

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КРИОКОНСЕРВАЦИИ СЕМЯН ДЛЯ СОХРАНЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ ХВОЙНЫХ

Г.Ф. Сафина¹, М.А. Николаева²

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства им. Н.И. Вавилова;

² Санкт-Петербургский государственный лесотехнический университет им. С.М. Кирова,
Санкт-Петербург, Россия

Эл. почта: ¹ g.safina@mail.ru; ² marin.nikol_1060@mail.ru

Статья поступила в редакцию 22.10.2014; принята к печати 26.11.2014

В России в связи с возрастающими объемами сплошных вырубок лесов, природными катаклизмами и снижающегося биоразнообразия все большее значение приобретает сохранение генетических лесных ресурсов *ex-situ* в генетических банках в виде семян. Однако до сих пор не создан банк семян основных лесообразующих пород. В 2011 г. начат долгосрочный опыт по хранению семян сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) и ели европейской (*Picea abies* (L.) Karst.) при различных температурных режимах: +20, +4, –18 и –182 °С (пары жидкого азота). В настоящей работе представлены первые результаты 3-летнего хранения партий семян, различающихся сроками заготовки (1996–2011 гг.) и, соответственно, исходным качеством семян. При хранении семян, предварительно подсушенных до влажности 4,2–4,4%, обнаружено явное преимущество отрицательных температур по сравнению с положительными. Наибольшее снижение всхожести наблюдалось у семян, хранившихся при +20 °С: на 7–64% у семян ели и на 20–30% у семян сосны. Хранение семян при +4 °С приводило к снижению всхожести только в партиях самых давних сроков сбора. При температурах –18 и –182 °С всхожесть оставалась на исходном уровне практически во всех партиях семян, в отдельных случаях наблюдалось некоторое повышение всхожести. По ряду более чувствительных показателей (энергия прорастания и сила роста), а также степени распространения микрофлоры обнаружено некоторое преимущество криоконсервации по сравнению с неглубоким замораживанием (–18 °С). Предполагается, что с увеличением периода хранения эта разница будет более заметной. Таким образом, исходные посевные качества семян, их влажность и температура являются важными факторами их успешного хранения. Для свежезаготовленных семян сосны и ели допустимо кратковременное (в течение 2–3 лет) хранение при температуре +4 °С. Температуру –18 °С можно рекомендовать для хранения семян в течение более продолжительного периода времени (более 5 лет). Криоконсервация семян представляется наиболее перспективным режимом долговременного хранения генофонда хвойных растений.

Ключевые слова: хранение семян, сосна, ель, всхожесть, криоконсервация.

PROSPECTS FOR CRYOPRESERVATION OF SEEDS USED TO STORE THE GENETIC RESOURCES OF CONIFER PLANTS

G.F. Safina¹, M.A. Nikolayeva²

¹ N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Cultivation and

² S.M. Kirov University of Forestry, Saint Petersburg, Russia

E-mail: ¹ g.safina@mail.ru; ² marin.nikol_1060@mail.ru

Increasing logged land areas in combination with natural disasters and reduced biodiversity in Russia makes it expedient to preserve the genetic resources of forest trees *ex situ* at seed banks. However, no seeds bank of the main forest trees has been established so far. In 2011, a long-term experimental storage of pine (*Pinus sylvestris* L.) and spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) seeds has been initiated. Different temperature regimens i.e., +20, +4, –18 and –182 °C (liquid nitrogen vapor) are used in the experiment. In the present work, the first interim results of 3 years of the experimental storage are presented. Batches of seeds were harvested in different years (1996 to 2011) and hence have different quality parameters. Seeds that were pre-dried to 4.2–4.4% of moisture content show clear advantages of negative over positive temperatures used for storage. The greatest decreases in germinability, by 7–64 and 20–30% for spruce and pine, respectively, were shown by seeds stored at +20 °C. At +4 °C, germinability was decreased only in the seeds of the earliest harvestings. At –18 and –182 °C germinability remained virtually intact and in some cases even somewhat increased. The most sensitive parameters, such as the short term synchronicity of germination and the rate of germination at 15 days, and contamination of seeds with microflora, showed trends to be better upon cryopreservation compared with storage at –18 °C. These differences are expected to increase with increasing storage time. On the whole, the initial conditions of seed, their moisture content, and storage temperature are critical for seeds preservation during storage. Freshly harvested pine and spruce seeds may be stored for a short time (2 to 3 years) at +4 °C. A temperature of about –18 °C may be recommended for about 5 years of storage. Cryopreservation is the most promising regimen to the long-term storage of genetic resources of conifer trees.

Keywords: seeds storage, pine tree, spruce tree, germinability, cryopreservation.

Введение

На территории России находится пятая часть всех лесов планеты, и по обеспеченности лесами Россия занимает первое место в мире. Однако негативное воздействие человека на природу, пожары, ураганы и вредители неизбежно приводят к снижению устойчивости лесов, сокращению их биоразнообразия. Хвойные леса как основной объект лесопользования нуждаются в особой охране. Для решения проблемы сохранения генетических ресурсов основных лесобразующих пород в последние годы все большее значение приобретает хранение *ex-situ* – то есть вне их естественных мест обитания. Это стратегия, при которой ресурсы генофонда тех или иных видов содержатся или в банках в виде семян, пыльцы, почек, черенков, меристем, замороженных клеток, или в виде отдельных организмов в питомниках, ботанических садах, заповедниках.

