

## РЕПРОДУКТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ПИХТЫ СИБИРСКОЙ В ГОРАХ ЗАПАДНОГО САЯНА И СОХРАНЕНИЕ ЕЕ ГЕНОФОНДА В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Е.В. Бажина

Институт леса им В.Н. Сукачева СО РАН  
660036 Красноярск, Академгородок, 50, e-mail: [genetics@ksc.krasn.ru](mailto:genetics@ksc.krasn.ru)

В последние десятилетия в связи с усыханием пихты сибирской (*Abies sibirica* Ledeb.) в горных лесах Южной Сибири наблюдается падение ее репродуктивного потенциала, что может привести к обеднению генофонда данного вида. Для оценки репродуктивного потенциала данного вида и прогноза перспективности его существования в горах Западного Саяна проведен анализ семенной продуктивности разновысотных популяций пихты сибирской. Представлены результаты исследований по разработке биотехнологии микрклонального получения растений-регенерантов данного вида в культуре *in vitro* для сохранения и массового тиражирования устойчивых к абиотическому стрессу генотипов деревьев пихты сибирской.

**Ключевые слова:** пихта сибирская, репродуктивный потенциал, соматический эмбриогенез

During last few decades in the Southern Siberia Mts the fall of *Abies sibirica* Ledeb. reproductive potential have been observed. It might be caused gene pool depletion of this species. Seed productivity analysis in different elevation populations was evaluated for estimation of *Abies sibirica* reproductive potencial and forecasting it existence in West Sayan Mts. The results of *in vitro* micropropagation biotechnology development for conservation and propagation of stable to abiotic stress tree genotype were state.

**Key words:** *Abies sibirica* Ledeb., West Sayan ecosystems, reproductive potencial, somatic embryogenesis

### ВВЕДЕНИЕ

В последние десятилетия в горных лесах Южной Сибири: Хамар-Дабана, Западного Саяна, Восточного Саяна и Кузнецкого Алатау наблюдается интенсивное усыхание пихты сибирской (*Abies sibirica* Ledeb.) (Воронин, 1989; Алексеев и др., 1999; Бажина, Третьякова 2001). Усыхание деревьев пихты сибирской в горах Южной Сибири сопровождается снижением их репродуктивного потенциала: у поврежденных деревьев формируется пыльца низкого качества, снижается семенная продуктивность макростробилов, значительно увеличивается количество пустых и беззародышевых семян (Третьякова, Бажина, 1994, 1996). Семена являются важнейшим, а часто и единственным способом воспроизводства и сохранения генофондов хвойных растений. Снижение репродуктивного потенциала пихты сибирской в горных экосистемах может привести к обеднению ее генофонда. Установлено, что в горных экосистемах Западного Саяна пихта сибирская характеризуется невысоким уровнем генетического разнообразия и слабой подразделенностью популяций, а также невысоким уровнем гетерогенности по морфологическим признакам (Кокорин, Милютин, 2003; Экарт, 2006). В целом, гетерозиготность пихты сибирской существенно ниже, чем у других бореальных видов хвойных, имеющих более широкий ареал (Семерикова, Семериков, 2006; Экарт, 2006). Анализ семенной продуктивности разновысотных популяций пихты сибирской в горах Западного Саяна позволит провести селекционно-

генетическую оценку репродуктивного потенциала данного вида и дать прогноз перспективности его существования в регионе (Fawler, Park, 1983; Алтухов и др., 1986; Малюченко, Алтухов, 2002; Коршиков, 2009).

