

УДК 581.143.6

DOI: 10.36305/0513-1634-2020-137-67-75

**РАЗМНОЖЕНИЕ *IN VITRO* КАК ОДИН ИЗ ПЕРСПЕКТИВНЫХ СПОСОБОВ  
СОХРАНЕНИЯ ВИДА *COTONEASTER MELANOCARPUS* FISCH. EX. BLYTT.**

**Мария Вячеславовна Серафимович<sup>1,2</sup>, Виталий Юрьевич Кириллов<sup>1</sup>,  
Тамара Николаевна Стихарева<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Товарищество с ограниченной ответственностью «Казахский научно-исследовательский институт лесного хозяйства и агролесомелиорации им. А.Н. Букейхана», 021704, Казахстан, г. Щучинск, ул. Кирова, 58

E-mail: vitaliy.kirillov.82@mail.ru

<sup>2</sup>Национальный исследовательский Томский государственный университет, 634050, Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36  
E-mail: vitaliy.kirillov.82@mail.ru

В статье приведены условия размножения *in vitro* для других видов рода Кизильник, изученные в разное время учеными из Франции, Кореи, Китая, России и Ирака. Показано, что применение различных типов эксплантов, режимов стерилизации, питательных сред, регуляторов роста растений влияет на особенности морфо- и ризогенеза кизильников в культуре *in vitro*. Данный обзор может послужить основой для разработки способа микроклонального размножения кизильника черноплодного, что позволит сохранить его генофонд и получить растительный материал для практического применения.

**Ключевые слова:** *Cotoneaster melanocarpus* Fischer ex Blytt; редкий вид; микроклональное размножение; эксплант; питательная среда; фитогормоны

### **Введение**

Среди основных экологических проблем современности особое место занимает сокращение биологического разнообразия, которое в большей степени происходит под воздействием антропогенных факторов. К сокращающимся в численности видам относятся многие дикорастущие хозяйственно-ценные растения, нерациональное использование которых может привести к истощению их естественных популяций и угрозе исчезновения. В Казахстане одним из таких видов является кизильник черноплодный, ценность которого обуславливается декоративными, лечебными и другими полезными свойствами.

Кизильник черноплодный (*Cotoneaster melanocarpus* Fischer ex Blytt) относится к ряду *Melanacarpae* A. Rejark секции *Orthopetalum* Koehne, Dendr. рода Кизильник (*Cotoneaster* Medik.) семейства Розоцветные (Rosaceae Juss.) [7]. Представляет собой неколючий листопадный кустарник высотой до 2,0 м (рис. 1). Крона раскидистая, не густая. Листья яйцевидные или эллиптические, при основании округлые, на верхушке острые или выемчатые, сверху зелёные, слабо волосистые, реже голые, снизу беловато-войлочные. Цветки в пазушных поникающих кистях или щитковидных метелках, со слабо опушенной или войлочной осью. Лепестки прямые, розоватые, красноватые или красно-белые, округлые. Плоды незрелые буровато-красные, позже черные с сизым налетом, обратно-яйцевидно-шаровидные, с 2-4 косточками. Цветёт в мае-июне, плодоносит в июле-сентябре. Рост быстрый. Долговечность стволов 18-20 лет. Растение начинает плодоносить каждый год с пятилетнего возраста [7, 8, 18].



**Рис. 1 Кизильник черноплодный. Казахстан, Акмолинская область, ГНПП «Бурабай», склон горы Синюха. 25 августа 2020 г. Положение (географическая точка): примерно N 52° 59' 2, E 70° 18' 7**

