

УДК 634.25:57.085.2

**ОСОБЕННОСТИ РЕГЕНЕРАЦИИ МИКРОПОБЕГОВ НЕКОТОРЫХ СОРТОВ ПЕРСИКА В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*****Ольга Владимировна Митрофанова, Ирина Вячеславовна Митрофанова,  
Нина Павловна Лесникова-Седошенко, Сергей Владимирович Долгов**Никитский ботанический сад – Национальный научный центр  
298648, Россия, г. Ялта, пгт Никита, ул. Никитский спуск, 52  
invitro\_plant@mail.ru

Изучены морфогенетические потенции органов и тканей 5 сортов персика для разработки системы регенерации персика *in vitro*. Показана возможность получения асептической культуры при применении 1% раствора Thimerosal, 0,5% раствора препарата “Дез ТАБ” и 0,4% раствора цефотаксима. Разработаны приемы регенерации микропобегов из меристем и апексов активно растущих побегов. Частота регенерации повышалась при культивировании на питательных средах, дополненных регуляторами роста БАП в концентрации 0,5 – 1,5 мг/л и ИМК – 0,1 – 0,2 мг/л.

**Ключевые слова:** *Prunus persica* (L.) Batsch; эксплант; питательная среда; культура органов и тканей; регуляторы роста; морфогенез

**Введение**

Персик [*Prunus persica* (L.) Batsch], род *Prunus* L., семейство Rosaceae Juss. является основной промышленной косточковой плодовой культурой в мире. Важнейшими регионами выращивания персика в России считаются Крым и Северный Кавказ. Высокая пищевая ценность и наличие биологически активных веществ, содержащихся в плодах, сделали эту культуру необходимым продуктом питания. Тем не менее, выращивание персика, особенно в последние годы, сопряжено с широким распространением наиболее опасного вируса косточковых плодовых культур – *Plum pox potyvirus* (PPV), причиняющего значительный экономический ущерб насаждениям персика [6, 11, 13]. Кроме персика, вирус поражает многие виды рода *Prunus* и более 60 видов травянистых растений [14]. Известные и применяемые традиционные мероприятия по борьбе с вирусом шарки сливы, такие как фитосанитарный контроль, обнаружение пораженных деревьев, их выкорчевка и сжигание, борьба с насекомыми-переносчиками PPV, только ограничивают распространение возбудителя болезни. Поиск устойчивых к PPV промышленных и коллекционных сортов персика не привел к положительным результатам. Альтернативой является создание безвирусного посадочного материала персика и устойчивых к PPV сортов методами биотехнологии и генетической инженерии. Для решения данной проблемы, прежде всего, необходима эффективная и надежная система регенерации микропобегов персика из соматических тканей в условиях *in vitro* [2, 15, 16]. Как известно, персик является одной из самых трудно размножаемых культур в условиях *in vitro* [8, 15].

Целью данного исследования было изучение морфогенетических потенций органов и тканей 5 сортов персика для разработки системы регенерации данной культуры в условиях *in vitro*.

### Объекты и методы исследования

Исследования выполняли в лаборатории биотехнологии и вирусологии растений отдела биологии развития растений, биотехнологии и биобезопасности Никитского ботанического сада (НБС).

В качестве объектов исследований были взяты 5 сортов персика [*Prunus persica* (L.) Batsch], отобранные из генофондовой коллекции НБС – 2 отечественной ('Посол Мира', 'Родзынка') и 3 – зарубежной ('Ambergold', 'Dixired', 'Red Haven') селекции, предварительно протестированные на отсутствие вируса шарки сливы – *Plum pox potyvirus* методами (DAS) ELISA и PCR-анализа [4, 11]. Для экспериментов по микроразмножению были использованы 2 типа эксплантов: меристемы, изолированные из вегетативных почек, отобранные с января по декабрь, и апексы активно растущих побегов размером 1,0 – 1,5 см – в июне – июле. Опыты по культуре *in vitro* проводили согласно методикам Р.Г. Бутенко (1964) [1], О.В. Митрофановой и др. [3], Л. Куте [9]. Для получения асептической культуры эксплантов персика применяли 70% C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH, 1% раствор фунгицида Thimerosal ("Merk", Германия), 0,2 – 0,5% раствор препарата "Дез ТАБ" (Китай), 0,4% раствор антибиотика цефотаксима (Республика Беларусь). В растворы каждого реагента добавляли 1 – 2 капли детергента Tween-20 для снятия поверхностного натяжения и лучшего воздействия на растительные ткани. После каждого реагента экспланты 3 – 4 раза промывали стерильной дистиллированной водой.

