

УДК 582.32:58.085

СОХРАНЕНИЕ И МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ *IN VITRO* РАСТЕНИЙ АНТАРКТИКИ

Н. А. Матвеева¹

В. Б. Белокурова¹

В. А. Рудас¹

О. В. Тыщенко²

Н. В. Кучук¹

¹Институт клеточной биологии и генетической инженерии
НАН Украины, Киев

²Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко

E-mail: joyna56@gmail.com

С целью создания *in vitro* коллекции растений Антарктики оптимизированы условия поверхностной стерилизации для введения в асептическую культуру, микроразмножения и получения клеточных линий двух видов мхов — *Warnstorfia fontinaliopsis* (Mull.Hal.) Ochyra и *Sanionia georgicouncinata* (Mull.Hal.) Ochyra and Hedenas (Amblystegiaceae), а также представителя одного из двух видов цветковых растений о. Галиндез *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. (Caryophyllaceae). Создание коллекции *in vitro* даст возможность проводить системные физиологические, биохимические, молекулярно-биологические исследования растений Антарктики без ущерба для их природной популяции.

Ключевые слова: растения Антарктики, *Warnstorfia fontinaliopsis*, *Sanionia georgicouncinata*, *Colobanthus quitensis*, микроразмножение *in vitro*.

Уменьшение биоразнообразия растений — проблема общемирового масштаба. Вопрос о необходимости проведения комплекса мер по ее решению давно стал злободневным во многих странах мира, что нашло подтверждение в принятии в 1992 г. на конференции ООН по окружающей среде Конвенции о биологическом разнообразии. Основным условием сохранения биоразнообразия является поддержание и восстановление жизнеспособных популяций в естественных условиях. Вместе с тем использование современных биотехнологических методов, которые включают создание банков семян и банков клеточных культур, а также технологии выращивания и массового размножения растений в условиях *in vitro*, позволяет сохранять и всесторонне изучать редкие и ценные виды растений с наименьшими затратами.

Площадь, занимаемая растениями в Антарктике, составляет лишь 1% территории. Южная граница распространения высших растений — 64° ю.ш. на Антарктическом полуострове [1]. Высшие цветковые растения представлены видами *Deschampsia antarctica* Desv., сем. Poaceae, и *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl., сем. Caryophyllaceae [1].

Кроме того, описано около 150 видов бессудистых высших растений — мхов и печеночников [2, 3]. Эти антарктические растения представляют большой интерес для системного изучения (в частности, физиологического, химического, биохимического, молекулярно-биологического), поскольку, произрастая в условиях сурового полярного климата, приспособились к низким температурам, высокому уровню ультрафиолетового излучения и другим стрессовым абиогенным факторам.

В настоящее время в литературе нет информации о создании коллекций *in vitro* высших растений Антарктики, хотя для *D. antarctica* разработаны методы микроразмножения и регенерации в стерильной культуре. Наличие *in vitro* коллекции дает возможность круглогодично исследовать растения Антарктики без нанесения вреда природной популяции. В Институте клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины с 1993 г. проводятся работы по созданию, поддержанию и использованию коллекции зародышевой плазмы растений мировой флоры, которая состоит из двух основных частей — банка семян и банка

клеточных культур *in vitro*. В культуру *in vitro* введены представители около 2 тыс. видов из 117 семейств. Среди представленных таксономических групп в коллекции есть образцы видов, находящихся под угрозой исчезновения и внесенных в списки растений, которые охраняются в разных странах мира [4].

Разработанные методы культивирования *in vitro* конкретных видов позволяют за небольшой промежуток времени микроклональным размножением получить достаточное количество растений либо для дальнейшего перенесения в условия открытого грунта, либо для использования в молекулярно-биологических и других исследованиях. Важным преимуществом применения биотехнологических методов является возможность продолжительного хранения растительного материала в асептических условиях. Работы по созданию и поддержанию генетического банка *in vitro* выполняются в несколько этапов. Первый из них — введение растительного материала в асептическую культуру путем поверхностной стерилизации семян или частей растений. Методика стерилизации нуждается в модификации относительно каждого конкретного вида растений. На следующих этапах работы оптимизируются условия выращивания *in vitro* конкретных видов растений, что предполагает подбор состава питательных сред для культивирования растений, получения клеточных линий, изучения возможностей массовой регенерации *in vitro*.

В 2009 г. нами начата работа по созданию коллекции антарктических растений с использованием нативного материала, доставленного с о. Галиндез (Galindez, 65°15' S / 64°16' W) 14-й экспедицией Национального антарктического научного центра Министерства образования и науки Украины. Предполагается, что в эту коллекцию войдет ряд видов мхов, а также представители цветковых растений — *D. antarctica* и *C. quitensis*.

Материалы и методы

Образцы растений были отобраны в 2009 г. на о. Галиндез в районе расположения Украинской антарктической станции «Академик Вернадский» и предоставлены для исследований Национальным антарктическим научным центром Министерства образования и науки Украины.

