

РАЗВИТИЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В НИКИТСКОМ БОТАНИЧЕСКОМ САДУ

И.В. МИТРОФАНОВА, *доктор биологических наук*
Никитский ботанический сад – Национальный научный центр

Начало биотехнологическим исследованиям в Никитском ботаническом саду было положено всемирно известным ученым, доктором биологических наук Антониной Иосифовной Здруйковской-Рихтер. Итогом ее многолетних работ по эмбриокультуре плодовых растений, которые были начаты еще в 50-х годах прошлого столетия, стала монография, изданная в 2003 году [3].

В 70-х годах в связи с бурным развитием цветоводства в Никитском ботаническом саду (НБС) широко проводились селекционные исследования и интродукция. В этот период осуществлялся массовый завоз посадочного материала из различных регионов СССР и из-за рубежа. Последнее способствовало возникновению серьезной проблемы распространения вирусных болезней цветочных культур и необходимости их диагностики, а также разработки комплексных мероприятий по борьбе с вирусной инфекцией. Поэтому в 1976 году по предложению комиссии ВАСХНИЛ по проверке научной деятельности, возглавляемой академиком АН СССР И.Г. Атабековым, в НБС была создана группа вирусологии и культуры органов и тканей, руководителем которой была назначена Ольга Владимировна Митрофанова, на тот момент активно проводящая свои исследования в области фитопатологии и вирусологии растений. Впервые в стране научными сотрудниками группы были разработаны методы диагностики вирусных болезней и оздоровления растений гвоздики ремонтантной, хризантемы, антуриума Андрэ, бегонии Элатор, тюльпанов, лилии, гиацинта, нарциссов, гиппеаструма, гладиолусов [35, 42, 58, 59]. На основе полученных результатов исследований были опубликованы методические рекомендации по получению и размножению безвирусного посадочного материала цветочно-декоративных культур [36, 37, 55, 56]. Эти разработки были отмечены серебряными и бронзовыми медалями ВДНХ СССР и активно внедрялись в производство на базе Меристемного комплекса (г. Симферополь) и Оранжерейного комплекса (п. Горки-10, Московская обл.). В рамках международной программы сотрудничества СЭВ были начаты совместные исследования с немецкими и болгарскими учеными по проблемам диагностики вирусных болезней промышленных цветочных культур и мерам борьбы [70, 79]. В это время в Степном отделении НБС (п. Генеральское, Симферопольский р-он) сотрудниками группы проводилось изучение видового состава вирусов косточковых плодовых культур и разрабатывались методы получения безвирусного посадочного материала. Значительный вклад в разработку методов оздоровления косточковых плодовых культур от вирусов внес научный сотрудник Тесленко А.В. [60, 69].

В 80-е годы биотехнология растений в Никитском ботаническом саду сформировалась как самостоятельное научное направление. Лишь благодаря комплексному использованию различных знаний в области вирусологии, микробиологии, генетики, биохимии, физиологии и эмбриологии растений стало возможным активное развитие и расширение сферы применения биотехнологических исследований.

В 1986 году был организован отдел биотехнологии растений, который возглавила Митрофанова О.В. и была его бессменным руководителем до 2003 г. В 2006 году за многолетний вклад в развитие науки ей было присвоено звание заслуженного деятеля науки и техники Украины.

Сотрудники отдела принимали участие в Международной комплексной программе научно-технического сотрудничества по заданию «Разработать технологии для оздоровления и клонального микроразмножения цветочных культур», а также в государственных программах по двум темам: «Изучить способы получения, условия культивирования растений-регенерантов плодовых, субтропических, орехоплодных и декоративных культур» и «Осуществить клональное микроразмножение и оздоровление цветочно-декоративных растений с использованием культуры клеток и тканей для улучшения качества посадочного материала и повышения урожайности растений». Дальнейшие исследования выполнялись в рамках проекта Государственного комитета по науке и технологии СССР «Новые растения».

Научными программами руководили д.с.-х.н. Е.Ф. Молчанов и академик АН Молдовы, проф., д.б.н., А.А. Чеботарь. Проводимые в отделе в рамках этих программ исследования имели огромное теоретическое и практическое значение.

Итогом многолетних исследований Митрофановой О.В. – ведущего специалиста в области вирусологии и биотехнологии как у нас в стране, так и за рубежом, стали разработанные ею модель системы освобождения от вирусов цветочно-декоративных культур и биотехнологии массового размножения растений. Эти результаты легли в основу монографии, опубликованной в 1992 году, и докторской диссертации по теме «Вирусные болезни промышленных цветочных культур и биотехнологические приемы их оздоровления» [38, 39, 79].

Научными сотрудниками отдела Кравцовой Т.А. и Евмененко А.Ф. разрабатывались методы ранней диагностики фенотипической изменчивости растений-регенерантов различных сортов розы садовой, способы получения фузариозоустойчивых сортов гвоздики и устойчивых к мучнистой росе сортов персика в условиях *in vitro* и *in vivo* [2].

Также особое внимание уделялось биотехнологическим исследованиям субтропических плодовых культур (киви, зизифуса, ананаса, хурмы, азимины) с помощью биотехнологических методов. Митрофановой И.В. изучены основные пути регенерации растений различных видов, сортов киви и зизифуса. При этом показано влияние фитогормонов на процессы индукции развития эксплантов. Впервые разработан способ соматического эмбриогенеза зизифуса из семядолей зиготических зародышей трех сортов и получены полноценные растения [29, 34]. По результатам проведенных исследований Митрофановой И.В. в 1994 году защищена кандидатская диссертация на тему «Биологические особенности индуцированного морфогенеза и регенерации растений зизифуса (*Zizyphus jujuba* Mill.) в условиях *in vitro*» по специальности биотехнология [18]. В 1996 году успешно закончили аспирантуру и защитили кандидатские диссертации 2 аспиранта из Индии. Виджешваром П. выполнены исследования по теме «Биотехнологические и физиологические основы клонального микроразмножения *Actinidia deliciosa* (Chev.) Liang, Ferguson» [1]. Пандеем Д.К. на основе сравнительного изучения в условиях *in vitro* регенерационной способности двух видов зизифуса защищена диссертация на тему «Индукцированный морфогенез и микроразмножение *in vitro* зизифуса индийского (*Zizyphus mauritiana* Lam.) и китайского (*Zizyphus jujuba* Mill.)» [63]. Наряду с этим, в рамках выполненного проекта Ивановой Н.Н. и сотрудниками отдела разработаны способы получения растений ананаса из различных экотипов [6, 7].