В настоящее время перспективным направлением сохранения генофондов растений является плантационное лесовыращивание, основанное на современных биотехнологиях массового размножения улучшенных генотипов растений (Park et al., 2006; Tissue culture., 2011). Развитие современных биотехнологических подходов и методов культивирования *in vitro* позволяет создать высокоэффективную систему получения устойчивых растений-регенерантов, повысить качество посадочного материала, ускорить селекционный процесс и сохранить ценные генотипы растений (Шестибратов, 2008; Батыгина и др., 2010). Одним из наиболее перспективных методов культивирования хвойных растений является соматический эмбриогенез, который в сочетании с криоконсервацией широко применяется при плантационном лесовыращивании в США, Китае, Франции и Канаде (Klimaszewska, Суг, 2002). В настоящее время разработаны биотехнологии получения растений-регенерантов для видов рода *Larix*, *Picea* и *Pinus* (Klimashewska, 1989; Lelu, et al., 1994; Tremblay, 1996; Klimashewska, Smith, 1997; Park et al., 2006; Третьякова, Барсукова, 2010).

В настоящей работе проведена оценка репродуктивного потенциала пихты сибирской в горах Западного Саяна, а также представлены первые результаты исследований по разработке биотехнологии микрклонального получения растений-регенерантов данного вида в культуре *in vitro* для

сохранения и массового тиражирования устойчивых к абиотическому стрессу генотипов деревьев пихты сибирской.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка репродуктивного потенциала, как правило, проводится по жизнеспособности женских генеративных структур, в частности по семенной продуктивности и качеству семян (Левина, 1981; Третьякова, Бажина, 1996). Сбор макростробилов пихты сибирской проводился в разновысотных ценопопуляциях Западного Саяна (400, 1000 и 1500 м над у.м.). В каждой ценопопуляции изучали семенную продуктивность макростробилов 20-30 деревьев. Определялись следующие показатели: длина и ширина зрелой шишки, число семенных чешуй (общее, развитых), число семян (общее, развитых) (Минина, Третьякова, 1983). Выход семян оценивался по числу семенных чешуй, давших семена. Качество семян определялось методом рентгенографии (Щербакова, 1965). Поскольку значительную часть полных семян в популяциях уничтожает наездник-семяед (*Megastigmus specularis* Walley) (Белова, Бажина, 2008), определялся потенциальный выход полных семян в популяции (семена, имеющие зародыш + поврежденные конобионтами семена). При цитозембриологическом изучении проводили фиксацию почек и семяпочек водной смесью Навашина и спиртовым фиксатором Карнуа. Фиксированный материал промывался при фиксации по Навашину в проточной воде, по Карнуа - в растворах этилового спирта, и, затем проводилось его обезвоживание в серии спиртов до 80% спирта. Дальнейшие исследования образцов проводились с помощью приготовления постоянных препаратов по общепринятым методикам (Паушева, 1980). Срезы окрашивались гематоксилином по Гейденгайну (Дженсен, 1935).

В культуру *in vitro* были введены незрелые зиготические зародыши на стадии формирования семядолей, собранные во 2 декаде августа (Malabadi, Van Staden, 2005). Семена подвергались холодной обработке в течение двух недель и стерилизовались в спиртовом растворе 5% - го йода. В стерильных условиях зародыши извлекались

из мегагаметофитов и переносились на питательную среду. При введении в культуру зародыши помещались на базовые питательные среды  $\frac{1}{2}$  MS и  $\frac{1}{2}$  LV, дополненные 2,4-Д (1 мг/л) и БАП (2 мг/л), а также 30 г/л сахарозы. Кислотность среды была приведена к 5,8 до автоклавирования. Для пролиферации применялись среды с пониженным содержанием сахарозы и БАП, различающиеся по содержанию аскорбиновой кислоты (200 и 500 мг/л). Культивирование осуществлялось в темноте, при  $25 \pm 1$  °С.