В широком смысле кизильник черноплодный – евроазиатский вид горно-лесостепной экологии [7]. Имеет очень широкий ареал, простирающийся от Средней Европы до Северо-Востока Китая и Монголии. Произрастает в разреженных лесах, среди кустарников, на опушках и сухих открытых склонах. Ксерофит. Олиготроф. Теневынослив. Газоустойчив [3, 8]. В природе кизильник черноплодный, обладая высокой экологической пластичностью, образует гибриды с другими видами рода, занимает различные экологические ниши. Поэтому, особи вида значительно варьируют в размерах, форме листьев и их опушенности, числе цветков, величине плода и густоте сизого налета на них. Исследования фитоценотической приуроченности кизильника черноплодного в растительности Ганзуринского кряжа показали, что Ганзуринская популяция представляет собой комплекс из сочетания трёх эколого-морфологических форм или экотипов, представляющих собой локальные ценопопуляции вида, которые имеют четкий экологический адрес и связаны с определенными растительными сообществами. С петрофитно-разнотравными степными сообществами связана наиболее ксерофильная форма кизильника черноплодного (степной экотип) высотой до 0,5-0,7 м со слабоопушенными мелкими листьями до 1,5 см длиной. В сообществе сосняка спирейно-стоповидно-осоковом отмечаются биоморфы мезоксерофитной экологии (лесной экотип) до 2,0 и более метров выс. с опушенной листовой пластинкой до 3,5-4,0 см длиной. Морошково-кизильниковым зарослям в нивальных ложбинах характерны особи ксеромезофильной формы (лесостепной экотип) 1,0-1,5 м выс. с глянцевыми листьями без опушения до 2,0-2,5 см дл. и красновато-коричневым

оттенком коры побегов, где отмечено преобладание кизильника черноплодного и нередко встречаются почти монодоминантные заросли вида [17].

Кизильник черноплодный включен в Красную Книгу Псковской и Ленинградской областей со статусом редкости 2 и 2 (V), соответственно [2, 20]. Находится под охраной в Саратовской (категория 3 (R)), Мурманской (категория 3), Нижегородской (категория 3), Ульяновской (категория 3 б), Вологодской (категория 3 а, с), Самарской (категория 5) областях и Республике Марий Эл (категория 3) [4, 9, 10, 11, 13, 14, 15]. В Красную Книгу Республики Беларусь включен как исчезающий вид (категория 2 (EN)) [12]. В Казахстане кизильник черноплодный входит в список дикорастущих редких и исчезающих растений Костанайской области, как редкий вид с сокращающейся численностью (статус – 3 (R)). Встречается небольшими группами, популяции малочисленны вследствие хозяйственного освоения территорий, вырубки лесов и низовых пожаров. Охраняется на территориях государственных памятников природы местного значения «Веренский сосновый борок», «Урочище Каменное озеро», «Насажение берёзовых и сосновых лесов у озера Боровское», «Сосняк орляковый у села Каменск-Уральское» и Наурзумского заповедника [19].

Кизильник черноплодный является высокодекоративным видом в течение всего вегетационного периода: во время облиствления, цветения, плодоношения, осенней раскраски листьев. Благодаря таким характеристикам, как густая крона, хорошее побегообразование, лёгкость восстановления после стрижки, длительное сохранение придаваемой растению формы, идеально подходит для создания топиария, плотных живых изгородей или пейзажных посадок. Стабильная декоративность, зимостойкость, неприхотливость к городским условиям и устойчивость к вредителям позволяет применять кизильник черноплодный в групповых и одиночных посадках в парках, ландшафтных насаждениях, городском озеленении. Вид пригоден для облесения каменистых склонов и создания защитных лесонасаждений (лесные ползащитные полосы, снегосборные полосы и др.) [1, 18, 22].

Кизильник черноплодный применяется в качестве лекарственного растения и имеет богатый химический состав. Ветви содержат цианогенное соединение – пруназин; листья – аскорбиновую кислоту, фенолкарбоновые кислоты и их производные: хлорогеновую и изохлорогеновую, катехины, флавоноиды (0,96%), антоцианы (9,5%), некоторое количество гликозидов; плоды – флавоноиды, аскорбиновую кислоту, антоцианы: 3-моноглюкозид цианидина (9,5%), 3-рутинозид цианидина. Кора, почки, листья и цветки кизильника черноплодного обладают антибактериальными свойствами. Отвар и настой ветвей с листьями и незрелыми плодами применяют при желтухе и других заболеваниях печени, а также острым и хроническом гастрите, гастроэнтерите, неврастении, лихорадке и отеках. В Якутии смола ветвей после сухой перегонки применяется при экземах и чесотке. Плоды кизильника черноплодного являются съедобными и обладают протистостатическими и седативными свойствами. В тибетской медицине плоды применяют при дизентерии, сепсисе и других инфекционных заболеваниях; в монгольской медицине и у народов советского Дальнего востока – при диарее, дизентерии, метеоризме. Является ранневесенним медоносом [23, 24].

