

Научная статья/Research Article

УДК 582.675.1:58.085

DOI: 10.36718/1819-4036-2023-4-66-73

Дарья Александровна Семенова^{1✉}, Ольга Ивановна Молканова²,
Лилия Рафисовна Ахметова³, Ирина Вячеславовна Митрофанова⁴

^{1,2,3,4}Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН, Москва, Россия

¹dariaegor11@gmail.com

²molkanova@mail.ru

³lilyashka94@mail.ru

⁴irimitrofanova@yandex.ru

ВЛИЯНИЕ СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ НА РЕГЕНЕРАЦИЮ *IN VITRO* НЕКОТОРЫХ СОРТОВ *CLEMATIS L.*

Цель работы – оптимизация приемов культивирования на этапе собственно микроразмножения сортов *Clematis L.* Исследования проводили в 2021–2022 гг. в лаборатории биотехнологии растений Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина Российской академии наук (ГБС РАН). В качестве объектов были выбраны сорта различных садовых групп клематисов: *Princess Diana*, *Madame Julia Correvon*, *Юбилейный 70*, *Multi Blue*. В процессе изучения показано влияние генетических особенностей и состава питательной среды на регенерационный потенциал *Clematis L.* Установлено, что на питательной среде DKW (*Driver and Kuniyuki*, 1984) с добавлением 0,1 мг/л ВА (6-бензиламинопуридин) для регенерантов *Clematis L.* были характерны активный рост микропобегов и наибольшая высота. У сорта *Princess Diana* она составила $5,0 \pm 0,2$ см, у сорта *Madame Julia Correvon* – $6,3 \pm 0,1$ см, *Юбилейный 70* – $2,1 \pm 0,1$ см, *Multi Blue* – $2,8 \pm 0,1$ см. Максимальный коэффициент размножения был отмечен для сорта *Princess Diana* ($3,7 \pm 0,1$), минимальный – для сорта *Multi Blue* ($2,4 \pm 0,1$). При изучении влияния регуляторов роста и их концентраций при культивировании на среде DKW было показано, что 2-иР (2-изопентиладенин) в концентрации 1,5 и 2,0 мг/л оказался более эффективным, чем ВА при тех же концентрациях. При этом наибольшую высоту ($8,6 \pm 0,2$ см) и коэффициент размножения ($6,7 \pm 0,2$) наблюдали у сорта *Madame Julia Correvon* на питательной среде с добавлением 1,5 мг/л ВА. Коэффициент размножения сорта *Юбилейный 70* достигал своего максимума при 2,0 мг/л ВА ($4,2 \pm 0,1$), сорта *Multi Blue* – при 1,5 и 2,0 мг/л 2-иР ($4,0 \pm 0,1$ и $4,3 \pm 0,1$ соответственно).

Ключевые слова: *Clematis L.*, клональное микроразмножение, коэффициент размножения, питательные среды, регуляторы роста

Для цитирования: Влияние состава питательной среды на регенерацию *in vitro* некоторых сортов *Clematis L.* / Д.А. Семенова [и др.] // Вестник КрасГАУ. 2023. № 4. С. 66–73. DOI: 10.36718/1819-4036-2023-4-66-73.

Благодарности: работа выполнена в рамках Государственного задания ГБС РАН (№ 122042700002-6).

Daria Alexandrovna Semenova^{1✉}, Olga Ivanovna Molkanova², Lilia Rafisovna Akhmetova³,
Irina Vyacheslavovna Mitrofanova⁴

^{1,2,3,4}N.V. Tsitsin Main Botanical Garden, The Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

