



DOI 10.21178/2079-6080.2017.1.14
УДК 58.085

Оценка засухоустойчивости отдельных генотипов *Pinus sylvestris* L. на основе метода культуры ткани *in vitro* в моделируемых стрессовых условиях

© Е.Ю. Аминева¹, Т.М. Табацкая¹, О.С. Машкина^{1,2}, В.Н. Попов²

Assessment of drought resistance of individual genotypes of *Pinus sylvestris* L. on the basis of *in vitro* tissue culture method in simulated stress conditions

E.Yu. Amineva, T.M. Tabatskaya, O.S. Mashkina, V.N. Popov (All-Russian Research Institute of Forest Genetics; Voronezh State University)

Against the backdrop of global climate change plants, leading attached lifestyle, have to adapt to new environmental conditions. For the purpose of indication stress resistance of tree species, including *Pinus sylvestris* L., we have attempted to use the features of growth and development of callus cultures *in vitro*. Although that Scots pine is drought resistant, the degree of tolerance to this stress factor is limited.

The possibility of using the features callusogenesis in response to a simulated culture conditions to determine stress resistance test trees. Established the most informative, reliable and reproducible Indicative indicators such as the speed of formation of callus tissue, the frequency and intensity callusogenesis, callus cultures viability.

The viability of callus tissue was determined visually by the appearance of areas of dark brown cloth, demonstrating the necrotic processes. Using calluses cytological analysis confirmed the usefulness of this option. It was found that the cells of living tissue have a nucleus, located in the center. At the cells of dead tissue nucleolus absent.

During the of the study revealed unequal response of callus *in vitro* cultures on the culture conditions, depending on the genotype of the source tree. Established that the degree drought tolerance test Scots pine can be determined by modeling stress conditions, in this case - drought by adding to medium in 1% NaCl concentration. Been developed bioassay system for estimation of drought resistance of the intact trees, indicating the key points, "derived" algorithm, possible limitations and unequal reactions callus cultures *in vitro*.

Key words: Scots pine, stress, resistance, callus, indication, drought, viability of callus culture

Оценка засухоустойчивости отдельных генотипов *Pinus sylvestris* L. на основе метода культуры ткани *in vitro* в моделируемых стрессовых условиях

Е.Ю. Аминова, Т.М. Табацкая, О.С. Машкина, В.Н. Попов

На фоне глобального изменения климата растениям, ведущим прикрепленный образ жизни, приходится приспосабливаться к новым условиям окружающей среды. С целью индикации стрессоустойчивости древесных пород, в том числе *Pinus sylvestris* L. к засухе, нами предпринята попытка использовать особенности роста и развития каллусных культур *in vitro*. Несмотря на то, что сосна обыкновенная является засухоустойчивой породой, степень ее толерантности к данному стрессовому фактору ограничена.

Показана возможность использования особенностей каллусогенеза в ответ на моделируемые условия культивирования с целью определения стрессоустойчивости тестируемых деревьев. Установлены наиболее информативные, достоверные и воспроизводимые индикационные показатели, такие как скорость формирования каллусной ткани, частота и интенсивность случаев каллусогенеза, жизнеспособность каллусных культур. Снижение жизнеспособности каллусной ткани определяли визуально, по появлению очагов темно-коричневой ткани, свидетельствующих о процессах некротизации. С помощью цитологического анализа каллусов подтверждена целесообразность использования данного признака. Было выявлено, что клетки живой ткани имеют ядро, расположенное по центру. В клетках мертвой ткани ядро отсутствует.

В ходе проведенного исследования выявлена неодинаковая реакция каллусных культур *in vitro* на условия культивирования в зависимости от генотипа исходного дерева. Установлено, что степень засухоустойчивости тестируемых деревьев сосны обыкновенной можно определить с помощью моделирования стрессовых условий, в данном случае засухи, путем добавления в питательную среду NaCl в 1% концентрации. Разработана биотест-система по оценке засухоустойчивости интактных деревьев с указанием ключевых моментов, «выведенного» алгоритма, возможных ограничений и неодинаковых реакций каллусных культур *in vitro*.