Для лесного семеноводства возможность длительного хранения семенной продукции является одной из самых важных задач. С учетом периодичности семеношения хвойных пород (урожайный год один раз в 5–10 лет), сроков созревания и заготовки шишек, целесообразности использования районированных семян и семян селекционно улучшенных категорий, а также необходимости ежегодного выполнения плана лесовосстановления, создание долговременного банка семян будет способствовать сохранению их генофонда.

В настоящее время в соответствии с «Указаниями по лесному семеноводству» для сохранения качества семян сосны, ели, лиственницы сроком более 5 лет оптимальной считается температура от -1 до -10 °C (см. [23]). Но опыт показывает, что при таких условиях с увеличением сроков хранения качество семян постепенно ухудшается [20].

В 2008 г. в г. Пушкино положено начало организации Федерального фонда семян лесобразующих пород. Предполагается, что температура -18 °C позволит сохранить качество семян до 30–40 лет. Однако по этому вопросу нет единого мнения. Ряд исследователей считает, что для краткосрочного хранения этот режим целесообразен, но для длительного хранения семян масличного типа (в том числе семян сосны и ели) требуются более низкие температуры [15].

Известно, что скорость процессов старения семян хвойных растений зависит от множества факторов: качество, влажность, аэрация, зрелость семян при заготовке шишек и их хранении, температурные условия хранения, биологические и генетические особенности семян, например, плотность семенной оболочки, состав запасных питательных веществ. В числе причин, вызывающих старение семян, рассматривается также накопление токсических продуктов жизнедеятельности вредной микрофлоры и токсических побочных метаболитов, возникающих в процессах дыхания и брожения [7]. Сохранение жизнеспособности семян в течение длительного периода возможно, если семена находятся в состоянии анабиоза или органического покоя [13]. Как отмечает ряд исследователей [4, 9, 15, 24], только в среде жидкого азота при температуре -196 °C все процессы метаболизма в клетках прекращаются.

О том, что семена многих сельскохозяйственных растений способны переносить сверхнизкие температуры, известно с конца XIX в. [25–27], но только во второй половине XX в. было предложено приме-

нять данные температуры для сохранения генетических ресурсов растений [22, 29–33]. Идея создания криобанков для сохранения биоразнообразия была доложена Б.Н. Вепринцевым на XIV Конгрессе Международного союза охраны природы (IUCN) в Ашхабаде в 1978 г. и получила дальнейшее развитие в его работах [2, 3]. В результате было положено начало изучению криоконсервации семян дикорастущих видов [21, 30]. В 1982 г. Международная организация ФАО (Food Agricultural Organization) разработала и опубликовала концепцию сохранения генетических ресурсов деревьев и кустарников. F.T. Bonner [24], проанализировавший различные способы хранения семян древесных пород, утверждает, что на современном уровне технологий криоконсервация является наиболее перспективным способом хранения семян ортодоксальной группы, к которой относятся семена хвойных видов, в том числе сосны и ели. Сохранение генетических ресурсов в режиме глубокого замораживания считают наиболее перспективным и другие авторы [2, 3, 10, 12, 16, 29–33].

Относительно режимов замораживания и оттаивания при криоконсервации семян существуют разные мнения [1, 5, 20, 21]. Однако большинство исследователей склонны к быстрому замораживанию до температуры жидкого азота; для оттаивания после криоконсервации предлагаются различные температурные режимы: комнатная температура, водяная баня при 30, 40 и 60 °C. Криохранение семян плодовых с оптимальной влажностью 5–6%, независимо от режима замораживания-оттаивания, не снижает их жизнеспособности [18].

Важнейший фактор при криоконсервации семян – это их влажность [11, 18, 19, 31, 33]. Согласно ГОСТ 14161-86 «Семена хвойных древесных пород: Посевные качества. Технические условия», рекомендуемая влажность семян сосны обыкновенной и ели европейской перед закладкой на хранение должна находиться в пределах 4,5–7,5%. Тем не менее, практический опыт показывает, что при хранении семян хвойных пород влажность их не должна превышать 6%, а для длительного хранения может быть снижена до 3–4%.

При разработке приемов и методов сохранения генетических ресурсов разных групп растений следует учитывать их биологические особенности. В литературе имеются немногочисленные сведения, касающиеся проблемы сохранения генетических ресурсов хвойных [1, 14, 15, 20, 30]. В связи с этим в 2011 г. мы начали долгосрочный опыт по изучению влияния различных температурных режимов ($+20$, $+4$, -18 и -182 °C) на возможность сохранения посевных качеств семян хвойных пород. В настоящей работе приведены первые результаты 3-летнего хранения семян сосны и ели.

Материал и методы исследования

В опытах по длительному хранению, которые были начаты в 2011 г., использовали семенной материал сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) и ели европейской (*Picea abies* (L.) Karst.), заготовленный в границах средне-таежного лесного района европейской части РФ в разные годы и различающийся исходным качеством (табл. 1).

