

СОХРАНЕНИЕ РЕДКИХ И ПОЛЕЗНЫХ РАСТЕНИЙ В КОЛЛЕКЦИИ *IN VITRO* ЦЕНТРАЛЬНОГО СИБИРСКОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА

Т.И. Новикова, А.Ю. Набиева, Т.В. Полубоярова

Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, Новосибирск, Россия,
e-mail: bluebird@list.ru

В последние годы для сохранения биоразнообразия растений успешно используются методы культуры *in vitro*. В Центральном сибирском ботаническом саду в лаборатории биотехнологии создана коллекция редких и полезных растений флоры Сибири и Дальнего Востока, сохраняемых в виде меристемных культур. Длительное сохранение *in vitro* не только способствует депонированию ценных генотипов, но и является основой для изучения процессов морфогенеза и регенерации в культуре ткани и исследований процессов адаптации микроклонов к условиям *ex vitro*.

Ключевые слова: редкие растения, коллекции *in vitro*, сохранение, микроклонирование.

Сохранение биоразнообразия растений является одной из актуальнейших задач ботанических садов. Основой этой деятельности является ряд программных документов различного уровня, принятых в последние годы: «Конвенция о биологическом разнообразии» (1995, 2006), «Глобальная стратегия сохранения растений» (Global strategy ..., 2002), «Международная программа ботанических садов по охране растений» (2000) и «Стратегия ботанических садов России по сохранению биоразнообразия растений» (2003).

Хотя сохранение экосистем в целом в естественных местообитаниях (*in situ*) является эффективным методом поддержания генетического разнообразия, существенным его дополнением являются технологии сохранения растений *ex situ* (Benford, 1998; Schuiteman, Vogel, 2003). Важность сохранения биоразнообразия методами *ex situ* подтверждается в Статье 9 «Конвенции о биологическом разнообразии» (1995) и Задачей 8 Глобальной стратегии сохранения растений (Global strategy ..., 2002).

Ранее основными технологиями сохранения редких и исчезающих видов *ex situ* являлись хранение зародышевой плазмы (germplasm) в банке семян и выращивание в живых коллекциях в ботанических садах в условиях интро-

дукции. Однако, как известно, многие из редких видов имеют семена с низкой всхожестью или невыполненные семена и не могут храниться в условиях банка семян (Мехтизаде и др., 2007). Выращивание в экспозициях ботанических садов сопряжено с такими серьезными проблемами, как поражение растений насекомыми и болезнями, естественными выппадами из-за низкой генетической пластичности видов, связанными с увеличением вероятности аутокроссинга, приводящего к гомозиготности и в некоторых случаях – к понижению или полной потере фертильности. Некоторые редкие виды неспособны к выживанию в условиях интродукции (Андреев, Горбунов, 2000; Семенова, 2007). Кроме того, возможности обмена генофондом при выращивании растений в открытом грунте ограничены из-за риска передачи болезней.

В последние десятилетия при решении проблемы сохранения генофонда растений успешно используются методы биотехнологии растений, включающие микроклональное размножение и другие методы *in vitro*, в основе которых лежит уникальная тотипотентность растительной клетки, т. е. способность растения к вегетативной регенерации из соматических клеток. Использование методов размножения *in vitro* представляет собой важную дополни-

тельную возможность для сохранения этих проблемных видов в ботанических садах (Fay, 1992; Pence, 1999). Так как при микроразмножении используются асептические условия, проблемы международного обмена растительным материалом значительно сокращены, и большинство стран принимают растения *in vitro* с фитосанитарными сертификатами без обычно требуемого для культур *ex vitro* длительного периода карантина.

Использование методов культуры ткани является оптимальным решением задачи как для размножения видов с затрудненным размножением *in situ* и *ex situ*, так и при массовом производстве ценных генотипов растений из коллекций ботанических садов. Микрклональное размножение имеет значительные преимущества перед традиционными методами размножения растений, состоящие в возможности размножения растений с затрудненным семенным или вегетативным размножением, или представленных в единичных экземплярах; в высоком коэффициенте размножения (до 10^5 – 10^6 экземпляров в год от одного растения); в возможности культивирования растений круглый год и планировании выпуска растений к определенному сроку; незначительных затратах площадей для стерильного выращивания растений; освобождении растительного материала от вирусных, бактериальных, грибных болезней; и, наконец, в возможности длительного хранения пробирочных растений при пониженных температурах, что позволяет создать банк генотипов ценных видов и форм (Бутенко, 1999).