Экстракт, полученный из семян кизильника черноплодного, разбавленный в 100 раз, обладает ингибирующим эффектом и понижает всхожесть семян пшеницы при температуре замачивания 23,0°C [6]. Экстракт из корней кизильника черноплодного имеет интенсивную окраску и может быть применен для окрашивания пищевых продуктов, а также было выявлено, что данный экстракт не токсичен [16].

В тоже время размножается кизильник черноплодный сложно как семенным, так и вегетативным способами. У его семян комбинированный тип покоя, они прорастают

на 2-й или даже на 3-й год после посева, что в первую очередь связано с их твердосемянностью, низкой жизнеспособностью и слабым прорастанием. Для повышения всхожести семян требуется длительная стратификация, которая составляет 10-24 месяцев, и сложная предпосевная обработка, в качестве которой используются импакция, скарификация, обработка серной кислотой или ошпаривание кипятком. Выявлено, что у кизильника черноплодного низкая доля полностью созревших семян обусловлена растянутостью фаз бутонизации и цветения, которые завершаются в сентябре, поэтому завязавшиеся во второй половине лета плоды не вызревают до наступления холодов. При размножении зелеными черенками отмечается очень низкий выход саженцев и их медленное развитие, поэтому кизильник черноплодный относится к трудноукореняемым видам. Степень укоренения черенков, полученных из базальной части побега, составляла  $15,33 \pm 18,5\%$ , из средней части –  $10,41 \pm 6,7\%$ , из апикальной –  $23,24 \pm 18,5\%$  [21, 22, 23].

Перспективным методом размножения и сохранения данного хозяйственно-ценного вида может стать микроклональное размножение растений. Оно считается наиболее надежным с точки зрения генетической стабильности размножаемых форм и за достаточно короткий срок позволяет получить высокий коэффициент размножения даже от видов, которые трудно или совсем не размножаются вегетативно, или имеют низкую жизнеспособность, или семенную продуктивность [27, 31]. Однако в мировой литературе отсутствуют работы по размножению в культуре *in vitro* кизильника черноплодного, но имеются публикации, свидетельствующие об успешном применении микроклонального размножения для сохранения других видов рода Кизильник (*Cotoneaster* Medik.), анализ и обобщение которых могут служить основой для разработки способа размножения *in vitro* и сохранения кизильника черноплодного.

В середине 90-х годов XX века французские ученые изучили условия микроклонального размножения пяти генотипов рода Кизильник – *Cotoneaster franchetii* Bois. (CF), *C. dammeri* var. 'radicans' Schneid. (CDR), *C. dammeri* 'Skogholm' (CS), *C. dammeri* 'Eichholz №1' (CE) и *C. dammeri* 'Streib's Findling' (CSF). Для ввода в культуру *in vitro* в качестве эксплантов использовались апексы терминальных и латеральных почек, включающие конус нарастания и максимум 3 листовых примордия. Стерилизация почек проводилась двумя способами: при первом поочередно применялись 70% этиловый спирт, раствором  $\text{NaClO}$  (2,5%  $\text{Cl}_2$ ) + 0,5% Твин-80 и 0,5% раствор лимонной кислоты; при втором – 0,1% раствор  $\text{HgCl}_2$  и 0,005% раствор лимонной кислоты. Эффективность стерилизации зависела от генотипа растений. Наибольший процент асептических эксплантов у CDR (66%), CE (62%) и CSF (50%) наблюдался на первом варианте стерилизации с применением  $\text{NaClO}$ , у CF (72,0%) и CS (57%) – на втором варианте с  $\text{HgCl}_2$ . Для клонирования *in vitro* генотипов кизильника испытывались варианты питательной среды Мурасиге и Скуга (MS) [29], дополненные 6-бензиламинопурином (6-БАП), 3-индолилмасляной кислотой (ИМК) и гибберелловой кислотой (ГК<sub>3</sub>) в различных сочетаниях и концентрациях, и питательная среда MS без фитогормонов, в качестве контроля. В начале культивирования рост 3-х генотипов был быстрым (CDR, CS, CSF), в то время как другим требовался более длительный период (CE – 1 мес.; CF – 3 мес.). При этом безгормональная питательная среда ингибировала рост и развитие эксплантов по сравнению со средами, содержащими фитогормоны. После 6 субкультивирований все генотипы полностью адаптировались к условиям *in vitro*. Для мультипликации побегов оптимальными являлись питательная среда MS, дополненная 1,0 мг/л 6-БАП (CF – 4,5 побегов на эксплант; CDR – 11,4 побегов на эксплант; CSF – 2,3 побегов на эксплант), и питательная среда MS, содержащая 1,0 мг/л 6-БАП + 0,1 мг/л ИМК + 0,1 мг/л ГК<sub>3</sub> (CE – 5,1 побегов на эксплант; CS – 9,1 побегов на эксплант). На этапе ризогенеза