В экспериментах по морфогенезу и регенерации микропобегов использовали агаризованные питательные среды MS (Murashige, Skoog, 1962) [12] и B5 (Gamborg, Eveleigh, 1968) [7]. На основе базовой питательной среды B5 модифицировано 3 варианта сред PM, PE, PR, содержащие регуляторы роста растений для разных этапов морфогенеза исследуемых сортов. В качестве индуктора морфогенеза и регенерации эксплантов использовали БАП в различных концентрациях. На этапе введения изолированных меристем в условия *in vitro* применяли среду PM с добавлением 1,0 мг/л БАП, 0,15 мг/л ИМК и 0,5 мг/л ГК<sub>3</sub>. Апексы (верхушки) активно растущих побегов культивировали на среде PE, содержащей БАП в концентрации 1,0; 1,25; 1,5 мг/л и 0,1 мг/л ИМК. Регенерацию микропобегов инициировали на среде PR с 0,5; 0,75; 1,0 мг/л БАП и 0,1-0,2 мг/л ИМК. Меристемы размером 0,5 мм вычленили из вегетативных почек под бинокулярным микроскопом Nikon SMZ 745T (Япония). Первичные экспланты (меристемы и апексы активно растущих побегов) помещали в пробирки на питательные среды PM и PE с добавлением рибавирина (1-β-D-ribofuranosyl-1H-1,2,4-triazole-carboxamide, "Sigma", США) в концентрации 10 мг/л (для элиминации возможной вирусной инфекции). Для индукции морфогенного каллуса использовали агаризованные питательные среды M1 (1,0 мг/л БАП и 0,1 мг/л ИМК) [16]; Aa<sub>2</sub> (0,5 мг/л кинетина и 1,0 мг/л НУК), RG2 (1,5 мг/л БАП и 1,5 мг/л ИУК) и RG7 (1,3 мг/л TDZ) на основе базовой среды MS. pH среды доводили до 5,7 – 5,8 при помощи 1.0 н. КОН или 1.0 н. HCl до введения агара и автоклавировали при 120°C в течение 5 – 15 минут. Субкультивирование проводили через 2 – 4 недели. Культуральные сосуды содержали в климатической камере (Panasonic MLR-352-PE) при 25±1°C, 16 часовом фотопериоде при освещении холодным белым светом флуоресцентных ламп (Philips TL, 40 W) интенсивностью 37,5 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>.

Обработку данных осуществляли с помощью программы STATISTICA for Windows, 6.0 (StatSoft, Inc. 1984 – 2001).

### Результаты и обсуждение

Проведенные исследования показали, что решающее значение при изучении морфогенетических потенций органов и тканей и регенерации сортов персика Посол

Мира, Родзынка, Ambergold, Dixired и Red Haven в условиях *in vitro* имеют генотип, сроки отбора эксплантов, условия стерилизации, тип и концентрация регуляторов роста в питательной среде. Вегетативные почки и апексы активно растущих побегов были отобраны в разные фазы вегетации с внешне бессимптомных растений, предварительно протестированных на отсутствие вируса *Plum pox potyvirus*. Нами установлено, что среди изученных сроков отбора вегетативных почек и введения меристем в культуру *in vitro* лучшими были февраль – март и ноябрь – декабрь (рис. 1), а для апексов активно растущих побегов – июнь – июль. У исследуемых сортов количество способных к развитию меристем в феврале – марте составило 60,5 – 80,2%, в ноябре – декабре – 50,5 – 67,3%, в зависимости от генотипа. Количество развивающихся апексов активно растущих побегов, отобранных в июне – июле, достигало 72 – 84%.

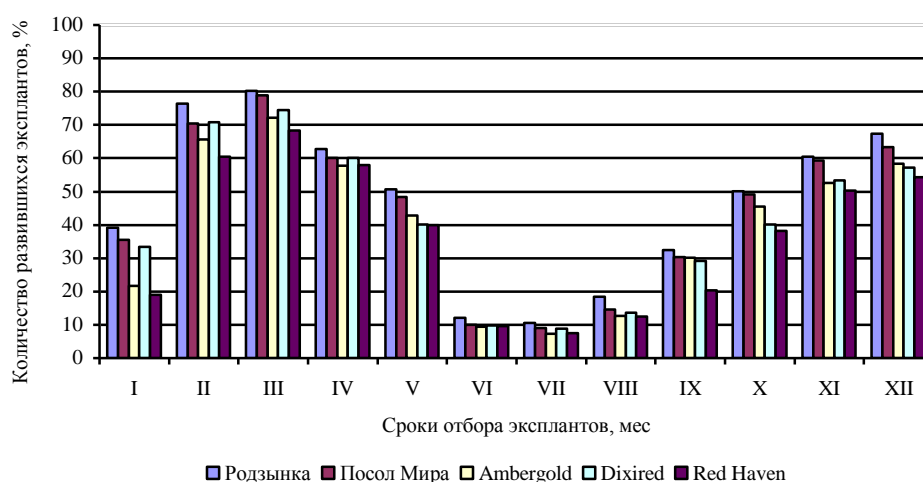


Рис. 1 Влияние генотипа и сроков отбора на развитие меристем персика в условиях *in vitro*

