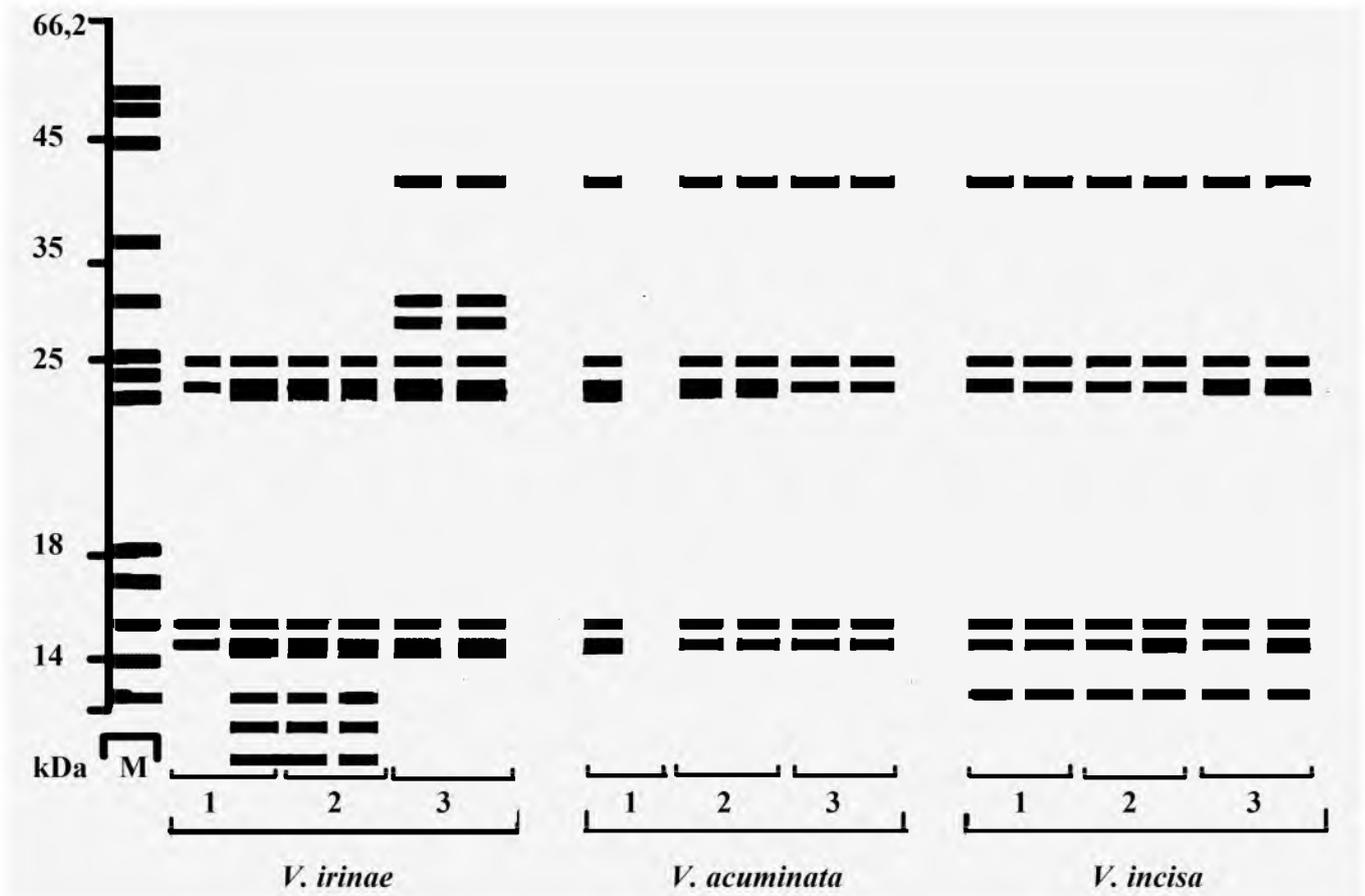


Рис. 1. Электрофоретический спектр запасных белков *Viola acuminata*, *V. incisa*, *V. irinae*: 1 – сбор семян в 1985–1994 гг., 2 – сбор семян в 2002 г., 3 – сбор семян в 2014 гг.