Ключевые слова: сосна обыкновенная, стресс, устойчивость, каллус, индикация, засуха, жизнеспособность каллусных культур

Аминова Елена Юрьевна – научный сотрудник лаб. биотехнологии
E-mail: elena.pardaeva@mail.ru

Табацкая Татьяна Михайловна – старший научный сотрудник лаб. биотехнологии

Машкина Ольга Сергеевна – зав. лаб. биотехнологии, канд. биол. наук

Попов Василий Николаевич – проректор, зав. каф. генетики, цитологии и биоинженерии, д-р биол. наук

¹Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики, селекции и биотехнологии
394087, Воронеж, ул. Ломоносова, 105
Телефон: 8 (473) 253-71-89
E-mail: ilgis@lesgen.vrn.ru

²Воронежский государственный университет
394006, Воронеж, Университетская площадь, 1
Телефон: 8 (473) 220-75-21
E-mail: office@main.vsu.ru

Введение

Засуха является одной из актуальных проблем современности, среди всех существующих природных катаклизмов на ее долю приходится около 26% [25]. Стоит отметить, что распространение влияния этого фактора на новые территории ежегодно растет. В связи с этим организм, живущим на нашей планете, приходится постоянно приспосабливаться к изменяющимся условиям окружающей среды.

С целью ранней диагностики устойчивости растений к различным стрессорам уже на протяжении нескольких лет исследователями применяется биотехнологический метод культуры ткани *in vitro*. Так, например, получены линии огурца и редиса, толерантные к действию тяжелых металлов [5]; формы ярового ячменя, резистентные к корневой гнили [17], лаванды – к NaCl [4]. Однако по древесным растениям подобные работы немногочисленны и затрагивают в основном плодово-ягодные культуры. Что касается лесных пород, то исследования в данном направлении практически отсутствуют [6, 23, 17, 21].

Возможность использования каллусной ткани *in vitro* с целью индикации стрессоустойчивости растительных организмов к тому или иному фактору объясняется, тем, что каллусогенная реакция обусловлена, в первую очередь, генотипическими особенностями материнского растения. Кроме того, характер каллусогенеза может зависеть и от условий культивирования [9, 11].

Цель настоящей работы – изучить особенности каллусогенных реакций отдельных генотипов сосны обыкновенной в ответ на засоление питательной среды NaCl, что позволит моделировать условия засухи [7, 10, 12].

Объекты и методы

В качестве объекта исследования взята сосна обыкновенная – *Pinus sylvestris* L., поскольку она является одним из основных видов-лесообразователей на территории Воронежской области наряду с дубом черешчатым [22]. Сосна – засухоустойчивая порода, однако степень ее толерантности к данному стрессовому фактору ограничена и определяется нормой реакции вида, которая

в каждом регионе имеет свои внутривидовые границы [20].

В работе использовали деревья сосны обыкновенной из Ступинского модельного объекта (Воронежская область, с. Ступино). Насаждение II класса бонитета произрастает в лесостепной зоне, на территории видовой оптимума, в экологически благоприятных условиях. Все анализируемые деревья (д. 12, д. 83, д. 94, д. 96, д. 98) относятся к категории «нормальные» – хорошие и средние по росту, качеству и состоянию. Данные экземпляры были отобраны Н.Ф. Кузнецовой и на основе многолетнего анализа показателей семенной продуктивности разделены на 2 группы по отношению к засухе: устойчивые (д. 83 и д. 94) и чувствительные (д. 12, д. 96 и д. 98) [8].

В апреле-мае 2014–2016 гг. собирали растительный материал в виде ветвей с молодыми зелеными побегами, сегменты которых использовали в качестве эксплантов. Техника получения первичных асептических жизнеспособных каллусных культур определялась общепринятыми в биотехнологической практике *in vitro* методиками [3, 19].

Опыты проводили в условиях культуральной комнаты (2000 люкс, 16-часовой фотопериод, температура 25–26 °С). В качестве основы использовали питательную среду Мурасиге и Скуга [24] с половинным составом макросолей. Углеводное питание обеспечили 3% сахарозой. Формирование каллусной ткани индуцировали добавлением в питательную среду гормонов: 6-БАП (0,5 мг/л), НУК (2 мг/л), 2,4-Д (1 мг/л).

Для имитации засухи в питательную среду добавляли осмотик NaCl. Ранее нами было установлено, что 1% концентрация NaCl в питательной среде позволяет выявить разницу в реакции каллусных культур различных генотипов на условия культивирования [13].