Для введения в асептическую культуру *C. quitensis* поверхность частей стеблей длиной 10 мм, содержащих верхушечные и па-

зушные почки, обрабатывали последовательно 70%-м этанолом (30 с), раствором коммерческого препарата «Белизна» (1:3; 1:4, 1:5 1–10 мин) и промывали в стерильной дистиллированной воде (трижды по 30 мин). Экспланты культивировали в чашках Петри на агаризованной питательной среде MS с уменьшенной в 2 раза концентрацией макроэлементов и 15 г/л сахарозы (MS/2) [5] при 16-часовом световом периоде и температуре +24 °С. Растения размножали черенкованием и укореняли на той же среде.

Для введения в культуру *in vitro* мхов *Warnstorfia fontinaliopsis* и *Sanionia georgi-councinata* фрагменты гаметофитов длиной 10 мм последовательно стерилизовали в 70%-м этаноле (10 с) и в растворе препарата «Белизна» в разных разведениях (1:3, 1:4, 1:5) в течение 1–10 мин, промывали стерильной дистиллированной водой (трижды по 30 мин). Экспланты культивировали в чашках Петри на агаризованной питательной среде MS/2 при 16-часовом фотопериоде и температуре +24 °С. Растения размножали, отделяя фрагменты гаметофитов, которые выращивали на той же среде.

Образование каллусных тканей индуцировали при культивировании фрагментов стебля (*C. quitensis*) или каулидия (*W. fontinaliopsis*) длиной 5–10 мм на среде MS с 2 мг/л 2,4-дихлорфеноксисукусной кислоты (2,4-D), 0,5 мг/л α -нафтилуксусной кислоты (НУК) и 0,2 мг/л кинетина (Duchefa, Нидерланды).

Для регенерации растений *W. fontinaliopsis* использовали среду MS/2 или MS/2 без сахарозы (MS-).

Результаты и обсуждение

С о. Галиндез (рис. 1) были доставлены образцы растений *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. (сем. Caryophyllaceae), а также 10 моно- и поливидовых проб мхов (рис. 2). Определение мхов выполняли по стандартным методикам с использованием специальной литературы [2, 3, 6, 7]. В шести пробах встречалась *Warnstorfia fontinaliopsis* (Müll.Hal.) Ochyra, в трех — *Sanionia georgi-councinata* (Müll.Hal.) Ochyra & Hedenäs, а в остальных были отмечены: *Chorisodontium aciphyllum* (Hook.f. & Wilson) Broth., *Pohlia nutans* (Hedw.) Lindb., *Polytrichum cf. strictum* Brid. (фрагменты гаметофита) и *Cephaloziella varians* (Gottsche) Steph.

Наиболее изученным видом антарктических растений является *D. antarctica* и именно для этого вида разработаны методики культивирования в культуре *in vitro* [8].



Рис. 1. Одно из мест отбора материала на о. Галиндез (фото предоставлено участником антарктических экспедиций д. т. н. А. Б. Таширевым)

Что касается *C. quitensis* и мхов, которые встречаются в Антарктике, информация о получении *in vitro* каллусных тканей и регенерации растений в доступной литературе отсутствует.

C. quitensis — вид травянистых растений семейства Caryophyllaceae. Высота взрослых растений составляет 1,5–5 см, цветки белые. Ареал вида — северо-западная часть Антарктического полуострова, Южные Шетлендские и Южные Оркнейские острова, а также юг Аргентины и Чили.

Для введения в культуру *C. quitensis* поверхность эксплантов (частей стебля длиной 5–10 мм, содержащих пазушные почки) стерилизовали растворами препарата «Белизна» в разведениях 1:3, 1:4, 1:5. Время обработки составляло от 1 до 10 мин. При использовании препарата «Белизна» в концентрации, превышающей 20% (разведение 1:4), экспланты погибали; при меньшей концентрации не удавалось добиться их стерильности. Оптимальным условием успешной поверхностной стерилизации эксплантов *C. quitensis* было использование раствора «Белизна» в разведении 1:4 при времени обработки 5 мин. Из 10 эксплантов, подвергнутых процедуре поверхностной стерилизации, 5 были стерильными, а 3 выжили и продолжили развитие на питательной среде. При культивировании на безгормональной среде MS с уменьшенной в 2 раза концентрацией макроэлементов начиналось развитие пазушных почек и формирование побегов, которые укоренялись в течение 2–3 нед (рис. 3). В естественных условиях высота растений колобантуса обычно до 5 см; мак-

