

ГЕНЕТИКА, БИОТЕХНОЛОГИЯ

Оригинальная научная статья

УДК 635.92: 58.085

doi: 10.26897/2949-4710-2023-2-28-36



**Индукция каллуса *in vitro* и регенерация адвентивных побегов из листовых эксплантов гейхеры гибридной**

**Светлана Александровна Муратова, Юлия Викторовна Хорошкова**

Мичуринский государственный аграрный университет; Россия, г. Мичуринск

**Автор, ответственный за переписку:** Светлана Александровна Муратова; e-mail: smuratova@yandex.ru

**Аннотация.** Впервые изучены вопросы индукции морфогенеза из изолированных листовых эксплантов гейхеры гибридной сорта Джорджия Плам. Индукцию каллуса и адвентивных побегов из листовых эксплантов проводили на модифицированной среде МС с 30 г/л глюкозы в присутствии 6-бензиламинопурина в сочетании с одним из ауксинов ИУК, ИМК, НУК или 2,4-Д. Соотношение цитокинин: ауксин в среде составляло 10:1 или 20:1. Наилучшая регенерация гейхеры гибридной (до 92% регенерирующих листовых дисков) получена на средах, содержащих 6-бензиламинопурина в концентрации 4,0 мг/л в сочетании с НУК в концентрации 0,2 мг/л или 0,4 мг/л. В этом случае число адвентивных побегов на регенерирующий диск могло достигать до 7-9 и более. Максимальная частота прямой регенерации наблюдалась на средах, содержащих ИМК. На средах, содержащих 2,4-Д, образовывался обильный каллус.

**Ключевые слова:** Гейхера гибридная, фитогормоны, каллусогенез, морфогенез, адвентивные побеги

**Для цитирования.** Муратова С.А., Хорошкова Ю.В. Индукция каллуса *in vitro* и регенерация адвентивных побегов из листовых эксплантов гейхеры гибридной // Тимирязевский биологический журнал. 2023. № 2. С. 28-36. <http://dx.doi.org/10.26897/2949-4710-2023-2-28-36>

© Муратова С.А., Хорошкова Ю.В., 2023

GENETICS, BIOTECHNOLOGY

Original article

doi: 10.26897/2949-4710-2023-2-28-36



***In Vitro* Callus Induction and Adventitious Shoot Regeneration from Leaf Explants of Heuchera Hybrid**

**Svetlana A. Muratova, Yulia V. Khoroshkova**

Michurinsk State Agrarian University, Michurinsk, Tambov region, Russian Federation

**Corresponding author:** Svetlana A. Muratova, smuratova@yandex.ru

**Abstract.** The problems of morphogenesis' induction from isolated leaf explants of the variety Georgia Plum of Heuchera hybrid were studied for the first time. The induction of callus and of adventitious shoots from leaf explants on the modified MS medium containing 30g/l glucose was carried out in the presence of 6-BAP in combination with one of the auxins IAA, IBA, NAA or 2,4-D. The cytokinin: auxin ratio in the medium was 10:1 or 20:1. The best regeneration of Heuchera hybrid (up to 92% of regenerating leaf discs) was obtained on media containing 6-BAP at a concentration of 4.0 mg/l in combination with NAA at a concentration of 0.2 mg/l or 0.4 mg/l. In this case, the number of adventitious shoots per regenerating disc could reach 7-9 and more. The maximum frequency of direct regeneration was observed on media containing IBA. Abundant callus formation was observed on media containing 2,4-D.

**Key words:** Heuchera hybrid, plant hormones, callusogenesis, morphogenesis, adventitious shoots

**For citation.** Muratova S.A., Khoroshkova Yu.V. *In vitro* callus induction and adventitious shoot regeneration from leaf explants of Heuchera hybrid // Timiryazev Biological Journal. 2023; 2: 28-36. (In Rus.). <http://dx.doi.org/10.26897/2949-4710-2023-2-28-36>

## Введение

Гейхера широко используется в качестве декоративного теневыносливого многолетника с декоративными листьями, отличающимися весьма разнообразной цветовой гаммой. В связи с высокой популярностью культуры и появлением новых высокодекоративных сортов осуществлено достаточно большое количество работ по ее культивированию в условиях *in vitro* с целью быстрого массового размножения. Для получения качественного посадочного материала гейхеры используется, как правило, метод деления микророзеток, культивируемых на питательной среде Мурасиге-Скуга (Murashige, Skoog, 1962), с добавлением в качестве цитокинина 6-бензиламинопурина (6-БАП) в концентрации от 0,1 до 1,0 мг/л, одного или в сочетании с одним из ауксинов, чаще всего  $\alpha$ -нафтилуксусной кислотой (от 0,01 до 0,2 мг/л) или индолил-3-масляной кислотой (от 0,05 до 0,8 мг/л) [1-4]. Есть данные об успешном применении для размножения этой культуры минеральной основы питательной среды Кворина-Лепуавра (Quoirin, Lepoivre, 1977) и DKW (Driver, Kuniyuki, 1984), дополненной 6-бензиламинопурином или метатополином (mT) в концентрации от 0,1 до 2,0 мг/л [5].

