



5. Directive E. U. Directive 2004/40/EC of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 on the minimum health and safety requirements regarding the exposure of workers to the risks arising from physical agents (electromagnetic fields). Eighteenth individual Directive within the meaning of Article 16 (1) of Directive 89/391/EEC // Off J Europe Union. 2004. Vol. 159. P. 1–9.
6. Стальная И. Д., Гаришвили Т. Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии. М. : Медицина, 1977. С. 66–68.
7. Арутюнян А. В., Дубинина Е. Е., Зыбина Н. Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма. СПб. : ИКФ «Фолиант», 2000. С. 93–94.
8. De Iuliis G. N., Newey R. J., King B. V., Aitken R. J. Mobile phone radiation induces reactive oxygen species production and DNA damage in human spermatozoa in vitro // PloS one. 2009. Vol. 4, № 7. P. e6446.14.
9. Mohamed F. A., Ahmed A. A., El-Kafoury B. M., Lasheen N. N. Study of the cardiovascular effects of exposure to electromagnetic field // Life Science Journal. 2011. Vol. 8, № 1. P. 260–274.
10. Moustafa Y. M., Moustafa R. M., Belacy A., Abou-El-Ela S. H., Ali F. M. Effects of acute exposure to the radiofrequency fields of cellular phones on plasma lipid peroxide and antioxidant activities in human erythrocytes // Journal of pharmaceutical and biomedical analysis. 2001. Vol. 26, № 4. С. 605–608.
11. Перов С. Ю., Богачева Е. В., Лазаравили Н. А., Безрукавникова Л.М. Экспериментальное исследование влияния электромагнитных полей метрового диапазона на некоторые показатели окислительного стресса // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2015. Т. 15, вып. 3. С. 44–47.
12. Kerman M., Senol N. Oxidative stress in hippocampus induced by 900 MHz electromagnetic field emitting mobile phone : Protection by melatonin // Biomedical Research. 2012. Vol. 23, № 1. P. 147–151.
13. De Iuliis G. N., Newey R. J., King B. V., Aitken R. J. Mobile phone radiation induces reactive oxygen species production and DNA damage in human spermatozoa in vitro // PloS one. 2009. Vol. 4, № 7. P. e6446.
14. Yee K. S. Numerical solution of initial boundary value problems involving Maxwell's equations in isotropic media // IEEE Trans. Antennas Propag. 1966. Vol. 14, № 3. P. 302–307.
15. Gabriel C. Compilation of the dielectric properties of body tissues at RF and microwave frequencies // Report N.AL/OE-TR-1996-0037. Occupational and environmental health directorate, Radiofrequency Radiation Division, Brooks Air Force Base, Texas (USA), 1996.
16. Uchiyama M., Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test // Anal. Biochem. 1978. Vol. 86, № 1. P. 271–278.
17. Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M. T., Mazur M., Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease // The Intern. J. of Biochem. and Cell Biol. 2007. Vol. 39, № 1. P. 44–84.

УДК 581.143.6

ОСОБЕННОСТИ ДЛИТЕЛЬНОГО ДЕПОНИРОВАНИЯ КУЛЬТУРЫ *IN VITRO* НЕКОТОРЫХ РЕДКИХ И ИСЧЕЗАЮЩИХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Т. А. Крицкая, А. С. Кашин

УНЦ «Ботанический сад» Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского
E-mail: kritckaiata@gmail.com, kashinas2@yandex.ru



Представлены результаты работ по сохранению культур тканей и органов редких и исчезающих видов растений в условиях замедленного роста. Особое внимание уделено модельным объектам – *Silene cretacea* и *Potentilla vulgarica* – облигатным кальцефитам, включенным в Красную книгу Российской Федерации. Замедление роста эксплантов обеспечивали за счёт снижения температуры культивирования до $+5\pm 1$ °С и внесения в питательную среду осмотика (сахароза 30, 60 или 90 г/л), ретарданта (хлорхолинхлорид) и/или сорбента (активированный уголь). Установлено, что депонирование культуры *S. cretacea* на среде WPM + 30 г/л сахарозы без дополнительных модификаций сохраняет её жизнеспособность в течение 6 месяцев экспозиции. Увеличение срока хранения до 12 месяцев приводило к снижению морфогенетического потенциала эксплантов, которое менее всего было выражено в варианте с 90 г/л сахарозы. Для культуры *P. vulgarica* такая же концентрация оказалась губительной. 60 г/л сахарозы было достаточно, чтобы поддерживать жизнеспособ-

ность эксплантов в течение 12 месяцев без пересадки и сдерживать их рост. Использование способа депонирования растений в условиях *in vitro* позволило создать генетический банк редких представителей флоры Саратовской области в виде медленно растущей коллекции.