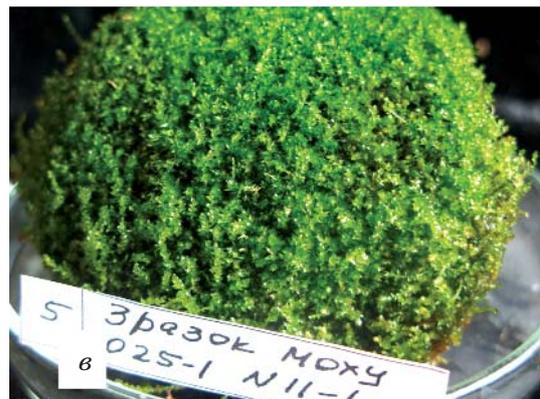
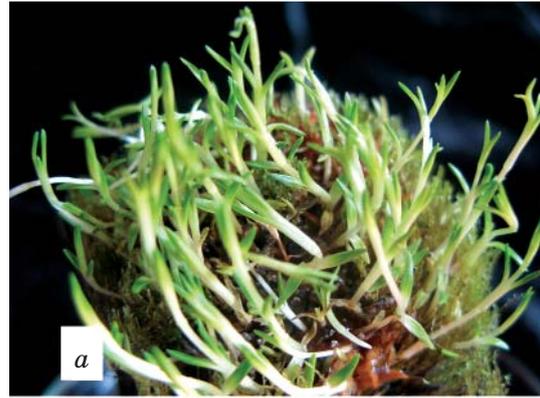


Рис. 2. Растительный материал, использованный в работе:

- а — *Colobanthus quitensis*;
- б — *Sanionia georgicouninata*;
- в — *Warnstorfia fontinaliopsis*

симальная высота растений в культуре *in vitro* составила 18–20 мм, при этом достаточно быстро наряду с главным происходило развитие пазушных побегов (рис. 3, а). Размножение растений колобантуса *in vitro* достаточно легко осуществляли черенкованием и отделением боковых побегов, которые укореняли на той же среде.

Для индукции каллусной культуры *C. quitensis* части стебля и листьев нарезали и

культивировали с использованием нескольких вариантов питательных сред, применяемых в ИКБГИ для поддержания коллекции каллусных культур представителей разных таксономических групп. Это в основном среды, содержащие минеральные компоненты по *Murashige and Skoog* [5] и различные комбинации растительных регуляторов роста (2,4-D, НУК, кинетин). Процесс каллусообразования проходил с разной эффективностью на средах разного состава. Одной из оптимальных оказалась среда, содержащая 2 мг/л 2,4-D, 0,5 мг/л НУК и 0,2 мг/л кинетина; применение ее позволило индуцировать развитие рыхлой каллусной ткани светло-желтого цвета (рис. 3, б).

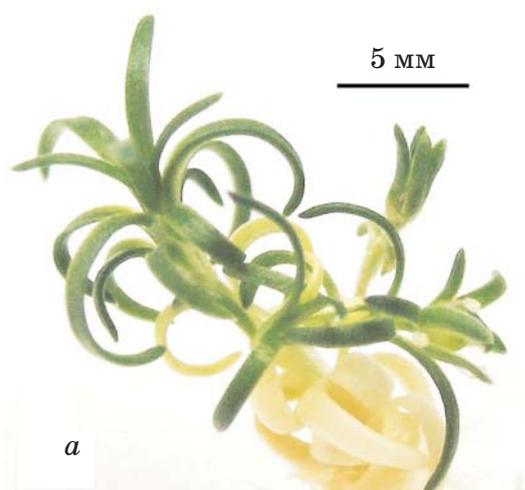


Рис. 3. *Colobanthus quitensis* в асептической культуре:

а — один из побегов, сформировавшихся на безгормональной питательной среде;

б — образование каллусной ткани на среде с 2,4-D, НУК и кинетином

Методики культивирования мхов *in vitro* разработаны достаточно давно [9–13]. Для введения мхов в культуру в качестве эксплантов могут быть использованы как споры [14–17], так и вегетативные фрагменты [14, 15]. В нашей работе в качестве исходного материала использовали фрагменты гаметофитов, что позволило исключить дополнительный этап культивирования и значительно уменьшить срок получения асептических растений. Использование такого исходного материала применительно к антарктическим мхам наиболее приемлемо, так как многие из них, например *W. fontinaliopsis*, *Ch. aciphyllum*, *P. nutans*, в условиях Антарктики стерильны [6].

Для введения в культуру *in vitro* были использованы нативные образцы мхов *W. fontinaliopsis* и *S. georgicouncinata*.

W. fontinaliopsis — циркумсубантарктический вид, который в Антарктике произрастает на переувлажненных участках, вблизи тающих снегов, ручьев, в депрессиях, и является одним из компонентов субформаций ковровых мхов. Плеврокарпный мох в природе формирует малоплотные желтоватые, зеленые или зеленовато-бурые ковры, с неравномерно перисторазветвленными каулидиями, преимущественно стелющимися или восходящими, длиной до 10 см; широкоовальными или овально-ланцетовидными вогнутыми филидиями с заостренным апексом, ровным краем, инициалами ризоидов или ризоидами на апексе и не выходящей жилкой [6, 7].

