

УДК 58.084.1

DOI: 10.17072/1994-9952-2020-4-286-293.

Н. А. Супрун^a, Е. В. Малаева^a, С. А. Шумихин^b

^a Волгоградский региональный ботанический сад, Волгоград, Россия

^b Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

ОСОБЕННОСТИ СЕМЕННОГО РАЗМНОЖЕНИЯ *HEDYSARUM GRANDIFLORUM* PALL. *EX SITU* И *IN VITRO*

В условиях *ex situ* и *in vitro* изучены особенности семенного размножения *Hedysarum grandiflorum* из 7 природных популяций Волгоградской, Самарской и Луганской обл. Выявлена оптимальная температура прорастания семян и зависимость всхожести и энергии их прорастания от срока хранения. Максимальная всхожесть наблюдалась у скарифицированных семян *H. grandiflorum* 2018 г сбора и составила 70%. Установлено, что всхожесть и энергия прорастания семян невысокие и быстро снижаются с годами хранения, при этом их скарификация позволяет увеличить эти показатели. Экспериментально был подобран оптимальный режим стерилизации семян *H. grandiflorum* – 10% раствор Лизоформин 3000 в течении 5 минут. При этом процент стерильных проростков составил 60%.

Ключевые слова: *Hedysarum grandiflorum*; семенное размножение; *in vitro*; Волгоградская обл.

N. A. Suprun^a, E. V. Malaeva^a, S. A. Shumikhin^b

^a Volgograd Regional Botanical Garden, Volgograd, Russian Federation

^b Perm State University, Perm, Russian Federation

FEATURES SEED REPRODUCTION OF *HEDYSARUM* *GRANDIFLORUM* PALL. *EX SITU* AND *IN VITRO*

Hedysarum grandiflorum samples were collected from 7 natural populations of the Volgograd, Samara and Lugansk People's Republic and the features of seed reproduction were studied under *ex situ* and *in vitro* conditions. The optimal temperature for seed germination and the dependence of germination and seed vigor on the storage were revealed. We observed the maximum germination rate in the scarified seeds of *H. grandiflorum* of 2018 collection and it was equal to 70%. It was found that the seed germination and seed vigor are low and quickly decrease with years of storage, while their scarification allows to increase these indicators. It is noted that the relatively low germination of the studied seeds is leveled by the rather high productivity of species in general. The optimal mode of sterilization of *H. grandiflorum* seeds was experimentally determined - 10% Lysoformin® 3000 solution for 5 minutes. The percentage of sterile seedlings was 60%.

Key words: *Hedysarum grandiflorum*; seed reproduction; *in vitro*; Volgograd region.

Одним из вариантов сохранения редких видов и увеличения их численности, наравне с созданием природных заповедных территорий (сети ООПТ) в естественных местообитаниях (*in situ*), является интродукция растений и их культивирование (сохранение биоразнообразия *ex situ*). Выращивание в ботанических садах позволяет проводить углубленные стационарные исследования по биологии, экологии и систематике редких видов, организовать изучение их семенного и вегетативного размножения [Белоплипов, 1974; Прилипка, 1980; Davy, Jefferies, 1981; Скворцов, 1983; Тихомиров, 1986; Луконина, 2005; Супрун, 2014; Малаева, Супрун, 2018]. Коллекции интродуцированных дикорастущих растений «позволяют застраховать вид от полного исчезновения в природе, дают материал для реинтродукции, размножения рас-

тений и их сберегающего использования, так же как и для использования в исследовательских и образовательных целях» [Стратегия ..., 2003].

В настоящее время для сохранения редких видов растений широкое применение получил метод культуры *in vitro*. Многие исследователи указывают на важнейшее значение использования биотехнологического метода как дополнительного варианта сохранения видов *ex situ*, выступающего в качестве их страхового фонда [Андреев, Горбунов, 2000; Venson et al., 2000; Малаева, 2019].

Следует отметить, что исследования в области культуры ткани для решения проблем сохранения генофонда растений имеют свои особенности [Вечернина, 2006]. Довольно часто они связаны с отсутствием возможности свободного выбора объек-

та, а также дефицитом исходного материала нужного растения. В связи с этим, при введении в культуру *in vitro* редких видов, в качестве исходного материала предпочтительно использовать семена из природных популяций, поскольку таким образом обеспечивается генетическое разнообразие [Молканова, 2017].