Зарубежными авторами представлены к публикации результаты исследований по разработке успешного протокола регенерации побегов гейхеры из тканей черешков и каллуса. В качестве регуляторов роста в среду в этом случае добавляли 6-БАП в концентрации от 0,5 до 4,0 мг/л в сочетании с 0,5 мг/л НУК [6]. Лучшей определена комбинация гормонов 2,0 мг/л 6-БАП и 0,5 мг/л НУК.

Изучению возможности формирования организованных структур из каллусных культур в биотехнологических исследованиях уделяется особое внимание. Клетки каллуса являются наиболее популярным биотехнологическим объектом для осуществления генетических изменений и получения растений с новыми признаками. Каллус представляет собой недифференцированную массу делящихся клеток, образующихся на изолированных эксплантах. Каллусные клетки в условиях *in vitro* активно делятся и при определенных условиях могут перейти к организованному росту и формированию меристематических очагов и микророзеток [7]. При этом основным условием перехода от пролиферации каллуса к органогенезу является соотношение регуляторов роста в питательной среде.

Используя систему *in vitro*, можно эмпирически добиться индукции в каллусе или культивируемых тканях цепи событий, связанных с образованием меристематических очагов, развитием на их основе зачатков стеблевых апексов и образованием побегов, которые после укоренения разовьются в целые растения, либо формирования зародышеподобных структур, образующих проросток и растение [8, 9].

Морфогенез является сложнейшим процессом, зависящим от множества факторов, каждый из которых может стать лимитирующим. В значительной степени способность к морфогенезу изолированных тканей растений зависит от генотипических особенностей растения, типа, возраста, состояния изолированного экспланта и условий его культивирования [6, 10-20].

Для многолетних культур работы по усовершенствованию хозяйственно ценных генотипов методами биотехнологии сравнительно немногочисленны, что связано главным образом с трудностями индукции морфогенеза из клеток и тканей, прошедших длительное культивирование *in vitro*. Этим обусловлена актуальность работы по разработке эффективных методов культивирования и регенерации адвентивных побегов из изолированных соматических тканей перспективных декоративных культур.

**Цель исследований:** разработать эффективные способы индукции морфогенеза в условиях культуры *in vitro* листовых дисков гейхеры гибридной для дальнейших исследований по расширению генетического разнообразия декоративных культур.

## Методика исследований

Работа проведена в учебно-исследовательской лаборатории биотехнологии Мичуринского ГАУ.

В качестве растительного материала выбран популярный сорт гейхеры гибридной Джорджия Плам (Georgia Plum).

Для культивирования растений гейхеры *in vitro* использовали минеральную основу питательной среды Мурасиге-Скуга [21], дополненную мезоинозитолом (100 мг/л), агаром (8 г/л) и комплексом витаминов по прописи Мурасиге-Скуга. В качестве источника углерода в среду вносили глюкозу в концентрации 30 г/л. рН питательной среды в процессе приготовления устанавливали в пределах 5,6-5,8 с помощью децинормального раствора NaOH. Среды стерилизовали автоклавированием (1 атм., 20 мин). Витаминами и регуляторы роста растений стерилизовали фильтрованием и добавляли после автоклавирования («Mil-lipore» 0,22  $\mu$ m, France). На этапе микроразмножения растений в среду добавляли 6-бензиламинопурин в концентрации 0,25 мг/л и  $\beta$ -индолилуксусную кислоту (ИУК) – 0,05 мг/л.

Культивирование растений осуществляли в культуральной комнате при 16-часовом световом дне с освещенностью 2000-2500 люкс (люминесцентные лампы Osram L36W/765 Cool Daylight) и температурой воздуха 24 $\pm$ 2 °С.

В опытах по индукции морфогенеза из изолированных тканей эксплантами служили высечки листьев с хорошо развитых растений, культивируемых *in vitro*. Крупные листья нарезали поперечно центральной жилке на 2-3 фрагмента площадью 0,5-1,0 см<sup>2</sup>. Культивировали высечки листовых пластинок с черешками и средние части листовых пластинок.

Листовые диски помещали на питательные среды регенерации на основе среды Мурасиге-Скуга с добавлением витаминов, 30 г/л глюкозы, 4,0 мг/л 6-БАП и одного из ауксинов (ИУК, НУК, ИМК или 2,4-Д) в концентрации 0,2 или 0,4 мг/л.

#### Схема опыта

Вариант 1: 6-БАП 4 мг/л + ИМК 0,4 мг/л

Вариант 2: 6-БАП 4 мг/л + ИУК 0,4 мг/л

Вариант 3: 6-БАП 4 мг/л + 2,4 Д 0,4 мг/л

Вариант 4: 6-БАП 4 мг/л + НУК 0,4 мг/л

Вариант 5: 6-БАП 4 мг/л + ИМК 0,2 мг/л

Вариант 6: 6-БАП 4 мг/л + ИУК 0,2 мг/л

Вариант 7: 6-БАП 4 мг/л + 2,4 Д 0,2 мг/л

Вариант 8: 6-БАП 4 мг/л + НУК 0,2 мг/л

В опытах по регенерации листовые диски культивировали в темноте при температуре 24°C. Эксперименты продолжались в течение 3-3,5 мес. (3 пассажа по 4-5 недель каждый). Регенерировавшие побеги срезали с листовых пластинок и доращивали по стандартной схеме клонального микроразмножения растений.

