

EDN FZGTKD

DOI 10.5281/zenodo.8271915

УДК 633.81:57.085.2

Егорова Н. А., Ставцева И. В., Тевфик А. Ш.

**КАЛЛУСО- И МОРФОГЕНЕЗ ЛАВАНДЫ УЗКОЛИСТНОЙ В КУЛЬТУРЕ
IN VITRO: ВЛИЯНИЕ ПРОИСХОЖДЕНИЯ ЭКСПЛАНТА**

ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»

Реферат. Важнейшим этапом при разработке многих клеточных технологий является оптимизация процесса индукции морфогенеза из каллусных культур. Цель данной работы – изучение особенностей влияния происхождения экспланта на индукцию каллусо- и морфогенеза у лаванды узколистной *in vitro*. Экспериментальные работы проведены на базе лаборатории биотехнологии ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма» в 2023 г. В исследованиях использовали лаванду (*Lavandula angustifolia* Mill.) сорта Степная. В асептическую культуру вводили экспланты (сегменты листьев) разного происхождения: из растений разного возраста, из разных ярусов побегов двух типов и из разных участков листовой пластинки. Листовые экспланты культивировали на питательных средах разного гормонального состава, на которых формировался каллус неморфогенного или морфогенного (с почками и зачатками листьев) типа. Установлено, что листья двух- и 12-летних растений (при использовании побегов первого года вегетации) не отличались по частоте индукции первичного неморфогенного или морфогенного каллуса. При культивировании сегментов листьев разных ярусов у молодых побегов первого года вегетации выявлено повышение частоты морфогенеза в культуре *in vitro* с увеличением яруса побега. Минимальная частота образования морфогенного каллуса (9,7 %) отмечена у листьев из нижних 2–5 ярусов (от основания побега). У листьев 6–9 и 10–14 ярусов количество эксплантов с морфогенным каллусом увеличилось до 2,8 и 5,9 раза соответственно. При использовании частично одревесневших побегов второго года вегетации частота морфогенных каллусов была ниже (до 1,3–3,2 раза) по сравнению с молодыми побегами первого года вегетации. При культивировании разных сегментов листовой пластинки максимальная частота морфогенного каллуса отмечена у эксплантов из основания и средней части листовой пластинки (9,5–26,1 %, в зависимости от питательной среды). В каллусе из эксплантов верхушки листа морфогенез наблюдали крайне редко. Полученные данные позволяют оптимизировать методику регенерации в каллусной культуре *L. angustifolia*.

Ключевые слова: лаванда узколистная (*Lavandula angustifolia* Mill.), каллусогенез, морфогенез, *in vitro*, эксплант.

Для цитирования: Егорова Н. А., Ставцева И. В., Тевфик А. Ш. Каллусо- и морфогенез лаванды узколистной в культуре *in vitro*: влияние происхождения экспланта // Таврический вестник аграрной науки. 2023. № 2(34). С. 39–51. EDN: FZGTKD. DOI 10.5281/zenodo.8271915.

For citation: Yegorova N. A., Stavtzeva I. V., Tefvik A. Sh. Calluso- and morphogenesis of *Lavandula angustifolia* *in vitro*: influence of explant origin // Taurida Herald of the Agrarian Sciences. 2023. No. 2(34). P. 39–51. EDN: FZGTKD. DOI 10.5281/zenodo.8271915.

Введение

Основой большинства клеточных биотехнологий в растениеводстве является культивирование *in vitro* каллусных тканей. При этом в технологиях получения вторичных метаболитов достаточно часто используют недифференцированные каллусные или суспензионные культуры. Однако при создании новых генотипов

растений с хозяйственно ценными признаками (с применением соматической изменчивости, клеточной селекции и др.) или клональном микроразмножении *in vitro* необходимым и часто наиболее сложным этапом является индукция морфогенеза и последующая регенерация растений [1–3]. Процесс непрямого морфогенеза при культивировании каллусных тканей может реализовываться путем соматического эмбриогенеза *in vitro* (формирование биполярных зародышей в культуре клеток и тканей путем, напоминающим зиготический эмбриогенез) или органогенеза *de novo* различных типов (геммогенеза, ризогенеза, гемморизогенеза) [4–6]. От эффективности индукции органогенеза или соматического эмбриогенеза в каллусных культурах зависит не только возможность реализации биотехнологии, но и ее экономическая целесообразность.

Для многих видов растений экспериментально показано, что частота регенерации в каллусной культуре зависит от ряда эндогенных (в частности, генотипа донорного растения, типа и расположения экспланта на растении) и экзогенных (состава питательной среды, температуры и режима освещения при культивировании *in vitro*, длительности пассирования каллуса) факторов [7–9]. Большинство исследователей при оптимизации методик получения растений-регенерантов уделяют внимание, прежде всего, эмпирическому подбору состава индукционных питательных сред. Вместе с тем, во многих работах показана важная роль в индукции прямого или непрямого морфогенеза физиологического состояния экспланта, которое определяется типом экспланта и его расположением на растении, условиями выращивания, возрастом донорного растения и некоторыми другими особенностями [10–12]. Имеются сведения о том, что данные факторы могут влиять не только на частоту и тип морфогенеза, но и на длительность сохранения регенерационной способности каллуса [1, 13].

На важную роль возраста исходного донорного растения указывали многие авторы. В работе Basto et al. у *Cedrela montana* наибольший органогенный потенциал наблюдался при выделении почек из ювенильных молодых деревьев (7–18 мес.) по сравнению с деревьями возрастом 10–20 лет [14]. У *Brassica napus* прямой органогенез отмечали только из семядолей 3-5-дневных проростков, тогда как из эксплантов 7-дневных проростков побеги не формировались [9]. Для *Foeniculum vulgare* показано, что в каллусе, полученном из гипокотилей 7-дневных проростков частота соматического эмбриогенеза была в два раза выше, чем в каллусах из более зрелых 14 и 21-дневных проростков [15]. При изучении молекулярных механизмов реализации морфогенетического потенциала листьев разного возраста в культуре *in vitro* у табака (при прямой индукции морфогенеза) и арабидопсиса (при непрямом морфогенезе через стадию каллусообразования) выявлено, что регенерационная способность эксплантов обратно пропорциональна возрасту растения [16].

В ряде исследований установлено существенное влияние на морфогенетические процессы *in vitro* места расположения экспланта на растении или даже на поверхности питательной среды. Так, у *Saccharum officinarum* максимальная частота каллусообразования и органогенеза достигнута при культивировании первых двух базальных сегментов стебля, а из третьего–пятого сегментов регенерации не обнаружено [9]. Митрофанова И. В. установила, что у каладиума соматический эмбриогенез наблюдался преимущественно у основания листовой пластинки и области по обе стороны от центральной жилки, а у фикуса индукция соматических зародышей происходила по краю листовой пластинки, тогда как в зоне вдоль жилки и у черешка листа формировались почки и побеги [7]. У *Zamioculcas zamiifolia* экспланты с черешком или средней жилкой из базальной части листа показали самый высокий морфогенный ответ по сравнению с эксплантами без черешка или средней жилки или с эксплантами из апикальной части листа [17].