¹dariaegor11@gmail.com

²molkanova@mail.ru

³lilyashka94@mail.ru

⁴irimitrofanova@yandex.ru

INFLUENCE OF NUTRIENT MEDIUM COMPOSITION ON REGENERATION OF SOME *CLEMATIS* L. CULTIVARS *IN VITRO*

The aim of the work was to optimize cultivation techniques at the stage of actual micropropagation of *Clematis* L. varieties. N.V. The studies were carried out in 2021–2022 in the laboratory of plant biotechnology of N.V. Tsitsin Main Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences (GBS RAS). Varieties of various garden groups of clematis were chosen as objects: Princess Diana, Madame Julia Correvon, Yubilejnyj 70, Multi Blue. In the course of the study, the influence of genetic characteristics and the composition of the nutrient medium on the regeneration potential of *Clematis* L. was shown. It was established that on the nutrient medium DKW (Driver and Kuniyuki, 1984) with the addition of 0.1 mg/l BA (6-benzylaminopurine), *Clematis* L. regenerants were characterized by active growth of microshoots and the highest height. It was 5.0 ± 0.2 cm for Princess Diana, 6.3 ± 0.1 cm for Madame Julia Correvon, 2.1 ± 0.1 cm for Yubilejnyj 70, and 2.8 ± 0.1 cm for Multi Blue. The maximum multiplication factor was noted for the Princess Diana variety (3.7 ± 0.1), the minimum for the Multi Blue variety (2.4 ± 0.1). When studying the effect of growth regulators and their concentrations during cultivation on DKW medium, it was shown that 2-iP (2-isopentyladenine) at a concentration of 1.5 and 2.0 mg/l was more effective than BA at the same concentrations. At the same time, the highest height (8.6 ± 0.2 cm) and multiplication factor (6.7 ± 0.2) were observed in the Madame Julia Correvon variety on a nutrient medium with the addition of 1.5 mg/l BA. The multiplication factor of variety Yubilejnyj 70 reached its maximum at 2.0 mg/l BA (4.2 ± 0.1), variety Multi Blue – at 1.5 and 2.0 mg/l 2-iP (4.0 ± 0.1 and 4.3 ± 0.1 , respectively).

Keywords: *Clematis* L., clonal micropropagation, multiplication factor, nutrient media, growth regulators

For citation: Influence of nutrient medium composition on regeneration of some *Clematis* L. cultivars *in vitro* / D.A. Semenova [et al.] // Bulliten KrasSAU. 2023;(4): 66–73. (In Russ.). DOI: 10.36718/1819-4036-2023-4-66-73.

Acknowledgments: the work has been carried out within the framework of the State Assignment of the MBG RAS (№122042700002-6).

Введение. Род клематис (*Clematis* L.) относится к семейству *Ranunculaceae* и насчитывает около 355 видов [1]. Клематисы в основном представлены лианами, однако встречаются также кустарниковые, полукустарниковые и травянистые жизненные формы [2]. Представители данного рода произрастают на всех континентах, кроме Арктики и Антарктиды. За многообразие окрасок, размеров и форм цветков клематисы в декоративном садоводстве часто называют «королями вьющихся растений». Данная культура также ценится за быстроту роста, обильное одновременно цветущих на одном кусте цветов (до 500 шт. и более) и продолжительность цветения (до 3 месяцев и более). Рекомендуются как высокодекоративные растения для различных видов озеленения, в том числе вертикального [3, 4].

Кроме своих декоративных свойств, многие представители рода *Clematis* L. являются источниками различных биологически активных соединений. В лекарственном сырье данных растений содержатся дубильные вещества, витамины, фенольные соединения и их производные, алкалоиды, гликозиды, воски, сапонины, смолы [1, 3, 5].

В культуре известны с XVI в., но лишь в XIX в. начата их интродукция, гибридизация и селекция [3]. Все сортовые клематисы, учитывая преобладающие признаки родительских пар, делятся на группы: Jackmanii, Viticella, Lanuginosa, Patens, Florida, Integrifolia и др. [5] Семена используются для размножения *Clematis* L. редко, так как время прорастания может занять от 2–3 недель до 12 месяцев в зависимости от вида. Также семена являются генетически не однородными, и сеянцы часто не сохраняют свойств материнского растения. Большинство гибридных сортов крупноцветковых клематисов практически не завязывает семена [6, 7]. Клематисы можно размножить делением, отводками, прививкой или черенками [6]. Размножение отводками – самый простой метод размножения клематисов, но его недостатками являются создание специальных условий для укоренения и длительный период времени (как правило, один вегетационный сезон). Прививка *Clematis* L. была очень распространена до середины 1900-х годов (особенно крупноцветковых клематисов), но данный метод является трудоемким, требует определенных навыков и не является эффективным для размножения

некоторых видов (например, *Clematis socialis* Kral.). Успех черенкования *Clematis* L. зависит от вида, сорта, размера цветка, техники и используемого субстрата. Мелкоцветковые виды (например, *Clematis montana* Buch.-Ham. ex DC., *Clematis tangutica* (Maxim.) Korsh., *Clematis viticella* L.) и их сорта довольно легко размножаются стеблевыми черенками. Черенки крупноцветковых клематисов (например, *Clematis armandii* Franch., *Clematis florida* C.P.Thunberg ex A. Murray «Sieboldii») являются трудноукореняемыми. Кроме этого, черенки клематисов подвержены таким заболеваниям, как серая гниль и инфекционное увядание (вилт) клематиса, вызывающим их гибель [6, 8].

