

7. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. / З.П. Паушева – М.: Колос, 1970. – 255 с.
8. Плиско М.А. Семейство Cannaceae / Сравнительная анатомия семян. Том 1 / под ред. А.Л. Тахтаджяна. – Л.: «Наука», 1985. – С. 227-230.
9. Тевфик А.Ш., Митрофанова И.В. Изучение регенерационной способности зародышей и семян канны садовой (*Canna × hybrida hort.*) в условиях *in vitro* // Ученые записки Таврического национального университета им. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2014. – Т. 27 (66), № 2. – С. 157-164.
10. Тевфик А.Ш., Митрофанова И. В., Митрофанова О.В., Лесникова-Седошенко Н.П. Введение в культуру *in vitro* изолированных зародышей и семян канны садовой (*Canna × hybrida hort.*) // Клеточная биология и биотехнология растений: тез. докл. Международной научно-практической конференции. 13-15 февраля 2013 г., Минск, Беларусь. – Минск: Изд. Центр БГУ, 2013. – С. 198.
11. Monnier M. Croissance et development des embryons globulaires de *Capsella bursa-pastoris* cultivés *in vitro* dans du milieu à base d'une nouvelle solution minérale // Bull. Soc. Bot. France Memories, Coll. Morphologie. – 1973. – P. 179-194.
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.

Статья поступила в редакцию 03.09.2016 г.

Tevfik A.Sh., Mitrofanova I.V. Some special features of seeds and isolated embryos of *Canna × hybrida hort.* ex Backer cultivation *in vitro* and *in vivo* // Bull. Nikit. Botan. Gard. – 2016. – №. 121 – P. 56-62.

The special features of *in vitro* and *in vivo* seed germination and seedling formation of *Canna × hybrida hort* ex Backer were studied in course of this research. At the same time efficiency of embryo culture method was demonstrated. The viable canna plants of Dar Vostoka and Livadia cultivars were obtained from isolated embryos during *in vitro* cultivation.

Key words: garden canna; embryo culture; germination *in vitro*.

УДК 581.527.4:57.085.2

ОСОБЕННОСТИ ВВЕДЕНИЯ В УСЛОВИЯ *IN VITRO* НЕКОТОРЫХ РЕЛИКТОВЫХ ЭНДЕМИКОВ ФЛОРЫ ГОРНОГО КРЫМА

**Ирина Вячеславовна Митрофанова, Ольга Владимировна Митрофанова,
Александр Ростиславович Никифоров, Нина Павловна Лесникова-Седошенко,
Наталья Николаевна Иванова, Светлана Викторовна Челомбит,
Ирина Васильевна Жданова**

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

Впервые начаты биотехнологические исследования особенностей развития 8 видов реликтовых эндемиков флоры Горного Крыма в условиях *in vitro*. Приведены данные по изучению влияния воздействия стерилизующих веществ на жизнеспособность семян и плодов и получению асептической культуры исследуемых видов. Показана возможность образования проростков на питательных средах Monnier (1973) и Murashige, Skoog (1962).

Ключевые слова: редкие виды, культура органов и тканей; питательные среды; регенерация микропобегов.

Введение

Оригинальную составляющую любой флоры представляют реликтовые эндемики. Реликтовые эндемики Горного Крыма отличает весьма узкая экотопологическая приуроченность к специфическим условиям литогенных ландшафтов. Наиболее редкий вид, общая численность которого в четырех популяциях достигает не более 500 экземпляров – *Silene jailensis* N.I. Rubtzov (Caryophyllaceae) [8] – по своей экологической природе относится к облигатным хазмофитам – «растениям трещин» [9]. Виды *Lamium glaberrimum* (K. Koch) Taliev (Lamiaceae), *Scrophularia exilis* Popl. (Scrophulariaceae), *Sobolewsia sibirica* (Willd.) P.W. Ball (Brassicaceae) представляют собой облигатные гляреофиты – «растения осыпей» [9]. Кроме этого, *Heracleum ligusticifolium* M. Bieb. (Apiaceae), *Lagoseris callicephalala* Juz. (Asteraceae) и *Lagoseris purpurea* L. (Asteraceae) являются видами двойной экологической природы, способные к развитию как на покрытых трещинами скальных поверхностях, так и на коллювии осыпных чехлов.