Использование партий семян, различающихся сроками заготовки и исходными показателями посевных

Сведения о происхождении семенного материала и исходные данные о посевных качествах семян

№ партии	Место заготовки семенного материала	Год заготовки	Масса 1000 семян, г	Влажность семян, %	Энергия прорастания, %	Всхожесть, %	
Сосна обыкновенная (<i>Pinus sylvestris</i> L.)							
1	Ленинградская обл.	Рощинский лесхоз	1996	6,70	6,1–6,2	29,0	50,0
2		Гатчинский лесхоз	1999	4,15		42,5	54,5
3		Гатчинский лесхоз	2001	6,45		40,0	55,0
4		Смесь семян	2011	6,14		52,5	71,0
Ель европейская (<i>Picea abies</i> (L.) Karst.)							
1	Республика Карелия, Заонежский лесхоз	2001	5,05	5,8	67,0	76,0	
2	Ленинградская обл.	Гатчинский лесхоз	2004		5,30	49,0	75,5
3		Бокситогорское лесничество	2008		5,35	31,5	71,5
4		Лесные культуры, костромское потомство	2009		4,75	51,5	89,0

качеств, позволяет более достоверно проследить влияние температурных режимов на способность семян сохранять свою жизнеспособность при хранении.

До начала эксперимента семена хранились при температуре +6 °С в стеклянной таре. Перед закладкой на опытное хранение семена были подсушены согласно рекомендациям Genbank Standards [28] в сушильной камере при температуре +18 °С и относительной влажности воздуха 10–12% до равновесной влажности, которая составляла 4,2–4,4%. Влажность семян определяли по ГОСТ 13056.3-86 «Семена деревьев и кустарников: Методы определения влажности».

После подсушивания семена были герметично упакованы в ламинированные пакеты из фольги и заложены на хранение при разных температурных режимах: +20, +4, –18 и –182 °С. При низкотемпературном хранении и криоконсервации семян использован режим замораживания-оттаивания, рекомендованный нами для семян плодовых и ягодных культур: быстрое замораживание путем помещения пакетов с семенами в морозильную камеру холодильника (–18 °С) или в пары жидкого азота (–182 °С) и оттаивание пакетов с семенами при комнатной температуре [18].

Анализ посевных качеств семян выполняли в условиях лаборатории в соответствии с ГОСТ 13056.6-97 «Семена деревьев и кустарников: Метод определения всхожести». Энергия прорастания, как показатель способности семян быстро и дружно прорасти за короткий промежуток времени, определялась для семян сосны на 7-й, для ели – на 10-й день, лабораторная всхожесть – на 15-й день проращивания. Для проращивания брали по 50 семян в 2(3)-кратной повторности.

Одним из показателей качества семян является сила роста проростков, которая показывает потенциальную способность зародыша использовать при прорастании запасные питательные вещества в полной мере; сила роста проростков характеризуется скоростью их роста, скоростью удлинения корешка и гипокотилия [17], выражается процентом сильных проростков от числа анализируемых, а также оценивается их ростом. На 15-й день проращивания учи-

тывалось число проростков, имеющих длину более 10 мм, и замерялась их длина (от конца корешка до семядолей) с точностью до 1 мм.

Результаты исследований обработаны с помощью методов вариационной статистики [6].

Результаты и обсуждение

Хранение семян в течение 3 лет при разных температурных режимах показало существенное преимущество отрицательных температур по сравнению с положительными. Энергия прорастания и всхожесть семян, хранившихся при температуре +20 °С, значительно ухудшились во всех партиях (рис. 1 и 2).

Особенно резкое снижение энергии прорастания и всхожести семян, по сравнению с исходными, прослежено в тех партиях, которые ко времени начала опыта уже имели достаточно большой срок хранения – от 7 до 15 лет. Максимальное падение энергии прорастания (на 59%) и всхожести (на 64%) было отмечено у семян ели 2001 г. заготовки в условиях хранения +20 °С: семена стали практически невсхожими. Семена сосны, по сравнению с семенами ели, дольше сохраняли свою жизнеспособность; однако при хранении при +20 °С их всхожесть снизилась по сравнению с исходной на 20–31%. Таким образом, комнатная температура неприемлема не только для длительного, но и для кратковременного хранения семян хвойных, даже при пониженной влажности.

Снижение температуры способствовало лучшему сохранению жизнеспособности семян. Так, хранение при +4 °С способствовало поддержанию всхожести на прежнем уровне в двух партиях семян сосны и одной партии семян ели; энергия прорастания как более чувствительный показатель, практически не изменилась только в одной из партий семян сосны (1999 г. заготовки) и одной партии ели (2004 г. заготовки). Во всех остальных случаях было отмечено существенное снижение энергии прорастания (на 9–29%) и всхожести (на 16–20%) (см. рис. 1 и 2). Следовательно, эта температура допускает хранение семян без потерь их посевных качеств лишь в течение непродолжительного времени; причем чем хуже ка-

