

УДК 633.81:57.085.2

**МОРФОГЕНЕЗ В КУЛЬТУРЕ МЕРИСТЕМ РОЗЫ ЭФИРОМАСЛИЧНОЙ ПРИ ХЕМОТЕРАПИИ *IN VITRO*****Наталья Алексеевна Егорова<sup>1,2</sup>, Ирина Викторовна Ставцева<sup>2</sup>,  
Ирина Вячеславовна Митрофанова<sup>1</sup>**<sup>1</sup> Никитский ботанический сад – Национальный научный центр  
298648, Россия, г.Ялта, пгт.Никита, ул.Никитский спуск, 52<sup>2</sup>ФГБУН «НИИ сельского хозяйства Крыма», 295493,

РФ, г. Симферополь, ул. Киевская, 150

yegorova.na@mail.ru

Установлены особенности морфогенеза эксплантов розы эфиромасличной сорта Радуга в зависимости от концентраций виразола (5,0-25,0 мг/л) в питательной среде и длительности культивирования. Показано, что хемотерапия *in vitro* при последовательном культивировании меристем (4 недели), а затем выделенных из развивающихся побегов верхушек (4 недели) приводила к снижению в 1,2-2,7 раз количества развивающихся эксплантов, а также почек, листьев и длины побегов. Максимальное снижение морфогенетических параметров по сравнению с контролем происходило при концентрациях виразола 20,0-25,0 мг/л после 2-х месяцев хемотерапии. При дальнейшем микроразмножении развитие жизнеспособных побегов почти не отличалось от контроля. Полученные данные свидетельствуют о возможности проведения хемотерапии у розы эфиромасличной при культивировании эксплантов в течение двух месяцев на питательной среде с добавлением виразола в концентрации до 25,0 мг/л.

**Ключевые слова:** роза эфиромасличная; культура меристем; виразол; клональное микроразмножение

**Введение**

Роза эфиромасличная – одно из наиболее известных ароматических растений, которое на протяжении многих веков выращивается, главным образом, в странах Средиземноморья и Ближнего Востока. В России основным районом промышленного возделывания розы эфиромасличной является Крым, где выращивают сорта, оригинатором которых является ФГБУН «НИИСХК» и ФГБУН «НБС-ННЦ» (сорта Радуга, Лань, Лада, Фестивальная и другие) [11]. Основным продуктом, получаемый из лепестков розы, это эфирное масло, широко используемое в парфюмерно-косметической промышленности, а также при изготовлении кондитерских изделий, вин, безалкогольных напитков. Розовое масло успешно применяется в ароматерапии и медицине благодаря его антисептическому, спазмолитическому, тонизирующему свойствам. Наряду с маслом, для лечения заболеваний органов дыхания, сердечно-сосудистой системы, органов пищеварения используются лепестки, плоды и листья этого растения [10].

Важной задачей для возрождения эфиромасличной отрасли Крыма является расширение плантаций, занятых этой ценной культурой, с прогнозируемым объемом 1600 га к 2027 году [11]. Однако для этого необходимо производство высококачественного сортового посадочного материала, что может быть весьма эффективным с привлечением биотехнологических методов. Это особенно важно для розы эфиромасличной, которая поражается многими фитопатогенами, в том числе и вирусной природы. У розы обнаружено более чем 20 вирусов, большинство из которых

относятся к родам *Ilarvirus* и *Nepovirus*, при этом установлено, что вирусные болезни не только приводили к снижению урожайности растений, но и качества эфирного масла [4]. При анализе производственных плантаций розы эфиромасличной в разных районах Крыма было выявлено широкое распространение вирусных болезней, возбудителями которых был комплекс палочковидных, нитевидных и сферических вирусов [12].