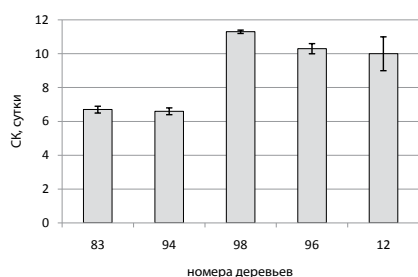
Каждый опыт, учет и анализ каллусогенных ответов проводили в трехкратной повторности (не менее 10–20 культур) для каждого дерева. Каллусогенез анализировали по 4-м признакам, три из которых (СК, ЧК, ЖК) ранее нами были отобраны как наиболее информативные и простые в применении [14]: 1) СК (скорость инициации каллусной ткани) – время образования первых следов

каллуса на экспланте (сут.); 2) ЧК (частота случаев каллусогенеза) – число эксплантов, сформировавших каллус, относительно общего количества эксплантов (%); 3) ЖК (жизнеспособность) – появление и скорость распространения поврежденной каллусной ткани (сут.); 4) ИК (интенсивность каллусогенеза): 1 балл – объем каллусной ткани меньше объема экспланта, 2 балла – объем каллусной ткани примерно равен объему экспланта, 3 балла – объем каллусной ткани больше объема экспланта. Оценку по данному параметру вели в завершающей фазе каллусогенеза (на 20-25 сутки).

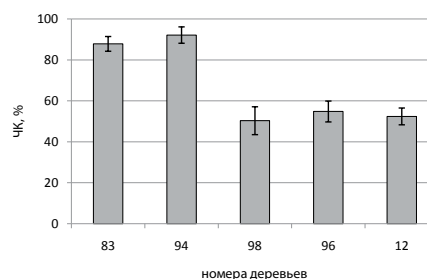
При статистической обработке результатов использовали программу Stadia.

Результаты и обсуждения

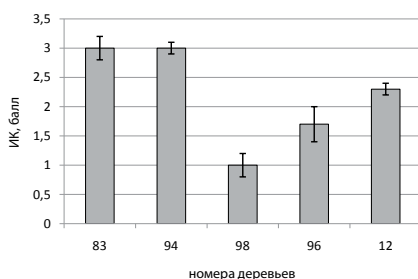
На первом этапе исследования проводилась оценка параметров каллусогенеза в зависимости от генотипа исходных деревьев. На эксплантах д. 94 и д. 83 первые следы каллуса стали появляться уже на 6-7 сутки, в то время как у д. 12, д. 98 и д. 96 процесс каллусообразования начался только через 10-12 дней (рис. 1а). Для деревьев, чьи экспланты отличались более ранними сроками каллусогенеза, характерны более высокие значения и всех других показателей (рис. 1 – б, в, г).



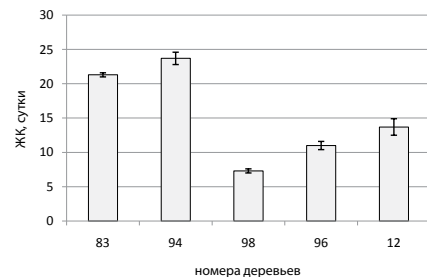
а – скорость инициации каллусной ткани



б – частота случаев каллусогенеза



в – интенсивность каллусогенеза



г – жизнеспособность каллусной ткани

Рис. 1. Характеристики каллусных культур *in vitro* различных генотипов сосны обыкновенной

Так, у д. 94 объем первичной каллусной ткани во много раз превышал размеры экспланта (рис. 2а) в то время как для д. 98 наблюдалась слабая каллусогенная актив-

ность, и к 17-м суткам культивирования каллусная ткань очень слабо разрасталась по экспланту (рис. 2б).

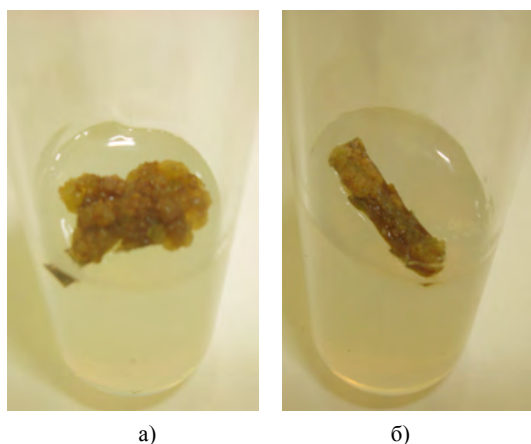


Рис. 2. Интенсивность каллусогенеза культур *in vitro* различных генотипов сосны обыкновенной на 17-е сутки культивирования: а) д. 94 – 3 балла; б) д. 98 – 1 балл

Каллусные культуры д. 83 и д. 94 оставались живыми в течение более чем 21 сут. (рис. 1г), в других случаях этот срок не превышал 13,7 сут. (д. 12). При визуальной оценке жизнеспособности каллусных культур установлено, что живые имеют светло-зеленую или светло-желтую окраску, мертвые ткани, как правило, приобретают темно-коричневый цвет (рис. 3).