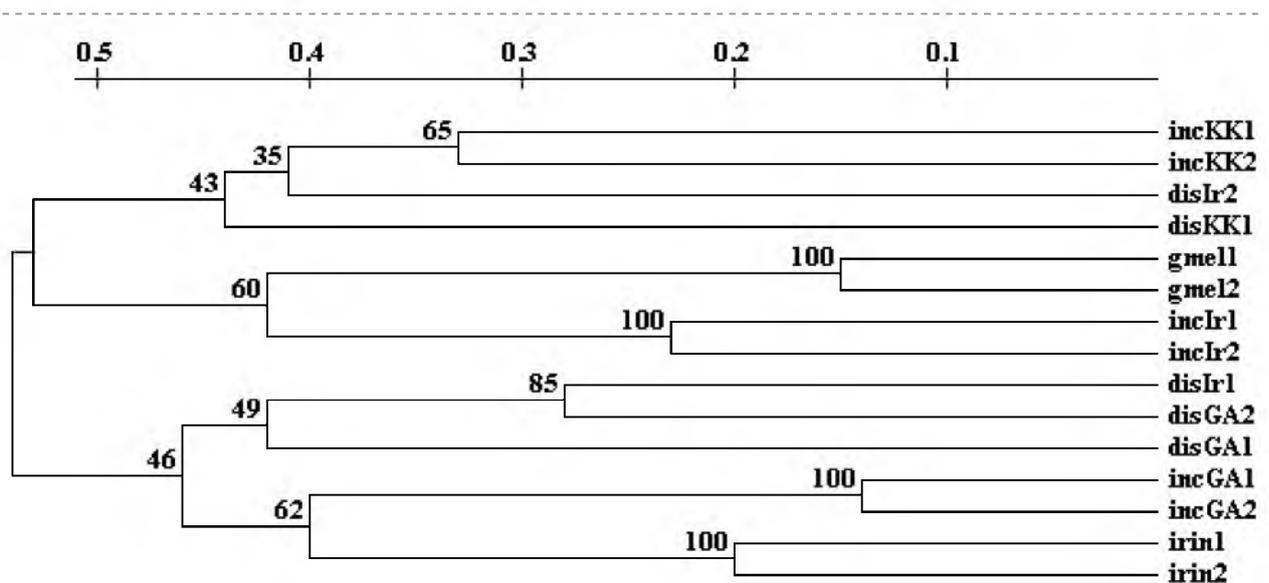


Рис. 2. Консенсусная дендрограмма ДНК-анализа *Viola incisa*, *V. dissecta*, *V. irinae*, *V. gmeliniana*: disGA – *V. dissecta*, окр. г. Горно-Алтайск (Республика Алтай); disIr – *V. dissecta*, окр. пос. Большое Голоустное (Иркутская область); disKK – *V. dissecta*, окр. оз. Инголь (Красноярский край); gmel1 – *V. gmeliniana*, окр. пос. Большое Голоустное (Иркутская область); incGA – *V. incisa*, окр. г. Горно-Алтайск (Республика Алтай); incIr – *V. incisa*, locus classicus, окр. пос. Большое Голоустное (Иркутская область); incKK – *V. incisa*, окр. оз. Инголь (Красноярский край); irin1 – *V. irinae*, окр. г. Горно-Алтайск (Республика Алтай).