Ключевые слова: *Silene cretacea*, *Potentilla vulgarica*, генетический банк *in vitro*, депонирование, редкие и исчезающие виды.

Features of *in vitro* Cold Storage of Some of Rare and Endangered Plants of Saratov Region

T. A. Kritskaya, A. S. Kashin

The article presents the results of work on preservation of plant tissues and organs of rare and endangered species in conditions of slow growth. Special attention is paid to modeling objects, *Silene cretacea* and *Potentilla vulgarica* – obligate calcifythes enlisted in the



Red book of the Russian Federation. Slower growth of the explants was provided by reducing the cultivation temperature to $+5\pm 1$ °C and introducing into the nutrient medium of osmotic (sucrose 30, 60 or 90 g/l), retardant (chlorcholinechloride) and/or sorbent (activated carbon). It is established that the deposition of *S. cretacea* culture on WPM medium + 30 g/l sucrose without any extra modifications retains its viability within 6 months of exposure. The increase of storage period of up to 12 months led to decrease of the morphogenetic potential of the explants, which was less pronounced on the medium with 90 g/l sucrose. For culture *P. vulgarica* the same concentration was disastrous. 60 g/l sucrose was sufficient to maintain the viability of the explants within 12 months without transplanting and to curb their growing. Depositing plants *in vitro* has allowed to create a genetic bank of rare species of the Saratov region flora in the form of gradually enriching collection.

Key words: *Silene cretacea*, *Potentilla vulgarica*, germplasm bank *in vitro*, cold storage, rare and endangered plants.

DOI: 10.18500/1816-9775-2016-16-1-74-80

Введение

Наряду с традиционными способами сохранения биологического разнообразия растительного мира, такими как создание особо охраняемых природных территорий, культивирование коллекций растений в ботанических садах и создание банка семян, в настоящее время для сохранения биоразнообразия широко используются методы биотехнологии растений, в частности поддержание культур редких видов на питательной среде в генетических банках *in vitro* [1].

Создание банка *in vitro* связано с рядом требований, предъявляемых к закладываемому на хранение материалу. Растения должны быть введены в культуру *in vitro*, освобождены от патогенов и для каждого культивара должны быть оптимизированы способы его микроразмножения [2]. Многие культуры органов и тканей растений обладают высокой скоростью роста, что сопряжено с частыми пересадками. Так, экспланты *Silene cretacea* и *Potentilla vulgarica* во избежание старения культуры необходимо субкультивировать каждые 21 сутки [3]. Частые пересадки подвергают растения стрессу, что может привести к потере физиологической стабильности. Поэтому разработка методов хранения растений в состоянии замедленного роста является перспективным направлением для сохранения генофонда, так как способность растений к регенерации может оказаться стабильнее в культурах нерастущих либо медленно растущих [4].

Существует несколько способов замедления роста культуры. Наиболее доступный способ – снижение температуры, при которой происходит культивирование. Таким способом удалось сохранить в беспересадочной культуре (1 год)

растения *Quercus suber*; причем, как отмечают исследователи, хранение при 5°C необходимо было проводить в условиях темноты, так как на свету выживаемость культур к концу года хранения уменьшалась до 0% [5].