В настоящее время одной из сложных проблем получения асептической культуры вводимого *in vitro* растительного материала персика является зараженность сапрофитной грибной и бактериальной инфекциями. Использование известных способов стерилизации растительного материала не всегда обеспечивает высокий процент свободных от контаминации эксплантов [5, 9]. В связи с этим нами были проведены эксперименты по разработке эффективных способов стерилизации вегетативных почек и апексов активно растущих побегов персика сортов Посол Мира, Родзынка, Ambergold, Dixired и Red Haven с использованием различных антисептиков и экспозиций их применения. Результаты исследования показали, что использование антибиотика цефотаксима (400 мг/л) в процессе стерилизации совместно с 0,5% раствором «Дез ТАБ» и 1% раствором фунгицида Thimerosal значительно уменьшало количество инфицированных эксплантов (табл. 1).

Среди разработанных нами и испытанных 6 способов стерилизации более эффективными были 2 способа, которые позволили получить  $89,4 \pm 5,4\%$  вегетативных почек и  $85,1 \pm 4,5\%$  апексов активно растущих побегов, свободных от контаминации (см. табл. 1).

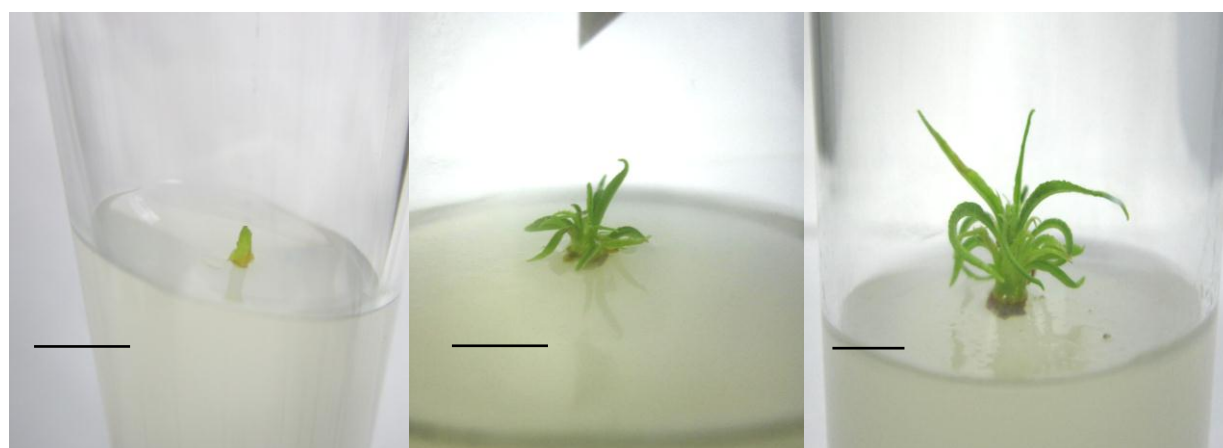
Выявлены особенности введения и культивирования меристем и апексов активно растущих побегов персика сортов Посол Мира, Родзынка, Ambergold, Dixired и Red Haven, на питательные среды РМ, РЕ и РР. Инициация развития меристем и апексов активно растущих побегов происходила на 7 – 9 сут на питательной среде РМ и РЕ, соответственно (рис. 2). На этапе индукции развития меристем и апексов активно растущих побегов в условиях *in vitro* основной характеристикой регенерационных процессов было количество сформировавшихся микропобегов. Первыми начинали

развиваться меристемы и апексы активно растущих побегов сортов Родзынка, Посол Мира и Red Haven, изолированные на питательные среды РМ, дополненную 1,0 мг/л БАП, 0,15 мг/л ИМК, 0,5 мг/л и РЕ, содержащую 1,5 мг/л БАП, 0,1 мг/л ИМК, соответственно. Культивирование меристем и апексов активно растущих побегов на среде РР, содержащей 0,5 – 1,0 мг/л и 0,1 – 0,2 мг/л ИМК, значительно повышало частоту регенерации. В контроле (среда без регуляторов роста) экспланты развивались слабо и погибали на 10-12 сутки. После первых двух субкультивирований на среде РР развитие микропобегов персика сортов Родзынка, Посол Мира, Ambergold, Dixired и Red Haven проходило без особых морфологических изменений.