Изменение климатических условий на земном шаре, значительная антропогенная нагрузка, нерациональное использование растительных ресурсов, природные и техногенные катастрофы приводят к необходимости сохранения биоразнообразия растительного мира, особенно редких и исчезающих видов, в частности, реликтовых эндемиков. Сохранение биологического разнообразия – одна из важнейших мировых задач, стоящая перед ботаническими садами и биологической наукой в целом. В настоящее время вся деятельность по сохранению видов и сортов растений базируется на целом ряде программных документов, таких как «Конвенция о биологическом разнообразии» [10], «Global Strategy Plant Conservation» [11], «Международная программа ботанических садов по охране растений» [5]. Одним из наиболее актуальных и перспективных путей сохранения биоразнообразия растений является создание генобанка *in vitro*. Современные методы биотехнологии позволяют сохранить ценные редкие виды и единичные экземпляры в условиях *in vitro*, что является составной частью концепции сохранения биоразнообразия растительного мира [1, 6, 12].

Цель наших исследований – изучить особенности прорастания семян 8 видов реликтовых эндемиков флоры горного Крыма на этапе введения их в условия *in vitro*.

Объекты и методы исследования

Исследования выполняли в лаборатории биотехнологии и вирусологии растений отдела биологии развития растений, биотехнологии и биобезопасности ФГБУН «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН».

В качестве объектов исследования использовали семена и плоды видов *Heracleum ligusticifolium*, *Lagoseris callicephalala*, *Lagoseris purpurea*, *Lamium glaberrimum*, *Scrophularia exilis*, *Silene jailensis*, *Sobolewsia sibirica*, *Valerianella falconida*, произрастающих *ex situ*. Перечисленные виды внесены в Красную книгу Республики Крым (2015) и относятся к 3 категории редкости [4].

В работе придерживались общепринятых и разработанных в лаборатории биотехнологии и вирусологии растений методов [2, 3, 7].

С целью преодоления периода покоя семена и плоды помещали в условия пониженных положительных температур ($4 \pm 1^\circ\text{C}$) на 4-8 недель. Для стерилизации эксплантов подбор дезинфицирующих веществ осуществляли с учетом их эффективности и минимального уровня фитотоксичности. При получении асептической культуры семян и плодов применяли 70% этанол, 1% раствор фунгицида Thimerosal («Merk», Германия), 0,2 – 0,4% раствор препарата «Дез ТАБ» (Китай), 0,4%

раствор антибиотика цефотаксим (Республика Беларусь) с добавлением в растворы 2-3 капель детергента Tween-20. После каждого реагента экспланты промывали 3-4 раза в стерильной дистиллированной воде.

В экспериментах по введению семян и плодов в условия *in vitro* и получению проростков использовали безгормональные агаризованные питательные среды MS (Murashige, Skoog) [14] и Монье (Monnier, 1973) [13]. Для регенерации микропобегов из полученных проростков использовали питательную среду MS, дополненную регуляторами роста в минимальных концентрациях: 0,1-0,2 мг/л БАП (6-бензиламинопурин, («Sigma», США) и 0,01 мг/л НУК (α -нафтилуксусная кислота, «Sigma», США). pH питательной среды доводили до 5,7 с помощью 0,1 н. раствора HCl или 0,1 н. раствора KOH перед автоклавированием. Условия автоклавирования питательных сред: температура 120°C в течение 5 мин в стерилизаторе LAC 5060S («DAIHAN LABTECH», Южная Корея). Все исследования проводили в асептических условиях бокса биологической безопасности SC2 («ESCO», Сингапур). Колбы и пробирки с эксплантами содержали в культуральной комнате с 16-часовым фотопериодом, интенсивностью освещения 2 – 2,5 клк при температуре 21 – 23°C, а также в камере моделирования климатических условий для роста растений MLR-352-PE («Panasonic», Япония).

Учитывали частоту прорастания семян и количество полученных проростков для каждого исследуемого вида. Обработку данных осуществляли с помощью программы STATISTICA for Windows, 6.0 (StatSoft, Inc. 1984-2001).