применялась  $\frac{1}{2}$  по составу питательная среда MS, дополненная  $\alpha$ -нафтилуксусной кислотой (НУК) и ИМК. У всех генотипов высокая концентрация ауксинов (3,0 мг/л) приводила к укоренению эксплантов в течение 4 недель вместо 6 недель при низких концентрациях (0,5 и 1,0 мг/л) данных фитогормонов в питательной среде. Наилучшим ауксином для укоренения эксплантов генотипа CF была ИМК, CS и CE – НУК. Однако, прямое укоренение микропобегов *in vivo* на субстрате из смеси торфа, перлита и удобрения показало лучшие результаты, по сравнению с укоренением *in vitro*. После 6 недель культивирования на контрольном варианте, где базальная часть эксплантов не обрабатывалась стимуляторами роста, доля укорененных микрорастений составила у CF – 96%, CDR – 82%, CE – 98%, CS – 92%. У генотипа CSF укоренение *in vivo* было наиболее успешным (100%) при обработке основания эксплантов ИМК-талком с концентрацией в нем ИМК 0,05% и 0,1% [28].

Корейскими исследователями в 2011 году была разработана эффективная методика размножения *in vitro* кизильника Вильсона (*Cotoneaster wilsonii* Nakai) – редкого эндемичного вида острова Улнунг у восточного побережья корейского полуострова. Для ввода в культуру *in vitro* молодые побеги, собранные с дикорастущих растений, промывались проточной водой и замачивались в 0,1% растворе типолола. Далее в асептических условиях побеги последовательно стерилизовались в 70,0% этаноле, 5,0% гипохлорите натрия и 0,1% хлориде ртути. Для удаления избытка воды побеги помещались на стерильную фильтровальную бумагу и разрезались на нодальные и апикальные сегменты размером 0,5-1,0 см. Экспланты культивировались на питательной среде MS, дополненной цитокининами – 2-изопентиладенином (2iP), 6-БАП, и тидиазурином (ТДЗ) концентрацией 0-2,0 мг/л, отдельно и в сочетании с 0,1 мг/л НУК. Наилучшие результаты наблюдались при использовании в качестве эксплантов нодальных сегментов, которые культивировались в течение 4 недель на питательной среде MS, дополненной 0,5 мг/л ТДЗ и 0,1 мг/л НУК, где индукция побегов составляла 100%, коэффициент пролиферации пазушных побегов – 34 побегов на эксплант. Увеличение концентрации ТДЗ (1,0 и 2,0 мг/л) отрицательно влияло на рост и развитие эксплантов, так как приводило к формированию каллуса у их основания и витрификации побегов. Увеличение коэффициента мультипликации наблюдалось в течение 3-х последовательных пассажей на безгормональной питательной среде MS, после чего формировались гипергидрированные побеги. Проблема стекловидности была решена путем добавления в питательную среду MS 50 или 100 мг/л кремния (Si), что снизило процент гипергидрированных побегов до 36,4% и 14% соответственно, по сравнению с контролем (78,6%). Успешная элонгация побегов наблюдалась на питательной среде MS без фитогормонов в течение 3-х недель. Наилучшему укоренению *in vitro* побегов способствовала  $\frac{1}{2}$  питательная среда MS, содержащая 0,5 мг/л ИМК: индукция корней – 100%, среднее количество корней в побеге – 4,2, средняя длина корней 5,6 см. Высокая концентрация ИМК (2,0 мг/л) ингибировала процесс ризогенеза и приводила к образованию каллуса у основания побегов. Полученные *in vitro* растения кизильника Вильсона успешно акклиматизировались в теплице с 98% приживаемостью [30].

