

МИКРОКЛОНАЛЬНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ *GENISTA SCYTHICA* PACZ. И *GENISTA TANAITICA* P. SMIRN НА БАЗЕ ЛАБОРАТОРИИ КЛЕТОЧНЫХ И ГЕНОМНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ БОТАНИЧЕСКОГО САДА ЮФУ

Бакулин Семен Дмитриевич – студент 2 курса магистратуры Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского ЮФУ.

Научный руководитель – Ермолаева Ольга Юрьевна, доцент кафедры ботаники, к.б.н. Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского ЮФУ.

Научный консультант – Чохели Василий Александрович, заведующий Лабораторией клеточных и геномных технологий Ботанического сада ЮФУ, к.б.н. Академии биологии и биотехнологии им. Д. И. Ивановского ЮФУ.

Аннотация: исследована возможность культивирования *G. scythica* и *G. tanaitica* в условиях *in vitro*. Разработана схема стерилизации семенных эксплантов с применением этанола, перекиси водорода и обжига семян в пламени. Подобраны питательные среды для эффективной мультипликации и ризогенеза побегов объектов исследования *in vitro*.

Ключевые слова: Красная книга, Ростовская область, биотехнология мета-тополин, 6-бензиламинопурин, кинетин.

Микроклональное размножение – один из эффективных методов сохранения редких и исчезающих растений [21].

Представители семейства Fabaceae являются важной частью степной флоры России и представлены в Красной книге Ростовской области 17 видами [10. С. 180–187]. Два из них – *Genista scythica* Pacz и *Genista tanaitica* P. Smirn. имеют угрожаемый статус 3 в, д – редкий вид, приуроченный к узким экологическим условиям и обладающий малым ареалом, который частично расположен на территории Ростовской области. [10. С. 193–194]. *G. tanaitica* в Красной книге Российской Федерации имеет статус 3 – редкий вид [9. С. 233].

G. scythica – степной кустарничек с многочисленными желтыми цветками [18. С. 58–59]. Причерноморско-крымский эндемик. Распространён в Украине и в России – в Горном Крыму и Ростовской области [4. С. 301; 5; 6. С. 82; 12. С. 196; 16. С. 164–173; 17. С. 196]. Ксерофитный, гелиофитный, петрофитный и кальцефильный вид. Произрастает на выходах карбонатных пород [5. С. 98]. Хамефит, энтомофил, автохор. Включён в

Красную книгу Украины [12. С. 463], в Приложение к Красной книге России [9. С. 785]. Может использоваться как декоративное, медоносное и противоэрозионное растение. Ядовит [10. С. 193].

Genista tanaitica P. Smirn. – степной кустарник с ярко-желтыми цветками в многочисленных соцветиях [18. С. 67]. Донецко-донской эндемик, распространённый в Украине и в России [2. С. 50–57; 15. С. 26; 13. С. 88; 17. С. 196]. Является ксерофитным, гелиофитным, петрофитным и кальцефитным видом, облигатным меловиком. Предпочитает выходы чистого мелового щебня и плотного коренного мела [1. С. 33–38; 2. С. 50–57]. Нанофанерофит, энтомофил, автохор. Входит в Красную книгу РФ [9. С. 233], в Красные книги Волгоградской [7. С. 111] и Воронежской [8. С. 91] областей. Декоративный, медоносный, противоэрозионный и ядовитый вид [10. С. 194].

Для обоих видов лимитирующими факторами являются: узкая экологическая амплитуда, уничтожение естественных местообитаний, антропогенные нарушения среды обитания, природно-историческая редкость видов [10. С. 193–194].