Одним из главных направлений работы ГБУ ВО «Волгоградский региональный ботанический сад» (далее ВРБС) является интродукция растений природной флоры Волгоградской обл. с целью их сохранения и увеличения численности. Особый интерес для интродукции представляет своеобразная флора меловых обнажений, выходы которых приурочены к долинам некоторых рек юга России. Сложная история формирования данной флоры обусловила наличие особых растительных группировок и высокую степень эндемизма кальцефильных растений. Резко выраженный своеобразный химизм и механический состав почвы, температурные условия и световой режим, связанный с большим альбедо меловых местообитаний, представляет комплекс факторов, обуславливающих развитие особых адаптационных приспособлений у растений-кальцефилов, имеющих немалый научный интерес.

Особый интерес для нашей работы представляет *Hedysarum grandiflorum* Pall., который включен в Красную книгу Волгоградской области и Красную книгу Российской Федерации, что подчеркивает важность его введения в культуру [Красная книга..., 2017]. Семенной способ размножения является приоритетным для *H. grandiflorum* и является основным путем поддержания и увеличения численности [Супрун, 2014].

Ряд авторов изучали семенное размножение копеечника крупноцветкового [Кузнецова, 2008; Ильина, 2013; Лаврентьев, 2016]. Однако в работах недостаточно сведений по семенному размножению *H. grandiflorum*, связанных с особенностями местообитания данного вида в условиях *ex situ* и *in vitro*.

В связи с этим, цель исследования – изучение особенностей семенного размножения *H. grandiflorum* в условиях *ex situ* и *in vitro*.

Объекты и методы исследования

Исследования проводились в 2017–2019 гг. на базе ВРБС (г. Волгоград).

Измерения плодов и семян осуществлялись штангенциркулем. Для определения массы семян и члеников плодов (далее везде – плодов) проводилось взвешивание 100 образцов в 5-кратной повторности из каждой популяции.

Проводилось морфологическое описание внешних покровов плодов и семян. Для анализа биометрических данных (Д – длина; Ш – ширина) се-

мян и плодов выборка составляла 50 шт. образцов (данные обрабатывались с помощью компьютерной программы STATISTICA 6.0 – различия достоверны по плодам и семенам) [STATISTICA, 2001].

Для изучения семенного размножения семена *H. grandiflorum* Pall. были собраны из семи различных природных популяций. Для сравнения величины плодов и семян растений из разных популяций брали по 100 плодов и семян; масса плодов определялась взвешиванием 100 шт. в 3-кратной повторности. Лабораторное проращивание семян проводили в чашках Петри на подложке из фильтровальной бумаги по 100 семян в чашке в 3-кратной повторности. Скарификация проводилась непосредственно перед посевом, так как прошедшие такую обработку семена плохо хранятся вследствие нарушения структуры оболочки. Энергия прорастания семян исследованного вида учитывалась за первые 7 дней. Абсолютная всхожесть выявлялась в течение 30 дней. Для определения грунтовой всхожести семена высевали в рассадные ящики. Поскольку цветение и созревание плодов у копеечника крупноцветкового происходит не одновременно, то в образцах присутствовали как зрелые, так и незрелые плоды, и семена. Для лабораторных и полевых опытов отбирали только зрелые плоды и семена [Николаева, 1985].

Методика биотехнологических исследований базировалась на общепринятых классических приемах с культурами изолированных тканей и органов растений [Бутенко, 1999].

Семена предварительно обрабатывали 95%-ным этиловым спиртом в течение 50–60 сек. В качестве стерилизатора использовали различные концентрации Белизны и «Лизоформина 3000» (действующее вещество – глютаровый альдегид, глиоксаль и дидецилдиметиламмоний хлорид) с различной временной экспозицией. Методика по применению стерилизующего вещества – «Лизоформин 3000» – устанавливалась опытным путем сотрудниками лаборатории биотехнологии ВРБС.

После многократного промывания в стерильной дистиллированной воде семена высаживали на безгормональную питательную среду с минеральной основой по прописи Мурасиге-Скуга [Murashige, Skoog, 1962]. При оценке оптимального режима стерилизации учитывали количество заросших и количество проросших семян.

Проростки делили на фрагменты и пересаживали на модифицированные питательные среды для получения пролиферирующей культуры.

В условиях *in vitro* растения культивировали в чашках Петри и биологических пробирках при освещении с интенсивностью 3–5 клк, при 16-часовом фотопериоде, температуре 24°C и относительной влажности воздуха 70%. Все опыты про-

водили трижды, повторность в каждом варианте 10-кратная.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась общепринятыми методами с применением интегрированной системы «Statistica» версии 6.0, Microsoft Office Excel 2013 и Past 6.1.

