

УДК 582.776.6:57.082.261:581.522.4

Д.А. Егорова, Ю.К. Виноградова, Ю.Н. Горбунов, О.И. Молканова

КЛОНАЛЬНОЕ МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ И ОЦЕНКА АДАПТИВНОЙ СПОСОБНОСТИ БЕЛОЦВЕТКОВОЙ ФОРМЫ *CHAMAENERION ANGUSTIFOLIUM* (L.) SCOP.

Белоцветковая форма *Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop. чрезвычайно редко встречается в природе. В то же время она относится к ценным растениям, так как перспективна как источник биологически активных веществ и как декоративное растение. Основной целью проведенных исследований является разработка приёмов клонального микроразмножения, а также изучение структурно-функциональных особенностей устьиц белоцветковой формы *Ch. angustifolium*. Определено, что оптимальными сроками для изоляции эксплантов является период с апреля по начало июня. Изучено влияние минерального состава питательной среды и регуляторов роста на регенерацию микропобегов. На этапе микроразмножения наиболее эффективно использовать две среды: MS с добавлением 0,5 мг/л 6-ВАР и модифицированной среды MS с повышенным содержанием хелата железа $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (30 мг/л) и добавлением 6-ВАР (0,5 мг/л) и IAA (0,01 мг/л), при этом коэффициент размножения в первом случае составил 9,4, а во втором случае – 9,2. Оценку адаптивности регенерантов подтверждали данными по характеристике устьичного аппарата. Устьица в большей степени относятся к аномоцитному и анизоцитному типам. В ходе онтогенеза размеры устьиц упорядочиваются, что позволяет считать устьичный аппарат мобильной системой. Приспособление *Ch. angustifolium* к низкой влажности и интенсивному освещению *ex vitro* достигается за счет увеличения количества устьиц и уменьшения их размеров.

Ключевые слова: *Chamaenerion angustifolium*, клональное микроразмножение, коэффициент размножения, адаптация, устьичный аппарат.

Chamaenerion angustifolium (L.) Scop. – иван-чай узколистый относится к семейству Onagraceae Juss. – Кипрейные. *Ch. angustifolium* культивируют как пищевое, лекарственное и медоносное растение [1].

А.Н. Петунников, а за ним и Д.П. Сырейщиков, отмечали для Московской области в пределах *Ch. angustifolium* наличие двух внутривидовых форм: f. *macrophyllum* Hausskn (крупнолистная) и f. *albiflorum* Hausskn (белоцветковая) [2]. С.К. Черепанов рассматривает f. *macrophyllum* в ранге подвида *Ch. macrophyllum* (Hausskn) Czer [3].

Белоцветковая форма иван-чая весьма редко встречается в России. Так, в коллекциях гербариев Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина РАН (МНА) и Гербария им. Д.П. Сырейщикова (Гербарий МГУ, MW) хранятся сборы из 437 местонахождений типичной красноцветковой формы *Ch. angustifolium* и всего из 10 местонахождений белоцветковой формы.

Из внутривидовых таксонов *Ch. angustifolium* наибольший интерес представляет белоцветковая форма (f. *albiflorum*). Она может оказаться весьма перспективной для производства противоопухолевого препарата. Отсутствие в цветках пигментов может облегчить выделение фармацевтической субстанции (фенольных соединений). Также эта форма отличается декоративностью.

Размножение белоцветковой формы иван-чая семенами – процесс очень медленный. К тому же это может привести к расщеплению признака окраски цветков полученных растений. Вегетативный способ характеризуется низким коэффициентом размножения, особенно при недостатке исходного материала. Наиболее перспективным для этого растения является размножение с использованием биотехнологических методов. В зарубежной литературе есть несколько сообщений о клональном микроразмножении некоторых видов из семейства Onagraceae. В настоящее время в культуру *in vitro* введены многие виды рода *Oenothera*, а также некоторые представители рода *Epilobium* [4; 5]. В 2008 г. была опубликована работа, описывающая быстрый и высокоэффективный способ регенерации побегов из эксплантов *Ch. angustifolium* лиловоцветковой формы в условиях *in vitro* [6]. Введение и культивирование в условиях *in vitro* белоцветковых форм проведено впервые.