Лаванда узколистая (*Lavandula angustifolia* Mill.) – одно из наиболее ценных и широко распространенных во многих странах мира эфиромасличных растений,

широко используемое в парфюмерно-косметическом производстве, медицине, ландшафтном озеленении и других сферах деятельности [18]. Исследования в области клеточной инженерии лаванды посвящены главным образом различным аспектам клонального микроразмножения [19–22]. Вместе с тем не менее значимыми в теоретическом и прикладном плане направлениями являются биотехнологии создания новых генотипов на основе соматональной изменчивости или клеточной селекции, для которых необходимы высокоэффективные методики индукции морфогенеза *in vitro*. Однако публикации, посвященные получению растений-регенерантов в каллусной культуре лаванды, очень немногочисленны и большей частью направлены на оптимизацию состава питательных сред для индукции органогенеза или соматического эмбриогенеза [9, 23, 24]. Многие вопросы, касающиеся роли экзогенных и эндогенных факторов в процессах прямого и непрямого морфогенеза видов рода *Lavandula*, остаются почти неизученными. Поэтому **целью данного исследования** было изучение особенностей влияния происхождения экспланта на индукцию каллусо- и морфогенеза у лаванды узколистной *in vitro*.

Материалы и методы исследований

В исследованиях использовали лаванду узколистную (*L. angustifolia*) сорта Степная. В качестве эксплантов для индукции каллусогенеза выделяли сегменты листьев растений разного возраста (два года или 12 лет), выращенных в условиях закрытого грунта. В отдельных опытах использовали листовые экспланты, выделенные из разных ярусов побегов двух типов – молодых неодревесневших побегов первого года вегетации (длиной 18–22 см, с 12–15 ярусами) (рисунок 1А) и частично одревесневших побегов второго года вегетации с укороченными междоузлиями (длиной 30–35 см, с 35–40 ярусами) (рисунок 1Б), а также из разных участков листовой пластинки (рисунок 1В).

Экспериментальные работы проведены на базе лаборатории биотехнологии ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма» в 2023 г. При этом применяли общепринятые методы культуры органов и тканей растений [25], а также методы, разработанные нами ранее для культивирования тканей и органов лаванды *in vitro* [9].

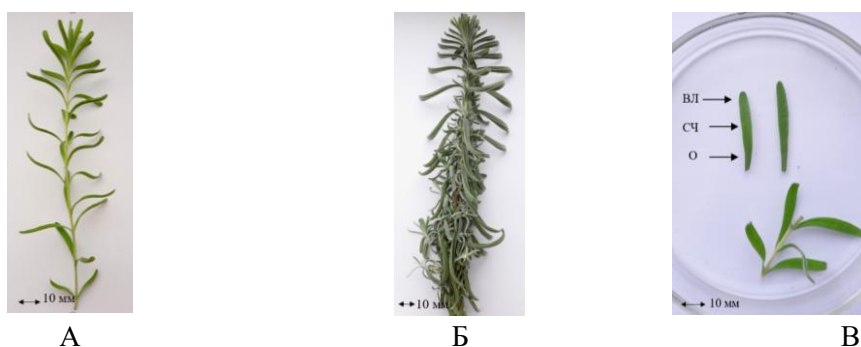


Рисунок 1 – Исходный растительный материал, используемый для введения эксплантов лаванды в культуру *in vitro*

Примечание. А – молодые неодревесневшие побеги первого года вегетации; Б – частично одревесневшие побеги второго года вегетации с укороченными междоузлиями; В – сегменты листовой пластинки, используемые для введения в культуру (О – основание листа; СЧ – средняя часть листа; ВЛ – верхушка листа).

При введении в изолированную культуру экспланты стерилизовали вначале в 70 % этаноле (40 сек), затем 12 мин в 50,0 % растворе препарата «Брадофен» 10Н (ФЛОРИН АО, Венгрия). После этого растительный материал трижды промывали

автоклавированной дистиллированной водой. Асептические работы проводили в ламинарном боксе БАВнп-01-«Ламинар-С»-1,2 (Россия).

Сегменты листьев (5–7 мм) культивировали на различных модификациях питательной среды Мурасиге и Скуга (МС) с добавлением α -нафтилуксусной кислоты (НУК), 6-бензиламинопурина (БАП), кинетина (Кин), тидиазурона (ТДЗ) (Sigma-Aldrich, США). Культивирование проводили в пробирках с 10 мл агаризованной питательной среды при 26 ± 2 °С, относительной влажности воздуха 70 %, освещенности 2000–3000 лк при 16-часовом фотопериоде.

В процессе культивирования проводили визуальный анализ развития эксплантов и каллусов. После четырех–шести недель культивирования определяли частоту каллусообразования – подсчитывали количество эксплантов с каллусом (в % от общего их числа). Частоту формирования морфогенного каллуса рассчитывали как количество эксплантов с каллусами с визуально видимыми почками или листьями в % от общего числа анализируемых эксплантов или в % от количества формирующихся каллусов. В некоторых опытах определяли интенсивность формирования первичного каллуса по трехбалльной системе, при этом за 1 балл принимали каллус массой 30–300 мг, 2 балла – 300–600 мг, 3 балла – 600–900 мг.

Статистическую обработку данных осуществляли согласно общепринятым методам математической статистики при помощи стандартного пакета документов Microsoft Office Excel (2010) [26]. Достоверность отличий оценивали по критерию Стьюдента при $p \leq 0,05$. В таблицах представлены средние значения и их стандартные ошибки, а на графике – средние значения и доверительные интервалы.

Результаты и их обсуждение

Важной проблемой при создании многих клеточных технологий является повышение частоты индукции морфогенеза, что может быть достигнуто благодаря вариации разных факторов культивирования и происхождения экспланта. Для уточнения роли возраста исходного донорного растения листовые экспланты выделяли из молодых побегов первого года вегетации двух- и 12-летних растений закрытого грунта (см. рисунок 1А, Б). Для культивирования использовали питательные среды МС разного гормонального состава, рекомендованные ранее как для индукции каллусогенеза (МС160), так и морфогенеза (МС427, МС428, МС554) у лаванды [9, 27]. Почти во всех вариантах опыта (за исключением среды МС428) наблюдали каллусогенез с частотой от 26,9 до 92,5 % (таблица 1). При этом интенсивность прироста первичного каллуса через четыре–шесть недель культивирования на среде МС160 была максимальной – до 2,3 балла (рисунок 2Б), тогда как на средах для морфогенеза формировался небольшой каллус (прирост составил всего 1,1–1,3 балла), а в некоторых случаях наблюдали лишь начальные этапы индукции каллусной ткани (рисунок 2А). Следует отметить, что по частоте и интенсивности формирования первичного каллуса достоверных различий между растениями разного возраста не отмечено.

