

Ромаданова Н.В.,
Мишустина С.А.,
Карашолакова Л.Н.,
Аралбаева М.М.,
Кабулова Ф.Д.,
Абидкулова К.Т.,
Кушнаренко С.В.

**Введение в культуру *in vitro*
дикорастущих видов *Berberis*
флоры Казахстана и
Узбекистана**

В статье приведены результаты по введению в культуру *in vitro* 4 видов барбариса (*Berberis iliensis*, *B. sphaerocarpa*, *B. integerrima* и *B. oblonga*). Семена 11 форм *B. iliensis* и 7 форм *B. sphaerocarpa* были собраны из дикорастущих популяций Алматинской области Казахстана; 22 форм *B. integerrima* и 2 форм *B. oblonga* – в Заравшанском заповеднике Республики Узбекистан. Подобраны условия проращивания семян во влажном перлите и стерилизации апексов побегов в растворе 0,1% $HgCl_2$ в течение 7 минут, позволяющие получать 50% жизнеспособных побегов. Проверка растительного материала в культуре *in vitro* на наличие эндофитной инфекции на специализированной среде 523 позволила получить 100% асептический материал. Созданная коллекция барбариса *in vitro*, состоящая из 42 образцов будет использована для микроклонального размножения и создания криогенного банка, а также для закладки элитных питомников и для международного обмена генетическими ресурсами.

Ключевые слова: *Berberis*, семена, культура *in vitro*, асептическая коллекция.

Romadanova N.V.,
Mishustina S.A.,
Karasholakova L.N.,
Aralbaeva M.M.,
Kabulova F.D.,
Abidkulova K.T.,
Kushnarenko S.V.

**Introduction of wild berberis
species of Kazakhstan and
Uzbekistan flora into *in vitro*
culture**

The article shows the results on the introduction of 4 barberry species into *in vitro* culture (*B. iliensis*, *B. sphaerocarpa*, *B. integerrima* and *B. oblonga*). The seeds of 11 forms of *B. iliensis* and 7 forms of *B. sphaerocarpa* were collected from wild populations of Almaty region of Kazakhstan; 22 forms of *B. integerrima* and 2 forms of *B. oblonga* were collected in Zarafshan National Park of Uzbekistan. The conditions for seed germination in moist perlite and sterilization of apical shoots in 0,1% $HgCl_2$ solution for 7 minutes were selected allowing to obtain 50% of viable shoots. Testing of the plant material in the *in vitro* culture for the presence of endophytic infection on specialized medium 523 let to get 100% aseptic material. Established aseptic *in vitro* collection of barberry consisting of 42 accessions will be used for micropropagation and the creation of a cryogenic bank, as well as for setting up elite nurseries and for the international exchange of genetic resources.

Key words: *Berberis*, seeds, *in vitro*, aseptic collection.

Ромаданова Н.В.,
Мишустина С.А.,
Карашолакова Л.Н.,
Аралбаева М.М.,
Кабулова Ф.Д.,
Абидкулова К.Т.,
Кушнаренко С.В.

**Қазақстан мен Өзбекстан
флорасының жабайы өсетін
berberis түрлерін *in vitro*
культурасына енгізу**

Мақалада бөріқарақаттың 4 түрін (*B. iliensis*, *B. sphaerocarpa*, *B. integerrima* и *B. oblonga*) *in vitro* культурасына енгізудің нәтижелері берілген. Микроклонды көбейтудің биотехнологиялық регламентін жасауда негіз болатын, *B. iliensis* өсімдігінің 11 формасы және *B. sphaerocarpa* өсімдігінің 7 формасының тұқымдары Қазақстанның Алматы облысындағы жабайы популяцияларынан; *B. integerrima* өсімдігінің 22 формасы және *B. oblonga* өсімдігінің 2 формасының тұқымдары Өзбекстан Республикасының Заравшан қорығында жиналды. Ылғал перлитте тұқымдарды өсіру және 50% тіршілікке қабілетті өскіндерді алуға мүмкіндік беретін 7 минут бойы 0,1% $HgCl_2$ ерітіндісінде өскіндердің апекстерін залалсыздандыру жағдайлары таңдалды. Өсімдік материалын *in vitro* культурасында 523 арнайы ортасында эндофитті инфекцияға тексеру арқылы 100% асептикалық материал алынды. Бөріқарақаттың 42 үлгісінен жасалған *in vitro* асептикалық коллекциясы микроклонды көбейту және криогенді банк құру үшін, сондай-ақ, элиталы тәлімбақтарды отырғызуда және генетикалық ресурстармен халықаралық алмасуда қолданылады.