Одним из направлений клеточной инженерии является получение оздоровленного посадочного материала в культуре *in vitro*. Для ряда видов растений было показано, что при культивировании меристем размером не более 0,3 мм можно получить растения, свободные от грибной и бактериальной инфекции, нематод, а также от некоторых вирусов и микоплазм [5, 8]. Более эффективное освобождение растений от вирусной инфекции может быть достигнуто при сочетании нескольких методов: культуры меристем с термотерапией или хемотерапией *in vitro*. В частности, разработаны комплексные схемы получения безвирусного посадочного материала некоторых цветочных и косточковых плодовых культур [8], винограда [13], картофеля, хмеля и многих других сельскохозяйственных растений [5, 20]. При хемотерапии для освобождения растений от вирусной инфекции применяется культивирование меристем на средах с добавлением веществ, ингибирующих вирус – виразола (Ribavirin, 1- $\beta$ -D-рибофуранозил-1,2,4-триазол-3-карбоксамид), НЕО-ДНТ (2,4-диоксогексагидро-1,3,5-триазин) или других вироцидов [5, 8, 14, 16]. Разработка методик хемотерапии в значительной степени зависит от вида растения и степени его поражения различными заболеваниями [8]. При этом необходимо оптимизировать не только концентрации вироцидов, но и экспозиции, режимы обработки, типы эксплантов, условия культивирования. Биотехнологические исследования розы эфиромасличной в основном касаются изучения и усовершенствования приемов клонального микроразмножения, накопления вторичных метаболитов, оценки адаптационного потенциала и некоторых других вопросов культивирования органов и тканей [1, 2, 9, 15, 17, 19]. Разработка биотехнологического метода получения безвирусных растений требует детального подбора условий для каждого этапа получения оздоровленных растений, важнейшими из которых являются приемы освобождения от вирусной инфекции.

Целью данной работы было изучение особенностей морфогенеза изолированных меристем розы эфиромасличной при введении в состав питательной среды виразола в различных концентрациях.

### Объекты и методы исследования

Материалом для исследований служили ткани и органы сорта розы эфиромасличной Радуга, который является гибридом сорта Весна (*Rosa damascene* Mill. x *R. gallica* L.). В качестве первичных эксплантов использовали меристемы с 1-2 листовыми примордиями (размером 0,3-0,4 мм), выделенные из пазушных почек растений возраста 5-6 лет, выращиваемых в коллекционном питомнике ФГБУН «НИИСХК» в условиях Предгорной зоны Крыма (с. Крымская Роза, Белогорский район). Подготовку материалов и оборудования для работы в асептических условиях, питательных сред и анализ процессов роста проводили согласно традиционным методам, применяемым для культуры тканей и органов растений [6]. Для стерилизации эксплантов использовали 70% этанол и 50% р-р препарата «Брадофен». Для введения меристем в культуру и их дальнейшего субкультивирования использовали ранее разработанную модификацию питательной среды Мурасиге и Скуга МСР6 с добавлением 1,0 мг/л БАП и 0,1 мг/л гибберелловой кислоты (Sigma, США) [1]. Вычленение меристем проводили под микроскопом МБС-10 в ламинарном боксе.

При хемотерапии в состав питательной среды для культивирования меристем вводили виразол в концентрации от 5,0 до 25,0 мг/л. Обработку эксплантов розы

виоцидом проводили в два этапа, в соответствии с разработанной схемой. Меристемы культивировали на среде с виразолом в течение 28 сут, затем отделяли верхушки формирующихся побегов (длиной 3-5 мм) и снова выращивали их на среде с этой же концентрацией виразола четыре недели. В контроле осуществляли те же манипуляции, но меристемы выращивали на среде МСР6 без виразола. После хемотерапии вычленили верхушки побегов (3-5 мм) и переносили на среду для микроразмножения МСР6, на которой культивировали 30-35 сут.