Результаты и обсуждение

Морфометрическое описание семян и плодов исследуемых нами видов реликтовых эндемиков приведено в таблице 1, из которой видно, что самые крупные размеры эксплантов выявлены у видов *Heracleum ligustifolium* (масса 100 плодов – 1,56 г, размер 11,0 мм в длину и 6,7 мм в ширину), *Sobolewskia sibirica* (масса 100 плодов – 0,69 г, размер 7,4 мм и 1,85 мм, соответственно), *Valerianella falconida* (масса 100 плодов – 0,54 г, размер 4,1 мм и 3,55 мм) и *Lamium glaberrimum* (масса семян 0,34 г, размер 4,15 мм и 2,6 мм). У остальных 4 видов параметры семян и плодов были значительно меньше (табл. 1). Эти данные нами были использованы при подборе реагентов и разработке режимов стерилизации семян.

Таблица 1

Морфометрическая характеристика плодов/семян 8 видов реликтовых эндемиков

Вид	Характеристика плода/семени	Масса 100 плодов/семян, г	Средний размер плодов/семян	
			Длина плода/семени, мм	Ширина плода/семени, мм
<i>Heracleum ligustifolium</i>	Семянка/вислоплодник	1,56 ± 0,13	11,0 ± 0,21	6,7 ± 0,15
<i>Lagosotis callicephala</i>	Семянка без хохолка	0,11 ± 0,02	5,95 ± 0,24	1,0 ± 0,0
<i>Lagosotis purpurea</i>	Семянка без хохолка	0,04 ± 0,01	5,9 ± 0,31	1,0 ± 0,01
<i>Lamium glaberrimum</i>	Четырехорешек/орешек	0,34 ± 0,02	4,15 ± 0,08	2,6 ± 0,1
<i>Scrophularia exilis</i>	Коробочка/семя	0,11 ± 0,01	2,2 ± 0,07	1,05 ± 0,05
<i>Silene jailensis</i>	Коробочка/семя	0,17 ± 0,03	1,9 ± 0,07	1,58 ± 0,07
<i>Sobolewskia sibirica</i>	Односемянной стручок	0,69 ± 0,14	7,4 ± 0,34	1,85 ± 0,08
<i>Valerianella falconida</i>	Орешек	0,54 ± 0,07	4,1 ± 0,12	3,55 ± 0,16

При введении первичных эксплантов (семян и плодов) в условия *in vitro* основным требованием является отсутствие фитопатогенов, что достигается поверхностной стерилизацией одним или несколькими реагентами. В наших

исследованиях при получении асептической культуры семян было изучено воздействие различных стерилизующих реагентов, их концентраций и экспозиций. В результате проведенных экспериментов на этапе введения в культуру *in vitro* был подобран оптимальный режим стерилизации семян 8 видов реликтовых эндемиков (табл. 2).

Таблица 2

Результаты получения асептической культуры 8 видов реликтовых эндемиков Крыма при оптимальных способах стерилизации эксплантов

Вид	Оптимальный способ стерилизации		Количество эксплантов, %		Потемнение и деформация поверхности экспланта*
	стерилизующее вещество и его концентрация	экспозиция, мин	инфицированных	свободных от контаминации	
<i>Heracleum ligustifolium</i>	70% C ₂ H ₅ OH	1	8,0	92,0	+
	1% Thimerosal	5			
	0,5% р-р «Дез ТАБ»	10			
	70% C ₂ H ₅ OH	1	4,0	96,0	+
	0,5% р-р «Дез ТАБ»	10			
	0,4% р-р цефотаксима	15			
<i>Lagoseris callicephala</i>	70% C ₂ H ₅ OH	1	0,0	100,0	-
	0,5% р-р «Дез ТАБ»	10			
	0,4% р-р цефотаксима	10			
	70% C ₂ H ₅ OH	0,5	0,0	100,0	-
	0,4% р-р «Дез ТАБ»	10			
	0,4% р-р цефотаксима	10			
<i>Lagoseris purpurea</i>	70% C ₂ H ₅ OH	1	12,5	87,5	+
	0,5% р-р «Дез ТАБ»	10			
	0,4% р-р цефотаксима	10			
<i>Lamium glaberrimum</i>	70% C ₂ H ₅ OH	1	10,0	90,0	+
	0,5% р-р «Дез ТАБ»	10			
	0,4% р-р цефотаксима	10			
<i>Scrophularia exilis</i>	70% C ₂ H ₅ OH	1	0,0	100,0	-
	0,5% р-р «Дез ТАБ»	10			
	0,4% р-р цефотаксима	15			
	70% C ₂ H ₅ OH	1	2,9	97,1	-
	1% Thimerosal	5			
	0,5% р-р «Дез ТАБ»	10			
<i>Silene jailensis</i>	70% C ₂ H ₅ OH	1	2,1	97,9	-
	0,5% р-р «Дез ТАБ»	10			
	0,4% р-р цефотаксима	15			
<i>Sobolewsia sibirica</i>	70% C ₂ H ₅ OH	1	0,0	100,0	+
	0,5% р-р «Дез ТАБ»	10			
	0,4% р-р цефотаксима	10			
<i>Valerianella falconida</i>	70% C ₂ H ₅ OH	1	6,25	93,75	-
	0,5% р-р «Дез ТАБ»	10			
	0,4% р-р цефотаксима	10			