Традиционные методы размножения *Clematis* L. не позволяют получать достаточное количество посадочного материала, что является одной из причин разработки и широкого коммерческого использования методов размножения *in vitro*. Микроразмножение в комплексе с оздоровлением позволяет освободить исходный материал от вирусов, бактерий и грибов, передаваемых растениями, и получить здоровый растительный материал. Защита от болезней особенно важна при размножении ранних крупноцветковых сортов и сортов *Clematis lanuginosa* Lindl. & Paxton, которые являются более восприимчивыми к возбудителю *Phoma clematidina* [6].

Существуют исследования, касающиеся культивирования *Clematis* L. в условиях *in vitro*. В 1975 г. впервые были проведены эксперименты по проращиванию семян в условиях *in vitro* [5]. В публикациях Z. Mandegaran, V.K. Sieber впервые представлены успешные эксперименты по соматическому эмбриогенезу гибрида *Clematis integrifolia* L. × *C. viticella* L. [9]. Непрямой соматический эмбриогенез был описан у сорта клематисов Multi-Blue [10]. И.В. Митрофановой и др. [11] представлены многолетние и многосторонние исследования по разработке способа прямой регенерации растений, позволяющего на одной питательной среде непосредственно из вегетативной почки получать соматические зародыши и регенеранты у 13 сортов клематиса. В работах R.N. Hanumanaika, K. Venkatarangaiah была продемонстрирована успешная регенерация микропобегов из каллусной культуры *Clematis gouriana* Roxb. ex DC. [12].

Особенности клонального микроразмножения представителей *Clematis* L. были изучены

рядом авторов [13–15]. Вместе с тем современные исследования микроразмножения клематисов носят также прикладной характер и направлены на регенерацию в условиях *in vitro* отдельных сортов [5]. О.И. Коротковым был усовершенствован протокол клонального микроразмножения сортов клематисов, относящихся к восьми садовым группам, и сформирована коллекция декоративных сортов *Clematis* L. *in vitro* [13]. В работе отмечено, что представители некоторых групп клематисов требуют более тщательного подбора состава питательных сред из-за высокой видо- и сортоспецифичности.

Цель исследования – оптимизации приемов культивирования на этапе собственно микроразмножения некоторых сортов *Clematis* L.

Задачи: подбор оптимального минерального и гормонального состава питательной среды.

Объекты и методы. Исследование выполняли в лаборатории биотехнологии растений Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина в 2021–2022 гг. В качестве объектов исследования были выбраны сорта различных групп рода *Clematis* L.: Texensis (Princess Diana), Viticella (Madame Julia Correvon), Jackmanii (Юбилейный 70), Patens (Multi Blue). В опытах была использована общепринятая методика биотехнологических исследований с культурами изолированных тканей и органов растений [16].

Для введения в культуру *in vitro* образцы клематиса были отобраны из коллекции ГБС РАН. В качестве первичных эксплантов для инициации роста и развития использовали апикальные и латеральные почки. Оптимальной была последовательная стерилизация эксплантов, состоящая из обработки 0,13 %-м раствором препарата «Чистоцвет», КЭ (ЗАО Фирма «Август», Россия) с экспозицией 20 мин, 70 % этанолом – 15 с и 7 %-м гипохлоритом кальция – 5–7 мин.

На стадии микроразмножения изучали влияние состава питательных сред MS (Murashige and Skoog, 1962) [17], WPM (Lloyd and McCown, 1981) [18], DKW (Driver and Kuniyuki, 1984) [19] и QL (Quoirin and Lepoivre, 1977) [20] на регенерацию микропобегов *in vitro*. В качестве контроля использовали среду MS с добавлением 0,1 мг/л ВА. Для изучения влияния гормонального состава питательной среды на рост и развитие растений на стадии собственно микроразмножения использовали питательную среду DKW, дополненную цитокининами ВА и 2-иР в концентрации 0,5; 1,0; 1,5 и 2,0 мг/л. В качестве кон-

троля использовали среду DKW с добавлением 0,1 мг/л ВА. Через 30–40 сут культивирования измеряли высоту микропобегов и подсчитывали коэффициент размножения. В условиях лаборатории микропобеги клематисов выращивали при освещении (2000 лк) и фотопериоде 16 ч, температуре 21–23 °С и влажности 70 %. Статистическую обработку данных проводили согласно стандартным методам с использованием пакета программ PAST (PAleontological STatistics). Достоверность различий между вариантами рассчитывали по t-критерию Стьюдента при $P \leq 0,05$. В таблице и графиках представлены средние значения и их стандартные ошибки.