Другой способ – внесение в питательную среду ингибиторов роста. Одни из них могут оказать осмотическое действие (например, маннит или сорбит), а другие имеют гормональную природу (например, абсцизовая кислота (АБК)) [2, 4]. Введение маннита и сорбита позволило сохранить жизнеспособность большинства сортов голубики высокой и одного сорта брусники обыкновенной в течение их длительного культивирования (4 месяца) без пересадок [6]. Использование в составе питательной среды АБК обеспечило поддержание растений *Solanum tuberosum* в течение года при сохранении культурой 80% регенерационной способности [7]. В условиях замедленного роста часто используется комбинация пониженной температуры и применение ингибитора. Например, различные сорта розы, клематиса, орхидеи, фейхоа, киви, алычи, сливы и абрикоса хранили на половинной среде MS с добавлением ретарданта хлорхолинхлорида (ССС) 0.2–0.4 г/л в течение 2 лет без потери жизнеспособности 90–100% эксплантов [2].

Целью работы состояла в оптимизации условий сохранения коллекции культур тканей *in vitro* редких и исчезающих видов растений с использованием современных методов биотехнологии.

Материалы и методы

В настоящее время коллекция редких и исчезающих видов растений УНЦ «Ботанический сад» СГУ включает 37 видов 27 родов 17 семейств аборигенной флоры. Отбор растительных объектов производили с учётом статуса редкости видов и степени экологической уязвимости. Для каждого из них требуется оптимизация технологии поддержания культуры в условиях депонирования.

В качестве модельных объектов исследования, имеющего целью решение данной задачи, были выбраны *Silene cretacea* и *Potentilla vulgarica* – редкие кальцефильные виды, занесённые как в Красную книгу Саратовской области [8], так и в Красную книгу Российской Федерации [9].

Методика биотехнологических исследований основывалась на общепринятых классических приёмах работы с культурами тканей и органов растений с соблюдением условий асеп-



тики [10]. Эксперименты выполняли по методикам длительного депонирования, разработанным сотрудниками Никитского ботанического сада – Национального научного центра (НБС-ННЦ) [2, 11, 12]. На основании экспериментальных данных, полученных нами ранее [3], базовыми питательными средами для сохранения *S. cretacea* служили уменьшенные вдвое составы Murashige и Skoog (MS) [13] и WPM [14], а для *P. vulgarica* – В₅ [15] без фитогормонов, дополненные сахарозой в концентрации 30, 60 или 90 г/л. В качестве ингибитора роста использовали CCC в концентрации 0.4 г/л.

Сегменты побегов *S. cretacea* высотой 1.5–2.0 см с 3–4 узлами, полученные в результате микроразмножения, очищали от листьев и помещали на питательную среду. Для эксплантации *P. vulgarica* использовали микророзетки с отсечёнными листовыми пластинками, черешки сохраняли. Культуральные сосуды переносили в холодильную камеру с температурой $+5\pm 1^\circ\text{C}$ и 16-часовым фотопериодом.

Учёт состояния эксплантов проводили на 6 и 12-й месяц депонирования. В качестве основных критериев оценки использовали процентное количество эксплантов, способных к регенерации после перенесения в стандартные условия, и коэффициент размножения – количество микропобегов, образовавшихся на одном экспланте за один пассаж после пересадки на среду для микроразмножения.

Каждый вариант выполнялся в трёх повторностях, в каждой повторности отбирали не менее 30 эксплантов. Статистическую обработку данных проводили стандартными методами с использованием пакета программ Statistica for Windows, V.6 [16].

Результаты и их обсуждение

Смолёвка меловая

После 6 месяцев депонирования *S. cretacea* на питательных средах с различным минеральным составом и содержанием сахарозы мы получили следующие результаты (табл. 1).

Таблица 1

Жизнеспособность эксплантов *S. cretacea* через 6 месяцев депонирования на различных модификациях питательных сред (через 5 недель культивирования на среде для размножения [17])

Вариант питательной среды	Кол-во развившихся эксплантов*, %	Коэффициент размножения	Кол-во эксплантов, регенерирующих аномальные побеги*, %
MS + 30 г/л сахарозы	100.0	16.0±1.4	100.0
MS + 30 г/л сахарозы + 0.4 г/л CCC	Нет развития	–	–
MS + 60 г/л сахарозы	85.7	4.7±0.3	42.9
MS + 60 г/л сахарозы + 0.4 г/л CCC	Нет развития	–	–
MS + 90 г/л сахарозы	100.0	6.6±0.2	71.4
MS + 90 г/л сахарозы + 0.4 г/л CCC	Нет развития	–	–
WPM + 30 г/л сахарозы	100.0	15.0±1.7	–
WPM + 30 г/л сахарозы + 0.4 г/л CCC	42.9	5.4±0.5	–
WPM + 60 г/л сахарозы	100.0	12.5±0.8	–
WPM + 60 г/л сахарозы + 0.4 г/л CCC	50.0	3.4±0.2	50.0
WPM + 90 г/л сахарозы	100.0	8.4±0.6	–
WPM + 90 г/л сахарозы + 0.4 г/л CCC	14.3	5.3±0.7	85.7