Изолированные меристемы и развивающиеся из них побеги культивировали в пробирках с 10 мл питательной среды в ростовой комнате при 26°C, влажности 70% при освещенности 2-3 тыс. люкс с 16-часовым фотопериодом. Перед каждым субкультивированием определяли количество жизнеспособных развивающихся эксплантов, число и длину побегов (или почек), количество листьев, частоту множественного побегообразования и другие параметры. Субкультивирование при микроразмножении розы проводили каждые 30-35 сут. Коэффициент размножения рассчитывали как количество микрочеренков, которое можно получить за 1 цикл размножения. Для этого среднее количество развивающихся из эксплантов побегов умножали на среднее число эксплантов для микроразмножения. Опыты проводили в трехкратной повторности, в каждом варианте анализировали не менее 20 эксплантов. Экспериментальные данные обработаны с помощью методов статистического анализа с использованием пакета программ Microsoft Office (Excel 2007).

### Результаты и обсуждение

Для получения оздоровленного безвирусного посадочного материала на основе культуры меристем, как правило, используют несколько этапов, важнейшим из которых является проведение термотерапии или хемотерапии растений [8]. При разработке методики хемотерапии *in vitro* необходимо не только подобрать вещество, ингибирующее вирус, его концентрацию и экспозицию, но и тип экспланта и способы его обработки. Важно, чтобы такая обработка ингибировала жизнедеятельность вирусов, но при этом не полностью угнетала развитие растительного объекта. Для экспериментов по хемотерапии в качестве базовых питательных сред были использованы среды, разработанные нами для клонального микроразмножения сортов розы эфиромасличной - модификации среды Мурасиге и Скуга с добавлением БАП, ГК<sub>3</sub> и глюкозы [1, 2]. На основании предварительных исследований в качестве виоцида применяли виразол, а эксплантами служили меристемы, выделенные из пазушных почек растений. Ранее при использовании низких концентраций этого виоцида (1,0-5,0 мг/л) было выявлено незначительное угнетение отдельных показателей развития меристем сорта Радуга только после 2-х месяцев культивирования на средах с виразолом (рис. 1). Поэтому в данной работе было исследовано влияние более высоких концентраций виразола (5,0-25,0 мг/л) на развитие изолированных меристем *in vitro* при 2-х кратной последовательной обработке эксплантов.



Рис. 1 Развитие меристем розы эфиромасличной сорта Радуга через 4 недели культивирования на контрольной среде (слева) и на среде с добавлением 5,0 мг/л виразола (справа)

При культивировании меристем на испытанных питательных средах было отмечено их относительно медленное развитие – через 2 недели наблюдали увеличение размеров эксплантов, появлялась расчлененность краев на примордиальных листьях, и иногда развивалась первая листовая пластинка. Через 28 сут культивирования средняя длина эксплантов достигала 3,8-5,1 мм (табл. 1). При этом изредка наблюдали развитие дополнительных почек или микропобегов с укороченными междуузлиями, представляющими розетку листьев. Морфометрические показатели развивающихся эксплантов зависели от концентрации виразола в питательной среде. Как видно из представленных данных после месяца хемотерапии происходило достоверное снижение числа листьев при введении 10-25 мг/л виразола в питательную среду. Наибольшее угнетение развития эксплантов, при котором уменьшилось также и число адвентивных почек, было при добавлении 25 мг/л виразола.

Таблица 1

**Влияние виразола на развитие меристем розы эфиромасличной сорта Радуга  
(анализ через 28 сут после введения *in vitro*)**

Питательная среда	Содержание виразола, мг/л	Количество развивающихся эксплантов, %	Число побегов (почек), шт./эксплант	Длина побега, мм	Количество листьев, шт.
Контроль МСР6	0,0	95,0±7,5	1,58±0,11	5,1±0,3	1,27±0,12
МС532	5,0	86,9±7,7	1,45±0,11	4,4±0,2	1,69±0,14
МС533	10,0	95,4±8,9	1,33±0,10	4,4±0,3	0,57±0,10*
МС534	15,0	90,0±8,5	1,28±0,10	4,7±0,4	0,45±0,10*
МС535	20,0	83,3±7,9	1,27±0,11	3,8±0,3*	0,53±0,09*
МС536	25,0	76,0±6,9	1,05±0,05*	4,3±0,2	0,50±0,11*

\*Достоверное снижение показателя по сравнению с контролем при P=0,05

После выделения отросших верхушек и повторного культивирования на средах с вироцидом наблюдали еще более сильное угнетение развития эксплантов – почти все морфометрические параметры достоверно снизились по сравнению с контролем (табл. 2). Почти в 1,2-2,7 раз уменьшилось не только количество листьев и почек, но и длина побега и число развивающихся эксплантов. С увеличением концентрации виразола, как правило, усиливалось и негативное действие хемотерапии. Тем не менее, даже при максимальной в опыте концентрации виразола (25 мг/л) наблюдали слабое развитие эксплантов и формирование дополнительных побегов.