Таблица 1

**Сравнительная оценка эффективности способов стерилизации вегетативных почек и апексов активно растущих побегов персика**

Способ стерилизации		Количество эксплантов, %		
стерилизующее вещество и его концентрация	экспозиция, мин	инфицированных	потемневших и некротизировавшихся	свободных от контаминации
Вегетативные почки				
70% C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH 0,2% р-р «Дез ТАБ»	1 18	56,2 ± 5,9	15,8 ± 1,7	28,0 ± 1,7
70% C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH 0,5% р-р «Дез ТАБ»	1 18	41,6 ± 4,8	16,3 ± 0,9	42,1 ± 7,5
70% C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH 0,4% р-р цефотаксим	1 30	35,4 ± 7,4	10,3 ± 1,4	54,3 ± 5,2
<b>70% C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH 1% Thimerosal 0,5% р-р «Дез ТАБ» 0,4% р-р цефотаксим</b>	<b>1 7 10 30</b>	<b>4,5 ± 0,5</b>	<b>6,1 ± 1,4</b>	<b>89,4 ± 5,4</b>
Апексы активно растущих побегов (1,0 – 1,5 см)				
70% C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH 1% Thimerosal 0,5% р-р «Дез ТАБ»	1 3 17	36,5 ± 2,2	8,2 ± 1,8	55,3 ± 6,7
<b>70% C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH 0,5% р-р «Дез ТАБ» 0,4% р-р цефотаксим</b>	<b>1 10 20</b>	<b>7,1 ± 1,1</b>	<b>7,8 ± 0,8</b>	<b>85,1 ± 4,5</b>



**Рис. 2** Инициация развития меристемы персика сорта Ambergold на агаризованной питательной среде РМ (масштаб 1 см)

Однако после 3 субкультивирования наблюдали различные морфологические ответы. На некоторых микропобегах сорта Red Haven отмечен хлороз листьев и их постепенное оводнение с последующей некротизацией тканей. У сорта Dixired в течение 40 – 45 сут после введения формировались крупные сидячие розетки с ярко-зелеными листьями длиной 1,5 – 1,8 см (рис. 3).

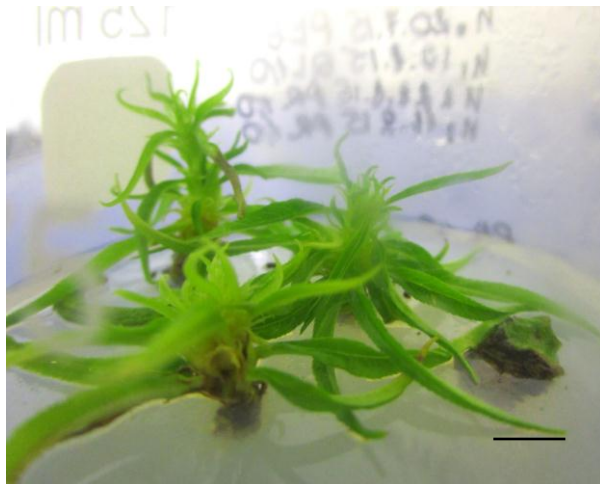


Рис. 3 Развитие апексов активно растущих побегов персика сорта Dixired через 40 – 45 сут культивирования *in vitro* (масштаб 1 см)

Оценивая влияние регуляторов роста и их концентраций на морфогенез и регенерацию микропобегов, выявлен высокий морфогенетический потенциал сортов Посол Мира и Ambergold (рис. 4, табл. 2). Число сформировавшихся микропобегов/эксплант достигало 12,2 и 11,7, соответственно. У сортов Dixired и Red Haven этот показатель не превышал 7,6.