* + — симптомы потемнения или деформации поверхности экспланта;

- — без внешних изменений

В качестве одного из стерилизующих агентов был применен раствор цефотаксима в концентрации 0,4%, при использовании которого у видов *Heracleum ligustifolium*, *Lagoseris callicephala*, *Scrophularia exilis*, *Silene jailensis*, *Valerianella falconida* наблюдали максимальное количество стерильных эксплантов. У видов *Silene jailensis*, *Lagoseris callicephala*, *Lagosris purpuea*, *Valerianella falconida* максимальное прораствание семян составило 89,6%, 26,1%, 25,0% и 25,0%, соответственно, при последовательной стерилизации 70% этанолом в течение 1 минуты, 0,5% раствором

«Дез ТАБ» в течение 10 минут и 0,4% раствором цефотаксима в течение 10 минут. Аналогичный режим стерилизации был применен при введении *in vitro* семян *Heracleum ligustifolium*, *Scrophularia exilis*, *Sobolewskia sibirica*, *Lamiium globerrimum*. Полученные данные подтверждают положительный эффект примененного способа последовательной ступенчатой стерилизации. Разработанный способ позволил получить 87,5 – 100% эксплантов, свободных от контаминации.

Начало прорастания семян исследуемых видов наблюдали на питательных средах Монье и MS на 4 – 35 сутки в зависимости от генотипа (рис. 1а – 1д).