Таблица 2

**Влияние хемотерапии на развитие меристем розы эфиромасличной сорта Радуга после 2-го субкультивирования на среде с виразолом**

Питательная среда**	Содержание виразола, мг/л	Количество развивающихся эксплантов, %	Число побегов (почек), шт./эксплант	Длина побега, мм	Количество листьев, шт.
МСР6-МСР6	0	100,0	2,47±0,21	8,0±0,2	4,93±0,32
МС532-МС532	5,0	78,9±6,5*	4,20±0,29	6,8±0,1*	4,97±0,21
МС533-МС533	10,0	80,9±8,2*	2,65±0,20	6,3±0,2*	3,76±0,25*
МС534-МС534	15,0	55,5±4,7*	1,60±0,15*	4,7±0,1*	1,81±0,12*
МС535-МС535	20,0	78,6±7,0*	2,00±0,21	5,0±0,2*	3,00±0,30*
МС536-МС536	25,0	70,0±6,4*	1,78±0,15*	4,4±0,3*	2,21±0,18*

\*Достоверное снижение показателя по сравнению с контролем при P=0,05

\*\* Состав питательной среды - см. табл.1

После хемотерапии вычлененные верхушки микропобегов культивировали на контрольной среде, на которой наблюдали существенное восстановление ростовой активности эксплантов. После переноса эксплантов на среду МСР6 во всех вариантах эксперимента было отмечено 100% развивающихся эксплантов. Как видно из данных таблицы 3, число побегов достоверно не отличалось от контроля, а в большинстве вариантов – также и коэффициент размножения, основной показатель при микроразмножении. Негативное действие виразола в большей степени проявилось в угнетении длины побегов во всех вариантах опыта. Следует отметить, что при суммировании процента развивающихся эксплантов (от числа введенных *in vitro*) после 2-х месяцев хемотерапии видно значительное их уменьшение по сравнению с контролем. Так, после культивирования на среде с 25,0 мг/л виразола развивалось всего 43,5% меристем. Тем не менее, у оставшихся после хемотерапии жизнеспособных эксплантов лишь немного снизились показатели, а после последующих 1-2-х субкультивирований на среде МСР6 почти не отмечали визуальных отличий по сравнению с контролем (рис. 2). Это свидетельствует о возможности использования для хемотерапии розы эфиромасличной виразола в концентрации до 20-25 мг/л.

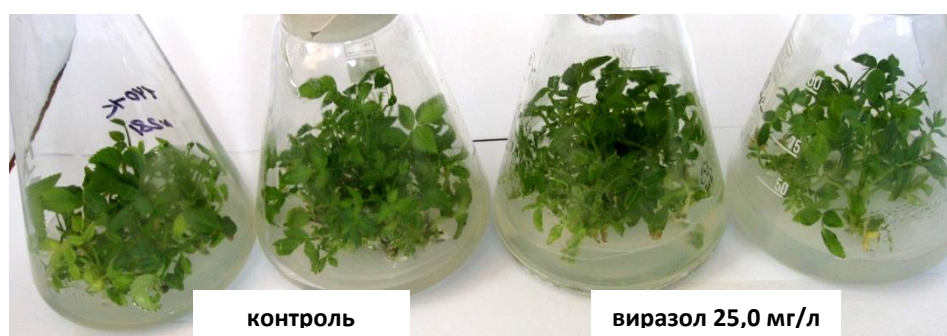
Таблица 3

**Влияние виразола на развитие меристем розы эфиромасличной сорта Радуга после хемотерапии при дальнейшем культивировании на контрольной среде**