Примечание. $P \leq 0.05$; * – среднее арифметическое по трём повторам.

Длительное хранение на питательной среде MS приводило к разрушению растительного материала, что сопровождалось возникновением таких аномалий в развитии эксплантов, как регенерация полностью оводнённых побегов, разрастание каллуса без органогенеза и прекращение развития (рис. 1). Аналогичные дефекты мы наблюдали ранее при использовании минерального состава MS на этапе подбора питательной среды для микроразмножения *S. cretacea* [3]. При культивировании на питательной среде WPM из

всех перечисленных аномалий отмечалось лишь оводнение части эксплантов в двух вариантах, содержащих CCC. Установлено, что добавление ратарданта CCC снижало жизнеспособность эксплантов во всех апробированных вариантах питательных сред. При этом было отмечено, что независимо от присутствия в среде CCC нарастание побегов в длину в течение периода депонирования не происходило. Наибольший коэффициент размножения (15.0±1.7 микропобегов на эксплант) при отсутствии аномалий после



6 месяцев хранения культуры *S. cretacea* отмечен в контрольном варианте – WPM + 30 г/л сахарозы без добавления ССС, поэтому для данного срока депонирования этот вариант можно считать оптимальным. Необходимо подчеркнуть, что коэффициент размножения в данном случае выше,

чем при клональном микроразмножении этой культуры. Эффект увеличения регенерационного потенциала эксплантов после депонирования и переноса их в стандартные условия описан в работе И. В. Митрофановой [2] на примере клематисов, розы, юкки, фейхоа и сливы.

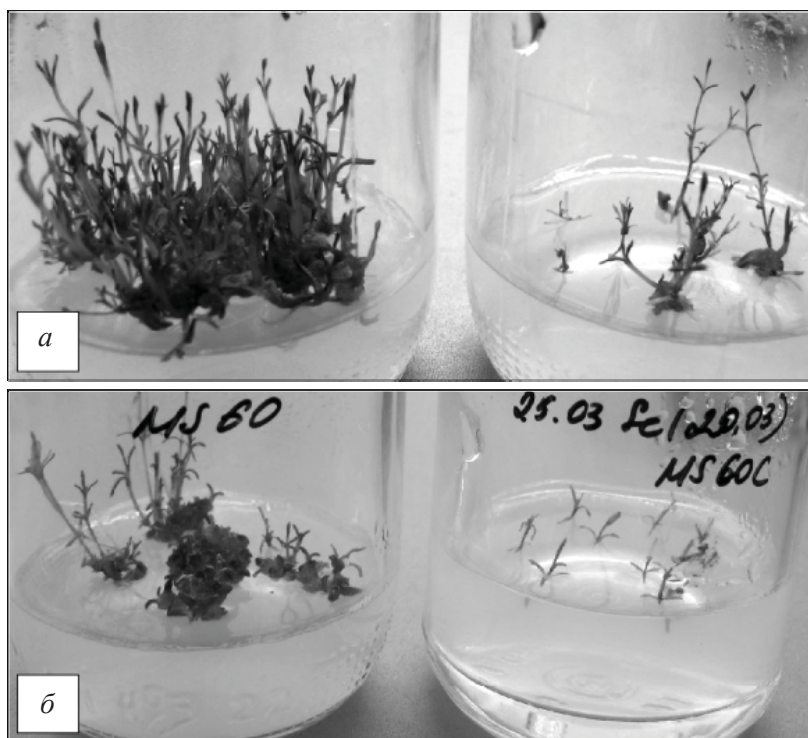


Рис. 1. Состояние эксплантов *S. cretacea* после 6 месяцев депонирования на различных вариантах питательных сред: а (слева) – WPM + 60 г/л сахарозы, (справа) – WPM + 60 г/л сахарозы + 0.4 г/л ССС; б (слева) – MS + 60 г/л сахарозы, (справа) – MS + 60 г/л сахарозы + 0.4 г/л ССС) и последующего культивирования на среде для микроразмножения [17] в течение 5 недель