Регенерация растений может быть осуществлена несколькими путями:

– через активацию уже существующих в растении меристем (апекс стебля, пазушные и спящие почки стебля);

– через индукцию возникновения почек или эмбрионов *de novo*, которая включает:

а) образование адвентивных побегов непосредственно тканями экспланта;

б) индукцию прямого или непрямого соматического эмбриогенеза;

в) дифференциацию адвентивных почек в первичной и пересадочной каллусной ткани (Катаева, Бутенко, 1983).

В представленной работе приведены данные по сохранению некоторых редких и полезных

растений азиатской части России в коллекции *in vitro* лаборатории биотехнологии ЦСБС.

Объекты исследований для создания коллекции микрклонов редких и эндемичных видов выбраны в соответствии со следующими критериями:

1. Принадлежность видов к одной из категорий редкости, принятых в Красных книгах;

2. Практическая ценность видов (декоративность, лекарственная ценность, значимость для селекции и др.);

3. Затруднения в размножении традиционными методами.

На основе указанных критериев из 6 семейств выбраны 16 видов, различающихся по статусу редкости (эндемичные, редкие) и обладающих полезными свойствами: сем. Ranunculaceae: *Pulsatilla vulgaris* Mill.; сем. Fabaceae: *Guldenstaedtia monophylla* Fisch., *Hedysarum theinum* Krasnob., сем. Liliaceae: *Lilium pilosiusculum* (Freyn) Miscz., *L. pumilum* Delile, *L. distichum* Nakai, *L. cernuum* Kom.; сем. Alliaceae: *Allium karataviense* Regel, *A. aflatunense* B. Fedtsch., *A. altissimum* Regel, *A. giganteum* Regel, *A. schubertii* Zucc.; сем. Primulaceae: *Primula pinnata* M. Pop. et Fed.; сем. Scrophulariaceae: *Scrophularia altaica* Murr., *S. nodosa* L. и др.

Введение в культуру и размножение микрклонов редких и эндемичных видов

При введении в культуру и микрклональном размножении редких видов в качестве исходного материала предпочтительно использовать семена из возможно большего количества природных популяций, поскольку таким образом обеспечивается генетическое разнообразие видов (Benson *et al.*, 2000). Следует учесть, что используемые методы культуры ткани, состав питательных сред, условия культивирования не должны приводить к появлению соматических вариаций (Кунах, 1997). При создании банка *in vitro* редких и эндемичных видов ставили следующие задачи исследования:

– изучить морфогенетический потенциал и особенности регенерации видов;

– определить идентичность полученных клонов и материнских растений с помощью методов изоферментного анализа и сопоставления их кариотипов.

Из семейства Fabaceae в коллекции *in vitro* поддерживаются 2 вида. В 2007 г. впервые введена в культуру *in vitro* и размножена гюльденштедтия однолистная – *Gueldenstaedtia monophylla* Fisch (сем. Fabaceae), редкий вид с дизъюнктивным ареалом в пределах Алтае-Саянской горной системы, рекомендованный для государственной охраны, статус 3(R). В региональные сводки (Красная книга Республики Алтай, 1996 и Красная книга Республики Тыва, 2002) вид внесен со статусом 2 (U) – уязвимый таксон.