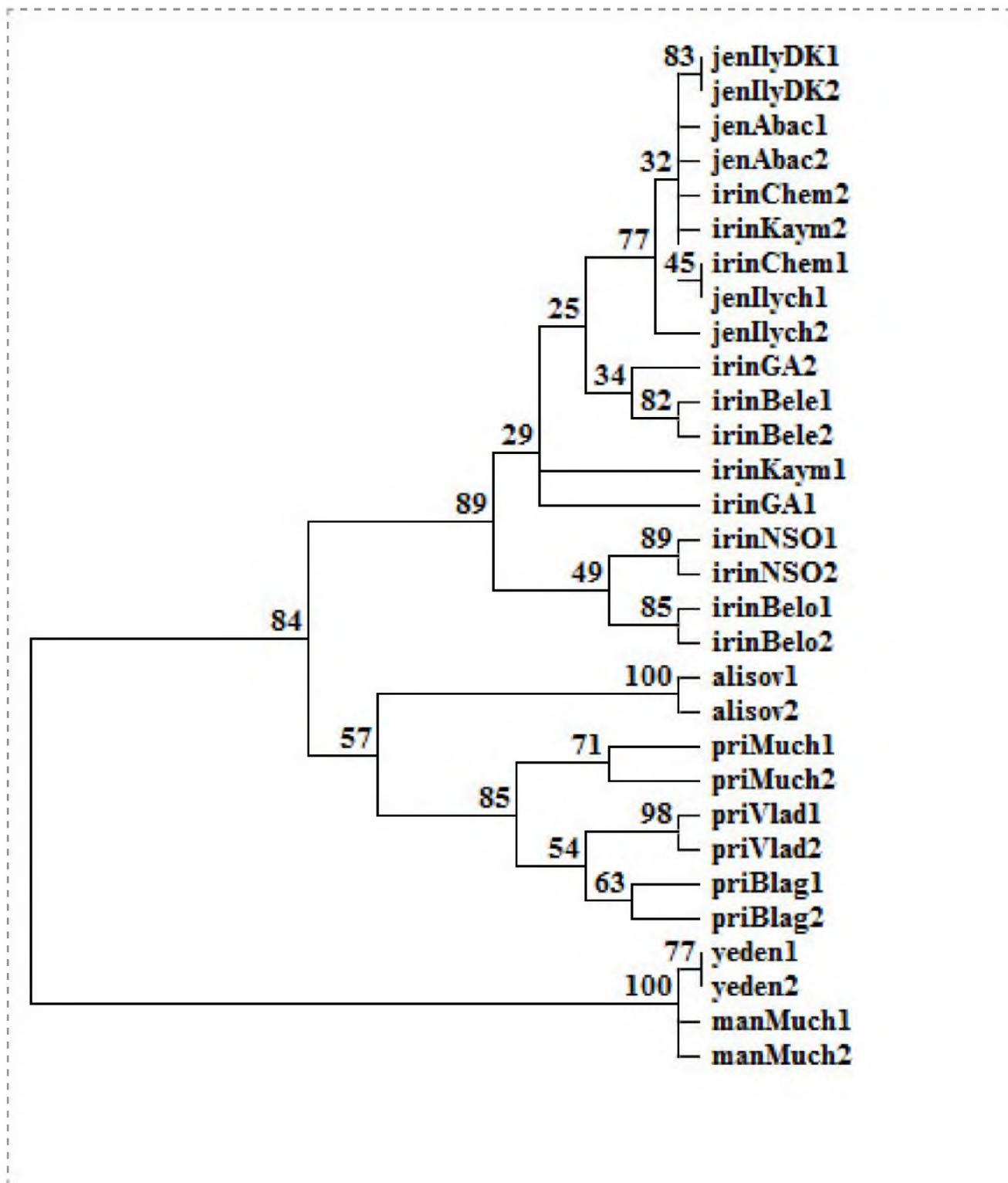


Рис. 3. Консенсусная дендрограмма ДНК-анализа *Viola alisoviana*, *V. irinae*, *V. jenseensis*, *V. mandshurica*, *V. prionanta*, *V. yedoensis*: alisov – *V. alisoviana*, г. Владивосток (Приморский край); irinChem – *V. irinae*, окр. с. Чемал (Республика Алтай); irinBele – *V. irinae*, locus classicus, с. Беле (Республика Алтай); irinBelo – *V. irinae*, окр.г.Белокуриха, Алтайский край; irinGA – *V. irinae*, окр. г. Горно-Алтайск (Республика Алтай). irinKaym – *V. irinae*, устье р. Куюм (Республика Алтай); irin NSO – *V. irinae*, окр. с. Колывань, Новосибирская область; jenllych – *V. jenseensis*, locus classicus, окр. пос. Ильичево (Красноярский край); jenllyDK – *V. jenseensis*, пос. Ильичево, газон Дома Культуры (Красноярский край); manMuch – *V. mandshurica*, окр. г. Благовещенска (Амурская область); priBlag – *V. prionanta*, г. Благовещенск (Амурская область); priMuch – *V. prionanta*, окр. г. Благовещенска, урочище Мухинка (Амурская область); priVlad – *V. prionanta*, окр. г. Благовещенска (Амурская область); yeden – *V. yedoensis*, окр. г. Благовещенска (Амурская область).