Түйін сөздер: *Berberis*, тұқым, *in vitro* культурасы, асептикалық коллекция.

^{1*}Ромаданова Н.В., ¹Мишустина С.А.,
^{1,3}Карашолакова Л.Н., ¹Аралбаева М.М., ²Кабулова Ф.Д.,
³Абидкулова К.Т., ¹Кушнарченко С.В.

¹РГП «Институт биологии и биотехнологии растений» КН МОН РК,
Республика Казахстан, г. Алматы

²Самаркандский государственный университет имени Алишера Навои,
Республика Узбекистан, г. Самарканд

³Казахский национальный университет имени аль-Фараби,
Республика Казахстан, г. Алматы

*E-mail: nata_romadanova@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* ДИКОРАСТУЩИХ ВИДОВ *BERBERIS* ФЛОРЫ КАЗАХСТАНА И УЗБЕКИСТАНА

Введение

В настоящее время возрастает угроза утраты биоразнообразия дикоплодовых лесов, вследствие нарушенных экологических условий их произрастания, отсутствия технологии оздоровления и сохранения. Казахстанскими учеными выявлена тенденция резкого сокращения площадей горных и тугайных лесов, площадь которых составляют менее 10% от площади, занимаемой ими в 60-х годах XX века [1]. Такое сокращение приводит к утрате многих ценных, редких и реликтовых видов растений и животных, к понижению водоохранной, водорегулирующей, берегозащитной и мелиоративной роли тугайных лесов [2]. Принимаются различные программы по сохранению и восстановлению тугайных лесов вдоль рек Сырдарья, Или, Таласа и других, а также и гор Каратау [3]. С местным населением ведутся беседы для повышения осведомленности, на данных участках запрещена хозяйственная деятельность, однако общая численность лесов постоянно сокращается. Барбарис илийский (*Berberis iliensis* M. Pop.) и барбарис каркаралинский (*Berberis karkaralensis* Kornilova & Potapov) занесены в Красную книгу Казахстана. Другие виды растений тугайных лесов, в том числе и другие виды казахстанского барбариса, могут также оказаться под угрозой исчезновения [4-7].

Барбарис илийский в Казахстане встречается в Джунгарском и Терской Алатау, Кетменьтау, в долине реки Или; барбарис цельнокрайний (*Berberis integerrima* Bunge) – в Таласском Алатау; барбарис продолговатый (*Berberis oblonga* (Regel) S.K.Schneid) – в Таласском Алатау, в горах Каратау; барбарис круглоплодный (*Berberis sphaerocarpa* Kar. et Kir.) – на Алтае, Тарбагатае, Заилийском, Джунгарском, Киргизском, Терской, Кунгей Алатау и Кетменьтау. В основном – это кустарники, плоды, листья, кора, древесина и корни которых обладают различными полезными свойствами. Уже в древней Греции барбарис использовали в качестве средства, очищающего кровь. В монастырях Тибета и Пакистана барбарис считался растением, которое продлевает молодость. Ибн Сина указывал на желче-

гонные и кровоостанавливающие свойства барбариса азиатского. В Казахстане настойку из корней, стеблей и коры использовали при кровотечениях, воспалительных процессах, лечении простуд, как жаропонижающее, противомикробное средство. Наши предки знали, что барбарис обладает кровоостанавливающими свойствами, использовали его для выведения токсинов, очищения организма, замедления процессов старения [8-12].

Учитывая все полезные свойства барбариса, важно на данный момент изучить и сохранить это уникальное растение, находящийся под угрозой исчезновения. Решением этой проблемы может стать сохранение редких и исчезающих видов в коллекциях *in vitro* при температуре +24°C, при пониженных температурах +4°C (хладохранение), сохранение семян при температуре -20°C и криоконсервация гермоплазмы – прогрессивная методика длительного сохранения генетического материала в криобанках при температуре -196°C в жидком азоте [13-15]. На начальном этапе для осуществления сохранения барбариса необходимо ввести природный материал в культуру *in vitro*.

Целью настоящей работы являлась разработка биотехнологии введения в культуру *in vitro* растительного материала и получение коллекции асептических растений четырех видов барбариса.

Материалы и методы

Отобраны для введения в культуру *in vitro* следующие виды барбариса флоры Казахстана и Узбекистана: барбарис илийский (*Berberis iliensis* M. Pop.), барбарис круглоплодный (*Berberis sphaerocarpa* Kar. et Kir.), барбарис цельнокрайний (*Berberis integerrima* Bunge) и барбарис продолговатый *Berberis oblonga* (Regel) C.K.Schneid (рисунок 1).