Цитологические исследования каллусной ткани проводили на временных давленных препаратах с помощью микроскопа Микромед-2, статистическая обработка проводилась при помощи пакета анализа Microsoft Excel 2000.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Репродуктивный потенциал пихты сибирской.** Видовой особенностью пихты сибирской является высокая семенная продуктивность. В урожайные годы число шишек на дереве может превышать 150 шт, выход морфологически развитых семян из шишки чрезвычайно высок: до 318 шт. у различных деревьев. Семенная продуктивность макростробилов у пихты сибирской в горах Западного Саяна чрезвычайно высокая – выход семян достигает 71,7% (табл. 1). Размеры макростробилов и, в меньшей степени, выход семян закономерно снижаются с увеличением абсолютной высоты произрастания. Внутривидовая изменчивость отдельных показателей структуры урожая макростробилов в экосистемах Западного Саяна варьирует от низкого (CV – 5,4%) до среднего уровня (CV – 24,8%), при этом они демонстрируют разнонаправленные взаимосвязи. Корреляционный анализ выявил тесные положительные связи между длиной макростробилов и числом семян и семенных чешуй, слабые положительные – между шириной макростробилов и выходом морфологически развитых семян (табл. 2). Отрицательные связи наблюдались между выходом семян и длиной шишки, числом семенных чешуй, числом семян (в т. ч. развитых). Очевидно, увеличение размеров макростробилов происходит за счет увеличения количества морфологически недоразвитых семенных чешуй и семян.

**Таблица 1 - Семенная продуктивность макростробилов и число потенциально полных семян в разновысотных ценопопуляциях пихты сибирской**

Место произрастания	Размеры шишек, мм		Число семенных чешуй, шт.		Число семян, шт.		Выход семян, %	
	длина	ширина	развитых	общее	развитых	общее	общий	в т.ч. развитых
хр. Западный Саян -400	<u>78±1,8</u>	<u>20±0,7</u>	<u>150±6,3</u>	<u>179±6,5</u>	<u>255±10,4</u>	<u>295±10,5</u>	<u>83,2±2,8</u>	<u>71,7±2,6</u>
	11,1	16,1	15,6	13,6	15,2	13,3	12,7	13,6
хр. Западный Саян -1000	<u>67±1,15</u>	<u>24±0,43</u>	<u>136±2,47</u>	<u>165±3,39</u>	<u>228±4,01</u>	<u>272±5,09</u>	<u>81,6±0,93</u>	<u>68,7±1,11</u>
	8,1	8,5	8,6	9,7	8,3	8,8	7,6	5,4
хр. Западный Саян -1500	<u>47±0,9</u>	<u>17±0,3</u>	<u>94±2,0</u>	<u>119±2,0</u>	<u>146±2,9</u>	<u>179±3,2</u>	<u>77,0±1,1</u>	<u>62,6±1,0</u>
	20,3	22,3	24,8	20,2	24,3	21,3	17,2	18,8

**Таблица 2 - Взаимосвязь элементов структуры урожая макростробиллов \***

	Д	Ш	РЧ	НЧ	ЧО	РС	НС	СО	ВО	ВР
Д	1									
Ш	0,6678	1								
РЧ	0,7193	0,10116	1							
НЧ	0,3941	0,49308	-0,1484	1						
ЧО	0,6830	0,02486	0,96753	-0,0065	1					
РС	0,8804	0,35248	0,91722	0,22925	0,91702	1				
НС	0,5050	0,45817	0,50298	-0,3897	0,35536	0,35174	1			
СО	0,8761	0,40103	0,94384	0,01518	0,87752	0,95796	0,56850	1		
ВО	-0,0674	0,08089	-0,4822	0,63873	-0,3625	-0,2310	-0,4960	-0,3824	1	
ВР	-0,0371	0,10483	-0,364	0,29131	-0,3798	-0,1894	-0,3104	-0,2161	0,8170	1

\* Примечание: Д-длина макростробила, Ш-ширина макростробила, РЧ – число развитых семенных чешуй, НЧ – число недоразвитых семенных чешуй, ЧО – общее число семенных чешуй, РС – число развитых семян, НС – число недоразвитых семян, СО – общее число семян, ВО – общий выход семян, ВР – выход морфологически развитых семян.

