ქართული ლიმონის in vitro კულტურაში შეყვანა და გამრავლების თავისებურებების შესწავლა

ზარნაძე ნანა*, ალასანია ნარგიზ*, მანჯგალაძე სოფიკო*
ბოლქვაძე ციალა*, ჭელიძე ნატო**
DOI: https://doi.org/10.52340/idw.2023.05

შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, ბათუმი
სოხუმის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, თბილისი

აბსტრაქტი. *კლონური მიკროგამრავლება უსქესო ვეგეტატიური გამრავლებაა მცენარეთა უჯრედების, ქსოვილებისა და ორგანოთა in vitro კულტურაში, რომლის დროსაც მიღებული მცენარეები გენეტიკურად იდენტურია საწყისი დედა-მცენარის. მიკროგამრავლების პროცესი რეგულირდება ზრდის რეგულატორებით. ისინი სტიმულირებენ მცენარეების ზრდა-განვითარებას, ზრდიან მათ პროდუქტიულობას და წინააღმდეგობას დაავადებების მიმართ. მცენარეებზე მათი მოქმედების მექანიზმები ინდივიდუალურია და ცალკეული კულტურებისთვის საჭიროა სპეციფიკური მეთოდის შერჩევა. ნაშრომში შესწავლილია 2-იზოპენტილადენინის (7; 14; 20მკმ) და ნაფტილძმარმჟავას (3;5მკმ) აქტივობა და ურთიერთქმედება ქართული ლიმონის in vitro კულტურაზე.*

საკვებ არედ გამოყენებული იყო გამბორგის (B_5) ფორმულით მომზადებული საკვები არე 30 გ/ლ საქაროზას და 8 გ/ლ ფიტოაგარის შემცველობით, არის pH- 5,8. ასეპტიკური კულტურის მისაღებად პირველად მასალად შერჩეულ იქნა თესლები. ექსპერიმენტის შედეგად დადგინდა, რომ ზედაპირული სტერილიზაცია წარმატებულად ჩატარდა 0.1% ვერცხლისწყლის ქლორიდის წყალხსნარის გამოყენებით; აპიკალური კვირტწარმოქმნა აქტიური იყო საკვებ არეზე 7 მკმ 2-იპ და 3 მკმ ნძმ კონცენტრაციათა თანაფარდობით, ხოლო ადვენტური კვირტების ფორმირება და განვითარება ინტენსიურად აღინიშნა 20 მკმ 2-იპ და 3 მკმ ნძმ კონცენტრაციათა თანაობისას.

საკვანძო სიტყვები: *კალუსი; მორფოგენზი; ნაფტილძმარმჟავა; 2-იზოპენტილადენინი.*

შესავალი

მცენარის გამრავლების მეთოდებია: სქესობრივი (თესლოვანი) და უსქესო (ვეგეტატიური) გამრავლება. ორივე ფორმა ფართოდაა გავრცელებული მცენარეებში. ამ მეთოდებს აქვთ დადებითი და უარყოფითი მხარეები. სქესობრივი გამრავლების უარყოფითი მხარე უნდა მიეწეროს მიღებული სარგავი მასალის გენეტიკურ მრავალფეროვნებას და იუვენილური პერიოდის ხანგრძლივობას. ვეგეტატიური გამრავლება კი ინარჩუნებს დედა მცენარის გენოტიპს და იუვენილური პერიოდის ხანგრძლივობა მცირდება (Бутенко 1999).

კლონური მიკროგამრავლება უსქესო ვეგეტატიური გამრავლებაა მცენარეთა უჯრედების, ქსოვილებისა და ორგანოთა in vitro კულტურაში, რომელის დროსაც მიღებული მცენარეები გენეტიკურად იდენტურია საწყისი დედა მცენარის (Chiacome et al. 2013; Pérez-Tornero 2009; Hazardi 2021).