Для введения в культуру *in vitro* использовали:

1) семена, пророщенные во влажном перлите. Подсушенные семена, освобожденные от мякоти плода, сразу после сбора и после 3 месяцев хранения при +4 °С помещали на 1-1,5 см в глубину во влажный перлит и проращивали в течение 2-4 недель при температуре 23-25°C, освещенности 40 мкЕ•м⁻²•с⁻¹, 16-ти часовом фотопериоде. Лабораторную всхожесть (ЛВ) семян определяли через 4 недели.



А – Казахстан: с. Баканас (1), ущелье Алмарасан (2), урочище Кербулак (3), Чарынский каньон (4);
В – Узбекистан: Заравшанский заповедник (5)

Рисунок 1 – Места сбора дикорастущих видов барбариса на территории Казахстана и Узбекистана

2) семена, пророщенные на питательной среде. Семена обрабатывали раствором коммерческого отбеливателя «Белизна», содержащего NaClO (1% активный Cl₂), разбавленного 1:1, в течение 5 минут, и помещали на питательную среду Мурасиге и Скуга (МС) [16] с добавлением 30 г/л сахарозы, 0,5 мг/л 6-бензиламинопу-

рина (БАП), 0,01 мг/л индолилмасляной кислоты (ИМК), 4 г/л агара, 1,25 г/л джелрайта, рН 5,7, и проращивали в течение 2-4 недель;

3) зеленые побеги, пророщенные в лабораторных условиях из черенков. Для стимуляции побегообразования из покоящихся почек черенки размером 25-30 см помещали в сосуды с

чередованием через каждые 2 суток: 1) с водой; 2) с раствором, содержащим $\frac{1}{2}$ концентрацию минеральных солей МС с 30 г/л сахарозы, 1 мг/л гибберелловой кислоты (ГК), pH 5,7 (рисунок-2А).

Через 2-4 недели отросшие побеги из семян и черенков длиной 0,5-1 см срезали и в ламинарном боксе стерилизовали: 1) в 0,1% растворе сулемы (HgCl_2) в течение 3, 5, 7, 10 мин; 2) в 3% растворе перекиси водорода (H_2O_2) в течение 5 и 10 мин; 3) в 1% растворе дioxлора в течение 5 и 10 мин; 4) в растворе отбеливателя «Белизна», разбавленного 1:1 в течение 5 и 10 мин с последующим промыванием в стерильной воде.

Асептические верхушки побегов после стерилизации помещали в пробирки со средой МС, содержащей 30 г/л сахарозы с добавлением регуляторов роста: 0,5 мг/л БАП, 0,01 мг/л ИМК, 1,75 г/л джелрата, 4 г/л агара, pH 5,7 (рисунок 2 В). Размноженные побеги переносили в культуральные сосуды с питательной средой того же состава.

Проверку пробирочных растений барбариса на наличие эндофитной инфекции осуществляли на специализированной среде 523 следующего состава: 10 г/л сахарозы, 8 г/л гидролизата казеина, 4 г/л дрожжевого экстракта, 2 г/л KH_2PO_4 , 0,15 г/л $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ и 6 г/л джелрайта [17]. Основания микрочеренков (3-5 мм) помещали в чашки Петри с питательной средой и выдерживали при температуре 25°C в течение 1 недели.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили по общепринятым методам [18].

Результаты и их обсуждение

Сбор растительного материала

В экспедиции при сборе черенков, плодов, было отмечено, что исследуемые виды барбариса отличаются большим внутривидовым разнообразием. Так, нам удалось собрать в Заравшанском заповеднике Республики Узбекистан 22 формы *B. integerrima* и 2 формы *B. oblonga*, которые отличались формой, размером и цветом плодов, листьев, колючек и кустарников (рисунок 3 А, 3 В, 3 С). Из коллекции АО «Лесной питомник», из поймы реки Или: с. Баканас и урочища Кербулак было привезено – 11 форм *B. iliensis*, из ущелья Алмарасан – 7 форм *B. sphaerocarpa*.

Проращивание семян различных форм барбариса

В результате эксперимента по влиянию хранения при пониженной температуре на лабораторную всхожесть семян, не было выявлено

достоверных отличий между количеством проросших побегов из свежесобранных высушенных семян и после хранения семян при +4°C в течение 3 месяцев (таблица 1). ЛВ семян варьировала от 68,3 до 85,4% и в среднем для исследуемых видов составила 78,8%. Не было также выявлено достоверных различий между ЛВ семян различных видов барбариса.