Комплексная работа с отделом новых технических и лекарственных растений в первой половине 90-х годов позволила Митрофановой О.В., Пивень И.П., Ивановой Н.Н. и Лагутовой Е.И. выявить особенности регенерации эфиромасличных и лекарственных растений, таких как полынь лимонная и полынь метельчатая, монарда дудчатая, солодка голая, мирт обыкновенный, ладанник крымский, и представить методы высокоэффективного получения растительного сырья в условиях *in vitro* [12, 47, 51, 64]. Наряду с этим были изучены условия накопления каллусной биомассы растений розмарина, ладанника, мирта. Кроме того, сотрудниками отдела выполнены исследования по изучению потенций различных органов и тканей тиса ягодного к каллусообразованию в условиях *in vitro*. Участие в этой работе научного сотрудника отдела биохимии растений Фадеева Ю.М. позволило выделить три типа эксплантов, содержащих максимальное количество таксола. Ивановой Н.Н. и научным сотрудником отдела биохимии растений Рихтером А.А. проведено изучение содержания антоцианов у растений периллы нанкинской, полученных в условиях *in vitro* и адаптированных *in situ*, и выделено 19 новых форм с высоким содержанием антоцианов.

Наряду с этим, в 1997-2000 гг. Митрофановой О.В., Митрофановой И.В., Ивановой Н.Н. и аспирантом Зильберварг И.Р. совместно с заведующим отделом новых технических и лекарственных растений, д.б.н. Работяговым В.Д., а также заведующим отделом физико-химической биологии клетки Института клеточной биологии и генетической инженерии, д.б.н. Блюмом Я.Б. и научным сотрудником Емец А.И. были выполнены оригинальные исследования в рамках проекта Министерства образования и науки Украины «Синтезировать полиплоиды лекарственных растений *Hyssopus officinalis* L. и *Nepeta cataria* var. *citriodora* Beck. с использованием антимикротрубочковых соединений в условиях *in vitro*». Разработаны способы полиплоидизации *in vitro* котовника и иссопа, получены новые полиплоидные формы и проведена их апробация в условиях *in situ* [5, 76]. По материалам исследований аспирантом

Зильберварг И.Р. была подготовлена и успешно защищена кандидатская диссертация на тему «Биотехнологические основы получения полиплоидных растений котловника (*Nepeta* sp.) с использованием антимикротрубочковых соединений для целей селекции» [4]. Митрофановой И.В., Ивановой Н.Н., Митрофановой О.В. получен патент Украины на «Способ регенерации микропобегов *Hyssopus officinalis* L. в условиях *in vitro*» [68].

Начиная с 1994 года, Митрофановой О.В. и Лесниковой Н.П. совместно со специалистами отдела плодовых культур выполнены исследования в рамках программы ГКНТП Украины по заданию «Разработка технологий создания разнообразного генетического материала персика, абрикоса, алычи на основе соматональных вариаций, эмбриокультуры, индуцированной изменчивости *in vitro* на безвирусной основе». Были определены биотические и абиотические факторы культивирования зиготических зародышей (зрелых и незрелых) персика, абрикоса, алычи и с помощью сочетания методов традиционной селекции и биотехнологии получены новые формы растений [13]. В этот же период усовершенствована модель системы освобождения растений персика, абрикоса и алычи от вирусов и на ее основе разработаны биотехнологии получения и клонального микроразмножения безвирусного посадочного материала [49, 52, 54, 57, 77].

В целях размножения, оздоровления, оптимизации и ускорения селекционного процесса для создания экологически устойчивых и иммунных сортов и форм интенсивного типа изучалось действие гамма-облучения на ткани и органы розы и персика в культуре *in vitro* и выявлялись оптимальные условия культивирования эксплантов и получения растений *in vitro* [40, 78].

Созданная в Степном отделении группа биотехнологии как подразделение отдела выполняла исследования по изучению состава вирусов косточковых плодовых культур, оздоровлению и клональному микроразмножению вишни и сливы [69]. Итогом многолетней работы стала защищенная Лукичевой Л.А. в 2004 году кандидатская диссертация на тему «Биотехнологические приемы оздоровления и клонального микроразмножения вишни (*Cerasus vulgaris* Mill.) и сливы (*Prunus domestica* L.) в Крыму» [17].

За время обучения в аспирантуре отдела Попковой Л.Л. разработан метод асимбиотического микроразмножения в условиях *in vitro* редких и исчезающих видов орхидей флоры Крыма для восстановления их численности и репатриации в естественные места обитания. Результаты, полученные ею, легли в основу защищенной в 1999 году кандидатской диссертации на тему «Редкие виды орхидных флоры Крыма, их микроразмножение и поддержание биологического разнообразия» [65].

Для расширения сортимента цветочно-декоративных культур закрытого грунта научными сотрудниками отдела исследованы особенности органогенеза и соматического эмбриогенеза в условиях *in vitro*, показаны пути регенерации и получены безвирусные растения орхидей, гуцмании, бильбергии, ахмее, маранты, корделины, юкки, различных видов папоротника, алоказии, герберы, каладиума и цветной каллы [9, 20, 32, 33, 41, 48, 71, 72, 77].

Особое теоретическое значение имеют работы Митрофановой И.В. по исследованию вопросов соматического эмбриогенеза *in vitro* декоративных растений, разработке реципиентных систем *in vitro* субтропических плодовых культур и эфиромасличных растений [19, 24-26, 30, 31, 50, 66, 67, 73-75]. Ею предложены возможные пути сохранения растительной плазмы в виде медленно растущих коллекций с помощью разработки способа минимизации роста растений [21, 28]. Обобщение этих результатов легло в основу докторской диссертации «Соматический эмбриогенез и органогенез как основа биотехнологии получения и сохранения многолетних садовых культур» [22].

В 2003 г. в связи с реорганизацией научных подразделений НБС – ННЦ произошло объединение двух отделов, и отдел биотехнологии и биохимии растений возглавил директор НБС, академик НААНУ, проф., д.т.н. Валерий Никитович Ежов. С 2008 г. в составе отдела была выделена лаборатория биотехнологии и вирусологии растений, руководителем которой была назначена д.б.н. И.В. Митрофанова.

В период 2001-2005 гг. биотехнологические исследования по двум основным направлениям: «Изучить условия длительного депонирования растительного материала и создать *in vitro* коллекции ценных видов и сортов растений, разработать новые методы селекции *in vitro* и получить новые безвирусные формы цветочных, плодовых и эфиромасличных культур» и «Разработать новые методы селекции *in vitro* розы садовой, иссопа

обыкновенного, абрикоса, алычи, персика и миндаля».