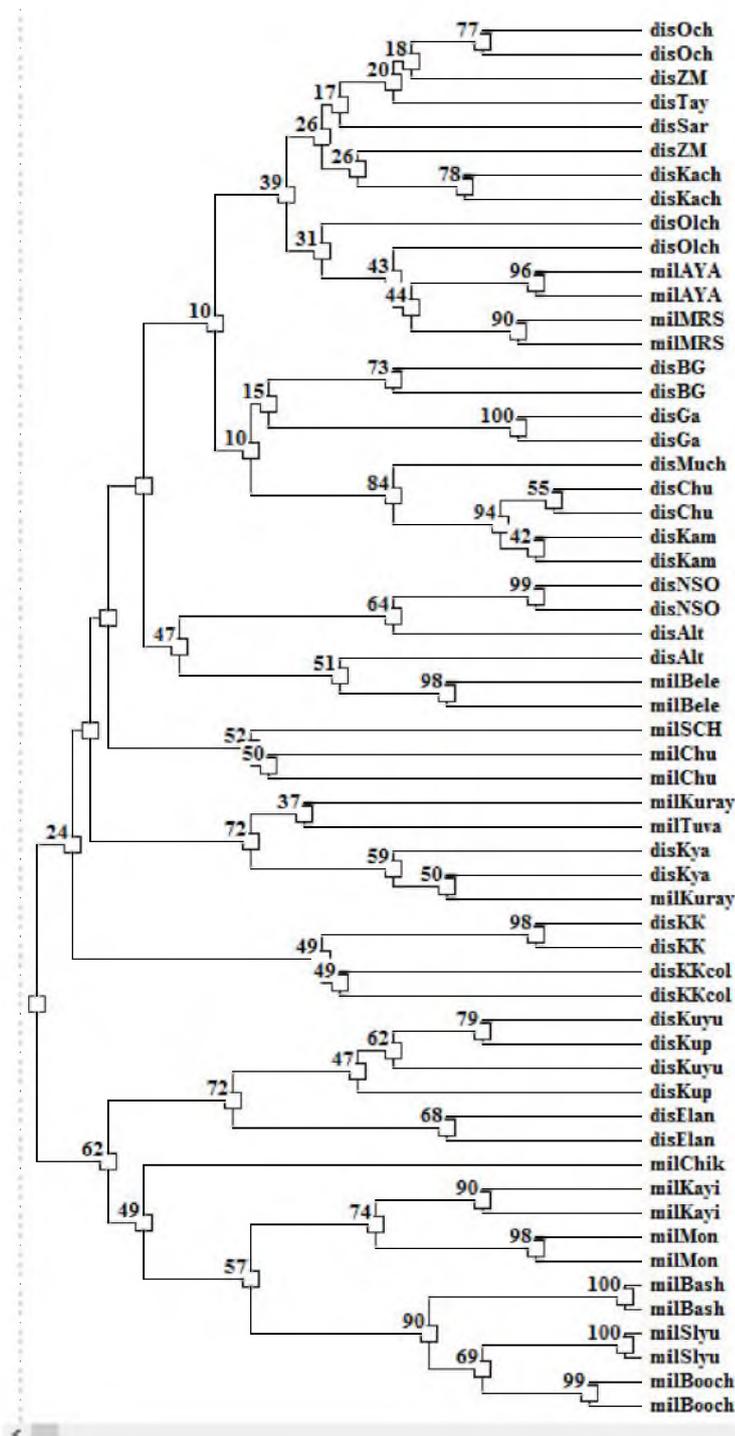


Рис. 4. Консенсусная дендрограмма ДНК-анализа *Viola dissecta* и *V. milanae*: dis – *V. dissecta*; mil – *V. milanae*; Alt – с. Алтайское (Алтайский край); АYA – бухта Ая (Иркутская обл.); Bash – долина р. Башкаус (Республика Алтай); Bele – окр. с. Беле (Республика Алтай); BG – окр. с. Б. Голоустное (Иркутская обл.); Booch – окр. дер. Боочи (Республика Алтай); Chik – пер. Чике-Таман (Республика Алтай); Chu – устье р. Чуя (Республика Алтай); Elan – окр. с. Еланда (Республика Алтай); Ga – г. Горно-Алтайск (Республика Алтай); Kach – орк. с. Качуг (Иркутская обл.); Kam – пойма р. Камышта (Республика Хакасия); Kayi – окр. д. Мендур-Соккон (Республика Алтай); KK – оз. Инголь (Красноярский край); KKcol – оз. Инголь (Красноярский край), коллекция ЦСБС; Kup – окр. с. Купчегень (Республика Алтай); Kuray – долина р. Айгулак (Республика Алтай); Kuyu – устье р. Куюм (Республика Алтай); Kya – окр. г. Кяхта (Республика Бурятия); Mon – окр. с. Монды (Республика Бурятия); MRS – пос. МРС (Иркутская область); Much – окр. г. Благовещенск (Амурская область); NSO – окр. пос. Кольвань (Новосибирская обл.); Och – окр. с. Очуры (Республика Хакасия); Olch – о. Ольхон (Иркутская обл.); Sar – окр. пос. Сарма (Иркутская обл.); SCH – мыс. Сага-Хушун (Иркутская обл.); Slyu – окр. пос. Слюдянка (Иркутская обл.); Tay – дер. Тайна (Алтайский край); Tuva – окр. с. Берг-Даг (Республика Тыва); ZM – окр. пос. Зун-Мурино (Республика Бурятия).

1. Для выяснения генетической неоднородности популяций *V. incisa* и доказательства гибридогенной природы этого вида были взяты образцы листьев у растений из трех сообществ:

1) окр. пос. Большое Голоустное (Иркутская область) – *V. incisa* (locus classicus), *V. dissecta* Ledeb., *V. gmeliniana* Roem et Schultes;

2) окр. оз. Инголь (Красноярский край) – *V. incisa*, *V. dissecta*;

3) окр. г. Горно-Алтайск (Республика Алтай) – *V. incisa*, *V. dissecta*, *V. irinae*.

Несмотря на то, что растения *V. incisa* из всех трех популяций явно отличаются морфологически, их относят к одному виду, при этом вид включен в Красную книгу Российской Федерации (2008). При анализе дендрограммы были выявлены следующие кластеры: gmel1 и gmel2, inc1r1 и inc1r2, incGA1 и incGA2, irin1 и irin2 (бутстреп поддержка 100 %), что указывает на их высокую достоверность и на низкую внутривидовую изменчивость (рис. 2). Древо разделилось на две клады, в кладе с более высокой достоверностью представлены образцы из Республики Алтай (за исключением 1 образца *V. dissecta* из Иркутской области), в кладе с более низкой – образцы с Красноярского края и Иркутской области. Последняя клада так же разделилась на два кластера с образцами разного географического происхождения. Образцы популяций *V. incisa* из Иркутской области (locus classicus), из Красноярского края и Республики Алтай оказались в разных кластерах. При этом *V. incisa* (locus classicus) имеет большее сходство с *V. gmeliniana*, чем с *V. dissecta*. Таким образом, фертильная популяция *V. incisa* из Красноярского края, вероятно, является другим видом, а растения стерильной популяции из окр. г. Горно-Алтайска – это гибриды между *V. irinae* x *V. dissecta*.