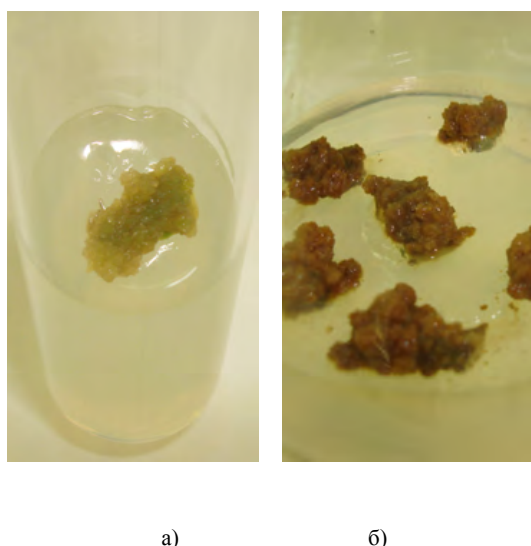


Рис. 3. Жизнеспособность каллусной ткани: а) жизнеспособная; б) мертвая

Целесообразность применения показателя жизнеспособности была подтверждена нами с помощью цитологического анализа живых и мертвых каллусных культур. Для этого вначале фиксировали каллусную ткань в уксусном спирте, затем окрашивали ее метиленовым синим по методике Паушевой [15] в нашей модификации (500 мг красителя на 100 мл воды). Окрашивание проводили в течение 1-1,5 ч.

Установлено, что каллусы, определяемые как живые, состояли из клеток, содержащих крупное ядро, расположенное по центру (рис. 4а). По мнению многих авторов, такие клетки относятся к меристематическим, то есть активно делящимся и обеспечивающим нарастание массы ткани растения [1, 2, 19]. В клетках же мертвой ткани ядро отсутствовало [19] (рис. 4б).

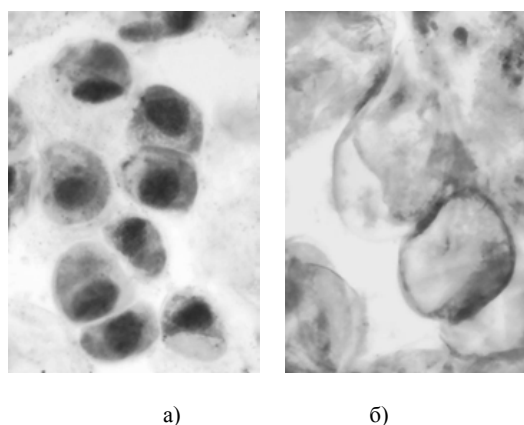


Рис. 4. Клетки жизнеспособной (а) и мертвой (б) каллусной ткани сосны обыкновенной

На следующем этапе исследования каллусы 2-й и 3-й рекультивации были перенесены на селективную питательную среду с добавлением 1% NaCl – осмотика, имитирующего условия засухи (рис. 5). Данная концентрация была взята не случайно: ранее нами было показано, что добавление соли в концентрации 0,2% является неэффективным, так как никаких изменений в реакции каллусных культур на используемой питательной среде не наблюдалось [13]. На среде с 1,5% содержанием осмотика отмечали 100%