Результаты и их обсуждение

Плод *H. grandiflorum* – членистый боб. Членики его почти округлые, сильно сдавленные латерально, сетчато-ребристые, беловоилочные, покрыты шипами с крючковатой верхушкой. Такое строение члеников при разделении способствует анемохории, реже зоохории. Кроме того, явным признаком анемохории является не распадающийся

после отцветания околоцветник. В среднем в одном бобе закладывается 4 членика, при этом среднее количество развитых семян равно 4. Размеры и масса семян и плодов (члеников бобов) варьируют в зависимости от места произрастания вида. Семена имеют плоско-выпуклую почковидную форму и окрашены в коричневый или темно-коричневый цвет. Поверхность семян блестящая, имеет гладкую скульптуру, без опушения. Рубчиковый след округлой формы, беловатого цвета, в среднем около 0.15 мм в диаметре. Длина плодов в среднем составляет 3.37 ± 0.02 мм, ширина – 3.59 ± 0.02 мм; масса плодов (100 шт.) – 0.459 ± 0.005 г, масса семян (100 шт.) – 0.336 ± 0.007 г. (рис. 1, табл. 1, 2).



Масштаб \square – 1 мм

Рис. 1. Структура плодов *Hedysarum grandiflorum*

Таблица 1

Размеры плодов *Hedysarum grandiflorum* из разных географических популяций

Место сбора	Измерение	$M \pm m$, мм	σ	V	Масса, г
Sm	Длина	4.11 ± 0.07	0.24	5.84	0.503
	Ширина	4.37 ± 0.04	0.38	8.69	
Lk	Длина	3.77 ± 0.04	0.39	10.34	0.423
	Ширина	3.81 ± 0.03	0.30	7.87	
LA	Длина	3.40 ± 0.06	0.43	12.64	0.398
	Ширина	3.58 ± 0.06	0.42	11.73	
KK	Длина	3.45 ± 0.07	0.18	5.22	0.465
	Ширина	3.56 ± 0.04	0.28	7.86	
KI	Длина	3.32 ± 0.06	0.32	9.64	0.430
	Ширина	3.70 ± 0.05	0.26	7.03	

Примечание. В этой и следующей таблице: Sm – Самарская обл., Кинельский р-н, окр. пос. Усть-Кинельский; Lk – Луганская обл., окр. с. Камышное, степные балки по р. Дерлуп; LA – Луганская обл., юго-западнее г. Луганска, окр. пос. Александровка и пос. Бахлут; KK – Волгоградская обл., Камышинский р-н, балка Кривцовская; KI – Волгоградская обл., Иловлинский р-н, хут. Александровка.

Таблица 2

Размеры семян *Hedysarum grandiflorum* из разных географических популяций

Место сбора	Измерение	$M \pm m$, мм	σ	V	Масса, г
Sm	Длина	2.20 ± 0.06	0.32	14.54	0.313
	Ширина	2.52 ± 0.06	0.31	12.30	
Lk	Длина	2.15 ± 0.03	0.15	6.98	0.378
	Ширина	2.49 ± 0.03	0.16	6.42	
LA	Длина	2.20 ± 0.03	0.22	10	0.301
	Ширина	2.51 ± 0.05	0.29	11.55	
KK	Длина	1.90 ± 0.05	0.16	8.42	0.321
	Ширина	2.28 ± 0.09	0.18	7.89	
KI	Длина	1.90 ± 0.05	0.21	11.05	0.378
	Ширина	2.14 ± 0.07	0.25	11.68	

Исследования биометрических показателей плодов в различных популяциях, показали, что коэффициент вариации длины и ширины ниже среднего ($V = 5-13\%$), что говорит о небольшом варьировании этих признаков. Таким образом, высокие значения длины и ширины наблюдаются у популяций, собранных в Луганской обл., юго-западнее г. Луганска, в окрестностях пос. Александровка и пос. Бахлут; низкие значения вариации длины плодов обнаружены в Самарской обл., в Кинельском р-не, в окрестностях пос. Усть-Кинельский и в Волгоградской обл., Камышинском р-не, в балке Кривцовская.

Биометрический анализ семян показал, что их размеры тесно связаны с географическим расположением популяций. По индексу длина – ширина все популяции достоверно различаются между собой (табл. 2).