S. georgicouncinata — биполярный вид, который встречается в обоих полушариях. В условиях Антарктики имеет широкую амплитуду местопроизрастаний — чаще встречается вблизи тающих ручьев, на каменистом субстрате, формирует неплотные мягкие желто-зеленые или буроватые ковры. Плеврокарпный, с неравномерно разветвленными каулидиями длиной 2–7,5 см; преимущественно серповидно-согнутыми слабоскладчатыми филидиями с невыступающей жилкой и гиалиновыми тонкостенными ушковыми клетками. В условиях Антарктиды часто спороносит [6–7].

Для поверхностной стерилизации мхов применяли растворы препарата «Белизна» в разведениях 1:3, 1:4, 1:5. Время обработки составляло от 1 до 10 мин. Исходный материал оказался в значительной степени чувствительным как к концентрации стерилизующего раствора, так и ко времени обработки (табл.). Так, при продолжительности обработки 3–10 мин гибель эксплантов

составила 100%. В то же время при стерилизации в течение 1 мин жизнеспособными оказались до 10% эксплантов (без бактериальной или микромицетной контаминации). Таким образом, оптимальным режимом поверхностной стерилизации каулидиев стало использование препарата «Белизна» в разведении 1:5, причем время обработки не должно превышать 1 мин.

После поверхностной стерилизации экспланты культивировали на безгормональной среде MS/2 в стандартных условиях (16-часовой фотопериод, 24 °С). Рост растений начинался через 3–10 сут после стерилизации. Прирост длины каулидиев составлял до 100 мм/месяц. В течение 10–14 сут появлялись боковые побеги, а через 3–4 нед формировались «кусты» из 20–40 боковых ответвлений (рис. 4, а). Растения размножали, отделяя боковые ответвления и культивируя их на той же среде. При культивировании более 1 мес наблюдалось образование разветвленной вторичной протонемы, которая имела преимущественно позитивный геотропизм и разрасталась внутрь агаризированной среды (рис. 4, б).

Известно, что различные виды мхов в культуре *in vitro* по-разному реагируют на добавление в питательную среду источников углерода [18] и фитогормонов [19]. Для получения каллусной ткани мхов используют, например, такие комбинации регуляторов роста: 1 мг/л 2,4-D и 1 мг/л кинетина; 0,2 мг/л индолилмасляной кислоты (ИМК) и 2 мг/л БАП; 1 мг/л 2,4-D [20]; безгормональную среду MS с уменьшенным в 2 раза содержанием макро- и микроэлементов [17]. Для регенерации в качестве регуляторов роста применяют среды с 1 мг/л 2,4-D и 2 мг/л кинетина; 0,2 мг/л ИМК и 2 мг/л кинетина; 0,2 мг/л ИУК и 2 мг/л БАП [20].

В наших экспериментах рост каллусной ткани индуцировали при культивировании частей гаметофитов *W. fontinaliopsis* на среде MS с регуляторами роста: 2 мг/л 2,4-D, 0,5 мг/л ИУК и 0,2 мг/л кинетина (рис. 4). В течение 10–14 сут начинался рост вторичной протонемы, а затем в точках роста протонемы и пазухах филидиев — инициация каллуса (рис. 4, в).

Для регенерации растений из каллуса использовали безгормональную среду MS без сахарозы. В таких условиях через 7–10 сут наблюдался рост многочисленных зеленых нитей протонемы, отличающихся позитивным гелиотропизмом. Далее на протонеме образовывались почки, из которых формировались побеги высотой до 10 мм (рис. 4 д, е). Таким образом, культивирование каллусных тканей мха *W. fontinaliopsis* на среде MS без сахарозы может быть использовано для регенерации растений и для микроразмножения мха *in vitro*.

Хотя флора Антарктики изучается достаточно давно, всесторонние исследования антарктических растений представляют большой интерес. Так, до сих пор дискуссионным остается вопрос происхождения этих растений, в частности *D. antarctica*, поскольку окончательно не установлено, являются ли они аборигенами, либо занесены в Антарктиду [21, 22]. Сделано подробное описание растений *D. antarctica* и *C. quitensis* [23–25]. Изучали также мхи, которые встречаются в Антарктиде [26, 27]. Так, проводилось исследование восстановления жизнеспособности замороженных и гербарных образцов 20 видов бриофитов с Аргентинских островов во временных грунтовых культурах [28], а также *in vitro* на питательной среде BVM [29].

