УДК 634.233:581.143.6

DOI 10.30679/2219-5335-2019-5-59-49-64

ОЦЕНКА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД НА ПРИГОДНОСТЬ К КУЛЬТИВИРОВАНИЮ ЗАРОДЫШЕЙ ВИШНИ ОБЫКНОВЕННОЙ (*CERASUS VULGARIS* MILL.)*

Коваленко Наталья Николаевна
д-р биол. наук
ведущий научный сотрудник
и.о. зав. лабораторией биотехнологии
и биохимии
email: kross67@mail.ru

Крымская опытно-селекционная станция – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им Н.И. Вавилова», Крымск, Россия

В статье представлены результаты оценки питательных искусственных сред на пригодность к культивированию зародышей вишни обыкновенной трёх сортов – Любская, Тургеневка, Игрушка, включённых в сортимент юга России (выделенных перспективных сортов коллекции Крымской ОСС – филиала ВИР). Они имеют ряд положительных качеств: поздний срок плодоношения, высокие показатели качества плодов, потенциальную продуктивность и транспортабельность. В работе были использованы модификации питательных сред Уайта, Кнопа, Андерсона, Ли и де Фоссарда, Prunus и Мурасиге и Скуга. Составы всех семи искусственных агаризированных питательных сред, применяемых нами при культивировании зародышей трёх сортов вишни обыкновенной, приведены

UDC 634.233:581.143.6

DOI 10.30679/2219-5335-2019-5-59-49-64

EVALUATION OF NUTRIENT MEDIA ON SUITABILITY FOR CULTIVATION OF CHERRY ORDINARY GERMS (*CERASUS VULGARIS* MILL.)

Kovalenko Natalia Nikolaevna
Dr. Sci. Biol.
Leading Research Associate
Acting Head of Biotechnology
and Biochemistry Laboratory
email: kross67@mail.ru

Krymsk Experiment Breeding Station – Branch of Federal State Budgetary Scientific Institution «Federal Research Center the N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources», Krymsk, Russia

The article presents the results of evaluating the nutrient artificial media for cultivation suitability of cherry ordinary embryos for three varieties – Lyubskaya, Turgenevka, Igrushka, included in the assortment of the South of Russia (selected promising varieties of the collection of the Krymsk EBS, VIR Branch). They have a number of positive qualities: late fruiting, high fruit quality, potential productivity and transportability. In the work, the modifications of the cultural media of White, Knop, Anderson, Lee and de Fossard, Prunus, Murasige and Skoog were used. The compositions of seven artificial agarized nutrient media used by us in the embryos cultivation of three varieties of cherry ordinary are given in the text of the article. The embryos

* Работа выполнена с использованием коллекции генетических ресурсов растений ВИР (VIR Collections of Plant Genetic Resources) в рамках государственного задания ВИР (бюджетный проект № 0662-2019-0004).

в тексте статьи. Зародыши вводили в культуру до вступления растений в фазу покоя. В ходе исследований проводили наблюдения за ростом и развитием зародышей данных сортов вишни *in vitro*. Дана оценка влияния состава питательной среды на культивируемые зародыши сортов вишни обыкновенной. Приведены среднемноголетние (2015-2018) данные о количестве нормально развитых, не проросших (с разрастанием семядолей и каллусом), альбиносов и инфицированных внутренней инфекцией зародышей в зависимости от сортовой принадлежности. Поскольку в селекционной практике имеет важное значение получение большего количества жизнеспособного потомства, то при оценке питательных сред уделяли внимание проросшим, нормально развитым сеянцам. В итоге опытов выделена питательная среда Мурасиге и Скуга, модифицированная в двух вариантах M_2 и M_4 – для культивирования зародышей вишни сорта Любская; M_2 и Pr_1 – для сорта Тургеневка. Для выращивания *in vitro* зародышей сорта Игрушка рекомендуется использовать искусственную агаризированную питательную среду Кнопа.

Ключевые слова: ГИБРИДЫ, СОРТА, СЕЯНЦЫ, *IN VITRO*, СЕЛЕКЦИЯ, ИСКУССТВЕННАЯ СРЕДА, БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА, СОЗРЕВАНИЕ ПЛОДОВ, ИНФИЦИРОВАННОСТЬ

were introduced into the culture without plants entering in the dormant phase. In the course of the study, the growth and development of the embryos of these cherry varieties *in vitro* was observed. An assessment is made of the influence of the nutrient medium composition the cultivated embryos of cherry ordinary varieties. The average long-term (2015-2018) data of normally developed, not germinated (with the growth of cotyledons and callus), albinos and embryos infected with an internal infection embryos, depending on the variety. Since in breeding practice it is important to obtain more viable posterity, when evaluating the nutrient media, the attention was paid to sprouted, normally developed seedlings. As a result of the experiments, the nutrient medium of Murashige and Skoog was isolated, modified in two versions M_2 and M_4 – for cultivating the cherry germ of Lyubskaya, and M_2 and Pr_1 – for Turgenevka. For *in vitro* cultivation of Igrushka embryos, it is recommended to use an artificial agarized nutrient medium Knopa.