Исследуя биометрические показатели семян в различных популяциях, обнаружили, что коэффициент вариации по длине и ширине незначителен ($V = 6-15\%$), следовательно, это свидетельствует о стабильности данного признака. Максимальные значения длины составляют 2.20 мм, ширины – 2.52 мм, минимальные – соответственно 1.90 и

2.14 мм.

По внешним признакам плоды копеечника крупноцветкового из популяций различного географического расположения отличаются по следующим показателям:

- плоды имеют цвет: светло-желтый, желто-оранжевый и серо-коричневый. Окраска плодов каждой отдельной популяции имеет свой цвет, но есть присутствие других цветов;
- опушение на плодах присутствует всегда. Степень его может быть различным: густым или редким;
- выраженность сетчатости на поверхности плодов зависит от высоты, расположения ребер и расстояния между ними;
- длина шипиков у плодов отличается. Для некоторых плодов характерно наличие разной длины шипиков на окаймлении, а на других по всей поверхности плода, но с разной степенью выраженности.

В условиях ВРБС нами проведена серия опытов по определению всхожести семян *H. grandiflorum* различного срока хранения (сборы 2017 – 2019 гг.) (табл. 3–5).

Таблица 3

Влияние различных способов предпосевной обработки на прорастание семян *H. grandiflorum* (сбор 2017 г.)

Условия прорастания	Всхожесть (%)								
	7 дней			15 дней			30 дней		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Скарификация (наждачная бумага)	25	27	31	30	36	38	46	54	58
Обработка горячей водой (3 мин.)	2	6	4	4	9	5	4.1	23	10
Стратификация (холодильник $t = 0...+5^{\circ}\text{C}$)	0	0	0	8	8	6	26	29	25
Обработка этиловым спиртом	39	41	24	44	48	29	54	57	41
Контроль	13	23	18	16	26	21	20	31	28

Таблица 4

Влияние различных способов предпосевной обработки на прорастание семян *H. grandiflorum* (сбор 2018 г.)

Условия прорастания	Всхожесть (%)								
	7 дней			15 дней			30 дней		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Скарификация (наждачная бумага)	39	27	40	60	81	67	69	82	70
Обработка горячей водой (3 мин.)	2	6	5	3	6	10	5	12	10
Стратификация (холодильник $t = 0...+5^{\circ}\text{C}$)	6	0	4	14	11	12	21	28	25
Обработка этиловым спиртом	39	41	24	44	48	29	54	57	41
Контроль	25	34	41	49	58	76	76	66	79

Таблица 5

Влияние различных способов предпосевной обработки на прорастание семян *H. grandiflorum* (сбор 2019 г., на момент проведения опыта свежесобранный материал)

Условия прорастания	Всхожесть (%)								
	7 дней			15 дней			30 дней		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Скарификация (наждачная бумага)	20	21	18	51	28	41	72	60	65
Обработка горячей водой (3 мин.)	8	6	2	11	10	3	12	20	12
Стратификация (холодильник $t = 0...+5^{\circ}\text{C}$)	1	6	0	6	9	10	18	25	29
Обработка этиловым спиртом	30	24	23	45	47	29	54	59	56
Контроль	10	16	20	13	24	45	27	39	48

H. grandiflorum не размножается вегетативным путем, в связи с чем способ размножения только семенной. Семенное размножение вида затруднено, так как для вида характерна твердосемянность, которую можно нарушить механическим, температурным и химическим воздействием [Попцов, 1976; Николаева, 1985]. У видов, обладающих твердосемянностью и гетерокарпией, лишь часть семян прорастают относительно быстро. Семена различных видов копеечников способны длительное время храниться в почве. Всходы появляются периодически за счет семян нового урожая и запаса их в почве.

Из полученных данных видно, что семена *H. grandiflorum* обладают различной энергией прорастания. Абсолютная всхожесть определялась на 30-й день.

При стратификации отдельные семена копеечника крупноцветкового начинают прорастать уже на 7-й день. Обработка этиловым спиртом и наждачной бумагой увеличивает число проросших семян. Обработка кипятком в течение 3 мин. оказалась губительной для семян *H. grandiflorum*, вероятно, температурный предел для них ниже, чем предполагалось, или такая обработка вызвала более глубокий физиологический покой семян. Спирт играет роль не растворителя каких-либо веществ, а промокашки, т.е. лишь смачивает стенки пор, мельчайших канальцев, что способствует проникновению в них воды.

Опыты показали, что семена копеечника крупноцветкового прорастают в широком температурном диапазоне – от $+5$ до $+28^{\circ}\text{C}$. Однако интервал постоянных температур, в пределах которого наблюдается достаточно высокая всхожесть, составляет $+20...+25^{\circ}\text{C}$. При этих температурах максимальная всхожесть сочетается с максимальной скоростью прорастания.