Зависимость выживания эксплантов мхов от времени стерилизации и концентрации стерилизующего раствора

| № | Стерилизующий раствор / время стерилизации, мин | Живые экспланты, % | |
|----|---|--------------------------|----------------------------|
| | | <i>W. fontinaliopsis</i> | <i>S. georgicouncinata</i> |
| 1 | «Белизна» 1:3 / 1 мин | 0 | 0 |
| 2 | «Белизна» 1:3 / 3 мин | 0 | 0 |
| 3 | «Белизна» 1:3 / 5 мин | 0 | 0 |
| 4 | «Белизна» 1:4 / 1 мин | 0 | 0 |
| 5 | «Белизна» 1:4 / 3 мин | 0 | 0 |
| 6 | «Белизна» 1:4 / 5 мин | 0 | 0 |
| 7 | «Белизна» 1:5 / 1 мин | 10 | 5 |
| 8 | «Белизна» 1:5 / 3 мин | 0 | 0 |
| 9 | «Белизна» 1:5 / 5 мин | 0 | 0 |
| 10 | «Белизна» 1:5 / 10 мин | 0 | 0 |

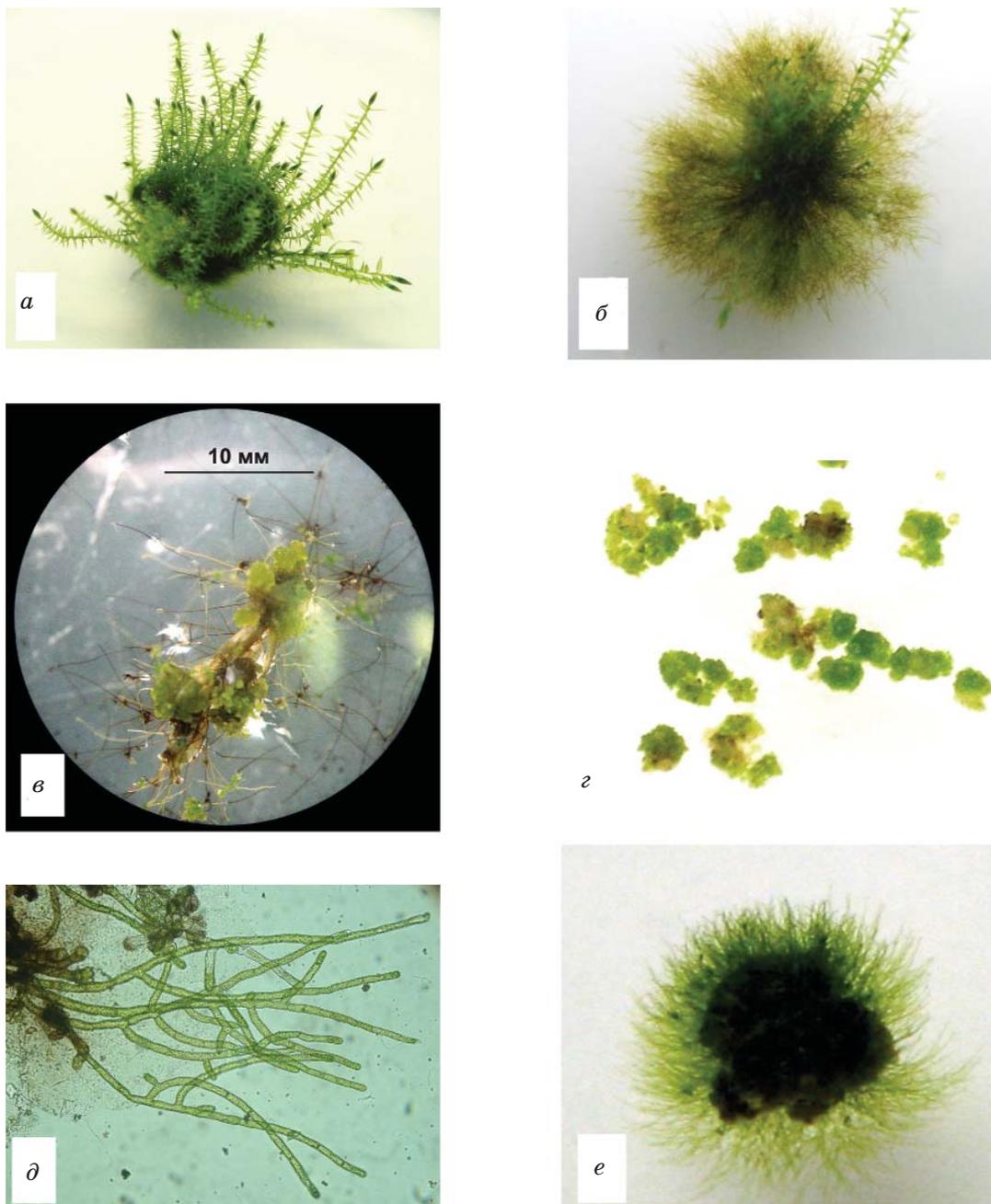


Рис. 4. *W. fontinaliopsis* в асептической культуре:

- a* — рост *in vitro*; *б* — рост вторичной протонемы;
в — индукция каллусообразования (увеличение 8×2, камера Canon Power Shot A710);
г — рост каллусной ткани;
д — образование зеленой протонемы из каллуса; увеличение 10×10, камера Canon Power Shot A710;
е — регенерация растений

Поскольку антарктические растения на протяжении почти круглого года находятся в экстремальных температурных условиях, выясняли механизмы адаптации растений к холоду [30–34] и ультрафиолетовому излучению [35, 36]. Выявлено защитное действие экстрактов из антарктических рас-

тений против действия УФ [37]. Начато изучение генов *D. antarctica*, которые отвечают за приспособление к действию стрессовых факторов [38]. Показано, что в ряде мхов содержатся вещества, обладающие антибактериальной активностью [39].