Key words: HYBRIDS, VARIETIES, SEEDLINGS, *IN VITRO*, BREEDING, ARTIFICIAL MEDIUM, BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES, FRUITS RIPENING, INFECTION

Введение. Вишня (*Cerasus* Mill.) – многолетняя плодовая культура, а вишня обыкновенная (*C.vulgaris* Mill.) – самый распространённый вид этого рода [1-4]. В списке районированных сортов Российской Федерации, по данным Государственного реестра 2019 года, находится 96 сортов. Как известно, в настоящее время существует большое разнообразие сортов вишни (365 образцов коллекции ВИР), но широкое распространение получила лишь часть из них [5]. Современный сортимент вишен представлен, в основном, сортами среднего срока созревания, ранних и очень поздних сортов в

нем мало [3-5], в связи с чем выполняется селекционная программа при использовании коллекции ВИР на выведение устойчивых к основным заболеваниям с поздним сроком плодоношения сортов вишни обыкновенной [6].

В южной зоне плодоводства районировано 10 сортов вишни, но в садах, чаще всего, встречаются четыре: Подбельская, Анадольская, Любская, Чернокорка [3, 7]. В последние годы сортимент пополнился сортами, полученными в СКЗНИИСиВ (ныне СКФНЦСВВ) – Кирина, Краснодарская Сладкая и другие, которые отличаются высокими вкусовыми и потребительскими качествами плодов [8].

Однако существующего сортимента явно недостаточно для производителей и потребителей плодов этой культуры, в связи с чем научными учреждениями и Союзом селекционеров юга России утверждена программа [9] и начаты работы по созданию адаптивных и технологичных сортов.

Селекция на современном этапе невозможна без использования предселекции и биотехнологии, применение которых ускоряет процесс получения новых сортов с заданными признаками [10]. В работе по селекции необходимо решать проблему получения жизнеспособного гибридного потомства. Из-за недостаточного количества завязывающихся плодов при гибридизации плодовых культур или из-за непрорастания семян в обычных (полевых) условиях усилия селекционера сводятся на нет.

Накопленный опыт, отражённый в литературных источниках, как наших [11-15], так и зарубежных [16-22] свидетельствует о перспективности применения культуры зародышей *in vitro* для повышения результативности селекции различных культур. Так, используя приемы культивирования зародышей в искусственных условиях, были получены сеянцы второго поколения от слабофертильных гибридов вишни степной [23] и других представителей рода *Cerasus* Mill. [24, 25].

При культивировании зародышей *in vitro* наиболее часто используют в качестве базовых такие питательные среды, как Мурасиге и Скуга – МС,

Монье, Пирика, Уайта, Смирнова и их модификации [11-15, 23, 24, 26, 27]. В работе с конкретным растительным материалом необходимо проводить подбор питательной среды для эффективного получения жизнеспособных зародышей в эмбриокультуре.

Целью наших исследований было проведение оценки модификаций питательных сред Уайта, Кнопа, Андерсона, Ли и де Фоссарда, Мурасиге и Скуга и Prunus на пригодность для культивирования зародышей, а также для роста и развития сеянцев у сортов вишни обыкновенной – Любской, Тургеневки, Игрушки.

Объекты и методы исследований. Работа выполнялась в лаборатории биотехнологии и биохимии Крымской ОСС – филиала ВИР с 2015 по 2018 год. Изучение образцов вишни обыкновенной коллекции генетических ресурсов растений ВИР проводится на Крымской ОСС достаточно давно, и результаты опубликованы в книге [7] и в каталогах последних лет [8, 28].

В качестве объектов исследования и в соответствии с характеристиками перспективных сортов [8] и паспортов доноров и источников селекционно значимых признаков вишни и черешни [28] нами были включены в исследование три сорта вишни: Любская, Тургеневка и Игрушка.

Любская – сорт районирован по Северо-Кавказскому (6) региону. Происхождение точно неизвестно. Характеризуется высокой самоплодностью, созреванием плодов в поздние сроки, потенциальной продуктивностью и транспортабельностью относительно крупных плодов (2-4 г). Сорт подвержен заболеванию коккомикозом.

Тургеневка – сорт получен во ВНИИСПК (г. Орёл), сеянец от свободного опыления сорта Жуковская, районирован по Северо-Кавказскому (6) региону. Характеризуется частичной самоплодностью, созреванием плодов в средние сроки, обладает хорошей зимостойкостью, урожайностью и высокими технологическими и дегустационными показателями качества плодов,

масса которых достигает 5 г. Проявляет среднюю полевую устойчивость к коккомикозу и монилиозу.