Питательная среда**	Число развивающихся меристем (от введенных <i>in vitro</i> ), %	Число побегов (почек), шт./эксплант	Длина побега, мм	Число эксплантов для размножения, шт.	Коэффициент размножения
МСР6-МСР6-МСР6	90,0	3,77±0,29	10,3±0,4	1,37±0,09	5,16±0,33
МС532-МС532-МСР6	66,7	5,00±0,36	8,3±0,2*	1,06±0,03*	5,30±0,48
МС533-МС533-МСР6	75,0	4,20±0,31	8,9±0,2*	1,05±0,03*	4,41±0,34
МС534-МС534-МСР6	52,6	5,54±0,38	7,6±0,2*	1,0*	5,54±0,38
МС535-МС535-МСР6	61,1	3,67±0,27	7,8±0,2*	1,0*	3,67±0,27*
МС536-МС536-МСР6	43,5	4,61±0,36	7,9±0,2*	1,05±0,02*	4,84±0,38

\* Достоверное снижение показателя по сравнению с контролем при  $P=0,05$

\*\* Состав питательной среды - см. табл.1



**Рис. 2** Микропобеги, полученные из меристем розы эфиромасличной сорта Радуга на контрольной среде (слева) и на среде с добавлением 25,0 мг/л виразола (справа), после 2-х субкультивирований на контрольной среде

Таким образом, проведенные исследования позволили установить особенности действия хемотерапии на морфогенетический потенциал эксплантов розы эфиромасличной *in vitro*. Показано, что при последовательном культивировании на средах с виразолом меристем, а затем выделенных из формирующихся побегов верхушек (каждый эксплант в течение четырех недель) происходило ингибирование их роста и формирования дополнительных побегов. Максимальное снижение (почти в 2 раза) изученных морфогенетических параметров наблюдали при концентрациях виразола 20,0-25,0 мг/л, а также после почти двух месяцев хемотерапии.

Для разных видов растений при хемотерапии в качестве эксплантов использовали меристемы [3, 8, 17, 18], сегменты побега с узлом [7, 14, 16], микропобеги или регенеранты [8]. Судя по литературным данным, исследователи применяли довольно широкие диапазоны концентраций виразола, используемого в качестве вирицида, – от 2,5 до 100,0 мг/л [7, 8, 16-18]. Ранее нами была показана возможность использования для хемотерапии у лаванды меристем и верхушек побегов при концентрации виразола до 25,0 мг/л [3]. Для сортов розы садовой была разработана биотехнология размножения безвирусного посадочного материала, включающая термо- и хемотерапию *in vitro*. При культивировании меристем розы на средах с виразолом и амиксином отмечали освобождение от вирусов мозаики (78,2%) и торможение процессов дифференциации и пролиферации адвентивных побегов [8]. Для розы эфиромасличной, как показали наши исследования, после двух месяцев хемотерапии происходило угнетение ростовых процессов и снижение числа дополнительных почек и побегов. Однако при последующих субкультивированиях отмечено восстановление развития побегов по сравнению с контролем, что свидетельствует о возможности использования виразола в концентрации 20,0-25,0 мг/л. Для оценки эффективности элиминации вирусной инфекции при таких режимах хемотерапии розы эфиромасличной в дальнейшем будет проведена вирусная диагностика и физиолого-биохимический анализ полученных меристемных культур.