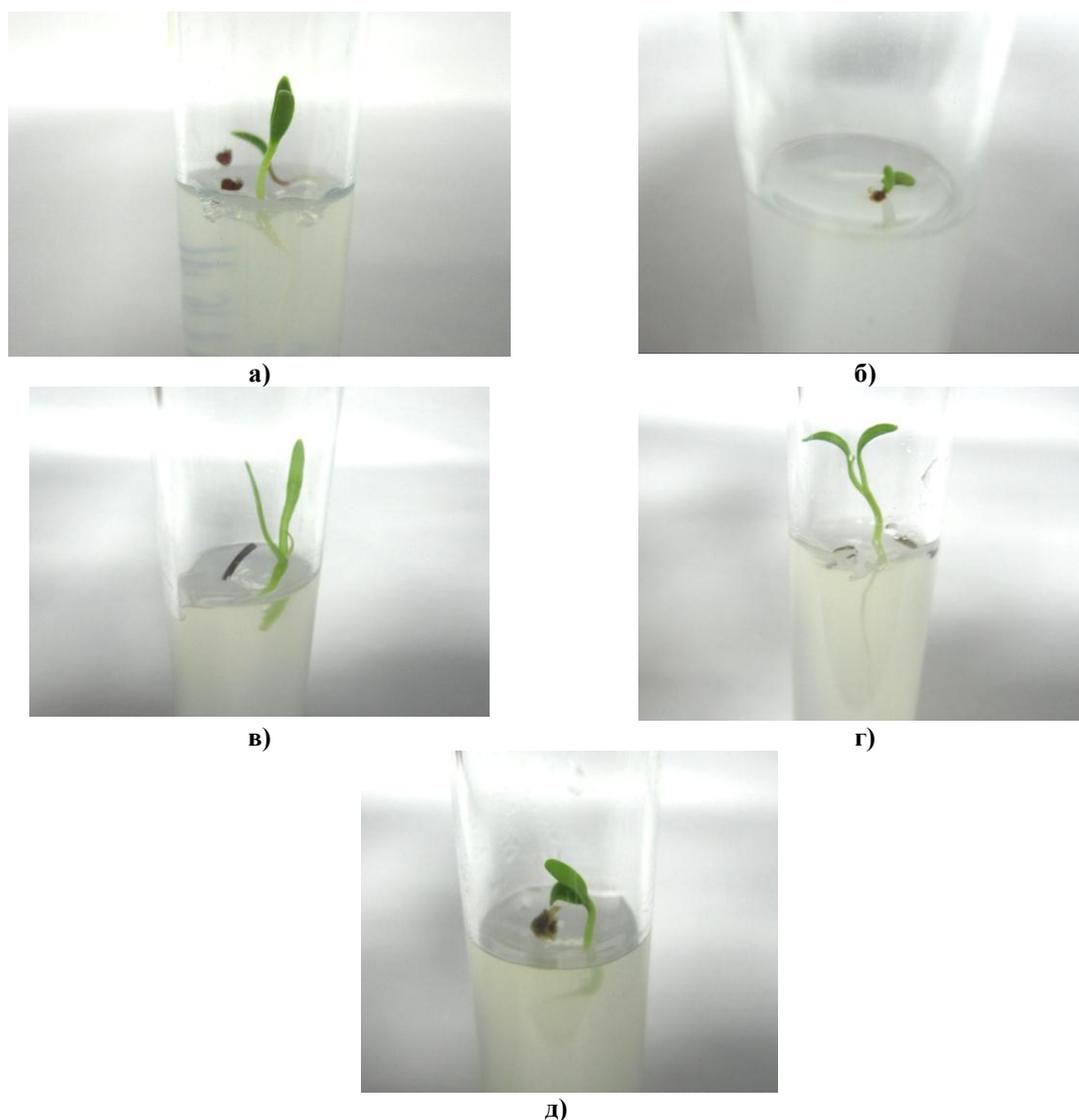


Рис. 1 Начало прорастания семян и плодов видов реликтовых эндемиков в условиях *in vitro*:
а) *Silene jailensis*; б) *Scrophularia exilis*; в) *Lagoseris purpurea*; г) *Lagoseris callicephala*;
д) *Valerianella falconida*

Массовое прорастание семян *Silene jailensis* происходило на 14 и 60 сутки эксперимента, количество жизнеспособных проростков достигало 95,83% (рис. 2). Семена *Lagoseris purpurea*, *Lagoseris callicephala* и *Valerianella falconida* прорастали через 12-60 суток, при этом жизнеспособность составила 30,2%, 45,6% и 12,5%, соответственно. У вида *Scrophularia exilis* были получены единичные проростки (см. рис. 1б).

Для повышения коэффициента размножения начато изучение регенерационной способности проростков в условиях *in vitro*. Из апикальной части проростков на

питательных средах MS, дополненных 0,1 – 0,5 мг/л БАП и 0,15 мг/л НУК у видов *Lagoseris callicephala*, *Lagoseris purpurea*, *Silene jailensis* и *Valerianella falconida* индуцировано образование адвентивных побегов. При этом коэффициент размножения микропобегов был высоким и составил у *Silene jailensis* 1:5 – 1:30 (рис. 3а, 3б), у *Lagoseris callicephala* – 1:18 (рис. 3в).

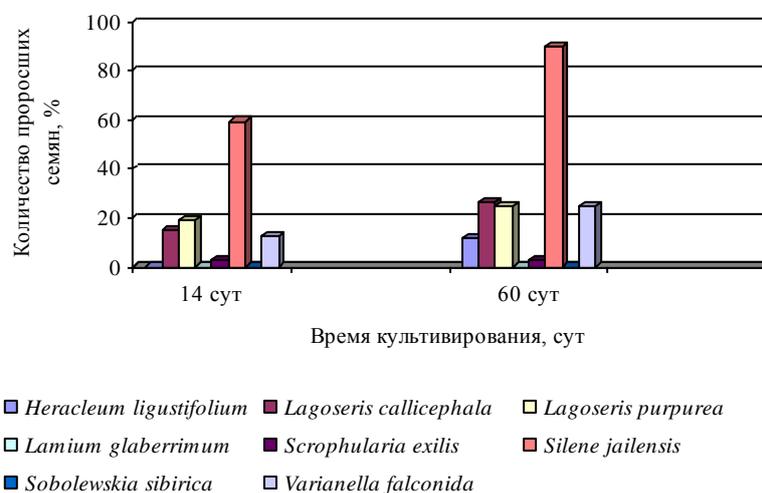


Рис. 2 Зависимость прорастания *in vitro* семян и плодов 8 видов реликтовых эндемиков от генотипа и продолжительности культивирования