Игрушка – выведен в институте орошаемого садоводства УААН (Любская × черешня Солнечный шар). Достоинствами сорта являются высокая засухоустойчивость и устойчивость к грибным болезням. Плоды позднего срока созревания, крупные (более 5 г), высокого качества. Сорт самобесплодный. Показывает сравнительную устойчивость к коккомикозу и монилиозу.

Исследования проводились согласно общепринятым методикам [11, 24, 26, 27]. В качестве исходного материала были использованы плоды (завязь) вышеприведённых сортов вишни обыкновенной, с датой съёма – 30-й день после массового цветения (оплодотворения), что соответствует в наших климатических условиях началу июня.

В ходе работы выполнялась технологическая цепочка, отработанная в лаборатории биотехнологии, которая необходима для получения исходного стерильного растительного материала и для дальнейшей работы с ним: мытье и сушка химической посуды, скальпелей, пинцетов и т.п. сухим жаром, а также стерилизация под давлением в автоклаве приготовленных искусственных питательных сред. Затем производили ввод зародышей в культуру в стерильных условиях бокса марки ВЛ-12. Непосредственную стерилизацию зародышей производили по схеме: 1,5-часовая промывка, после мыльного раствора проточной водой, затем стерилизация хлорсодержащим водным раствором препарата HAZ-TABS на основе действующего вещества дигитратнатриевой соли дихлоризоциануровой кислоты (2,5 г Cl) в концентрации 4,75 г на 200 мл H_2O в течение четырёх минут и пятикратная промывка стерильной дистиллированной водой с экспозицией по пять минут.

Зародыши высаживали в двух повторностях в количестве 20 шт. в каждой, в пробирки размером 30 × 140 мм с питательной искусственной средой. Зародыши культивировали при температуре +24±1°С и 16-часовом фо-

топериодом, с верхним освещением двумя лампами ЛД-40 на один квадратный метр площади стеллажа.

Обсуждение результатов. В целях изучения влияния различных питательных сред на рост и развития зародышей вишни обыкновенной в свои исследования мы включили основные составы питательных сред, которые наиболее часто используются для культивирования зародышей [11, 13, 14, 23, 24]. В работе использовались варианты питательных сред Уайта, Кнопа, Андерсона, Ли и де Фоссарда [26, 27]. На их основе были модифицированы питательные среды, задействованные в опытах. При этом основной состав данных питательных сред – из прописи, за исключением $CaCl_2$ (в среду Андерсона добавляли – 322,2 мг/л, а в Ли и де Фоссарда – 294,0 мг/л). В состав каждой из оригинальных питательных сред были внесены указанные ниже изменения (аминокислоты, витамины и фитогормоны и др.) (табл. 1).

Таблица 1 – Варианты питательных сред, использованные для культивирования зародышей вишни обыкновенной

Компоненты питательной среды	Концентрация питательных веществ, мг/л			
	Уайта	Кнопа	Андерсона	Ли и де Фоссарда
Основной состав	По прописи	По прописи	По прописи $CaCl_2$ – 322,2	По прописи $CaCl_2$ – 294,0
Аминокислоты	Глицин – 2,0	-	Глицин – 2,0	
Мезоинозит	100,0	-	100,0	
Витамины	B_1- 0,2 B_6-0,2 pp-0,2 C-1,5	B_1- 0,1 B_6-0,1 pp-0,5 C-5,5	B_1- 0,5 B_6-0,5 pp-0,5 C-1,0	B_1- 0,5 B_6-0,5 pp-0,5 C-1,0 Фолиевая кислота – 1,0
Фитогормоны	Кинетин – 0,5 ГК – 1,0 ИУК-1,0	Кинетин – 0,5 6-БАП-0,2	6-БАП-0,5 ГК-1,0	6-БАП-0,5 -
Сахароза, г/л	20,0	20,0	20,0	20,0

В качестве базовых сред для культивирования зародышей вишни обыкновенной были взяты также питательные среды Мурасиге и Скуга [26] и

Prunus [24]. В модифицированные опытные среды МС – M_2 и M_4, Pr_1 в обязательном порядке входили макро- и микроэлементы по прописи, кроме $CaCl_2$ (вместо 440,0 мг/л было взято 332,0 мг/л в среды M_2 и M_4, а в питательной среде Pr_1 $CaCl_2$ отсутствует). Они различались между собой по составу и концентрации фитогормонов, по аминокислотам и количеству сахарозы (табл. 2)

Таблица 2 – Состав питательных сред, применяемых при культивировании зародышей сортов вишни обыкновенной

Компоненты питательной среды	Концентрация питательных веществ, мг/л		
	МС		Prunus
	M_2	M_4	Pr_1
Основной состав	по прописи $CaCl_2$ 332,0	по прописи $CaCl_2$ 332,0	по прописи без $CaCl_2$
Мезоинозит	100	-	-
Аскорбиновая кислота	0,9	1,0	2,0
Тиамин-HCl	0,3	0,5	0,5
Пиридоксин-HCl	0,5	0,5	0,5
Никотиновая кислота	0,4	0,5	0,5
6-БАП	0,5	0,8	0,5
KJ	0,08	0,08	0,08
ИУК	0,003	-	-
Сахароза	30000	20000	30000
Агар	6,5-7	6,5-7	6,5-7

В пробирки с вышеприведёнными вариантами питательных сред были высажены зародыши исследуемых сортов вишни обыкновенной. Зародыши вводили в культуру в начале июня, до наступления фазы покоя. В ходе исследований проводили наблюдения за ростом и развитием зародышей сортов вишни обыкновенной в условиях *in vitro*.