Наибольший интерес в нашем исследовании представляет индукция процесса морфогенеза в каллусной ткани. Индукции прямого морфогенеза (непосредственно из тканей экспланта) в данном эксперименте не выявлено. Как видно из полученных данных, при культивировании сегментов листа в первичном каллусе только на средах МС427 и МС554 отмечен непрямой морфогенез и формирование морфогенного каллуса с частотой 21,3–42,2 % от числа эксплантов (таблица 1). Следует отметить, что большая часть первичных каллусов была морфогенной (до 81,9 %). В первичном морфогенном каллусе при визуальном анализе через месяц культивирования наблюдали формирование почек и зачатков листьев (рисунок 2В). При дальнейшем субкультивировании такого каллуса в нем развивались микропобеги.

Таблица 1 – Влияние возраста донорного растения лаванды сорта Степная на индукцию каллусо- и морфогенеза при введении в культуру *in vitro* эксплантов листа

Возраст донорного растения	№ питательной среды	Гормональные добавки в среде МС, мг/л	Частота каллусогенеза, %	Интенсивность формирования каллуса, балл	Частота эксплантов с морфогенным каллусом	
					% от числа эксплантов	% от эксплантов с каллусом
Два года	МС160	НУК-1,0 БАП-0,5	92,5 ± 8,4	2,2	0,0	0,0
	МС428	Кин-1,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	МС427	БАП-1,0	39,5 ± 3,8	1,3	28,7 ± 2,6	71,5 ± 6,7
	МС554	ТДЗ-1,0	56,7 ± 5,1	1,2	38,2 ± 3,1	69,5 ± 7,0
12 лет	МС160	НУК-1,0 БАП-0,5	91,5 ± 8,9	2,3	0,0	0,0
	МС428	Кин-1,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	МС427	БАП-1,0	26,9 ± 3,0	1,2	21,3 ± 2,5	81,9 ± 8,0
	МС554	ТДЗ-1,0	55,3 ± 4,9	1,1	42,2 ± 4,0	77,5 ± 7,9

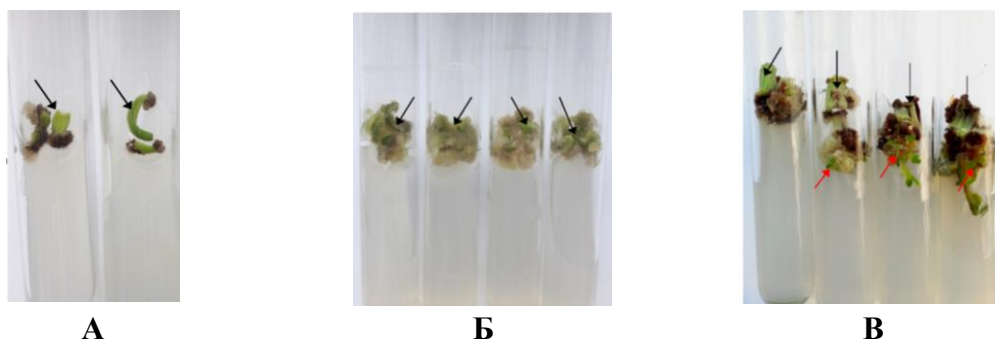


Рисунок 2 – Индукция каллусогенеза у лаванды сорта Степная при введении в культуру *in vitro* листовых эксплантов (четыре недели культивирования)

Примечания: А – неморфогенный каллус на среде МС427; Б – неморфогенный каллус на среде МС160; В – морфогенный каллус на среде МС554. Черными стрелками обозначен исходный листовой эксплант, красными – почки и листья в морфогенном каллусе.

Сравнительный анализ развития эксплантов листьев из растений разного возраста не показал различий частоты формирования морфогенного каллуса на всех испытанных вариантах питательной среды МС. На средах МС160 и МС428 у двух- и 12-летних растений из эксплантов морфогенный каллус не развивался, а на средах МС427 и МС554 его частота достоверно не отличалась. Полученные в нашем исследовании данные отличаются от представленных для ряда видов (чаще древесных растений) фактов, свидетельствующих о преимуществе использования более молодых растений для индукции каллусо- или морфогенеза *in vitro* [13, 14]. Данное расхождение, по-видимому, связано с особенностями развития растений лаванды, представляющих собой многолетний полукустарник, у которого ежегодно из почек у основания куста (особенно после обрезки для омоложения) формируются молодые однолетние побеги [18]. Возможно, и отличий между растениями двух- и 12-ти лет мы не выявили, так как для введения в асептическую культуру выделяли листья именно из таких, почти не различающихся по физиологическому статусу молодых

отрастающих побегов. Это свидетельствует о возможности использования для биотехнологических исследований растений лаванды разного возраста (при условии отбора одинаковых молодых однолетних побегов), что очень удобно в практическом плане при необходимости получения большого числа эксплантов.

Следует отметить также, что в исследованиях мы использовали для культивирования эксплантов лаванды питательные среды разного гормонального состава и на всех испытанных средах были получены одинаковые результаты, свидетельствующие об отсутствии различий у растений разного возраста. Вместе с тем для *Hippophae rhamnoides* получены данные о влиянии состава среды на морфогенетические потенции разновозрастных листовых эксплантов. В частности, на среде с ТДЗ частота регенерации был выше у ювенильных листьев, а на среде с введением ТДЗ и БАП, наоборот, выше у листьев большего возраста [28].

Важным фактором является не только тип или возраст экспланта, но и место его локализации на растении. В следующем эксперименте были использованы сегменты листьев, расположенные на разных ярусах побегов двух типов (см. рисунок 1, таблицу 2). При этом их культивировали на средах МС разного гормонального состава. Основное внимание в данном опыте было уделено анализу индукции морфогенного каллуса. При сравнении листьев из разных ярусов побега у молодых неодревесневших побегов первого года вегетации выявлено, что на частоту образования неморфогенного каллуса расположение листа почти не влияло. Однако анализ индукции морфогенного каллуса свидетельствует о повышении морфогенетического потенциала по мере увеличения яруса побега. Наименьшая частота образования морфогенного каллуса (9,7 %) отмечена у листьев, выделенных из нижних двух–пяти ярусов (от основания побега), тогда как максимальная частота индукции морфогенного каллуса выявлена при использовании листьев верхних 10–14 ярусов побега. Так, на наиболее эффективных средах МС594 и МС554 частота эксплантов с морфогенным каллусом из 10–14 ярусов (соответственно, 57,5 и 32,3 %) была достоверно выше, чем из шестого–девятого ярусов (соответственно 27,7 и 5,7 %). Следует отметить, что из листьев нижнего яруса морфогенный каллус формировался только на одной питательной среде МС594, тогда как из следующих 6–14-го ярусов на всех испытанных морфогенных средах (МС427, МС554, МС594) отмечено формирование с разной частотой первичных каллусов с почками или листьями.