В процессе изучения регенерационной способности эксплантов определены оптимальные концентрации и соотношения регуляторов роста, индуцирующие стабильную регенерацию как адвентивных почек, так и микропобегов исследуемых культур. Анализ полученных результатов по депонированию показал, что при длительном хранении изучаемых видов растений на питательных средах, содержащих сахарозу в низких концентрациях, явно прослеживалась тенденция снижения жизнеспособности эксплантов в зависимости от увеличения периода депонирования. С повышением концентрации сахарозы до 60-90 г/л жизнеспособность эксплантов возрастала до 70-90%. Среди эксплантов миниатюрных роз менее стабильным оказался сорт Бэби Бантинг. Более высокой жизнеспособностью обладали соматические зародыши клематиса и протокормы цимбидиума. Использование маннита в концентрации 60 мг/л оказывало стабилизирующее действие на экспланты. Изучена кинетика роста на примере эксплантов розы и клематиса. Показано, что через 6 месяцев культивирования в контрольных вариантах без ингибиторов роста (стандартные условия культивирования) длина микропобегов розы увеличивалась в 6 раз. При этом на средах, содержащих сахарозу, при низких температурах ($5 \pm 1^\circ\text{C}$) микропобеги удлинялись в среднем в 1,5-2 раза. Наблюдения за ростом микропобегов и соматических зародышей клематиса показало, что на контрольной среде длина микропобега увеличивается в 8-9 раз, а на средах с сахарозой – в 3 раза. Введение в питательную среду абсцизовой кислоты до 10 мг/л способствовало замедлению роста микропобегов и индукции адвентивного побегообразования. Подготовлены методические рекомендации по отбору оптимальных эксплантов декоративных растений, субтропических и косточковых плодовых культур для депонирования в условиях *in vitro*, в которых отражены основные этапы микроразмножения растений и оценка экспланта для последующего создания растущих коллекций. Для характеристики регенерационной способности эксплантов предложены такие показатели, как ростовой индекс (GI), органогенетический индекс (OI), частота регенерации (R, %) и эффективность микроразмножения (K, %). Проведена бонитировка состояния эксплантов исследуемых растений и показано, что жизнеспособностью до 80-90% обладали протокормы цимбидиума, микропобеги киви, соматические зародыши и микропобеги клематиса. У микропобегов розы садовой уровень жизнеспособности после 2-летнего депонирования не опускался ниже 60-70%. Жизнеспособность эксплантов юкки и фейхоа не превышала 45%. При оценке по внешним признакам практически все экспланты имели показатель 3-4 балла на средах с 90 г/л сахарозы. Как конечный результат был разработан способ минимализации роста растений и увеличения продолжительности сохранения пробирочных растений с изменением кинетики роста, включающий в себя комплексное использование осмотиков, низкой положительной температуры [21, 28, 62].

Тема по созданию генобанка *in vitro* имела дополнительное финансирование Министерства образования и науки Украины в рамках государственной научно-технической программы «Биотехнология растений и биобезопасность» в 2003-2006 гг., в которой участвовали научные сотрудники Митрофанова И.В., Митрофанова О.В., Иванова Н.Н., Мовчан О.П.

Применение новых методов селекции *in vitro* позволило значительно ускорить селекционный процесс и создать генетическое разнообразие розы садовой, иссопа обыкновенного, абрикоса, алычи, персика и миндаля. Разработан способ применения колхицина в условиях *in vitro* для получения фертильных форм розы садовой из межвидовых гибридов Весенняя Заря и Каховка, полиплоидных – иссопа обыкновенного (из растений с синей, розовой и белой окраской венчика цветка) и персика (сортов Турист x Турист, Орфей). Выявлены основные факторы, регулирующие морфогенез розы садовой, иссопа обыкновенного и персика *in vitro*. Разработан способ обработки колхицином вегетативных почек и микропобегов: определены экспозиции (7-14 суток) и концентрации препарата (10-100 мкМ). В результате химического мутагенеза *in vitro* получены новые формы розы садовой, иссопа обыкновенного, персика и дана их оценка по морфобиологическим признакам [15, 16, 30, 66]. Растения переданы в растениеводческие отделы для дальнейших исследований в условиях *in situ*.

Из недоразвитых зародышей создан гибридный материал косточковых плодовых и орехоплодных культур ранних сроков созревания в условиях *in vitro*. Получено 97 форм, в том числе: 30 гибридных форм персика от комбинаций скрещивания Молодежный x Крымский

Фейерверк, Глинка х Харбингер, Чехов х Крымский Фейерверк, 8 от свободного опыления Монро, 46 форм абрикоса от свободного опыления (Наследник, Дионис, Букурия, Эффект, Вымпел, Лефроста, Гулистан, Крокус, Шалах, 9 гибридных форм алычи от комбинации скрещивания Кизилташская Ранняя х Вилора, Обильная х Пионерка и 2 от свободного опыления (Студенческая), 2 формы сливы от свободного опыления (Писсарди Крупноплодная), 4 новые формы миндаля (17/7 F₁ 10572, *Amygdalus webbii*, 16|8-31, 18/14-31).

В последние годы в связи с широким распространением и вредоносностью вируса шарки (*Plum rox virus* – PPV) на косточковых плодовых культурах проводился поиск устойчивых и толерантных сортов персика, абрикоса, алычи и сливы. Разработаны основы системы культивирования бутонов, завязей и зиготических зародышей абрикоса, алычи и сливы и подготовлены методические рекомендации по их введению, оплодотворению и выращиванию в условиях *in vitro* [14, 43, 45, 49]. Получены 15 толерантных форм косточковых плодовых культур из незрелых зиготических зародышей, изолированных от комбинации скрещивания сортов абрикоса Крымский Амур х SEO, Крымский Медунец х SEO, Крымский Медунец х Narcot, Крымский Амур х Narcot, алычи Иностранка х Румяная Зорька и сливы Венгерка Юбилейная х Клеймен, которые адаптированы к условиям теплицы и переданы в растениеводческий отдел. Оздоровлены от вируса шарки 17 растений персика сорта Золотая Москва.

Получено 10 соматоклонов розы садовой на безвирусной основе. Исходным материалом служили междоузлия и высежки листа 3 сортов: Мистер Блюбёд, Рулети, Цвергкёниг, которые переданы в отдел дендрологии и цветоводства [28, 62].

В период 2006-2010 гг. исследования выполнялись по двум фундаментальным проектам («Разработать систему экспресс-диагностики вируса шарки (*Plum rox virus*) персика, абрикоса, алычи, сливы и выделить устойчивые к шарки генотипы, использовать в селекции *in vitro* и размножении безвирусного посадочного материала»), «Создать в условиях *in vitro* коллекции ценного растительного генофонда на основе изучения биотических и абиотических факторов безпересадочного культивирования регенерантов плодовых, субтропических и декоративных культур») и одному прикладному проекту в рамках НТП «Сельскохозяйственная биотехнология 2006-2010 гг.» («Создать высокопродуктивные соматоклоны киви, зизифуса, хурмы, фейхоа с применением методов селекции *in vitro*»).

На основе базовых питательных сред Monnier (1973), Murashige, Skoog (1962), Gamborg, Eveleigh (1968), Quoirin, Lepoivre (1977) разработано 12 модифицированных составов питательных сред для введения и культивирования на разных этапах морфогенеза эксплантов 6 ценных сортов персика, 3 комбинаций скрещивания абрикоса, 1 комбинации скрещивания сливы, 1 сорта и 2 комбинаций скрещивания алычи. В качестве эксплантов использованы недоразвитые зародыши, меристематические ткани, вегетативные почки, верхушки активно растущих побегов. Методами ИФА и растений-индикаторов ретестировано 28 регенерантов, в которых вирус шарки отсутствует.