Средние данные по количеству нормально развитых, не проросших, с разрастанием семядолей и каллусом, альбиносов, инфицированных зародышей, по трём годам, приведены в процентном соотношении и в работе не подлежали статистической обработке, поскольку особой разницы между ними по годам не наблюдалось (до 5 %). Влияние состава питательной среды на рост и развитие зародышей сортов вишни Любская, Тургеневка и Игрушка представлены в таблицах 3, 4, 5.

Таблица 3 – Влияние состава питательной среды на рост и развитие зародышей вишни сорта Любская *in vitro* (среднее за 2015-2018 гг.)

Питательная среда	Количество зародышей, %									
	нормально развитых		непроросших		с разрастанием семядолей и каллусом		альбиносов		инфицированных	
	min÷max	среднее	min÷max	среднее	min÷max	среднее	min÷max	среднее	min÷max	среднее
M_2	36,7÷69,8	62,2	9,0÷13,1	10,7	18,2÷24,0	20,0	0,3÷0,9	0,7	0,9÷8,8	6,4
M_4	70,1÷82,2	78,4	3,4÷7,0	5,1	7,7÷12,0	10,1	0,4÷1,9	1,1	4,4÷6,0	5,3
Pr_1	20,4÷31,5	28,6	37,8÷51,0	48,2	9,6÷13,0	11,6	0,5÷1,7	1,4	7,0÷12,0	10,2
Уайта	22,0÷28,7	26,4	29,9÷40,1	38,0	9,3÷21,0	19,3	0,4÷1,9	1,5	7,1÷16,0	14,8
Кнопа	39,1÷47,9	45,8	21,7÷29,7	26,4	8,9÷13,1	11,7	0,1÷0,7	0,5	7,9÷16,5	15,6
Андерсона	15,0÷20,7	17,1	49,9÷54,9	52,5	10,0÷14,0	12,3	0,2÷1,7	0,9	10,0÷18,8	17,2
Ли и де Фоссарда	11,7÷17,4	14,3	48,9,9÷60,0	55,4	8,7÷12,5	10,3	0,4÷2,0	1,3	9,9÷19,7	18,7

Таблица 4 – Влияние состава питательной среды на рост и развитие зародышей вишни сорта Тургеневка *in vitro* (среднее за 2015-2018 гг.)

Питательная среда	Количество зародышей, %									
	нормально развитых		непроросших		с разрастанием семядолей и каллусом		альбиносов		инфицированных	
	min÷max	среднее	min÷max	среднее	min÷max	среднее	min÷max	среднее	min÷max	среднее
M_2	58,5÷67,7	62,5	14,2÷20,1	17,8	13,9÷18,0	17,5	0,3÷0,9	0,7	1,1÷1,7	1,5
M_4	39,7÷44,8	42,0	38,8÷46,1	44,3	9,0÷12,2	11,8	0,1÷0,6	0,3	1,1÷1,7	1,6
Pr_1	51,0÷61,2	59,3	21,7÷29,7	27,3	8,8÷12,1	10,8	0,2÷0,7	0,6	1,3÷2,2	2,0
Уайта	8,3÷12,3	9,1	59,9÷81,7	79,3	7,2÷10,9	9,5	0,1÷0,8	0,6	1,1÷1,8	1,5
Кнопа	9,3÷14,0	12,5	68,4÷82,0	79,3	0,9÷8,7	6,7	0,0÷0,4	0,2	0,9÷1,7	1,3
Андерсона	11,9÷21,1	17,9	69,0÷75,2	73,2	0,9÷7,9	6,0	0,0÷0,0	0,0	1,7÷3,1	2,9
Ли и де Фоссарда	9,9÷18,7	13,8	68,9÷82,4	79,0	0,7÷6,9	5,5	0,0÷0,0	0,0	1,1÷1,9	1,7

Таблица 5 – Влияние состава питательной среды на рост и развитие зародышей вишни сорта Игрушка *in vitro* (среднее за 2015-2018 гг.)