В качестве исходного материала использовали семена, собранные в 2 популяциях (Онгудайский район, Алтайский край) сотрудниками лаборатории интродукции редких и исчезающих видов. Для введения в культуру *in vitro* в первом пассаже использовали среду Murashige, Skoog (1962) – (MS), содержащую 0,1 мг/л α -нафтилуксусную кислоту (НУК) и 0,2 мг/л 6-бензиламинопурина (БАП). Среда MS для дифференциации во втором пассаже дополнили 0,4 мг/л НУК и 1,0 мг/л БАП. Совместное использование ауксинов и цитокининов способствовало вытягиванию конуса нарастания, что позволило в дальнейшем проводить микрочеренкование регенерантов. Повышение концентрации цитокинина привело к появлению множества пазушных побегов (рис. 1). Таким образом, микроразмножение происходит путем активации пазушных меристем, что является предпочтительным для размножения редких видов, поскольку позволяет поддерживать генетическую стабильность размножаемых растений (Высоцкий, 1998).



Рис. 1. Микроклональное размножение *Gueldenstaedtia monophylla* Fisch. на среде MS, содержащей 0,1 мг/л НУК и 0,2 мг/л БАП.

Этим же способом – активацией пазушных меристем в культуру *in vitro* введен эндемик Алтая *Hedysarum theinum* Krasnob., ценное лекарственное бобовое растение, находящееся под угрозой исчезновения. Его небольшой дизъюнктивный географический ареал ограничен высокогорными альпийскими лугами в горном Алтае. Это растение всегда ценилось местным населением за его красные корни (народное название растения – «красный корень»), которые использовались для приготовления тонизирующего чая. В последние годы ценные лекарственные качества копеечника чайного заинтересовали несколько российских фармацевтических фирм, специализирующихся на натуральных продуктах. Чрезвычайно медленный рост делает этот вид особенно уязвимым. Корни считаются зрелыми и пригодными к заготовке в 30 лет. Копеечник чайный не размножается вегетативно и начинает цвести к 18 годам. Все это приводит к тому, что возобновление популяций нарушено в результате все возрастающей нагрузки со стороны заготовителей. Без эффективных действий, направленных на сохранение вида, его ресурсы могут полностью истощиться.

Одним из путей сокращения нагрузки на дикорастущие популяции является введение копеечника чайного в культуру для плантационного выращивания, что позволит обеспечить сырьем фармацевтические компании.

К сожалению, семена копеечника, собранные в природе, не пригодны для плантационных посевов. *Hedysarum theinum* дает много семян, которые хорошо прорастают, но большинство сеянцев погибает через несколько дней, в среднем выживает только 2 % (Карнаухова и др., 2006).

В этой ситуации микроклональное размножение является единственным и наилучшим решением проблемы сохранения *ex situ* этого экономически важного, находящегося под угрозой исчезновения лекарственного растения, что в дальнейшем позволит решить задачу сохранения копеечника чайного *in situ*.

В качестве эксплантов использовали растущие побеги с маточных растений, являющихся отборными формами, представляющими разные популяции из коллекции лаборатории интродукции редких и исчезающих видов. Для введения в

культуру *in vitro* в первом пассаже использовали среду MS, содержащую 0,1 мг/л НУК и 2,0 мг/л БАП. Среду MS для дифференциации во втором пассаже дополняли 1,0 мг/л БАП или использовали комбинацию двух цитокининов: 1,0 мг/л БАП и 1,0 мг/л триапентенола (последний вводили для укорочения междоузлий).

Проведены исследования по оптимизации протокола для микроразмножения редкого вида *Primula pinnata* M. Pop. et Fed. (сем. Primulaceae), узлолокального эндемика с Маломорского побережья оз. Байкал, занесенного в Красную книгу Иркутской области (2001). Наилучший результат получили при размножении *P. pinnata* при комбинации регуляторов роста: 0,1 мг/л НУК и 2,0 мг/л БАП.

Из семейства Alliaceae введены в культуру ткани и размножены 5 эндемичных высокодекоративных видов из подрода *Melanocrommyum*: *Allium aflatanense* B. Fedtsch., *A. altissimum* Regel, *A. giganteum* Regel, *A. karataviense* Regel, *A. schubertii* Zucc., являющихся эндемиками Средней Азии (Флора ..., 1935).