Китайскими учеными проведены исследования по микроклональному размножению кизильника самшитовидного (*Cotoneaster buxifolius* Baker). Эксплантами служили стеблевые сегменты с одной почкой. Наилучшей питательной средой для ввода эксплантов в культуру *in vitro* была  $\frac{1}{2}$  MS с добавлением 1,0 мг/л 6-БАП и 0,1 мг/л ИМК, где у 100% почек наблюдался рост и развитие. Пролиферация была максимальной на питательной среде MS, содержащей 1,5 мг/л 6-БАП и 0,1 мг/л ИМК, и составила в среднем 5,2 побегов на эксплант. Эффективной для укоренения *in vitro*

являлась  $\frac{1}{2}$  по составу питательная среда MS, дополненная 2,0 мг/л ИМК и 0,5 мг/л НУК, на которой укоренилось 89,3% эксплантов за 28 дней [25].

В 2012 году российскими учеными в культуру *in vitro* был введен кизильник Даммера (*Cotoneaster dammerii* С.К. Schneid.). Типом первичного экспланта служил стеблевой сегмент, содержащий пазушную или апикальную почку. Для получения асептической культуры были испытаны 2 варианта поверхностной стерилизации. В первом случае экспланты помещались в раствор отбеливателя «Белизна» в стерильной дистиллированной воде в соотношении 1:3 соответственно, во втором – использовался 4% раствор «Белизны», содержащий 0,04% мертиолята. В результате, после двух недель культивирования, меньшая концентрация хлорсодержащего агента и мертиолята в обеззараживающем растворе способствовали лучшему избавлению от инфекции (69,0% жизнеспособных эксплантов), по сравнению с вариантом, содержащим только «Белизну» в высокой концентрации (7% жизнеспособных эксплантов). Для образования регенерантов экспланты культивировались на половинной по макросолевному составу среде WPM, дополненной 0,2 мг/л 6-БАП и 0,1 мг/л ГК<sub>3</sub>. Регенеранты, выросшие из меристемы почек для предотвращения эндогенной инфекции пересаживались на свежие среды каждую неделю. На питательной среде с добавлением 0,2 мг/л 6-БАП и 0,1 мг/л ГК<sub>3</sub> наблюдалось развитие адвентивных медленнорастущих побегов, а на безгормональной  $\frac{1}{2}$  MS – активный рост апикальной меристемы главного побега экспланта, что приводило к образованию вытянутого растения с хорошо развитыми листьями. После трех недель культивирования на описанных средах было получено необходимое количество эксплантов для реализации следующего этапа. Для индукции ризогенеза микрорастения пересаживались на питательную среду  $\frac{1}{2}$  WPM, содержащую 3,0 мг/л ИУК и питательную среду  $\frac{1}{2}$  WPM с добавлением 5,0 мг/л ИУК. Через две недели у 5% побегов первого и 30% второго варианта образовались и развились корни. Укоренившиеся *in vitro* растения успешно адаптировались в закрытом грунте – прозрачных пластиковых контейнерах с песком, прогревом в микроволновой печи 30 минут, и были пригодны для высадки в питомники, на открытые земельные участки [5].