Питательная среда	Количество зародышей, %									
	нормально развитых		непроросших		с разрастанием семядолей и каллусом		альбиносов		инфицированных	
	min÷max	среднее	min÷max	среднее	min÷max	среднее	min÷max	среднее	min÷max	среднее
M_2	27,9÷33,1	30,3	36,6÷44,2	40,6	15,0÷24,4	22,3	0,5÷1,9	1,4	3,0÷7,2	5,4
M_4	29,7÷40,1	37,2	27,9÷44,4	39,7	9,5÷15,7	13,4	0,1÷1,5	1,2	4,4÷9,9	8,5
Pr_1	31,7÷45,4	38,7	28,1÷40,0	35,0	9,7÷17,5	15,6	0,1÷1,4	1,0	4,9÷11,0	9,7
Уайта	9,7÷20,4	17,4	50,2÷63,0	59,5	7,9÷10,9	9,6	0,0÷1,4	0,9	5,9÷14,0	12,6
Кнопа	19,7÷31,0	27,7	43,8÷52,0	48,7	7,7÷11,0	9,6	0,1÷1,2	0,8	7,9÷15,7	13,2
Андерсона	5,0÷9,0	7,0	57,0÷63,0	62,0	7,4÷12,8	9,7	0,1÷1,8	1,1	15,9÷22,1	20,2
Ли и де Фоссарда	7,9÷12,0	10,1	55,7÷63,0	61,9	7,8÷11,8	9,7	0,1÷1,3	0,9	10,7÷19,7	17,4

Анализ опытов показал, что независимо от года ввода в культуру для зародышей сорта Любская на питательных средах M_4 и M_2 отмечалось дружное прорастание зародышей (78,4 % и 62,2 %) и развитие нормальных проростков темно-зелёной окраски.

Для сорта Тургеневка (62,5 % нормально развитых зародышей от общего их числа) наиболее приемлемой оказалась модифицированная питательная среда МС-M_2, при наличии в ней мезоинозита (100 мг/л), ИУК, более низких значений 6-БАП и витаминов (тиамина, аскорбиновой и никотиновой кислот) и более высоких значений сахарозы в сравнении с подобным вариантом M_4 с содержанием витаминов: аскорбиновой кислоты – 1,0 мг/л, тиамина, пиридоксина и никотиновой кислоты по 0,5 мг/л, а также фитогормона 6-БАП (6-бензиламинопурина) – 0,8 мг/л (без индолилуксусной кислоты и кинетина) с добавлением сахарозы 20,0 г/л (см. табл. 2).

Довольно высокий выход проросших зародышей сорта Игрушка (38,7 %) наблюдался на модифицированной питательной среде Prunus – Pr_1 и на модифицированном варианте среды МС-M_4. Варианты питательных сред Андерсона и Ли и де Фоссарда в наших опытах оказались малоэффективны для культивирования зародышей вишни сортов Любская, Тургеневка, Игрушка. Выход нормально развитых проростков фиксировали в пределах 5,6-17,1 %. При этом, как и на среде Уайта, наблюдались явления разрастания семядолей и каллусообразования, которые были ниже, чем на среде M_2: от 5,5 % на среде Ли и де Фоссарда, до 12,3 % на среде Андерсона (от общего количества зародышей, введённых в культуру). Выход жизнеспособных проростков оказался очень низким на среде Уайта (9,1 %), а большинство зародышей (79,3 %) сорта Тургеневка не проросли (см. табл. 4).

В опытах на всех питательных средах было отмечено явление разрастания семядолей, каллусообразование (от 5,5 % у сорта Тургеневка на среде Ли и де Фоссарда и до 22,3 % у сорта Игрушка на среде M_2), а также наличие альбиносов (до 1,5 % у сорта Любская на среде Уайта). Особенно часто встречались альбиносы у сортов Любская и Игрушка (рис.).

а) разрастание семядолей зародышей вишни сорта Любская

б) сеянец-альбинос вишни сорта Игрушка

Рис. Нежизнеспособные зародыши и проростки вишни

Впоследствии такие зародыши выбраковывались, составляя в среднем 16,7 % от общего количества введённых в культуру, так же как и имеющие внутреннюю инфекцию (от 1,3 до 20,2 %), показатели которых зависели от сортовой принадлежности (см. табл. 3, 4, 5).

Следует отметить, что очень слабо в культуре *in vitro* адаптировались и развивались зародыши вишни сорта Игрушка на всех искусственных питательных средах, используемых в наших опытах (см. табл. 5). Возможно на такую ситуацию влияет его гибридное происхождение от вишни обыкновенной (Любская) и черешни (Солнечный шар), что требует дополнительных подтверждений.

Выводы. Проведённые исследования показали, что оптимальными питательными средами для культивирования зародышей *in vitro* сортов вишни обыкновенной являются:

– модифицированные варианты питательной среды Мурасиге и Скуга – M_4 и M_2 на которых выход нормально развитых зародышей составил 78,4 % и 62,2 % соответственно – для сорта Любская;

– M_2 и вариант на основе питательной среды Prunus – Pr_1 при хорошем выходе на них нормально развитых микрорастений (62,5 % и 59,3 % от общего количества зародышей. введённых в культуру) – для сорта Тургеневка;

– модифицированная среда Prunus (38,7%) и M_4 (37,2 %) – для сорта Игрушка.

