

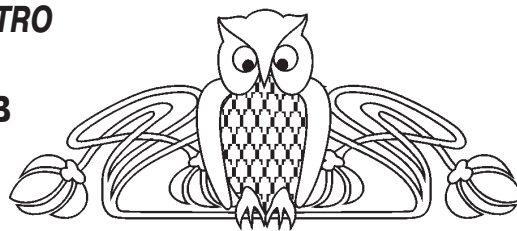


Список литературы

1. Полина Ю. В., Родзаевская Е. Б., Наумова Л. И., Михлина Н. В., Тупикин В. Д. Избирательное действие различных частотных режимов ЭМИ на гистофункциональную картину и гормональную активность почек и надпочечников при стрессе // Естественные науки. 2007. № 4. С. 43–47.
2. Тупикин В. Д., Полина Ю. В., Уварова И. А., Наумова Л. И., Родзаевская Е. Б., Бугаева И. О. Эффекты низкоинтенсивного электромагнитного излучения в структуре почек и надпочечников изолированно и при стрессе // Астрахан. мед. журн. 2010. № 1. С. 282–285.
3. Серов В. В. Функциональная морфология почек // Клиническая нефрология. 1993. Т. 1. С. 9–33.

УДК 581.143.6+582.5

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА КУЛЬТУРЫ *IN VITRO* ДЛЯ СОХРАНЕНИЯ НЕКОТОРЫХ РЕДКИХ И ИСЧЕЗАЮЩИХ КАЛЬЦЕФИЛЬНЫХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ



Т. А. Крицкая, А. С. Кашин

Учебно-научный центр «Ботанический сад»
Саратовского государственного университета
E-mail: kriczkaya.tatyana@mail.ru, kashinas2@yandex.ru

Впервые была получена стерильная культура *in vitro* *Potentilla vulgarica*. Усовершенствована методика клонального микро-размножения *Silene cretacea*. Стерилизованные семена проращивали на питательной среде Мурашиге и Скуга без фитогормонов. Для активации пазушных меристем полученные проростки пересаживали на среды с различным минеральным составом и регуляторами роста. Было установлено, что подобранное нами сочетание фитогормонов, обозначенное условно «SCS», является оптимальным для быстрого получения большого количества регенерантов целого ряда апробированных кальцефильных видов растений. Также было отмечено, что оптимальной средой для культивирования выбранных объектов является Woody Plant Medium. Полученные результаты могут служить основой в дальнейшей работе по сохранению исследуемых объектов в культуре *in vitro*.

Ключевые слова: *Potentilla vulgarica*, *Silene cretacea*, культура *in vitro*, генобанк, редкие и исчезающие виды растений, Саратовская область.

Use of *in vitro* Culture Techniques for Conservation of Some Endangered Calciphilic Plant Species of Saratov Region

T. A. Kritskaya, A. S. Kashin

A sterile culture *in vitro* *Potentilla vulgarica* was obtained for the first time. The algorithm for micropropagation *Silene cretacea* was refined. Sterilized seeds were germinated on Murashige and Skoog medium without plant hormones. To activate the axillary meristems resulting seedlings were transplanted to medium with different mineral components and growth regulators. It has been found that the combination of chosen phytohormones designated as «SCS» is optimal for rapid preparation of a large number of regenerated

plants of a wide range of calciphilic species. It was also noted that the optimum medium for the cultivation of the selected objects is Woody Plant Medium. The results can serve as a basis for further work on the preservation of the objects under investigation in the culture *in vitro*.

Key words: *Potentilla vulgarica*, *Silene cretacea*, *in vitro* culture, genetic resources, endangered plant species, Saratov region.

Введение

Сохранение биоразнообразия растительного мира – одна из важнейших задач, стоящих перед современной биологической наукой. Существует два основных способа решения данной проблемы: *in situ* – создание особо охраняемых природных территорий и сохранение экосистем в целом, и *ex situ* – сохранение представителей исчезающих видов в коллекциях ботанических садов, а также хранение и поддержание растительного материала в так называемых генетических банках при низких температурах. В идеальном варианте эти мероприятия должны осуществляться в комплексе и дополнять друг друга [1–5]. Основу системы сохранения биоразнообразия дикорастущих растений России *ex situ* составляют ботанические сады. В их коллекциях представлено около 1/3 флоры России [6].