Особый интерес к изучению антарктических растений обусловлен исключительными условиями Антарктики и, в связи с этим, влиянием комплекса абиогенных стрессовых факторов на растительность. Постоянный прессинг низких среднегодовых температур (на о. Галиндез, где климат значительно мягче, чем на материке, температура летом редко превышает +5 °С), суточные циклы замораживания-оттаивания, повышенное ультрафиолетовое облучение могли и должны были привести к формированию у растений адаптивных механизмов. Кроме того, установлено, что почвенные микроорганизмы Антарктики характеризуются высокой устойчивостью к токсичным металлам Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Cr(IV) , Hg^{2+} , причем большое количество металлорезистентных микроорганизмов изолированы именно из ризосферы цветковых растений и мхов [40]. Таким образом, есть вероятность того, что антарктические растения являются источником генов устойчивости к низким температурам, ультрафиолетовому излучению, токсичным металлам и др., а также отвечающих за синтез антибиотиков.

Получение живых антарктических растений связано с рядом объективных трудностей. Удаленность Антарктиды, возможность проведения экспедиций только в короткий летний сезон и их высокая стоимость ограничивают научные исследования. Кроме того, постоянный массовый отбор растительных проб неизбежно нанесет ущерб природной популяции. Поэтому представляется акту-

альным создание *in vitro* коллекции антарктических растений, которая будет постоянным источником материала для научных исследований. Предполагается создать такую коллекцию в виде растений и клеточных линий, выращиваемых с помощью биотехнологических методов. Коллекция может быть использована как банк растительного материала для изучения особенностей роста антарктических растений, для молекулярно-биологических исследований, в том числе клонирования генов устойчивости к абиогенным стрессовым факторам, а также для выявления антарктических растений — продуцентов фармакологических субстанций.

В результате проведенной работы нами оптимизированы условия поверхностной стерилизации и получены *in vitro* растения *C. quitensis*, *W. fontinaliopsis* и *S. georgicouncinata*, которые являются типичными представителями флоры Аргентинских островов (западная Антарктика). Определены условия культивирования, микроразмножения, получения каллусных тканей (*C. quitensis*) и регенерации растений (*W. fontinaliopsis*). Показано, что культивирование на среде MS с добавлением 2 мг/л 2,4-D, 0,5 мг/л НУК и 0,2 мг/л кинетина позволяет инициировать рост каллусной ткани *C. quitensis* и *W. fontinaliopsis*, а среда MS без сахарозы может быть использована для регенерации растений *W. fontinaliopsis*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Greene D. M., Holtom A. Studies in *Colobanthus quitensis* (Kunth.) Bartle and *Deschampsia antarctica* Desv. III. Distribution, habitats and performance in the Antarctic Botanical Zone // Br. Antarct. Surv. Bull. — 1971. — V. 26, N 1. — P. 1–29.
2. Bednarek-Ochyra H., Vana J., Ochyra R. et al. The liverwort flora of Antarctica. — Cracow: Polish Academy of Sciences, W. Szafer Institute of Botany, 2000. — 238 p.
3. Ochyra R., Lewis Smith R. I., Bednarek-Ochyra H. The Illustrated Moss Flora of Antarctica. — Cambridge: Cambridge University Press, 2008. — 685 p.
4. Белокурова В. Б., Листван Е. В., Майстров П. Д. и др. Использование методов биотехнологии растений для сохранения и изучения биоразнообразия мировой флоры // Цитология и генетика. — 2005. — Т. 39, № 1. — С. 41–51.
5. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture // Physiol. Plant. — 1962. — V. 15, N 3. — P. 473–496.
6. Ochyra R. The moss flora of King George Island, Antarctica. — Cracow: Polish academy of Sciences, W. Szafer Institute of Botany, 1998. — 279 p.
7. Putzke J., Pereira A.B. The Antarctic mosses, with special reference to the South Shetland Islands. — Canoas: ULBRA, 2001. — 196 p.
8. Cuba M., Gutierrez-Moraga A., Butendieck B., Gidekel M. Micropropagation of *Deschampsia antarctica* — a frost-resistant Antarctic plant // Antarct. Sci. — 2005. — V. 17, N 1. — P. 69–69.
9. Word M. Callus tissues from the mosses *Polytrichum* and *Atrichum* // Science. — 1960. — V. 132, N 3437. — P. 1401–1402.