В горных экосистемах Западного Саяна высокий репродуктивный потенциал пихты сибирской остается в значительной степени нереализованным. Результаты рентгенографического и цитозембриологического анализа показали, что одним из наиболее значительных факторов в изъятии полноценных семян является пихтовый семяед *Megastigmus specularis* Walley (Белова, Бажина, 2007), изымающий в зависимости от высоты

произрастания 2,7-54,3 % потенциально полнозернистых семян (табл. 3, 4). Если бы не было изъятия семян семяедом, то доля полнозернистых семян достигала бы 23,8 - 70,4 %. При этом число потенциально полнозернистых (семена, имеющие зародыш + поврежденные конобионтами) семян положительно коррелирует с показателями структуры урожая макростробила ( $r = 0,003-0,74$ ).

**Таблица 3 - Качество семян пихты сибирской, %**

Семяпочки	Низкогорье	Высокогорье
всего порезано, шт.	233	51
с пыльцевыми зернами, %:	15,4	10
в т.ч. прорастающими, %	1,72	0
с яйцами семяеда, %	38,5	3,3

Высокая стерильность семян пихты сибирской обусловлена также недостаточным опылением семяпочек макростробила, наблюдаемым даже в оп-

тимальных условиях произрастания. Значительное число (83,7-100 %) семяпочек в пределах макростробила не имеют пыльцевых зерен (табл. 4).

**Таблица 4 - Цитозембриологический анализ семяпочек пихты сибирской хр. Западный Саян**

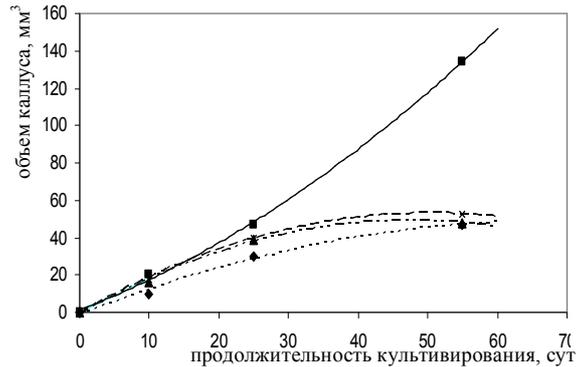
Место произрастания	№ п/п	Полнозернистые, %	Потенциально полнозернистые, %
хр. Западный Саян -400	ЗС-400	67,7	70,4
хр. Западный Саян -1000	ЗС -1000	6,2	60,5
хр. Западный Саян -1500	ЗС- 1500	20,5	23,8

Кроме того, прорастание пыльцы на нуцеллусе семяпочек происходит только в единичных случаях, что очевидно, обусловлено ее низким качеством. Низкое качество пыльцы пихты собранной в различных ценопопуляциях Западного Саяна подтверждается при проращивании ее *in vitro*: у отдельных деревьев прорастает от 0 до 84,2 % пыльцевых зерен. В результате такого феномена эмбриональные процессы в семяпочках идут до развития яйцеклетки, а затем в отсутствии пыльцевых зерен развитие женского гаметофита прекращается, и формируется только покровы

семяпочки – пустые семена.

**Эксперименты по микроклональному размножению.** Введение в культуру мегагаметофитов и изолированных зиготических зародышей пихты на ранних стадия развития (глобулярный эмбрио) оказалось не эффективным. Индукции образования каллуса не происходило. Оптимальной стадией развития зиготического зародыша для формирования каллусной массы оказался семядольный зародыш, достигающий 2/3 и более длины зародышевого канала. Исследования показали, что формирование морфогенного каллуса

наблюдалось у 30 % эксплантов на 14-18 суток культивирования на всех питательных средах. Наибольшей способностью к пролиферации обладал каллус, полученный на среде  $\frac{1}{2}$  MS с добавлением 2,4-Д (2,0 мг/л) и 6-БАП (1-2 мг/л), у которого через два месяца культивирования масса эмбрионного каллуса составила до  $0,074 \pm 0,008$  г, что почти в три раза превышало массу каллуса на среде только с 6-БАП и на среде  $\frac{1}{2}$  LV ( $0,024 \pm 0,002$  и  $0,028 \pm 0,003$  г соответственно) (рис. 1). Однако при дальнейшем культивировании на этой среде каллусы начинали отмирать, и были пересажены на среду  $\frac{1}{2}$  LV.