### Результаты и их обсуждение

Проведенный предварительный скрининг морфогенетического потенциала нескольких видов декоративных культур показал, что они существенно отличаются по способности к регенерации адвентивных побегов из изолированных листовых тканей и каллуса. За 3 мес. культивирования на питательных средах регенерации была достигнута высокая частота каллусогенеза (до 90-100%) и морфогенеза (60-90%) у гейхеры, в то время как на листьях хосты и вейгелы регенеранты не образовались ни на одной из питательных сред. Наблюдали частичный некроз тканей листьев этих культур. Для дальнейших исследований с целью подбора оптимального соотношения регуляторов роста в среде был выбран сорт гейхеры Джорджия Плам (*Georgia Plum*), отличающийся высоким морфогенетическим потенциалом.

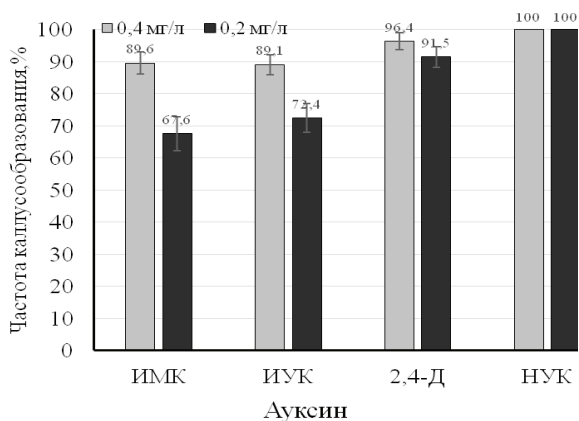
Известно, что правильный выбор первичного экспланта, минерального и углеводного состава питательной среды, экзогенных регуляторов роста, условий культивирования позволяет регулировать морфогенетические процессы в культуре органов и тканей растений и получать желаемый результат [6, 10-20]. В качестве первичных эксплантов в протоколах регенерации адвентивных побегов часто используются высечки листьев [11, 13, 14, 16, 18-20, 22, 23]. Известно также, что лист является самодифференцирующимся органом с многочисленными клетками, обладающими меристематической активностью. Особенно активны меристемы влагалища и дистальной части листа. Листовые экспланты у большинства видов растений в условиях *in vitro* способны к образованию каллуса и дифференциации адвентивных почек, побегов и корней [8]. Ткани, окружающие проводящие пучки в листовых пластинках, имеют повышенные органогенные свойства. Как правило, из них образуется морфогенный каллус, в котором происходят различные процессы морфогенеза [22]. Показана эффективность применения этого типа эксплантов на плодовых, ягодных культурах и на ряде декоративных культур [11, 13, 14, 16, 22, 23].

В экспериментах нами использовались листовые пластинки хорошо развитых молодых растений. Поскольку для растения *in vivo* каллус – это группа клеток, возникающая при травмах и защищающая место поранения (ранева паренхима), в которой накапливаются питательные вещества для регенерации анатомических структур или утраченного органа, интенсивность каллусообразования *in vitro* можно повысить, увеличивая раневую поверхность изолированного органа. Регенерация также часто происходит в месте среза экспланта. Некоторые экспланты нечувствительны к обработке регуляторами роста, если они не разделены на части или не повреждены. Поэтому большинство исследователей рекомендуют делать надрезы на листовых пластинках или брать высечки листьев. По данным литературы, фрагментация молодых развернутых листьев *Malus* на 14 секций повышала способность листовых тканей к образованию адвентивных побегов и эмбриоподобных структур [24]. Поперечные надрезы эксплантов *Torenia fournieri* значительно увеличили образование почек в пределах площади радиусом 0,5 см от места поранения [25].

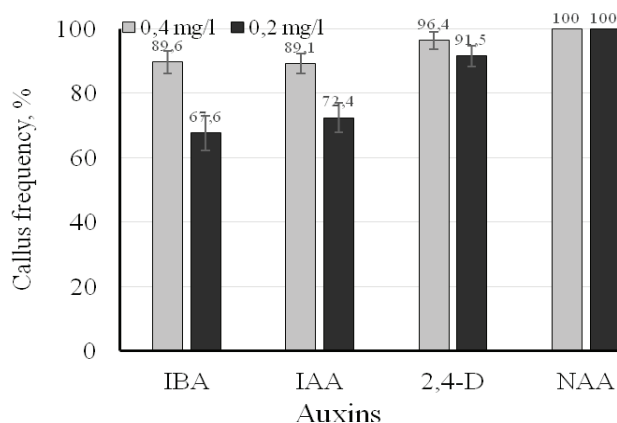
Исследования показали, что при культивировании целых листовых пластинок каллус образуется только на срезах черешков. Нанесение дополнительных поранений скальпелем существенно повышало частоту каллусообразования. Каллус формировался вдоль надрезов и постепенно покрывал значительную часть поверхности эксплантов. Он образовался при применении всех четырех ауксинов.