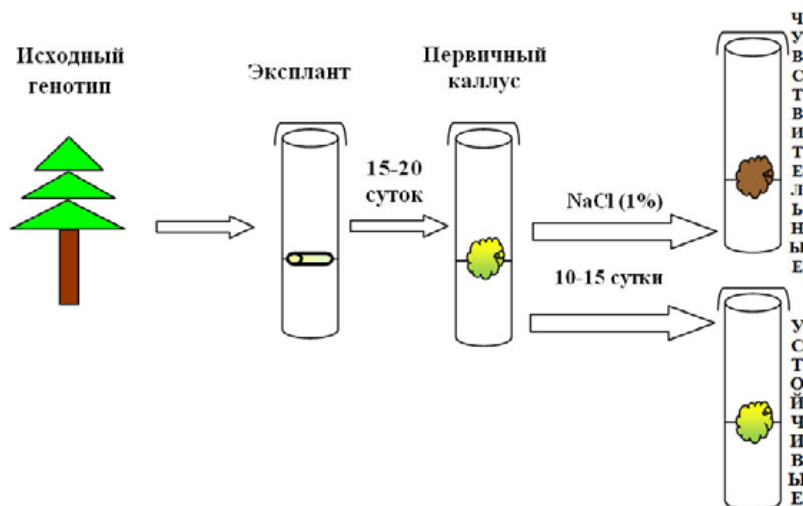


Рис. 5. Технологическая схема биотест-системы, основанной на оценке жизнеспособности каллусных культур сосны обыкновенной

гибель каллусных культур всех исследуемых генотипов. В качестве контроля использовали питательную среду без внесения NaCl.

Опыты показали, что для каллусов д. 83 и д. 94, которые характеризовались высокими исходными значениями СК, ЧК, ИК и ЖК, никаких изменений в реакции каллусных культур на селективной питательной среде с добавлением 1% NaCl не отмечено, то есть все показатели оставались на прежнем уровне. Для каллусных культур с низкими значениями параметров (д. 12, д. 96, д. 98) в ответ на добавление осмотика в питательную среду наблюдалось прекращение роста новой каллусной ткани, уже на 4-5 сутки появились первые участки мертвой ткани, а к 10-15 суткам каллусная ткань отмирала полностью. На рисунке 6 видно, что к 10-м суткам культивирования каллусы д. 94 имеют светлую желто-зеленую окраску, то есть жизнеспособны, отмечается прирост новой ткани, в то время как каллусная культура д. 96 остановила свой рост и приобрела почти 100% темно-коричневую окраску.

Выводы

1. На основании проведенного исследования можно утверждать, что применение каллусных культур *in vitro* сосны обыкновен-

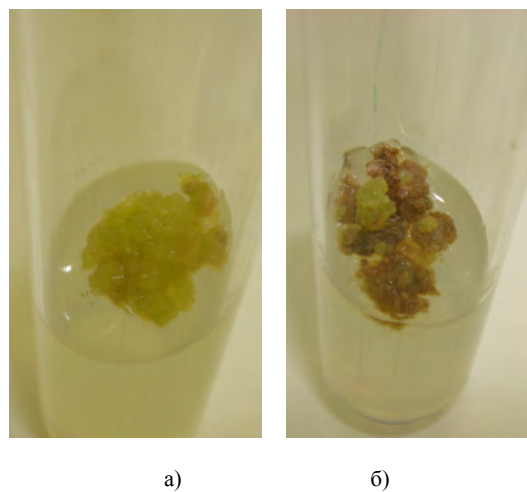


Рис. 6. Реакция каллусных культур различных генотипов сосны обыкновенной в ответ на «засоление» питательной среды 1% NaCl, имитирующим засуху, на 10-е сутки культивирования: а) д. 94 – жизнеспособная ткань, б) д. 96 – мертвая ткань

ной с целью индикации стрессоустойчивости деревьев возможно, так как результаты, полученные в ходе анализа каллусогенной способности эксплантов исходных деревьев, показали соответствие семенной продуктивности этих деревьев. Так, экспланты деревьев, характеризующихся высоким уров-

нем семенной продуктивности (д. 83 и д. 94), имеют высокие показатели образования новой ткани, в то время как каллусогенные реакции эксплантов д. 12, д. 96, д. 98 отличаются низкими значениями, что совпадает с данными анализа их семенной продуктивности.

2. Показана информативность использованных нами в работе параметров СК, ЧК, ЖК, и ИК для оценки каллусогенных реакций. Стоит отметить, что данное исследование является достаточно простым в выполнении и непродолжительным по времени.