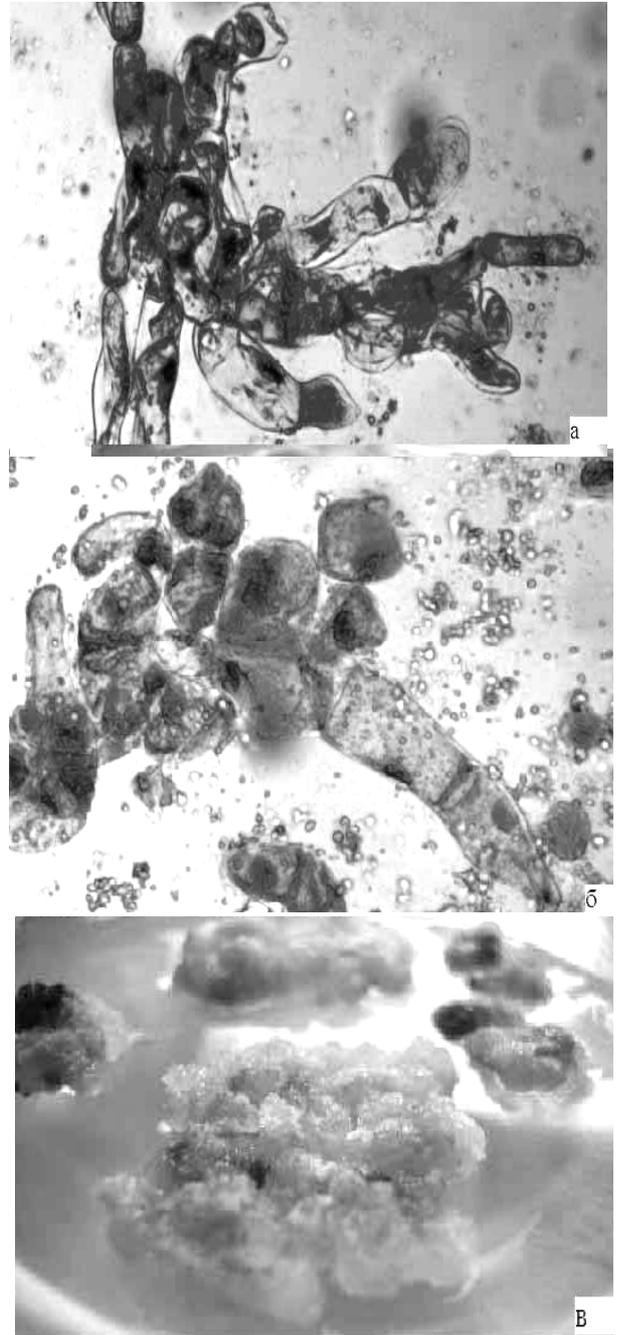
**Рисунок 1** - Динамика роста каллуса пихты сибирской на различных средах:  $\frac{1}{2}$ MS+2,4-Д и БАП (—);  $\frac{1}{2}$ MS+2,4-Д (---);  $\frac{1}{2}$ LV+500мг/л аскорбиновой кислоты (— —);  $\frac{1}{2}$ LV+200 мг/л аскорбиновой кислоты (- - -)