Наиболее интенсивное каллусообразование на 91,5-100% листовых эксплантов получили при использовании в качестве ауксина НУК и 2,4-Д. Отмечали характерные особенности образовавшегося каллуса на средах с разными ауксинами. Применение 2,4-Д приводило к образованию и активному росту светло-кремового полупрозрачного каллуса с зачатками морфогенных структур. На средах с НУК на всех эксплантах образовывался морфогенный каллус как при концентрации ауксина как 0,2 мг/л, так и 0,4 мг/л (рис. 1).

На средах с ИМК и ИУК частота каллусообразования была ниже. При этом повышение концентрации ИМК и ИУК с 0,2 до 0,4 мг/л существенно повышало частоту каллусообразования на высечках листьев гейхеры (рис. 1).



**Рис. 1.** Образование каллуса из листовых эксплантов гейхеры на средах с разными ауксинами



**Fig. 1.** Callus formation from leaf explants of *Heuchera* hybrid on media with different auxins

Одним из обязательных условий, необходимых для индукции морфогенетических процессов, является грамотное использование экзогенных гормонов роста растений. Анализ данных литературы дает основание утверждать, что несмотря на имеющиеся место особенности разных генотипов, существуют общие подходы к подбору фитогормонов в средах регенерации. При регулировании морфогенеза с помощью экзогенных фитогормонов обычно опираются на закономерность, впервые установленную Скутом и Миллером на каллусе паренхимы стебля табака [26]. Согласно их концепции индукция образования каллуса имеет место при сбалансированном отношении ауксинов к цитокининам, образование побегов можно индуцировать, повышая уровень цитокининов по отношению к ауксинам, а формирование корней требует преобладания ауксинов по отношению к цитокининам.

Наиболее широко используемым и эффективным препаратом с цитокининовой активностью проявил себя 6-БАП. В исследованиях нами использован этот цитокинин в концентрации 4,0 мг/л сочетании с одним из ауксинов. Использовали соотношение: цитокинин: ауксин в среде 10:1 и 20:1. В проведенных нами ранее исследованиях на разных видах плодовых и ягодных культур это соотношение регуляторов роста было определено как наиболее эффективное [11, 14]. Поэтому было решено использовать его при работе и с декоративными культурами.

При одном количестве цитокинина в питательной среде в опытах с листьями гейхеры тип используемого ауксина определил как эффективность регенерации адвентивных побегов, так и путь прохождения морфогенетических процессов.

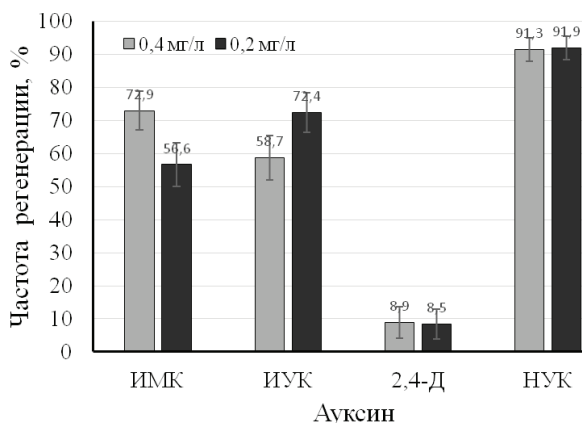
Максимальная частота регенерации гейхеры получена на средах с НУК. Уже в первом пассаже при культивировании листовых высечек с образовавшимся на них каллусом на средах с этим ауксином частота регенерации достигла 91,9% (рис. 2) и была практически одинаковой при соотношении цитокинин: ауксин в среде как 10:1, так и 20:1. При использовании этого ауксина получено и максимальное число побегов-регенератов на один регенерирующий диск (рис. 3). Эффективность этого ауксина была показана ранее и при работе с черешками листьев 13 сортов гейхеры. Максимальная частота регенерации адвентивных побегов (до 83%) получена у сортов *Blonde* и *Rio* [6].

В проведенных нами исследованиях минимальное число регенерирующих эксплантов получено на средах с 2,4-Д. Несмотря на то, что на средах с этим регулятором роста более чем на 90% эксплантов происходило образование каллуса и морфогенных образований, лишь некоторые из них в итоге развились в почки и побеги. Полученные нами результаты согласуются с данными, представленными Чан Ху с коллегами [6].

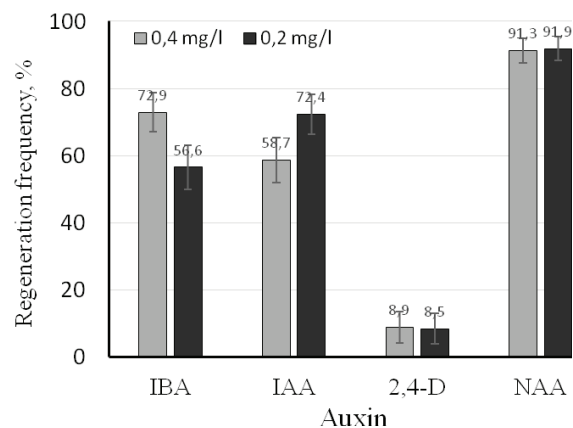
Тип используемого экзогенного ауксина был основным фактором, определяющим ход регенерации. Как следует из полученных нами результатов, у гейхеры могут иметь место как регенерация через стадию каллусообразования, так и прямая регенерация адвентивных побегов из соматических тканей

лишь с незначительным образованием каллуса. Прямая регенерация непосредственно из тканей листовой пластинки имела место при использовании в качестве ауксина ИМК (рис. 4, 5). На средах с ИУК имела место регенерация как непосредственно из тканей листа, так и через стадию каллусообразования (рис. 6, 7).