В работе использовали различные типы эксплантов: семена, части почки возобновления с кусочком донца луковицы, цветоложе цветков и основание соцветий на разных стадиях развития (в фазе бутонизации и цветения). Показано, что использование генеративных органов в качестве эксплантов позволяет преодолеть проблемы за-грязнения, возникающие при использовании в качестве эксплантов подземных органов, а также сохранить материнское растение. В качестве индукционной среды применяли среду D. Dunstan, K. Short (1978), (BDS), содержащую 2 мг/л БАП и 2 мг/л НУК. Через 30–40 дней культивирования *A. karataviense* на среде для дифференциации, содержащей 1–2 мг/л триапентенола, появились первые глобулярные структуры и луковички. Удлинение побега происходило в конце следующего пассажа через 15–20 дней на среде BDS без гормонов. Укоренение побегов наблюдали на среде BDS с добавлением 1 мг/л индолилмасляной кислоты (ИМК). Использование метода прямой регенерации из цветоложа более эффективно, чем регенерация через каллусные культуры, формирующиеся из семян или луковиц. Коэффициент размножения при использовании этих эксплантов составил 28 побегов на один

эксплант (для *A. altissimum*), что значительно превышает коэффициенты размножения при использовании в качестве эксплантов семян или частей луковиц (рис. 2).

Разработана методика микрклонального размножения, культивирования и сохранения *in vitro* регенерантов двух редких видов лилий Дальнего Востока – *Lilium cernuum* Kom. и *L. distichum* Nakai (сем. Liliaceae). Семенное возобновление этих видов в интродукции часто отсутствует (Редкие и исчезающие виды ..., 1983; Растения Красной книги ..., 2005), а при вегетативном коэффициент размножения невысок. При изучении процесса адвентивного побегообразования у изучаемых видов в культуре *in vitro* выделен тип эксплантов, представляющий собой сопряженную систему: пыльник–тычиночная нить–ткань цветоложа, из которого получены регенеранты путем прямого органоогенеза без стадии каллусообразования (рис. 3).

Проведенный с помощью кариологического метода анализ регенерантов показал их генетическую стабильность ($2n = 24$). Для изучения возможной изменчивости среди регенерантов, полученных в результате культивирования *in vitro* из разных типов эксплантов (луковичных чешуй, тканей и органов цветка), а также для сравнения исходных генотипов лилий с полученными регенерантами был применен анализ изоферментов. Мы использовали метод электрофоретического разделения экстрактов белков в крахмальном геле.

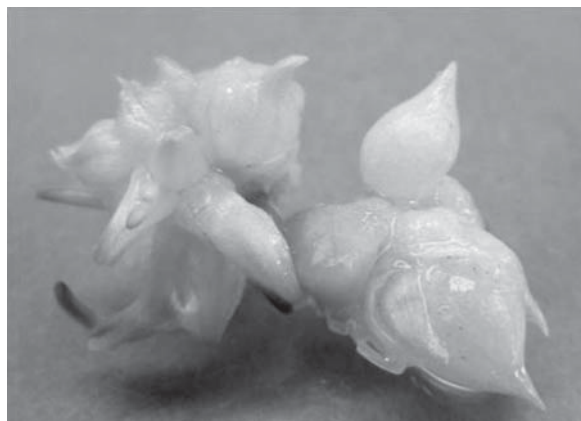


Рис. 2. Дифференциация луковичек и микроразмножение *Allium karataviense* Regel на среде BDS, дополненной 1 мг/л триапентенола.



Рис. 3. Пролиферация микролуковичек *Lilium distichum* Nakai, полученных из экспланта пыльник–тычиночная нить–ткань цветоложа.

По результатам анализа с участием 6 изоферментных систем были выделены в качестве видоспецифичных только две – изоцитратдегидрогеназы (IDH) и 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (6-FGD). С помощью этих ферментных систем нами показана возможность идентификации полученных регенерантов у двух изученных видов лилий. При анализе спектров IDH, полученных от растений *L. cernuum*, выращиваемых *in vivo*, находящихся в репродуктивном возрастном периоде, и у регенерантов, полученных из различных эксплантов тканей и органов их цветков, нами были отмечены различия (рис. 4, а). В то время как у регенерантов *L. cernuum*, полученных из разных типов эксплантов (луковичных чешуй и тканей и органов цветков), выявлена идентичность спектров IDH (рис. 4, б).