10. Takami S., Yasunaga M., Takio S. et al. Establishment of suspension cultures of cells from the hornwort, *Anthoceros punctatus* L. // J. Hattori Bot. Lab. — 1988. — V. 64, N 6. — P. 429–435.
11. Ono K., Murasaki Y., Takamiya M. Induction and morphogenesis of cultured cells of bryophytes // Ibid. — 1988. — V. 65, N 12. — P. 391–401.
12. Felix H. Calli, cell and plantlet suspension cultures of bryophytes // Candollea. — 1994. — V. 49, N 1. — P. 141–158.
13. Gang Yong-Yun, Du Gui-Sen, Shi Ding-Ji et al. Establishment of *in vitro* regeneration system of the *Atrichum* mosses // Acta Botanica Sinica. — 2003. — V. 45, N 12. — P. 1475–1480.
14. Sabovljevic M., Bijelovic A., Dragicevic I. *In vitro* culture of mosses: *Aloina aloides* (K.F.Schultz) Kindb., *Brachythecium velutinum* (Hedw.) B.S. & G., *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid., *Eurhynchium praelongum* (Hedw.) B.S. & G. and *Grimmia pulvinata* (Hedw.) Sm. // Turk. J. Bot. — 2003. — V. 27. — P. 441–446.
15. Duckett J. G., Burch J., Fletcher P. W. et al. *In vitro* cultivation of bryophytes: a review of practicalities, problems, progress and promise // J. Bryol. — 2004. — V. 26, N 1. — P. 3–20.
16. Vujicic M., Sabovljevic A., Sabovljevic M. Axenically culturing the bryophytes: a case study of the moss *Dicranum scoparium* Hedw. (Dicranaceae, Bryophyta) // Botanica Serbica. — 2009. — V. 33, N 2. — P. 137–140.
17. Cvetic T., Sabovljevic A., Sabovljevic M. Development of the moss *Pogonatum urnigerum* (Hedw.) P. Beauv. under *in vitro* culture conditions // Arch. Biol. Sci., Belgrade. — 2007. — V. 59, N 1. — P. 57–61.
18. Sabovljevic A., Cvetic T., Sabovljevic M. Establishment and development of the Catherine's moss *Atrichum undulatum* (Hedw.) P. Beauv. (Polytrichaceae) in *in vitro* conditions // Ibid. — 2006. — V. 58, N 2. — P. 87–93.
19. Bijelovic A., Sabovljevic M., Grubisic D., Konjevic R. Phytohormone influence on the morphogenesis of two mosses (*Bryum argenteum* Hedw. and *Atrichum undulatum* (Hedw.) P. Beauv.) // Isr. J. Plant Sci. — 2004. — V. 52, N 1. — P. 31–36.
20. Bijelovic A., Sabovljevic M. Callus induction and plant regeneration in the moss *Aloina aloides* (Schultz) Kindb. (Pottiaceae, Bryopsida) // Arch. Biol. Sci., Belgrade. — 2003. — V. 55, N 3–4. — P. 77–80.
21. Mosyakin S. L., Bezusko L. G., Mosyakin A. S. Origins of native vascular plants of Antarctica: comments from a historical phytogeography viewpoint // Tsitol. Genet. — 2007. — V. 41, N 5. — P. 54–63.
22. Parnikoza I. Y., Maidanuk D. N., Kozeretska I. A. Are *Deschampsia antarctica* Desv. and *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. migratory relicts? // Ibid. — 2007. — V. 41, N 4. — P. 36–40.
23. Moore D. M. Studies in *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. and *Deschampsia antarctica* Desv.: II. Taxonomy, distribution and relationships // Br. Antarct. Surv. Bull. — 1970. — N 23. — P. 63–80.
24. Edwards J. A. Studies in *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. and *Deschampsia antarctica* Desv.: VII. Cyclic changes related to age in *Colobanthus quitensis* // Ibid. — 1975. — N 40. — P. 1–6.
25. Edwards J. A. Studies in *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. and *Deschampsia antarctica* Desv.: V. Distribution, ecology and performance on Signy Island // Ibid. — 1972. — N 28. — P. 11–28.
26. Greene S. W. The Antarctic moss *Sarconeuron glaciale* (C. Muell.) Card. Et Bryhn in Southern South America // Ibid. — 1975. — N 41–42. — P. 187–191.
27. Fenton J. H. C., Lewis Smit R. I. Distribution, composition and general characteristics of the moss banks of the maritime Antarctica // Ibid. — 1982. — N 51. — P. 215–236.
28. Tyshchenko O. V. Antarctic mosses and hepatics survival under abrupt changes of environmental conditions // SCAR/IASC IPY open science conference «Polar research — Arctic and Antarctic perspectives in the International polar year», St. Petersburg, Russia, July 8–11, 2008. — P. 218.
29. Deason T. R., Bold H. C. Phycological studies. Exploratory studies of Texas soil algae // Univ. Texas Publ. — 1960. — N 6022. — P. 1–72.
30. Alberdi M., Bravo L. A., Gutierrez A. et al. Ecophysiology of Antarctic vascular plants // Physiol. Plant. — 2002. — V. 115, N 4. — P. 479–486.
31. Bravo L. A., Griffith M. Characterization of antifreeze activity in Antarctic plants // J. Exp. Bot. — 2005. — V. 56, N 414. — P. 1189–1196.
32. Bravo L. A., Saavedra-Mella F. A., Vera F. et al. Effect of cold acclimation on the photosynthetic performance of two ecotypes of *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. // Ibid. — 2007. — V. 58, N 13. — P. 3581–3590.
33. Lovelock C. E., Jackson A. E., Melick D. R., Seppelt R. D. Reversible Photoinhibition in Antarctic Moss during Freezing and Thawing // Plant Physiol. — 1995. — V. 109, N 3. — P. 955–961.
34. Perez-Torres E., Dinamarca J., Bravo Le A., Corcuera L. J. Responses of *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. to high light and low temperature // J. Polar Biol. — 2004. — V. 27, N 3. — P. 183–189.