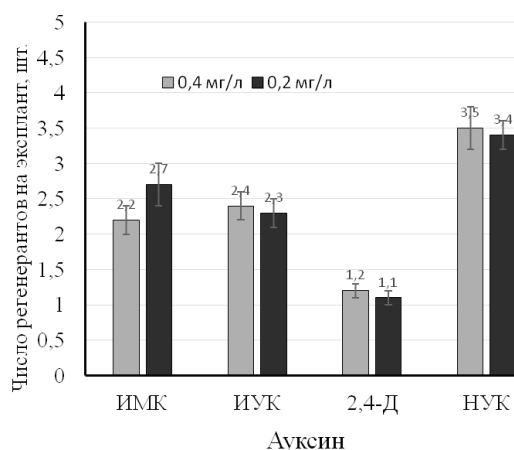
Каллусы с высоким морфогенетическим потенциалом были полупрозрачные, светло-кремовые, бежевые или желтоватые, компактные, структурированные (рис. 7, 8). Наиболее массово побеги регенерировали на средах с НУК (рис. 9). В этом случае практически на каждом листовом экспланте формировался один или несколько очагов регенерации, и общее число побегов-регенерантов на регенерирующий диск могло доходить до 7-9.



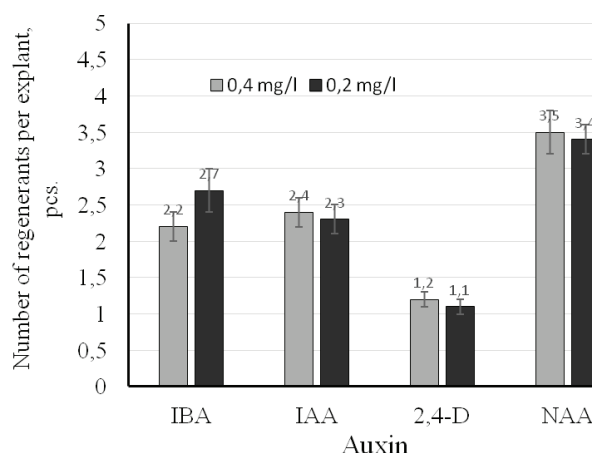
**Рис. 2.** Эффективность регенерации адвентивных побегов из листовых эксплантов гейхеры на средах с разными ауксинами



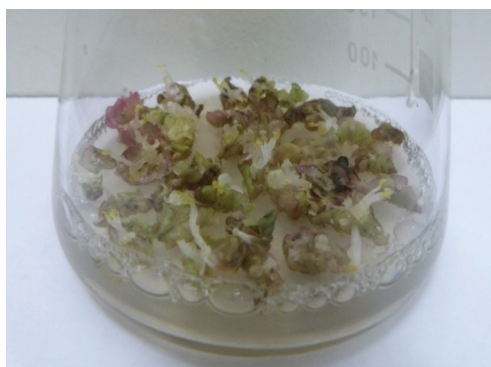
**Fig. 2.** Adventitious shoot regeneration from leaf explants of *Heuchera* hybrid on media with different auxins



**Рис. 3.** Число адвентивных побегов на листовых эксплантах гейхеры на средах с разными ауксинами



**Fig. 3.** Number of adventitious shoots on leaf explants of *Heuchera* hybrid on media with different auxins



**Рис. 4.** Регенерация адвентивных побегов гейхеры на среде Мурасиге-Скуга с 4,0 мг/л 6-БАП и 0,2 мг/л ИМК  
**Fig. 4.** Regeneration of adventitious shoots of *Heuchera* hybrid on the medium Murashige–Skoog with 4.0 mg/l 6-BA and 0.2 mg/l IBA



**Рис. 5.** Регенерация адвентивных побегов гейхеры на среде Мурасиге-Скуга с 4,0 мг/л 6-БАП и 0,4 мг/л ИМК  
**Fig. 5.** Regeneration of adventitious shoots of *Heuchera* hybrid on the medium Murashige–Skoog with 4.0 mg/l 6-BAP and 0.4 mg/l IBA



**Рис. 6.** Регенерация адвентивных побегов гейхеры на среде Мурасиге-Скуга с 4,0 мг/л 6-БАП и 0,2 мг/л ИУК  
**Fig. 6.** Regeneration of adventitious shoots of *Heuchera* hybrid on the medium Murashige–Skoog with 4.0 mg/l 6-BAP and 0.2 mg/l IAA



**Рис. 7.** Регенерация адвентивных побегов гейхеры на среде Мурасиге-Скуга с 4,0 мг/л 6-БАП и 0,4 мг/л ИУК  
**Fig. 7.** Regeneration of adventitious shoots of *Heuchera* hybrid on the medium Murashige–Skoog with 4.0 mg/l 6-BAP and 0.4 mg/l IAA