Подобранные и используемые нами в опытах модификации питательных сред Андерсона и Ли и де Фоссарда были менее эффективны для культивирования зародышей сортов вишни Любская, Тургеневка и Игрушка, так как выход нормально развитых зародышей при использовании этого варианта питательных сред очень низкий: от 7,0 % (Игрушка) до 17,9 % (Тургеневка).

Вариант питательной среды Кнопа вполне приемлем для зародышей сорта Любская (45,8 %), а также сорта Игрушка (27,7 %), что очень близко к значениям выхода жизнеспособных зародышей на питательной среде M_2.

Для более точного определения пригодности питательной искусственной среды при культивировании зародышей сортов вишни обыкновенной следует продолжить подобные исследования. Полученные данные по эмбриокультуре носят накопительный характер, а выращенные сеянцы в условиях *in vitro* будут переданы селекционерам в плодовый отдел генетических ресурсов и селекции Крымской ОСС – филиала ВИР для использования в дальнейшей работе.

Литература

1. Михеев А.М., Ревякина Н.Т. Вишня и черешня. Москва, 2012. 112 с.

2. Юшев А.А., Орлова С.Ю. Книга о вишне. Челябинск, 2013. 120 с.

3. Колесникова А.Ф. Селекция вишни обыкновенной в прошлом и настоящем. Орел, 2014. 352 с.

4. Гуляева А.А. Вишня и черешня. Орел: ВНИИСПК, 2015. 52 с.

5. Юшев А.А. Видовой и сортовой потенциал вишни генофонда ВИР // Косточковые культуры в садоводстве и декоративном озеленении: сб. материалов IV Всероссийского съезда садоводов (ноябрь, 2012 г., Челябинск). Челябинск, 2012. С. 105-111.

6. Алехина Е.М., Еремина О.В. Селекция косточковых культур (черешня) // Современные методологические аспекты организации селекционного процесса в садоводстве и виноградарстве. Краснодар, 2012. С. 313-328.

7. Юшев А.А., Еремина О.В. Вишня, черешня. Москва. 224 с.

8. Еремин Г.В., Алехина Е.М., Кружков А.В., Еремина О.В. Каталог паспортов доноров и источников селекционно-значимых признаков вишни и черешни. Крымск: ГНУ КОСС, 2009. 87 с.

9. Современные методологические аспекты организации селекционного процесса в садоводстве и виноградарстве / Под редакцией Еремина Г.В. Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2012. 569 с.

10. Современная методология, инструментарий оценки и отбора селекционного материала садовых культур и винограда: монография / Е.А. Егоров, Ж.А. Шадрина, Г.А. Кочьян и др. Краснодар: ФГБНУ СКФНЦСВВ, 2017. 282 с.

11. Здруйковская-Рихтер А.И. Культура изолированных зародышей и некоторые другие приемы выращивания растений *in vitro*: методические рекомендации. Москва, 1962. 62 с.

12. Курсаков Г.А., Дубовицкая Л.А. Культура in vitro зародышей косточковых плодовых растений на ранних стадиях эмбриогенеза // Бюллетень ЦГЛ им. И.В. Мичурина. 1988. N 46. С. 3-7.

13. Ковальчук И.Ю., Чуканова И.И. Получение раннеспелых сортов плодовых культур методом доращивания недоразвитых зародышей in vitro. Материал Республиканской научно-практической конференции по картофелеводству и овощеводству в Казахстане. Кайнар, 1997. С. 18-19.

14. Захарченко В.В., Бунцевич Л.Л. Использование культуры изолированных зародышей черешни в селекции на раннеспелость // Генетические ресурсы культурных растений: тезисы докладов Международной научно-практической конференции (13-16 ноября, 2001 г., Санкт-Петербург). Санкт-Петербург, 2001. С. 287-288.

15. Высоцкий В.А., Алексеенко Л.В. Клональное микроразмножение косточковых культур // Косточковые культуры в садоводстве и декоративном озеленении: сб. материалов IV Всероссийского съезда садоводов (ноябрь 2012 г., Челябинск). Челябинск, 2012. С. 16-19.

16. Murasige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant, 1962. - 15. - P. 473-497.

17. Quorin M., Lepoivre P. Etude de milieu adapte aux cultures in vitro // C.R. Acad. Sci. – Paris, 1977. – 281. – p. 1309.

18. Balla I., Brozik S. Embryo culture of sweet cheryy hibrids. Acta Hortic. 1996; 410:385-386. DOI:10.17660.

19. Dulic J., Miodragovic M., Barac G., Ognjanov V. Effect of embryo development on in vitro germination of early ripening varieties in sweet cherry (Prunus avium L.) Agr. J. 2016:1-6. DOI 10.1007/s10341-016-0265-y, ISSN 1439-0302.