ამ ბოლო პერიოდში მცენარეთა უჯრედებს, რომლებიც ხასიათდებიან მორფოგენეტიკური ცვლილებებით, ხატოვნად ღეროვან უჯრედებს უწოდებენ, რომელთა ტოტიპოტენტურობა მკაფიოდ ჩანს მცენარეული თუ ცხოველური ორგანიზმის ინდივიდუალური განვითარების ნებისმიერ ეტაპზე. ტოტიპოტენციის კონცეფციის გაგებასთან ერთად, შემოვიდა ცნება - ღეროვანი უჯრედების პლური- და მულტიპოტენცია. ამ კონცეფციის მიხედვით მულტიპოტენტური უჯრედების გაყოფის შედეგად წარმოიქმნება ერთი ან რამდენიმე სახის უჯრედი. მულტიპოტენციას ფლობს რეგიონალური ღეროვანი უჯრედები. პლურიპოტენტური უჯრედები განლაგებულია კვირტის და ფესვის აპიკალურ მერისტემებში. მათი მერისტემატური აქტივობა შემოიფარგლება მხოლოდ ფესვის და კვირტის ქსოვილის უჯრედების წარმოშობის უნარით. პლურიპოტენტური უჯრედებისაგან სომატური ემბრიოიდები არ წარმოიქმნება (Ezhova 2003).

სომატური უჯრედები, იზოლირებული ინტაქტური მცენარედან ხვდებიან რა ინდუქციური სიგნალების (საკვები არე, ჰორმონები) მოქმედების ქვეშ, იძენენ მორფოგენური კალუსის, უშუალოდ სომატური ემბრიოიდების ჩამოყალიბების ან პირდაპირი ორგანოგენეზის უნარს. ამრიგად, ტოტიპოტენტური უჯრედები არიან ცალკეული ერთეული უჯრედები, რომლებიც ახორციელებენ სომატური ემრიოგენეზის რეალიზაციის გზას, ხოლო პლურიპოტენტური - ორგანოგენეზის გზას (Ezhova 2003), რომელსაც მიკროგამრავლებას ან მთლიანი მცენარის რეგენერაციას უწოდებენ. მცენარის რეგენერაცია კლონური მიკროგამრავლების საფუძველია (Бутенко 1999).

ციტოკინინების ზემოქმედება მცენარეთა კლონური მიკროგამრავლების ინდუქტორებია, რადგან ისინი განსაზღვრავენ გამრავლების ინტენსივობას, ყლორტების სიმაღლეს, ასევე გენეტიკური ვარიაციების გაჩენის სიხშირეს (ზარნაძე 2019). გარდა ამისა, თავად მიკროგამრავლების ეტაპის მიმდინარეობის წარმატება და ეფექტურობა დამოკიდებულია საწყისი მცენარის გენოტიპის მახასიათებლებზე, საკვები არის მინერალური შემადგენლობასა და კულტივირების ფიზიკური ფაქტორების (სინათლე, ტემპერატურა, ტენიანობა) ზემოქმედებაზე (Бутенко 1999; Pérez-Tornero 2010; Hazardi 2021).

ზრდის რეგულატორები ფართოდ გამოიყენება მრავალი სასოფლო-სამეურნეო კულტურების და დეკორატიული მცენარეების სარგავი მასალის დიდი რაოდენობით მიღებისთვის. ისინი ასტიმულირებენ მცენარეების ზრდას და განვითარებას, ზრდიან მათ პროდუქტიულობას და წინააღმდეგობას დაავადებების მიმართ. მცენარეებზე მათი მოქმედების მექანიზმები ინდივიდუალურია და ცალკეული კულტურებისთვის მათი თავისებურებები საკმარისად არ არის შესწავლილი. აქედან გამომდინარე, ჩნდება პრობლემა ფიტოჰორმონების გავლენის და მათი ურთიერთქმედების შესწავლის შესახებ. ამის საფუძველზე, ამ სამუშაოს მიზანი იყო შესწავლილიყო სხვადასხვა ფიტოჰორმონების, როგორც მცენარეთა ზრდის რეგულატორების აქტივობა და ურთიერთქმედება ლიმონის კულტურაზე. მიზნის შესაბამისად საჭირო იყო ლიმონის in vitro კულტურაში შეყვანა და მიკროგამრავლების ეტაპზე სხვადასხვა კონცენტრაციის და თანაფარდობის ციტოკინინის - 2-იზოპენტილადენინის და აუქსინის - ნაფტილძმარმჟავას შერჩევა.