Исследователи из Ирака в 2014 году изучили особенности ризогенеза кизильника острого (*Cotoneaster acuminatus* Lindl.) в культуре *in vitro*. Для этого с взрослых кустарников были взяты ветки длиной 10,0 см в зимний (декабрь) и весенний (апрель) периоды. Ветки промывались водопроводной водой и моющим средством, затем в ламинарном боксе разрезались на части длиной 1,5 см и последовательно стерилизовались 70% этиловым спиртом и 0,1% хлоридом ртути (HgCl<sub>2</sub>). По окончании стерилизации экспланты укорачивались до 1,0 см длиной. Для стимулирования прямого укоренения *in vitro* экспланты культивировались на питательных средах Гамборга и Эвелега (B5) [26], WPM, MS, дополненных ИМК и НУК концентрацией 0,1 и 0,5 мг/л, и без фитогормонов. Результаты показали, что экспланты кизильника острого, собранные зимой, не укоренялись в отличие от эксплантов, собранных в весенний период, однако рост и развитие наблюдалось у обоих типов эксплантов. Максимальные показатели укоренения были получены в течение 22 дней на питательной среде WPM, содержащей 0,1 мг/л ИМК, 5,62 шт. в среднем составило количество корней на эксплант, 4,42 см – средняя длина корней. Для пролиферации эксплантов весеннего сбора наилучшей была питательная среда WPM, дополненная 0,5 мг/л ИМК, которая в среднем стимулировала формирование 3,0 побегов на эксплант длиной 3,37 см с 13,87 листьями [32].

Таким образом, проанализировав и обобщив протоколы микроклонального размножения различных видов рода Кизильник, выявлено, что в качестве эксплантов для ввода в культуру *in vitro* использовались апексы терминальных и латеральных

почек, нодальные и апикальные сегменты стебля, содержащие пазушную или верхушечную почку. Для получения асептической культуры основными стерилизующими агентами служили 70% этанол, 0,1% раствор хлорида ртути, 2,5% и 5% растворы гипохлорита натрия. Культивирование кизильников на разных этапах размножения *in vitro* проводилось на питательных средах MS, WPM и B5, при этом для укоренения применялись среды с половинным содержанием макроэлементов. Для стимулирования пролиферации и мультипликации побегов на эксплантах испытывались цитокинины (6-БАП, 2iP, ТДЗ), гиббереллины (ГК<sub>3</sub>) и ауксины (ИМК, НУК) в различных сочетаниях и концентрациях, для индукции ризогенеза – ауксины (НУК, ИМК, ИУК). Проблема стекловидности побегов кизильника Вильсона была решена путем добавления в питательную среду кремния (Si). Экспланты кизильника острого, собранные весной, можно укоренить на первом этапе размножения *in vitro*.

### Выводы

Была показана возможность прямого укоренения *in vivo* микропобегов пяти генотипов рода Кизильник на субстрате из смеси торфа, перлита и удобрения, минуя стадию укоренения *in vitro*. Данный обзор может послужить основой для разработки способа микроклонального размножения кизильника черноплодного, что позволит сохранить его генофонд и получить растительный материал для практического применения.

### Список литературы

1. Абджунушева Т.Б. Оценка разнообразия кизильников в ботаническом саду им. Э. Гареева НАН КР // Вестник Кыргызского национального аграрного университета. – 2011. – № 2 (20). – С. 46-48.
2. Александров Ю.В., Антипова Л.Ф., Борисов В.В., Истомин А.В., Урядова Л.П., Истомина Н.Б., Конечная Г.Ю., Кораблёв Н.П., Лихачёва О.В., Можжжина Т.Э., Недоспасова Н.В., Соколова И.Г., Судницына Д.Н., Фёдорова Е.Г., Шемякина О.А., Щёблыкина Л.С., Чистяков Д.В., Яблоков М.С. Красная книга Псковской области. – Псков, 2014. – С. 226.
3. Безезуцкий М.А., Ильин Н.С. О новом местонахождении охраняемого растения – кизильника черноплодного на территории Саратовской области // Бюллетень ботанического сада Саратовского государственного университета. – 2009. – № 8. – С. 12-13.
4. Богданов Г.А., Абрамов Н.В., Урбанавичюс Г.П., Богданова Л.Г. Красная книга Республики Марий Эл. Т. «Растения. Грибы». – Йошкар-Ола: Марийский государственный университет, 2013. – С. 135.
5. Карпеченко К.А., Землянухина О.А., Моисеева Е.В., Карпеченко Н.А., Баранова Т.В., Калаев В.Н., Вепринцев В.Н., Карпеченко И.Ю., Кондратьева А.М. Введение в культуру *in vitro* кизильника Даммера (*Cotoneaster Dammeri* С.К. Schneid.) // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 6. – С. 329-332.
6. Колесова Т.К. Приемы повышения посевных качеств семян пшеницы: автореф. дисс. канд. сельскохозяйств. наук: 06.01.09 / Якутская государственная сельскохозяйственная академия. – Якутск, 2003. – 24 с.
7. Комаров В.Л., Юзепчук С.В., Борисова А.Г., Криштофович А.Н., Лозина-Лозинская А.С., Малеев В.П., Палибин И.В., Пояркова А.И., Цинзерлинг Ю.Д. Флора СССР. Т. 9. – М., Л.: Изд-во Академии наук СССР, 1939. – 539 с.
8. Коропачинский И.Ю., Встовская Т.Н. Древесные растения Азиатской России. – Новосибирск: Академическое издательство «Гео», 2012. – 707 с.