3. Установлено, что биотест-система на основе каллусогенеза может быть использована в комплексной оценке и отборе устойчивых к стрессам генотипов взрослых деревьев. Моделирование условий засухи с помощью «засоления» питательной среды NaCl (1%) позволяет прогнозировать устойчивость к этому фактору исследуемых исходных деревьев сосны обыкновенной. Однако, в связи с тем, что выполненная нами работа носит поисковый характер, рекомендуем использовать данный метод в комплексе с другими.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Бугара, И.А. Получение и цитологический анализ каллусных культур астрагала шерстистоцветкового (*Astragalus dasyanthus* Pall.) / И.А. Бугара, И.Н. Юрков, А.М. Бугара // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2008. – Т. 21 (60). – № 2. – С. 9-14.
2. Бугара, И.А. Морфологическое и цитохимическое исследование каллусных культур мяты / И.А. Бугара, А.М. Бугара // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2008. – Т. 21 (60). – № 1. – С. 44-52.
3. Высоцкий, В.А. Биотехнологические методы в системе производства оздоровительного посадочного материала плодово-ягодных культур: автореф. ... дис. д-ра биол. наук / В.А. Высоцкий. – М., 1998. – 44 с.
4. Егорова, Н.А. Разработка методических основ клеточной селекции лаванды *in vitro* на устойчивость к NaCl / Н.А. Егорова // Экосистемы, их оптимизация и охрана. – 2011. – Вып. 5. – С. 173-179.
5. Емельянова, И.С. Об использовании каллусных культур растений для изучения стрессовых воздействий / И.С. Емельянова // Огарев-online, 2013. – № 11: <http://journal.mrsu.ru>.
6. Евсеева, Р.П. Использование асептических культур тканей в исследованиях морозостойкости яблони / Р.П. Евсеева // Актуальные вопросы генетики и селекции растений. Новосибирск: Наука, 1980. – 292 с.
7. Игнатова, С.А. Клеточные технологии в растениеводстве, генетике и селекции возделываемых растений: задачи, возможности, разработки систем *in vitro* / С.А. Игнатова. – Одесса: Астропринт, 2011. – 224 с.
8. Кузнецова, Н.Ф. Чувствительность генеративной сферы сосны обыкновенной к засухе в Воронежской области / Н.Ф. Кузнецова // Лесоведение. – 2010. – № 6. – С. 58-65.
9. Кунах, В.А. Пластичность генома соматических клеток и адаптивность растений / В.А. Кунах // Молекулярная и прикладная генетика. – 2011. – Т. 12. – С. 7-14.
10. Левенко, Б.А. Клеточная селекция растений на устойчивость к стрессовым факторам: автореф. дис. ... д-ра биол. наук / Б.А. Левенко. – ИФРГ. Киев, 1991. – 41 с.
11. Лутова, Л.А. Биотехнология высших растений / Л.А. Лутова. – СПб.: Изд-во СПб ун-та, 2010. – 240 с.
12. Ошмарина, В.И. Получение резистентных к NaCl и этионину клеточных линий *Nicotiana sylvestris* и их характеристика / В.И. Ошмарина, З.Б. Шамина, Р.Г. Бутенко // Генетика. – 1983. – Т. 19. – № 5. – С. 822-827.
13. Пардаева, Е.Ю. Изучение толерантности деревьев сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) с использованием каллусных культур *in vitro* в моделируемых стрессовых условиях / Е.Ю. Пардаева