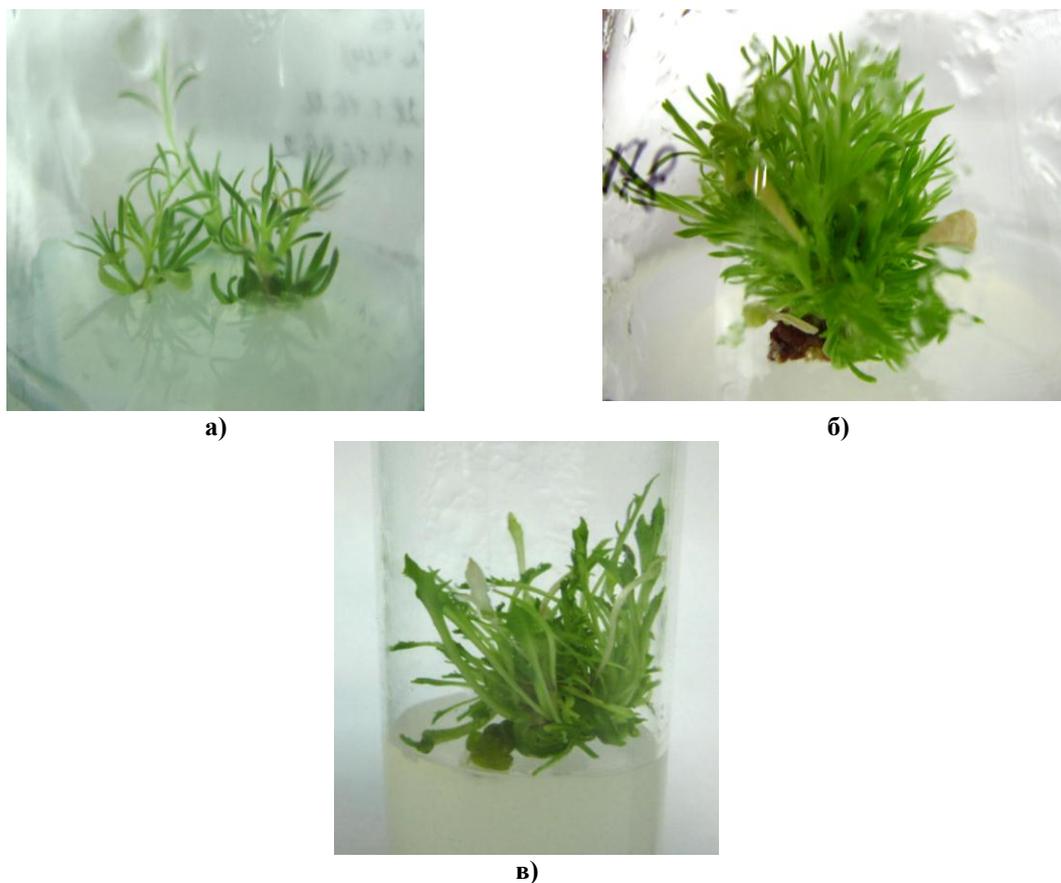


Рис. 3 Образование адвентивных побегов *in vitro* у видов *Silene jailensis* (а,б) и *Lagoseris callicephala* (в)

Исследования с данными видами по выявлению их регенерационной способности на этапе собственно микроразмножения и укоренения будут продолжены.