При использовании частично одревесневших побегов второго года вегетации показана возможность получения из листовых эксплантов морфогенных каллусов, однако частота их образования не превышала 22,5 % и на большинстве испытанных сред была ниже по сравнению с молодыми побегами первого года вегетации (см. таблицу 2). Сравнительный анализ культивирования листьев из разных ярусов побега также показал тенденцию повышения частоты формирования морфогенного каллуса из листьев от нижних (10–20) ярусов побега к верхушке побега (35–40 ярус).

Полученные результаты свидетельствуют о большей эффективности использования для индукции морфогенного каллуса у лаванды молодых неодревесневших побегов первого года вегетации, а также листьев, выделенных из верхних или средних ярусов побега. Вместе с тем, при необходимости получения большего числа эксплантов, для индукции морфогенных каллусов можно культивировать листья и из частично одревесневших побегов второго года вегетации, однако использовать только верхние 35–40 ярусы побега. Выявленные у лаванды особенности, по-видимому, обусловлены большим морфогенетическим потенциалом у онтогенетически более молодых листьев из однолетних побегов и верхних ярусов, что может быть связано с разным уровнем эндогенных фитогормонов в их тканях.

Таблица 2 – Влияние типа побега и расположения листа на побеге на индукцию каллусо- и морфогенеза у лаванды сорта Степная при введении в культуру *in vitro*

Тип побега	Ярус побега	№ питательной среды	Гормональные добавки в среде МС, мг/л	Частота образования каллуса, % от числа эксплантов	
				неморфогенных	морфогенных
Молодые неодревесневшие побеги первого года вегетации	2–5	160	НУК1,0+ БАП 0,5	100,0 ± 0,0	0,0
		427	БАП 1,0	28,9 ± 2,2	0,0
		554	ТДЗ 1,0	37,5 ± 3,1	0,0
		594	ТДЗ 0,5+БАП 0,5	76,2 ± 6,9	9,7 ± 1,0
	6–9	160	НУК1,0 + БАП 0,5	100,0 ± 0,0	0,0
		427	БАП 1,0	38,5 ± 4,0	7,9 ± 0,7
		554	ТДЗ 1,0	28,9 ± 3,0	5,7 ± 0,5
		594	ТДЗ 0,5+БАП 0,5	32,5 ± 3,1	27,7 ± 3,0
	10–14	160	НУК1,0+ БАП 0,5	100,0 ± 0,0	0 ± 0,0
		427	БАП 1,0	44,7 ± 3,8	9,4 ± 1,0
		554	ТДЗ 1,0	27,1 ± 2,2	32,3 ± 2,6
		594	ТДЗ 0,5+БАП 0,5	32,5 ± 2,9	57,5 ± 5,7
Частично одревесневшие побеги второго года вегетации	10–20	160	НУК1,0+ БАП 0,5	97,3 ± 8,9	0 ± 0,0
		427	БАП 1,0	67,5 ± 6,0	0 ± 0,0
		554	ТДЗ 1,0	0,0	0,0
		594	ТДЗ 0,5+БАП 0,5	45,0 ± 3,8	8,9 ± 1,0
	20–30	160	НУК1,0+ БАП 0,5	100,0 ± 0,0	0,0
		427	БАП 1,0	50,0 ± 4,8	7,5 ± 0,8
		554	ТДЗ 1,0	12,3 ± 1,0	8,7 ± 0,4
		594	ТДЗ 0,5+БАП 0,5	59,2 ± 5,7	15,5 ± 1,1
	35–40	160	НУК1,0+ БАП 0,5	100,0 ± 0,0	0,0
		427	БАП 1,0	56,3 ± 6,0	9,3 ± 1,0
		554	ТДЗ 1,0	21,3 ± 2,0	22,5 ± 1,8
		594	ТДЗ 0,5+БАП 0,5	57,9 ± 5,5	17,9 ± 2,0

Достаточно важным методическим вопросом является анализ влияния места локализации сегмента листовой пластинки на процессы каллусо- и морфогенеза *in vitro*, так как от этого может зависеть не только повторяемость опытов, но и эффективность полученных результатов. В данном эксперименте в качестве эксплантов использовали сегменты одинакового размера, выделенные из разных частей листовой пластинки лаванды – базальной части у основания листа, средней части и верхушки листа (см. рисунок 1В). Эти экспланты культивировали на питательной среде МС с разными регуляторами роста. Данные о частоте формирующегося первичного каллуса неморфогенного и морфогенного типов представлены на рисунке 3. Установлено, что индукция неморфогенного каллуса почти не зависела от локализации экспланта, особенно на каллусогенной среде МС160. А при культивировании на других средах хотя и были незначительные различия, однако каллус этого типа чаще был небольшим (до 30–50 мг) и недостаточно пригодным для дальнейшего пассирования.

Что касается индукции морфогенного каллуса, то в этом случае четко видны различия при культивировании разных участков листовой пластинки. Из сегментов верхней части листа морфогенный каллус сформировался только на одной из испытанных сред МС554 с очень низкой частотой – 4,3 %. В то же время при помещении на питательные среды МС427, МС554, МС594 сегментов из основания или средней части листа у 9,5–26,1 % эксплантов (в зависимости от питательной среды) развивался морфогенный каллус. При этом на среде МС594 частота морфогенеза была достоверно выше у эксплантов из основания листовой пластинки

по сравнению со средней частью, а на остальных средах наблюдали тенденцию повышения этого параметра. Выявленные различия морфогенетического потенциала различных участков листа могут быть обусловлены как разной морфологией, анатомией или митотической активностью составляющих их тканей, так и разным градиентом эндогенных фитогормонов, однако эти предположения требуют более детального дальнейшего исследования.