Цитологический контроль показал, что на 12-14 сутки культивирования у экспланта происходили вытягивание и асинхронное деление клеток. Каллусная масса, полученная из сегментов проростков пихты сибирской, была очень рыхлой и представляла собой суспензию из отдельных клеточных скоплений. Морфогенный каллус включал клетки разных типов (рис. 2). Одни клетки изодиаметрические,  $60,0 \pm 3,5$  мкм в диаметре. Другие, прозенхимные – овальные или сильно вытянутые, достигающие в длину  $106,0 \pm 5,8$  мкм. Полученные структуры имеют сходство с зародышеподобными структурами (эмбриоидами). Полученные каллусы активно пролиферировали в течение 6-12 месяцев без потери пролиферационной активности. Однако при пересадке на среду с АБК, созревания соматических зародышей не происходило, каллус некротизировался. Эксперименты по культивированию эмбрионных каллусов пихты сибирской продолжаются.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Пихта сибирская характеризуется высоким репродуктивным потенциалом. Семенная продуктивность макростробилов у пихты сибирской в горах Западного Саяна стабильно высокая как в низкогорных, так и в высокогорных популяциях. Однако высокий репродуктивный потенциал данного вида в горных экосистемах остается нереализованным вследствие влияния негативных абиотических и биотических факторов.

У хвойных растений потенциально заложены множественные пути реализации репродуктивного потенциала, один из которых проявляется в экспериментальных условиях культуры *in vitro* через соматический эмбриогенез (Klimashewska, 1989; Park, 2002; Malabadi, Van Staden, 2005; Белорусова, Третьякова, 2008; Шестибратов и др., 2008). Проведенные эксперименты по оптимизации состава



**Рисунок 2** - Морфогенные каллусы на стадии инициации, полученные из сегментов проростков пихты сибирской: а, б – формирование эмбриональных глобул; в- морфогенный каллус

среды для индукции соматического эмбриогенеза пихты сибирской показали, что наиболее значимыми факторами для индукции каллусогенеза являются стадия развития и состав среды. Оптимальной стадией развития зиготического зародыша для

формирования каллусной массы оказался семядольный зародыш, достигающий 2/3 и более длины зародышевого канала. Установлено, что среда 1/2 MS с добавлением 6 БАП и 2,4Д, оптимальная на начальных этапах формирования каллуса пихты, не пригодна для ее дальнейшего культивирования. На начальных этапах каллусообразования оптимальной является среда 1/2MS, однако, при длительном культивировании на этой среде каллусы отмирают. Лимитирующим индукцию каллусогенеза фактором является также присутствие кинетина. Соматический эмбриогенез – многоступенчатый процесс, включающий индукцию и пролиферацию эмбрионного каллуса, созревание и прорастание соматических зародышей, формирование растений – регенерантов (Von Arnold et al., 2002). В наших экспериментах успешно проходили индукция и пролиферация эмбрионного каллуса, однако, созревания соматических зародышей на данном этапе добиться не удалось. Эксперименты по подбору и оптимизации питательных сред для получения растений-регенерантов пихты сибирской продолжают.

#### Благодарности

Автор искренне признателен д.б.н., проф. И.Н.Третьяковой за всестороннюю помощь в проведении исследований и обсуждение полученных результатов.