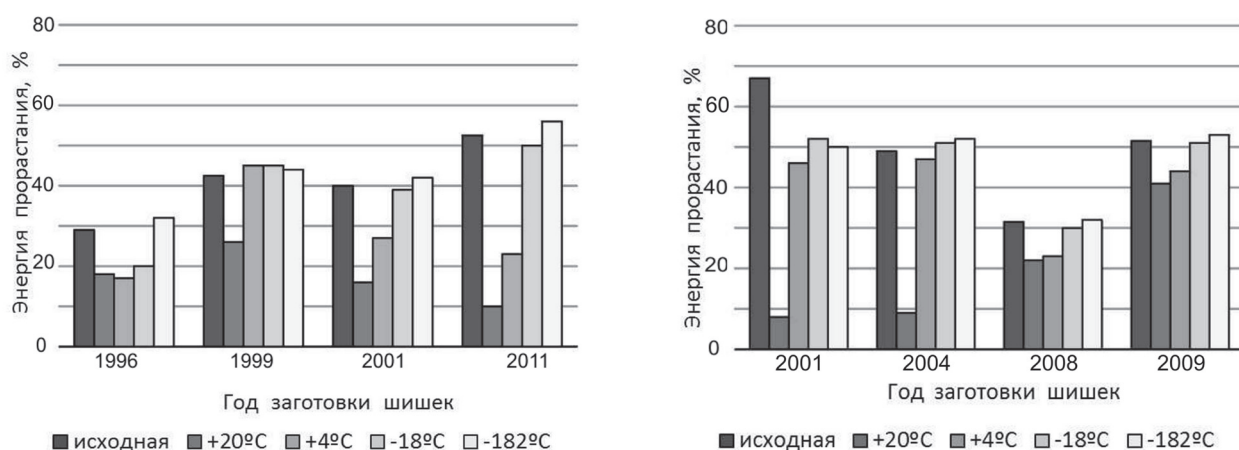


Рис. 1. Влияние температуры хранения на энергию прорастания семян сосны (слева) и семян ели (справа)

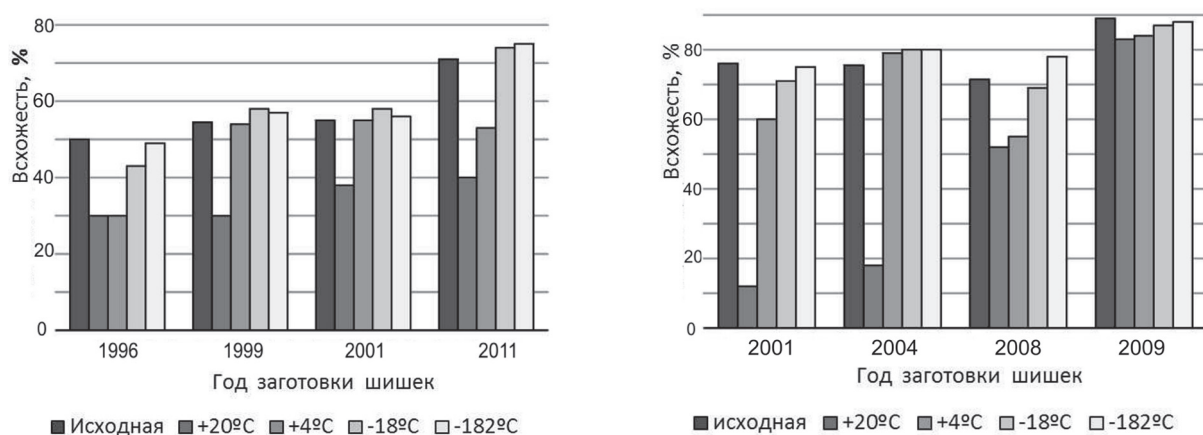


Рис. 2. Влияние температуры хранения на всхожесть семян сосны (слева) и семян ели (справа)

чество семян перед закладкой на хранение, тем быстрее они будут терять свою жизнеспособность.

При температуре хранения -18°C снижение энергии прорастания по сравнению с исходной наблюдалось только в двух партиях самых давних сроков заготовки (на 9% у семян сосны 1996 г.; на 15% у семян ели 2001 г.) (см. рис. 1).

В условиях криоконсервации в 3 партиях семян сосны энергия прорастания была достоверно выше, чем при температуре хранения -18°C (см. рис. 1). Следует отметить, что энергия прорастания, как более чувствительный показатель, обычно раньше реагирует на ухудшение качества семян.

Всхожесть за 3-летний период хранения семян сосны обыкновенной и ели европейской в условиях отрицательных температур осталась практически неизменной почти во всех партиях. В отдельных случаях наблюдалось некоторое повышение всхожести (на 3–6%) по сравнению с исходной или ее снижение. Так, у семян сосны 1996 г. заготовки после хранения при -18°C всхожесть снизилась на 7% (см. рис. 2). В условиях криоконсервации (-182°C) всхожесть семян мало отличалась от таковой после их хранения при -18°C , за исключением партии ели 2008 г. заготовки (где всхожесть была достоверно выше в варианте -182°C).

Отсутствие заметной разницы по всхожести между режимами -18 и -182°C объясняется недостаточно продолжительным периодом исследований.

Старение семян сопровождается распространением вредной микрофлоры, что может быть предотвращено только в среде жидкого азота. В наших исследованиях воздействие низких и сверхнизких температур на семена значительно уменьшало возможность распространения грибной инфекции, вызывающей различные виды заплесневения. При криоконсервации доля заплесневевших семян не превысила 2% у семян сосны и 7% у семян ели (рис. 3).

По мере повышения температуры хранения доля зараженных семян существенно возрастала и при режиме $+20^{\circ}\text{C}$ достигала 22–25% у семян сосны и 70–80% у семян ели.