**Рис. 8.** Регенерация адвентивных побегов гейхеры на среде Мурасиге-Скуга с 4,0 мг/л 6-БАП и 0,4 мг/л 2,4-Д  
**Fig. 8.** Regeneration of adventitious shoots of *Heuchera* hybrid on the medium Murashige–Skoog with 4.0 mg/l 6-BAP and 0.4 mg/l 2,4-D



**Рис. 9.** Регенерация адвентивных побегов гейхеры на среде Мурасиге-Скуга с 4,0 мг/л 6-БАП и 0,4 мг/л НУК  
**Fig. 9.** Regeneration of adventitious shoots of *Heuchera* hybrid on the medium Murashige–Skoog with 4.0 mg/l 6-BAP and 0.4 mg/l NAA

### Выводы

При культивировании высечек листьев гейхеры гибридной сорта Джорджия Плам (*Georgia Plum*) на среде Мурасиге-Скуга с добавлением 30 г/л глюкозы, 4,0 мг/л 6-БАП и 0,2 мг/л или 0,4 мг/л НУК 100% листовых эксплантов образовали каллус, и более 90% из них регенерировали адвентивные побеги. Прямая регенерация непосредственно из тканей листовой пластинки имела место при использовании в качестве ауксина ИМК.

Разработанный протокол регенерации может быть использован в биотехнологических исследованиях, направленных на получение новых генотипов декоративных культур.

### Список источников

1. Гуцин А.В., Калашишникова Е.А., Киракосян Р.Н. Оптимизация технологии клонального микроразмножения современных сортов декоративных культур // *Sciences of Europe*. – 2019. – № 38. – С. 28-31.
2. Пугачева Г.М., Субботина Н.С., Николашина О.Н., Вдовина В.С. Особенности клонального микроразмножения гейхеры гибридной // *Приоритетные направления развития садоводства (I Потаповские чтения)*. – 2019. – С. 93-96.
3. Гусева М.В., Крахмалева И.Л. Особенности регенерации разных сортов *Heuchera* и × *Heucherella* в культуре *in vitro* // *Integral: Международный журнал прикладных наук и технологий*. – 2021. – № 4.
4. Zhao H.Q., He Qing H., Song Li L., Hou Mei F., Zhang Zhi G. In vitro culture of *Heuchera villosa* «Caramel» // *HortScience*. – 2017. – V. 52, № 4. – Pp. 622-624. doi: 10.21273/HORTSCI11340-16.
5. Nowakowska K., Bodych A., Latkowska M.J. and Pacholczak A. The use of tissue cultures in the mass production of *Heuchera* «Silver Scrolls» // *Annals of Warsaw University of Life Sciences-SGGW. Horticulture and Landscape Architecture*. – 2020. – № 41. – Pp. 5-16. doi: 10.22630/AHLA.2020.41.1.
6. Chan Xu, Hang Guo, Zhijing Wang, Yuan Chen. In vitro and cutting propagation of *Heuchera*: rapid mass production protocol and correlation between initiating ability the two methods // *Preprint, Research Square*. – 2022. doi: 10.21203/rs.3.rs-2168017/v1
7. Бутенко Р.Г., Яковлева З.М. Контролируемый органогенез и регенерация целого растения в культуре недифференцированной ткани // *Известия АН СССР*. – Серия Б. – 1962. – № 2. – С. 230-241.
8. Катаева Н.В., Бутенко Р.Г. Клональное микроразмножение растений. – М.: Наука, 1983. – 96 с.

### References

1. Gushchin A.V., Kalashnikova E.A., Kirakosyan R.N. Optimization of the technology of clonal micropropagation of modern varieties of ornamental crops. *Sciences of Europe*. 2019; 38: 28-31. (In Rus.)
2. Pugacheva G.M., Subbotina N.S., Nikolashina O.N., Vdovina V.S. Peculiarities of clonal micropropagation of *Heuchera* hybrid. *Prioritetnye napravleniya razvitiya sadovodstva (I Potapovskie chteniya)*. 2019: 93-96. (In Rus.)
3. Guseva M.V., Krakhmaleva I.L. Peculiarities of regeneration of different varieties of *Heuchera* and × *Heucherella* in *in vitro* culture. *Integral: Mezhdunarodniy zhurnal prikladnykh nauk i tekhnologiy*. 2021; 4. (In Rus.)
4. Zhao H.Q., He Qing H., Song Li L., Hou Mei F., Zhang Zhi G. In vitro culture of *Heuchera villosa* «Caramel». *HortScience*. 2017; 52; 4: 622-624. DOI: 10.21273/HORTSCI11340-16
5. Nowakowska K., Bodych A., Latkowska M.J. and Pacholczak A. The use of tissue cultures in the mass production of *Heuchera* «Silver Scrolls». *Annals of Warsaw University of Life Sciences-SGGW. Horticulture and Landscape Architecture*. 2020; 41: 5-16. DOI: 10.22630/AHLA.2020.41.1
6. Chan Xu, Hang Guo, Zhijing Wang, Yuan Chen. In vitro and cutting propagation of *Heuchera*: rapid mass production protocol and correlation between initiating ability the two methods. *Preprint, Research Square*. 2022. DOI: 10.21203/rs.3.rs-2168017/v1
7. Butenko R.G., Yakovleva Z.M. Controlled organogenesis and regeneration of the whole plant in undifferentiated tissue culture. *Izvestiya AN SSSR. Seriya B*. 1962; 2: 230-241. (In Rus.)
8. Kataeva N.V., Butenko R.G. Clonal micropropagation of plants. M.: Nauka, 1983: 96. (In Rus.)