Результаты и их обсуждение. Питательная среда является одним из важнейших факторов при клональном микроразмножении растений. Оптимальный состав питательной среды для роста регенерантов во многом зависит от генотипа культуры [11]. Наиболее часто в культуре клеток и тканей *Clematis* L. использовали среду MS [13]. Однако в исследовании M. Duta [21] при

сравнении питательных сред MS, LF (Lee Fossard, 1972) и QL, дополненных гиббереллиновой кислотой (0,1 мг/л), ВА (1,0 мг/л) и 1-нафталинуксусной кислотой (0,2 мг/л), наибольший коэффициент размножения *Clematis* × *jackmanii* 10,5) был получен на среде QL через 5 субкультивирований, что может говорить о синергетическом эффекте факторов состава питательной среды, а также типа и концентрации регуляторов роста. В настоящее время расширяется использование среды DKW, которая изначально предназначалась для размножения микропобегов и каллуса грецкого ореха [19]. Основным различием между средой DKW и MS является соотношение солей азота, кальция и фосфора, которое положительно влияет на рост и развитие многих культур (*Pimpinella pruatjan* Molk., *Theobroma cacao* L., *Manihot esculenta* Crantz, *Corylus avellana* L. и др.) [22].

На питательной среде DKW наблюдали увеличение высоты микропобегов у всех исследуемых сортов клематисов (табл.).

Морфометрические показатели различных сортов *Clematis* L. в зависимости от состава питательной среды

Сорт	Питательная среда	Высота микропобега, см	Коэффициент размножения
Princess Diana	MS	3,3 ± 0,2	2,2 ± 0,2
	WPM	4,3 ± 0,2	2,3 ± 0,2
	DKW	5,0 ± 0,2	3,7 ± 0,1
	QL	3,8 ± 0,3	2,8 ± 0,1
Multi Blue	MS	1,9 ± 0,1	1,4 ± 0,1
	WPM	1,3 ± 0,1	1,4 ± 0,1
	DKW	2,8 ± 0,1	2,4 ± 0,1
	QL	1,4 ± 0,1	1,6 ± 0,1
Madame Julia Correvon	MS	4,0 ± 0,2	2,6 ± 0,1
	WPM	3,6 ± 0,2	2,4 ± 0,1
	DKW	6,3 ± 0,1	3,4 ± 0,1
	QL	3,6 ± 0,1	1,9 ± 0,2
Юбилейный 70	MS	2,1 ± 0,1	1,8 ± 0,2
	WPM	1,8 ± 0,2	2,5 ± 0,2
	DKW	2,1 ± 0,1	3,3 ± 0,1
	QL	1,6 ± 0,1	2,4 ± 0,1

Среди исследуемых сортов отличался сорт Юбилейный 70, который не показал существенных различий по высоте микропобегов при культивировании на средах MS, WPM и DKW. Так, максимальная высота микропобега (6,3 ± 0,1 см) была характерна для регенерантов сорта Madame Julia Correvon.

Установлено, что на питательной среде DKW, вне зависимости от сорта, коэффициент размножения увеличивался. Коэффициент размножения сорта Princess Diana был максимальным (3,7 ± 0,1), однако не показал существенной разницы с сортами Madame Julia Correvon (3,4 ± 0,1) и Юбилейный 70 (3,3 ± 0,1). Также не

было существенной разницы на средах MS и WPM у сортов Princess Diana, Madame Julia Correvon и Multi Blue. Самый низкий коэффициент размножения и низкая кинетика роста были отмечены у крупноцветкового сорта Multi Blue. Коэффициент размножения данного сорт соста-

вил $2,4 \pm 0,1$ на среде DKW, а на остальных средах варьировал в пределах от 1,4 до 1,6.

В нашем исследовании выявлено влияние различных типов и концентраций цитокининов на рост и развитие сортов *Clematis L.* (рис. 1).