В целом установлено, что семена давних сроков заготовки характеризуются не только более низкими энергией прорастания и всхожестью, но и большим числом ослабленных и недоразвитых проростков при любых температурах хранения.

Как отмечал Б.С. Лихачев [8], сила роста является показателем потенциального долголетия семян. На самых первых этапах развития растений она демонстрирует способность семян за короткий период времени давать здоровые и сильные проростки.

Нами обнаружено, что доля успешно развивающихся проростков значительно выше в партиях семян, которые находились в условиях отрицательных температур и особенно криоконсервации. После 3-летнего криохранения семян последних лет заготовки (2008–2011 гг.) доля 15-дневных проростков

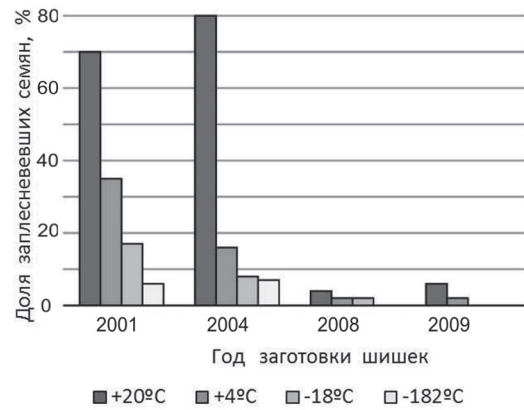
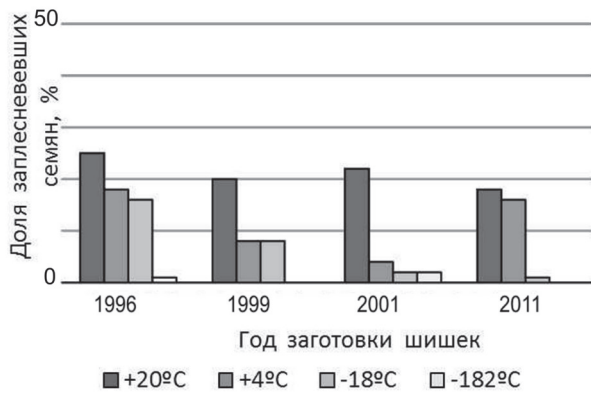


Рис. 3. Влияние температуры хранения на долю заплесневевших семян сосны (слева) и ели (справа)

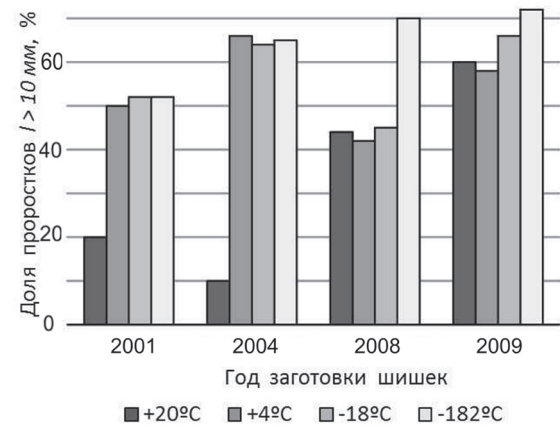
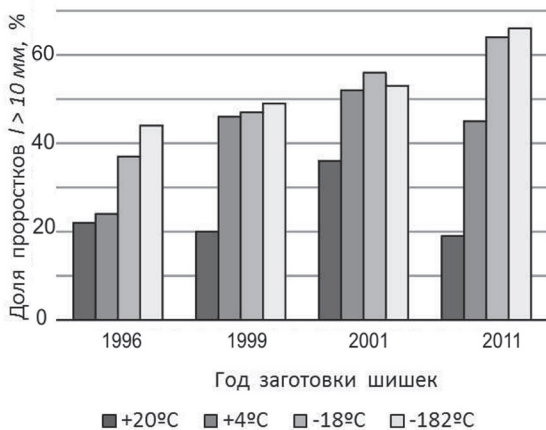


Рис. 4. Влияние температурных режимов хранения на число 15-дневных проростков сосны с длиной более 10 мм

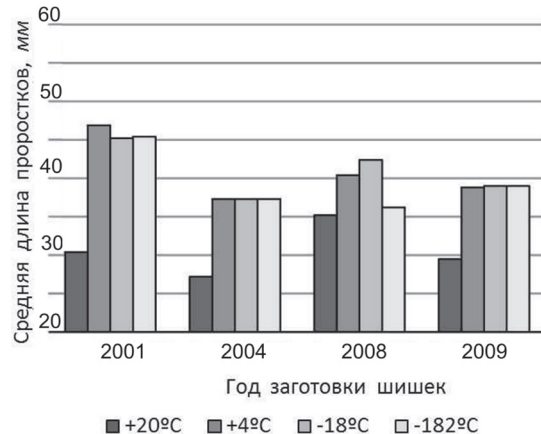
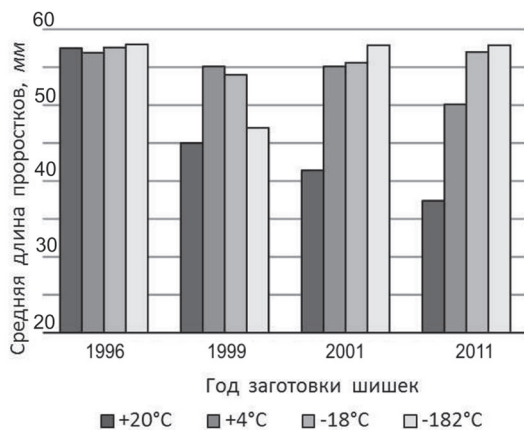


Рис. 5. Влияние температурных режимов хранения на рост 15-дневных проростков сосны (слева) и ели (справа)

длиной более 10 мм достигала максимума 66% у сосны и 70–72% у ели (рис. 4).