Известно, что Саратовская область является одним из динамично развивающихся регионов Поволжья, по многим показателям занимающая



ведущие позиции в сфере природоохранной деятельности. Тем не менее, на её территории наблюдается тенденция к сокращению биоразнообразия. Во втором издании «Красной книги Саратовской области» (2006) приведён перечень из 256 редких и исчезающих видов покрытосеменных растений [7]. Из них около 20% являются факультативными или облигатными кальцефилами (*Potentilla vulgarica* Juz., *Silene cretacea* Fisch. ex Spreng., *Silene hellmannii* Claus, *Stipa cretacea* P. A. Smim., *Anabasis cretacea* Pall., *Matthiola fragrans* Bunge, *Astragalus zingeri* Korsh., *Hedysarum razoumovianum* Fisch. et Helm., *Hedysarum grandiflorum* Pall., *Helianthemum cretaceum* (Rupr.) Juz. ex Dobrocz., *Hyssopus cretaceus* Dubjan., *Linaria cretacea* Fisch. ex Spreng, *Scrophularia sareptana* Kleop. ex Ivanina, *Anthemis trotziana* Claus и др.). Узкая экологическая амплитуда, разработка меловых склонов и неумеренный выпас скота являются лимитирующими факторами для данных видов и наиболее частыми причинами их уязвимости.

Создание генетического банка *in vitro* является одним из наиболее актуальных и перспективных путей сохранения биоразнообразия. Однако реализация данного метода возможна лишь при соответствии растительного материала ряду жёстких требований. Во-первых, материал должен быть введен в культуру *in vitro* и освобождён от вредителей и патогенов; во-вторых, необходимо разработать эффективные методы клонального микроразмножения для каждого закладываемого на хранение генотипа в целях получения максимального количества растений-регенерантов, и, в-третьих, при хранении культуры в условиях замедленного роста должен быть необходимым и достаточным минимальный уход [8, 9].

Целью нашей работы являлось получение асептической, безвирусной культуры наиболее уязвимых кальцефильных видов растений Саратовской области и разработка эффективного способа их регенерации для последующего решения задач, связанных с сохранением данных видов в условиях замедленного роста.

В качестве модельных объектов исследования были выбраны смолёвка меловая и лапчатка волжская.

Смолёвка меловая (*Silene cretacea*, Caryophyllaceae) была обнаружена на территории Красноармейского района Саратовской области в 2008 г. сотрудниками Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского [10]. До этого вид не отмечался на территории

области более 150 лет, поэтому не вошел во второе издание «Красной книги Саратовской области». Смолёвка меловая занесена в Красную книгу Российской Федерации (2008) со статусом «Зв» – вид с узкой экологической амплитудой (эндемик Восточной Европы и Казахстана) [11], рекомендована к включению в третье издание Красной книги Саратовской области со статусом «вид, находящийся на грани исчезновения» [10], а также входит в список особо охраняемых растений Европы [12].

Лапчатка волжская (*Potentilla vulgarica*, Rosaceae) является узколокальным кальцефильным эндемиком Приволжской возвышенности и имеет категорию «1» – вид, находящийся под угрозой исчезновения – как в «Красной книге Саратовской области» [7], так и в «Красной книге Российской Федерации» [11]. В настоящее время вид сохраняется на территории национального парка «Хвалынский» [13] и памятника природы «Мухин дол» в Вольском районе, а также культивируется на участках открытого грунта учебно-научного центра «Ботанический сад» СГУ.

Материалы и методы

Смолёвка меловая – приземистый полукустарничек 5–30 см высотой, с многочисленными стеблями, одревесневающими в основании. Листья линейные, шероховатые по краям, иногда изогнутые. Корневая система стержневая на протяжении всей жизни растения. Цветёт в мае-июле. Плод – коробочка. Размножается семенами [11].

Лапчатка волжская – травянистый многолетник 15–20 см высотой с дважды перистыми листьями, рассеченными на очень узкие сегменты, внизу тонко войлочно-опушёнными. Корень стержневой, в верхней части утолщенный, с возрастом разделяющийся на каудексы. Цветёт в мае. Возможно повторное цветение во второй половине лета или осенью. Плод – многоорешек. Размножение семенное [7, 11].