Неизвестен опыт культивирования *in vitro* данных видов. Удалось обнаружить данные о микроклонировании других представителей рода *Genista*. Для стерилизации *G. monosperma* использовали гипохлорит натрия 2%, для мультипликации – среду ВН + 0,1 мг/л ВАР, для ризогенеза – ВН + 1 мг/л IAA [23. С. 544–545]. В случае с *G. aetnensis*: стерилизация – 70% раствор этанола и 1,05% раствор гипохлорит натрия, а также Tween-20 в дистиллированной воде; мультипликация – MS + 0,1 мг/л ВАР; ризогенез – MS + 1 мг/л IAA [24. С. 559–560]. Для других представителей *Genista* эффективная мультипликация наблюдалась на питательных средах SH + 9,84 мМ DAP + 0,99 мМ TDZ, SH + 4,92 мМ IBA; ризогенез – SH + 2,68 мМ NAA [31. С. 561–567].

Цель исследования – разработать протоколы микроклонального размножения угрожаемых видов, занесенных в Красную книгу Ростовской области *Genista scythica* Pacz и *Genista tanaitica* P. Smirn.

Материалы и методы. Работа была выполнена на базе Лаборатории клеточных и геномных технологий растений Ботанического сада ЮФУ.

Для введения в культуру объектов исследования в качестве эксплантов использовались семена, собранные на Питомнике редких и исчезающих растений Ботанического сада ЮФУ.

Для стерилизации семенных эксплантов использовались следующие методики стерилизации:

1. C₂H₅OH 70% + H₂O₂ 3% 1:1 10 мин – C₂H₅OH 96% 1 сек – обжиг пламенем горелки 1 сек;

2. C₂H₅OH 70% + H₂O₂ 3% 1:1 10 мин – 0,1% Hg(NO₃)₂ 7 мин – H₂O 4 раза по 5 мин;

3. C_2H_5OH 70% + H_2O_2 3% 1:1 10 мин – 0,2% $AgNO_3$ 7 мин – H_2O 4 раза по 5 мин;

4. $NaClO$ 20% 15 мин – H_2O 4 раза по 5 мин.

Семена проращивались на питательной среде MS [27] с добавлением ВАР в концентрации 0,5 мг/л.

Для стимулирования мультимпликации использовались минеральные основы MS, $\frac{1}{2}MS$, Gamborg & Eveleg (B5) [22], $\frac{1}{2}$ B5 с внесением цитокининов ВАР, *мета*-тополин (*mT*) и кинетин (KIN) в концентрациях: 0,0, 0,5, 1,0, 1,5, и 2,0 мг/л.

Ризогенез стимулировался питательными средами $\frac{1}{2}MS$ и WPM [26] с ауксинами IAA, IBA, NAA в концентрациях 0,0, 0,2, 0,4, 0,6, 0,8, 1,0 мг/л.

Пассажи растений производились в ламинар-боксе с использованием стерильных инструментов. pH питательных сред доводился до 6,30 с помощью 1 М КОН. Стерилизация питательных сред производилась в автоклаве MLS-3751L (Sanyo) при температуре 121°C и давлении 1,5 атмосферы в течение 30 минут. Растения культивировались при постоянной температуре 25°C и 16-часовом фотопериоде.

В ходе эксперимента определялись такие параметры, как: процент стерильных семян, коэффициент мультимпликации побегов – среднее количество побегов на растение, процент ризогенеза. Для полученных значений коэффициента мультимпликации производился сравнительный анализ с применением t-критерия Стьюдента при $p=0,05$ [11. С. 113], а также многофакторный дисперсионный анализ ANOVA с применением программ Statistica 13.3 и Microsoft Excel, где в качестве факторов, влияющих на изменение значений параметра являлись: тип минеральной основы, тип регулятора роста, концентрация регулятора роста.

Результаты и обсуждение. Из всех испытанных схем стерилизации семенных эксплантов методика №1 позволила добиться 100% стерильности семян для всех объектов исследования (рис. 1).

Стерилизация семян нитратами ртути $Hg(NO_3)_2$ и серебра $AgNO_3$ привела к стерильности 90% и 95% для *G. scythica* и 85% и 80% для *G. tanaitica* соответственно. Применение гипохлорита натрия привело к сравнительно низкому уровню стерильности – 50% и 55% для *G. scythica* и *G. tanaitica* соответственно.

