

УДК 634.232:58.085: 631.527

UDC 634.232: 58.085: 631.527

DOI 10.30679/2219-5335-2019-6-60-91-101

DOI 10.30679/2219-5335-2019-6-60-91-101

**ВЛИЯНИЕ КОРОТКИХ ПЕРИОДОВ  
СТРАТИФИКАЦИИ НА РАЗВИТИЕ  
ИЗОЛИРОВАННЫХ НЕЗРЕЛЫХ  
ЭМБРИОНОВ ЧЕРЕШНИ  
В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO***

**THE INFLUENCE OF SHORT  
STRATIFICATION PERIODS  
THE DEVELOPMENT  
OF ISOLATED UNMATURED  
EMBRYONS *IN VITRO* CULTURE**

Токмаков Сергей Вячеславович  
канд. биол. наук  
научный сотрудник  
селекционно-биотехнологической  
лаборатории  
e-mail: [ad-a-m@mail.ru](mailto:ad-a-m@mail.ru)

Tokmakov Sergei Vyacheslavovich  
Cand. Biol. Sci.  
Research Associate  
of Breeding and Biotechnology  
Laboratory  
e-mail: [ad-a-m@mail.ru](mailto:ad-a-m@mail.ru)

Супрун Иван Иванович  
канд. биол. наук  
заведующий селекционно-  
биотехнологической лабораторией  
e-mail: [supruni@mail.ru](mailto:supruni@mail.ru)

Suprun Ivan Ivanovich  
Cand. Biol. Sci.  
Head of Breeding  
and Biotechnology Laboratory  
e-mail: [supruni@mail.ru](mailto:supruni@mail.ru)

Степанов Илья Владимирович  
младший научный сотрудник  
селекционно-биотехнологической  
лаборатории  
e-mail: [ivstepanof@gmail.com](mailto:ivstepanof@gmail.com)

Stepanov Ilya Vladimirovich  
Junior Research Associate  
of Breeding and Biotechnology  
Laboratory  
e-mail: [ivstepanof@gmail.com](mailto:ivstepanof@gmail.com)

Лободина Елена Вадимовна  
младший научный сотрудник  
селекционно-биотехнологической  
лаборатории  
e-mail: [alyona2255@yandex.ru](mailto:alyona2255@yandex.ru)

Lobodina Elena Vadimovna  
Junior Research Associate  
of Breeding and Biotechnology  
Laboratory  
e-mail: [alyona2255@yandex.ru](mailto:alyona2255@yandex.ru)

Алехина Елена Михайловна  
канд. с.-х. наук, доцент  
старший научный сотрудник  
лаборатории сортоизучения  
и селекции садовых культур

Alekhina Elena Mikhaylovna  
Cand. Agr. Sci., Docent  
Senior Research Associate  
of Laboratory of Variety Study  
and Breeding of Garden Crops

*Федеральное государственное  
бюджетное научное учреждение  
«Северо-Кавказский федеральный  
научный центр садоводства,  
виноградарства, виноделия»,  
Краснодар, Россия*

*Federal State Budget  
Scientific Institution  
«North Caucasian Federal  
Scientific Center of Horticulture,  
Viticulture, Wine-making»,  
Krasnodar, Russia*

Представлены результаты оценки  
влияния различных по продолжительности  
коротких сроков стратификации  
на получение здоровых микрорастений  
гибридов черешни из изолированных  
незрелых эмбрионов в культуре *in vitro*.

The results of evaluation of short  
stratification periods with different  
durations influence the obtaining healthy  
microplants of sweet cherry hybrids  
from isolated unripe embryos *in vitro*  
culture are presented. Three sweet cherry

Изучались три сорта черешни сверхраннего, раннего и среднего сроков созревания. Апробирована схема стерилизации незрелых костянок черешни с использованием дезинфицирующего средства в виде таблеток, содержащих натриевую соль дихлоризоциануровой кислоты. Применённый метод показал высокую эффективность, что проявлялось в низком проценте инфицированных пробирок. Было произведено 3 посева в различные сроки: сразу после съёма плодов, через 1 неделю, через 3 недели стратификации. Степень развития растений, введённых в культуру *in vitro*, определяли через 2, 3 и 5 недель. Оценку растений, имеющих корень и настоящие листья, проводили по 5-ти балльной шкале. На основании данных учёта степени развития растений, введённых в культуру *in vitro*, был построен график, показывающий, что наибольший процент нормально развивающихся эмбрионов сорта черешни Краснодарская ранняя наблюдался в группе, прошедшей стратификацию в течение трёх недель, по сравнению со стратифицированными одну неделю. В группе образцов сорта Краса Кубани наблюдается противоположная зависимость. Темпы и степень развития зародышей сорта Ярославна без стратификации находятся в среднем диапазоне между другими изучаемыми образцами с длительной и короткой стратификацией. Исходя из полученных данных, можно сделать вывод о превалировании сортовых особенностей образцов над длительностью стратификации в процессе увеличения выхода нормально развитых микрорастений, полученных из культуры эмбрионов черешни *in vitro*.