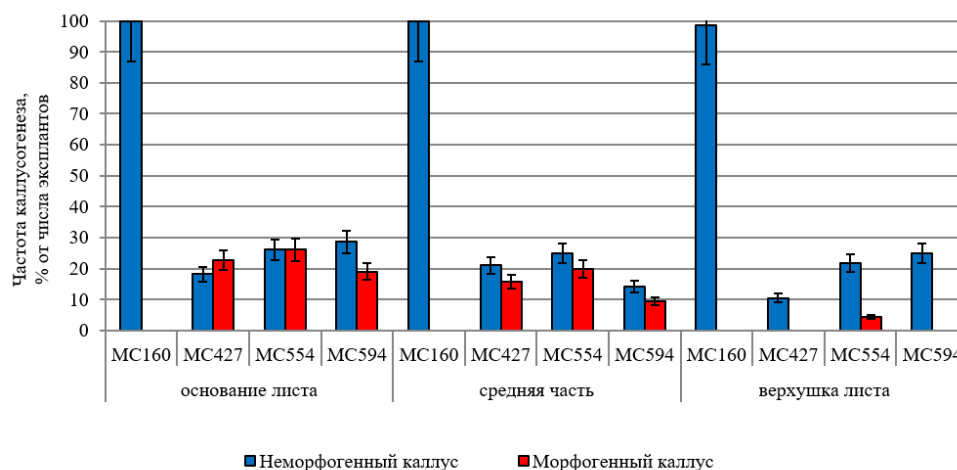


Рисунок 3 – Влияние расположения экспланта на листовой пластинке на индукцию неморфогенного и морфогенного каллуса у лаванды сорта Степная при введении в культуру *in vitro*

Примечание. Состав питательных сред – см. таблицы 1,2.

Литературные данные о влиянии расположения эксплантов на растении на процессы морфогенеза *in vitro* достаточно разнообразны. Так, при исследовании микроразмножения бегонии, так же, как и в нашей работе, было установлено, что морфогенетический потенциал базальной части листовой пластинки выше, чем у средней части или верхушки листа [29]. При исследовании прямого морфогенеза из листьев зизифуса *in vitro* отмечена повышенная частота регенерации у эксплантов из средней части стебля, а также показано, что частота побегообразования из базальной части листа составила 69,37 %, а из апикальной части – всего 9,63 % [10]. В работе Chai et al. у *Zoysia matrella* выявлено, что частота каллусообразования от первого до шестого узла побега варьировала от 22,5 до 92,1 %, а частота индукции соматического эмбриогенеза – от 13,3 до 25,7% [30]. Вместе с тем у *Saccharum officinarum* наибольшее число регенерировавших растений было получено из первых двух базальных сегментов стебля [31]. При изучении регенерации из разных фрагментов побегов картофеля *in vitro* показано, что экспланты из средней части побега растения раньше восстанавливали утраченный побег, а из апикальной части – активнее формировали корни [12]. Представленные публикации и ряд других работ в значительной степени соответствуют выявленным нами закономерностям морфогенеза *in vitro* у лаванды, хотя имеются и отличия, по-видимому, обусловленные видовыми особенностями или методическими подходами. Тем не менее, полученные экспериментальные данные свидетельствуют о сложной зависимости между физиологическим состоянием экспланта (определяемым возрастом и локализацией на растении) и его регенерационным потенциалом. Эти взаимодействия, конечно, требуют более углубленных теоретических исследований,

однако уже установленные факты позволяют оптимизировать методические приемы повышения морфогенетической способности у лаванды. В частности, это касается выбора возраста донорного растения, типа и яруса побега, а также сегмента листовой пластинки. Сочетание этих факторов с ранее разработанными нами методиками индукции каллусо- и морфогенеза способствуют усовершенствованию биотехнологий, основанных на регенерации растений из каллусных культур *L. angustifolia*.

Выводы

В ходе исследований установлена специфика влияния происхождения экспланта на индукцию процессов каллусо- и морфогенеза *in vitro* у *L. angustifolia*. При культивировании на питательных средах разного гормонального состава сегментов листьев, выделенных из растений разного возраста, разных ярусов побегов двух типов, а также из различных участков листовой пластинки, формировался неморфогенный или морфогенный (с почками и зачатками листьев) каллус. Анализ развития эксплантов листьев из 2-х и 12-ти летних растений (при использовании одинаковых молодых однолетних побегов) не показал различий частоты формирования первичного неморфогенного или морфогенного каллуса. При сравнении листьев из разных ярусов у молодых побегов первого года вегетации выявлено повышение морфогенетического потенциала в культуре *in vitro* по мере увеличения яруса побега. Наименьшая частота образования морфогенного каллуса (9,7 %) отмечена у листьев, выделенных из нижних двух–пяти ярусов (от основания побега). У сегментов листьев, выделенных из 6–9-го и 10–14-го ярусов, количество эксплантов с морфогенным каллусом достигало 27,7 и 57,5 % соответственно. При использовании частично одревесневших побегов второго года вегетации показана возможность получения из листовых эксплантов морфогенных каллусов, однако частота их образования не превысила 22,5 % и на большинстве испытанных сред была ниже по сравнению с молодыми побегами первого года вегетации. У более зрелых побегов также показана тенденция повышения частоты индукции непрямого морфогенеза в каллусных культурах из листьев от нижних ярусов к верхушке побега. При культивировании разных участков листовой пластинки максимальная частота индукции морфогенного каллуса отмечена у эксплантов из основания и средней части листовой пластинки (9,5–26,1 %, в зависимости от состава питательной среды), а из сегментов верхушки листа морфогенный каллус развивался крайне редко. Таким образом, для повышения частоты индукции непрямого морфогенеза в первичном каллусе лаванды необходимо использовать экспланты из верхних ярусов молодых побегов (первого года вегетации) и выделять сегменты из основания или средней части листовой пластинки. Вместе с тем, при необходимости получения большего числа эксплантов, можно использовать растения лаванды разного возраста, а также более зрелые одревесневшие побеги, хотя в этом случае необходимо учитывать снижение частоты морфогенеза. Полученные данные позволяют оптимизировать методику регенерации в каллусной культуре *L. angustifolia*.

Исследование поддержано грантом Российского научного фонда № 23-24-00023.

Литература

1. Feher A. Callus, dedifferentiation, totipotency, somatic embryogenesis: what these terms mean in the era of molecular plant biology? // *Front. Plant Sci.* 2019. Vol. 10. P. 536. DOI: 10.3389/fpls.2019.00536.
2. Efferth T. Biotechnology applications of plant callus cultures // *Engineering*. 2019. Vol. 5 (1). P. 50–59. DOI: 10.1016/j.eng.2018.11.006.
3. Калашникова Е. А. Клеточная инженерия растений. М.: Юрайт, 2020. 333 с.
4. Kruglova N. N., Titova G. E., Seldimirova O. A. Callusogenesis as an *in vitro* morphogenesis pathway in cereals // *Russ. J. Dev. Biol.* 2018. Vol. 49(5). P. 245–259. DOI: 10.1134/S106236041805003X.