Руководствуясь правилами сбора редких и находящихся под угрозой исчезновения видов растений для ботанических садов [14], в качестве исходных эксплантов брали зрелые семена растений. Сбор семян смолёвки меловой произвели в середине июня 2011 г. с интактных растений, произрастающих на территории УНЦ «Ботанический сад» СГУ. Семена лапчатки волжской собрали в конце июля 2012 г. из природной популяции на территории национального парка «Хвалынский». До начала проведения



экспериментов они хранились в бумажных конвертах при комнатной температуре.

Перед началом стерилизации семена погружали в раствор синтетического моющего средства «Pril» («Хенкель-ЭРА», Тосно) и экспонировали на лабораторной качалке 30 мин. После этого их многократно промывали дистиллированной водой.

Затем семена обрабатывали 70%-ным этиловым спиртом в течение 3–5 мин, после чего переносили в 25%-ный раствор (1:3) бытового отбеливателя «Белизна» («Электра», Волгоград) с добавлением 2–3 капель детергента «Tween 80» («Panreac Quimics», Европейский Союз) и экспонировали 20–30 мин на шейкере. На завершающем этапе стерилизации семена пятикратно промывали стерильной дистиллированной водой. В условиях ламинарного бокса («Lamsystems», Россия) семена перемещали на питательную среду.

Пробирки с семенами переносили в ростовую комнату для проращивания (23–25 °С, 16-часовой фотопериод, освещение 3000 люкс). Тридцатидневные проростки, отделённые от корней и нижних листьев, пересаживали на питательную среду с различными комбинациями фитогормонов (БАП («Alfa Aesar», Германия), зеатин («Duchefa Biochemie», Нидерланды), кинетин («Alfa Aesar», Германия), 2-изопентил-аденин (2-ip, «Santa Cruz Biotechnology», США) для подбора оптимальных условий прямой регенерации растений.

Инициальная питательная среда содержала макро- и микроэлементы по прописи Мурасиге и Скуга (MS) [15], а также сахарозу (30 г/л), мезоинозит (100 мг/л), тиамин (0.5 мг/л), пиридоксин (0.5 мг/л), никотиновую (0.5 мг/л) и аскорбиновую (1.0 мг/л) кислоты («Panreac Quimics», Европейский Союз). Концентрацию агар-агара («Panreac Quimics», Европейский Союз) брали 5–6 г/л для инициальной среды и 8 г/л – для остальных этапов культивирования, рН среды доводили до 5.8–6.1 перед автоклавированием. Для получения безвирусных проростков применяли метод хемотерапии [16], дополнив инициальную среду для проращивания семян препаратом «Виразол»® (2 мг/л) и исключив из неё фитогормоны. Стерилизацию инструментов и питательных сред проводили по стандартной методике [17].

Каждый эксперимент выполнялся в трёх повторностях, в каждой из повторностей брали не менее 30 эксплантов. Полученные данные подвергали математической обработке, включа-

ющей нахождение среднего значения, стандартного отклонения и доверительного интервала.

Результаты и их обсуждение

Процент семян, свободных от фитопатогенов, при использовании изложенной выше методики стерилизации составил 100% для обоих объектов. Прорастание семян *P. vulgarica* наблюдали на 6–21-е сутки, *S. cretacea* – на 4–30-е сутки культивирования. Процент нежизнеспособных семян составил в среднем 8% для *P. vulgarica*, 20% – для *S. cretacea*. Применение бытового отбеливателя в качестве стерилизующего агента является экономически более выгодным, чем использование нитрата серебра, рекомендованного для обработки семян других видов лапчаток [18]. При этом выход жизнеспособных семян *P. vulgarica* не снижался. Количество стерильных эксплантов *S. cretacea* при использовании «Белизны» не уступало количеству, полученному с помощью препарата «Лизоформин-3000», рекомендованного по литературным данным [19].

Через 30 суток культивирования проростки эксплантировали на среду MS с добавлением следующих вариантов цитокининов: БАП 0.5 мг/л, кинетин 0.5 мг/л, зеатин 0.5 мг/л или 2-ip 0.5 мг/л. Контролем служила безгормональная среда MS. Через три недели производили подсчет коэффициента размножения, а также визуальную оценку общего состояния растений. Увеличение длительности пассажа приводило к некрозу прикорневых листьев и оводнению части регенерировавших микропобегов (до 20%).