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Алексеев, В.А. Состояние пихтовых лесов Кузнецкого Алатау / В.А. Алексеев, В.В. Астапенко, Ю.Г. Басова, А.И. Бондарев, В.Г. Лузанов, Т.Н. Отнюкова, В.М. Яновский // Лесное хозяйство. - № 4. - 1999. - С. 51-53.
- Алтухов, Ю.П. Аллозимный полиморфизм в природной популяции ели европейской (*Picea abies* (L.) Karst.). Сообщение 3. Корреляция между уровнем индивидуальной гетерозиготности и относительным количеством нежизнеспособных семян / Ю.П. Алтухов, Н.И. Гафаров, К.В. Крутовский, В.А. Духарев // Генетика. - 1986. - Т.22. - № 12. - С. 2825-2830.
- Бажина, Е.В. К проблеме усыхания пихтовых лесов / Е.В. Бажина, И.Н. Третьякова // Успехи совр. биол. – 2001. – Т. 121. - № 6. – С. 626-631.
- Батыгина, Т.Б. От микроспоры - к сорту / Т.Б. Батыгина, Н.Н. Круглова, В.Ю. Горбунова, Г.Е. Титова, О.А. Сельдимрова - М.: Наука, 2010. – 174 с.
- Белоруссова, А.С. Особенности формирования соматических зародышей у лиственницы сибирской: эмбриологические аспекты / А.С. Белоруссова, И.Н. Третьякова // Онтогенез. - 2008. - Т. 39. - № 2. - С. 106-115.
- Белова, Н.В. Жизнеспособность семян пихты сибирской в лесных экосистемах Восточного Саяна / Н.В. Белова, Е.В. Бажина // Хвойные бореальной зоны. - 2007. - № 4. - С. 159-163.
- Воронин, В.И. Действие серосодержащих эмиссий на пихту сибирскую в Южном Прибайкалье/ В.И. Воронин. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. 03.00.16. – Красноярск, 1989. - 19 с.
- Дженсен, У.Д. Ботаническая гистохимия / У.Д. Дженсен. – М.: Мир, 1965. – 377 с.
- Кокорин, Д.В. Формовое разнообразие пихты сибирской в южных районах Средней Сибири / Д.В. Кокорин, Л.И. Милютин // Лесоведение. – 2003. - № 4. - С. 32-35.
- Коршиков, И.И. Генетические особенности деревьев с высокой продуктивностью полных семян в популяциях видов семейства Pinaceae Lindl. / И.И. Коршиков // Факториї експериментальної еволюції організмів.- К.: Логос, 2009. - Т.5. - С. 144-149.
- Левина, Р.Е. Репродуктивная биология семенных растений. Обзор проблемы / Р.Е. Левина. - М., 1981. – 96 с.
- Малюченко, О.П. Влияние индивидуальной гетерозиготности на характеристики плодоношения у кедрового стланика *Pinus pumila* / О.П. Малюченко, Ю.П. Алтухов // Докл. РАН. - 2002. - Т. 384. - №3. - С. 418-421.
- Минина, Е.Г. Геотропизм и проявление пола у хвойных / Е.Г. Минина, И.Н. Третьякова. - Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1983. – 198 с.
- Паушева, З. Ф. Практикум по цитологии растений / З.Ф. Паушева. - М.: Колос, 1980. - 304 с.
- Семерикова, С.А. Генетическая изменчивость и дифференциация популяций пихты сибирской (*Abies sibirica* Ledeb.) по аллозимным локусам / С.А. Семерикова, В.Л. Семериков // Генетика. – 2006. – Т. 42. - № 6. - С. 783-792.
- Третьякова, И.Н. Жизнеспособность пыльцы пихты сибирской в нарушенных лесных экосистемах гор Южной Сибири / И.Н. Третьякова, Е.В. Бажина // Экология. - 1994. - № 6. - С. 20-28.
- Третьякова, И.Н. Семенная продуктивность макростробилов и качество семян у пихты сибирской в нарушенных лесных экосистемах гор Южной Сибири / И.Н. Третьякова, Е.В. Бажина // Экология. - 1996. - № 6. - С. 430-436.
- Третьякова, И.Н. Сохранение генофондов хвойных видов Сибири при помощи соматического эмбриогенеза *in vitro* – современного метода биотехнологии / И.Н. Третьякова, И.Н. Барсукова // Хвойные бореальной зоны. - 2010. - XXVII. - № 1-2. – С. 203-205.
- Шестибратов, К.А. Мировой опыт и достижения технологий клонального микроразмножения и генетической трансформации / К.А. Шестибратов, М.М. Шемякина, Ю.А. Овчинникова // Лесохозяйственная информация. - 2008. - № 3-4. - С. 22-23.
- Щербакова, М.А. Определение качества семян хвойных пород рентгенографическим методом / М.А. Щербакова. – Красноярск, 1965. – 35 с.
- Экарт, А.К. Эколого-генетический анализ популяций пихты сибирской (*Abies sibirica* Ledeb.) / А.К. Экарт. Автореф. ...канд. биол. наук. – Красноярск, 2006. – 17 с.
- Koski, V. Embryonic lethals of *Picea abies* and *Pinus sylvestris* / V. Koski // Commun. Inst. For. Fenn. - 1971. – V. 75. - № 3. – P. 1-10.
- Fawler, D.P. Effects of inbreeding in red pine, *Pinus resinosa* Ait. IV / D.P. Fawler // Sylvae Genet. - 1965. - V. 14. – P. 76.
- Fawler, D. P. Population studies of white spruce. I. Effects of self-pollination. / D. P. Fawler, Y. S. Park // Canad. J. Forest Res. - 1983. – V. 13. – № 6. – P. 1133.
- Klimaszewska, K. Conifer somatic embryogenesis: I. Development / K. Klimaszewska, D.R. Cyr // Dendrobiology. 2002. - V. 48. - P. 31–39.
- Klimaszewska, K. Plantlet development from immaturezygotic embryos of hybrid Larch through somatic embryogenesis / K. Klimaszewska // Plant Sci. – 1989. – V. 63. – P. 95-103.
- Klimaszewska, K. Maturation of somatic embryos of *Pinus strobus* is promoted by a high concentration