Согласно исследованиям ряда ученых [7-10], установлено, что адаптационные возможности растений можно оценить по морфоанатомическому состоянию листьев. Данные зависимости количества и размера устьиц от условий произрастания для различных таксонов являются противоречивыми, что, вероятно, объясняется принадлежностью растений к разным экологическим группам.

Целью данной работы была разработка приёмов клонального микроразмножения, а также изучение структурно-функциональных особенностей устьиц белоцветковой формы *Ch. angustifolium*.

Материалы и методика исследований

В работе использованы растения белоцветковой формы *Ch. angustifolium*, предоставленные отделом культурных растений Главного ботанического сада имени Н.В. Цицина Российской академии наук (ГБС РАН) и Всероссийским научно-исследовательским институтом лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР).

На стадии индукции и стадии пролиферации использовали питательные среды Мурасиге-Скуга (1962) и Кворина-Лепорье (1977), дополненные регулятором роста 6-ВАР в концентрации 0,2–1 мг/л. В качестве контроля использовалась безгормональная среда MS. Также на стадии пролиферации была испытана модифицированная среда MS с добавлением $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (30 мл/л), 6-ВАР (0,5 мг/л), IAA (0,01 мг/л). Для укоренения растений использовалась среда MS (с половинным содержанием макросолей), дополненная ИВА (1 мг/л). На стадии адаптации использовали почвенный субстрат, состоящий из смеси верхового торфа, песка и перлита (1:1:1).

Опыты проводились в 4-кратной повторности, по 10 эксплантов (или микропобегов) в каждом варианте. На стадии размножения измеряли длину побега, рассчитывали коэффициент размножения и число листьев. Обработку полученных данных проводили по общепринятым методам статистического анализа с использованием программного обеспечения Microsoft Office Excel 2010 [11].

Для изучения признаков устьичного аппарата были взяты образцы с интактных растений, микропобегов на стадии размножения *in vitro* и растений после адаптации в условиях оранжереи. В этот анализ включено 4 образца:

1. Белоцветковая форма, культивируемая в Московской области из посадочного материала, собранного между ст. Малино и Фирсановка, около линии Октябрьской ж.д. на краю леса (сбор 30 июня 2015г.);

2. Белоцветковая форма, выращенная в культуре *in vitro*, из апикальной меристемы, полученной из образца № 1 (сбор 21 февраля 2015г.);

3. Белоцветковая форма, полученная из адаптированных к условиям *ex vitro* растений в оранжерее (использовались растения-регенеранты образца №1) (сбор 12 сентября 2016г.);

4. Белоцветковая форма, произрастающая в отделе культурных растений ГБС РАН (сбор 13 сентября 2016г.);

Для изучения особенностей устьичного аппарата использовался метод отпечатков устьиц по Полаччи. Метод основан на получении тонкой прозрачной пленки с отпечатками (репликами) устьиц. Рассматривая их под микроскопом, можно определить число устьиц на единице листовой поверхности и их размер. Пленку помещают на предметное стекло цифрового микроскопа и анализируют полученные изображения на компьютере, исследовав несколько полей зрения в разных участках препарата [12]. Морфометрические признаки различных органов измеряли с помощью цифрового микроскопа Keyence VHX-1000E. Размер устьиц определяли на лаковых репликах с листьев срединной формации, объем пробы 80-90 устьиц. Среднюю площадь устьиц (s) вычисляли по формуле площади сферы: $S_{\text{ус}} = \pi \cdot D \cdot L / 4$, где D – средняя длина устьица, L – средняя ширина устьица. n – число устьиц в поле зрения микроскопа. Число устьиц подсчитывали не менее чем в 5 полях зрения микроскопа при увеличении $\times 1500$.