Методами визуальной диагностики (по симптомам) и с применением высокоэффективной системы «Пиротест» дана оценка 485 отобраным сортообразцам косточковых плодовых культур на поражаемость вирусом шарки, среди которых выявлены сортообразцы с низким (+), средним (++) и высоким содержанием вирусных частиц в клеточном соке. Так, из 151 сортообразца в коллекционных посадках НБС – НИЦ вирус шарки подтвержден в 51 сортообразце, в том числе в 44 сортообразцах персика, 3 – абрикоса, 2 – алычи и в 2 – сливы, что составляет чуть более 30% от количества протестированных сортов. В насаждениях плодовых культур Бахчисарайского района АР Крым из обследованных 334 сортообразцов вирус шарки подтвержден в 130 сортообразцах. Таким образом, общая картина свидетельствует о необходимости поиска и отбора толерантных сортов к вирусу шарки косточковых плодовых культур. По материалам исследований подготовлены методические рекомендации по отбору толерантных к вирусу шарки (PPV) сортов абрикоса, алычи, персика и сливы.

Наряду с этим, для оптимизации поиска толерантных и устойчивых к вирусу шарки сортов разработан хроматографический метод качественного и количественного исследования стероидных гликозидов (СГ) применительно к растениям рода *Prunus* – персику, абрикосу, алыче и сливе. Сравнивая содержание стероидных гликозидов в почках и листьях, у

толерантных к вирусу шарки сортов абрикоса Харкот, Старк Эрли Оранж СГ не обнаружены, а в пораженных растениях восприимчивых сортов Маркулешти, Детский, Мечта обнаружено по 1-2 СГ, что подтверждается результатами тестирования этих сортов с применением системы «Пиротест». Установлено, что содержание СГ в древесине, почках и листьях восприимчивых сортов и инфицированных растениях выше, чем в устойчивых сортах и здоровых растениях. Комплексный подход, используемый при отборе устойчивых и толерантных к вирусу шарки сортов абрикоса, алычи и сливы позволил выявить толерантные на естественном инфекционном фоне сорта: абрикоса – Крымский Амур, Старк Эрли Оранж, Хендерсон; алычи – Вишневая Ранняя, Оленька, Субхи Ранняя; сливы – Нивена, Монфор. Отобран растительный материал листьев персика, абрикоса, алычи, персика и сливы, который послужит сырьем для выделения обнаруженных стероидных гликозидов с целью углубленного исследования их влияния на устойчивость растений к вирусу шарки [44-46, 53, 61].

Экспланты наиболее ценных сортов введены в условия *in vitro* для оздоровления и последующего размножения.

В рамках хоздоговорной тематики и подготовки аспирантов проводятся исследования по выявлению особенностей регенерации растений сортов и подвоев черешни [10, 11]. Разработаны биотехнологические системы получения безвирусного посадочного материала черешни. По материалам этих исследований подготовлена кандидатская диссертация Н.В. Корзиной.

С целью разработки системы депонирования растений изучено воздействие ингибиторов роста на развитие эксплантов в условиях *in vitro*. Показано, что введение в состав питательной среды хлорхолинхлорида (ССС) способствовало замедлению роста эксплантов в 2-3 раза по сравнению с контролем. При этом кинетика роста снижалась в 2 раза. У эксплантов клематиса, розы, киви и алычи отмечено образование дополнительных микропобегов длиной 0,5-1 см, при этом количество междоузлий достигало 2-2,5 шт. на эксплант. Микропобеги алычи удлинялись в 1,2 раза, побеги абрикоса и хурмы – в 0,6 раза. Наряду с этим, в процессе депонирования у эксплантов хурмы и абрикоса не отмечено формирование адвентивных почек и микропобегов. Скрининг исследуемых культур, подвергшихся воздействию низких положительных температур и ретарданта ССС в течение 36 месяцев, позволил выявить среди них экспланты с максимальным уровнем жизнеспособности. Так, при концентрации ССС 0,2-0,4 г/л количество жизнеспособных эксплантов у розы, клематиса, орхидей, абрикоса, киви, фейхоа достигало 90-100%. Высокой жизнеспособностью на питательных средах с ССС обладали соматические зародыши клематиса и протокормы цимбидиума (100%). Введение в питательные среды ССС в концентрации 0,8 г/л индуцировало формирование каллуса в базальной части эксплантов всех исследуемых культур. Применение ССС в концентрации 0,9-1,2 г/л резко снижало жизнеспособность эксплантов, особенно плодовых культур (до 30-60%). При этом уровень жизнеспособности эксплантов розы, орхидеи и клематиса составил 80-85%. Экспланты после переноса в стандартные условия культивирования образовывали адвентивные микропобеги и полноценные регенеранты. Кроме того, отмечено значительное увеличение коэффициента размножения у исследуемых видов растений.

Создан генобанк растений *in vitro*, представленный 27 сортами розы садовой (Дольче Вита, Нью-Доун, Конрад Хенкель, Пусста, Леди Ридинг, Казино, Аджимушкой, Коралловый Сюрприз, Херсонес, Крымские Огоньки, Золотая Осень, Пестрая Фантазия, Пламя Востока, Благовест, Дина, Профессор Виктор Иванов, Седая Дама, Девичьи Грезы, Джим, Белянка, Аю-Даг, Лезгинка, Красный Мак, Октябрина, Крымский Маяк, Эмми, Золотой Юбилей), 5 сортами мини розы (Рулети, Бэби Бантинг, Огонек, Искорка, Мальчик-с-Пальчик), 6 сортами клематиса (Серенада Крыма, Crimson Star, Козета, Юность, Невеста, Лесная Опера), 3 видами орхидей (*Cymbidium minima*, *Cymbidium hybridum* сорт Мелита, *Dossinia* sp.), 1 видом юкки (юкка алоэлистная), 2 формами фейхоа, 4 сортами киви (Аббот, Бруно, Монти, Сааништон), 5 сортами сливы (Блю Фри, Кизил Султан, Поп Харитон, Султан Эрик, Verity), 1 сортом абрикоса (Крымский Амур), 1 сортом алычи (Оленька).

Разработан способ применения осмотиков и ретардантов для депонирования растений в условиях *in vitro*, в котором показаны последовательные этапы этого метода: приготовление базовых питательных сред; добавление растворов сахарозы, маннита, сорбита, АБК и ССС в среды для депонирования; введение растительных эксплантов на питательные среды с

осмотиками и ретардантами; помещение растительного материала в культуральных сосудах в холодильные камеры; оценка растительного материала после 3, 6, 12, 18, 24 месяцев депонирования с осмотиками и ретардантами [21, 23].