ექსპერიმენტული ნაწილი

კვლევის ობიექტი: კვლევის ობიექტს წარმოადგენდა ქართული ლიმონი (*Citrus Limon* L. Burm). ლიმონი სამკურნალო თვისებების მქონე სუბტროპიკული კულტურაა. მისი ნაყოფები მდიდარია C ვიტამინით და ორგანული მჟავებით, სხვა ჯიშებთან შედარებით უფრო მწკლარტეა. იგი მარადმწვანე ხე-მცენარეა ღია მწვანე ფოთლებით. ფოთლის კიდეები

კიდედაკბილულია, ტოტები ეკლიანია. ყვავილები სურნელოვანია და ერთეულ ან პატარა მტევან ყვავილედებადაა შეკრებილი. ვითარდებიან ფოთლის იღლიაში. გვირგვინის ფურცელი თეთრია, ჯამის ფურცლები დაკბილული, მტვრიანები მრავლობითი. ნაყოფი სხვადასხვა ზომისა და წონისაა, კვერცხისებური, წაგრძელებული. ზოგიერთი ბოლოვდება ბლაგვი ძუძუკით. რბილობი უხვწვნიანია, გემო მომჟავო, თესლი კი - მრავალი.

ექსპლანტის მომზადება: პირველად მასალად გამოვიყენეთ ქართული ლიმონის ნაყოფები, რომლებიც აღებული იქნა ზრდასრული, კარგად ვეგეტირებადი ლიმონის კერძო პლანტაციიდან დეკემბერში. დედა მცენარეები გაშენებული იყო აჭარისთვის დამახასიათებელ ალუვიალურ ნიადაგზე - დაბა ჩაქვში. ნაყოფები ინახებოდა ცივ, შედარებით ბნელ ადგილას სარდაფში, ხოლო გამოყენებამდე რამდენიმე დღით ადრე მოვათავსეთ მაცივარში +4◦C ტემპერატურაზე.

ექსპლანტის იზოლაცია და სტერილიზაცია: ასეპტიკური კულტურის მისაღებად კულტურაში შევიყვანეთ ნაყოფიდან იზოლირებული თესლები იანვრის განმავლობაში და თებერვლის დასაწყისში. ნაყოფები გაირეცხა გამდინარე წყალით დეტერგენტ Tween -80 -ით. წყლის ჭავლის ქვეშ დავტოვეთ 1 საათის განმავლობაში, რასაც მოჰყვა 70% ეთანოლით დამუშავება 1 წუთის განმავლობაში. დანარჩენი მოქმედებები ჩატარდა ლამინარ-ბოქსში ასეპტიკურ პირობებში. მასტერილებელ ნივთიერებად შევარჩიეთ 0.1% ვერცხლისწყლის ქლორიდის წყალხსნარი. ნაყოფები ხსნარში მოვათავსეთ 5 წუთის განმავლობაში, სტერილიზაციის დასრულების შემდეგ გავავლეთ სტერილური დისტილირებული წყალი 3-ჯერ და ბოლო ულუფაში დავტოვეთ 15 წთ. ნაყოფი დავჭერით ფრაგმენტებად და გამოვათავისუფლეთ თესლები. იზოლირებული თესლები დავთესეთ საკვებ არეზე.

საკვები არე და კულტივირების პირობები: პირველადი ექსპლანტების კულტივირებისთვის გამოვიყენეთ გამბორგის ფორმულით მომზადებული საკვები არე. წინასწარ მომზადდა მაკრო- და მიკრო- მინერალური მარილების, ვიტამინების კონცენტრული დედა ხსნარები, რომელთაგან საკვები არის მომზადებისას აღებული იქნა შესაბამისი რაოდენობები, საკვებ არეს ვუმატებდით 30 გ/ლ საქაროზას, 8 გ/ლ ფიტოაგარს, ჰორმონების სხვადასხვა კონცენტრაციასა და თანაფარდობას. საშუალო pH დარეგულირდა HCl-ით და KOH-ით 5,8 -მდე. ავტოკლავირებული იქნა 1 ატმოსფერული წნევის ქვეშ 121°C ტემპერატურაზე 20 წუთით. კულტურების ინკუბაცია მიმდინარეობდა ზრდის კამერაში - ფიტოტრონში, სადაც ჰაერის ტემპერატურა საშუალოდ იყო 25 ± 2°C. 16/8 სინათლის და ბნელი ფოტოპერიოდისა და სინათლის 3 კილოლუქსი ინტენსივობის ქვეშ. ფიტოკამერაში განათება უზრუნველყოფილი იყო თეთრი ფლუორესცენტური ნათურებით.

თესლებიდან კვირტების ინდუქცია: თესლების ზედაპირული სტერილიზაციის ექსპერიმენტმა გვიჩვენა, რომ იზოლირებული ყველა თესლი აღმოჩნდა სტერილური, სტერილიზაციის კოეფიციენტი შეადგენდა 100%-ს. მიღებული სტერილური თესლების სიცოცხლისუნარიანობა იყო მაქსიმალურად მაღალი და თითქმის ყველა აღმოცენდა. აღმოცენების საერთო მაჩვენებელი იყო 98%.