9. *Бутенко Р.Г.* Индукция морфогенеза в культуре тканей растений // Гормональная регуляция онтогенеза растений. – М.: Наука, 1984. – С. 42-54.
10. *Носырева М.В., Вечернина Н.А., Таварткиладзе О.К.* Регенерация и размножение растений бегонии *in vitro* // Известия Алтайского государственного университета. – 2004. – № 3. – С. 094-097.
11. *Соловых Н.В., Муратова С.А.* Индукция морфогенеза из соматических тканей растений рода *Rubus* // Вестник МичГАУ. – 2010. – № 2. – С. 104-110.
12. *Митрофанова И.В.* Соматический эмбриогенез и органогенез как основа биотехнологических систем получения и сохранения декоративных и плодовых культур // Труды Никитского ботанического сада. – 2009. – Т. 131. – С. 9-22.
13. *Митрофанова И.В.* Соматический эмбриогенез и органогенез как основа биотехнологических систем получения и сохранения декоративных и плодовых культур // Биология растений и садоводство: теория, инновации. – 2009. – № 131.
14. *Муратова С.А., Соловых Н.В., Терехова В.И.* Индукция морфогенеза из изолированных соматических тканей растений: Монография. – Мичуринск: Изд-во Мичуринского госагроуниверситета, 2011. – 107 с.
15. *Сковородников Д.Н., Леонова Н.В., Озеровский А.В., Варавка А.А.* Влияние регуляторов роста растений на адвентивный органогенез земляники садовой *in vitro* // Вестник Брянского государственного университета. – 2012. – № 4 (2). – С. 222-224.
16. *Плаксина Т.В., Солохина А.А., Артамонова О.Н., Бородулина И.Д.* Пути регенерации растений вишни степной (*Prunus Fruticosa* Pall) в условиях *in vitro* // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии. – 2018. – Т. 17. – С. 234-238.
17. *Хорошкова Ю.В., Муратова С.А.* Индукция морфогенеза в культуре тканей растений // Наука и образование. – 2021. – № 4 (3).
18. *Baker B.C., Bhatia S.K.* Factors effecting adventitious shoot regeneration from leaf explants of quince (*Cydonia oblonga*) // Plant Cell Tiss. Org. Cult. – 1993. – V. 35. – Pp. 273-277.
19. *Ahmad N., Faisal M., Anis M., Aref I.M.* In vitro callus induction and plant regeneration from leaf explants of *Ruta graveolens* L. // South African Journal of Botany. – 2010. – № 76 (3). – Pp. 597-600. doi: 10.1016/j.sajb.2010.03.008.
20. *Lee J.H., Pijut P.M.* Adventitious shoot regeneration from in vitro leaf explants of *Fraxinus nigra* // Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC). – 2017. – V. 130. – Pp. 335-343. doi.: 10.1007/s11240-017-1228-1.
21. *Murashige T., Skoog F.* A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. – 1962. – V. 15, № 13. – Pp. 473-497.
22. *Иванова Н.Н., Митрофанова И.В., Митрофанова О.В.* Методические основы клонального микро размножения некоторых декоративных культур // Сборник научных трудов ГНБС. – 2014. – Т. 138. – С. 57-101.
23. *Строева Н.С., Дарханова В.Г.* Получение растений-регенерантов *Medicago varia* индукцией каллусообразования листовых эксплантов в культуре *in vitro* // Природные ресурсы Арктики и Субарктики. – 2017. – № 1 (85). – С. 110-113.
9. *Butenko R.G.* Induction of morphogenesis in plant tissue culture. Gormonal'naya regulyatsiya ontogeneza rasteniy. M.: Nauka, 1984: 42-54. (In Rus.)
10. *Nosyreva M.V., Vechernina N.A., Tavartkiladze O.K.* Regeneration and propagation of begonia plants *in vitro*. Izvestiya Altayskogo gosudarstvennogo universiteta. 2004; 3: 094-097. (In Rus.)
11. *Solovykh N.V., Muratova S.A.* Induction of morphogenesis from somatic tissues of plants of the genus *Rubus*. Vestnik MichGAU. 2010; 2: 104-110. (In Rus.)
12. *Mitrofanova I.V.* Somatic embryogenesis and organogenesis as the basis of biotechnological systems for obtaining and preserving ornamental and fruit crops. Trudy Nikitskogo botanicheskogo sada. 2009; 131: 9-22. (In Rus.)
13. *Mitrofanova I.V.* Somatic embryogenesis and organogenesis as a basis for biotechnological systems for obtaining and preserving ornamental and fruit crops. Biologiya rasteniy i sadovodstvo: teoriya, innovatsii. 2009; 131. (In Rus.)
14. *Muratova S.A., Solovykh N.V., Terekhova V.I.* Induction of morphogenesis from isolated plant somatic tissues: Monograph. Michurinsk: Izd-vo Michurinskogo gosagrouniversiteta, 2011: 107. (In Rus.)
15. *Skovorodnikov D.N., Leonova N.V., Ozerovskiy A.V., Varavka A.A.* Influence of plant growth regulators on adventitious organogenesis of garden strawberry *in vitro*. Vestnik Bryanskogo gosudarstvennogo universiteta. 2012; 4 (2): 222-224. (In Rus.)
16. *Plaksina T.V., Solokhina A.A., Artamonova O.N., Borodulina I.D.* Ways of regeneration of steppe cherry plants (*Prunus Fruticosa* Pall) *in vitro*. Problemy botaniki Yuzhnoy Sibiri i Mongolii. 2018; 17: 234-238. (In Rus.)
17. *Khoroshkova Yu.V., Muratova S.A.* Induction of morphogenesis in plant tissue culture. Nauka i obrazovanie. 2021; 4 (3). (In Rus.)
18. *Baker B.C., Bhatia S.K.* Factors effecting adventitious shoot regeneration from leaf explants of quince (*Cydonia oblonga*). Plant Cell Tiss. Org. Cult. 1993; 35: 273-277.
19. *Ahmad N., Faisal M., Anis M., Aref I.M.* In vitro callus induction and plant regeneration from leaf explants of *Ruta graveolens* L. South African Journal of Botany. 2010; 76 (3): 597-600. DOI: 10.1016/j.sajb.2010.03.008
20. *Lee J.H., Pijut P.M.* Adventitious shoot regeneration from in vitro leaf explants of *Fraxinus nigra*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC). 2017; 130: 335-343. DOI.: 10.1007/s11240-017-1228-1
21. *Murashige T., Skoog F.* A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 1962; 15; 13: 473-497.
22. *Ivanova N.N., Mitrofanova I.V., Mitrofanova O.V.* Methodical bases of clonal micropropagation of some ornamental crops. Sbornik nauchnykh trudov GNBS. 2014; 138: 57-101. (In Rus.)
23. *Stroeva N.S., Darkhanova V.G.* Obtaining *Medicago varia* regenerated plants by inducing callus formation of leaf explants in *in vitro* culture. Prirodnye resursy Arktiki i Subarkтики. 2017; 1 (85):110-113. (In Rus.)