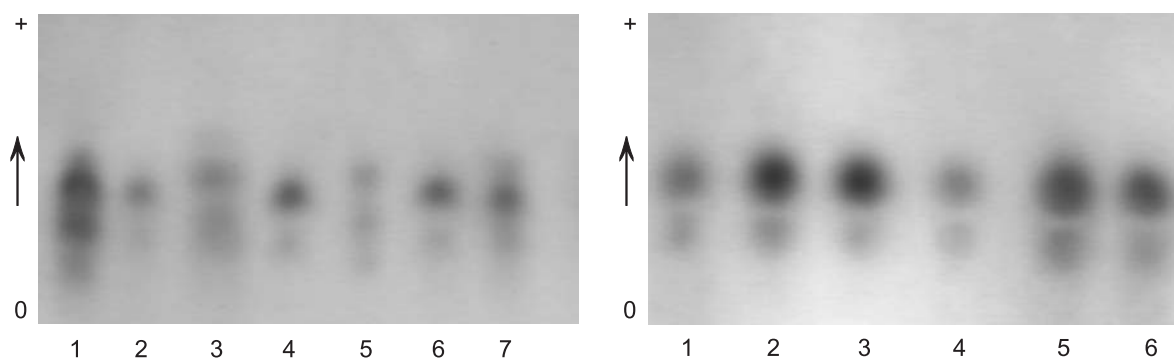


Рис. 4. Изоферментные спектры IDH: а) у растения-донора *L. cernuum*, выращиваемого в условиях *in vivo* (1, 3, 5) и у регенерантов, полученных из луковичных чешуй данного растения и выращенных *in vitro* (2, 4, 6); б) у регенерантов, полученных из частей цветков *L. cernuum* (1, 2, 3) и луковичных чешуй (4, 5, 6).

В дальнейшем планируется использование молекулярно-генетических методов (RAPD анализ) для идентификации исходных генотипов и регенерантов.

Введение в стерильную культуру и микрклональное размножение полезных видов растений (декоративных, лекарственных, пищевых и др.)

При введении в стерильную культуру и микрклональном размножении полезных видов растений (декоративных, лекарственных, пищевых и др.) для последующей интродукции и ускорения селекции выбор объектов определялся следующими критериями:

- 1) высокой хозяйственной ценностью видов, сортов, гибридов (декоративными свойствами, пищевыми качествами, лекарственной активностью и др.);
- 2) необходимостью массового размножения растений для ускорения интродукции и селекции;
- 3) затруднением использования традиционных методов для размножения.

В соответствии с критериями из 11 семейств выбраны следующие объекты исследования: рододендроны (25 морозоустойчивых видов, гибридов, сортов отечественной и зарубежной селекции), клематисы (12 сортов, 1 вид), голубика топяная (сорт селекции ЦСБС), малина (6 сортов), земляника (6 сортов), крыжовник (безшипая форма), лилии (45 видов, сортов, гибридов), гиацинты (3 сорта), сенполии (35 сортов), стрептокарпусы (9 сортов), бегонии

(2 сорта), каланхое (6 сортов), петунии, сурфинии, фортунии (10 сортов), хосты (7 сортов), лилейники (5 сортов), хирит (7 сортов) и др. – всего 185 видов, гибридов, сортов, форм.

При введении в культуру и размножении полезных растений ставили следующие задачи исследования:

- оценить влияние типов первичных эксплантов, состава питательных сред, условий культивирования на процессы регенерации *in vitro* изучаемых видов и сортов;

- разработать методы массового микроразмножения наиболее ценных видов, сортов и форм;

- оптимизировать процесс адаптации регенерантов *ex vitro*.

Для введения в культуру ткани ценного пищевого растения – голубики топяной *Vaccinium uliginosum* L. (сорта селекции ЦСБС), сем. Ericaceae, выращиваемой на коллекционном участке лаборатории пищевых растений, в качестве эксплантов брали отрастающие побеги длиной 3–6 см с активно растущими апексами. Применяемые методики (временный перевод в жидкую среду, выращивание при пониженных температурах, оптимизация среды за счет увеличения содержания отдельных макросолей и фитогормонов) способствовали размножению голубики в культуре ткани.