20. Standardi A. Encapsulation: promising technology for nurseries and plant tissue laboratories. AgroLife J. 2012;1(1):48-54. ISSN-L 2285-5718.

21. Stanys V. In vitro techniques to increase the output of cherry seedlings from early-ripening parents. Acta Hortic. 1998;468:203-208.

22. Asanica A., Tudor V., Plopa C., Sumedrea V., Peticila A., Teodorescu R., Tudor V. In vitro embryo culture of some sweet cherry genotypes. Agriculture and Agricultural Science Procedia 10(2016) 172-177. 5th International Conference «Agriculture for Life. Life for Agriculture».

23. Плаксина Т.В. Эмбриокультура и микроразмножение in vitro вишни степной (Prunus Fruticossa Pall.) // Биотехнология как инструмент сохранения биоразнообразия растительного материала (физиолого-биохимические, эмбриологические, генетические и правовые аспекты): материалы VII Международной научно-практической конференции, посвящённой 30-летию отдела биотехнологии Никитского ботанического сада (25 сент.-1 окт. 2016 г., Ялта). Симферополь, 2016. С. 116.

24. Кухарчик Н.В., Кастрицкая М.С., Пугачева Р.М. Методика культивирования изолированных зародышей вишни и сливы // Плодоводство. 2006. Т.18(2). С.157-162.

25. Гусев Д.А. Применение метода in vitro для получения полиплоидов вишни и микровишни // Косточковые культуры в садоводстве и декоративном озеленении: сб. материалов IV Всероссийского съезда садоводов (ноябрь 2012 г., Челябинск). Челябинск, 2012. С.39-42.

26. Оздоровление и размножение плодовых и ягодных растений методом культуры меристематических верхушек: методические указания / сост. Ю.Г. Попов. Москва, 1979. 29 с.

27. Джигадло Е.Н., Джигадло М.И., Голышкина Л.В. Методические рекомендации по использованию биотехнологических методов в работе с плодовыми, ягодными и декоративными культурами. Орел: ВНИИСПК, 2005. 49 с.

28. Каталог перспективных сортов плодовых и ягодных культур, выделенных из коллекции ВИР / Г.В. Еремин, В.Г. Еремин, О.В. Еремина, Н.Н. Коваленко, Т.А. Гасанова, В.Н. Подорожный, И.С. Чепинога, О.А. Гореликова, Н.А. Пиянина. Крымск, 2018. 90 с.

References

1. Miheev A.M., Revyakina N.T. Vishnya i chereshnya. Moskva, 2012. 112 s.

2. Yushev A.A., Orlova S.Yu. Kniga o vishne. Chelyabinsk, 2013. 120 s.

3. Kolesnikova A.F. Selekciya vishni obyknovennoj v proshlom i nastoyashchem. Orel, 2014. 352 s.

4. Gulyaeva A.A. Vishnya i chereshnya. Orel: VNIISPK, 2015. 52 s.

5. Yushev A.A. Vidovoj i sortovoj potencial vishni genofonda VIR // Kostochkovye kul'tury v sadovodstve i dekorativnom ozelenenii: sb. materialov IV Vserossijskogo s"ezda sadovodov (noyabr', 2012 g., Chelyabinsk). Chelyabinsk, 2012. S. 105-111.

6. Alekhina E.M., Eremina O.V. Selekciya kostochkovyh kul'tur (chereshnya) // Sovremennye metodologicheskie aspekty organizacii selekcionnogo processa v sadovodstve i vinogradarstve. Krasnodar, 2012. S. 313-328.

7. Yushev A.A., Eremina O.V. Vishnya, chereshnya. Moskva. 224 s.

8. Eremin G.V., Alekhina E.M., Kruzhkov A.V., Eremina O.V. Katalog pasportov donorov i istochnikov selekcionno-znachimyh priznakov vishni i chereshni. Krymsk: GNU KOSS, 2009. 87 s.

9. Sovremennye metodologicheskie aspekty organizacii selekcionnogo processa v sadovodstve i vinogradarstve / Pod redakciej Eremina G.V. Krasnodar: SKZNIISiV, 2012. 569 s.

10. Sovremennaya metodologiya, instrumentarij ocenki i otbora selekcionnogo materiala sadovyh kul'tur i vinograda: monografiya / E.A. Egorov, Zh.A. Shadrina, G.A. Koch'yan i dr. Krasnodar: FGBNU SKFNCSVV, 2017. 282 s.

11. Zdrujkovskaya-Rihter A.I. Kul'tura izolirovannyh zarodyshej i nekotorye drugie priemy vyrashchivaniya rastenij in vitro: metodicheskie rekomendacii. Moskva, 1962. 62 s.