2. Проведены исследования 15 популяций видов *V. jenseensis* Zuev и *V. irinae* – двух южно-сибирских эндемиков, которые не всеми исследователями признаются как самостоятельные таксоны. В. В. Никитин и М. М. Силантьева (2006) считают *V. irinae* как *V. prionanta* Bunge, произрастающий на Дальнем Востоке. *V. prionanta* морфологически сходен с *V. alisoviana* Kiss. и *V. yedoensis* Makino. Нами были взяты образцы из популяций: *V. jenseensis* (Красноярский край: окр. пос. Ильичево (locus classicus) и пос. Ильичево; Республика Хакасия, г. Абакан), *V. irinae* (Республика Алтай: с. Беле (locus classicus), окр. с. Чемал (2 популяции), окр. г. Горно-Алтайска; Новосибирская область, окр. с. Кольвань; Алтайский край, окр. г. Белокуриха), *V. prionanta* (Амурская область, окр. г. Благовещенска (2 популяции) и г. Благовещенск), *V. alisoviana* (Приморский край, г. Владивосток), *V. yedoensis* (Амурская область, окр. г. Благовещенска) и близкородственный вид к изучаемым – *V. mandshurica* Beckt (Амурская область, окр. г. Благовещенска). При анализе дендрограммы, полученной в результате анализа ISSR-маркеров были выявлены две клады: *V. mandshurica* и *V. yedoensis* и остальные виды (рис. 3). Причем *V. mandshurica* и *V. yedoensis* имели высокое сходство. Вторая клада разделилась на 2 кластера, которые имели значения бутстреп поддержки 100 %, что указывает на их высокую достоверность. В первом представлены дальневосточные виды *V. prionanta* и *V. alisoviana*, во втором – *V. irinae* и *V. jenseensis*.

3. Третья группа изученных видов характеризуется высокой изменчивостью морфологических признаков – *V. dissecta* и *V. milanae* V. Nikit. Основной диагностический признак этих видов – надрезанная листовая пластинка. В природе встречаются популяции *V. dissecta* с разной степенью опушения растений. Б. А. Федченко (1915) выделил несколько подвидов в рамках *V. dissecta* в зависимости от степени расчлененности пластинки и опушения. С. В. Юзепчук (1949) не считал целесообразным по этим признакам выделять подвиды. В. В. Никитин (Никитин, Силантьева, 2006) описал *V. milanae* как вид с менее расчлененной листовой пластинкой. Нами исследованы 19 популяций *V. dissecta* и 13 популяций *V. milanae*. Ранее было обнаружено, что эти два вида отличаются по морфологическим признакам листа и плода, биологии прорастания семян, экологической приуроченности. Тем не менее, в некоторых популяциях наблюдаются растения с переходными морфологическими признаками, чаще всего связанные со степенью расчленения листовой пластинки и цветом плода. При анализе дендрограммы мы не выявили четких различий ни между видами, ни географической приуроченностью популяций, ни с экологическими особенностями сообществ, где они произрастали (рис. 4). Необходимы дополнительные исследования с использованием других праймеров для изучения межвидовой и межпопуляционной изменчивости.

Таким образом, нами начаты молекулярно-генетические исследования сибирских видов рода *Viola*. Подобраны и модифицированы методики SDS-электрофореза запасных белков и ДНК-анализа (ISSR-маркеры). Установлена стабильность генотипа при длительном культивировании (20-30 лет) изученных ви-

дов *V. acuminata*, *V. incisa* и *V. irinae*, несмотря на неоднократную смену поколений. Подтверждена гипотеза гибридного происхождения *V. incisa* и наличие гибридных форм в других местообитаниях, выявлены предполагаемые родители. Установлено, что таксоны *V. jenseensis* и *V. irinae* близки и, вероятно, являются западной расой *V. prionantha* и *V. alisoviana*. Последние виды также показали высокое генетическое сходство и морфологически незначительные различия, возможно, они также являются одним видом. Не выявлено четких генетических различий между популяциями видов *V. dissecta* и *V. milanae* и не установлена связь генотипов с географической приуроченностью популяций.