Из этого же семейства введены и размножены в культуре *in vitro* 25 видов, гибридов, сортов морозостойчивых рододендронов. Основной средой для культивирования этих высокодекоративных растений является среда Anderson (1984) – (A-2), дополненная ИУК (β -индолилуксусная кислота) и 2 iP (6- γ , γ -диметилаллиламинопурин) в соотношении 1 : 5 (рис. 5, а). Проведена адаптация клонов к условиям *ex vitro*, часть полученных растений высажена в Бонсай-парк ЦСБС (рис. 5, б).

Из сем. Betulaceae введены в культуру ткани и размножены декоративные формы ольхи: *Alnus incana* f. *laciniata* и гибрид *A. hirsuta* \times *A. incana*, полученный путем искусственной гибридизации в лаборатории дендрологии. Особенность микроклонального размножения изучаемых форм заключается в исключении из состава сред ауксинов, вызывающих образование каллуса. Внесение в среду культивирования (MS) 0,5 мг/л БАП способствовало образованию

кластеров, состоящих из 15–20 пазушных и адвентивных побегов без признаков витрификации. Полученные клоны успешно адаптированы к условиям *ex vitro* (рис. 6).

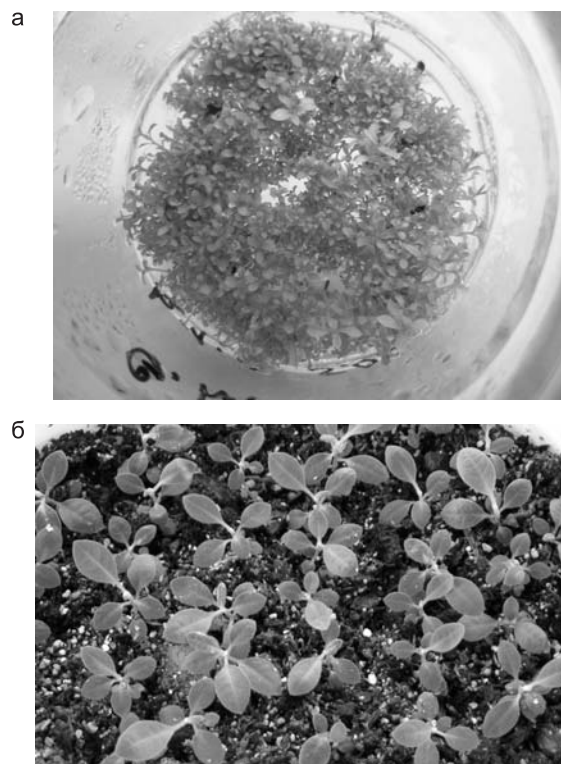


Рис. 5. Микроразмножение рододендронов: а) массовое размножение азалии сорта Golden light; б) адаптация микроклонов гибрида Helsinki University \times Ken Janeck к условиям *ex vitro*.



Рис. 6. Адаптация микроклонов гибрида *A. hirsuta* \times *A. incana* к условиям *ex vitro*.

Установлено, что морфогенетическое развитие эксплантов лилий, гиацинтов, лилейников и хост в культуре *in vitro* зависит от стадии онтогенеза гаметофита. Всего было изучено 3 сорта гиацинтов, 5 сортов лилейников, 7 сортов хост, 4 вида и 25 сортов лилий. Прямой органо-генез происходил только у эксплантов, взятых из бутонов на ранних стадиях гаметофитной генерации. Экспланты, взятые из бутонов на стадии полуроспуска (двухклеточная стадия пыльцевого зерна), в большинстве случаев развивались по пути флорального морфогенеза либо каллусогенеза (рис. 7, 8). Получены регенеранты у всех изученных нами генотипов лилий, лилейников, хост, гиацинтов. В течение трех лет поддерживается коллекция регенерантов, высаженных в почвенную культуру, среди которых отмечена высокая морфологическая степень сходства с исходными генотипами.