А – Проращивание черенков *Berberis sphaerocarpa* на питательной среде МС с 30 г/л сахарозы, 1 мг/л ГК, pH 5,7; В – развитие побегов *Berberis oblonga* в культуре *in vitro* на питательной среде: 0,5 мг/л БАП, 0,01 мг/л ИМК, 1,75 г/л джелрата, 4 г/л агара, pH 5,7

Рисунок 2 – Введение барбариса в культуру *in vitro*

На первоначальных этапах семена погружали в перлит без предварительных обработок, однако для того чтобы отделить бракованные, все семена были замочены в воде в течение 1-3 суток. В результате было установлено, что ЛВ семян, например, у барбариса цельнокрайне-го формы 16 после замачивания увеличилась с 51,5% до 100%. Процент всхожести семян в среднем по всем образцам увеличился с 79,4% до 94,3% (таблица 2, рисунок 4 А, В).

Для проращивания на питательной среде, были отобраны семена *Berberis sphaerocarpa*. Установлено, что этот способ малоэффективен для барбариса, так как из 190 семян проросло всего 5, возможно в дальнейшем, для оптимизации этого способа потребуется модификация питательной среды и дополнительная обработка семян (замачивание, стратификация, скарификация и др.).

Высокий процент побегообразования был отмечен при стимуляции побегов из покоящихся почек, однако 50% образовавшихся побегов были генеративными, процент введения в культуру *in vitro* составил всего 13,3%.



Кустарники в пойме реки Заравшан: А – форма 1; В – форма 6;
С – внутривидовое разнообразие плодов

Рисунок 3 – *Berberis integerrima*

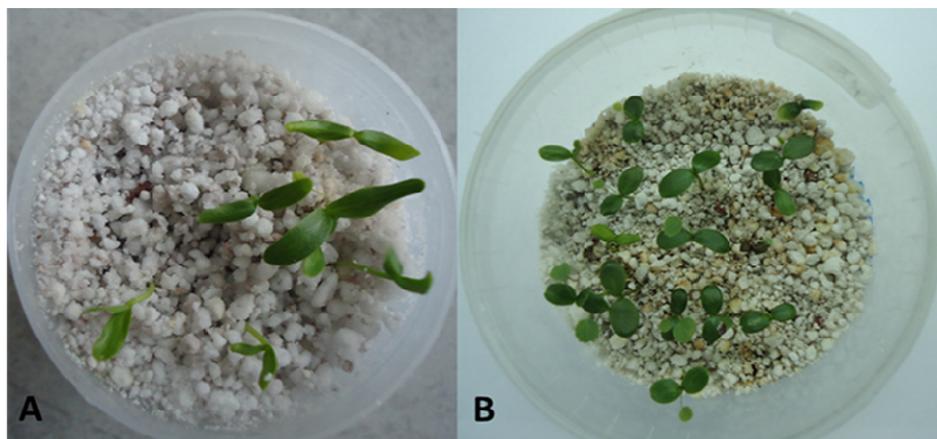
Таблица 1 – Лабораторная всхожесть семян барбариса (БЦ – барбарис цельнокрайний, БП – б. продолговатый, БИ – б. илийский, БК – б. круглоплодный)

Наименование образца	Всхожесть семян после сбора			Всхожесть семян после 3 месяцев хранения при +4° С		
	Кол-во высаженных семян, шт	Кол-во проросших семян, шт	ЛВ, %	Кол-во высаженных семян, шт	Кол-во проросших семян, шт	ЛВ, %
БЦ форма 1	39	26	66,7	30	18	60,0
БЦ форма 2	37	23	62,2	40	19	47,5
БЦ форма 3	39	30	76,9	40	32	80,0
БЦ форма 4	38	22	57,9	40	27	67,5
БЦ форма 5	40	33	82,5	40	22	55,0
БЦ форма 16	41	21	51,2	40	40	100
БЦ форма 17	40	33	82,5	40	40	100
БЦ форма 18	37	24	64,9	40	39	97,5
БЦ форма 20	40	28	70,0	41	37	90,2
Ср. зн.±ст. откл			68,3±10,2 ^a			77,5±19,4 ^a
БП форма 1	70	62	88,6	41	36	87,8
БП форма 2	50	41	82,0	35	29	82,9
Ср. зн.±ст. откл			85,3±3,3 ^a			85,4±2,5 ^a
БИ форма 1	100	79	79,0	40	27	67,5
БИ форма 2	120	104	86,7	40	32	80,0
БИ форма 3	200	167	83,5	40	35	87,5
Ср. зн.±ст. откл			83,1±3,2 ^a			78,3±8,2 ^a
БК форма 1	70	59	84,3	40	28	70,0
БК форма 2	100	84	84,0	40	22	55,0
БК форма 3	170	127	74,7	40	36	90,0
Ср. зн.±ст. откл			81,0±4,5 ^a			71,7±14,3 ^a
Примечание – Значения, обозначенные одинаковыми буквами, не различаются достоверно между собой при p<0,01						