**Ключевые слова:** ЧЕРЕШНЯ, ЭМБРИОКУЛЬТУРА, *IN VITRO*, СОРТА, ГИБРИДЫ, СТРАТИФИКАЦИЯ

varieties of super early, early and middle term of ripening are studied. The sterilization scheme for immature sweet cherry embryos using a disinfectant in the form of tablets containing the sodium salt of dichloroisocyanuric acid was tested. The method showed the high efficiency, which was manifested in a low percentage of infected tubes. Three seeding were made at various times: after harvesting immediately, after 1 week, and after 3 weeks of stratification. The degree of plants development introduced *in vitro* culture was defined after 2, 3, and 5 weeks. Assessment of plants with root and leaves was carried out on a 5-point scale. Based on the development degree of plants introduced *in vitro* culture, a graph was created showing that the highest percentage of normally developing embryos of the Krasnodarskaya Rannya sweet cherry was observed in the group stratified for three weeks, than that stratified one week. In the group of the Krasa Kubani specimens, an opposite dependence is observed. The rate and degree of development of the Yaroslavna embryos without stratification are in the middle range between other studied samples with long and short stratification. Based on the data obtained, it can be concluded that the varietal characteristics of samples prevail over the duration of stratification in order to increase in the yield of normally developed microplants obtained *in vitro* embryo culture.

**Key words:** SWEET CHERRY, EMBRIOCULTURE, *IN VITRO*, VARIETIES, HYBRIDS, STRATIFICATION

**Введение.** Культивирование *in vitro* широко применяется в селекции садовых культур для получения жизнеспособных гибридов в основном косточковых культур при скрещивании сортов раннего срока созревания

[1, 2, 3]. Преодоление постгамной несовместимости и увеличение выхода гибридного потомства осуществляется методом культуры изолированных зародышей на стерильной питательной среде. Современные методики всегда принимаются во внимание при размножении особо ценного биологического материала. На регенерацию растений при эмбриокультуре, по мнению некоторых авторов, влияют условия окружающей среды при закладке завязи, но все-таки решающим фактором являются компоненты питательной среды для *in vitro*, сроки съёма плодов, фаза извлечения зародыша, методы стерилизации и стратификация семян и, конечно, сортовые особенности конкретных образцов [4-8].

Проводились работы по изучению эффективности прямой эмбриокультуры и *in-ovulo* эмбриокультуры. В первом случае, зародыш вместе с семядолями извлекается из семенной оболочки и помещается на питательную среду, при культуре *in-ovulo* – зародыш вместе с семядолями и оболочкой помещается на питательную среду [9].

Удаление семенной оболочки, прямая культура зародышей, значительно повышает эффективность метода изолированных зародышей, а также снижает процент инфекции. Более того, установлена чёткая корреляция со степенью зрелости плодов (от полностью зелёных до максимально окрашенных) и уровнем инфицированности: чем более зрелые плоды, тем больше процент инфицированных зародышей.

Изучение влияния различных по своему составу питательных сред проводилось рядом исследователей. Хорошо проявили себя различные вариации питательной среды Мурасиге и Скуга (МС) с половинной концентрацией макро- и микроэлементов [10, 11].

Метод эмбриокультуры, также применяемый для расширения генетической базы садовых растений, позволяет довести каждый зародыш до взрослого организма, а при необходимости, получить несколько генетиче-

ски идентичных организмов от каждого эмбриона [12]. Регенерация растений из тканей семядолей прямым путём позволяет размножить ценные генотипы, а через непрямой органогенез даёт возможность получения соматоклональных вариантов – источника нового исходного материала для селекции. С использованием этих приёмов были получены гибриды вишни, интересные для дальнейшей селекционной работы [13].

Первые успешные попытки культивирования зародышей *in vitro* были предприняты Ханнингом еще в 1904 году. Тогда он отмечал, что культивирование незрелых эмбрионов часто приводит к слабым, плохо развитым и даже нежизнеспособным проросткам [14]. С похожими проблемами сталкивался в своих исследованиях и Стингл [15]. Интерес к культивированию незрелых зародышей *in vitro* возрос, когда в середине XX века была показана эффективность данного метода для ускорения селекционного процесса [16, 17].

В настоящее время методология *in vitro* продолжает совершенствоваться, и исследователям в ряде случаев удалось получить и сохранить ценные гибриды и перспективные формы с использованием данного метода. При этом все же существует необходимость совершенствования лабораторных протоколов (компонентный состав сред, соотношения фитогормонов, длительность периода стратификации, особенности дезинфекции эксплантов), в том числе с учетом генотипспецифичности [18-20].

В задачу нашей работы входила оценка влияния разных сроков стратификации до введения в культуру *in vitro* у разных сортов черешни, а также оптимизация параметров этапа стерилизации для получения максимального количества стерильных жизнеспособных эксплантов.