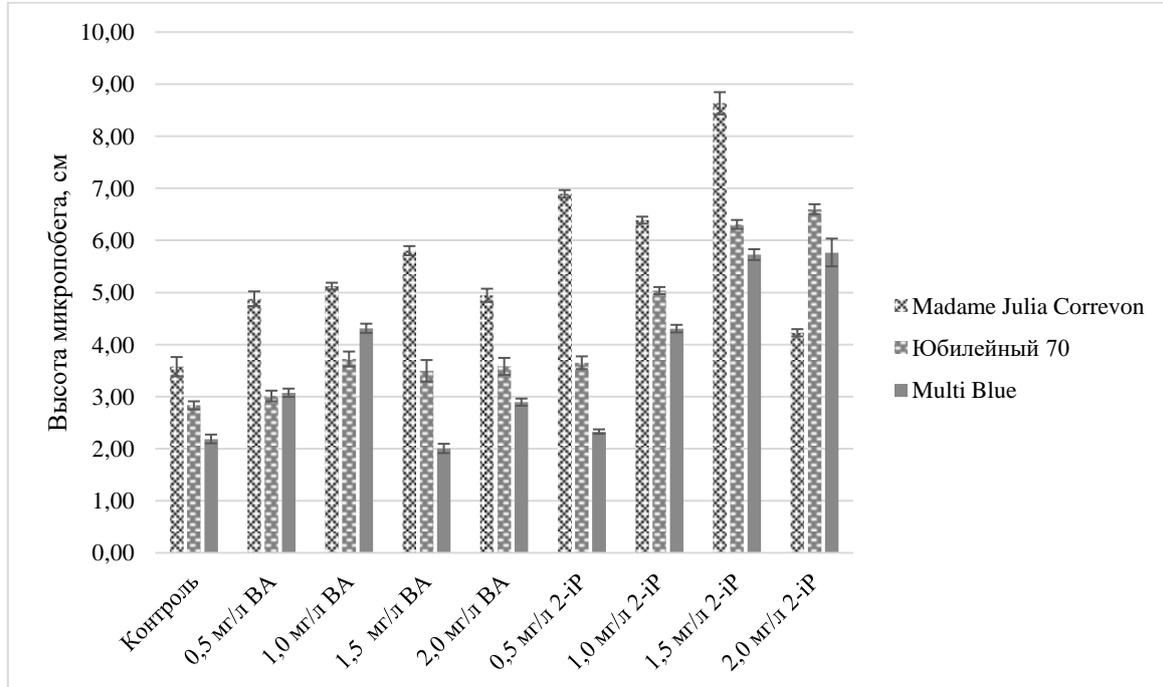


Рис. 1. Варьирование высоты сортов *Clematis L.* *in vitro* на средах с различными регуляторами роста

Установлено, что с повышением концентрации ВА и 2-иР, вне зависимости от сорта, высота микропобега увеличивалась по сравнению с контролем. Наибольшего значения данный показатель достигал на среде с 1,5 мг/л 2-иР у сорта Madame Julia Correvon ($8,6 \pm 0,2$ см). Наибольшую высоту регенеранты сорта Юбилейный 70 и Multi Blue достигали при использовании 2,0 мг/л 2-иР ($6,6 \pm 0,1$ и $5,8 \pm 0,1$ см), однако не показали существенной разницы по этому показателю на среде с 1,5 мг/л 2-иР ($6,6 \pm 0,1$ см и $5,8 \pm 0,1$). Следует отметить, что практически все сорта имели меньшую высоту при культивировании на питательной среде, содержащей ВА, чем при выращивании на среде с 2-иР.

Коэффициент размножения имел тенденцию к повышению с ростом концентрации цитокининов и понижению при концентрации 2,0 мг/л 2-иР (рис. 2).

Исключение составил сорт Юбилейный 70, коэффициент размножения которого снизился на среде с 1,5 мг/л ВА ($3,4 \pm 0,1$) и повысился на

среде с 2,0 мг/л ВА ($4,2 \pm 0,1$). Для регенерантов сорта Multi Blue было характерно понижение коэффициента размножения, начиная с концентрации 1,5 мг/л ВА. При концентрациях 1,5 и 2,0 мг/л 2-иР ($4,0 \pm 0,1$ и $4,3 \pm 0,1$) показатель продолжал расти, однако разница между последними двумя вариантами была не существенна. Наибольший коэффициент размножения был характерен для сорта Madame Julia Correvon ($6,7 \pm 0,2$) на питательной среде с добавлением 1,5 мг/л ВА. Данный показатель также достигал своего максимума у регенерантов сорта Юбилейный 70 ($5,4 \pm 0,1$).

С увеличением концентрации ВА наблюдали негативные морфологические изменения регенерантов: формирование деформированных и оводненных микропобегов желто-зеленой окраски. В дальнейшем это приводило к замедлению их развития. Полученные нами данные согласуются с результатами других исследователей [14]. В случае 2-иР негативные морфологические изменения наблюдали при повышении концентрации до 2,0 мг/л.