### Выводы

В результате исследований выявлены особенности морфогенеза эксплантов розы эфиромасличной в зависимости от концентраций виразола (5,0-25,0 мг/л) в питательной среде и длительности культивирования *in vitro*. Установлено, что хемотерапия *in vitro* при последовательном культивировании меристем (4 недели), а затем выделенных из развивающихся побегов верхушек (4 недели) приводила к ингибированию их роста и формирования адвентивных почек и побегов. Максимальное снижение морфогенетических параметров по сравнению с контролем происходило при концентрациях виразола 20,0-25,0 мг/л после 2-х месяцев хемотерапии. По сравнению с контролем почти в 1,2-2,7 раз уменьшилось количество листьев, почек, длина побега и число развивающихся эксплантов. При первом субкультивировании после хемотерапии отмечено угнетение роста побегов по сравнению с контролем. Однако при дальнейшем микроразмножении развитие выделенных после хемотерапии жизнеспособных побегов почти не отличалось от контроля. Полученные данные свидетельствуют о возможности проведения хемотерапии у розы эфиромасличной при последовательном культивировании меристем и верхушек побегов в течение двух месяцев на питательной среде с добавлением виразола в концентрации до 25,0 мг/л.

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

## Список литературы

1. Егорова Н.А., Ставцева И.В., Кривоухатко А.Г., Каменек Л.И., Золотилов В.А. Получение гибридов с использованием эмбриокультуры и микроразмножение розы эфиромасличной *in vitro* // Проблемы современной науки. – 2015. – Вып. 17. – С. 31-41.
2. Егорова Н.А., Ставцева И.В., Митрофанова И.В. Влияние сорта и факторов культивирования *in vitro* на клональное микроразмножение розы эфиромасличной // Бюллетень ГНБС. – 2016. – Вып. 120. – С. 36-43.
3. Егорова Н.А., Ставцева И.В., Митрофанова И.В. Влияние хемотерапии на морфогенетический потенциал эксплантов лаванды в культуре *in vitro* // Таврический вестник аграрной науки. – 2016. – №1. – С.9-19.
4. Закубанский Ф.В., Чирков С.Н., Митрофанова О.В., Митрофанова И.В. Вирусы некоторых ценных плодовых, эфиромасличных и декоративных культур // Бюллетень ГНБС. – 2016. – Вып. 121. – С. 7-18.
5. Калашишникова Е.А. Клеточная инженерия растений: Учебное пособие. – М.: Изд-во РГАУ-МСХА, 2012. – 318с.
6. Калинин Ф.Л., Сарнацкая В.В., Полищук В.Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений – Киев: Наук. думка. 1980. – 488 с.
7. Мищенко Л.Т., Куценко Н.И., Таланкова-Середа Т.Е. Особенности диагностики вирусных болезней (*Mentha piperita* L.) и оптимизация микроклонального размножения для оздоровления растений // «Биологические особенности лекарственных и ароматических растений и их роль в медицине»: Сборник научных трудов Межд. конф. (23-25 июня 2016г., ФГБНУ ВИЛАР, Москва). – ВИЛАР, Москва: Щербинская типография, 2016. – 283-288с.
8. Митрофанова О.В., Митрофанова И.В., Иванова Н.Н., Лесникова-Седошенко Н.П. Применение биотехнологических методов в оздоровлении растений и размножении безвирусного посадочного материала перспективных цветочно-декоративных культур // Сборник научных трудов ГНБС. – 2014. – Т. 138. – С. 5-56.
9. Митрофанова И.В., Митрофанова О.В., Браилко В.А., Лесникова-Седошенко Н.П. Биотехнологические и физиологические особенности культивирования *in vitro* ценных генотипов розы эфиромасличной // Изв. вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2015. – №2(13). – С. 37-48.
10. Назаренко Л.Г., Афонин А.В. Эфиромасличные культуры юга Украины. – Симферополь: Таврия, 2008. – 144 с.
11. Паштейцкий В.С., Невкрытая Н.В., Мишнев А.В., Назаренко Л.Г. Эфиромасличная отрасль Крыма. Вчера, сегодня, завтра. – Симферополь: ИТ «АРИАЛ», 2017. – 244с.
12. Сенчугова Н.А. Вірусні хвороби основних ефіроолійних культур Кримського регіону: Автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.06 / Київський національний університет ім. Тараса Шевченка. – Київ, 2003. – 21с.
13. Скороход В.О. Промислова біотехнологія мікроклонального розмноження винограду в культурі *in vitro*. – Херсон: Айлант. 2000. – 328 с.
14. Antonova O.Y., Krylova E.A., Shuvalova A.R., Shuvalov O.Y., Gavrilenko T.A. Virus eradication of potato microplants using the method of combined therapy // “Biotechnology as an Instrument for Plant Biodiversity Conservation (physiological, biochemical, embryological, genetic and legal aspects)”: Proceed. VI Int. Conf. (Yalta, Crimea, Russia/ October 12-17, 2014). – Simferopol: PP “ARIAL”, 2014. – P.126-127.
15. Canli F.A., Kazaz S. Biotechnology of Roses: progress and future prospects // Suleyman Demirel Universitesi Orman Fakultesi Dergisi. – 2009. – N 1. – P.167-183.
16. Kudelkova M., Pavelkova R., Ondrusikova E. Virus elimination in peach with the chemotherapy using // Book of Abstracts 6<sup>th</sup> Int. Symposium on Production and