Использование схемы стерилизации №1 оказалось эффективным, семена нормально прорастали. Предполагаем, что обжиг в пламени оказывал не только стерилизующее, но и скарифицирующее действие. Данная методика была успешно апробирована нами на примере другого угрожаемого вида Ростовской области *Hedysarum cretaceum* Fisch. [3]. Судя по всему, нитраты в схемах №2 и №3 проникали через семенную кожуру эксплантов и повреждали зародыш, так как всхожесть при данных методиках стерилизации была невысокой. Возможно, это связано с губительным воздействием данных стерилизующих агентов на зародыши семян. Семенная кожура

представителей трибы Genisteeae часто несколько тоньше таковой у видов других триб Fabaceae, особенно в области строфиолума [14. С. 79]. Схема стерилизации №4 показала меньшую эффективность. Спустя неделю после пассажа до 65% семян оказались поражены бактериальной или грибковой инфекциями.

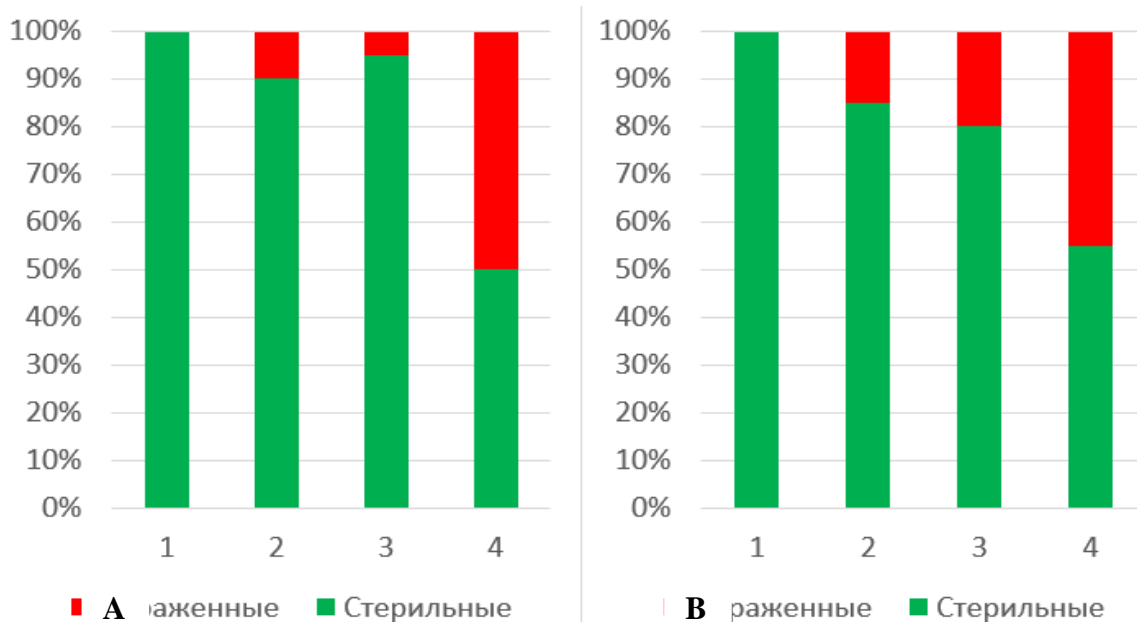


Рис. 1. Показатели стерильности семян *Genista scythica* (А) и *Genista tanaitica* (В) с применением избранных методик стерилизации

Результаты экспериментов по подбору питательных сред для мультипликации побегов отражены в табл. 1.