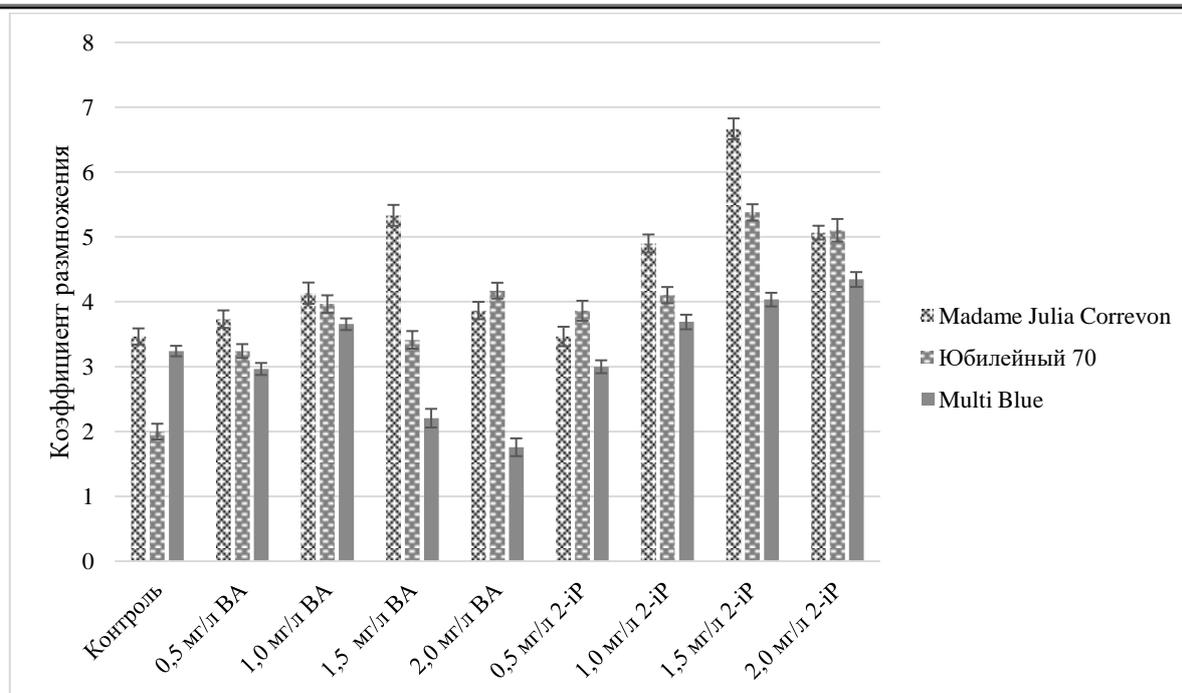


Рис. 2. Варьирование коэффициента размножения различных сортов *Clematis L.* in vitro на средах с различными регуляторами роста

Наибольший морфогенетический потенциал был характерен для представителя группы *Viticella* (сорт *Madame Julia Correvon*), наименьший – для представителя группы *Patens* (сорт *Multi Blue*). В исследовании О.И. Короткова [13] отмечено, что наибольшей способностью к регенерации обладали сорта групп *Viticella* и *Early Large-flowered* (включающей группу *Patens*). Однако в нашем исследовании сорт *Multi Blue* характеризовался низкими морфометрическими показателями, что может быть связано со специфическими особенностями крупноцветковых сортов, которые, как было отмечено в работе [6], имеют меньший потенциал к размножению.

Заключение. В процессе исследования выявлено, что на регенерирующую способность сортов *Clematis L.* в культуре изолированных тканей существенное влияние оказывает генотип: сорт *Madame Julia Correvon* (*Viticella*) отличался наибольшим морфогенетическим потенциалом по сравнению с крупноцветковыми сортами *Юбилейный 70* (*Jakmanii*) и *Multi Blue* (*Patens*). Регенеранты различались по своей реакции на содержание BA и 2-иP в питательной среде. Выявлено, что на этапе собственно микро-размножения сортов *Clematis L.* наиболее эффективно использовать питательную среду DKW с добавлением 2-иP в концентрации 1,5–2,0 мг/л.

Список источников

1. Chemical and biological research of *Clematis medicinal resources* / D. Hao [et al.] // *Chin Sci Bull.* 2013. Vol. 58 (10). P. 1120–1129. DOI: 10.1007/s11434-012-5628-7.
2. Насурдинова Р.А., Жигунов О.Ю. Дикорастущие клематисы в коллекции Ботанического сада г. Уфы // *Вестник Оренбургского государственного университета.* 2009. № 6. С. 272–274.
3. Санаркльчева С.Е., Чаналда Т.Л. Виды клематиса (*Clematis L.*), используемые в ландшафтном дизайне // *Аграрное образование и наука.* 2020. № 1.
4. Richard G. Hawke. *Clematis for Northern Landscapes* // *Plant Evaluation Notes.* 1997. Iss. 10. P. 1–7.
5. Мякишева Е.П. Применение методов биотехнологии для создания сортовых коллекций и получения посадочного материала рода *Clematis L.* // *Известия Алтайского государственного университета.* 2013. Т. 2, № 3 (79). С. 92–94.
6. Johnson C. Stem cutting propagation of the endangered species [Degree of Master of Science Thesis, Auburn University] // *Electronic Theses and Dissertations of Auburn University.* 2006. URL: https://etd.auburn.edu/xmlui/bitstream/handle/10415/597/JOHNSON_CONNIE_58.pdf?se-