24. *Welander M.* Plant regeneration from leaf and stem segments of shoots raised *in vitro* from mature apple trees // *J. Plant Physiol.* – 1988. – V. 132. – P. 738-744.

25. *Norizaku T., Tanimoto S., Harada H.* Effects of wounding on adventitious bud formation in *Torenia fournieri* stem segments cultured *in vitro* // *J. Exp. Bot.* – 1985. – V. 36. – Pp. 841-847.

26. *Skoog F., Miller C.O.* Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro* // *Symp Soc Exp Biol.* – 1957. – V. 11. – Pp. 118-131.

#### Информация об авторах

**Светлана Александровна Муратова**, заведующий учебно-исследовательской лабораторией и биотехнологии, профессор кафедры садоводства, биотехнологий и селекции сельскохозяйственных культур, канд. биол. наук, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение «Мичуринский государственный аграрный университет»; 393760, Россия, Тамбовская обл., г. Мичуринск, ул. Интернациональная, 101; e-mail: smuratova@yandex.ru; orcid: 0000-0003-0783-5927.

**Юлия Викторовна Хорошкова**, аспирант кафедры садоводства, биотехнологий и селекции сельскохозяйственных культур, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Мичуринский государственный аграрный университет»; 393760, Россия, Тамбовская обл., г. Мичуринск, ул. Интернациональная, 101; e-mail: yuhoroshkova@yandex.ru; orcid: 0009-0008-6010-1264.

Статья поступила в редакцию 27.02.2023  
Одобрена после рецензирования 04.05.2023  
Принята к публикации 31.08.2023

24. *Welander M.* Plant regeneration from leaf and stem segments of shoots raised *in vitro* from mature apple trees. *J. Plant Physiol.* 1988; 132: 738-744.

25. *Norizaku T., Tanimoto S., Harada H.* Effects of wounding on adventitious bud formation in *Torenia fournieri* stem segments cultured *in vitro*. *J. Exp. Bot.* 1985; 36: 841-847.

26. *Skoog F., Miller C.O.* Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro*. *Symp Soc Exp Biol.* 1957; 11: 118-131.

#### About authors

**Svetlana A. Muratova**, CSc (Bio), Head of the Biotechnology Teaching and Research Laboratory, Professor of the Department of Horticulture, Biotechnology and Crop Breeding, Michurinsk State Agrarian University; 101, Internatsional'naya Str., Michurinsk, Tambov region, 393760, Russian Federation; E-mail: smuratova@yandex.ru, orcid: 0000-0003-0783-5927.

**Yulia V. Khoroshkova**, post-graduate student, Department of Horticulture, Biotechnology and Crop Breeding, Michurinsk State Agrarian University; 101, Internatsional'naya Str., Michurinsk, Tambov region, 393760, Russian Federation; E-mail: yuhoroshkova@yandex.ru; orcid: 0009-0008-6010-1264.

The article was submitted to the editorial office 27 Feb 2023  
Approved after reviewing 04 May 2023  
Accepted for publication 31 Aug 2023