Статистические данные обрабатывались в пакете программ для анализа данных – PAST (PAleontological SStatistics).

Результаты и обсуждение

Одним из наиболее ответственных этапов работы по введению растений в условия *in vitro* является выбор сроков изоляции эксплантов. Наиболее благоприятным периодом для введения в культуру *in vitro* является фаза активного роста растений. Экспланты, изолированные в фазу выхода из покоя, наименее подвержены отрицательным явлениям, связанным с процессами окисления и поликонденсации фенольных соединений. В процессе изучения влияния различных сроков введения в условия *in vitro* на жизнеспособность эксплантов белоцветковой формы *Ch. angustifolium* было установлено, что в период с апреля по начало июня для эксплантов был характерен высокий показатель жизнеспособности (от 70 до 90 %).

На реализацию морфогенетического потенциала оказывают значительное влияние компоненты питательной среды, особенно регуляторы роста. Для поддержания устойчиво пролиферирующей

культуры *in vitro* весьма существенным является правильный подбор и оптимальные соотношения регуляторов роста (цитокининов и ауксинов) [13]. В процессе исследования были выявлены наиболее оптимальные концентрации экзогенных гормонов на стадии размножения. На первом этапе сравнивали питательные среды, различные по минеральному составу: MS и QL (табл. 1).

Таблица 1

Влияние минерального состава питательной среды на морфометрические показатели *Chamaenerion angustifolium*

Питательная среда	Длина побега, мм	Коэффициент размножения
MS	39,6 ± 5,5	4,1 ± 0,6
QL	15,6 ± 4,3	2,4 ± 0,5

Достоверно лучшим результатом по всем показателям оказалась среда MS. На этой среде наблюдался активный рост растений, образовывались новые побеги. На среде QL рост растений замедлялся, иногда растения погибали сразу после пассажа. Также на данной среде через 10–15 суток после пересадки наблюдался хлороз растений. Следует отметить, что хлороз наблюдался и в случае длительного культивирования (более 40 суток) на среде MS. С целью повышения коэффициента размножения растений на питательной среде MS дополнительно были испытаны различные концентрации 6-ВАР. В этом случае среда MS с добавлением 0,5 мг/л 6-ВАР показала достоверное различие со всеми остальными вариантами (табл. 2).

Таблица 2

Влияние различных концентраций 6-ВАР на морфометрические показатели *Chamaenerion angustifolium*

Концентрация 6-ВАР, мг/л	Длина побега, мм	Коэффициент размножения
Контроль	39,6 ± 5,5	4,1 ± 0,6
0,2	44,1 ± 2,1	4,4 ± 0,4
0,3	32,9 ± 1,0	5,2 ± 0,6
0,5	50,6 ± 3,3	9,4 ± 0,6
1,0	34,5 ± 6,2	6,1 ± 0,4

Установлено, что все исследуемые концентрации фитогормонов (за исключением 0,2 мг/л и 0,3 мг/л) обеспечивали увеличение коэффициента размножения. Под действием 0,5 мг/л 6-ВАР этот показатель существенно превышал значения, полученные при использовании других концентраций. Более высокая концентрация вызывала снижение коэффициента размножения. Таким образом, оптимальной средой для культивирования оказалась среда с добавлением 0,5 мг/л 6-ВАР, на которой отмечались наиболее высокие морфометрические показатели.

Для многих видов растений было установлено увеличение регенерационного потенциала при культивировании на средах, сочетающих ауксины и цитокинины [14]. Дополнительно был проведен опыт по культивированию эксплантов на среде MS с повышенным содержанием хелата железа ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} = 30$ мг/л) и добавлением 6-ВАР (0,5 мг/л) и IAA (0,01 мг/л).

Культивирование эксплантов на модифицированной среде MS дало положительный результат. Формировались хорошо развитые побеги насыщенно зеленого цвета. Коэффициент размножения и морфометрические показатели показали недостоверное различие с вариантом на среде MS (0,5 мг/л 6-ВАР) и оставались высокими: коэффициент размножения составил $9,2 \pm 0,5$, длина стебля $50,7 \pm 2,8$ мм.