Establishment of Micropropagated Plants (19-24 April 2015, Sunremo, Italy). – Sunremo, 2015. – P.199.

17. Mitrofanova I., Brailko V., Lesnikova-Sedoshenko N., Mitrofanova O. Clonal micropropagation and some physiology aspects of essential oil roses valuable cultivars regeneration *in vitro* // Agriculture and Forestry. – 2016. – V. 62, N 4. – P. 73-81. DOI: 10.17707/AgricultForest.62.4.09

18. Neelamathi D., Jerold M., Philomena G. Influence of apical meristem and chemotherapy on production of virus free sugarcane plants // Res. J. Recent. Sci. – 2014. – Vol.3. – P.305-309.

19. Noodezh H.M., Moieni A., Baghizadeh A. *In vitro* propagation of the Damask rose (*Rosa damascena* Mill.) // In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant. – 2012. – V. 48, N 6. – P. 530–538.

20. Panattoni A., Luvisi A., Triolo E. Review. Elimination of viruses in plants: twenty years of progress // Spanish Journal of Agricultural Research. – 2013. – Vol. 11, N 1. – P.173-188.

Статья поступила в редакцию 18.09.2017 г.

**Yegorova N.A., Stavtseva I.V., Mitrofanova I.V. Morphogenesis in the meristem culture of essential oil rose during chemotherapy *in vitro*** // Bull. of the State Nikita Botan. Gard. – 2017. – № 125. – P. 65–72.

Morphogenesis features of the explants of essential oil rose cultivar Raduga, depending on virazole concentrations (5.0-25.0 mg / l) in a culture medium and the duration of *in vitro* culture, were revealed. It was shown that chemotherapy *in vitro* with sequential cultivation of meristems (4 weeks) and then shoot tips isolated from the developing shoot (4 weeks) resulted in a decrease by 1,2-2,7 times in the number of developing explants, as well as the number of buds, leaves and shoot length. Maximum reduction of morphogenetic parameters compared to control was occurred with introduced into the culture medium 20,0-25,0 mg / l virazole and after 2 months of chemotherapy. With further micropropagation the development of viable shoots were almost indistinguishable from control. Obtained data indicate the possibility of chemotherapy for essential oil rose at cultivation of explants during two months on culture media with the addition of virazole in a concentration up to 25.0 mg / l.

**Key words:** essential oil rose; meristem culture; virazole; clonal micropropagation

## ФЛОРА И РАСТИТЕЛЬНОСТЬ

УДК 581.9(477.75)

### МЕДВЕЖИЙ ЛУК (*ALLIUM URSINUM* L. SUBSP. *UCRAINICUM* KLEOP. ET OXNER) В КРЫМУ

**Владислав Вячеславович Корженевский, Владимир Павлович Исигов**

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр  
298648, Республика Крым, г.Ялта, пгт. Никита  
herbarium.47@mail.ru

Приводится информация о находке нового вида для флоры Крыма - *Allium ursinum* L. subsp. *ucrainicum* Kleop. et Oxner. Подробно характеризуются места произрастания, фитоценозы с участием