- of Gellan Gum / K. Klimaszewska, D. Smith // *Physiologia Plantarum*. – 1997. - V. 100. - P. 449 - 457.
- Lelu, M.A. Somatic embryogenesis from immature and mature zygotic embryos and from cotyledons and needles of somatic plantlets of *Larix* / M.A. Lelu, K. Klimaszewska, Charest P.J. // *Can. J. For. Res.* - 1994. - V. 24. - № 1. - P. 100–106.
- Malabadi, R. B. Somatic embryogenesis from vegetative shoot apices of mature trees of *Pinus patula* / R. B. Malabadi, J. Van Staden // *Tree Physiology*. - 2005. V. 25. P. 11–16.
- Park, Y.S. Implementation in conifers somatic embryogenesis in clonal forestry: technical requirement and development considerations / Y.S. Park // *Ann. For. Sci.* - 2002. - V. 59. - P. 651–656.
- Park, Y.S. Initiation of somatic embryogenesis in *Pinus banksiana*, *P. strobus* and *P. sylvestris* at three laboratories in Canada and France / Y.S. Park, M.A. Lelu-  
Walter, L. Harrengt, J.F. Trontin, I. McEacheron, K. Klimaszewska, J.M. Bonga // *Plant cell, Tissue Organ Cult.* - 2006. – V. 86. – P. 87-101.
- Stasolla, C. Recent advances in conifer somatic embryogenesis: improving somatic embryo quality / C. Stasolla, E. C. Yeung // *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* - 2003. - V. 74. - P. 15–35.
- Tissue culture research at the CFS: its history, current status and potential benefits: [http://publications.gc.ca/collections/collection\\_2011/rncan-nrcan/Fo114-11-2011-eng.pdf](http://publications.gc.ca/collections/collection_2011/rncan-nrcan/Fo114-11-2011-eng.pdf).
- Tremblay, F.M. Somatic embryogenesis and plantlet regeneration from embryos isolated from stored seeds of *Picea glauca* / F.M. Tremblay // *Can. J. Bot.* - 1990. – V. 68. – P. 236-242.
- Von Arnold, S. Developmental pathways of somatic embryogenesis / S. Von Arnold, I. Sabala, P. Bozhkov et al. // *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* - 2002. - V. 69. - P. 233–249.

---

Поступила в редакцию 18 ноября 2011 г.  
Принята к печати 1 марта 2012 г.