В условиях лаборатории биотехнологии эмпирическим путем определяли время поверхностной стерилизации, которое зависело от процента жизнеспособных регенерантов. Использование препарата «Лизоформин 3000» позволило получить максимальный выход стерильных эксплантов *H. grandiflorum*. Оптимальным режимом стерилизации

является 10%-ный раствор «Лизоформин 3000» в течение 5 мин. В данном случае был получен самый большой процент стерильных эксплантов – 60% (рис. 2).

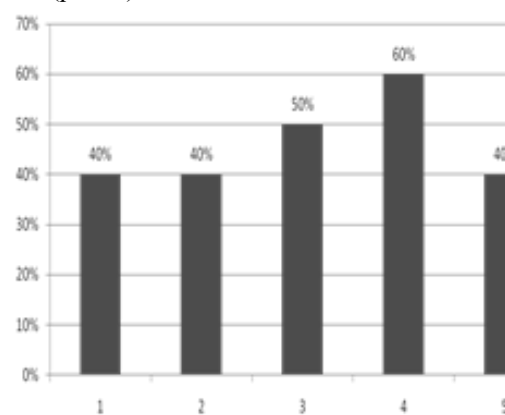


Рис. 2. Выход жизнеспособных эксплантов *H. grandiflorum* в зависимости от режима стерилизации:

1 – контроль, дистиллированная вода; 2 – Белизна 20%-ная, 5 мин.; 3 – Белизна 20%-ная, 7 мин.; 4 – «Лизоформин 3000» 10%-ный, 5 мин.; 5 – «Лизоформин 3000» 10%-ный, 7 мин.

При увеличении времени стерилизации увеличивался процент стерильных, но повышался процент непрорастающих семян и растягивались сроки прорастания.

Также были исследованы всхожесть и динамика прорастания в зависимости от состава питательной среды.

Для изучения семенного размножения копеечника крупноцветкового был заложен эксперимент по проращиванию семян на питательной среде (рис. 3).

Семена на жидкой питательной среде начали прорастать на 9-й день после введения в культуру *in vitro*, тогда как на агаризованной – на 10-й день. Кроме того, динамика прорастания семян *H. grandiflorum* на жидкой и агаризованной питательных средах отличались. Так, на 12-й день на жидкой питательной среде – 4 проростка, на агаризованной – 2; на 14-й – 5 и 3 проростка соответственно. Следует отметить, что на жидкой питательной сре-

де развивались проростки нормальной морфологии, тогда как на агаризованной среде некоторые из них имели уродства. Стерильные проростки в дальнейшем делили на фрагменты и использовали в качестве вторичных эксплантов на следующих этапах культивирования *in vitro*.

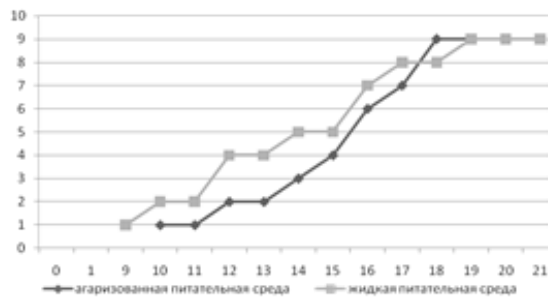


Рис. 3. Динамика прорастания семян *H. grandiflorum* на агаризованной и жидкой питательных средах МС

Таким образом, использование жидких питательных сред для проращивания семян редких видов растений, в том числе и *H. grandiflorum*, весьма перспективно.

Заключение

В результате проведенных исследований по изменчивости семян копеечника крупноцветкового исследуемых популяций, обнаружено небольшое варьирование по индексу длина-ширина, что свидетельствует о стабильности данного признака. Наличие изменчивости морфологических признаков плодов вида свидетельствует о влиянии широкого диапазона различных факторов внешней среды (район произрастания, сообщество, субстрат, антропогенные воздействия и т. д.).

Для интродукционных исследований рекомендуется использовать только семенной материал, так как в условиях культивирования *H. grandiflorum* проходит неполный онтогенез (нет постгенеративного периода): вегетирует, цветет, плодоносит и отмирает на генеративной стадии развития, как правило, уже в конце первого года. Посев следует производить в осенний период для прохождения семенами естественной стратификации.