Следует отметить, что по числу 15-дневных проростков с длиной более 10 мм хранение двух партий семян сосны и двух партий семян ели при +4 °С не приводило к значимым отличиям от результатов хранения при –18 и –182 °С. Однако при сравнении результатов хранения в остальных партиях наблюдалась существенная разница в пользу отрицательных температур и особенно в пользу криоконсервации. Самый негативный результат (или, в случае с семенами ели 2008–2009 гг. заготовки, приближённый к таковому) получен в опыте хранения семян при температуре +20 °С. В зависимости от партии семян доля

проростков с длиной более 10 мм после хранения при +20 °С составила от 19 до 36% для сосны и от 10 до 60% для ели.

В условиях хранения +20 °С отмечено также существенное ослабление роста проростков в длину. Исключение составляла одна из партий семян сосны (1996 г. заготовки), где показатели средних длин проростков (более 10 мм) на 15-й день проращивания при всех режимах хранения варьировали в узких границах (56,9–58,0 мм) и между режимами не было достоверных различий по этому результату (рис. 5).

Средние значения длин 15-дневных проростков (более 10 мм) после хранения семян при температурах +4, –18 и –182 °С составляли, в зависимости от партии и

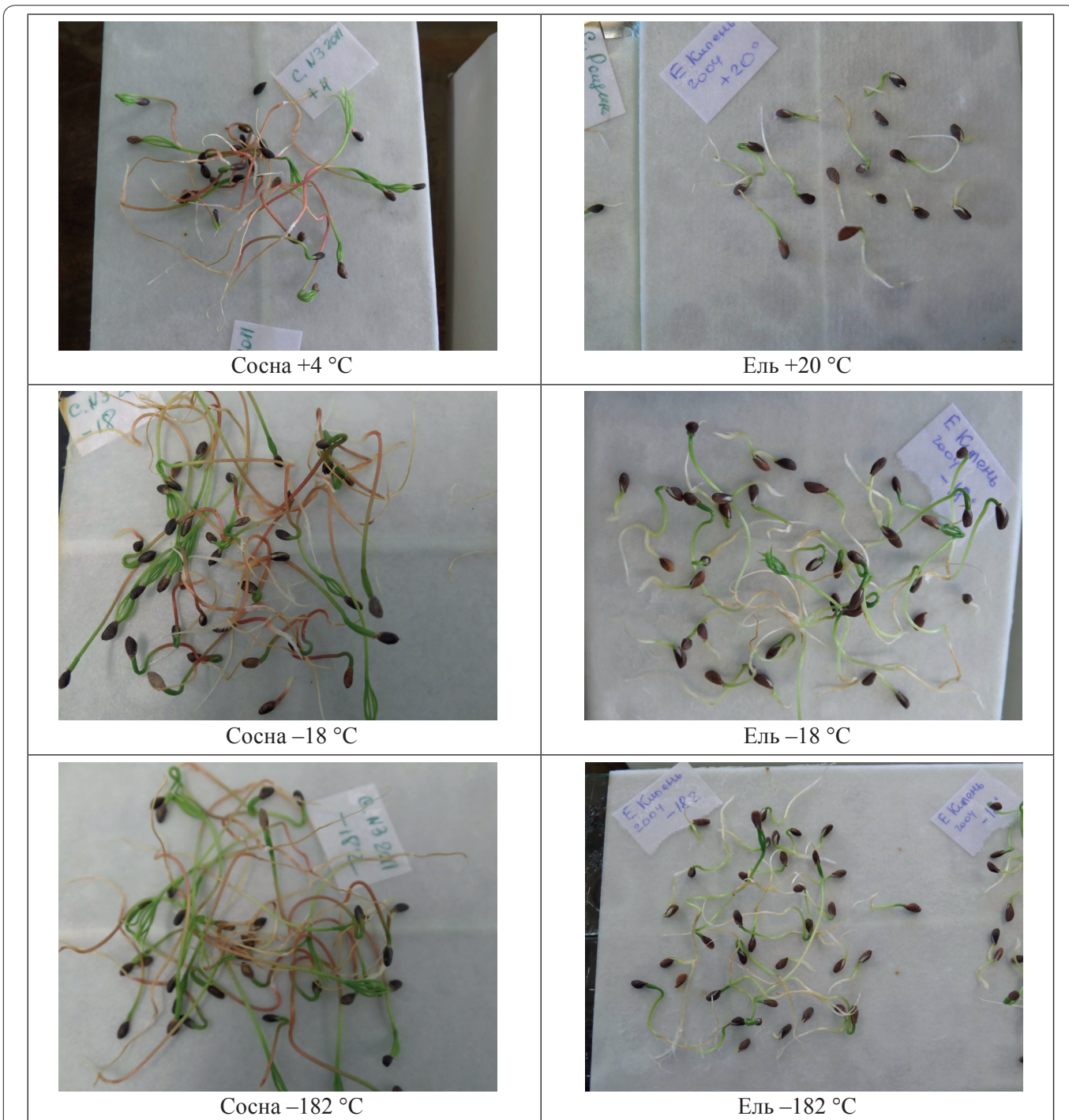


Рис. 6. 15-дневные проростки сосны (слева) и ели (справа) после 3-летнего хранения семян при разных температурных режимах (из 50 высевных семян на одном ложе)