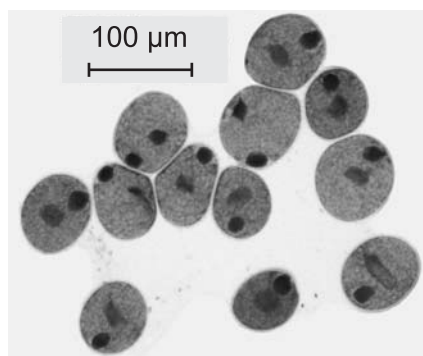


Рис. 7. Двухклеточная стадия развития пыльцевого зерна лилии.

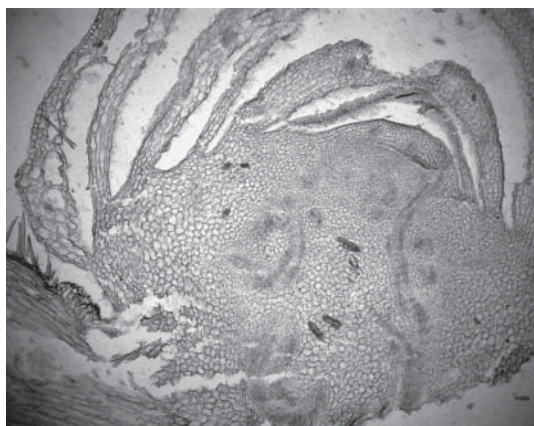


Рис. 8. Адвентивная цветочная почка хосты сорта Christmas Tree, сформировавшаяся *in vitro*.

Сохранение в коллекции *in vitro*

Возможность создания банка культур *in vitro* для длительного хранения генофонда редких и полезных растений является важнейшим достижением биотехнологии. Методические приемы, существующие на сегодняшний день, делятся на две группы. Одна из этих групп основывается на хранении культур без нарушения процесса роста, тогда как вторая – на хранении либо при замедлении роста, либо при полной его остановке. Первый подход является достаточно затратным, так как связан с частым субкультивированием растительного материала. Способ криоконсервации, требующий тщательной подготовки материала, добавления криоконсервантов, является еще более трудоемким и дорогим, и пока мы не имеем специального оборудования. Наиболее приемлемым в наших условиях является метод снижения температуры культивирования, за счет которого достигается увеличение промежутка между пассажами до 12–14 месяцев. Важно отметить, что способ хранения живых тканей при пониженных температурах не имеет негативных последствий для растений-регенерантов и даже способствует их более интенсивному росту после переноса в нормальные условия.

В настоящее время в коллекции *in vitro* лаборатории биотехнологии ЦСБС поддерживается 16 микроклонов редких и эндемичных видов из 6 семейств и 185 микроклонов полезных видов, сортов, гибридов, форм из 11 семейств. Для хранения нами используется специальное оборудование – световой термостат фирмы RuMed (Германия), позволяющий сохранять клоны при пониженной температуре в состоянии замедленного роста. Создание банка *in vitro* не только способствует развитию исследований по сохранению биоразнообразия растений, но и является основой для изучения фундаментальных проблем физиологии, биохимии растений, генетико-селекционных работ и др.

Литература

Андреев Л.Н., Горбунов Ю.Н. Сохранение редких и исчезающих растений *in situ*: достижения и проблемы // Изучение и охрана разнообразия фауны, флоры и основных экосистем Евразии: Матер.