Выводы

Впервые в культуру *in vitro* введены 8 видов реликтовых эндемиков флоры Горного Крыма *Heracleum ligusticifolium*, *Lagoseris callicephalo*, *Lagoseris purpurea*, *Lamium glaberrimum*, *Scrophularia exilis*, *Silene jailensis*, *Sobolewsia sibirica*, *Valerianella falconida*. Разработан оптимальный способ получения асептической культуры семян и плодов изучаемых видов. На питательных средах MS и Монье получены проростки у видов *Lagoseris callicephalo*, *Lagoseris purpurea*, *Scrophularia exilis*, *Silene jailensis*, *Valerianella falconida*. При субкультивировании этих видов на питательной среде MS, дополненной минимальными концентрациями регуляторов роста, составил 1:5 – 1:30 в зависимости от генотипа.

Список литературы

1. Белокурова В.Б., Листван Е.В., Майстров П.Д., Сикура Й.Й., Глеба Ю.Ю., Кучук Н.В. Использование методов биотехнологии растений для сохранения и изучения биоразнообразия мировой флоры // Цитология и генетика. – 2005. – № 1. – С. 41-51.
2. Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений. – М.: Наука, 1964. – 272 с.
3. Калинин Ф.Л., Сарнацкая В.В., Полищук В.Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. – Киев: Наукова думка, 1980. – 488 с.
4. Красная книга Республики Крым. Растения, водоросли и грибы / Отв. ред. А.В. Ена и А.В. Фатерыга. – Симферополь: ООО «ИТ «АРИАЛ», 2015. – 480 с.
5. Международная программа ботанических садов по охране растений / Пер. с англ. Ю.Лисиной. Под ред. И.Смирнова, В. Тихоновой. – М., 2000. – 57 с.
6. Митрофанова И.В. Биотехнологии оздоровления, размножения и сохранения садовых культур // Материалы VII Международной научно-практической конференции «Биотехнология как инструмент сохранения биоразнообразия растительного мира (физиолого-биохимические, эмбриологические, генетические и правовые аспекты)», посвященной 30-летию отдела биотехнологии растений Никитского ботанического сада г. Ялта, Республика Крым, Россия. 25 сентября – 1 октября 2016 г. – Симферополь : ИТ «АРИАЛ», 2016. – С. 10.
7. Митрофанова И.В., Митрофанова О.В., Корзина Н.В., Лесникова-Седошенко Н.П., Иванова Н.Н., Тевфик А.Ш., Пилипчук Т.И., Заяц А.Ю., Челомбит С.В., Мелихова Г.И. Методические аспекты в исследовании органогенеза и соматического эмбриогенеза *in vitro* представителей семейств Ranunculaceae, Cannaceae, Moraceae, Rosaceae, Myrtaceae, Oleaceae, Actinidiaceae // Методология биотехнологических и вирусологических исследований ценных многолетних культур: Сборник научных трудов ГНБС. – 2014. – Т. 138. – С. 102-136.
8. Никифоров А.Р. Семенное размножение и возобновление популяции *Silene jailensis* N. I. Rubtzov (Caryophyllaceae) на юго-восточном склоне Никитской яйлы Горного Крыма // Укр. ботан. журн. – 2013. – Т. 70, № 3. – С. 336-341.
9. Шхагансоев С.Х. Географический анализ скально-осыпной флоры Кабардино-Балкарского высокогорного государственного заповедника // Горые регионы: природа и проблема рационального использования ресурсов. Орджоникидзе, 1987. – С. 51-56.
10. Convention on Biological Diversity. – www.plant-conservation-report-en.pdf
11. Global Strategy Plant Conservation/ – www.botanicgardens/ie/gspc/pdfs/gspc.pdf
12. Engelmann F. Use of biotechnologies for the conservation of plant biodiversity // *In Vitro Cellular and Development Biology-Plant*. – 2011. – Vol. 47, No. 1. – P. 5-16.

13. Monnier M. Croissance et developpement des embryons globulaires de *Capsella Bursa-pastoris* cultivés *in vitro* dans un milieu a la base d'une nouvelle solution minerale // Bull. Soc. Bot. France, Memoires, Coll. Morphologie. – 1973. – P. 179-194.

14. 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.

Статья поступила в редакцию 04.09.2016 г.

Mitrofanova I.V., Mitrofanova O.V., Nikiforov A.R., Lesnikova-Sedoshenko N.P., Ivanova N.N., Chelombit S.V, Zhdanova I.V. Special features of *in vitro* introduction of some relict endemic species from Mountain Crimea flora // Bull. of the State Nikita Botan. Gard. – 2016. – № 121. – P. 62-69.