конкретного образца семян, от 47,0 до 57,9 мм для сосны и от 36,2 до 46,9 мм для ели. При этом в пределах каждой из партий прослежено отсутствие достоверно значимых различий между образцами, что указывает на равнозначность, в данном случае, режимов хранения от +4 до -182°C . Коэффициент вариации длин проростков в пределах каждого из образцов, независимо от температуры хранения, показал высокий уровень изменчивости признака (26–41%), что является показателем неравномерного развития и роста особей даже в пределах одного отдельно взятого образца.

Максимальные значения длин отдельно взятых 15-дневных проростков наблюдались после хранения семян в условиях криоконсервации: для сосны –

91 мм, для ели – 86 мм; при неглубоком замораживании они составили 82 и 77 мм соответственно. После хранения семян при $+20^{\circ}\text{C}$ длины проростков не превысили 77 мм у сосны и 57 мм у ели.

По каждой из партий семян прослежена высокая и очень высокая корреляционная связь между изучаемыми показателями посевных качеств семян, что указывает на достоверность результатов исследований. Чем выше энергия прорастания и всхожесть, тем закономерно меньше заплесневевших семян (коэффициенты корреляции в диапазоне от $r = -0,818$ до $r = -0,996$) и больше проростков с длиной более 10 мм (r от $+0,743$ до $+0,999$). Однако рост проростков в длину не всегда имел стабильную и четко выраженную

связь с остальными показателями. В зависимости от образца семян корреляции варьировали в очень широких пределах: между средней длиной проростков и всхожестью и энергией прорастания от $r = +0,080$ до $r = +0,999$, долей заплесневевших семян от $r = -0,120$ до $r = -0,993$, долей проростков длиной более 10 мм – от $r = -0,450$ до $r = +0,998$. Следовательно, успешно развивающиеся рослые проростки встречались в образцах как с высокой, так и с низкой всхожестью. И, независимо от температуры хранения семян, всхожести и других показателей их посевных качеств, в образцах в любом случае присутствуют семена, способные давать сильные и здоровые проростки.

На рис. 6 представлены 15-дневные проростки, полученные после 3-летнего хранения в результате лабораторного проращивания семян сосны обыкновенной (партия семян 2011 г. заготовки) и ели европейской (партия семян 2004 г. заготовки). Видно, что в образцах, которые хранились в условиях низких отрицательных температур ($-18\text{ }^{\circ}\text{C}$) и криоконсервации ($-182\text{ }^{\circ}\text{C}$), гораздо больше сильных и рослых проростков.

Таким образом, важнейшими факторами, определяющими возможность длительного хранения семян сосны и ели, являются исходное качество семян, их влажность перед закладкой на хранение и температура хранения. Влажность семян сосны и ели перед закладкой на длительное хранение не должна превышать 4,0–4,5%.

Поскольку семена хвойных пород быстро теряют всхожесть, для закладки на длительное хранение рекомендуется использовать только свежезаготовленные полноценные семена.

Результаты исследований указывают на недопустимость длительного хранения семян хвойных пород при температуре выше $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ и тем более – при комнатной температуре, даже если семена имеют оптимальную влажность. Чем ниже температура хранения, тем более надежно сохраняется жизнеспособность семян.

Использованный при криоконсервации способ замораживания и оттаивания – быстрое погружение герметично упакованных семян в жидкий азот и оттаивание при комнатной температуре – не является повреждающим фактором и может быть рекомендован для криоконсервации семян сосны обыкновенной и ели европейской.

Учитывая, что криоконсервация является дорогостоящим методом, выбирать соответствующий режим рекомендуется в зависимости от сроков и целей хранения. Температура $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ допустима для кратковременного хранения свежесобранных семян хвойных. Температуру $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ можно рекомендовать для хранения семян в течение нескольких лет. Предполагается, что неограниченно длительное хранение семян хвойных пород возможно только в условиях криоконсервации. Продолжение исследования должно показать, насколько верно это предположение.