Таблица 1

Средние значения коэффициента мультипликации исследуемых видов растений *in vitro*

		MS	B5	½MS	½B5
<i>Genista scythica</i>					
Контроль		2,05±0,26	1,05±0,05	1,50±0,17	1,05±0,05
ВАР, мг/л	0,5	1,90±0,20	1,50±0,17	1,60±0,24	1,85±0,21*
	1,0	1,45±0,17	2,35±0,17*	2,05±0,17*	1,35±0,15
	1,5	1,20±0,09	1,35±0,11	1,05±0,05	1,65±0,18
	2,0	1,30±0,16	1,25±0,12	1,15±0,08	1,15±0,08
mT, мг/л	0,5	1,30±0,11	1,40±0,13	1,90±0,21*	1,95±0,18*
	1,0	1,25±0,12	1,05±0,05	2,15±0,25*	1,45±0,17
	1,5	1,50±0,17	1,15±0,08	2,10±0,22*	1,55±0,20
	2,0	1,35±0,11	1,35±0,11	1,60±0,23	1,20±0,09

Продолжение таблицы 1

KIN, мг/л	0,5	1,35±0,15	2,10±0,22*	1,60±0,19	1,50±0,17
	1,0	1,60±0,22	1,60±0,22	2,10±0,22*	1,70±0,18
	1,5	2,10±0,24*	1,45±0,17	1,80±0,17	1,30±0,13
	2,0	1,80±0,20	1,50±0,18	1,90±0,23*	1,95±0,24*
<i>Genista tanaitica</i>					
Контроль		1,75±0,20	4,15±0,45*	2,00±0,15	2,25±0,27
BAP, мг/л	0,5	4,00±0,62*	2,55±0,23	2,05±0,18	2,35±0,18
	1,0	2,00±0,23	2,10±0,30	1,30±0,11	2,25±0,24
	1,5	1,80±0,16	2,10±0,20	1,45±0,17	2,55±0,26
	2,0	2,30±0,33	1,25±0,14	1,50±0,11	2,55±0,28
mT, мг/л	0,5	4,40±0,47*	2,55±0,29	3,20±0,48*	3,55±0,53*
	1,0	3,70±0,51*	2,30±0,33	1,90±0,20	2,55±0,37
	1,5	3,50±0,49*	2,95±0,29	1,90±0,33	2,10±0,28
	2,0	2,00±0,36	4,40±0,43*	2,15±0,23	1,85±0,26
KIN, мг/л	0,5	2,35±0,27	2,50±0,37	2,10±0,22	2,00±0,31
	1,0	2,70±0,30	2,65±0,40	2,45±0,18	2,05±0,26
	1,5	2,65±0,23	1,10±0,07	1,95±0,17	2,85±0,36
	2,0	2,10±0,22	2,35±0,20	2,00±0,18	1,70±0,13

* Значения, достоверно не отличающиеся от наибольшего по t-критерию Стьюдента при $p = 0,05$.

Исходя из динамики коэффициента мультипликации, BAP и mT в концентрации не более 1,5 мг/л и KIN в концентрациях до 2,0 мг/л способны оказывать эффективное мультиплицирующее действие на растения *G. scythica in vitro* на всех исследованных вариантах минеральной основы. При этом коэффициент мультипликации по результатам опытов у *G. scythica* сравнительно невысок и варьирует слабо: от 1,05±0,05 до 2,35±0,17 побега на растение (табл. 1).

По сравнению с предыдущим видом, коэффициент мультипликации для *G. tanaitica* на исследованных питательных средах варьирует сильнее: от 1,10±0,07 на B5 + 1,5 мг/л KIN до 4,40±0,47 и 4,40±0,43 на MS + 0,5 мг/л mT и B5+ 2,0 мг/л mT соответственно (табл. 1). Использование mT в различных концентрациях или BAP в концентрации 0,5 мг/л вместе со средой B5 и MS является эффективным приемом для повышения степени мультипликации побегов *G. tanaitica in vitro*.

Результаты дисперсионного анализа значений коэффициента мультипликации побегов в виде фактических значений критерия Фишера представлены в табл. 2.