შედეგები და მსჯელობა

კვირტების რეგენერაცია და პროლიფერაცია აპიკალური და აქსილარული კვირტიდან: ნულოვანი სუბკულტივირების საკვები არე შეიცავდა 2-იპ-ს მინიმალური რაოდენობით (3მკმ), რის გამოც მიღებული აღმონაცენები მე-8 დღეს გადავიტანეთ საექსპერიმენტო ვარიანტებზე. საკუთრივ მიკროგამრავლების პროცესის შემუშავებისთვის შერჩეულ იქნა 6 ვარიანტი თითოეული ვარიანტი შეიცავდა 2-იპ-ს და ნმმ-ს სხვადასხვა კონცენტრაციითა და თანაფარდობით.

მცენარეთა in vitro კულტურაში გამრავლებისთვის და მათი ტოტიპოტენტურობის რეალიზაციისთვის აუცილებელ და შეუცვლელ ფაქტორს წარმოადგენს ფიტოჰორმონები. ჰორმონალური სისტემა მცენარეებში რეგულირებისა და კონტროლის ყველაზე მნიშვნელოვანი ფაქტორია. როგორც წესი, ფიტოჰორმონები წარმოიქმნება მცენარის ერთ ქსოვილში და მოქმედებენ მეორეში, მაგრამ ზოგიერთ შემთხვევაში ისინი ფუნქციონირებენ იმავე უჯრედებში, სადაც წარმოიქმნებიან. ფიტოჰორმონების დამახასიათებელი თვისება, რაც მათ სხვა ფიზიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებებისგან (ვიტამინები, მიკროელემენტები) განასხვავებს, არის ის, რომ ისინი ახორციელებენ ფიზიოლოგიურ და მორფოგენეტიკურ პროგრამებს ორგანიზმში, როგორიცაა კვირტების და ფესვების ფორმირება, ყვავილობა, ნაყოფის მომწიფება და ა.შ. ნებისმიერ ფიტოჰორმონს აქვს რამდენიმე საერთო თვისება: ისინი სინთეზირდება თავად მცენარეში და წარმოადგენს ფიზიოლოგიური პროგრამების მაღალეფექტურ რეგულატორებს. ფიტოჰორმონების მოქმედება ვლინდება უკიდურესად დაბალ კონცენტრაციებში მათი განსაკუთრებული მგრძნობელობის გამო. ჩვენი ექსპერიმენტის მიზანს სწორედ ფიტოჰორმონების კონცენტრაციების შერჩევა წარმოადგენდა მასიური რეგენერაციის მისაღებად.

როგორც ექსპერიმენტის მიმდინარეობამ გვიჩვენა პირველ სუბკულტივირების პერიოდში პირველ ვარიანტის საკვებ არეზე მიკროკვირტების ზრდის დასაწყისი დაფიქსირდა დარგვიდან 1,5 კვირის შემდეგ, მეორე და მესამე ვარიანტზე კი - ერთი კვირის შემდეგ. პირველი ფოთლის გამოჩენა პირველ ვარიანტზე აღინიშნება 12 დღეში, ხოლო მეორე და მესამე ვარიანტზე - მე-8-9 დღის განმავლობაში. მე-4 ვარიანტში მოცულობაში გაიზარდა ექსპლანტის ბაზალური ნაწილი, ხოლო მე-5-6 ვარიანტში ექსპლანტის ზრდა შეფერხდა საკვებზე დარგვიდან 5-7 დღე. ღეროს ეპიკოტიალური ნაწილის გამსხვილება აქაც შეინიშნებოდა და მე-10 დღიდან ექსპლანტების უმეტესობაზე ამ ვარიანტში განვითარდა მორფოგენეტიკური პროცესები. ზემოთ აღნიშნული ფაქტები მიუთითებენ მორფოგენეტიკური პროცესების მდორედ მიმდინარეობაზე. ჩვენი შეხედულებით ნულოვანი სუბკულტივირების პერიოდის შემცირებამ განაპირობა ინტროდუქციული პროცესის გახანგრძლივება პირველ სუბკულტივირებაში. ახალ საკვებ არეზე გადატანა ხორციელდებოდა ყოველ 25 დღეში და ამ დროში კულტურებმა ვარიანტებში შეტანილი ფიტოჰორმონების გავლენით შეძლეს თავიანთი პროლიფერაციული პოტენციალის გამოვლენა. მეორე სუბკულტივირებამ გვიჩვენა, რომ მიკროკალმების ინიცირება სხვადასხვა ინტენსივობით განხორციელდა სხვადასხვა ჰორმონალური შემცველობის საკვებ არეზე. 2-იპ და ნძმ კონცენტაციით 7:3 გამოიწვია ძირითადი ექსპლანტის ზრდა სიმაღლეში, სუბკულტივირების ბოლოს შეადგენდა 48,0 მმ-ს. პარალელურად ბაზალურ ფუძესთან ქვედა რიგის იღლიური მერისტემის გააქტიურებას მოჰყვა კვირტის ფორმირება ექსპლანტზე, რომელთაც ახასიათებდა აპიკალური ზრდა. თანდათანობით ინდუცირდა სხვა მერისტემების პროლიფერაციაც და სუბკულტივირების ბოლოს გამრავლების კოეფიციენტი გაიზარდა იღლიური კვირტწარმოქმნის ხარჯზე.