For the first time biotechnological studies were launched *in vitro* concerning development features of 8 relict endemic species of the Mountain Crimea flora. The article presents study results of sterilizing agents' effect on both seed and fruit viability, and information about obtaining of aseptic culture for study cases. It was revealed that seedling formation is possible on nutrient medium Monnier (1973) and Murashige, Skoog (1962).

Keywords: rare species; organ and tissue culture; culture media; microshoot regeneration.

УДК 634.1/.7;57.086.13;57:536.483;606:57.082.26

СОЗДАНИЕ КОЛЛЕКЦИИ *IN VITRO* ДИКОРАСТУЩИХ ВИДОВ *BERBERIS SP.*

Наталья Владимировна Ромаданова, Светлана Александровна Мишустина,
Лаззат Наушабаевна Карашолакова, Молдир Маликовна Аралбаева,
Избасар Рахимбаевич Рахимбаев, Светлана Вениаминовна Кушнаренко

РГП «Институт биологии и биотехнологии растений» КН МОН РК.

Республика Казахстан, г. Алматы, 050040, ул. Тимирязева 45

nata_romadanova@mail.ru

Создана коллекция *in vitro* 59 форм 10 дикорастущих видов барбариса из АО «Лесной питомник», Карагандинского государственного университета, дендрария алтайского ботанического сада, поймы рек Большая Алматинка, Или, Чарын, Зеравшан. Для введения в культуру *in vitro* использовали побеги, пророщенные из семян барбариса: 1 – форма *Berberis amurensis* Rupr., 12 – *B. iliensis* M. Pop, 27 – *B. integerrima* Bunge, 1 – *B. koreana* Palib., 1 – *B. nummularia* Bge., 2 – *B. oblonga* (Regel) C.K.Schneid., 1 – *B. sibirica* Pall., 12 – *B. sphaerocarpa* Kar. et Kir., 1 – *B. thunbergii* DC., 1 – *B. vulgaris* L. Семена всех видов, кроме *B. koreana*, *B. sphaerocarpa*, *B. vulgaris* сразу после сбора прорастали на 7-22 сутки во влажном перлите, лабораторная всхожесть составила от 66,2-95,6%. Для прорастания семян трех вышеуказанных форм необходима была стратификация во влажном перлите в течение 2 месяцев при температуре 4°C, лабораторная всхожесть при этом составила от 22,2 до 100%. Пророщенные побеги обрабатывали раствором коммерческого отбеливателя «Белизна», разбавленного 1:1, в течение 10 мин и размножали на питательной среде Мурасиге и Скуга (МС) с 30 г/л сахарозы, 1,0 мг/л 6-бензиламинопурина (БАП), 0,01 мг/л индолилмасляной кислоты (ИМК), 1,75 г/л джелрайта, 4 г/л агара, pH 5,7. У *B. sphaerocarpa*, показавшего низкий процент всхожести даже после стратификации, побеги *in vitro* получали также из зародышей, которые изолировали из семян и помещали на вышеуказанную среду, после чего было отмечено 100% прорастание. Растения *in vitro*, полученные из семян и зародышей, проверяли на наличие эндофитной инфекции на специализированной среде 523 для роста бактерий и грибов, в состав которой входили: 10 г/л сахарозы, 8 г/л гидролизата казеина, 4 г/л дрожжевого экстракта, 2 г/л KH_2PO_4 , 0,15 г/л $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, джелрайт 6 г/л, pH 6,9. При этом 19,6% растений, освобожденные от инфекции, успешно развивались в условиях *in vitro*. Для дальнейшего клонального микроразмножения были протестированы 16 вариантов питательных сред, оптимальной являлась среда МС с 30 г/л сахарозы, с удвоенной концентрацией хелата железа, 0,8 мг/л БАП, 1 мг/л гибберелловой кислоты, 0,02 мг/л ИМК, 1 мг/л аскорбиновой кислоты, 2 мг/л пантотената кальция, 1,75 г/л джелрата, 4 г/л агара, pH 5,7. Созданная коллекция барбариса *in vitro* будет использована для создания криогенного банка, а также для закладки элитных питомников и для международного обмена генетическими ресурсами.

Ключевые слова: барбарис; семена; зародыши; культура органов и тканей; асептическая коллекция; криобанк