Результаты дисперсионного анализа влияния типов минеральной основы, регуляторов роста и концентрации регуляторов роста на коэффициент мультипликации побегов объектов исследования

Эффект	<i>G. scythica</i>	<i>G. tanaitica</i>
	F _{факт}	
Св. член	4938,672*	3832,608*
Минеральная основа	9,573*	17,551*
Регулятор роста	5,707*	19,220*
Концентрация регулятора роста	5,853*	8,402*
Минеральная основа*Регулятор роста	3,820*	2,648*
Минеральная основа*Концентрация регулятора роста	6,772*	11,171*
Регулятор роста*Концентрация регулятора роста	3,868*	3,268*
Минеральная основа*Регулятор роста* Концентрация регулятора роста	2,524*	4,085*

* Значения, достоверно не отличающиеся от наибольшего по t-критерию Стьюдента при $p = 0,05$.

В случае с *G. scythica* минеральная основа из всех учитываемых факторов оказывала наиболее заметное влияние на процесс мультипликации (табл. 2). На основах MS и ½MS повышенная степень мультипликации наблюдалась чаще, чем при использовании сред B5 и ½B5. Предположительно, это связано с более высокой концентрацией кальция в среде MS по сравнению с B5. Возможно, важную роль в данном случае играла также низкая концентрация аммонийного азота в среде B5 по сравнению с MS. Использование полных минеральных основ чаще приводило к получению здоровых растений, лишенных витрификации и хлороза. Во всех вариантах опыта со средой ½B5 была зафиксирована витрификация растений. Такая тенденция, предположительно, отражает важность кальция для *G. scythica* в естественных местообитаниях [10. С. 193]. Факторы регулятора роста и концентрации регулятора роста оказывали менее заметный эффект на процесс мультипликации. Применение KIN во всех использованных концентрациях намного реже приводило к витрификации и хлорозу растений по сравнению с BAP и mT. KIN является «мягко» действующим цитокинином, который эффективно стимулирует на мультипликацию других видов растений, предпочитающих обедненные меловые субстраты [25. С. 5].

Для *G. tanaitica* фактор регулятора роста оказался решающим. По результатам наших экспериментов mT является более выигрышным цитокинином по сравнению с BAP и KIN. Такая тенденция наблюдается при использовании всех вариантов минеральных основ. В отличие от mT, BAP приводит к стойкому снижению коэффициента с ростом концентрации по-

чти на всех минеральных основах. Известно, что ВАР в тканях растений метаболизируется до устойчивых токсичных соединений – 6-бензиламинопури-9-гликозидов, накапливающиеся в тканях у основания растений, ингибируя их дальнейшее развитие [30. С. 664]. *mT* менее токсичный фитогормон, улучшающий дальнейшие процессы формирования корней *in vitro* и акклиматизации. *mT* усиливает процессы мультипликации и ризогенеза, не вызывает обводнения тканей, а также повышает успешность акклиматизации растений [19. С. 17–22; 28. С. 214–217]. Понижение концентрации макроэлементов в обеих минеральных основах приводило к резкому снижению коэффициента мультипликации побегов *G. tanaitica*. В отличие от *G. scythica* данный вид является облигатным меловиком, для которого концентрация кальция в субстрате еще более важна [10. С. 194]. Возможно, что со снижением концентрации солей макроэлементов наблюдается возрастание потребности растений *G. tanaitica* к ионам кальция, тогда как более эффективное стимулирование мультипликации на среде В5 по сравнению с MS может являться результатом меньшей потребности данного вида в аммонийном азоте, чем в нитратном [20. С. 355]. Растения *G. tanaitica* выглядели здоровыми, лишеными витрификации, хлороза и некроза в большинстве случаев при использовании ВАР в низких концентрациях, а также *mT* и KIN во всех вариантах эксперимента.