В результате исследований по стерилизации семян при введении в культуру *in vitro* установлено влияние режимов стерилизации на сроки прорастания. Так, при увеличении времени стерилизации увеличивался процент стерильных семян, но повышался процент непрорастающих и растягивались сроки прорастания. Экспериментально был подобран оптимальный режим стерилизации семян копеечника крупноцветкового – 10%-ный раствор «Лизоформин 3000» в течение 5 мин., процент стерильных эксплантов достигал 60%.

Разработанные приемы получения растений-регенерантов в культуре изолированных тканей могут быть использованы для сохранения генофонда редких видов копеечников в коллекциях *in vitro*.

Библиографический список

- Андреев Л.Н., Горбунов Ю.Н. Сохранение редких и исчезающих растений *ex situ*: достижения и проблемы // Изучение и охрана разнообразия фауны, флоры и основных экосистем Евразии: материалы междунар. конф. М., 2000. С. 19–23.
- Белолипов И.В. О сохранении и размножении редких, реликтовых, эндемичных видов растений природной флоры Средней Азии на примере интродукционных работ ботанического сада АН УзССР // Узбекский биологический журнал. 1974. № 1. С. 34–37.
- Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе: учеб. пособие. М.: ФБК-Пресс, 1999. 160 с.
- Вечернина Н.А. Сохранение биологического разнообразия редких, исчезающих видов, уникальных форм и сортов растений методами биотехнологии: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Барнаул, 2006. 33 с.
- Ильина В.Н. Перспективы интродукции некоторых видов семейства бобовые в связи с особенностями начальных периодов онтогенеза // Самарский научный вестник. 2013. № 3 (4). С. 44–47.
- Красная книга Волгоградской области. Воронеж: Издат-Принт, 2017. Т. 2. Растения и другие организмы. 268 с.
- Кузнецова М.Н. Семенное воспроизведение копеечника крупноцветкового (*Hedysarum grandiflorum* Pall.) // Современные проблемы морфологии и репродуктивной биологии семенных растений: материалы междунар. конф. Ульяновск, 2008. С. 76–84.
- Лаврентьев М.В. Характеристика репродуктивных особенностей *Hedysarum grandiflorum* (Fabaceae) в южной части приволжской возвышенности // Бюллетень Ботанического сада Саратовского государственного университета. 2016. Т. 14, вып. 2. С. 35–43.
- Лукоцина А.В. Растительный покров Волгоградской области как источник растений для интродукции: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2005. 24 с.
- Малаева Е.В. Сохранение редких видов растений в коллекции *in vitro* Волгоградского регионального ботанического сада // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии. 2019. № 18. С. 606–610.
- Малаева Е.В., Супрун Н.А. Изучение и сохранение редких видов растений в Волгоградском региональном ботаническом саду // Ботаника в современном мире: тр. XIV Съезда РБО. Махачкала: Алеф, 2018. Т. 2. С. 283–285.