Таблица 2 – Лабораторная всхожесть семян барбариса

Наименование образца	Всхожесть семян без замачивания в воде			Всхожесть семян после замачивания в воде		
	Кол-во высаженных семян, шт	Кол-во проросших семян, шт	ЛВ,%	Кол-во высаженных семян, шт	Кол-во проросших семян, шт	ЛВ,%
БЦ форма 1	39	26	66,7	30	28	93,3
БЦ форма 2	37	23	62,2	30	29	96,7
БЦ форма 3	39	30	76,9	30	30	100,0
БЦ форма 4	38	22	57,9	30	27	90,0
БЦ форма 5	40	33	82,5	30	28	93,3
БЦ форма 16	41	21	51,2	30	30	100
Ср. зн.±ст. откл			66,2±10,7 ^a			95,6±3,7 ^b
БП форма 1	70	62	88,6	20	18	90,0
БП форма 2	50	41	82,0	20	19	95,0
Ср. зн.±ст. откл			85,3±3,3 ^{ab}			92,5±2,5 ^b
БИ форма 1	100	79	79,0	40	37	92,5
БИ форма 2	120	104	86,7	40	36	90,0
БИ форма 3	200	167	83,5	40	40	100
Ср. зн.±ст. откл			83,1±3,2 ^{ab}			94,2±4,2 ^b
БК форма 1	70	59	84,3	40	38	95,0
БК форма 2	100	84	84,0	40	40	100,0
БК форма 3	170	127	74,7	40	36	90,0
Ср. зн.±ст. откл			81,0±4,5 ^{ab}			95,0±4,1 ^b

Примечание – Значения, обозначенные разными буквами, различаются достоверно между собой при $p < 0,01$



А – Проростки из семян, не подвергнутых замачиванию в воде перед посадкой, ЛВ – 55%;
 В – проростки из семян, перед посадкой замоченных в воде в течение 3 суток, ЛВ – 100%

Рисунок 4 – Проращивание семян *Berberis integerrima* во влажном перлите

Введение в культуру in vitro

Следующим этапом работы было введение отросших побегов в культуру *in vitro*. Для чего через 2-4 недели апексы побегов длиной 0,5-1 см срезали и в ламинарном боксе обрабатывали стерилизующими реагентами. В изученной нами литературе приводятся данные по обработке проросших почек *Berberis buxifolia* Lam. раствором NaClO в течение 5 минут, при этом

авторами получено 13% асептического материала [19]. В наших экспериментах при обработке «Белизной», содержащей NaClO, в течение 5 минут жизнеспособность составила – 10,6%, а в течение 10 минут – 19,0% (рисунок 5).

В статье Азаровой и др. приводятся данные о 40% жизнеспособности эксплантов *Berberis thunbergii* DC., которые обрабатывали 100% раствором «Белизны» [20]. В данном случае, не-

разбавленный раствор «Белизны» стал бы губительным для нежных, пророщенных из черенков и семян в лабораторных условиях эксплантов. Возможно, этот способ стерилизации можно использовать для обработки апексов побегов, проросших в полевых условиях, и его можно будет применять как альтернативный метод стерилизации в растворе 0,1% $HgCl_2$ в течение 7 минут. Так как установлено, что этот способ является

наиболее эффективным для всех исследуемых видов барбариса: обработка в течение 7 мин – 52,3%. и 10 мин – 50,9% жизнеспособности, пробирки, в которых был отмечен некроз или инфицированность побегов отбраковывали (рисунок-6). Стерилизация растворами H_2O_2 , деохлора мало эффективна, процент жизнеспособности при этих режимах обработки составляет от 4,2% до 10,6%, в среднем – 6,5%.