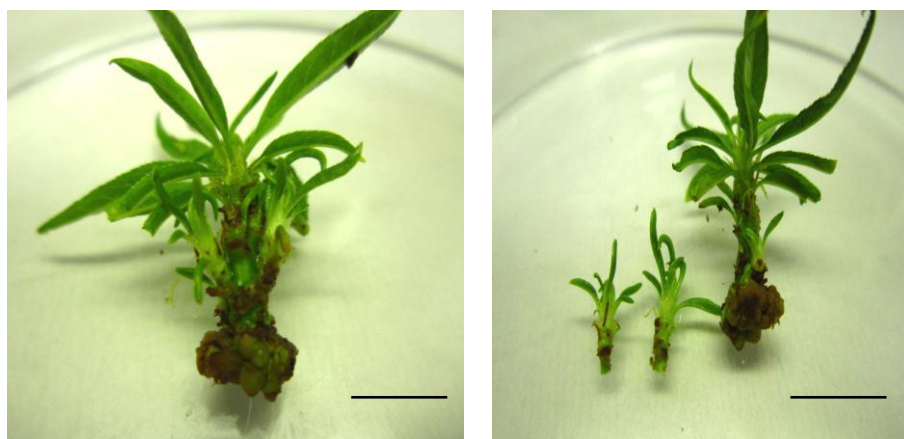


Рис. 4 Множественное побегообразование на питательной среде PR и формирование каллуса в базальной части микропобега персика сорта Посол Мира (масштаб 1 см)

Из таблицы 2 видно, что образование микропобегов и их число зависит от типа регуляторов роста, их концентраций и генотипа. В целом все изученные концентрации БАП в сочетании с 0,1 и 0,2 мг/л ИМК активизировали морфогенез и частоту регенерации по сравнению с контролем. Наибольшая длина побега и количество листьев наблюдали также на среде PR с 1,0 мг/л БАП и 0,1 мг/л ИМК. При этом БАП в концентрации 1,0 мг/л стимулировал регенерационные процессы у всех сортов персика

по сравнению с контролем. Увеличение частоты регенерации в значительной мере происходило благодаря физиологической роли БАП, являющегося наиболее эффективным цитокинином при микроразмножении представителей семейства Rosaceae [10, 15, 17].

Таблица 2

**Влияние регуляторов роста и их концентраций в питательной среде PR на регенерацию микропобегов 5 сортов персика (после 4 субкультивирования)**

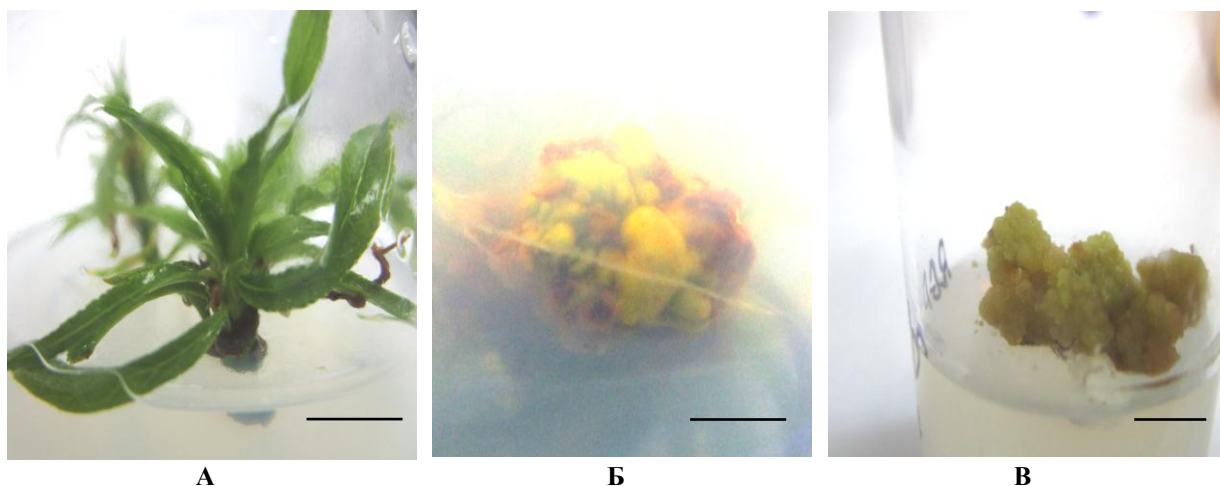
Регулятор роста и его концентрация, мг/л		Генотип				
БАП	ИМК	Родзынка	Посол Мира	Амберголд	Диксиред	Ред Хейвен
Количество микропобегов/эксплант, шт.						
Из меристем						
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,5	0,1	5,4 ± 0,7	8,7 ± 0,8	6,8 ± 0,9	4,1 ± 0,7	4,5 ± 0,4
0,5	0,2	5,2 ± 0,8	8,2 ± 0,4	7,1 ± 1,2	4,4 ± 0,8	4,2 ± 0,7
0,75	0,1	6,8 ± 1,1	9,7 ± 0,9	8,1 ± 1,2	5,8 ± 1,2	5,2 ± 0,9
0,75	0,2	6,4 ± 1,5	9,4 ± 1,1	8,3 ± 1,4	5,8 ± 1,6	5,4 ± 1,3
1,0	0,1	8,4 ± 1,4	12,2 ± 1,6	11,5 ± 0,7	6,5 ± 1,6	6,4 ± 1,4
1,0	0,2	8,3 ± 1,2	12,0 ± 2,1	11,3 ± 1,6	6,7 ± 1,3	6,5 ± 1,4
Из апексов активно растущих побегов						
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,5	0,1	5,9 ± 0,8	8,5 ± 1,7	7,4 ± 0,7	4,9 ± 0,7	5,4 ± 1,8
0,5	0,2	6,2 ± 1,3	8,2 ± 1,6	7,2 ± 0,8	5,1 ± 1,4	5,6 ± 2,1
0,75	0,1	7,7 ± 1,1	10,8 ± 1,5	8,8 ± 1,1	6,2 ± 0,7	6,5 ± 1,7
0,75	0,2	7,5 ± 1,5	10,8 ± 1,1	8,4 ± 1,5	6,3 ± 1,6	6,0 ± 1,4
1,0	0,1	8,9 ± 1,4	11,7 ± 0,6	10,9 ± 0,4	7,6 ± 1,1	7,2 ± 1,4
1,0	0,2	9,3 ± 1,2	11,5 ± 0,9	11,0 ± 0,8	7,5 ± 0,9	7,5 ± 1,9