5. Ikeuchi M., Favero D.S., Sakamoto Y., Iwase A., Coleman D., Rymen B., Sugimoto K. Molecular mechanisms of plant regeneration // *Ann. Rev. Plant Biol.* 2019. Vol. 70. P. 377–406. DOI: 10.1146/annurev-arplant-050718-100434.
6. Shin J., Bae S., Seo P. J. De novo shoot organogenesis during plant regeneration // *J. Exp. Bot.* 2020. Vol. 71(1). P. 63–72. DOI: 10.1093/jxb/erz395.
7. Митрофанова И. В. Соматический эмбриогенез и органогенез как основа биотехнологии получения и сохранения многолетних садовых культур. К: Аграрна наука, 2011. 344 с.
8. Twaij B. M., Jazar Z. H., Hasan M. N. Trends in the use of tissue culture, applications and future aspects // *Int. J. Plant Biol.* 2020. Vol. 11 (1). Art. No. 8385. DOI: 10.4081/pb.2020.8385.
9. Егорова Н. А. Биотехнология эфиромасличных растений: создание новых форм и микроразмножение *in vitro*. Симферополь: ИД «Автограф», 2021. 315 с. DOI: 10.33952/2542-0720-2021-978-5-6045452-9-4.
10. Jian-Can Feng, Yu X. M., Shang X. L., Li J. D., Wu Y. X. Factors influencing efficiency of shoot regeneration in *Ziziphus jujuba* Mill. ‘Huizao’ // *Plant Cell Tiss Organ Cult.* 2010. Vol. 101. P. 111–117. DOI: 10.1007/s11240-009-9663-2.
11. Bidabadi S. S., Jain S. M. Cellular, molecular, and physiological aspects of *in vitro* plant regeneration // *Plants.* 2020. Vol. 9 (6). Art. No. 702. DOI: 10.3390/plants9060702.
12. Кадырбаев М. К., Головацкая И. Ф., Сатканов М. Ж. Особенности морфогенеза и метаболизма регенерантов *in vitro*, полученных из разных фрагментов побега картофеля // Вестник Томского государственного университета. Серия «Биология». 2021. № 55. С. 114–134. DOI: 10.17223/19988591/55/7.
13. Кунах В. А. Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи. К.: Логос, 2005. 730 с.
14. Basto S., Serrano C., Hodson de Jaramillo E. Effects of donor plant age and explants on *in vitro* culture of *Cedrela montana* Moritz ex Turcz // *Univ. Sci.* 2012. Vol. 17 (3). P. 263–271. DOI: 10.11144/javeriana.SC17-3.eodp.
15. Тевфик А. Ш., Егорова Н. А. Особенности индукции каллусо- и морфогенеза фенхеля обыкновенного в зависимости от возраста проростков // Бюллетень ГНБС. 2019. Т. 133. С. 101–108. DOI: 10.36305/0513-1634-2019-133-101-108.
16. Zhang T.-Q., Lian H., Tang H., Dolezal K., Zhou C.-M., Yu S., Chen J.-H., Chen Q., Liu H., Ljung K., Wanga J.-W. An intrinsic microRNA timer regulates progressive decline in shoot regenerative capacity in plants // *The Plant Cell.* 2015. Vol. 27. P. 349–360. DOI: 10.1105/tpc.114.135186.
17. Papafotiou M., Martini A. N. Effect of position and orientation of leaflet explants with respect to plant growth regulators on micropropagation of *Zamioculcas zamiifolia* Engl. (ZZ) // *Sc. Hort.* 2009. Vol. 120 (1). P. 115–120. DOI: 10.1016/j.scienta.2008.09.023.
18. Паштецкий В. С., Невкрытая Н. В., Мишнев А. В., Назаренко Л. Г. Эфиромасличная отрасль Крыма. Вчера, сегодня, завтра. Симферополь: ИТ «Ариал», 2018. 320 с.
19. Митрофанова И. В., Митрофанова О. В., Иванова Н. Н., Егорова Н. А., Кузьмина Т. Н., Лесникова-Седошенко Н. П., Тевфик А. Ш., Челомбит С. В. Этапы регенерации *in vitro* декоративных, ароматических и плодовых культур // В книге: Основы создания генобанка *in vitro* видов, сортов и форм декоративных, ароматических и плодовых культур. Симферополь: ООО «ИТ Ариал», 2018. С. 27–126. DOI: 10.32514/978-5-907118-87-4.
20. Mokhtarzadeh S., Demirci B., Ağalar H. G., Khawar K. M., Kirimer N. *In vitro* propagation and volatile compound characterization of *Lavandula stoechas* L. subsp. *stoechas* an economically important source of essential oil // *Rec. Nat. Prod.* 2019. Vol. 13 (2). P. 121–128. DOI: 10.25135/rnp.86.18.04.105.
21. Yegorova N. A., Mitrofanova I. V., Brailko V. A., Grebennikova O. A., Paliy A. E., Stavtseva I. V. Morphogenetic, physiological, and biochemical features of *Lavandula angustifolia* at long-term micropropagation *in vitro* // *Russian Journal of Plant Physiology.* 2019. Vol. 66 (2). P. 326–334. DOI: 10.1134/S1021443719010060.
22. Koefender J., Manfio C. E., Camera J. N., Schoffel A., Golle D. P. Micropropagation of lavender: a protocol for production of plantlets // *Hortic. Bras.* 2021. Vol. 39 (4). P. 404–410. DOI: 10.1590/s0102-0536-20210409.
23. Sabzevar T. S., Ghavidel R. A., Foroghian S. The effect of phytohormones on lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) organogenesis // *J. of Pharmacy and Pharmacology.* 2015. Vol. 3. P. 338–344. DOI: 10.17265/2328-2150/2015.07.004.
24. Leelavathi D., Raajasubramanian D., Ramu L., Haseena R., Midhila P., Govinda R. M. V., Lavanya G., Chetan H. C., Narendra K. *Lavandula angustifolia* L. plants regeneration from *in vitro* leaf explants-derived callus as conservation strategy // *Biotechnologia Vegetal.* 2020. Vol. 20 (2). P. 75–82.
25. Калинин Ф. Л., Сарнацкая В. В., Полищук В. Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. К.: Наукова думка. 1980. 488 с.