В основе клонального микроразмножения растений лежат два принципиально разных этапа: *in vitro* и *ex vitro*. Так как в культуральных сосудах влажность, температура и освещенность находятся в контролируемых условиях, то устьица в условиях *in vitro* обычно находятся в открытом состоянии. Исследования, проведенные по изучению внутреннего строения листа в зависимости от условий культивирования, во многих случаях показали, что регенеранты, выращенные в условиях *in vitro*, не имели четкой дифференциации мезофилла на столбчатую и губчатую ткань, имели тонкую листовую пластику, слаборазвитый кутикулярный покров, недоразвитый устьичный аппарат, что приводит к постоянному открытию устьиц и чрезмерной транспирации [9].

Поскольку имеются данные о том, что число и размер устьиц могут свидетельствовать об адаптивных возможностях растений – приспособленности к условиям освещенности и влажности – были изучены интактные растения, микропобеги на стадии размножения *in vitro* и растения после адаптации в условиях оранжереи.

Листья *Ch. angustifolium* гипостоматические, то есть устьица у них располагаются только на нижней стороне листовой пластинки. Верхний эпидермис листа устьиц не содержит (рис. 1).

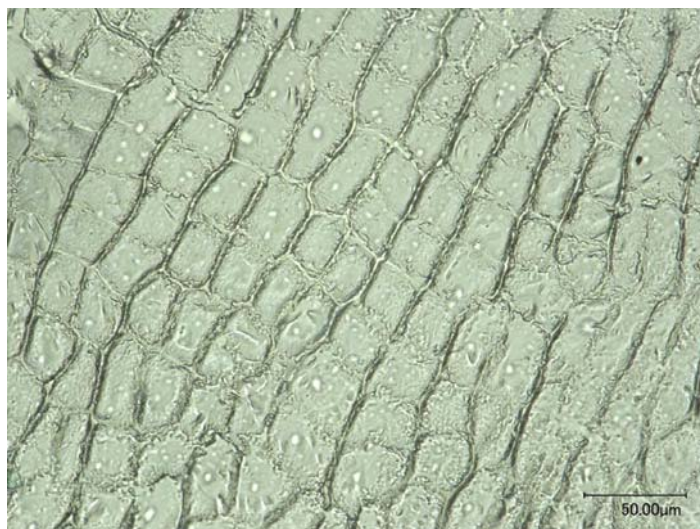


Рис. 1. Верхняя сторона листа *Ch. angustifolium*

Для иван-чая характерны аномоцитный и анизокитный типы устьиц (рис. 2). Тип устьиц в некоторой степени зависит от фенологической фазы развития: у молодых вегетативных особей, а также у растений, выращенных в культуре *in vitro*, преобладают анизокитные устьица, у которых замыкающие клетки окружены тремя сопровождающими, одна из которых заметно крупнее или мельче остальных.