რაც შეეხება ნძმ-ს მატებას 5 მკმ-მდე საკვებ არეში 2-იპ 7 მკმ კონცენტრაციასთან თანაფარდობაში გამოიწვია პირველადი ექსპლანტის ჰიპოკოტიალური ნაწილის გამსხვილება და კალუსის მსგავსი სტრუქტურის წარმოქმნა. მასზე კულტივირების ბოლოს გაჩნდა კვანძები, რომელიც ადვენტური კვირტწარმოქმნის საფუძველი გახდა, თუმცა იღლიური მერისტემების გაღვიძებასაც ჰქონდა ადგილი.

მე-2 და მე-4 ვარიანტში 2-იპ-ას მომატებამ 14 მკმ კონცენტრაციამდე შეცვალა ექსპლანტების მორფოგენეტიკური პოტენციალი. აპიკალური დომინირება გარკვეულ

წილად დაითრგუნა, მაგრამ ადვენტური კვირტების წარმოქმნა დაჩქარდა და მესამე და მეოთხე სუბკულტივირების განმავლობაში ინტენსიური გახდა (ცხრილი 1). ამ ვარიანტებში ჯერ კიდევ აღინიშნებოდა აპიკალურად მზარდი კვირტები ექსპლანტზე და შეადგენდა 28,5 (2 ვარიანტი) და 15,0 (4 ვარიანტი) ერთეულს. De novo წარმოქმნილი კვირტების რაოდენობა. შედარებით მაღალი იყო ნმმ-ს 3 მკმ კონცენტრაციის ზემოქმედებისას 2-იპ-თან ერთად. ადვენტური კვირტების ფორმირება და განვითარება კიდევ უფრო თვალსაჩინო იყო საკვებ არეებზე, რომელშიც შეტანილი იყო 2-იპ 20 მკმ და 5 მკმ ნმმ კონცენტრაციათა თანაფარდობით (სურ.1). ორგანოგენური ქსოვილის ჩამოყალიბება ენერგიულად მიმდინარეობდა, რასაც ხელს უწყობდა ნმმ-ს შერჩეული კონცენტრაციები. კვირტის ჰიპოკოტიალური უბნებში კალუსური ქსოვილის წარმოქმნა და შემდეგი მერისტემატიზაცია მორფოგენური უბნების დეტერმინაციით სტიმულირდებოდა ორივე გამოყენებული ჰორმონის ერთობლივი მოქმედებით.

დასკვნები: ამრიგად ექსპერიმენტის შედეგად დადგინდა, რომ in vitro ტექნოლოგია ეფექტურია ლიმონის მიკროგამრავლებისთვის; ასეპტიკური კულტურის მიღება შესაძლებელია ექსპლანტის სახით თესლის გამოყენებით; ზედაპირული სტერილიზაცია მეტად წარმატებულად იქნა მიღწეული 0.1% ვერცხლისწყლის ქლორიდის წყალხსნარის გამოყენებით;

გამბორგის მიხედვით მინერალური მარილებით შედგენილი საკვები არე კარგად ესადაგებოდა მიკროკალმების ინდუქციას. მიკროგამრავლების ეტაპი სტიმულირდება ციტიკინინებისა და აუქსინების ერთობლივი მოქმედებით. საუკეთესო შედეგი მივიღეთ 2-იპ-ას 20 მკმ და ნმმ-ს 5 მკმ კონცენტრაციების თანაფარდობათა ზემოქმედებით.