При увеличении срока хранения до 12 месяцев экспланты, сохраняемые на питательной среде MS, а также вариантах среды WPM, дополненной ССС, полностью погибали. После культивирования на среде WPM с различным содержанием сахарозы без ССС и последующего перенесения в стандартные условия экспланты восстанавливались в течение двух недель и образовывали зелёные почки, способные к дальнейшему микроразмножению. Полное отсутствие некроза после 12 месяцев депонирования наблюдали в варианте среды WPM + 90 г/л сахарозы. Коэффициент размножения составил 4.5 ± 0.4 микропобега на эксплант в первом пассаже и в дальнейших субкультивированиях возвращался к тому же количеству, которое было до начала депонирования. Варианты среды WPM с 30 г/л и 60 г/л сахарозы оказались менее эффективными, поскольку доля

некроза в них составила 50% и 20% соответственно и, помимо этого, дальнейшее развитие эксплантов после трансплантации их в стандартные условия сопровождалось образованием большого количества каллуса: неморфогенного в первом варианте и морфогенного с последующей регенерацией 2.4 ± 0.2 микропобегов на эксплант – во втором. Поэтому для длительного хранения культуры *S. cretacea* может быть рекомендована среда WPM без фитогормонов, дополненная 90 г/л сахарозы, что согласуется с рекомендациями НБС-НИЦ [2, 11].

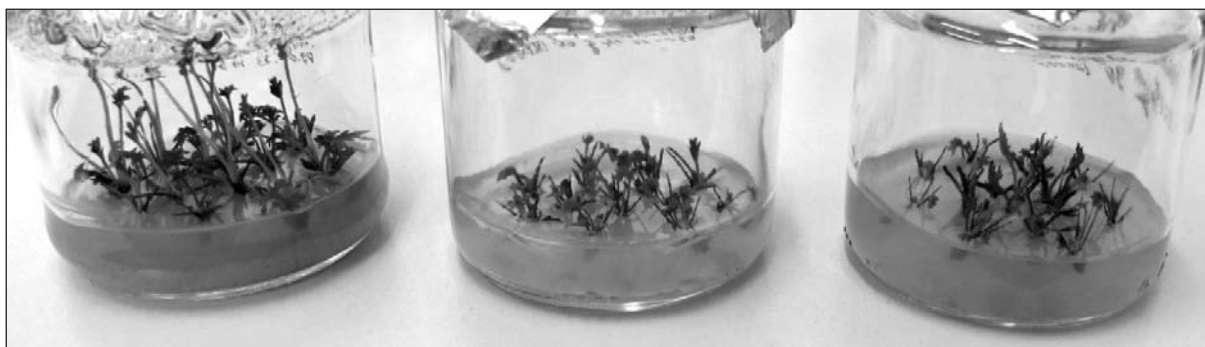
Лапчатка волжская

После перенесения в стандартные условия экспланты *P. vulgarica* активно развивались и через две недели формировали зелёные листовые розетки, способные к дальнейшему микроразмножению.



Наши исследования показали, что через 6 месяцев депонирования на питательной среде В₅ с различной концентрацией сахарозы (30, 60 и 90 г/л) все экспланты остаются жизнеспособными, однако, интенсивность их роста в течение срока хранения и последующего микроразмножения оказывается различной (рис. 2). Показано, что с увеличением концентрации сахарозы количество образовавшихся за время депонирования

листьев и длина листа экспланта уменьшались (табл. 2). Добавление ССС в питательную среду также способствовало снижению этих параметров, но недостатком использования ретарданта было появление оводнённых микропобегов, чего в контрольных образцах не отмечалось. Наибольший коэффициент размножения (8.5 ± 0.6) наблюдали после культивирования на варианте среды с 60 г/л сахарозы.