Благодарности. Исследования выполнены при финансовой поддержке гранта РФФИ № 13-04-00351. Авторы выражают признательность за помощь в организации полевых исследований для поиска популяций и сбора материала В. М. Старченко, Г. Ф. Дарман, сотрудникам Амурского филиала БСИ ДВО РАН (г. Благовещенск), и А. В. Верхожиной, С. Г. Казановскому, сотрудникам СИФИБР (г. Иркутск).

ЛИТЕРАТУРА

- Агафонова (Дорогина) О. В., Агафонова М. А.** Идентификация близкородственных видов *Hedysarum theinum*, *H. neglectum*, *H. austrosibiricum* (Fabaceae) с помощью запасных глобулинов семян // Бот. журн., 2004. – Т. 89, № 10. – С. 1637–1645.
- Бездева Т. А., Безделев А. Б.** Модели побегообразования и жизненные формы фиалок Уссурийского заповедника // Растения в муссонном климате: Материалы III межд. конф. – Владивосток: Дальнаука, 2003. – С. 204–209.
- Богомолова Т. В.** К биологии фиалки одноцветковой (*Viola uniflora* L.) // Бюлл. МОИП. Отд. биология, 1984. – Вып. 89, № 6. – С. 97–105.
- Верещагина В. А.** Гинодиэция, клейстогамия и гетеростилия у покрытосеменных (морфологические и эмбриологические аспекты): Автореф. дисс... д. б. н. – Л., 1980. – 36 с.
- Егги Э. Э., Потюкина Е. К.** Перекрестник или самоопылитель? Электрофоретическое разделение полипептидов семян для определения способа опыления у бобовых // Бот. журн., 1988. – Т. 83, № 12. – С. 77–83.
- Елисафенко Т. В., Жмудь Е. В.** Состояние природных популяций *Viola incisa* (Violaceae) в Южной Сибири // Бот. журн., 2011. – Т. 96, № 5. – С. 622–633.
- Елисафенко Т. В., Овчинникова С. В.** Лектотипификация *Viola taynensis* (Violaceae) // Растительный мир Азиатской России, 2015. – № 4. – С. 12–13.
- Елисафенко Т. В., Семенова Г. П.** Стратегия жизни редких сибирских видов рода *Viola* L. (Violaceae) в культуре // Бот. журн., 2004. – Т. 89, № 6. – С. 986–999.
- Зуев В. В.** Семейство Violaceae Batsch // Конспект флоры Азиатской России: Сосудистые растения. – Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2012. – С. 147–151.
- Зуев В. В.** Семейство Violaceae // Флора Сибири. – Новосибирск: Наука, Сиб. отд-ние, 1996. – С. 82–99. Красная книга Российской Федерации. – М: Товарищество научных изданий КМК, 2008. – 855 с.
- Никитин В. В., Силантьева М. М.** Фиалки (*Viola* L., Violaceae) Алтайского края // Новости сист. высш. раст., 2006. – Т. 38. – С. 165–201.
- Попов М. Г.** Флора Центральной Сибири. – Новосибирск: Наука, Сиб. отд-ние, 1979. – Т. 2. – С. 657–665.
- Ракова М. В.** О редком дальневосточном виде фиалки *Viola rossi* // Бот. журн., 1980. – Т. 65, № 7. – С. 994–1000.
- Семенова Г. П.** Редкие и исчезающие виды флоры Сибири: биология, охрана. – Новосибирск: Академическое изд-во «Гео», 2007. – 408 с.
- Серебрякова Т. И., Богомолова Т. В.** Модели побегообразования и жизненные формы в роде *Viola* L. // Бот. журн., 1984. – Т. 69, № 6. – С. 729–741.
- Смирнова О. В., Казарлицкая Т. Н.** О двух типах жизненного цикла *Viola mirabilis* L. // Бот. журн., 1972. – Т. 57, № 5. – С. 481–492.
- Степанцова Н. В.** *Viola incisa* Turcz. в Байкало-Ленском заповеднике (северо-западное побережье Байкала, Иркутская область) // Известия Иркутского государственного университета. Серия: Биология. Экология, 2014. – Т. 9. – С. 44–54.
- Федченко Б. А.** Фиалковые // Флора Азиатской России. – Петроград: типография А. Э. Коллинс, 1915. – Вып. 8. – 106 с.
- Юзенчук С. В.** Семейство Violaceae // Флора СССР. – М.-Л.: Из-во Академии наук СССР, 1949. – Т. 15. – С. 350–452.
- Ballard H. E.** Shrinking the Violets: Phylogenetic relationships of infrageneric groups in *Viola* (Violaceae) based on internal transcribed spacer DNA sequences // Systematic Botany, 1999. – Vol. 23, No. 4. – P. 439–458.
- Beattie A. J., Lyons N.** Seed dispersal in *Viola* (Violaceae) adaptations and strategies // Amer. J. Bot., 1975. – Vol. 62, No. 7. – P. 714–722.