Литература

1. Бутенко О.Ю., Бондаренко А.С., Пелевина Н.Н. Влияние режимов замораживания и оттаивания на всхожесть семян сосны и ели // Труды СПб НИИЛХ. – 2014. – № 1. – С. 38–46.
2. Вепринцев Б.Н., Ротт Н.Н. Проблема сохранения генофонда. – М.: Знание, 1985. – С. 1–59.
3. Вепринцев Б.Н., Ротт Н.Н. Стратегия сохранения животного и растительного мира Земли // Консервация генетических ресурсов: Методы, проблемы, перспективы. – Пущино, 1991. – С. 5–18.
4. Грищенко В.И. Итоги и перспективы развития криобиологии и криомедицины // Криобиология. – 1988. – № 3. – С. 5–11.
5. Далецкая Т.В., Полякова Е.Н. Влияние криоконсервации на прорастание семян и некоторые стороны метаболизма // Биофизика живой клетки: Криоконсервация генетических ресурсов в проблеме сохранения биоразнообразия. – Т. 6. – 1994. – С. 81–85.
6. Жигонов А.В., Маркова И.А., Бондаренко А.С. Статистическая обработка материалов лесокультурных исследований. – СПб., 2002. – 86 с.
7. Илли И.Э. Жизнеспособность семян // Физиология семян. – М.: Наука, 1982. – С. 102–124.
8. Лихачев Б.С. Определение силы роста семян зерновых культур по морфологической оценке проростков. Методические указания. – Л.: ВИР, 1975. – 15 с.
9. Мануильский В.Д. Формирование криорезистентности и устойчивости растений к низким температурам. – Киев, 1992. – 186 с.
10. Молканова О.И., Коротков О.И., Ветчинкина Е.М. и соавт. Генетические банки растений: проблемы формирования, сохранения и использования // Вестник Удмуртского университета. – 2010. – Вып. 3. – С. 33–39.
11. Молодкин В.Ю. Значение влажности семян некоторых зерновых и зерновых бобовых культур при криоконсервации в жидком азоте // Бюлл. ВИР. – 1986. – № 165. – С. 22–24.
12. Нестерова С.В. Криоконсервация семян дикорастущих растений Приморского края // Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – Владивосток, 2004. – 24 с.
13. Николаева М.Г. Эколого-физиологические особенности покоя и прорастания семян: Итоги исследований за истекшее столетие // Ботанический журн. – 2001. – № 12. – С. 1–14.
14. Орехова Т.П. Семена дальневосточных древесных растений (морфология, биохимия и хранение). – Владивосток, 2005. – 161 с.
15. Орехова Т.П. Создание длительного хранения банка семян древесных видов – реальный способ сохранения их генофонда // Хвойные бо-

реальной зоны. – 2010. – Т. XXVII. – № 1–2. – С. 25–31.

16. Розанов С.И. Место генетических криобанков в решении проблемы сохранения биоразнообразия // Биофизика живой клетки. – М., 1994. – Т. 6. – С. 8–13.

17. Родин А.Р., Калашикова Е.А., Родин С.А., Силаев Г.В. Лесные культуры. – М., 2002. – 440 с.

18. Сафина Г.Ф. Влияние низких и сверхнизких температур на жизнеспособность семян плодовых и ягодных растений // Вестник ВОГиС. – 2008. – Т. 12. – С. 541–547.

19. Сафина Г.Ф., Бурмистров Л.А. Низкотемпературное и криогенное хранение семян груши *Pyrus L.* // Цитология. – 2004. – Т. 46. – С. 851.

20. Сидор А.И., Ковалевич А.И., Кончиц А.П. и соавт. Исследование качественных показателей семян сосны обыкновенной при длительном хранении // Лесное и охотничье хозяйство. – 2011. – № 11. – С. 22–32.

21. Тихонова В.Л. Долговременное хранение семян // Физиол. растений. – 1999. – Т. 46. – № 3. – С. 467–476.

22. Федосенко В.А. Использование сверхнизких температур для длительного хранения семян: Методы и техника // Бюлл. ВИР. – 1978. – № 77. – С. 53–57.

23. Указания по лесному семеноводству в Российской Федерации. – М.: ВНИИЦлесресурс, 2000. – 197 с.

24. Bonner F.T. Storage of seeds: Potential and limitation for germplasm conservation // Forst. Ecol. Management. – 1990. – Vol. 35. – P. 35–43.

25. De Candolle A. De la germination sous les degrees divers de temperature constante // Arch. Sci. Phys. Nat. – 1865. – Vol. 24. – P. 243–282.

26. De Candolle C., Pictet R. Recherches concernant l'action des basses tempertues sur la faculte germinative des grains // Arch. Sci. Phys. Nat. – 1879. – Vol. 354. – P. 629.

27. Dewar J., McKendrick J.G. On liquid air // Proc. Roy. Inst. – 1892. – Vol. 12. – P. 699.

28. Genebank Standards. – Rome: FAO/IPGRI, 1994.

29. Gresshoff P., Gartner E. Cryopreservation of *Arabidopsis thaliana* and other seeds by storage in liquid nitrogen // Arabidopsis Inform. Service. – 1977. – Vol. 14. – P. 12.

30. Pita J.M., Sanz V., Escudo A. Seed cryopreservation of seven Spanish native pine species // Silvae genet. – 1998. – Vol. 47. – P. 220–223.

31. Sakai A., Noshiro M. Some factors contributing to the survival of crop seeds cooled to the temperature of liquid nitrogen // Crop Genetic Resources for Today and Tomorrow / Ed. by H. Frankel and J.G. Hawkes. – Cambridge Univ. Press, 1975. – P. 317–326.

32. Stanwood P.C., Bass L.N. Ultracold preservation of seed germplasm // Plant Cold Hardiness and Freezing Stress / Ed. by Ph. Li, A. Sakai. – N. Y., 1978. – P. 361–371.

33. Stanwood P.C., Bass L.N. Seed germplasm preservation using liquid nitrogen // Seed Sci. Technol. – 1981. – Vol. 9. – P. 423–437.