35. Day T. A., Ruhland C. T., Xiong F. S. Influence of solar ultraviolet-B radiation on Antarctic terrestrial plants: results from a 4-year field study // J. Photochem. Photobiol. B. — 2001. — V. 62, N 1–2. — P. 78–87.
36. Ruhland C. T., Day T. A. Size and longevity of seed banks in Antarctica and the influence of ultraviolet-B radiation on survivorship, growth and pigment concentrations of *Colobanthus quitensis* seedlings // Environ. Exp. Bot. — 2001. — V. 45, N 2. — P. 143–154.
37. Pereira B. K., Rosa R. M., da Silva J. et al. Protective effects of three extracts from Antarctic plants against ultraviolet radiation in several biological models // J. Photochem. Photobiol. B. — 2009. — V. 96, N 2. — P. 117–129.
38. Lee H., Cho H. H., Kim I. C. et al. Expressed Sequence Tag Analysis of Antarctic Hairgrass *Deschampsia antarctica* from King George Island, Antarctica // Mol. Cells. — 2008. — V. 25, N 2. — P. 258–264.
39. Bodade R. G., Borkar P. S., Saiful Arfeen, Khobragade C. N. In vitro Screening of Bryophytes for Antimicrobial Activity // J. Med. Plants. — 2008. — V. 7, N 4. — P. 23–28.
40. Таширеєв А. Б., Матвєєва Н. А., Романовська В. А. і др. Полірезистентність і свєрхустойчивість к тяжєлым металлам антарктических микроорганизмов // Доп. НАН України. — 2007. — № 11. — С. 170–175.

ЗБЕРЕЖЕННЯ ТА МІКРОРОЗМНОЖЕННЯ *IN VITRO* РОСЛИН АНТАРКТИКИ

Н. А. Матвєєва¹
В. Б. Белокурова¹
В. А. Рудас¹
О. В. Тищенко²
М. В. Кучук¹

¹Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, Київ

²Київський національний університет імені Тараса Шевченка

E-mail: joyna56@gmail.com

З метою створення колекції *in vitro* рослин Антарктики оптимізовано умови поверхневої стерилізації, мікророзмноження та отримання клітинних ліній двох видів мохів — *Warnstorfia fontinaliopsis* (Mull.Hal.) Ochyra і *Sanionia georgicouncinata* (Mull.Hal.) Ochyra and Hedenas (Amblystegiaceae), а також представника одного з двох видів квіткових рослин о. Галіндез *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. (Caryophyllaceae). Створення колекції *in vitro* дасть змогу проводити системні фізіологічні, біохімічні, молекулярно-біологічні дослідження рослин Антарктики без шкоди для їхніх природних популяцій.

Ключові слова: рослини Антарктики, *Warnstorfia fontinaliopsis*, *Sanionia georgicouncinata*, *Colobanthus quitensis*, мікророзмноження *in vitro*.

PRESERVATION AND MICROPROPAGATION *IN VITRO* OF ANTARCTICA PLANTS

N. A. Matvieieva¹
V. B. Belokurova¹
V. A. Rudas¹
O. V. Tyshchenko²
M. V. Kuchuk¹

¹Institute of Cell Biology and Genetic Engineering of National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

²Taras Shevchenko National University of Kyiv

E-mail: joyna56@gmail.com

Research work on creation of *in vitro* collection of the representatives of Antarctic flora has been started. Methods of surface sterilization, micropropagation and induction of cell lines for plant species of the Argentine islands (Antarctic) were optimized for two moss species — *Warnstorfia fontinaliopsis* (Mull.Hal.) Ochyra and *Sanionia georgicouncinata* (Mull. Hal.) Ochyra & Hedenas (Amblystegiaceae) as well as for *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl (Caryophyllaceae). *In vitro* collection enable to carry out a number of systemic physiological, biochemical, molecular researches of Antarctic Region plants without disturbance of its natural populations.

Key words: antarctic plants, *Warnstorfia fontinaliopsis*, *Sanionia georgicouncinata*, *Colobanthus quitensis*, *in vitro* micropropagation.