- Молканова О.И. Использование биотехнологических методов для размножения и сохранения редких видов растений // Бюллетень Главного ботанического сада. 2017. № 1(203). С. 42–48.
- Николаева М.Г., Разумова М.В., Гладкова В.Н. Справочник по проращиванию покоящихся семян. Л.: Наука, 1985. 348 с.
- Попцов А.В. Биология твердосемянности. М.: Наука, 1976. 157 с.
- Прилико Л.И. Задачи ботанических садов в сохранении редких и исчезающих видов растений местной природной флоры // Бюллетень Главного ботанического сада. 1980. Вып. 118. С. 3–8.
- Скворцов А.К. Перспективы и задачи изучения и культивирования редких и исчезающих видов природной флоры СССР // Редкие и исчезающие виды природной флоры СССР, культивируемые в ботанических садах и других интродукционных центрах страны. М.: Наука, 1983. С. 15–21.
- Стратегия ботанических садов России по сохранению биологического разнообразия растений. М.: Красная Звезда, 2003. 32 с.
- Супрун Н.А. Копеечники (*Hedysarum* L.) Нижнего Поволжья (изменчивость и систематика): автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2014. 22 с.
- Тихомиров В.Н. Культивирование редких и исчезающих видов растений в ботанических садах как один из методов охраны генофонда флоры // Особенности развития редких растений при культивировании в центре европейской части СССР. М., 1986. С. 4–7.
- Benson E.E. et al. In vitro micropropagation of *Primula scotica*: a rare Scottish plant // Biodiversity and conservation. 2000. Vol. 9. P. 711–726.
- Davy A.J., Jefferies R.L. Approaches to the monitoring of rare plant populations // Biol. aspects rare plant conserv. Proc. Intern. Conf. Cambridge, 1981. P. 219–232.
- Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Phsiol. plant. 1962. Vol. 15, № 3. P. 473–497.
- References**
- Andreev L.N., Gorbunov Yu.N. [Conservation of rare and endangered plants ex situ: achievements and challenges]. *Izučenie i ochrana raznoobrazija fauny, flory i osnovnykh ekosistem Evrazii* [Study and protection diversity of fauna, flora and main ecosystems of Eurasia]. Moscow, 2000, pp. 19–23. (In Russ.).
- Belolipov I.V. [Preservation and reproduction of rare, relict, endemic plant species of the natural flora of Central Asia for example of introduction in botanical garden of the Academy of Sciences Uzbek SSR] *Uzbekskij biologičeskij žurnal*. N 1 (1974): pp. 34–37. (In Russ.).
- Butenko R.G. *Biologija kletok vysšich rastenij in vitro i bioteknologii na ich osnove* [Cell biology of higher plants in vitro and biotechnology. Textbook]. Moscow, FBK-Press Publ., 1999. 160 p. (In Russ.).
- Vechernina N.A. *Sochranenie biologičeskogo raznoobrazija redkich, isčezajusščich vidov, unikal'nych form i sortov rastenij metodami bioteknologii*. Avnoref. diss. doct. nauk [Conservation biological diversity of rare, endangered species, forms and varieties using biotechnology methods. Abstract of Doctor's degree dissertation]. Barnaul, 2006. 33 p. (In Russ.).
- Strategija botaničeskich sadov Rossii po sochraneniju biologičeskogo raznoobrazija rastenij* [The Strategy of Russian Botanical Gardens in the Conservation of Plants' Biological Diversity]. Moscow, Krasnaya Zvezda Publ., 2003. 32 p. (In Russ.).
- Il'ina V.N. [Prospects for the introduction of some species of Leguminous plants due to the peculiarities of the initial period ontogenesis] *Izvestija Samarskogo naučnogo centra RAN*. N 3(4) (2013): pp. 44–47. (In Russ.).
- Baranova O.G., Sagalaeva V.A., eds. *Krasnaja kniga Volgogradskoj oblasti. T.2. Rastenija i drugie organizmy* [The Red Book of the Volgograd Region]. Voronezh, Izdat-Print Publ., 2017. 268 p. (In Russ.).
- Kuznetsova M.N. [Seed reproduction (*Hedysarum grandiflorum* Pall)]. *Sovremennye problemy morfologii i reproduktivnoj biologii semennykh rastenij* [Modern problems of morphology and reproductive biology of seed plants. Materials of the international conference]. Ul'ianovsk, 2008, pp. 76–84. (In Russ.).
- Lavrent'ev M.V. [Characteristics of reproductive features *Hedysarum grandiflorum* (Fabaceae) in southern of the Volga Uplands]. *Bjulleten' Botaničeskogo sada Saratovskogo gosudarstvennogo universiteta*. V. 14, Iss. 2 (2016): pp. 35–43. (In Russ.).
- Lukonina A.V. *Rastitel'nyj pokrov Volgogradskoj oblasti kak istočnik rastenij dlja introdukcii*. Avtoref. dis. kand. biol. nauk [Vegetation cover of the Volgograd region as a source of plants for introduction. Abstract of Ph. D.]. Moscow, 2005. 24 p.
- Malaeva E.V., Suprun N.A. [Research and conservation rare plant species in Volgograd Regional Botanical Garden]. *Botanika v sovremennom mire. Trudy XIV S'ezda Russkogo botanicheskogo obščestva*. [Botany in the modern world. Proceedings of the XIV Congress of the Russian Botanical Society]. Mahachkala, ALEF Publ., 2018, V. 2, pp. 283–285. (In Russ.).
- Malaeva E.V. [Conservation of rare species plant in vitro collection of Volgograd regional botanical garden] *Problemy botaniki Južnoj Sibiri i Mongolii*. N 18 (2019): pp. 606–610. (In Russ.).
- Molkanova O.I. [Application of biotechnological methods for the purpose of rare plant species propagation and conservation]. *Bjulleten' Glavnogo botaničeskogo sada*. N 1(203) (2017): pp. 42–48. (In Russ.).
- Nikolaeva M.G., Razumova M.V., Gladkova V.N. *Spravočnik po proraščivaniju pokojaščichsja*