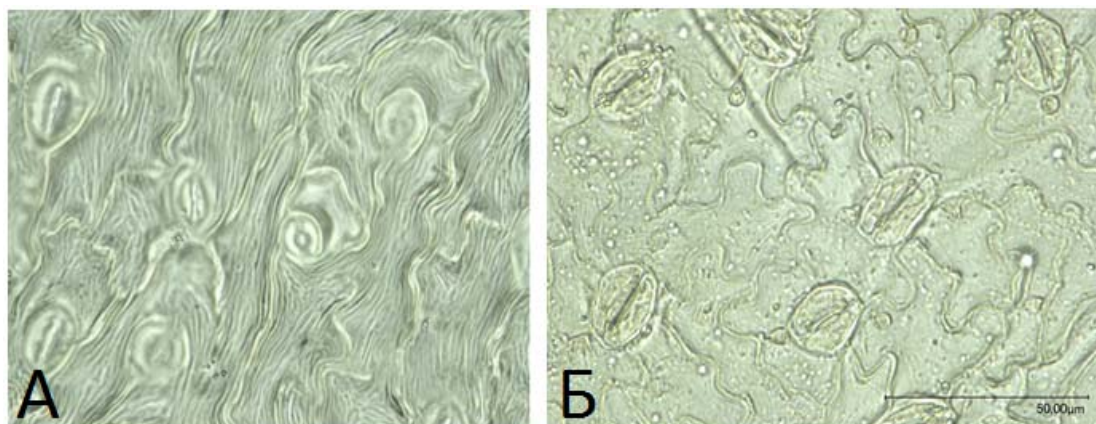


Рис. 2. Анизокитный (А) и аномоцитный (Б) типы устьиц

У растений в генеративном периоде развития преобладает аномоцитный тип устьиц, у которых сопровождающие клетки не отличаются от остальных клеток эпидермиса.

У образца, листья которого были собраны в фазе плодоношения, помимо аномоцитных устьиц, отмечены единичные стефанокитные устьица, окружённые пятью-семью слабодифференцированными сопровождающими клетками, образующими более или менее отчётливую розетку (рис. 3).

Морфометрические данные по размерам устьиц приведены в табл. 3. Наиболее крупные устьица отмечены у образца № 2 (средняя длина продольной оси 26,8 мкм, средняя длина экваториальной оси 18,6 мкм, средняя площадь 398,6 мкм²). Самые мелкие устьица отмечены у образцов № 1 и № 4. Образец № 1 имел среднюю длину продольной оси 21,2 мкм, среднюю длину экваториальной оси 14,2 мкм,

среднюю площадь $237,1 \text{ мкм}^2$, а образец № 4 – среднюю длину продольной оси $21,1 \text{ мкм}$, среднюю длину экваториальной оси $13,8 \text{ мкм}$, среднюю площадь – $229,5 \text{ мкм}^2$. У образцов, собранных на ранних стадиях развития, размеры устьиц сильно варьируют: в поле зрения микроскопа видны одновременно и мелкие, и крупные устьица, а коэффициент вариации (CV) длины осей является значительным, до 22 %. В дальнейшем размеры устьиц становятся более стабильными и коэффициент вариации снижается до 13–14 %.