- quence=1&isAllowed=y (дата обращения: 20.10.2022).
7. Митрофанова И.В., Соколов О.И., Ежов В.Н. Непрямой соматический эмбриогенез клематиса (*Clematis* sp.) // Сб. тр. ГНБС. 2007. Т. 127. P. 9–20.
 8. Kreen S., Svensson M., Rumpunen K. Rooting of clematis microshoots and stem cuttings in different substrates // *Scientia Horticulturae*. 2002. V. 96. Iss. 1–4. P. 351–357. DOI: 10.1016/S0304-4238(02)00126-7.
 9. Mandegaran Z., Sieber V.K. Somatic embryogenesis in *Clematis integrifolia* × *C. viticella* // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2000. V. 62. № 2. P. 163–165. DOI: 10.1023/A:1026514707169.
 10. Somatic embryogenesis and plant regeneration of clematis 'Multi-Blue' / Q.X. Zhang [et al.] // *Propagation of Ornamental Plants*. 2011. № 11. P. 21–27.
 11. *In vitro* regeneration of Clematis plants in the Nikita Botanical Garden via somatic embryogenesis and organogenesis / I. Mitrofanova [et al.] // *Front. Plant Sci*. 2021. 12:541171. DOI: 10.3389/fpls.2021.541171.
 12. Hanumanaika R.N., Venkatarangaiah K. Plant regeneration from callus culture of *Clematis gouriana* Roxb. // *Turkish Journal of Biology*. 2008. Vol. 32. № 2. P. 99–103.
 13. Коротков О.И. Формирование и комплексное изучение коллекции клематисов (род *Clematis* L.): биотехнологические и молекулярно-генетические аспекты: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.05. М., 2004. 15 с.
 14. Ivanova N., Mitrofanova I., Zubkova N. Cytokinin effect on shoot formation in clematis *in vitro* // *Bulletin of Udmurt University. Series Biology. Earth Sciences*. 2017. Vol. 27. P. 278–284.
 15. Chavan J., Gaikwad P. Rapid *in vitro* propagation of *Clematis heynei* M. A. Rau: an important medicinal plant // *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 2012. Vol. 23. P. 79–84. DOI: 10.9755/ejfa.v24i1.10601.
 16. Бутенко П.Г. Биология культивируемых клеток и биотехнология растений. М.: Наука, 1991. 279 с.
 17. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures // *Plant Physiology*. 1962. Vol. 15. P. 473–497.
 18. McCown B.H., Lloyd G. Woody Plant Medium (WPM) – a mineral nutrient formulation for microculture of woody plant species // *HortScience*. 1981. Vol. 16. P. 453–453.
 19. Driver J.A., Kuniyuki A.H. *In Vitro* Propagation of Paradox Walnut Rootstock // *HortScience*. 1984. Vol. 19. P. 507–509.
 20. Quoirin M., Lepoivre P. Improved medium for *in vitro* culture of *Prunus* sp. // *Acta Horticulturae*. 1977. Vol. 78. P. 437–442.
 21. Duta M., Posedaru A. *In vitro* propagation of *Clematis* × *jackmanii* // *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca: horticulture*. 2008. Vol. 65. Iss. 1. P. 462–462.
 22. Rahman S.S. DKW emerges as a superior media factor in *in vitro* plant regeneration // *J. Agri*. Vol. 1. № 1. P. 3–4.

References

1. Chemical and biological research of Clematis medicinal resources / D. Hao [et al.] // *Chin Sci Bull*. 2013. Vol. 58 (10). P. 1120–1129. DOI: 10.1007/s11434-012-5628-7.
2. Nasurdinova R.A., Zhigunov O.Yu. Dikorastushchie klematisy v kollekcii Botanicheskogo sada g. Ufy // *Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta*. 2009. № 6. S. 272–274.
3. Saparklycheva S.E., Chapalda T.L. Vidy klematisa (*Clematis* L.), ispol'zuemye v landshaftnom dizajne // *Agrarnoe obrazovanie i nauka*. 2020. № 1.
4. Richard G. Hawke. Clematis for Northern Landscapes // *Plant Evaluation Notes*. 1997. Iss. 10. P. 1–7.
5. Myakisheva E.P. Primenenie metodov bioteknologii dlya sozdaniya sortovyh kollekcij i polucheniya posadochnogo materiala roda *Clematis* L. // *Izvestiya Altajskogo gosudarstvennogo universiteta*. 2013. T. 2, № 3 (79). S. 92–94.
6. Johnson C. Stem cutting propagation of the endangered species [Degree of Master of Science Thesis, Auburn University] // *Electronic Theses and Dissertations of Auburn University*. 2006. URL: https://etd.auburn.edu/xmlui/bitstream/handle/10415/597/JOHNSON_CONNIE_58.pdf?sequence=1&isAllowed=y (data obrascheniya: 20.10.2022).
7. Mitrofanova I.V., Sokolov O.I., Ezhov V.N. Nепрямой somaticheskij `embriogenez klematisa (*Clematis* sp.) // *Sb. tr. GNBS*. 2007. T. 127. P. 9–20.