- semjan. [Guide to germination of dormant seeds]. Leningrad, Nauka Publ., 1985. 348 p. (In Russ.).
- Poptsov A.V. *Biologija tverdosemjannosti* [Biology of seed hardness]. Moscow, Nauka Publ., 1976. 157 p. (In Russ.).
- Prilipko L.I. [Tasks of botanical gardens in the preservation of rare and endangered plant species of local natural flora]. *Bjulleten' Glavnogo botaničeskogo sada*. Iss. 118 (1980): pp. 3-8. (In Russ.).
- Skvortsov A.K. [Prospects and tasks of studying and cultivating rare and endangered species of natural flora of the USSR]. *Redkie i isčezajuščie vidy prirodnoj flory SSSR, kul'tiviruemye v botaničeskich sadach i drugih introdukcionnyh centrach strany* [Rare and endangered species of natural flora USSR, cultivated in botanical gardens and other introduction centers of the country]. Moscow, Nauka Publ., 1983, pp. 15-21. (In Russ.).
- Suprun N.A. *Kopečniki (Hedysarum L.) Nižnego Povolž'ia (izmenčivost' i sistematika)*. Avtoref. dis. kand. biol. nauk [Hedysarum L. of Lower Volga region (variability and taxonomy Abstract of Ph. D.)]. Moscow, 2014. 22 p. (In Russ.).
- Tikhomirov V.N. [Cultivation of rare and endangered plant species in botanical gardens as one of the methods of protecting the gene pool of flora]. *Osobennosti razvitija redkich rastenij pri kul'tivirovanii v centre evropejskoj časti SSSR* [Features development of rare plants during cultivation in the center of European part USSR]. Moscow, 1986, pp. 4-7. (In Russ.).
- Benson E.E., Danaher J.E., Pimbley I.M. et al. In vitro micropropagation of *Primula scotica*: a rare Scottish plant. *Biodiversity and conservation*. V. 9 (2000): pp. 711-726.
- Davy A.J., Jefferies R.L. Approaches to the monitoring of rare plant populations. In: Biological aspects rare plant conservation. Proc. Intern. Conf. Cambridge, 1981, pp. 219-232.
- Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*. V. 15, N 3 (1962): pp. 473-497.

Поступила в редакцию 22.09.2020

Об авторах

Супрун Наталья Александровна, кандидат биологических наук, начальник научного отдела ГБУ ВО «Волгоградский региональный ботанический сад»
ORCID: 0000-0003-4334-3751
400007, Волгоград, пос. Metallургов, 68;
n.suprun@mail.ru; (442) 273937

Малаева Елена Викторовна, кандидат биологических наук, заместитель директора ГБУ ВО «Волгоградский региональный ботанический сад»
ORCID: 0000-0002-9285-3830
400007, Волгоград, пос. Metallургов, 68;
e.malaeva@mail.ru; (442) 273937

Шумихин Сергей Анатольевич, кандидат биологических наук, директор Учебного ботанического сада ФГБОУВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»
ORCID: 0000-0001-9428-2800
614990, Пермь, ул. Букирева, 15; botgard@psu.ru; (342)2396346

Информация для цитирования:

Супрун Н.А., Малаева Е.В., Шумихин С.А. Особенности семенного размножения *Hedysarum grandiflorum* Pall. ex situ и in vitro // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2020. Вып. 4. С. 286–293. DOI: 10.17072/1994-9952-2020-4-286-293.

Suprun N.A., Malaeva E.V., Shumikhin S.A. [Features seed reproduction of *Hedysarum grandiflorum* Pall. ex situ and in vitro]. *Vestnik Permskogo universiteta. Biologija*. Iss. 4 (2020): pp. 286-293. (In Russ.). DOI: 10.17072/1994-9952-2020-4-286-293.

About the authors

Suprun Natalia Aleksandrovna, candidate of biology, head of scientific department Volgograd Regional Botanical Garden.
ORCID: 0000-0003-4334-3751
400007, Metallurgov set., 68, Volgograd, Russia;
n.suprun@mail.ru; (442) 273937

Malaeva Elena Victorovna, candidate of biology, deputy director Volgograd Regional Botanical Garden.
ORCID: 0000-0002-9285-3830
400007, Metallurgov set., 68, Volgograd, Russia;
e.malaeva@mail.ru; (442) 273937

Shumikhin Sergei Anatol'evich, candidate of biology, director of Botanical Garden Perm State University.
ORCID: 0000-0001-9428-2800
15, Bukirev str., Perm, Russia, 614990;
botgard@psu.ru; (342)2396346