Таблица 3

**Значения процента ризогенеза исследуемых видов растений
*in vitro***

Объект		<i>Genista scythica</i>		<i>Genista tanaitica</i>	
Минеральная основа		½MS	WPM	½MS	WPM
Контроль		-	-	55,00±11,12	70,00±10,25
IAA, мг/л	0,2	-	-	70,00±10,25	55,00±11,12
	0,4	-	-	70,00±10,25	60,00±10,95
	0,6	-	-	60,00±10,95	50,00±11,18
	0,8	-	-	55,00±11,12	55,00±11,12
	1,0	-	-	60,00±10,95	70,00±10,25
IBA, мг/л	0,2	-	-	40,00±10,95	55,00±11,12
	0,4	-	-	45,00±11,12	30,00±10,25
	0,6	-	-	60,00±10,95	40,00±10,95
	0,8	-	-	40,00±10,95	35,00±10,67
	1,0	-	-	55,00±11,12	55,00±11,12
NAA, мг/л	0,2	-	-	45,00±11,12	65,00±10,67
	0,4	-	-	40,00±10,95	65,00±10,67
	0,6	-	-	60,00±10,95	35,00±10,67
	0,8	-	10,00±6,71	35,00±10,67	45,00±11,12
	1,0	5,00±4,87	15,00±7,98	55,00±11,12	65,00±10,67

К сожалению, почти не было получено положительных результатов в стимулировании ризогенеза *in vitro* для *G. scythica* (табл. 3). Во всех вариантах эксперимента по ризогенезу у данного вида наблюдалась витрификация, у оснований растений образовывался каллус. NAA в высоких концентрациях слабо стимулировала ризогенез. Возможно, для *G. scythica* необходимы среды, сильно обедненные азотом и другими макроэлементами, а также с использованием других ауксинов [23. С. 544–546; 29. С. 565].

G. tanaitica образовывал хорошо развитые корни во всех вариантах эксперимента (табл. 3). В вариантах с добавлением ИВА процент ризогенеза снижался по сравнению с NAA и IAA. Интересно, что на средах WPM + 1,00 мг/л IAA, ½ MS с низкими концентрациями IAA и безгормональной WPM значения процента ризогенеза схожи. Непонятны такие сильные различия в успешности укоренения *in vitro* объектов исследования. IAA в невысоких концентрациях на базе минеральной основы ½ MS, а также WPM без добавления гормонов являются эффективными питательными средами для стимулирования ризогенеза *G. tanaitica*.

Заключение. По результатам исследования удалось подобрать эффективную методику стерилизации для введения в культуру *in vitro* семенных эксплантов обоих объектов исследования: C₂H₅OH 70% + H₂O₂ 3% 1:1 10 мин – C₂H₅OH 96% 1 сек – обжиг пламенем горелки 1 сек. Определены эффективные питательные среды для мультипликации побегов исследуемых видов *in vitro*: для *G. scythica* – B5 + 1,0 мг/л ВАР; для *G. tanaitica* – MS + 0,5 мг/л mT, B5 + 2,0 мг/л mT. Выявлены питательные среды для эффективного ризогенеза *in vitro* для *G. tanaitica* – ½MS + 0,2 мг/л IAA, ½MS + 0,4 мг/л IAA, WPM, WPM + 1,0 мг/л IAA. Не удалось выявить питательную среду для эффективного ризогенеза *in vitro* *G. scythica*.

Результаты данного исследования возможно использовать в качестве эффективного протокола микроклонирования растений *G. scythica* и *G. tanaitica*.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания в сфере научной деятельности № 0852-2020-0029.

Библиографический список:

1. Абрамова Т.И. Влияние субстрата на флористический состав меловой растительности Нижнего Дона / Т.И. Абрамова // Экология растений степной зоны. – Элиста: Изд-во Калм. ун-та, 1983. – С. 33-38.
2. Абрамова Т.И. Распределение растительности меловых обнажений в связи с разными экологическими условиями / Т.И. Абрамова // Вопросы экологии растений. – Грозный: Изд-во ЧИГУ, 1980. – С. 50-55.