8. Kreen S., Svensson M., Rumpunen K. Rooting of clematis microshoots and stem cuttings in different substrates // *Scientia Horticulturae*. 2002. V. 96. Iss. 1-4. P. 351-357. DOI: 10.1016/S004-4238(02)00126-7.
9. Mandegaran Z., Sieber V.K. Somatic embryogenesis in *Clematis integrifolia* × *C. viticella* // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2000. V. 62. № 2. P. 163-165. DOI: 10.1023/A:1026514707169.
10. Somatic embryogenesis and plant regeneration of clematis 'Multi-Blue' / Q.X. Zhang [et al.] // *Propagation of Ornamental Plants*. 2011. № 11. P. 21-27.
11. *In vitro* regeneration of Clematis plants in the Nikita Botanical Garden via somatic embryogenesis and organogenesis / I. Mitrofanova [et al.] // *Front. Plant Sci*. 2021. 12:541171. DOI: 10.3389/fpls.2021.541171.
12. Hanumanaika R.N., Venkatarangaiah K. Plant regeneration from callus culture of *Clematis gouriana* Roxb. // *Turkish Journal of Biology*. 2008. Vol. 32. № 2. P. 99-103.
13. Korotkov O.I. Formirovanie i kompleksnoe izuchenie kollekcii klematisev (rod *Clematis* L.): biotekhnologicheskie i molekulyarno-geneticheskie aspekty: avtoref. dis. ... kand. biol. nauk: 03.00.05. M., 2004. 15 s.
14. Ivanova N., Mitrofanova I., Zubkova N. Cytokinin effect on shoot formation in clematis *in vitro* // *Bulletin of Udmurt University. Series Biology. Earth Sciences*. 2017. Vol. 27. P. 278–284.
15. Chavan J., Gaikwad P. Rapid *in vitro* propagation of *Clematis heynei* M. A. Rau: an important medicinal plant // *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 2012. Vol. 23. P. 79–84. DOI: 10.9755/ejfa.v24i1.10601.
16. Butenko R.G. *Biologiya kul'tiviruemyh kletok i biotekhnologiya rastenij*. M.: Nauka, 1991. 279 c.
17. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures // *Plant Physiology*. 1962. Vol. 15. P. 473–497.
18. McCown B.H., Lloyd G. Woody Plant Medium (WPM) – a mineral nutrient formulation for microculture of woody plant species // *HortScience*. 1981. Vol. 16. P. 453–453.
19. Driver J.A., Kuniyuki A.H. *In Vitro* Propagation of Paradox Walnut Rootstock // *HortScience*. 1984. Vol. 19. P. 507–509.
20. Quoirin M., Lepoivre P. Improved medium for *in vitro* culture of *Prunus* sp. // *Acta Horticulturae*. 1977. Vol. 78. P. 437–442.
21. Duta M., Posedaru A. *In vitro* propagation of *Clematis* □ *jackmanii* // *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca: horticulture*. 2008. Vol. 65. Iss. 1. P. 462–462.
22. Rahman S.S. DKW emerges as a superior media factor in *in vitro* plant regeneration // *J. Agri*. Vol. 1. № 1. P. 3-4.

Статья принята к публикации 10.03.2023 / The article accepted for publication 10.03.2023.

Информация об авторах:

Дарья Александровна Семенова¹, младший научный сотрудник лаборатории биотехнологии растений

Ольга Ивановна Молканова², ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией биотехнологии растений, кандидат сельскохозяйственных наук

Лилия Рафисовна Ахметова³, младший научный сотрудник лаборатории биотехнологии растений

Ирина Вячеславовна Митрофанова⁴, начальник отдела научно-инновационной и международной деятельности, член-корреспондент РАН, доктор биологических наук

Information about the authors:

Daria Alexandrovna Semenova¹, Junior Researcher, Laboratory of Plant Biotechnology

Olga Ivanovna Molkanova², Leading Researcher, Head of the Laboratory of Plant Biotechnology, Candidate of Agricultural Sciences

Lilia Rafisovna Akhmetova³, Junior Researcher, Laboratory of Plant Biotechnology

Irina Vyacheslavovna Mitrofanova⁴, Head of the Department of Scientific, Innovative and International Activities, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Biological Sciences