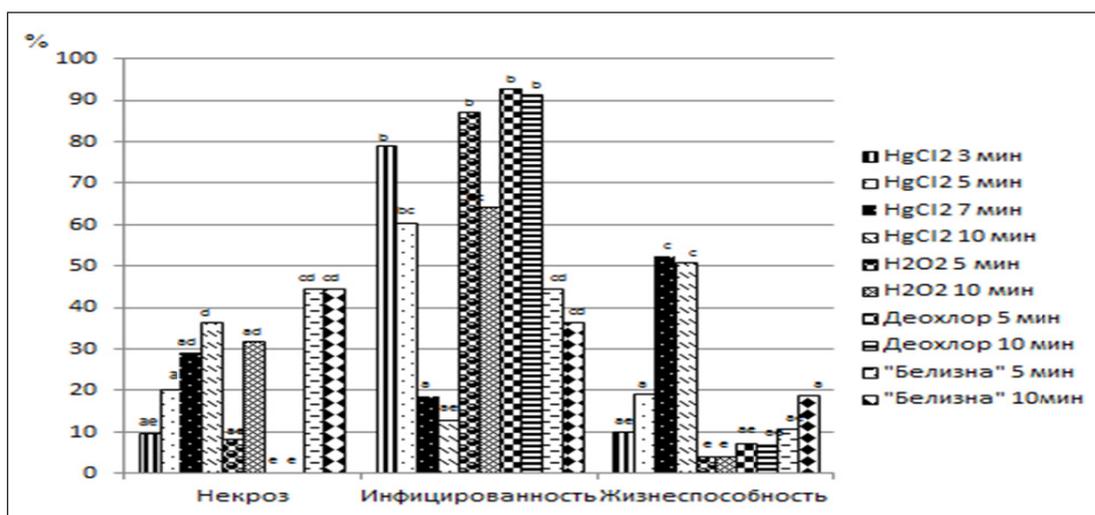


Рисунок 5 – Результаты введения в культуру *in vitro* апексов побегов *B. integerrima*, *B. iliensis* и *B. oblonga*, *B. sphaeocarpa*, пророщенных из семян во влажном перлите. Значения, обозначенные разными буквами, различаются достоверно между собой при $p < 0,01$

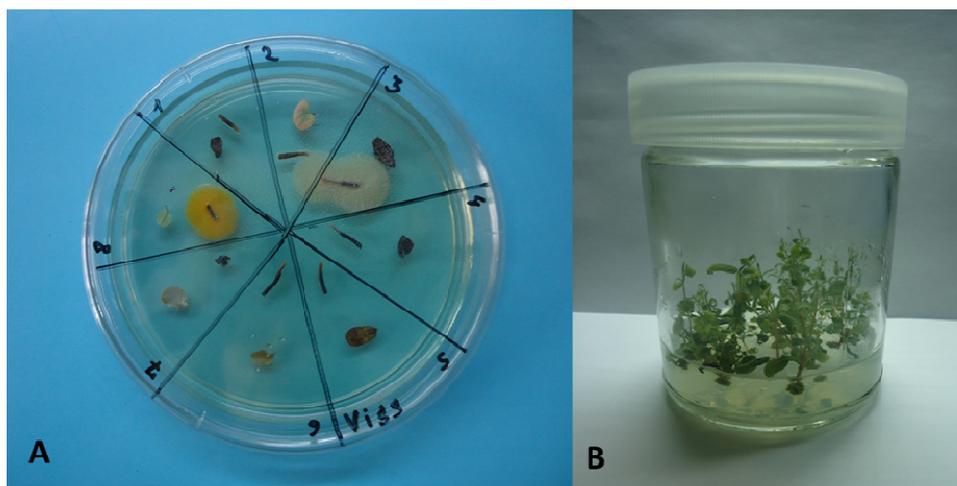


А – апексы, пораженные бактериальной инфекцией, В – апексы, пораженные грибной инфекцией, С – некроз побегов, D – асептические побеги

Рисунок 6 – Развитие апексов побегов *Berberis integerrima* (форма 17) в культуре *in vitro* в светокультуральной

Провели проверку на наличие эндофитной инфекции на специализированной среде 523 (рисунок-7А). Отбраковали растения, в которых была обнаружена скрытая инфекция. Для микроклонального размножения использовали растения, в которых инфицированность была исключена. Асептические побеги пассировали в мадженты на свежую питательную среду для размножения с интервалом 3-4 недели (рисунок-7В).

Следующим этапом нашей работы будет оптимизация питательных сред для ускоренного микроклонального размножения барбариса. Полученная коллекция барбариса в культуре *in vitro* послужит основой для создания криогенного банка, а также для проведения широкого спектра биологических и медицинских исследований.



А – проверка на среде 523 введенных в культуру *in vitro* эксплантов на наличие эндофитной микрофлоры, В – развитие асептических побегов в светокультуральной комнате

Рисунок 7 – *Berberis iliensis* форма 10

Среди них, прежде всего, разработка надежной методологии сохранения генетических ресурсов, особенно редких и исчезающих видов с возможной последующей их реинтродукцией в естественные места обитания. Созданная крио-

коллекция может быть вовлечена в селекционный процесс по улучшению существующих и созданию новых сортов, для закладки элитных питомников, а также для международного обмена генетическими ресурсами.