26. Лакин Г. Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 352 с.
27. Yegorova N., Kruglova N., Galin I., Stavtzeva I. Induction of morphogenesis in the callus culture of *Lavandula angustifolia* Mill. // BIO Web Conf. 2020. Vol. 24. Art. No. 00098. DOI: 10.1051/bioconf/20202400098.
28. Sriskandarajah S., Lundquist P.-O. High frequency shoot organogenesis and somatic embryogenesis in juvenile and adult tissues of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) // Plant Cell Tiss Organ Cult. 2009. Vol. 99. P. 259–268. DOI: 10.1007/s11240-009-9597-8.
29. Носырева М. В., Вечернина Н. А., Таварткиладзе О. К. Регенерация и размножение растений бегонии *in vitro* // Известия Алтайского государственного университета. 2004. № 3 (33). С. 94–97.
30. Chai M., Jia Y., Chen S., Gao Z., Wang H., Liu L., Wang P., Hou D. Callus induction, plant regeneration, and long-term maintenance of embryogenic cultures in *Zoysia matrella* [L.] Merr // Plant Cell Tiss Organ Cult. 2011. Vol. 104. P. 187–192. DOI: 10.1007/s11240-010-9817-2.
31. Tiel K., Enriquez G.A., Ceballo Y. Soto N., Fuentes A.D., Ferreira A., Coll Y., Pujol M. Development of a system for rapid plant regeneration from *in vitro* sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) meristematic tissue // Biotecnologia Aplicada. 2006. Vol. 23 (1). P. 22–24.

References

1. Feher A. Callus, dedifferentiation, totipotency, somatic embryogenesis: what these terms mean in the era of molecular plant biology? // Front. Plant Sci. 2019. Vol. 10. P. 536. DOI: 10.3389/fpls.2019.00536.
2. Efferth T. Biotechnology applications of plant callus cultures // Engineering. 2019. Vol. 5 (1). P. 50–59. DOI: 10.1016/j.eng.2018.11.006.
3. Kalashnikova E. A. Cell engineering of plants. Moscow: “Yurayt”, 2020. 333 p.
4. Kruglova N. N., Titova G. E., Seldimirova O. A. Callusogenesis as an *in vitro* morphogenesis pathway in cereals // Russ. J. Dev. Biol. 2018. Vol. 49(5). P. 245–259. DOI: 10.1134/S106236041805003X.
5. Ikeuchi M., Favero D. S., Sakamoto Y., Iwase A., Coleman D., Rymen B., Sugimoto K. Molecular mechanisms of plant regeneration // Ann. Rev. Plant Biol. 2019. Vol. 70. P. 377–406. DOI: 10.1146/annurev-arplant-050718-100434.
6. Shin J., Bae S., Seo P.J. De novo shoot organogenesis during plant regeneration // J. Exp. Bot. 2020. Vol. 71(1). P. 63–72. DOI: 10.1093/jxb/erz395.
7. Mitrofanova I. V. Somatic embryogenesis and organogenesis as the basis of biotechnology for obtaining and conservation of perennial garden crops. Kyiv: Agrarna nauka, 2011. 344 p.
8. Twajj B. M., Jazar Z. H., Hasan M. N. Trends in the use of tissue culture, applications and future aspects // Int. J. Plant Biol. 2020. Vol.11 (1). Art. No. 8385. DOI: 10.4081/pb.2020.8385.
9. Yegorova N. A. Biotechnology of essential oil plants: creation of new forms and micropropagation *in vitro*. Simferopol: “Avtograf”, 2021. 315 p. DOI: 10.33952/2542-0720-2021-978-5-6045452-9-4.
10. Jian-Can Feng, Yu X. M., Shang X.L., Li J. D., Wu Y. X. Factors influencing efficiency of shoot regeneration in *Ziziphus jujuba* Mill. ‘Huizao’ // Plant Cell Tiss Organ Cult. 2010. Vol. 101. P. 111–117. DOI: 10.1007/s11240-009-9663-2.
11. Bidabadi S. S., Jain S. M. Cellular, molecular, and physiological aspects of *in vitro* plant regeneration // Plants. 2020. Vol. 9 (6). Art. No. 702. DOI: 10.3390/plants9060702.
12. Kadyrbaev M. K., Golovatskaya I. F., Satkanov M. Zh. Features of regenerants morphogenesis and metabolism *in vitro*, obtained from different fragments of potato shoots // Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology. 2021. Vol. 55. P 114–134. DOI: 10.17223/19988591/55/7.
13. Kunakh V. A. Biotechnology of medicinal plants. Genetic and physiological and biochemical bases. Kyiv: Logos, 2005. 730 p.
14. Basto S., Serrano C., Hodson de Jaramillo E. Effects of donor plant age and explants on *in vitro* culture of *Cedrela montana* Moritz ex Turcz // Univ. Sci. 2012. Vol. 17 (3). P. 263–271. DOI: 10.11144/javeriana.SC17-3.eodp.
15. Tevfik A. Sh., Yegorova N. A. Peculiarities of induction of callusogenesis and morphogenesis in fennel depending on the age of seedlings // Bull. of the State Nikita Botan. Gard. 2019. Vol. 133. P. 101–108. DOI: 10.36305/0513-1634-2019-133-101-108.
16. Zhang T.-Q., Lian H., Tang H., Dolezal K., Zhou C.-M., Yu S., Chen J.-H., Chen Q., Liu H., Ljung K., Wanga J.-W. An intrinsic microRNA timer regulates progressive decline in shoot regenerative capacity in plants // The Plant Cell. 2015. Vol. 27. P. 349–360. DOI: 10.1105/tpc.114.135186.
17. Papafotiou M., Martini A. N. Effect of position and orientation of leaflet explants with respect to plant growth regulators on micropropagation of *Zamioculcas zamiifolia* Engl. (ZZ) // Sc. Hort. 2009. Vol. 120 (1). P. 115–120. DOI:10.1016/j.scienta.2008.09.023.