Начаты исследования по изучению морфогенетических потенциалов органов и тканей сортов маслины европейской селекции НБС – ННЦ и интродуцированных с Кавказа [27]. Изучены возможности формирования сферобластов [80]. Проведен молекулярно-генетический анализ 12 сортов.

Следует подчеркнуть, что сотрудники принимали активное участие в организации и проведении ряда международных симпозиумов и конференций: 1-ой международной конференции «Фундаментальные и прикладные проблемы фитовирусологии» (1994) совместно с кафедрами вирусологии Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова и Киевского государственного университета им. Т.Г. Шевченко; международных конференций «Пути решения проблем и перспективы развития биотехнологии в декоративном садоводстве и плодоводстве» (1997) и «Биотехнологические приемы использования и сохранения растительных ресурсов» (2002) совместно с Институтом клеточной биологии и генетической инженерии НАНУ; международной конференции «Актуальные проблемы прикладной генетики, селекции и биотехнологии растений» (2009) совместно с Институтом винограда и вина «Магарач» и Украинским обществом селекционеров и генетиков им. Н.И. Вавилова.

Подготовка кадров по биотехнологии растений продолжалась на протяжении многих лет. В 2009 г. успешно защитила кандидатскую диссертацию «Особенности морфогенеза и клональное микроразмножение некоторых цветочно-декоративных культур» Иванова Н.Н. [8].

Результаты исследований отдела были представлены в 2002 году на международной выставке Biotech-2002 в Ганновере (Германия) и на протяжении 2000-2010 гг. на отраслевых выставках, проводимых в Украине.

Неоценимую помощь в разные годы работы оказывали лаборанты: Костенко Т.Н., Бурдейный А.А., Кормилицина Н.А., Семенова А.В., Бойко Е.Е., Винокурова Е.Н., Семина Т.В., Шенфиш Н.Р., Никифорова Т.М., Челомбит С.В.

Научные сотрудники являются членами Украинского общества селекционеров и генетиков, Украинского общества клеточных биологов, Международной ассоциации по культуре тканей и биотехнологии IAPTC&Biotechnology, Европейской ассоциации по исследованиям в области селекции растений EUCARPIA, Европейской федерации обществ по физиологии растений FESPP, членами спецсоветов НБС – ННЦ и Харьковского аграрного университета, ежегодно цитируются во всемирной энциклопедии «Кто есть кто» в 2-х томах: «Кто есть кто в мире» и «Кто есть кто в науке и инженерии».

Лаборатория активно ведет исследования в рамках договоров о научно-техническом сотрудничестве с биологическим факультетом Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова (г. Москва, Россия) с целью совместных исследований в области фитомониторинга, испытания методов диагностики и способов массовой экспресс-диагностики вируса шарки сливы (*Plum rox virus – PPV*), с кафедрой генетики и биотехнологии Львовского национального университета (г. Львов, Украина) по вопросам оценки разнообразия штаммов микроорганизмов в грунте и ризосфере коллекционных посадок НБС – ННЦ растений персика и маслины; с кафедрой молекулярной биологии и биотехнологии Александрийского технологического образовательного института (г. Салоники, Греция) по вопросам молекулярной биологии и биотехнологии растений.

Полученные результаты биотехнологических исследований широко внедрены и внедряются в виде способов, методов и систем *in vitro* в научных, производственных и учебных процессах России и Украины.

Перспективными и конкурентоспособными в области биотехнологии на сегодняшний день являются такие направления:

1. изучение биологии культивируемых клеток, тканей, особенностей роста и дифференцировки *in vitro* субтропических и косточковых плодовых культур, декоративных и лекарственных растений;

2. соматический эмбриогенез субтропических плодовых и декоративных растений в культуре *in vitro*;

3. восстановление численности редких и исчезающих видов растений дикорастущей

флоры с помощью разрабатываемых систем регенерации растений в условиях *in vitro*;

4. ускорение интродукционного процесса путем размножения в условиях *in vitro* новых видов, сортов, представленных в единичных экземплярах и трудноразмножаемых традиционными методами; селекция *in vitro* и разработка реципиентных систем растений *in vitro*;

5. создание селекционных форм и получение генетического разнообразия с использованием биотехнологических методов (эмбриокультуры, гаплоидии, индуцированного мутагенеза и генетической инженерии);

6. создание системы безвирусного растениеводства на основе:

а) разработки новых высокоэффективных технологий оздоровления и современных экспресс-методов массовой диагностики вирусов;

б) получение устойчивых к вирусным инфекциям форм субтропических и косточковых плодовых культур, цветочно-декоративных и лекарственных растений методами биотехнологии и генной инженерии.

Список литературы

1. Виджешвар П. Биотехнологические и физиологические основы клонального микроразмножения *Actinidia deliciosa* (Chev.) Liang, Ferguson: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Ялта, 1996. – 25 с.

2. Евмененко А.Ф., Исиков В.П., Митрофанова О.В. Профилактика увядания гвоздики ремонтантной // Бюл. Никит. ботан. сада. – 1988. – Вып. 66. – С. 67-71.

3. Здруйковская-Рихтер А.И. Эмбриокультура изолированных зародышей, генеративных структур и получение новых форм растений. – Симферополь: Издательство «Крым-Фарм-Трейдинг», 2003. – 368 с.

4. Зильберварг І.Р. Біотехнологічні основи одержання поліплоїдних рослин м'яти котячої (*Nepeta* sp.) із застосуванням антимікротрубочкових сполук для цілей селекції: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – Ялта, 2002. – 20 с.

5. Использование оризалина и амипрофосметила для эффективной полиплоидизации котовника (*Nepeta* sp.) / Зильберварг І.Р., Митрофанова І.В., Емец А.І., Митрофанова О.В., Работягов В.Д., Блюм Я.Б. // Доповіді Нац. академії наук. – 2001. – № 3. – С. 169-174.

6. Иванова Н.Н. Клональное микроразмножение некоторых листовых декоративных растений // Биотехнологические исследования садовых и других ценных многолетних культур: Сб. науч. трудов / Никит. ботан. сад. – 1997. – Т. 119. – С. 153-168.

7. Иванова Н.Н., Митрофанова І.В., Митрофанова О.В. Особенности клонального размножения *Ananas comosus* Merr. // Проблемы дендрологии, садоводства и цветоводства: Материалы Междунар. конф. молодых ученых, Ялта, 24-26 октября 1994 г. – Ялта, 1994. – С. 67-71.

8. Иванова Н.М. Особливості морфогенезу та клональне мікророзмноження деяких квітково-декоративних культур: Автореф. дис. ... кандидата біол. наук / Никітський ботанічний сад – Національний науковий центр УААН. – Ялта, 2009. – 20 с.

9. Карпов П.А. Биологические особенности *Yucca torreyi* Shafer.: размножение растений и получение стероидных гликозидов *in situ* и *in vitro*: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Ялта, 2000. – 19 с.