а

б

в

Рис. 2. Экспланты *P. vulgaris* на средах с различной концентрацией сахарозы (г/л) после 6 месяцев депонирования: а – 30; б – 60; в – 90

Таблица 2

Жизнеспособность эксплантов *P. vulgaris* через 6 месяцев депонирования на питательной среде В₅ с различными модификациями и коэффициент размножения после переноса в культуральную комнату (через 6 недель культивирования на среде для размножения [3])

Вариант среды	Кол-во развившихся эксплантов*, %	Кол-во листьев на экспланте, шт.	Длина самого длинного листа, см	Коэффициент размножения, микропобегов на 1 эксплант
Сахароза 30 г/л	100.0	3.0 ± 0.2	2.2 ± 0.2	6.8 ± 0.7
Сахароза 60 г/л	100.0	1.9 ± 0.2	0.8 ± 0.1	8.5 ± 0.6
Сахароза 90 г/л	100.0	1.2 ± 0.2	0.8 ± 0.1	4.3 ± 0.4
Сахароза 30 г/л + ССС 0.4 г/л	85.7	1.5 ± 0.2	1.0 ± 0.1	5.8 ± 0.6
Сахароза 60 г/л + ССС 0.4 г/л	85.7	0.6 ± 0.1	0.7 ± 0.1	6.1 ± 0.2
Сахароза 90 г/л + ССС 0.4 г/л	100.0	0.6 ± 0.1	0.4 ± 0.1	4.8 ± 0.5

Примечание. $P \leq 0.05$; * – среднее арифметическое по трём повторам.

Снижение кинетики роста эксплантов на средах с повышенной концентрацией сахарозы подтверждается исследованиями других авторов на представителях родов *Actinidia*, *Clematis*, *Cymbidium*, *Fragaria*, *Rosa* [2, 11].

Через 12 месяцев депонирования экспланты, культивируемые на средах, содержащих ССС, после переноса в стандартные условия образовывали только оводнённые микропобеги (табл. 3). В остальных вариантах отмечено снижение регенерационного потенциала по сравнению с результатами 6-месячного депонирования, но, несмотря на это, все экспланты оказались жизнеспособными. В качестве наи-

более эффективного выбрали вариант среды с 60 г/л сахарозы, поскольку последующий коэффициент размножения материала, сохраняемого на нём, был достоверно выше.

Сходные результаты были получены Е. М. Ветчинкиной с соавторами [18] на модельном объекте *Medicago daghestanica*. Высокие концентрации сахарозы (90–120 г/л) оказывали угнетающий эффект на культуру, который усиливался с увеличением срока депонирования. Поэтому для длительного сохранения объекта в условиях замедленного роста авторы рекомендуют добавлять 60 г/л сахарозы в питательную среду.



Таблица 3

Жизнеспособность эксплантов *P. vulgarica* через 12 месяцев депонирования и коэффициент размножения после пересадки на среду для микроразмножения [3] (через 5 недель культивирования)

Вариант среды	Кол-во развившихся эксплантов*, %	Коэффициент размножения, микропобегов на 1 эксплант	Кол-во оводнённых побегов*, %
Сахароза 30 г/л	100.0	3.8±0.3	–
Сахароза 30 г/л + ССС 0.4 г/л	16.7	–	100.0
Сахароза 60 г/л	100.0	6.6±0.5	–
Сахароза 60 г/л + ССС 0.4 г/л	100.0	3.0±0.2	100.0
Сахароза 90 г/л	100.0	4.3±0.4	100.0
Сахароза 90 г/л + ССС 0.4 г/л	100.0	4.8±0.6	100.0

Примечание. $P \leq 0.05$; * – среднее арифметическое по трём повторам.

Другие представители флоры

В работе с другими объектами коллекции редких и исчезающих видов растений мы использовали безгормональные питательные среды с той минеральной основой, на которой осуществляется их клональное микроразмножение, и с добавлением сахарозы в концентрации 60 г/л для травянистых растений и 90 г/л – для древесных, кустарничковых и полукустарничковых жизненных форм.