Смолёвка меловая

При культивировании *S. cretacea* на питательной среде MS с БАП 0.5 мг/л, рекомендованной для данного объекта [19], наблюдалось постепенное (через 3–4 пассажа) снижение жизнеспособности растительного материала, появление таких дефектов, как некроз эксплантов, разрастание каллусной ткани, появление антоциановой окраски и остановка морфогенеза (рис. 1). Выпад растений в этом случае составлял 54–56% за один пассаж, а коэффициент размножения – 3.45 ± 1.30 микропобегов на эксплант. Апробирование других цитокининов также не дало положительных результатов: во всех случаях уже на 1 пассаже было отмечено усиленное нарастание каллуса, единичные адвентивные побеги и признаки некроза (табл. 1).

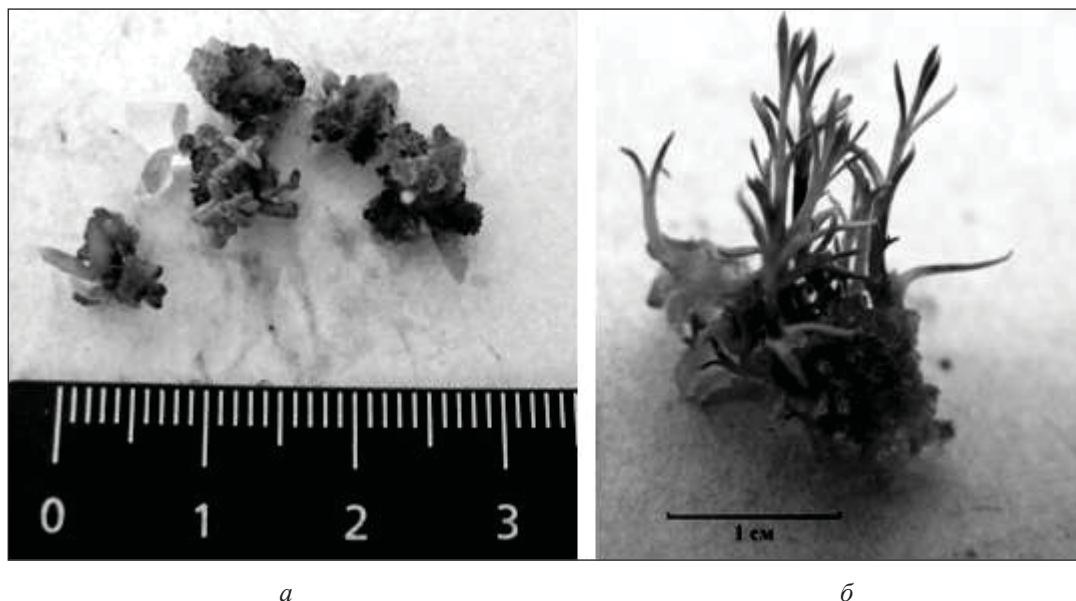


Рис. 1. Состояние эксплантов *S. cretacea* на питательной среде MS с БАП 0.5 мг/л (а) и SCS (б) через 21 сутки культивирования (5-й пассаж)

Таблица 1

Влияние регуляторов роста на адвентивное побегообразование *S. cretacea* (через 21 сутки культивирования)

Регулятор роста, мг/л	Количество регенерировавших микропобегов/эксплант, шт.	Количество элиминированных эксплантов, %
Контроль	3.33±0.65	–
БАП 0.5	3.45±1.30	55.00
Кинетин 0.5	–	100.00
Зеатин 0.5	2.67±1.80	39.85
2-ip 0.5	0.86±0.56	85.71

Как уменьшение (до 0.1 мг/л), так и увеличение (до 1.0 мг/л) концентрации цитокининов в питательной среде не дало статистически достоверных различий в частоте морфогенеза исследуемого объекта. Субкультивирование на питательные среды с БАП и ИУК в соотношениях 1:1, 1:5, 5:1 завершилось гибелью всех эксплантов. Дальнейший подбор оптимальных условий регенерации *S. cretacea* осуществлялся путём усложнения сочетания регуляторов роста и варьирования минерального состава питательной среды (рис. 2). Вариант, на котором был получен наилучший результат, содержал макро- и микроэлементы по прописи WPM (Woody plant medium) [20] и сложное сочетание фитогормонов, обозначенное нами условно «SCS» («*Silene cretacea* Saratov»). Количество адвентивных микропобегов/эксплант при этом было на уровне 10.51 ± 1.09 шт. а количество оводнённых микропобегов – ниже 4%.