3. Бакулин С.Д. Выращивание краснокнижного вида растений Ростовской области *Hedysarum cretaceum* Fisch. в культуре *in vitro* / С.Д. Бакулин // Материалы Международного молодежного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2020» [Электронный ресурс] / Отв. ред. И.А. Алешковский, А.В. Андриянов, Е.А. Антипов. – Электрон. текстовые дан. (1500 Мб.) – М.: МАКС Пресс, 2020. – Режим доступа: https://lomonosov-msu.ru/archive/Lomonosov_2020/index.htm, свободный – Материалы Международного молодежного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2020».
4. Вісюліна О.Д. Родина Бобові – Leguminosae Juss. / О.Д. Вісюліна // Флора УРСР: В 12 т. – Київ: Вид-во АН УРСР, 1954. – Т. 6. – С. 301–573.
5. Дидух Я.П. Растительный покров Горного Крыма (структура, динамика, эволюция и охрана). / Я.П. Дидух – Киев: Наукова думка, 1992. – 256 с.
6. Дубовик О.Н. Род *Genista* L. (Fabaceae) во флоре Крыма и Кавказа. / О.Н. Дубовик // Новости систематики высших растений. – Л.: Наука, 1990. – Т. 27. – С. 82–88.
7. Красная книга Волгоградской области: в 2 т. – Волгоград, 2006. – Т. 2. Растения и грибы. – 236 с.
8. Красная книга Воронежской области: в 2 т. – Воронеж, МОДЭК, 2011. – Т. 1. Растения. Лишайники. Грибы. – 472 с.
9. Красная книга Российской Федерации (растения и грибы) / Сост. Р.В. Камелин и др. – М.: Товарищество научных изданий КМ.
10. Красная книга Ростовской области / Министерство природных ресурсов и экологии Ростовской области: Издание 2-е. Ростов-на-Дону: Минприроды Ростовской области, 2014. – Т. 2. Растения и грибы. – 344 с.
11. Лакин. Г.Ф. Биометрия. Издание 4-ое, перераб. и доп. / Г.Ф. Лакин – М.: Высшая школа, 1990. – 351 с.
12. Остапко В.М. / В.М. Остапко, Я.П. Дідух, Л.В. Купрюшина // Червона книга України. Рослинний світ. – Київ: Глобалконсалтинг, 2009. – С. 463.
13. Остапко В.М. Сосудистые растения юго-востока Украины. / В.М. Остапко, А.В. Бойко, С.Л. Мосякин – Донецк: Изд-во «Ноулидж», 2010. – 247 с.
14. Попцов А.В. Биология твердосемянности. / А.В. Попцов – М.: «Наука», 1976. – 156 с.
15. Связева О.А. Дрок донской / О.А. Связева, Г.П. Яковлев // Ареалы деревьев и кустарников СССР: в 5 т. – Л.: Наука, 1986. – Т. 3. – С. 26.
16. Цвелёв Н.Н. О некоторых видах родов дроков (*Genista* L.) и ракитник (*Chamaecytisus* Link) европейской части СССР / Н.Н. Цвелёв // Новости систематики высших растений. – Л.: Наука, 1980. – Вып. 17. – С. 164–173.
17. Червона книга України. Рослинний світ. – Київ: Глобалконсалтинг, 2009. – С. 196.