- ева, Т.М. Табацкая, О.С. Машкина // Материалы 4-го международного совещания «Сохранение лесных генетических ресурсов Сибири». Учреждение РАН Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН. Барнаул, 2015. – С. 133-135.
14. Пардаева, Е.Ю. Оценка стрессоустойчивости различных генотипов сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) с помощью биотехнологического метода/ Е.Ю. Пардаева, Т.М. Табацкая, О.С. Машкина // Лесохозяйственная информация. – 2015. – № 4. – С. 58-65.
 15. Паушева, Л.А. Практикум по цитологии растений / Л.А. Паушева. – М.: Колос, 1980. – 304 с.
 16. Саяев, Р.К. Получение каллусной культуры клеток кедрового сибирского / Р.К. Саяев, Н.И. Рекославская // Лесоведение. – 2009. – № 5. – С. 57-62.
 17. Сорокатая, Е.И. Использование биотехнологических методов для получения устойчивых к корневым гнилям форм ярового ячменя: автореф. дис. ...канд. биол. наук / Е.И. Сорокатая. – Красноярск, 2001. – 18 с.
 18. Терлецкая, Н.В. Повреждающее действие абиотических стрессов на растительные клетки зерновых злаков / Н.В. Терлецкая // ГНБС ГБУ Республики Крым «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский Ботанический сад – Национальный научный центр». Ялта, 2009. – С. 177-195.
 19. Терлецкая, Н.В. Неспецифические реакции зерновых злаков на абиотические стрессы *in vivo* и *in vitro* / Н.В. Терлецкая. Алматы: Ин-т биологии и биотехнологии растений, 2012. – 206 с.
 20. Тимофеев-Ресовский, Н.В. Очерк учения о популяции / Н.В. Тимофеев-Ресовский, А.В. Яблоков, Н.В. Глотов, А.В. Яблоков. – М.: Наука, 1973. – 277 с.
 21. Тихонова, И.Г. Создание устойчивых к вирусам форм вишни методами биотехнологии / И.Г. Тихонова // Генетические основы эволюции и селекции: сб. науч. тр. Воронеж: НИИЛГИС, 2002. – С. 94-96.
 22. Чернодубов, А.И. Сосна обыкновенная в различных экологических условиях юга России / А.И. Чернодубов, О.А. Смогунова // Экология Центрального Черноземья Российской Федерации. Липецк: ЛЭГИ, 1998. – С. 65-68.
 23. Шмаков, В.Н. Изучение меж- и внутривидовых различий по устойчивости и действию фтора у сибирских лиственниц методом культуры *in vitro*: автореф. дис. ...канд. биол. наук / В.Н. Шмаков. – Иркутск, 2004. – 23 с.
 24. Murashige, T.A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / T.A. Murashige, F.A. Skoog // *Physiologia Plantarum*. – 1962. – V. 15. – P. 473-497.
 25. Tugce, K. The effects of drought on plants and tolerance mechanisms / K. Tugce, E. Yasemin // *G.U. J. Science*. – 2005. – V. 5. – № 4. – P. 723-740.

REFERENCES

1. Bugara I.A., Jurkova I.N., Bugara A.M. Poluchenie i citologicheskij analiz kallusnyh kul'tur astragala sherstistocvetkovogo (*Astragalus dasyanthus* Pall.). *Uchenye zapiski Tavricheskogo nacional'nogo universiteta im. V.I. Vernadskogo. Serija "Biologija, himija"*, 2008, vol. 21 (60), no. 2, pp. 9-14. (In Russian).
2. Bugara I.A., Bugara A.M. Morfologicheskoe i citohimicheskoe issledovanie kallusnyh kul'tur mjaty. *Uchenye zapiski Tavricheskogo nacional'nogo universiteta im. V.I. Vernadskogo. Serija "Biologija, himija"*, 2008, vol. 21 (60), no. 2, pp. 45-14. (In Russian).
3. Vysockij V.A. Biotehnologicheskie metody v sisteme proizvodstva ozdorovitel'nogo posadochnogo materiala plodovo-jagodnyh kul'tur. *Extended abstract of Doctor's biol. thesis*. Moscow, 1998, 44 p. (In Russian).
4. Egorova N.A. Razrabotka metodicheskikh osnov kletочноj selekcii lavandy *in vitro* na ustojchivost' k NaCl. *Jekosistemy, ih optimizacija i ohrana*, 2011, vyp. 5, pp. 173-179. (In Russian).
5. Emel'janova I.S. Ob ispol'zovanii kallusnyh kul'tur rastenij dlja izuchenija stressovyh vozdeystvij. Ogarev-online. 2013, no. 11, <http://journal.mrsu.ru>. (In Russian).
6. Evseeva R.P. Ispol'zovani esepticheskikh kul'tur tkanej v issledovanija morozostojkosti jabloni. Aktual'nye voprosy genetiki i selekcii rastenij. Novosibirsk, Nauka, 1980, 292 p. (In Russian).
7. Ignatova S.A. Kletochnye tehnologii v rastenievodstve, genetike i selekcii vozdeystvuyemyh rastenij: zadachi, vozmozhnosti, razrabotki sistem *in vitro*. Odessa, Astroprint, 2011, 224 p. (In Russian).