Практически во всех случаях отмечалось снижение жизнеспособности эксплантов со 100% до 70–80% при увеличении срока депонирования с 6 до 12 месяцев соответственно. Однако были и исключения. Например, представители семейства *Fabaceae* восстанавливались полностью (100%) после 12 месяцев хранения на модифицированной среде MS. Особенностью этих объектов также было снижение кинетики роста в течение срока хранения при добавлении в питательную среду ССС 0.4 г/л без ущерба дальнейшей жизнеспособности эксплантов. В большинстве же случаев ретардант оказывал негативное воздействие, проявляющееся в потере эксплантами способности к регенерации, некрозе и оводнении растительных тканей.

Для некоторых объектов, выделяющих в питательную среду фенольные соединения, необходимым условием длительного хранения в беспересадочной культуре являлось внесение сорбентов. Наиболее показательными являются результаты по *Pulsatilla patens*. Через 6 месяцев депонирования питательная среда, на которой экспонировали листовые розетки прострела, оказалась окрашенной в ярко-оранжевый цвет. После пересадки на среду для размножения экспланты регенерировали оводнённые микропобеги, которые погибли в течение двух недель. Экспланты, культивируемые в условиях замедленного роста на питательной среде, дополненной 0,1% активированного угля, активно

развивались после переноса в стандартные условия и формировали качественные зелёные побеги (4.7±0.5 микророзеток на эксплант) на этапе размножения. Аналогичные результаты были получены для *Artemisia salsoloides*, *Paeonia tenuifolia* и *Pulsatilla pratensis*.

Микролуковички *Fritillaria meleagroides*, *F. ruthenica* и *Tulipa gesneriana* хранили в условиях полной темноты, поскольку при культивировании на свету (фотопериод) они полностью теряли способность к регенерации. В течение 6 месяцев депонирования в темноте на половинной среде MS с ИМК 0.5 мг/л микролуковички увеличивались в размере, формировали корни и первый лист и могли быть использованы для дальнейшей адаптации к нестерильным условиям. Выбор регулятора роста и его концентрации в данном случае обусловлен литературными данными [19].

Таким образом, способ минимализации роста растений при низких положительных температурах в условиях *in vitro*, разработанный НБС-ННЦ [2, 11, 12], является приемлемым для сохранения культуры редких и исчезающих видов растений Саратовской области из различных систематических групп. Показано, что использование 60 г/л и 90 г/л сахарозы позволяет сохранить жизнеспособные экспланты на протяжении 6–12 месяцев беспересадочной культуры. Подбор дополнительных условий, таких как минеральный состав питательной среды, уровень освещённости и внесение сорбентов или ретардантов должен осуществляться в зависимости от генотипа объекта, закладываемого на хранение.

Список литературы

1. Белокурова В. Б., Листван Е. В., Майстров П. Д., Суккура Й. Й., Глеба Ю. Ю., Кучук Н. В. Использование методов биотехнологии растений для сохранения и изучения биоразнообразия мировой флоры // Цитология и генетика. 2005. № 1. С. 41–51.