18. Pashtetskii V. S., Nevkrytaya N. V., Mishnev A. V., Nazarenko L. G. Essential oil industry in the Crimea. Yesterday, today, tomorrow. Simferopol: Arial, 2018. 320 p.
19. Mitrofanova I. V., Mitrofanova O. V., Ivanova N. N., Yegorova N. A., Kuzmina T. N., Lesnikova-Sedoshenko N. P., Tefvik A. Sh., Chelombit S. V. Stages of *in vitro* regeneration of decorative, aromatic and fruit crops // In book: Fundamentals of the creation of an *in vitro* genebank of species, varieties and forms of decorative, aromatic and fruit crops. Simferopol: Arial, 2018. P. 27–126. DOI: 10.32514/978-5-907118-87-4.
20. Mokhtarzadeh S., Demirci B., Ağalar H.G., Khawar K.M., Kirimer N. *In vitro* propagation and volatile compound characterization of *Lavandula stoechas* L. subsp. *stoechas* – an economically important source of essential oil // Rec. Nat. Prod. 2019. Vol. 13 (2). P. 121–128. DOI: 10.25135/rnp.86.18.04.105.
21. Yegorova N. A., Mitrofanova I. V., Brailko V. A., Grebennikova O. A., Paliy A. E., Stavtseva I. V. Morphogenetic, physiological, and biochemical features of *Lavandula angustifolia* at long-term micropropagation *in vitro* // Russian Journal of Plant Physiology. 2019. Vol. 66 (2). P. 326–334. DOI: 10.1134/S1021443719010060.
22. Koefender J., Manfio C. E., Camera J. N., Schoffel A., Golle D. P. Micropropagation of lavender: a protocol for production of plantlets // Hortic. Bras. 2021. Vol.39 (4). P. 404–410. DOI:10.1590/s0102-0536-20210409.
23. Sabzevar T. S., Ghavidel R. A., Foroghian S. The effect of phytohormones on lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) organogenesis // J. of Pharmacy and Pharmacology. 2015. Vol. 3. P. 338–344. DOI:10.17265/2328-2150/2015.07.004.
24. Leelavathi D., Raajasubramanian D., Ramu L., Haseena R., Midhila P., Govinda R.M.V., Lavanya G., Chetan H.C., Narendra K. *Lavandula angustifolia* L. plants regeneration from *in vitro* leaf explants-derived callus as conservation strategy // Biotecnología Vegetal. 2020. Vol. 20 (2). P. 75–82.
25. Kalinin F. L., Sarnatskaya V.V., Polishchuk V.E. Methods of tissue culture in plant physiology and biochemistry. Kiev: Naukova dumka, 1980. 488 p.
26. Lakin G. F. Biometrics. Moscow: Vysshaya shkola, 1990. 352 p.
27. Yegorova N., Kruglova N., Galin I., Stavtzeva I. Induction of morphogenesis in the callus culture of *Lavandula angustifolia* Mill. // BIO Web Conf. 2020. Vol. 24. Art. No. 00098. DOI: 10.1051/bioconf/20202400098.
28. Sriskandarajah S., Lundquist P.-O. High frequency shoot organogenesis and somatic embryogenesis in juvenile and adult tissues of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) // Plant Cell Tiss Organ Cult. 2009. Vol. 99. P. 259–268. DOI: 10.1007/s11240-009-9597-8.
29. Nosyreva M. V., Vechernina N. A., Tavartkiladze O. K. *In vitro* regeneration and propagation of begonia plants // Izvestiya of Altai State University. 2004. Vol. 3(33). P. 94–97.
30. Chai M., Jia Y., Chen S., Gao Z., Wang H., Liu L., Wang P., Hou D. Callus induction, plant regeneration, and long-term maintenance of embryogenic cultures in *Zoysia matrella* [L.] Merr // Plant Cell Tiss Organ Cult. 2011. Vol. 104. P. 187–192. DOI: 10.1007/s11240-010-9817-2.
31. Tiel K., Enriquez G.A., Ceballos Y., Soto N., Fuentes A.D., Ferreira A., Coll Y., Pujol M. Development of a system for rapid plant regeneration from *in vitro* sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) meristematic tissue // Biotecnología Aplicada. 2006. Vol. 23 (1). P. 22–24.

UDC 633.81:57.085.2

Yegorova N. A., Stavtzeva I. V., Tefvik A. Sh.

CALLUSO- AND MORPHOGENESIS OF LAVANDULA ANGUSTIFOLIA IN VITRO: INFLUENCE OF EXPLANT ORIGIN

Summary. *The most important stage in the development of many cell technologies is the optimization of the process of morphogenesis induction from callus cultures. The purpose of this work was to study the influence of the explant origin on the callus and morphogenesis induction in narrow-leaved lavender in vitro. Experiments were carried out in 2023 at the Laboratory of Biotechnology – structural unit of the Research Institute of Agriculture of Crimea. Lavender (Lavandula angustifolia Mill.) cv. Stepnaya was used in the studies. Explants (leaf segments) of different origin: from plants of different ages, from different tiers of shoots (two types of shoots were used), and from different parts of the leaf blade were introduced into aseptic culture. Leaf explants were cultivated on nutrient media of different hormonal composition, on which callus of either non-morphogenic or morphogenic (with buds and leaf rudiments) type was formed. It was established that leaves*

from two- and 12-year-old plants (when using shoots of the first year of vegetation) did not differ in the frequency of induction of primary non-morphogenic or morphogenic callus. When cultivating leaf segments of different tiers isolated from young shoots of the first year of vegetation, an increase of the morphogenesis frequency in vitro with an increase in the shoot tier was revealed. The minimum frequency of morphogenic callus formation (9.7 %) was noted in leaves from the lower 2–5 tiers (from the base of the shoot). In leaves of 6–9 and 10–14 tiers, the number of explants with morphogenic callus increased up to 2.8 and 5.9 times, respectively. When using partially lignified shoots of the second year of vegetation, the frequency of morphogenic calluses was lower (up to 1.3–3.2 times) compared with young shoots of the first year of vegetation. When cultivating different segments of the leaf blade, the maximum frequency of morphogenic callus was noted in explants from the base and middle part of the leaf blade (9.5–26.1 %, depending on the medium). In the callus from leaf tip explants, morphogenesis was observed very rarely. The obtained data make it possible to optimize the method of regeneration in the *L. angustifolia* callus culture.

Keywords: *Lavandula angustifolia* Mill., callusogenesis, morphogenesis, in vitro, explant.

Егорова Наталья Алексеевна, доктор биологических наук, заведующая лабораторией биотехнологии ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма», 295493, Россия, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Киевская, 150; e-mail: yegorova.na@mail.ru.

Ставцева Ирина Викторовна, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник, ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма», 295493, Россия, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Киевская, 150; e-mail: ira563583@mail.ru

Тевфик Арзы Шевкиевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биотехнологии, ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»; 295493, Россия, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Киевская, 150; e-mail: tevfik.arzy@yandex.ru.

Yegorova Natalia Alekseevna, Dr. Sc. (Biol.), head of the Laboratory of biotechnology, FSBSI “Research Institute of Agriculture of Crimea”; 150 Kievskaya str., Simferopol, 295493, Russia; e-mail: yegorova.na@mail.ru.

Stavtzeva Irina Viktorovna, Cand. Sc. (Biol.), senior researcher, FSBSI “Research Institute of Agriculture of Crimea”; 150 Kievskaya str., Simferopol, 295493, Russia; e-mail: ira563583@mail.ru.

Tevfik Arzy Shevkievna, Cand. Sc. (Biol.), senior researcher of the Laboratory of biotechnology, FSBSI “Research Institute of Agriculture of Crimea”; 150, Kievskaya str., Simferopol, Republic of Crimea, 295493, Russia; e-mail: tevfik.arzy@yandex.ru.

Дата поступления в редакцию – 04.05.2023.

Дата принятия к печати – 13.06.2023.