Литература

- 1 Мухитдинов Н.М., Аметов А., Абидкулова К.Т. Состояние ценопопуляций редкого и эндемичного вида *Berberis iliensis*. – Гамбург: Lap Lambert Academic Publishing, 2014. – 53 с.
- 2 Кулик К.Н. Агроресурсоформирующее картографирование и фитоэкологическая оценка аридных ландшафтов. Волгоград: Изд-во ВНИАЛМИ, 2004. – 248 с.
- 3 http://www.wwf.ru/about/where_we_work/asia/kazakh/eng
- 4 Мухитдинов Н.М., Аметов А.А., Абидкулова К.Т., Ыдырыс А. Некоторые фитоценоотические особенности популяций *Berberis iliensis* М. Поп. // Вестник Иссык-Кульского университета. – 2010. – № 27. – С. 233-237.
- 5 Красная книга Казахской ССР. Часть 2. Растения. – Алма-Ата, 1981. – 263 с.
- 6 Кокорева И.И. Растения Джунгарского Заилийского Алатау, нуждающиеся в охране. – Алматы, 2007. – 212 с.
- 7 Begenov A., Mukhitdinov N., Ametov A., Nazarbekova S., Kuatbayev A., Tynybekov B., Abidkulova K., Ydyrys A. Assessment of the current status of populations of Kazakh rare plants (*Berberis iliensis* M. Pop.) // World Applied Sciences Journal. – 2014. – Vol. 30 (1). – P. 105-109.
- 8 Abbasi A.M., Khan M.A., Khan N., Shah M.H. Ethnobotanical survey of medicinally important wild edible fruits species used by tribal communities of Lesser Himalayas-Pakistan // Journal Ethnopharmacology. – 2013, Jul. 9. – Vol. 148 (2). – P. 528-536.
- 9 Гаммерман А.Ф., Кадаев Г.Н., Яценко-Хмелевский А.А. Лекарственные растения (Растения-целители) // Справ. пособие. – 4-е изд., испр. и доп. – М.: Высш. шк, 1990. – 544 с.
- 10 Fatehi M., Saleh T.M., Fatehi-Hassanabad Z., Farrokhfah K., Jafarzadeh M., Davodi M. A pharmacological study on *Berberis vulgaris* fruit extract // Journal of Ethnopharmacology. – 2005. – Vol. 102 (1). – P. 46–52.
- 11 Mokhber-Dezfuli N., Saeidnia S., Gohari A.R., Kurepaz-Mahmoodabadi M. Phytochemistry and Pharmacology of *Berberis* Species // Pharmacogn Rev. – 2014. – Vol. 8 (15). – P. 8-15.
- 12 Arayne M.S., Sultana N., Bahadur S.S. The berberis story: *Berberis vulgaris* in therapeutics // Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2007. – Vol. 20 (1). – P. 83-92.
- 13 Engelmann F. Use of biotechnologies for the conservation of plant biodiversity // In Vitro Cellular & Developmental Biology. – Plant. – 2011. – Vol. 47 (1). – P. 5-16.
- 14 Keller E. R. J.; Kaczmarczyk A.; Senula A. Cryopreservation for plant genebanks – a matter between high expectations and cautious reservation // CryoLetters, N. 1. – 2008, –P. 53-62.
- 15 Lynch P.T., Benson E.E., Harding K. Climate change: the role of ex situ and cryo-conservation in the future security of economically important, vegetatively propagated plants // J. Horticultural Science & Biotechnology. – 2007. – Vol. 82, N. 2. – P. 157-160.

- 16 Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture // *Physiol. Plant.* – 1962. – Vol. 15. – P. 473-479.
- 17 Viss P.R., Brooks E.M., Driver J.A. A simplified method for the control of bacterial contamination in woody plant tissue culture // *In Vitro Cell. Dev. Biol.* – 1991. – Vol. 27. – C. 42.
- 18 Лакин Г.Ф. Биометрия // М.: Высшая школа, 4 изд., – 1990. – 213 с.
- 19 Arena M.E., Pastur G.M., Vater G. In vitro propagation of *Berberis buxifolia* Lam. // *Biocell issn.* – 2000, – Vol. 24 (1). – P. 73-80.
- 20 Азарова О.В., Громова А.И. Перспективы использования микроклонального размножения для кустарниковых пород // Научное издание: «Современная наука: теоретический и практический взгляд». – 2015. – С. 43-46.