Замена минерального состава на MS, B5 [21], QL [22] или Anderson [23] приводила к нарушению пигментации (хлороз или появление антоципановой окраски) регенерировавших микропобегов, недоразвитию листьев, образованию бурого каллуса, а также к общему снижению побегообразования.

Главным недостатком культивирования *S. cretacea* во всех рассмотренных вариантах являлось неизбежное нарастание каллуса в основании побегов. В целях снижения этого эффекта нами был выполнен эксперимент по подбору углеводов. Замена сахарозы на глюкозу или фруктозу привела к практически полному отсутствию каллуса, однако процент оводнённых адвентивных побегов в этих вариантах составил 87.78 и 44.36% соответственно. В последующих субкультивированиях такие побеги отличались пониженной жизнеспособностью и склонностью к некротическим явлениям.

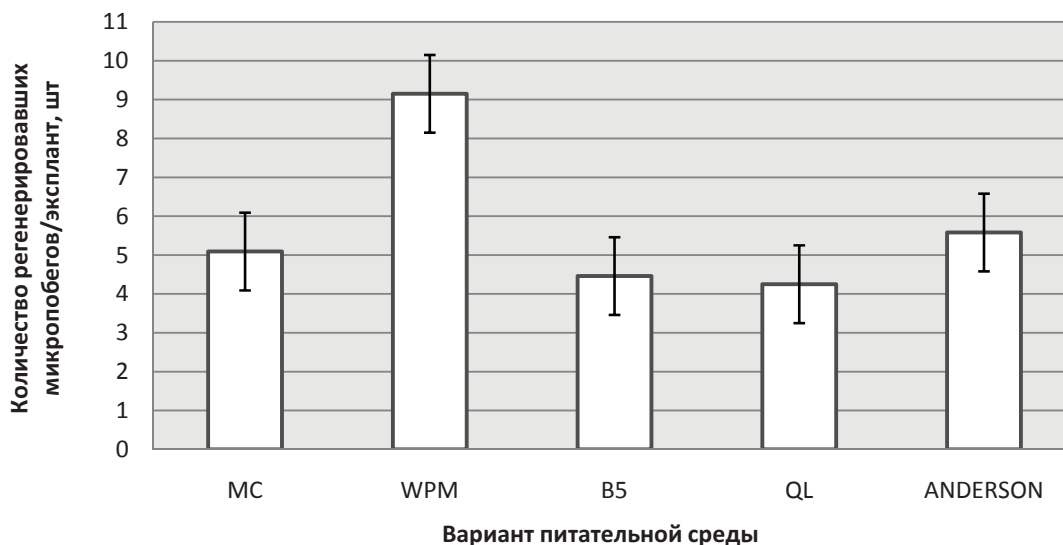


Рис. 2. Влияние минерального состава питательных сред на регенерацию микропобегов *S. cretacea* (через 21 сутки черенкования в условиях *in vitro*)

Снижение концентрации сахарозы до 20 г/л способствовало вытягиванию микропобегов, средняя длина которых составила 2.88 ± 0.45 см, по сравнению с исходным вариантом концентрации сахарозы 30 г/л (1.52 ± 0.19 см), а также уменьшению количества каллуса. Дальнейшее уменьшение концентрации сахарозы до 10 г/л привело к нарушению пигментации растительного материала и оводнению около 20% микропобегов.

Полное отсутствие каллуса без видимых дефектов растительного материала наблюдали лишь в контрольных образцах, при культивировании *S. cretacea* на питательной среде MS либо WPM без регуляторов роста. В этом варианте микроразмножение практически отсутствовало,

но, в отличие от всех остальных вариантов, происходило спонтанное образование корней через 30–60 суток экспонирования.

Лапчатка волжская

Для *P. vulgarica* максимальный коэффициент размножения отмечен на среде, содержащей БАП, и составил 10.30 ± 2.50 микропобегов на эксплант. Использование кинетина, зеатина и 2-ip не дало желаемого результата (табл. 2). На питательной среде с добавлением зеатина размножение практически отсутствовало (1.00 ± 0.17 адвентивных побегов на эксплант), но в отличие от вариантов с БАП, кинетином и 2-ip наблюдали формирование плотной розетки, максимальную длину и развитие листьев.