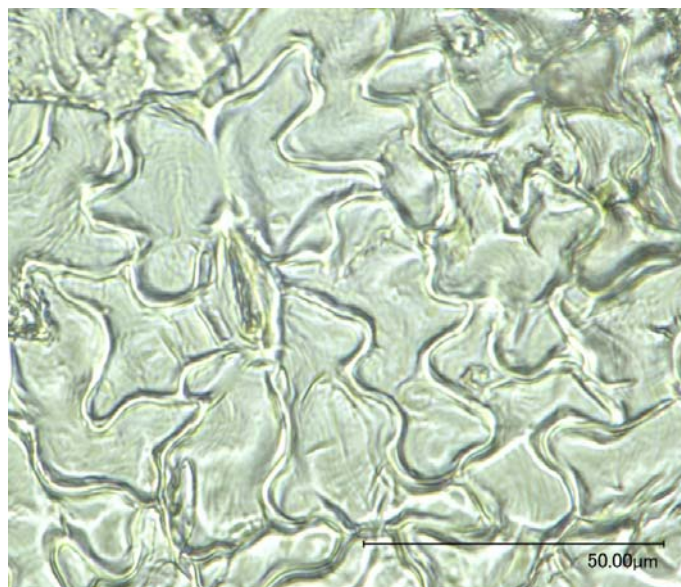


Рис. 3. Стефаноцитный тип устьиц

Таблица 3

Морфометрические показатели устьиц в зависимости от формы *Ch. Angustifolium*

Образец	D, мкм			L, мкм			n _{ср} , шт.	S _{ср} , мкм ²
	max	min	\bar{x}	max	min	\bar{x}		
1	29,2	15,6	$21,2 \pm 0,3$	18,5	10,4	$14,2 \pm 0,2$	11 (7-15)	$237,1 \pm 4,9$
2	37,6	14,9	$26,8 \pm 0,6$	33,2	9,5	$18,6 \pm 0,4$	8 (7-11)	$398,6 \pm 15,3$
3	29,9	13,9	$22,2 \pm 0,4$	20,1	8,7	$15,5 \pm 0,2$	9 (4-13)	$270,1 \pm 5,6$
4	29,5	14,7	$21,1 \pm 0,3$	18,4	10,4	$13,8 \pm 0,2$	11 (7-12)	$229,5 \pm 5,8$

Форма устьиц также в некоторой степени зависит от фенофазы: на ранних стадиях развития устьица почти округлые: $l/d = 1,2-1,3$. Впоследствии устьица удлиняются и приобретают овальную форму $l/d = 1,4-1,8$.

Число устьиц в поле зрения микроскопа (Full Area $39466.79 \mu\text{m}^2$) варьировало от 5 до 27. Наиболее многочисленные устьица отмечены у образца № 1 (от 7 до 15, в среднем 11), наименьшее количество устьиц – у образца № 2 (7–11, в среднем 8). Следует отметить, что коэффициент вариации в случае образца № 3 составил 36,1 %.

Заключение

В результате проведенных исследований установлено, что оптимальными сроками для изоляции эксплантов *Ch. angustifolium* является начальная стадия вегетации: с апреля по начало июня. На этапе микроразмножения наиболее эффективно использовать две среды: MS с добавлением 0,5 мг/л 6-ВАР и модифицированной среды MS с повышенным содержанием хелата железа $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (30 мг/л) и добавлением 6-ВАР (0,5 мг/л) и IAA (0,01 мг/л), при этом коэффициент размножения в первом случае составил 9,4, а во втором случае – 9,2.

Листья *Ch. angustifolium* гипостоматические. Устьица расположены только на нижней стороне листовой пластинки и относятся к аномоцитному и анизоцитному типам. В ходе онтогенеза размеры

устьиц упорядочиваются, то есть становятся менее вариабельными, форма устьиц удлиняется (округлые устьица трансформируются в эллиптические), число сопровождающих устьицу клеток увеличивается, преобладающим становится не анизокитный, а аномоцитный тип устьичного аппарата. На основании полученных данных можно утверждать, что устьичный аппарат является мобильной системой, перестраивающейся в зависимости от изменяющихся условий среды. Полученные данные согласуются с выводами, сделанными М.Г. Буиновой [8] при изучении устьичного аппарата: высокая частота устьиц способствует более эффективной адаптации к низкой влажности и интенсивному освещению. Приспособление *Ch. angustifolium* к изменяющимся условиям произрастания достигается за счет увеличения количества устьиц и уменьшения их размеров.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Корсун В.Ф., Викторов В.К., Корсун Е.В., Данышин Е.А. Русский Иван-чай. М.: Простор Оптима, 2015. 185 с.
2. Черепанов С.К. Сосудистые растения России и сопредельных государств. СПб.: Мир и семья, 1995. 989 с.
3. Забелкин Н.А., Уланова Н.Г. Иван-чай узколистный // Биологическая флора Московской области. М.: Аргус, 1995. Вып. 11. С. 166-191.
4. Chandra S., Lata N., Varma A. Biotechnology for medicinal Plants. Micropropagation and Improvement. Berlin: Springer, 2013. 462 p.
5. Baji Y.P.S. Biotechnology in agriculture and forestry. Medicinal and aromatic plants. Berlin: Springer, 1998. Vol. 41. 460 p.
6. Akbudak M., Babaoglu M. Callus induction in small flowered willow herb (*Epilobium parviflorum* L.) // J. of Plant Biotechnology and Biochemistry. 2005. Vol. 15. P. 189-191.
7. Киселева Н. С. Оценка адаптационной способности различных генотипов груши по морфоанатомическому и физиологическому состоянию листьев // Сельхозбиология. 2009. №3. С. 34-38.
8. Буинова М.Г. Анатомия и пигменты листа растений Забайкалья. Новосибирск: Наука, 1988. 96 с.
9. Кутас Е.Н. Адаптация регенерантов интродуцированных сортов голубики высокой и брусники обыкновенной, регенерированных в культуре *in vitro*, к условиям *ex vitro* // Голубиководство в Беларуси: итоги и перспективы : сб. тр. науч.-практ. конф. Минск, 2012. С. 29-35.
10. Крохмаль И. И. Функциональная анатомия и морфология листа *Campanula sibirica* L. // Экология и ноосферология. 2015. Вып. 26. С. 54-65.
11. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. М.: Агропромиздат, 1985. 351 с.
12. Воробьев В.Н. Невмержицкая Ю.Ю., Хуснетдинова Л.З., Якушенкова Т.П. Практикум по физиологии растений: учеб.-метод. пособие. Казань: Казан. ун-т, 2013. 80 с.
13. Муратова С.А. Индукция морфогенеза из изолированных соматических тканей растений. Мичуринск: МичГАУ, 2011. 107 с.
14. Коротков О.И. Формирование и комплексное изучение коллекции клематисов (род *Clematis* L.): биотехнологические и молекулярно-генетические аспекты: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2008. 21 с.