Полученные микропобеги сортов персика длиной 1,0 – 1,5 см перенесены на питательные среды М 1 [15] и PR для индукции морфогенного каллуса.

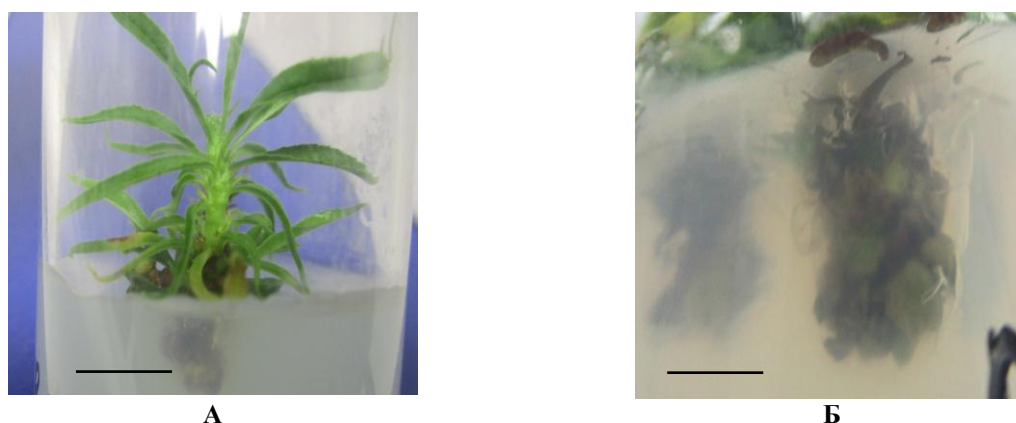
Не менее важной и сложной проблемой при разработке систем регенерации растений является индукция морфогенного каллуса и последующее эффективное побегообразование персика через каллусогенез для дальнейшего генетического улучшения сортов персика [16]. В наших опытах индукцию образования каллуса наблюдали на питательных средах PR (модифицированная питательная среда B5), содержащей 0,5 – 1,0 мг/л БАП и 0,1 – 0,2 мг/л ИМК и М1 (основа среды MS), дополненной 1,0 мг/л БАП и 0,1 мг/л ИМК. На срезе в базальной части микропобега в месте контакта его с питательной средой было отмечено формирование плотного каллуса. При увеличении концентрации БАП в питательной среде (1,5, 2,0 мг/л) и ИМК (0,1, 0,2 мг/л) индуцирован морфогенный каллус, что согласуется с результатами, полученными М. Perez-Jimenez et al. [15]. Вместе с тем, у сортов Посол Мира и Red Haven на данной среде также образовывался морфогенный каллус. На поверхности каллуса у сортов персика Родзынка, Ambergold и Dixired в базальной части микропобегов отмечено образование глобулярных структур (рис. 5, 6). Развившийся морфогенный каллус отделяли и переносили на среды Аа<sub>2</sub> (0,5 мг/л кинетин и 1,0 мг/л НУК), RG2 (1,5 мг/л БАП и 1,5 мг/л ИУК) и RG7 (1,3 мг/л TDZ) для увеличения его количества (рис. 5В).

В результате проведенных исследований изучены абиотические и биотические факторы, регулирующие процессы введения, индукции морфогенеза и регенерации *in vitro* сортов персика Посол Мира и Родзынка, Ambergold, Dixired и Red Haven.