18. Шишкин Б.К. Род Дрок – *Genista* L. / Б.К. Шишкин // Флора СССР. – Л., Наука, 1945 – Т. 11. – С. 54–69.
19. Bairu M.W. Optimizing the micropropagation protocol for the endangered *Aloe polyphylla*: can *meta*-topolin and its derivatives serve as replacement for benzyladenine and zeatin? / M.W. Bairu, W.A. Stirk et al. // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2007 – Volume 90, Issue 1 – P. 15 – 23.
20. Bennett I. The Influence of Ammonium Nitrate, pH and Indole Butyric Acid on Root Induction and Survival in Soil of Micropropagated *Eucalyptus globulus* / I. Bennett, D. McDavid, J. McComb // *Biologia Plantarum*. 2003 – Volume 47 – P. 355–360.
21. Chokheli V.A. Recent Development in Micropropagation Techniques for Rare Plant Species / V.A. Chokheli., P.A. Dmitriev et al. // *Plants*. 2020 – Volume 9 – P. 1733.
22. Gamborg O.L. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. / O.L. Gamborg, R.A. Miller, K. Ojima // *Experimental Cell Research* 1968 – Volume 50 – P. 151–158.
23. Iapichino Giovanni. Micropropagation of *Genista aetnensis* [(Raf. ex Biv.) DC] / Giovanni Iapichino, Marcello Airo et al. // *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 2015 – Volume 43, Issue 2 – P. 542–546.
24. Łuczkiwiczka Maria. Two-Stage System for Micropropagation of Several *Genista* Plants Producing Large Amounts of Phytoestrogens / Maria Łuczkiwiczka, Arkadiusz Piotrowski // *Zeitschrift für Naturforschung*. 2005 – Volume 60 – P. 557–566.
25. Maslova Elena. Introduction of *Hyssopus officinalis* L. into *in vitro* culture to optimize the conditions for obtaining callus tissues and microclonal propagation as a promising method of innovative agrobiotechnologies / Elena Maslova, Natalya Gulya et al. // *BIO Web of Conferences*. 2021 – Volume 30 – P. 05006.
26. McCown B.H. Woody Plant Medium (WPM) – A Mineral Nutrient Formulation for Microculture of Woody Plant Species / B.H. McCown, G. Lloyd // *HortScience*. 1981 – Volume 16 – P. 453–453.
27. Murashige T. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // *Plant Physiology*. 1962 – Volume 15 – P. 437–497.
28. Strnad, Miroslav *Meta*-topolin, a highly active aromatic cytokinin from poplar leaves (*Populus × canadensis* Moench., CV. Robusta) / Miroslav Strnad, Jan Hanus et al. // *Phytochemistry*. 1997 – Volume 45, Issue 2 – P. 213–218.
29. Timofeeva S. Micropropagation of *Laburnum anagyroides* Medic. through axillary shoot regeneration / S. N. Timofeeva, L. A. Elkonin, V. S. Tyrtov // *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. – 2014. – Volume 50, Issue 5 – P. 561–567.

30. Werbrouck S.P.O. The metabolism of benzyladenine in *Spathiphyllum floribundum* “Schott Petite” in relation to acclimatisation problems / S.P.O. Werbrouck, B. van der Jeugt et al. // Plant Cell Reports. 1995 – Volume 14, Issue 10 – P. 662–665.

31. Zhai, Xiao-jie Shoot multiplication and plant regeneration in *Cara-gana fruticose* (Pall.) Besser / Xiao-jie Zhai, Ling Yang, Hai-long Shen // Journal of Forestry Research. 2011 – Volume 22, Issue 4 – P. 561–567.

MICROPROPAGATION OF *GENISTA SCYTHICA* PACZ. AND *GENISTA TANAITICA* P. SMIRN IN THE LABORATORY OF CELLULAR AND GENOMIC TECHNOLOGIES OF THE SFU BOTANICAL GARDEN

Bakulin Semyon Dmitrievich – 2nd year master's student of the Academy of Biology and Biotechnology named after D. I. Ivanovsky SFU. Russian Federation, Rostov on Don.

Scientific supervisor – **Ermolaeva Olga Yuryevna**, Associate Professor of the Department of Botany, Phd. in Biological Sciences of the Academy of Biology and Biotechnology named after D. I. Ivanovsky SFU. Russian Federation, Rostov on Don.

Scientific consultant – **Chokheli Vasily Alexandrovich**, Head of the Laboratory of Cellular and Genomic Technologies of the Botanical Garden of the Southern Federal University, Phd. in Biological Sciences of the Academy of Biology and Biotechnology named after D. I. Ivanovsky of the Southern Federal University.

Abstract: The possibility of cultivation of *G. scythica* and *G. tanaitica* under in vitro conditions is investigated. A scheme of sterilization of seed explants using ethanol, hydrogen peroxide and roasting seeds in a flame has been developed. Nutrient media have been selected for effective animation and rhizogenesis of shoots of *in vitro* research objects.

Keywords: Reb book, Rostov region, biotechnology, *meta*-topoline, 6-benzylaminopurine, kinetin.