Поступила в редакцию: 01.11.16

D.A. Yegorova, Yu.K. Vinogradova, Yu.N. Gorbunov, O.I. Molkanova

MICROPROPAGATION OF THE ALBIFLOUS FORM *CHAMAENERION ANGUSTIFOLIUM* (L.) SCOP. AND EVALUATION OF ITS ADAPTIVE ABILITY

The albiflorous form of *Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop. is extremely rare in nature. At the same time it is promising as a source of biologically active substances and as ornamental plant. The aim of the research is to develop *Ch. angustifolium* micropropagation methods and to study structural and functional characteristics of stomata. It is established that the optimal time for the isolation of explants is the period from April to early June. The effect of the mineral composition of the culture medium and growth regulators on the regeneration of microshoots is studied. At the step of micropropagation it is the most efficient to use two media: MS supplemented with 0.5 mg / l 6-BAP and the modified MS medium with a high content of iron chelate $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (30 mg / l), supplemented with 6-BAP (0,5 mg / l) and IAA (0,01 mg / l). The multiplication factor in the former and latter cases was 9.4 and 9.2, respectively. The effect of the mineral composition of the culture medium and growth regulators on the regeneration of microshoots is studied. The evaluation of adaptability of regenerants was confirmed by the characteristics of the stomatal apparatus. The stomata are mostly related to anomocytic and anisocytic types. During ontogeny the sizes of stomata are ordered, which allows us to consider the stomatal apparatus to be a mobile system. The adaptation of *Ch. angustifolium* to low humidity and intense illumination *ex vitro* is achieved by increasing the number of stomata and by reducing their size.

Keywords: *Ch. angustifolium*, micropropagation, multiplication factor, adaptation, stomatal apparatus.