8. Kuznecova N.F. Chuvstvitel'nost' generativnoj sfery sosny obyknovnoj k zasuhe v Voronezhskoj oblasti. *Lesovedenie*, 2010, no. 6, pp. 58-65. (In Russian).
9. Kunah V.A. Plastichnost' genoma somaticheskikh kletok i adaptivnost' rastenij. *Molekuljarnaja i prikladnaja genetika*, 2011, vol. 12, pp. 7-14. (In Russian).
10. Levenko B.A. Kletochnaja selekcija rastenij na ustojchivost' k stressovym faktoram. *Extended abstract of Doctor's biol. thesis*. IFRG, Kiev, 1991, 41 p. (In Russian).
11. Lutova L.A. Biotehnologija vysshih rastenij. Saint Petersburg, Izd-vo St. Petersburg. un-ta, 2010, 240 p. (In Russian).
12. Oshmarina V.I., Shamina Z.B., Butenko R.G. Poluchenie rezistentnyh k NaCl i jetioninu kletochnyh linij *Nicotiana sylvestris* i ih harakteristika. *Genetika*, 1983, vol. 19, no. 5, pp. 822-827. (In Russian).
13. Pardaeva E.Ju., Tabackaja T.M., Mashkina O.S. Izuchenie tolerantnosti derev'ev sosny obyknovnoj (*Pinus sylvestris* L.) s ispol'zovaniem kallusnyh kul'tur in vitro v modeliruemyh stressovyh uslovijah. *Proceedings of the 4rd International Conference "Sohranenie lesnyh geneticheskikh resursov Sibiri". Uchrezhdenie RAN Institut lesa im. V.N. Sukacheva SO RAN*. Barnaul, 2015, pp. 133-135. (In Russian).
14. Pardaeva E.Ju., Tabackaja T.M., Mashkina O.S. Ocenka stressoustojchivosti razlichnyh genotipov sosny obyknovnoj (*Pinus sylvestris* L.) s pomoshh'ju biotehnologicheskogo metoda. *Lesohozjajstvennaja informacija*, 2015, no. 4, pp. 58-65. (In Russian).
15. Pausheva L.A. Praktikum po citologii rastenij. Moscow: Kolos, 1980, 304 p. (In Russian).
16. Saljaev R.K., Rekoslavsaja N.I. Poluchenie kallusnoj kul'tury kletok kedra sibirskogo. *Lesovedenie*, 2009, no. 5, pp. 57-62. (In Russian).
17. Sorokataja E.I. Ispol'zovanie biotehnologicheskikh metodov dlja poluchenija ustojchivyh k kornevym gniljam form jarovogo jachmenja. *Extended abstract of Doctor's biol. thesis*. Krasnojarsk, 2001, 18 p. (In Russian).
18. Terleckaja N.V. Povrezhdajushhee dejstvie abioticheskikh stressov na rastitel'nye kletki zernovyh zlakov. GNBS GBU R-ki Krym «Ordna Trudovogo Krasnogo Znameni Nikitskij botanicheskij sad – Nacional'nyj nauchnyj centr», Jalta, 2009, pp. 177-195. (In Russian).
19. Terleckaja N.V. Nespecificheskie reakcii zernovyh zlakov na abioticheskije stress *in vivo* i *in vitro*. Almaty, 2012, 206 p. (In Russian).
20. Timofeev-Resovskij N.V., Jablovok A.V., Glotov N.V. Ocherkuchenija o populjácii. Moscow: Nauka, 1973, 277 p. (In Russian).
21. Tihonova I.G. Sozdanie ustojchivyh k virusam form vishni metodami biotehnologii. *Proceedings of the Conference Title: Geneticheskie osnovy jevoljucii i selekcii*, Voronezh, NIILGIS, 2002, pp. 94-96. (In Russian).
22. Chernodubov A.I., Smogunova O.A. Sosna obyknovennaja v razlichnyh jekologicheskikh uslovijah juga Rossii. *Jekologija Central'nogo Chernozem'ja Rossijskoj Federacii*, Lipeck, LJeG1, 1998, pp. 65-68. (In Russian).
23. Shmakov V.N. Izuchenie mezh- i vnutrividovyh razlichij po ustojchivosti i dejstvu ftora u sibirskih listvennic metodom kul'tury *in vitro*. *Extended abstract of candidate's biol. thesis*. Irkutsk, 2004, 23 p. (In Russian).
24. Murashige T.A., Skoog F.A. Arevised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 1962, vol. 15, pp. 473-497.
25. Tugce K., Yasemin E. The effects of drought on plants and tolerance mechanisms. *G.U. J. Science*, 2005, vol. 5, № 4, pp. 723-740.

Статья поступила в редакцию 22.11.2016