Таблица 2

Регенерационный потенциал эксплантов *P. vulgarica*, культивируемых *in vitro* на питательных средах с различными цитокининами (через 21 сутки культивирования)

Регулятор роста, мг/л	Количество адвентивных микропобегов/эксплант, шт.
Контроль	0.75 ± 0.33
БАП 0,5	10.30 ± 2.50
Кинетин 0,5	1.00 ± 0.12
Зеатин 0,5	1.00 ± 0.17
2-ip 0,5	1.50 ± 0.56

Исходя из полученных данных, в следующем эксперименте использовали питательную среду с добавлением зеатина (0.5 мг/л) в сочетании с различными концентрациями БАП (0.10; 0.25;

0.50; 1.00 мг/л). В исследуемом диапазоне интенсивность микроразмножения была практически одинаковой и составляла 9.81 ± 0.82 регенерировавших микропобегов на эксплант через



35 суток культивирования, однако, на питательной среде с БАП 0.50 мг/л и 1.00 мг/л наблюдалось оводнение от 50 до 100% растительного материала. Оптимальным оказался вариант с БАП 0.10–0.25 мг/л. При этом коэффициент размножения не имел статистически достоверных различий по сравнению с другими вариантами, но сами мериклоны легко отделялись от общей розетки и морфологически были более близки к нативным растениям. Количество оводненных микропобегов в данном варианте не превысило 10% на 21-е сут, и 20% – на 35-е сутки культивирования. В контрольном образце, лишённом регуляторов роста, микроразмножение отсутствовало, но в отличие от всех остальных вариантов был отмечен ризогенез.

Разработанное нами соотношение может быть применимо для быстрого получения (3–

4 пассажа) большого количества регенерантов, которые, минуя стадию дорастивания, могут сразу переходить к этапу корнеобразования. Однако было установлено, что длительное культивирование (более 4–5 пассажей) на питательной среде с БАП и зеатином приводит к образованию генеративных структур (рис. 3, а), осложняющих дальнейшую работу с культурой. Применение сочетания фитогормонов SCS, подобранного нами для смолёвки, полностью решило эту проблему (см. рис. 3, б). Коэффициент размножения составил 9.42 ± 3.19 адвентивных побегов на эксплант, при этом анализ морфометрических показателей (количество розеток, количество листьев, длина и ширина листа, диаметр экспланта) не выявил статистически достоверных различий.



Рис. 3. Состояние эксплантов *P. vulgaris* на питательной среде MS с БАП 0.25 мг/л + зеатин 0.50 мг/л (а) и SCS (б) через 4 пассажа (длительность одного пассажа – 21 сутки)

В ходе подбора оптимальных условий культивирования *P. vulgaris* были апробированы различные минеральные составы питательной среды: MS, WPM, B5, QL и Anderson. В опытном варианте каждый состав был дополнен зеатином и БАП в рекомендованных концентрациях, контроль – каждый состав без регуляторов роста. Наихудший результат был отмечен на QL и Anderson: как в опыте, так и в контроле наблюдали хлороз, недоразвитие листьев и общее угнетение морфогенеза. Наилучшие результаты были получены при культивировании на средах MS, WPM и B5. В контрольных вариантах мы не выявили статистически достоверных отличий в морфометрических параметрах исследуемого

объекта. На питательных средах, дополненных фитогормонами, различий по интенсивности побегообразования также выявлено не было, что свидетельствует о возможности использования каждого из трёх вариантов для регенерации микропобегов. Однако создание генетического банка предполагает минимальный уход за депонированной культурой. Этому условию более всего отвечает минеральный состав B5, так как в данном варианте растительный материал имел более компактную форму и несколько сниженные по сравнению с MS и WPM морфометрические показатели (рис. 4), тогда как морфогенетический потенциал оставался таким же (9.73 ± 3.23 адвентивных микропобегов на эксплант).