- Международ. конф. М., 2000. С. 19–23.
- Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе. М.: ФБК-ПРЕСС, 1999. 160 с.
- Высоцкий В.А. Биотехнологические методы в системе производства оздоровленного посадочного материала и селекции плодовых и ягодных растений: Автореф. дис... д-ра с.-х. наук. М., 1998. 44 с.
- Карнаухова Н.А., Селютина И.Ю., Черкасова Е.С. Особенности развития *Hedysarum theinum* Krasnob. при интродукции в лесостепную зону Западной Сибири // Роль ботанических садов в сохранении биоразнообразия растительного мира Азиатской России: настоящее и будущее: Матер. Всерос. конф. Новосибирск, 2006. С. 129–131.
- Катаева Н.В., Бутенко Р.Г. Клональное микроразмножение растений. М.: Наука, 1983. 96 с.
- Конвенция о биологическом разнообразии: Текст и прил. NEP/CBD/COP/8/12, 2006. 38 с.
- Красная книга Иркутской области. Сосудистые растения. Иркутск: Изд-во Облмашинформ, 2001. 200 с.
- Красная книга Республики Алтай. Растения. Новосибирск, 1996. 130 с.
- Красная книга Республики Тыва. Растения. Новосибирск, 2002. 149 с.
- Кунах В.А. Генетическая изменчивость соматических клеток растений. 3. Каллусообразование *in vitro* // Биополимеры и клетка. 1997. № 5. Вып. 13. С. 362.
- Международная программа ботанических садов по охране растений. М.: Междунар. совет ботан. садов по охране растений. Botanic Gardens Conserv. Intern. 2000. 57 с.
- Мехтизаде Э.Р., Акпаров З.И., Мамедова С.А. Прогноз генетической долговечности семян // Современные проблемы науки и образования. 2007. № 3. www.rae.ru.
- Растения Красной книги России в коллекциях ботанических садов и дендрариев. М., 2005. 142 с.
- Редкие и исчезающие виды природной флоры СССР, культивируемые в ботанических садах и других интродукционных центрах страны. М., 1983. 302 с.
- Семенова Г.П. Редкие и исчезающие виды флоры Сибири. Новосибирск: Академ. изд-во «Гео», 2007. 408 с.
- Стратегия ботанических садов России по сохранению биологического разнообразия растений. М.: Красная Звезда, 2003. 32 с.
- Флора СССР. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1935. Т. 4.
- Anderson W.C. A revised tissue culture medium for shoot multiplication of rhododendron // J. Amer. Soc. Hort. Sci. 1984. 109. P. 343–347.
- Benford G. An *ex situ* «Library of Life» strategy // Protection of global biodiversity converting strategies / Eds L.D. Guruswamy, J.A. McNeely. Durham, London Duke Univ. Press. 1998. P. 87–97.
- Benson E.E., Danaher J.E., Pimbley I.M. *et al.* *In vitro* micropropagation of *Primula scotica*: a rare Scottish plant // Biodiversity and Conservation. 2000. V. 9. P. 711–726.
- Dunstan D.I., Short K.C. Shoot production from onion callus tissue culture // Sci. Hortic. 1978. V. 9. P. 99–110.
- Fay M. Conservation of rare and endangered plants using *in vitro* methods // *In vitro* Plant Cell Dev. Biol. 1992. V. 28. P. 1–4.
- Global Strategy Plant Conservation: www.bgci.org.uk/files/7/0/global_strategy.pdf.
- Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // J. Physiol. Plant. 1962. V. 15. P. 473–497.
- Pence V.C. The application of biotechnology for the conservation of endangered plants // Plant Conservation Biotechnology / Ed. E.E. Benson. Chapter 15. London: Taylor and Francis, 1999. P. 227–241.
- Schuiteman A., de Vogel E.F. Taxonomy for conservation // Orchid conservation / Eds K.W. Dixon, S.P. Kell, R.L. Barret, P.J. Cribb. Kota Kinabalu, Sabah: Natural Publ., 2003. P. 55–68.

RARE AND USEFUL PLANTS' CONSERVATION IN THE *IN VITRO* COLLECTION OF CENTRAL SIBERIAN BOTANICAL GARDEN**T.I. Novikova, A.Yu. Nabieva, T.V. Poluboyarova**

Central Siberian Botanical Garden, SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail: bluebird@list.ru

Summary

In vitro techniques have found increasing use in protection of plant biodiversity in recent years. In Central Siberian Botanical Garden the collection of meristem cultures of threatened and useful plants from Siberia and the Far East floras was maintained in the Laboratory of Biotechnology. Long-term storage of material in culture allows not only conservation of rare genotypes but also could serve the basis for morphological and regeneration studies including adaptation of microclones under *ex vitro* conditions.