REFERENCE

1. Korsun V.F., Viktorov V.K., Korsun Ye.V. and Danshin Ye.A.. *Russkiy Ivan-chay* [Russian Ivan-tea], M.: Prostor Optima, 2015, 185 p. (in Russ.).
2. Cherepanov S.K. *Sosudistye rastenija Rossii i sopredel'nyh gosudarstv (v predelah byvshego SSSR)* [Vascular plants of Russia and adjacent states (the former USSR)], SPb.: Mir i sem'ja, 1995, 992 p. (in Russ.).
3. Zabelkin N.A. and Ulanova N.G. [*Chamaenerion angustifolium*], in *Biologicheskaya flora Moskovskoy oblasti*. M.: Izd-vo Argus, 1995, vol. 11. pp. 166-191 (in Russ.).
4. Chandra S., Lata H. and Varma A. *Biotechnology for medicinal Plants. Micropropagation and Improvement*, Berlin: Springer, 2013, 462 p.
5. Baja Y.P.S. *Biotechnology in agriculture and forestry. Medicinal and aromatic plants*, Berlin: Springer, 1998, vol. 41, 460 p.
6. Akbudak M. and Babaoglu M. Callus induction in small flowered willow herb (*Epilobium parviflorum* L.), in *J. of Plant Biotechnology and Biochemistry*, 2005, vol. 15, pp. 189-191.
7. Kiseleva N.S. [Estimation of adaptability in different pear genotypes on morpho-anatomical and physiological state of leaves], in *Selkhozbiologiya*, 2009, no.3, pp. 34-38 (in Russ.).
8. Buinova M.G. *Anatomiya i pigmenty lista rasteniy Zabaykalya* [Anatomy and pigments of Transbaikal plants leaf], Novosibirsk: Nauka, 1988, 96 p. (in Russ.).
9. Kutas Ye.N. [Adaptation of introduced *Vaccinium corymbosum* L. and *Vaccinium vitis-idaea* L. varieties of regenerants regenerated *in vitro* to *ex vitro* conditions], in Sb. tr. nauch.-prakt. konf. «*Golubikovodstvo v Belarusi: itogi i perspektivy*», Minsk, 2012, pp. 29-35 (in Russ.).
10. Krokmal I.I. [Functional anatomy and morphology of leaf *Campanula sibirica* L.], in *Ekologiya i noosferologiya*, 2015, vol. 26, pp. 54-65 (in Russ.).
11. Dospekhov B.A. *Metodika polevogo opyta* [Methods of field experience], M.: Agropromizdat, 1985, 351 p. (in Russ.).
12. Vorobev V.N., Nevmerzhitskaya Yu.Yu., Khusnetdinova L.Z. and Yakushenkova T.P. *Praktikum po fiziologii rasteniy: uchebno-metodicheskoe posobie* [Workshop on plant physiology: a teaching manual], Kazan: Kazan. un-t, 2013, 80 p. (in Russ.).
13. Muratova S.A. *Induktsiya morfogeneza iz izolirovannykh somaticheskikh tkaney rasteniy* [Induction of morphogenesis from isolated somatic plant tissues: Monograph], Michurinsk: MichGAU, 2011, 107 p (in Russ.).
14. Korotkov O.I. [Formation and comprehensive study of the clematis collection (genus *Clematis* L.): biotechnology and molecular genetic aspects], Abstract of diss. Cand. Biol. sci., M., 2008, 21 p. (in Russ.).

Егорова Дарья Александровна,
младший научный сотрудник
лаборатории биотехнологии растений
E-mail: dariaegor11@gmail.com

Виноградова Юлия Константиновна,
доктор биологических наук,
главный научный сотрудник отдела флоры
E-mail: gbsad@mail.ru

Горбунов Юрий Николаевич,
доктор биологических наук,
заместитель директора ГБС РАН по научной работе
E-mail: gbsran@mail.ru

Молканова Ольга Ивановна,
кандидат сельскохозяйственных наук,
заведующая лабораторией биотехнологии растений
E-mail: molkanova@mail.ru

ФГБУН «Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН»
127276, Россия, г. Москва, ул. Ботаническая, 4

Egorova D.A.,
Junior Researcher
of plant biotechnology laboratory
E-mail: dariaegor11@gmail.com

Vinogradova Yu.K.,
Doctor of Biology, Research fellow
at Department of flora
E-mail: gbsad@mail.ru

Gorbunov Yu.N.,
Doctor of Biology, Deputy Director
of MBG RAS on scientific work
E-mail: gbsran@mail.ru

Molkanova O.I.,
Candidate of Agriculture, Head of Laboratory
of plant biotechnology laboratory
E-mail: molkanova@mail.ru

Main Botanical Garden RAS
Botanicheskaya st., 4, Moscow, Russia, 127276