**Рис. 5** Микропобег (А) и морфогенный каллус (Б) сорта Ambergold на питательной среде PR, содержащей 1,0 мг/л БАП и 0,2 мг/л ИМК; развитие отделенного каллуса (В) на питательной среде RG7 (масштаб 1 см)



**Рис. 6** Формирование каллуса и образование дополнительных побегов в основании микропобега сорта Родзынка на питательной среде PR (А); глобулярные структуры (Б) на поверхности каллуса (масштаб 1 см)

### Выводы

Изучение морфогенетических потенций позволило раскрыть регенерационные способности меристем и апексов активно растущих побегов при воздействии следующих факторов культивирования, таких как способ стерилизации, состав питательных сред, тип и концентрация регуляторов роста.

Показано, что отбор вегетативных почек персика в феврале – марте и апексов активно растущих побегов в июне – июле при оптимальном способе последовательной ступенчатой стерилизации вегетативных почек в растворах 70% этанола, 1% Thimerosal, 0,5% «Дез ТАБ», 0,4% цефотаксима (экспозиция 1, 7, 10 и 30 мин) и апексов активно растущих побегов – в растворах 70% этанола, 0,5% «ДезТАБ» и 0,4% цефотаксима (экспозиция 1, 10 и 20 мин), обеспечивали выход 60,5 – 84% развивающихся первичных эксплантов 5 исследуемых сортов персика.

Продемонстрирована индуцирующая роль питательной среды PR (модифицированная питательная среда В5) и регуляторов роста БАП (0,5 – 1,5 мг/л) и ИМК (0,1 – 0,2 мг/л) в регенерации микропобегов персика. Количество микропобегов/эксплант у сортов Посол Мира, Ambergold, Родзынка, Dixired и Red Haven достигало 12,2; 11,7; 9,3; 7,6 и 7,5, соответственно.

У исследуемых сортов персика в основании микропобегов получен морфогенный каллус для дальнейшей разработки системы регенерации микропобегов и последующей генетической трансформации.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 14-50-00079.*

### Список литературы

1. Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений. – М.: Наука, 1964. – 272 с.
2. Ваганова Т.И., Сидорова Т.Н., Долгов С.В. Разработка методов регенерации и трансформации растений персика подвоя «Bailey» // Материалы Междунар. науч. конф. и школы молодых ученых «Физиология растений – теоретическая основа инновационных агро- и фитобиотехнологий» (Россия, Калининград, 2014): материалы: в 2-х ч. / под ред. Е.С. Роньжиной. – Калининград: Аксиос, 2014. – Ч. I. – С. 184-186.
3. Митрофанова О.В., Митрофанова И.В., Смыков Ф.В., Лесникова Н.П. Методы биотехнологии в селекции и размножении субтропических и косточковых плодовых культур: Сб. науч. тр. Гос. Никит. ботан. сада. – 1999. – Т. 118. – С. 189-199.
4. Митрофанова О.В., Митрофанова И.В., Чирков С.Н., Ежов В.Н., Лесникова-Седошенко Н.П. Биотехнологические системы диагностики вируса шарки сливы (*Plum pox virus*) и отбора толерантных сортов косточковых плодовых культур // Сборник научных трудов ГНБС. – 2009. – Т. 131. – С. 94-103.
5. Amiri S., Ashtari S., Babaiy A.H., Nazari S. A., Khodadadi E., Khodadadi E., Sabzi M. Control of contamination during micropropagation process of Rootstocks Mariana (*Prunus mariana*) // Annals Biological Research. – 2013. – Vol. 4 (3). – P. 149-151.
6. Cambra, M, Capote, N, Myrta, A, Llacer, G. Plum pox virus and the estimated costs associated with sharka disease // EPPO Bulletin. – 2006. – 36. – P. 202-204.
7. Gamburg O.L., Eveleigh D.E. Culture methods and detection of glucanases in cultures of wheat and barley // Can. J. Biochem. – 1968. – Vol. 46, N 5. – P. 417-421.
8. Gentile A., Monticelli S., Damiano C. Adventitious regeneration in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] // Plant Cell Rep. – 2002. – Vol. 20. – P. 1011-1016.
9. Kyte, L., Kleyn, J., Scoggins, H., Bridgen, M. Plants from test tubes: An introduction of micropropagation. 4<sup>th</sup> ed. Timber Press, Portland, Oregon, 2013. (2013). – 274 p.
10. Mirza Muhammad Qadeer Baig, Ishfaq Ahmad Hafiz, Azhar Hussain, Touqeer Ahmad, Nadeem Akhtar Abbasi An efficient protocol for in vitro propagation of *Rosa gruss an teplitz* and *Rosa centifolia* // African Journal of Biotechnology. – 2011. – Vol. 10(22). – P. 4564-4573. ISSN 1684-5315, doi: 10.5897/AJB10.2051
11. Mitrofanova I., Mitrofanova O., Chirkov S., Lesnikova-Sedoshenko N., Chelombit S. Detection and Identification of Plum Pox Virus on Prunus species in Crimea // Journal Agriculture & Forestry. – 2015. – Vol. 61 (4). – P. 197-204. ISSN 0554-5579, doi: 10.17707/AgricultForest.61.4.22
12. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with Tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. – 1962. – Vol. 15, N 3. – P. 473-497. doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
13. Nemeth M. History and importance of plum pox virus in stone-fruit production // Bulletin OEPP/EPPO Bulletin. – 1994. – 24. – P. 525-536.
14. Nemeth M. Plum pox (Sharka). In: Nemeth M. Virus, mycoplasma, and rickettsia diseases of fruit trees / Dordrecht: Martinus Nijhoff Pub. – 1986. – P. 463-479.
15. Perez-Jimenez M., Carrillo-Navarro A., Cos-Terrer J. Regeneration of peach (*Prunus persica* L. Batsch) cultivars and *Prunus persica* x *Prunus dulcis* rootstock via