10. Корзина Н.В. Микроразмножение перспективных сортов черешни (*Prunus avium* L.) в условиях *in vitro* // Тр. Никит. ботан. сада. – 2009. – Т. 131. – С. 112-117.

11. Кузнецова Н.В., Митрофанова О.В. Влияние регуляторов роста на регенерационную способность четырех сортов черешни (*Prunus avium* L.) в условиях *in vitro* // Фактори експериментальної еволюції організмів: Зб. наук. пр. / Укр. т-во генетиків і селекціонерів ім. М.І. Вавилова. – К.: Логос, 2008. – Т. 5. – С. 287-290.

12. Лагутова Е.И., Пивень И.П. О возможности получения генетического разнообразия полыни лимонной в культуре *in vitro* // Основные направления научных исследований по интенсификации эфиромасличного производства: Тез. докл. V Всесоюз. симпозиум, Симферополь, 17-19 сентября, 1990 г. – Симферополь. – 1990. – С. 29-30.

13. Лесникова Н.П., Смыков А.В., Горина В.М. Культура зародышей и получение гибридных форм персика, абрикоса, алычи // Биотехнологические исследования садовых и других

ценных многолетних культур: Сб. науч. трудов / Никит. ботан. сад. – 1997. – Т. 119. – С. 46-63.

14. Лесникова-Седошенко Н.П., Митрофанова О.В. Особенности морфогенеза в культуре органов и тканей абрикоса (*Prunus armeniaca* L.) // Бюл. Никит. ботан. сада. – 2006. – Вып. 92. – С. 12-15.

15. Лесникова-Седошенко Н.П., Митрофанова О.В., Смыков А.В. Биотехнологические приемы в селекции персика и абрикоса // Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології: Зб. наук. пр. Укр. т-ва генетиків і селекціонерів ім. М.І. Вавилова / За ред. В.А. Кунаха. – К.: Логос, 2007. – Т. 2. – С. 521-524.

16. Применение биотехнологических методов в получении селекционных форм персика (*Prunus persica* (L.) Batsch.) и абрикоса (*Prunus armeniaca* L.) / Лесникова-Седошенко Н.П., Митрофанова О.В., Смыков А.В., Горина В.М. // Труды Никит. ботан. сада. – 2007. – Т. 128. – С. 33-40.

17. Лукічова Л.О. Біотехнологічні прийоми оздоровлення і клонального мікророзмноження вишні (*Cerasus vulgaris* Mill.) і сливи (*Prunus domestica* L.) у Криму: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – Ялта, 2004. – 20 с.

18. Митрофанова И.В. Биологические особенности индуцированного морфогенеза и регенерации растений зизифуса (*Zizyphus jujuba* Mill.) в условиях *in vitro*: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Ялта, 1994. – 23 с.

19. Митрофанова И.В. Прямая регенерация микропобегов из листовых дисков киви (*Actinidia deliciosa* (Chev.) Liang, Ferguson) в условиях *in vitro* // Интродукція рослин. – 2000. – № 1. – С. 157-158.

20. Митрофанова И.В. Особенности микроразмножения гемарии разноцветной и доссинии в условиях *in vitro* // Біологічний вісник. – 2003. – Т. 7, № 1-2. – С. 43-45

21. Митрофанова И.В. Использование биотехнологических методов в создании медленно растущих коллекций ценного растительного генофонда // Фактори експериментальної еволюції організмів: Зб. наук. пр. Укр. т-ва генетиків і селекціонерів ім. М.І. Вавилова / За ред. М.В. Роїка. – К.: Логос, 2006. – Т. 3. – С. 613-618.

22. Митрофанова И.В. Соматичний ембріогенез та органогенез як основа біотехнології отримання і збереження багаторічних садових культур // Автореф. дис. ... доктор. біол. наук. – Ялта, 2007. – 40 с.

23. Митрофанова И.В. Соматический эмбриогенез и органогенез как основа биотехнологических систем получения и сохранения декоративных и плодовых культур // Тр. Никит. ботан. сада. – 2009. – Т. 131. – С. 9-22.

24. Митрофанова И.В. Система прямой регенерации растений иссопа (*Hyssopus officinalis* L.) и котовника (*Nepeta cataria* var. *citriodora* Beck.) в условиях *in vitro* // Интродукция и селекция ароматических и лекарственных растений: Междунар. науч.-практич. конф., Ялта, 8-12 июня 2009 г. – Симферополь: Изд-во ФЛП Бражниковой Н.А., 2009. – С. 123.

25. Митрофанова И.В. Соматический эмбриогенез как система размножения культурных растений // Физиология и биохимия культурных растений. – 2009. – Т. 41, № 6. – С. 496-508.

26. Митрофанова И.В., Галаев А.В., Сиволап Ю.М. Исследование молекулярно-генетической гетерогенности растений клематиса (*Clematis* L.), полученных путем органогенеза и соматического эмбриогенеза *in vitro* // Цитология и генетика. – 2003. – № 6. – С. 12-16.

27. Введение в культуру *in vitro* эксплантов маслины (*Olea europaea* L.) / Митрофанова И.В., Григориаду К., Рубос К., Рубос А. // Actual problems of applied genetics, breeding and biotechnology of plants: Abstr. Intl. Conf., Yalta, November 3-6, 2009. – Yalta, 2009. – P. 138.

28. Митрофанова И.В., Кондратенко О.В. Збереження в культурі *in vitro* мініатюрних троянд // Бюл. Никит. ботан. сада. – 2004. – Вып. 90. – С. 77-80.

29. Митрофанова И.В., Митрофанова О.В., Пандей Д.К. Соматический эмбриогенез и регенерация растений *Zizyphus jujuba* Mill. *in vitro* // Физиология растений. – 1997. – Т. 44, № 1. – С. 108-114.

30. Митрофанова И.В., Работягов В.Д., Иванова Н.Н. Сравнительное изучение прямой регенерации микропобегов котовника и иссопа *in vitro* с целью пополнения генофонда // Бюл. Никит. ботан. сада. – 2006. – Вып. 92. – С. 5-9.

31. Митрофанова И.В., Соколов О.И., Єжов В.Н. Непрямой соматический эмбриогенез

клематиса (*Clematis* sp.) // Труды Никит. ботан. сада. – 2007. – Т. 127. – С. 9-20.

32. Биотехнологическая система получения растений каладиума (*Caladium hortulanum* Birdsley.) через соматический эмбриогенез и органогенез / Митрофанова И.В., Соколова М.К., Митрофанова О.В., Иванова Н.Н., Челомбит С.В. // Труды Никит. ботан. сада. – 2007. – Т. 127. – С. 50-60.

33. Пути реализации морфогенетического потенциала каладиума (*Caladium hortulanum* Birdsey.) и цветной каллы (*Zantedeschia hybrida*) в условиях *in vitro* / Митрофанова И.В., Соколов О.И., Митрофанова О.В., Иванова Н.Н. // Біологічний вісник. – 2006. – Т. 10, № 1. – С. 64-67.