12. Kursakov G.A., Dubovickaya L.A. Kul'tura in vitro zarodyshej kostochkovyh plodovyh rastenij na rannih stadiyah embriogeneza // Byulleten' CGL im. I.V.Michurina. 1988. N 46. S. 3-7.

13. Koval'chuk I.Yu., Chukanova I.I. Poluchenie rannespelyh sortov plodovyh kul'tur metodom dorashchivaniya nedorazvityh zarodyshej in vitro. Material Respublikanskoj nauchno-prakticheskoj konferencii po kartofelevodstvu i ovoshchevodstvu v Kazahstane. Kajnar, 1997. S. 18-19.

14. Zaharchenko V.V., Buncevich L.L. Ispol'zovanie kul'tury izolirovannyh zarodyshej chereshni v selekcii na rannespelost' // Geneticheskie resursy kul'turnyh rastenij: tezisy dokladov Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoj konferencii (13-16 noyabrya, 2001 g. Sankt-Peterburg). Sankt-Peterburg, 2001. S. 287-288.

15. Vysockij V.A., Alekseenko L.V. Klonal'noe mikrorazmnozhenie kostochkovyh kul'tur // Kostochkovye kul'tury v sadovodstve i dekorativnom ozelenenii: sb. materialov IV Vserossijskogo s"ezda sadovodov (noyabr' 2012 g., Chelyabinsk). Chelyabinsk, 2012. S. 16-19.

16. Murasige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant, 1962. - 15. - P. 473-497.

17. Quorin M., Lepoivre P. Etude de milieu adapte aux cultures in vitro // C.R. Acad. Sci. – Paris, 1977. – 281. – p. 1309.

18. Balla I., Brozik S. Embryo culture of sweet cheryy hibrids. Acta Hortic. 1996; 410:385-386. DOI:10.17660.

19. Dulic J., Miodragovic M., Barac G., Ognjanov V. Effect of embryo development on in vitro germination of early ripening varieties in sweet cherry (Prunus avium L.) Agr. J. 2016:1-6. DOI 10.1007/s10341-016-0265-y, ISSN 1439-0302.

20. Standardi A. Encapsulation: promising technology for nurseries and plant tissue laboratories. AgroLife J. 2012;1(1):48-54. ISSN-L 2285-5718.

21. Stanys V. In vitro techniques to increase the output of cherry seedlings from early-ripening parents. Acta Hortic. 1998;468:203-208.

22. Asanica A., Tudor V., Plopa C., Sumedrea V., Peticila A., Teodorescu R., Tudor V. In vitro embryo culture of some sweet cherry genotypes. Agriculture and Agricultural Science Procedia 10(2016) 172-177. 5th International Conference «Agriculture for Life. Life for Agriculture».

23. Plaksina T.V. Embriokul'tura i mikrorazmnozhenie in vitro vishni stepnoj (Prunus Fruticossa Pall.) // Biotekhnologiya kak instrument sohraneniya bioraznoobraziya rastitel'nogo materiala (fiziologo-biohimicheskie, embriologicheskie, geneticheskie i pravovye aspekty): materialy VII Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoj konferencii, posvyashchyonnoj 30-letiyu otdela biotekhnologii Nikitskogo botanicheskogo sada (25 sent.-1 okt. 2016 g., Yalta). Simferopol', 2016. S. 116.

24. Kuharchik N.V., Kastrickaya M.S., Pugacheva R.M. Metodika kul'tivirovaniya izolirovannyh zarodyshej vishni i slivy // Plodo-vodstvo. 2006. T.18(2). S.157-162.

25. Gusev D.A. Primenenie metoda in vitro dlya polucheniya poliploidov vishni i mikrovishni // Kostochkovye kul'tury v sadovodstve i dekorativnom ozelenenii: sb. materialov IV Vserossijskogo s"ezda sadovodov (noyabr' 2012 g., Chelyabinsk). Chelyabinsk, 2012. S. 39-42.

26. Ozdorovlenie i razmnozhenie plodovyh i yagodnyh rastenij metodom kul'tury meristematicheskih verhushek: metodicheskie ukazaniya / sost. Yu.G. Popov. Moskva, 1979. 29 s.

27. Dzhigadlo E.N., Dzhigadlo M.I., Golyshkina L.V. Metodicheskie rekomendacii po ispol'zovaniyu biotekhnologicheskih metodov v rabote s plodovymi, yagodnymi i dekorativnymi kul'turami. Orel: VNIISPK, 2005. 49 s.

28. Katalog perspektivnyh sortov plodovyh i yagodnyh kul'tur, vydelennyh iz kollekcii VIR / G.V. Eremin, V.G. Eremin, O.V. Eremina, N.N. Kovalenko, T.A. Gasanova, V.N. Podorozhnyj, I.S. Chepinoga, O.A. Gorelikova, N.A. Piyanina. Krymsk, 2018. 90 s.