ცხრილი 1. ჰორმონების გავლენა ლიმონის მიკროგამრავლებაზე

2- იპ	ნმმ	კვირტების საშუალო რაოდენობა ექსპლანტზე	აპიკალური კვირტების საშუალო სიგრძე (მმ)	ფოთლების საშუალო რაოდენობა ყლორტზე	მერისტემული კვირტების რაოდენობა
7	3	6.2	48,0	5,0	6.0
14	3	15.3	28,5	4,0	15.2
20	3	24,8	10,0	2,0	25.5
7	5	10,0	32,0	4,0	18,2
14	5	18,0	15,0	2,0	22.1
20	5	27.9	11,5	2,0	28,4

ლიტერატურა:

1. Бутенко, Р.Г. (1999) Биология клеток высших растений in vitro и биотехнологии на их основе / Р.Г. Бутенко. – М. : ФБК-Пресс, 160 с.

2. ნ.ზარნაძე, ქ.დოლიძე. ც.ბოლქვაძე, ჟ.ჭითანავაი (2019) ემბრიოგენეზის ინდუქცია და რეგენერაციული პოტენციალის შესწავლა ლიმონის in vitro კულტურაში. საერთოშორისო სამეცნიერო კონფერენცია „კულტურათაშორისი დიალოგები“, შრომების კრებული, თელავი, საქართველო, 197-200 გვ.

3. Chiancone B, Germanà MA. (2013), Micropropagation of Citrus spp. by organogenesis and somatic embryogenesis. Methods Mol Biol. 2013; 11013:99-118. doi: 10.1007/978-1-62703-074-8_8. PMID: 23179693
4. Ezhova TA. (2003), Geneticheskiĭ kontrol' totipotentnosti rastitel'nykh kletok v kul'ture in vitro [Genetic control of totipotency of plant cells in vitro]. Ontogenez. Jul-Aug;34(4):245-52. Russian. PMID: 12942734.
5. Pérez-Tornero O, Tallón CI, Porras I, Navarro JM. (2009),Physiological and growth changes in micropropagated Citrus macrophylla explants due to salinity. J Plant Physiol. 2009 Nov 15;166(17):1923-33pp. doi: 10.1016/j.jplph.2009.06.009
6. Pérez-Tornero, O., Tallón, C.I. & Porras, I. (2010), An efficient protocol for micropropagation of lemon (*Citrus limon*) from mature nodal segments. *Plant Cell Tiss Organ Cult* **100**, 263–271 (2010). https://doi.org/10.1007/s11240-009-9643-6
7. Najwa Amalina Haradzi, Soo Ping Khor, Sreeramanan Subramaniam, Bee Lynn Chew, (2021),Regeneration and micropropagation of Meyer lemon (Citrus x meyeri) supported by polymorphism analysis via molecular markers, Scientia Horticulturae, Volume 286; ISSN 0304-4238, https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110225

Introduction and Micropropagation study of Georgian lemon in vitro culture

Zarnadze Nana*, Alasania Nargzi*, Manjgaladze Sofiko*
Bolkvadze Thiala*, Tchelidze Nato**
Shota Rustaveli State University, Batumi, Georgia
Sokhumi State University, Tbilisi, Georgia

Abstract

Clonal micropropagation is asexual vegetative propagation. In in vitro culture of plant cells, tissues and organs, the resulting plants are genetically identical to the original mother plant. The process of micropropagation is regulated by growth regulators. They stimulate the growth and development of plants, increase their productivity and resistance to diseases. The mechanisms of their action on plants are individual, and a specific method needs to be selected for individual crops. The activity and interaction of 2-isopentyladenine (7; 14; 20 μm) and naphthylacetic acid (3; 5 μm) on the in vitro culture of Georgian lemon is studied.

The nutrient medium prepared by the Gamborg (B5) formula was used, it contained 30 g/l sucrose and 8 g/l phytoagar, the pH of the food was 5.8. Seeds were selected as the primary material for aseptic culture. As a result of the experiment, it was determined that surface sterilization was successfully carried out using a 0.1% mercuric chloride aqueous solution; Apical bud formation was active in the nutrient area at the ratio of 7 μM 2-IP and 3 μM NAA concentrations, while the formation and development of adventitious buds was intensively noted at the ratio of 20 μM 2-IP and 3 μM NAA concentrations.

Key words: *Callus; Morphogenesis; naphthylacetic acid; 2-Isopentenyladenine.*