34. Митрофанова И.В., Чеботарь А.А., Митрофанова О.В. Влияние генотипа материнского растения и условий культивирования на способность вегетативных почек и зародышей зизифуса (*Zizyphus jujuba* Mill.) к морфогенезу *in vitro* // Физиология растений. – 1994. – Т. 41, № 6. – С. 826-831.

35. Митрофанова О.В. Диагностика вирусных болезней хризантемы // Сб. науч. трудов / Никит. ботан. сад. – 1981. – Т. 85. – С. 122-133.

36. Митрофанова О.В. Методические рекомендации по диагностике болезней гвоздики и меры борьбы с ними. – Ялта: ГНБС, 1981. – 28 с.

37. Митрофанова О.В. Производство на безвирусную основу // Цветоводство. – 1986. – № 1. – С. 15-16.

38. Митрофанова О.В. Вирусные болезни промышленных цветочных культур и биотехнологические приемы оздоровления. – М.: ВИНТИ, 1992. – Деп. № 1729-В92 от 25.05.92. – 206 с.

39. Митрофанова О.В. Вирусные болезни промышленных цветочных культур и биотехнологические приемы их оздоровления: Дис. в форме науч. докл. ... докт. биол. наук. – Санкт-Петербург, 1992. – 73 с.

40. Митрофанова О.В. Особенности оздоровления и клонального микроразмножения розы // Биология культивируемых клеток растений и биотехнология: Тез. докл. Междунар. конф., Алматы, 28 сентября-2 октября, 1993 г. – Алматы, 1993. – С. 238.

41. Об условиях пролиферации протокормов цимбидиума / Митрофанова О.В., Зленко И.Л., Митрофанова И.В., Иванова Н.Н. // Бюл. Никит. ботан. сада. – 1990. – Вып. 72. – С. 105-111.

42. Митрофанова О.В., Иванова Н.Н. Получение безвирусных клонов луковичных цветочных культур // Бюл. Никит. ботан. сада. – 1987. – Вып. 62. – С. 37-41.

43. Вирусы, поражающие косточковые плодовые культуры, и биотехнологические пути создания устойчивых форм / Митрофанова О.В., Лесникова-Седошенко Н.П., Митрофанова И.В., Кузнецова Н.В. // Біоресурси і віруси: Тез. докл. V Міжнар. конф., Київ, 10-13 вересня 2007 р. – Київ, 2007. – С. 182.

44. Разработка системы экспресс-диагностики вируса шарки (*Plum pox virus*) косточковых плодовых культур и отбор толерантных сортов для использования в селекции *in vitro* и *in situ* / Митрофанова О.В., Лесникова-Седошенко Н.П., Митрофанова И.В., Чирков С.Н., Ходаков Г.В. // Actual problems of applied genetics, breeding and biotechnology of plants: Abstr. Intel. Conf., Yalta, November 3-6, 2009. – Yalta, 2009. – P. 140.

45. Биотехнология в селекции и оздоровлении косточковых плодовых и субтропических культур / Митрофанова О.В., Лесникова-Седошенко Н.П., Ходаков Г.В. // Фактори експериментальної еволюції організмів: Зб. наук. пр. Укр. т-ва генетиків і селекціонерів ім. М.І. Вавилова / За ред. М.В. Роїка. – К.: Логос, 2006. – Т. 3. – С. 619-624.

46. Биотехнологические системы оздоровления косточковых плодовых культур и получения безвирусного посадочного материала / Митрофанова О.В., Лесникова-Седошенко Н.П., Чирков С.Н., Смыков А.В., Вожегова Р.А. // Фактори експериментальної еволюції організмів: Зб. наук. пр. / Укр. т-во генетиків і селекціонерів ім. М.І. Вавилова. – К.: Логос, 2008. – Т. 5. – С. 410-415.

47. Митрофанова О.В., Логвиненко И.Е., Иванова Н.Н. Регенерация растений из изолированных органов и тканей *Artemisia balchanorum* Krasch. и *Artemisia scoparia* W.K. // Биотехнологические исследования садовых и других ценных многолетних культур: Сб. науч. трудов / Никит. ботан. сад. – 1997. – Т. 119. – С. 143-153.

48. Митрофанова О.В., Митрофанова И.В. Изучение вирусов цветочных культур и

эффективные методы оздоровления *in vitro* // Вісник Київського Нац. ун-ту ім. Тараса Шевченка. Сер. Біологія. – 2001. – Вип. 35. – С. 47-53.

49. Изучение вирусов и вирусных болезней косточковых плодовых культур на юге Украины и особенности оздоровления растений *in vitro* / Митрофанова О.В., Митрофанова И.В., Ежов В.Н., Лесникова-Седошенко Н.П., Лукичева Л.А., Смыков А.В., Сенин В.В., Литвинова Т.В. // Бюл. Никит. ботан. сада. – 2005. – Вып. 91. – С. 111-120.

50. Митрофанова О.В., Митрофанова И.В., Мязина Л.Ф. Разработка рецепиентной системы актинидии превосходной (*Actinidia deliciosa* (Chev.) Liang, Ferguson) *in vitro* // Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології: Зб. наук. пр. Укр. т-ва генетиків і селекціонерів ім. М.І. Вавилова / За ред. В.А. Кунаха. – К.: Логос, 2007. – Т. 2. – С. 541-544.

51. Использование клеточной инженерии в селекции новых технических растений / Митрофанова О.В., Митрофанова И.В., Работягов В.Д., Иванова Н.Н. // Новые методы биотехнологии растений: Тез. докл. III Всеросс. симпоз., Пушкино, 23-25 мая 1995 г. – Пушкино, 1995. – С. 161.

52. Методы биотехнологии в селекции и размножении субтропических и косточковых плодовых культур / Митрофанова О.В., Митрофанова И.В., Смыков А.В., Лесникова Н.П. // Интенсификация селекции плодовых культур: Сб. науч. трудов / Никит. ботан. сад. – 1999. – Т. 118. – С. 189-199.

53. Биотехнологические системы диагностики вируса шарки сливы (*Plum pox virus*) и отбора толерантных сортов косточковых плодовых культур / Митрофанова О.В., Митрофанова И.В., Чирков С.Н., Ежов В.Н., Лесникова-Седошенко Н.П. // Тр. Никит. ботан. сада. – 2009. – Т. 131. – С. 94-103.

54. Митрофанова О.В., Михайлов А.П., Чехов А.В. Биотехнологические аспекты освобождения от вирусов и клонального микроразмножения некоторых экономически важных многолетних культур // Биотехнологические исследования садовых и других ценных многолетних культур: Сб. науч. трудов / Никит. ботан. сад. – 1997. – Т. 119. – С. 7-34.

55. Митрофанова О.В., Мустафин А.М. Технология выращивания безвирусного антуриума Андрэ // Сб. науч. трудов / Никит. ботан. сад. – 1985. – Т. 97. – С. 115-124.