References

- 1 Muhitdinov N.M., Ametov A., Abidkulova K.T. Sostojanie cenopopuljacij redkogo i jendemichnogo vida *Berberis iliensis*. – Gamburg: Lap Lambert Academic Publishing, 2014. – 53 s.
- 2 Kulik K.N. Agrolesomeliorativnoe kartografirovanie i fitojekologicheskaja ocenka aridnyh landshaftov. Volgograd: Izd-vo VNIALMI, 2004. – 248 s.
- 3 http://www.wwf.ru/about/where_we_work/asia/kazakh/eng
- 4 Muhitdinov N.M., Ametov A.A., Abidkulova K.T., Ydyrys A. Nekotorye fitocenoticheskie osobennosti populjacij *Berberis iliensis* M. Pop. // *Vestnik Issyk-Kul'skogo universiteta.* – 2010. – № 27. – S. 233-237.
- 5 Krasnaja kniga Kazahskoj SSR. Chast' 2. Rastenija. – Alma-Ata, 1981. – 263 s.
- 6 Kokoreva I.I. Rastenija Dzhungarskogo Zailijskogo Alatau, nuzhdajushiesja v ohrane. – Almaty, 2007. – 212 s.
- 7 Begenov A., Mukhitdinov N., Ametov A., Nazarbekova S., Kuatbayev A., Tynybekov B., Abidkulova K., Ydyrys A. Assessment of the current status of populations of Kazakh rare plants (*Berberis iliensis* M. Pop.) // *World Applied Sciences Journal.* – 2014. – Vol. 30 (1). – P. 105-109.
- 8 Abbasi A.M., Khan M.A., Khan N., Shah M.H. Ethnobotanical survey of medicinally important wild edible fruits species used by tribal communities of Lesser Himalayas-Pakistan // *Journal Ethnopharmacology.* – 2013, Jul. 9. – Vol. 148 (2). – P. 528-536.
- 9 Gammerman A.F., Kadaev G.N., Jacenko-Hmelevskij A.A. Lekarstvennye rastenija (Rastenija-celiteli) // *Sprav. posobie.* – 4-e izd., ispr. i dop. – М.: Vyssh. shk, 1990. – 544 s.
- 10 Fatehi M., Saleh T.M., Fatehi-Hassanabad Z., Farrokhfal K., Jafarzadeh M., Davodi M. A pharmacological study on *Berberis vulgaris* fruit extract // *Journal of Ethnopharmacology.* – 2005. – Vol. 102 (1). – P. 46-52.
- 11 Mokhber-Dezfuli N., Saeidnia S., Gohari A.R., Kurepaz-Mahmoodabadi M. Phytochemistry and Pharmacology of *Berberis* Species // *Pharmacogn Rev.* – 2014. – Vol. 8 (15). – P. 8-15.
- 12 Arayne M.S., Sultana N., Bahadur S.S. The berberis story: *Berberis vulgaris* in therapeutics // *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences.* – 2007. – Vol. 20 (1). – P. 83-92.
- 13 Engelmann F. Use of biotechnologies for the conservation of plant biodiversity // *In Vitro Cellular & Developmental Biology.* – Plant. – 2011. – Vol. 47 (1). – P. 5-16.
- 14 Keller E. R. J.; Kaczmarczyk A.; Senula A. Cryopreservation for plant genebanks – a matter between high expectations and cautious reservation // *CryoLetters*, N. 1. – 2008, –P. 53-62.
- 15 Lynch P.T., Benson E.E., Harding K. Climate change: the role of ex situ and cryo-conservation in the future security of economically important, vegetatively propagated plants // *J. Horticultural Science & Biotechnology.* – 2007. – Vol. 82, N. 2. – P. 157-160.
- 16 Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture // *Physiol. Plant.* – 1962. – Vol. 15. – P. 473-479.
- 17 Viss P.R., Brooks E.M., Driver J.A. A simplified method for the control of bacterial contamination in woody plant tissue culture // *In Vitro Cell. Dev. Biol.* – 1991. – Vol. 27. – C. 42.
- 18 Lakin G.F. *Biometrija* // М.: Vysshaja shkola, 4 izd., – 1990. – 213 s.
- 19 Arena M.E., Pastur G.M., Vater G. In vitro propagation of *Berberis buxifolia* Lam. // *Biocell issn.* – 2000, – Vol. 24 (1). – P. 73-80.
- 20 Azarova O.V., Gromova A.I. Perspektivy ispol'zovanija mikroklonal'nogo razmnozhenija dlja kustarnikovyh porod // *Nauchnoe izdanie: «Sovremennaja nauka: teoreticheskij i prakticheskij vzgljad».* – 2015. – S. 43-46.