9. Красная книга Вологодской области. Т. 2. Растения и грибы / отв. ред. Г.Ю. Конечная, Т.А. Суслова. – Вологда: ВГПУ, Изд-во «Русь», 2004. – 360 с.
10. Красная книга Мурманской области. 2-е изд.-во, перераб. и доп. / Отв. ред. Н.А. Константинова, А.С. Корякин, О.А. Макарова, В.В. Бианки. – Кемерово: Азия-принт, 2014. – С. 431-432.
11. Красная книга Нижегородской области. – Изд. 2-е. Т. 2: Сосудистые растения, моховидные, водоросли, лишайники, грибы / С.В. Бакка [и др.]; науч. ред. А.В. Чкалов. – Калининград: Издательский Дом «РОСТ-ДООАФК», 2017. – С. 84-85.
12. Красная книга Республики Беларусь: Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды дикорастущих растений / Гл. редкол.: Л.И. Хоружик, Л.М. Сушчя, В.И. Парфенов и др. – Минск: Бел Эн, 2005. – С. 109-110.
13. Красная книга Самарской области. Т. 1.: Редкие виды растений и грибов / под ред. С.А. Сенатора, С.В. Саксонова. – Самара: Изд-во Самарской государственной областной академии (Наяновой), 2017. – С. 232.
14. Красная книга Саратовской области: Грибы. Лишайники. Растения. Животные / Комитет охраны окружающей среды и природопользования Саратовской области. – Саратов: Изд-во Торгово-промышленной палаты Саратовской области, 2006. – С. 144.
15. Красная книга Ульяновской области / под научной редакцией д.б.н., проф. Е.А. Артемьевой, к.б.н. А.В. Масленникова, к.б.н. М.В. Корепова; Правительство Ульяновской области. – Москва: Изд-во «Буки Веди», 2015. – С. 202-203.
16. Мирзорахимов К.К., Икрами М.Б., Рахимова Ф.А. Биологические свойства экстрактов солодки и кизильника // Научные достижения биологии, химии, физики: матер. I междунар. научно-практической конференции. – Новосибирск: СибАК, 2011. – С. 213-218.
17. Намзалов Б.Б., Раднаева Т.Д. О роде *Cotoneaster* и особенностях фитоценотической приуроченности кизильника черноплодного в растительности Ганзуринского кряжа (Селенгинское Среднегорье, Западное Забайкалье) // Вестник Бурятского государственного университета. – 2009. – № 4. – С. 121-126.
18. Павлов Н.В. Флора Казахстана. – Т. IV. – Алма-Ата: Изд-во Академии наук Казахской ССР, 1961. – 548 с.
19. Пережогин Ю.В. Дикорастущие редкие и исчезающие растения Костанайской области. – Костанай: Костанай полиграфия, 2004. – 106 с.
20. Приказ от 11 марта 2015 г. № 21 о занесении объектов растительного мира в Красную книгу Ленинградской области / Комитет по природным ресурсам Ленинградской области, 2015. – 28 с.
21. Садохина Е.Н. Влияние сроков и технологии черенкования на укоренение черенков кизильника черноплодного (*Cotoneaster melanocarpus*) // Адаптивные технологии в растениеводстве Амурской области // Сборник научных трудов. – 2013. – Т. 9. – С. 45-49.
22. Садохина Е.Н., Козлов А.Б. Влияние сезонных ритмов развития *Cotoneaster melanocarpus* и *Viburnum sargentii* на вызревание семян в условиях юга Амурской области // Охрана и рациональное использование лесных ресурсов: матер. VIII междунар. форума. – 2015. – С. 118-123.
23. Скупченко Л.А., Пунегов А.Н., Зайнуллина К.С. Виды рода Кизильник (*Cotoneaster* Medik.) при выращивании в среднетаежной подзоне Республики Коми // Известия Коми научного центра УрО РАН. – 2016. – № 1 (25). – С. 30-36.
24. Соколов П.Д. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства *Hidrangeaceae* – *Haloragaceae*. – Ленинград: Наука, 1987. – 327 с.