2. Митрофанова И. В. Соматический эмбриогенез и органогенез как основа биотехнологии получения и сохранения многолетних садовых культур. Киев : Аграрна наука, 2011. 344 с.
3. Крицкая Т. А., Кашин А. С. Использование метода культуры *in vitro* для сохранения некоторых редких и исчезающих кальцефильных видов растений Саратовской области // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2013. Т. 13, вып. 4. С. 65–73.
4. Вечернина Н. А. Сохранение биологического разнообразия редких, исчезающих видов, уникальных форм и сортов растений методами биотехнологии : дис. ... д-ра биол. наук. Барнаул, 2006. 325 с.
5. Romano A., Martins-Loução M. A. *In vitro* cold storage of cork oak shoot cultures // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 1999. Vol. 59. P. 155–157.
6. Сидорович Е. А., Кутас Е. Н., Филиппеня В. Л. Влияние осмотических ингибиторов на сохранение жизнеспособности интродуцированных сортов *Vaccinium corymbosum* L. и *Vaccinium vitis-idea* L. в культуре *in vitro* // Докл. АН Беларуси. 1995. Т. 39, № 1. С. 63–66.
7. Fartais L., Strajeru S., Avramiuc M. Conservarea explantelor de cartof pe mediu cu inhibitor osmotic (Manitol) // Ser. Genet, Veg. si Anim. 1998. № 5. P. 231–236.
8. Красная книга Саратовской области : Грибы. Лишайники. Растения. Животные / Комитет охраны окружающей среды и природных ресурсов Саратов. обл. Саратов : Изд-во торг.-пром. палаты Саратов. обл., 2006. 528 с.
9. Красная книга Российской Федерации (растения и грибы). М. : Т-во науч. изд. КМК, 2008. 855 с.
10. Бутенко Р. Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе : учеб. пособие. М. : ФБК-ПРЕСС, 1999. 160 с.
11. Митрофанова И. В., Ежов В. Н., Митрофанова О. В., Иванова Н. Н., Мовчан О. П. Создание в условиях *in vitro* коллекций ценного растительного генофонда в Никитском ботаническом саду – Национальном научном центре (Ялта, Украина) // Ботанические сады как центры сохранения биоразнообразия и рационального использования растительных ресурсов : материалы междунар. конф., посвящ. 60-летию Главного ботанического сада им. Н. В. Цицина РАН (Москва, 5–7 июля 2005 г.). М. : ГБС им. Н. В. Цицина РАН, 2005. С. 349–351.
12. Митрофанова И. В. Минимализация роста декоративных растений под воздействием химических факторов в культуре *in vitro* // Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология : тез. докл. VIII междунар. конф. (Саратов, 9–13 сентября 2003 г.). Саратов, 2003. С. 202.
13. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. 1962. Vol. 15, № 13. P. 473–497.
14. Mc Cown B. H., Lloud G. Woody plant medium (WPM) – a revised mineral nutrient formulation for microculture of woody plant species // Hort. Sci. 1981. Vol. 16 P. 453.
15. Gamborg O. L., Evelegh D. E. Culture methods and detection of glucanases in cultures of wheat and barley // Can. J. Biochem. Canada : NRC Research Press, 1968. Vol. 46, № 5. P. 417–421.
16. Зайцев Г. Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. М. : Наука, 1984. 424 с.
17. Питательная среда для микроразмножения кальцефильных растений в культуре *in vitro* : пат. RU 2552174 C1 : МПК C12N5/00 (2006.1) / Крицкая Т. А., Блюднева Е. А., Кашин А. С. ; заявл. 18.02.2014.
18. Ветчинкина Е. М., Ширнина И. В., Ширнин С. Ю., Молканова О. И. Сохранение редких видов растений в генетических коллекциях *in vitro* // Вестн. Балт. гос. ун-та им. И. Канта. 2012. Вып. 7. С. 109–118.
19. Байбурина Р. К., Ахметова А. Ш., Миронова Л. Н., Шаяхметов И. Ф. Эмбриокультура тюльпанов // Вестн. Башкир. ун-та. 2007. Т. 12, № 4. С. 33–35.

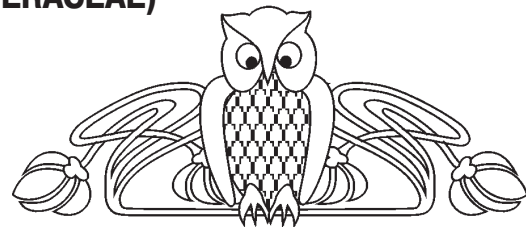
УДК 58.009

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ В ПОПУЛЯЦИЯХ ВИДОВ *CHONDRILLA* L. (ASTERACEAE) ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ

А. С. Кашин, Н. А. Петрова, А. О. Попова, И. В. Шилова

УНЦ «Ботанический сад» Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского
E-mail: kashinas2@yandex.ru

Нумерический анализ морфологической изменчивости в популяциях видов *Chondrilla* методом невзвешенного попарного среднего (UPGMA) показал, что из 7 видов рода, произрастающих на территории европейской части России, только *C. ambigua* обладает несомненным видовым статусом. С высокой бутстреп-



поддержкой разделяются между собой *C. juncea*, *C. latifolia*, *C. brevirostris* и смешанные популяции *C. juncea/graminea*, с одной стороны, и все популяции *C. graminea* и *C. acantholepis* – с другой. Однако в целом между собой эти виды слабо изолированы. Факторный анализ методом главных координат (PCO) дал сходные