- Clausen J.** Chromosome number and relationship of some North American species of *Viola* // Ann. Bot., 1929. – Vol. 43, No. 172. – P. 741–764.
- Culley, T.M., Wolfe A.D.** Population genetic structure of the cleistogamous plant species *Viola pubescens*, as indicated by isozyme and ISSR molecular markers. // Heredity, 2001. – Vol. 86, No. 5. – P. 545–556.
- Doyle J. J., Doyle J. L.** A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue // Phytochem. Bull. Bot. Soc. Amer., 1987. – Vol. 19. – P. 11–15.
- Havran C. J., Sytsma K. J., Ballard Jr. H. E.** Evolutionary relationships, interisland biogeography, and molecular evolution in the Hawaiian violets (*Viola*: Violaceae) // Amer. J. Bot., 2009. – Vol. 96. – P. 2087–2099.
- Laemmli U. K.** Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature, 1970. – Vol. 227, No. 5259. – P. 680–685.
- Marcussen T., Borgen L., Nordal I.** New distributional and molecular information call into question the systematic position of the West Asian *Viola sintenisii* (Violaceae) // Botanical Journal of the Linnean Society, 2005. – Vol. 147, No. 1. – P. 91–98.
- Mayers A. M., Lord E. M.** Comparative flower development in the cleistogamous species *Viola odorata*. I. A growth rate study // Amer. J. Bot., 1983. – Vol. 70, No. 10. – P. 1548–1555.
- McCreary Ch. S.** Genetic relationships, morphological divergence and ecological correlates in three species of the *Viola canadensis* complex in western North America // Ph.D. Dissertation. – Ohio University, 2005. – 209 p.
- McKinney L. A.** A taxonomic revision of the acaulescent blue violets (*Viola*) of North America // Sida. Bot. Misc., 1992. – No. 7 – P. 1–60.
- Nir L. Gil-Ad.** The micromorphologies of seed coats and petal trichomes of the taxa of *Viola* subsect. Boreali-Americanae (Violaceae) and their utility in discerning orthospecies from hybrids // Brittonia, 1998. – Vol. 50, No. 1. – P. 91–121.
- Nordal J., Bengt J. L., Marcussen T.** *Viola rupestris*: molecular analyses to elucidate postglacial migration in Western Europe // Journal of Biogeography, 2005. – Vol. 32, No. 8. – P. 1453–1459.
- Solbrig O. T.** Studies on the population biology of the genus *Viola* II. The effect of plant size on fitness in *Viola sororia* // Evolution, 1981. – Vol. 35, No. 6. – P. 1080–1093.
- Uphof J. C. Th.** Cleistogamic flowers // Bot. Rev., 1938. – Vol. 1, No. 4. – P. 21–49.