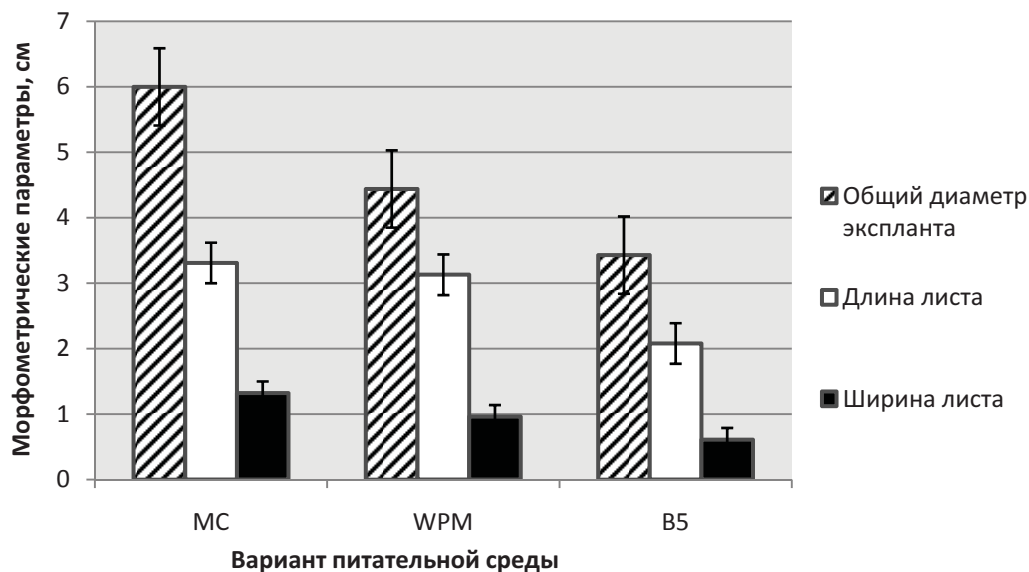


Рис. 4. Влияние минерального состава питательной среды на некоторые морфометрические параметры *P. volgarica* (30-е сутки культивирования)

Другие представители меловой флоры

Разработанное нами соотношение фитогормонов SCS на базе минерального состава WPM было применено к другим кальцефильным видам растений, культивируемым в настоящий момент в лаборатории микроразмножения растений УНЦ «Ботанический сад» СГУ. К ним относятся: *Silene hellmannii*, *Centaurea ruthenica*, *Hyssopus cretaceus* и *Scrophularia sareptana* (рис. 5).



Рис. 5. Массовая регенерация микропобегов *Scrophularia sareptana* на питательной среде SCS с минеральной основой WPM

Предварительные результаты показывают, что все эти культуры хорошо развиваются на апробированном варианте (1 : 5 – 1 : 30 адвентивных микропобегов на эксплант, в зависимости от вида), в то время как культивирование на питательной среде, дополненной одним лишь БАП (0.2–0.5 мг/л) в качестве источника цитокининов, приводит к постепенному угнетению морфогенеза вплоть до полного выпадения культуры.

Выводы

Получены стерильные, стабильно растущие культуры *P. volgarica* и *S. cretacea*. Разработан оптимальный баланс фитогормонов, получивший обозначение «SCS» («*Silene cretacea* Saratov»), для прямой регенерации микропобегов исследуемых объектов. Установлено, что базовыми питательными средами для клонального микроразмножения *P. volgarica* являются MS, WPM и B5, для *S. cretacea* – только WPM. Для дальнейшей работы по сохранению рассмотренных объектов в условиях замедленного роста могут быть рекомендованы безгормональные питательные среды с минеральной основой MS или WPM – для *S. cretacea* и B5 – для *P. volgarica*.

Список литературы

1. Андропова Е. В. Современные методы исследования и сохранения редких и исчезающих видов орхидных России // Биотехнология как инструмент сохранения биоразнообразия растительного мира : материалы