organogenesis // Plant Cell Tiss Organ Cult. – 2012. – Vol. 108. – P. 55-62. doi: 10.1007/s11240-011-0011-y

16. Soliman H.I.A. *In Vitro* Regeneration and Genetic Transformation of Peach (*Prunus persica* L.) Plants // Life Science Journal. – 2013. – Vol. 10 (2). – P. 487-496.

17. Zhou H., Ming L., Zhao X., Fan X., Guo A. Plant regeneration from *in vitro* leaves of the peach rootstock ‘Nemaguard’ (*Prunus persica* x *P. davidiana*) // Plant Cell, Tissue, Organ Cult. – 2010. – Vol. 101. – P. 79-87.

Статья поступила в редакцию 03.09.2016 г.

**Mitrofanova O.V., Mitrofanova I.V., Lesnikova-Sedoshenko N.P., Dolgov S.V. Feature of some peach cultivars microshoots regeneration *in vitro*** // Bull. of the State Nikita Botan. Gard. – 2016. – № 121 . – P. 48-56.

Morphogenetic capacity of organs and tissues of 5 peach cultivars were studied for the development of peach regeneration system *in vitro*. It was demonstrated that aseptic culture is possible to obtain using 1% Thimerosal solution, 0.5% solution “Des TAB” and 0.4% cefotaxime solution. Techniques of microshoots regeneration from meristems and apexes of intensively growing shoots were developed. Explants regeneration frequency was increased in case of cultivation on nutrient medium with 0.5 – 1.5 mg/l BAP and 0.1 – 0.2 mg/l IBA.

**Key words:** *Prunus persica* (L.) Batsch; explant; culture medium; organ and tissue culture; growth regulators; morphogenesis.

УДК 582.548.25: 57.085.23

## НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *IN VITRO* И *IN VIVO* СЕМЯН И ИЗОЛИРОВАННЫХ ЗАРОДЫШЕЙ *CANNA* × *HYBRIDA HORT. EX BACKER*

Арзы Шевкиевна Тевфик, Ирина Вячеславовна Митрофанова

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр  
298648, Россия, г. Ялта, пгт Никита, ул. Никитский спуск, 52  
tevfik.arzy@yandex.ru

Изучены особенности прорастания семян и формирования сеянцев *Canna* × *hybrida hort ex Backer* в условиях *in vivo* и *in vitro*. Показана эффективность метода эмбриокультуры. В условиях *in vitro* из зародышей, изолированных из семян канна садовой сортов Дар Востока и Ливадия от свободного опыления получены жизнеспособные растения.

**Ключевые слова:** канна садовая; эмбриокультура; прорастание *in vitro*

### Введение

В настоящее время культура клеток, органов и тканей растений нередко используется в генетико-селекционной работе, что позволяет значительно ускорить получение новых форм и проводить исследования круглый год, при этом культивируемые растения занимают незначительные площади. Вместе с тем, семена некоторых видов растений имеют очень низкую частоту прорастания и недоразвитый зиготический зародыш. Одной из таких культур является канна садовая (*Canna* × *hybrida hort ex Backer*), для которой характерно длительное цветение, наличие больших декоративных листьев и высоких соцветий с крупными, оригинальными цветками [2].

Канна редко формирует полноценные семена. Зрелые семена канна имеют черную окраску и длительный период прорастания, отличаются очень твердой оболочкой. Для ускорения появления всходов нередко прибегают к предпосевной