25. Bi H., He J., Yang Z., Yang H., He W., Li Y. Study on Tissue Culture and Rapid Propagation of *Cotoneaster buxifolius* // Southwest China Journal of Agricultural Sciences. – 2012. – Vol. 25. – № 1. – P. 343-345.
26. Gamborg O.L., Eveleigh D.E. Culture methods and detection of glucanases in cultures of wheat and barley // Canadian Journal of Biochemistry. – 1968. – Vol. 46. – № 5. – P. 417-421.
27. Jan M. Bonga, Don Durzan (Eds.). Cell and Tissue Culture in Forestry. General Principles and Biotechnology. – Springer Netherlands, 1987. – pp. 422.
28. Monier C., Ochatt S.J. Establishing micropropagation conditions for five *Cotoneaster* genotypes // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 1995. – P. 275-281.
29. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assay with tobacco tissue cultures // Physiologia Plantarum. – 1962. – Vol. 15. – № 4. – P. 473-497.
30. Sivanesan I., Song J.Y., Hwang S.J., Jeong B.R. Micropropagation of *Cotoneaster wilsonii* Nakai – a rare endemic ornamental plant // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 2011. – № 105 (1). – P. 55-63.
31. Smith R. Plant Tissue Culture. 3rd Edition. Techniques and Experiments. – Academic Press, 2012. – pp. 208.
32. Toma R.S., Al-Mizory L.S.M., Faizy H.S. Rooting Response of *Rosa canina* and *Cotoneaster acuminatus* to Different *in vitro* Factors // American Journal of Experimental Agriculture. – 2014. – № 4 (6). – P. 724-731.

Статья поступила в редакцию 15.05.2020 г.

**Serafimovich M.V., Kirillov V.Yu., Stikhareva T.N. *In vitro* propagation as one of the promising methods of conservation of species *Cotoneaster melanocarpus* Fisch. ex. Blytt. // Bull. Of the State Nikita Botan. Gard. – 2020. – № 137. – P. 67-75**

*Cotoneaster melanocarpus* Fischer ex Blytt is rare species and included in Red Books of Russia (8 Regions) and Belarus, it is included in the list of wild rare and endangered plants of the Kostanay Region in Kazakhstan. *C. melanocarpus* is used as an ornamental, medicinal, honey-bearing plant, but it is difficult to propagate both seed and vegetative methods. Microclonal propagation of plants is a promising method of propagation and conservation of this species, but there are no researches in this direction in the world scientific literature for *C. melanocarpus*. The article presents the conditions of *in vitro* propagation for other species of the genus *Cotoneaster*, studied at different times by scientists from France, Korea, China, Russia and Iraq. It is shown how the application of various types of explants, sterilization modes, nutrient media, plant growth regulators affect on features of the morpho- and rhizogenesis of *Cotoneaster* in culture *in vitro*. This review was conducted for the first time and can serve as a basis for the development of a method for microclonal propagation of *C. melanocarpus*, which will conserve its gene pool and obtain plant material for practical use.

**Key words:** *Cotoneaster melanocarpus* Fischer ex Blytt; rare species; microclonal propagation; explant; nutrient medium; phytohormones