- II Всерос. науч.-практ. конф., Волгоград, 19–21 августа 2008 г. Белгород : Изд-во БелГУ, 2008. С. 24–28.
2. Белокурова В. Б. Методы биотехнологии для сохранения исчезающих видов растений в коллекциях *in vitro* // Биотехнология как инструмент сохранения биоразнообразия растительного мира : материалы II Всерос. науч.-практ. конф., Волгоград, 19–21 августа 2008 г. Белгород : Изд-во БелГУ, 2008. С. 34–38.
 3. Benford G. An ex situ «Library of Life» strategy // Protection of global biodiversity: converting strategies / eds. L. D. Guruswamy, J. A. Mc Neely. Durham ; L. : Duke Univ. Press, 1998. P. 87–97.
 4. Hammer K., Arrowsmith N., Gladis T. Agrobiodiversity with emphasis on plant genetic resources // Naturwissenschaften. Springer Verlag, 2003. Vol. 90, № 6. P. 241–250.
 5. Kuckuck H., Kobabe G., Wenzel G. Fundamentals of plant breeding (with cooperation of D. Boringer, W. Hondelmann, V. Story, T. Tatlioglu). Springer Verlag, 1991. 236 p.
 6. Молканова О. И., Коротков О. И., Горбунов Ю. Н. Методология сохранения коллекций редких и ценных растений в генетических банках *in vitro* // Биотехнология как инструмент сохранения биоразнообразия растительного мира : материалы II Всерос. науч.-практ. конф., Волгоград, 19–21 августа 2008 г. Белгород : Изд-во БелГУ, 2008. С. 118–122.
 7. 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.
 8. Митрофанова И. В. Соматический эмбриогенез и органогенез как основа биотехнологии получения и сохранения многолетних садовых культур. Киев : Аграрная наука, 2011. 344 с.
 9. Engelmann F. *In vitro* conservation methods // Biotechnology and plant genetic resources: Conservation and use / eds. B. V. Ford-Lloyd, J. H. Newbury, J. A. Carrow. UK : Wallingford : CABI Publishing, 1997. Vol. 3, № 1. P. 119–162.
 10. Невский С. А., Давиденко О. Н., Березуцкий М. А., Архипова Е. А. О находке Смолёвки меловой (*Silene cretacea* Fisch. ex Spreng., Caryophyllaceae) в Саратовской области // Поволж. экол. журн. 2009. № 2. С. 170–172.
 11. Красная книга Российской Федерации (растения и грибы) / гл. ред. Ю. П. Труннев. М. : Тов. науч. изданий КМК, 2008. 855 с.
 12. Convention on the Conservation of European Wildlife and Natural Habitats. Bern, 1979. App. 1.
 13. Серова Л. А., Березуцкий М. А. Растения национального парка «Хвалынский» (Конспект флоры). Саратов : Науч. кн., 2008. 194 с.
 14. Горбунов Ю. Н., Дзыбов Д. С., Кузьмин З. Е., Смирнов И. А. Методические рекомендации по реинтродукции редких и исчезающих видов растений (для ботанических садов). Тула : Гриф и К, 2008. 56 с.
 15. 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.
 16. Митрофанова О. В., Михайлов А. П., Чехов А. В. Биотехнологические аспекты освождения от вирусов и клонального микроразмножения некоторых экономически важных многолетних культур // Биотехнологические исследования садовых и других ценных многолетних культур : сб. науч. тр. Ялта : Никит. бот. сад, 1997. Т. 119. С. 7–34.
 17. Катаева Н. В., Бутенко Р. Г. Клональное микро-размножение растений. М. : Наука, 1983. 232 с.
 18. Катаева М. В. Введение в культуру *in vitro* редких лекарственных растений *Potentilla* L. // Интродукция, сохранение и использование биологического разнообразия мировой флоры : материалы Междунар. конф., посвящ. 80-летию Центр. бот. сада Нац. академии наук Беларуси. Минск, 19–22 июня 2012 г. : в 2 ч. Минск, 2012. Ч. 2. С. 398–401.
 19. Жолобова О. О. Сохранение редких и исчезающих видов растений в культуре *in vitro* и оценка уровня их внутривидового полиморфизма : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Белгород : Изд-во БелГУ, 2012. 23 с.
 20. Loud G., McCown B. Commercially-feasible micro-propagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture // *Proc. Intern. Plant Prop. Soc.* 1980. Vol. 30. P. 420–427.
 21. Gamborg O. L., Eveleigh D. E. Culture methods and detection of glucanases in cultures of wheat and barley // *Can. J. Biochem.* 1968. Vol. 46, № 5. P. 417–421.
 22. Quoirin M., Lepoivre P. Improved medium for *in vitro* culture of *Prunus* sp. // *Acta Hort.* 1977. Vol. 78. P. 437–442.
 23. Anderson W. S. Mass propagation by tissue culture : principles and techniques // On nursery production of fruit plants through tissue culture – applications and feasibility : *proc. of conf. Maryland*, 1980. P. 1–10.