56. Митрофанова О.В., Проценко А.Е. Методические рекомендации по ограничению распространения вирусных болезней луковичных и клубнелуковичных цветочных культур. – Ялта: ГНБС, 1975. – 24 с.

57. Диагностика вирусных болезней и биотехнологические приемы получения безвирусного посадочного материала косточковых плодовых культур / Митрофанова О.В., Славгородская-Курпиева Л.Е., Митрофанова И.В., Лукичева Л.А. – Ялта: Крымпресс, 2000. – 45 с.

58. Митрофанова О.В., Смирнова Т.А. Вирусные болезни гвоздики сорта типа Сим и получение безвирусного посадочного материала // Эффективность защиты интродуцированных растений от вредных организмов. – К.: Наукова думка, 1981. – С. 63-66.

59. Митрофанова О.В., Смирнова Т.А., Ильницкий О.А. Термотерапия плюс меристемная культура // Цветоводство. – 1978. – № 3. – С. 11-12.

60. Митрофанова О.В., Тесленко А.В. Диагностика вирусных болезней персика в Крыму // Сб. науч. трудов / Никит. ботан. сад. – 1982. – Т. 87. – С. 89-99.

61. Митрофанова О.В., Чирков С.Н., Лесникова-Седошенко Н.П. Вирусные болезни косточковых плодовых культур и биотехнологические системы оздоровления растений // Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология: Тез. докл. IX Междунар. конф., Звенигород, 8-12 сентября 2008 г. – М.: ИД ФБК-ПРЕСС, 2008. – С. 254.

62. Введение в культуру *in vitro* перспективных сортов роз различных садовых групп для создания растущих коллекций / Мовчан О.П., Митрофанова И.В., Клименко З.К., Работягов В.Д. // Бюл. Никит. ботан. сада. – 2006. – Вып. 92. – С. 9-12.

63. Пандей Д.К. Индуцированный морфогенез и микроразмножение *in vitro* зизифуса индийского (*Zizyphus mauritiana* Lam.) и китайского (*Zizyphus jujuba* Mill.): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Ялта. – 1996. – 25 с.

64. Пивень И.П. Размножение полыни лимонной методом культуры меристем // Роль ботанических садов в охране и обогащении растительного мира: Тез. докл. Республ. науч. конф., посвященная 150-летию ботан. сада им. А.В. Фомина. – Киев, 1989. – Т. 2. – С. 148.

65. Попкова Л.Л. Редкие виды орхидей флоры Крыма, их микроразмножение и

- поддержание биологического разнообразия: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Ялта, 1999. – 17 с.
66. Работягов В.Д., Митрофанова И.В., Аксенов Ю.В. Геномная инженерия представителей рода *Nepeta* L. *in situ* и *in vitro* // Бюлл. Никит. ботан. сада. – 2009. – Вып. 98. – С. 5-8.
67. Спосіб прямої регенерації мікропагонів з листових експлантів *Actinidia deliciosa* (Chev.) Liang, Ferguson в культурі *in vitro*: Пат. 61018 А Україна, МПК 7 А01Н4/00 / Митрофанова І.В., Іванова Н.М. (Україна). - № 20021210668; Заявлено 27.12.2002 р.; Надрук. 15.10.2003 р., Бюл. 10.
68. Спосіб регенерації рослин *Hyssopus officinalis* L. в умовах *in vitro*: Пат. 68595 А Україна, МПК 7 А01Н4/00 / Митрофанова І.В., Іванова Н.М., Митрофанова О.В. (Україна). – № 2003087613; Заявлено 12.08.2003 р.; Надрук. 16.08.2004 р., Бюл. 8.
69. Тесленко А.В., Митрофанова О.В., Лукичева Л.А. Разработка технологии получения безвирусного посадочного материала персика // Сб. науч. трудов / Никит. ботан. сад. – 1986. – Т. 99. – С. 85-92.
70. Пеларгонії з Дрездена / Хофманн К., Олбрихт К., Митрофанова О.В., Митрофанова І.В. // Квіти України. – 2000. – № 8. – С. 15-17.
71. Karpov P. Clonal propagation of *Yucca aloifolia* L. // Acta Universitatis Latvianensis. Biology. – 2004. – Vol. 676. – P. 177-182.
72. Mitrofanova I.V. Influence of carbohydrates and physical factors of cultivation on formation of *Cymbidium hybridum* and *Cymbidium minima* protocorms *in vitro* // Бюл. Никит. ботан. сада. – 2005. – Вып. 91. – С. 126-130.
73. Mitrofanova I.V., Mitrofanova O.V. Using broad genetic diversity and *in vitro* culture to enhance of breeding of some subtropical fruit plants // Acta Hort. – 2000. – N 538. – P. 169-172.
74. Mitrofanova I., Mitrofanova O. Development of recipient system of woody subtropical plants *in vitro* // Acta Universitatis Latviensis. Biology. – 2004. – Vol. 676. – P. 189-196.
75. Mitrofanova I.V., Yezhov V.N. Plants regeneration of *Clematis* L. through somatic embryogenesis *in vitro* // Бюл. Никит. ботан. сада. – 2002. – Вып. 86. – P. 16-19.
76. The effect of dinitroaniline and phosphorothiamidate herbicides on polyploidisation *in vitro* of *Nepeta* plants / Mitrofanova I.V., Zilbervarg I.R., Yemets A.I., Mitrofanova O.V., Blume Ya.B. // Cell Biology International. – 2003. – Vol. 27. – P. 229-231.
77. Mitrofanova O.V. A model of a system for conversion of floriculture to the virus-free basis // Breeding, Propagation, Disease control of Glasshouse flowers and other Ornamental Plants: Abstracts of Intl. Symp., Salaspils, Latvia. – Salaspils, 1991. – P. 50-51.
78. About perspectives of using the gamma-irradiation for stimulating micropropagation and obtaining new selectional forms of rose and peach / Mitrofanova O.V., Lesnikova N.P., Zykov K.I., Smikov A.V., Klimenko Z.K. // Problems and perspectives of biotechnology development in ornamental gardening and horticulture: Abstracts of Intl. Conf., Yalta, Sep. 25-26, 1997. – Yalta., 1997. – P. 77.
79. Mitrofanova O.V., Oertel C. Erste schritte auf dem Wege einer Zusammenarbeit der Virusfreimachung von Zierpflanzen Nikitski Botanischen Garten Jalta – Forschungslabor fur Viruskrankheiten bei Zierpflanzen in VEB PAC-Jungpflanzen Dresden // Gartenbau. – 1981. – Bd. 28, H. 1. – S. 29-30.
80. Peculiarities of sphaeroblast formation and development in *Olea europaea* L. / Roubos K., Ifoulis A., Mitrofanova I., Nellas C., Koutinas N., Rubos A. // Тр. Никит. ботан. сада. – 2009. – Т. 131. – С. 76-81.