**Объекты и методы исследований.** Работа проводилась в биотехнологической лаборатории СКФНЦСВВ весной-летом 2019 года. Были отобраны незрелые плоды трёх сортов черешни – Ярославна, Краса Кубани и Краснодарская ранняя от свободного опыления. Сорт Ярославна – среднеранний (созревает через 3 дня после Валерия Чкалова) Донецкого филиала Института

садоводства УААН, получен от посева семян Дроганы желтой, которая росла в окружении мелитопольских сортов черешни в Новоселидовском ГСУ. Краса Кубани – сорт раннего срока созревания, скороплодный, получен в СКЗНИИСиВ. Краснодарская ранняя – один из наиболее распространённых сортов сверхраннего срока созревания. Получен в СКЗНИИСиВ.

Съем неокрашенных плодов в количестве 60 костянок каждого сорта провели 16 мая 2019 года, примерно на 25 день после предполагаемого опыления. Плоды сорта Ярославна были взяты в работу на следующий день, а плоды сортов краса Кубани и Краснодарская ранняя были помещены в холодильную камеру с температурой +4 °С.

Стерилизацию костянок проводили по следующей схеме:

- промывка раствором «белизна-гель» (5-15% гипохлорита натрия), разведение стерильной водой 1:4 (хлор/вода) с экспозицией 10 минут;
- двукратная промывка стерильной водой;
- промывка стерильным раствором марганцовокислого калия (24мг/л) в течение 10 минут.

После стерилизации наружных покровов костяники вскрывались в условиях ламинарного бокса стерильным скальпелем. После вскрытия косточки извлечённые вместе с семядолями зародыши промывались в течение 3 минут в растворе натриевой соли дихлоризоциануровой кислоты (содержание активного хлора 0,5 %) с последующей однократной промывкой в стерильной воде, после чего их высаживали в стеклянные пробирки диаметром 30 мм с питательной агаризованной средой объёмом 25 мл.

Изолированные зародыши культивировали на питательной среде Мурасиге-Скуга, содержащей половинную концентрацию минеральных солей, 6-БАП и дополнительно ИМК в концентрации 0,01-0,03 мг/л.

Было произведено 3 посева в различные сроки после заготовки плодов и стратификации: 44 изолированных эмбриона сорта Ярославна были высеяны 17 мая 2019 года, через сутки после сбора; незрелые эмбрионы сортов

Краса Кубани и Краснодарская ранняя были высеяны через неделю стратификации при +4 °С – 24 мая (26 и 25 пробирок соответственно) и через три недели стратификации – 7 июня (24 и 23 пробирки соответственно).

Оценку степени развития растений, введённых в культуру *in vitro*, проводили через 2, 3 и 5 недель. Учитывали количество контаминированных посторонней микрофлорой пробирок, количество непробудившихся незрелых эмбрионов и этиолированных микрорастений, количество растений, имеющих отклонения в развитии – деформированные листья и другие органы растения с сильным разрастанием каллуса, задержку дифференциации каллуса. Также учитывались растения с нормально развитыми настоящими листьями, но неразвивающимся корнем.

Оценку растений, имеющих корень и настоящие листья, проводили по 5-ти балльной шкале, где 1/5 – растения с наименьшим уровнем развития органов, 5/5 – максимально развитые, самые крупные микрорастения (рис. 1).

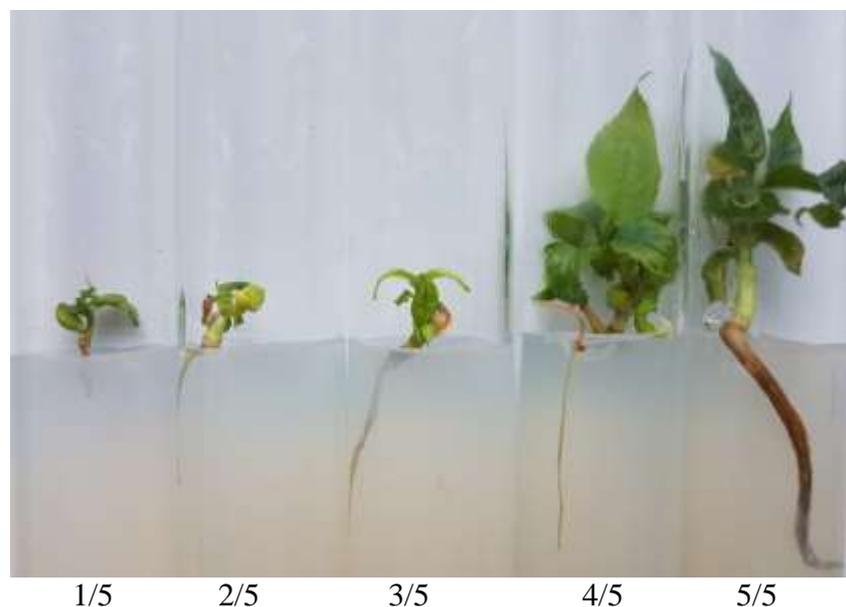


Рис. 1. Степень развития микрорастений

Как видно из рисунка 1, степень развития растений варьировала в значительном диапазоне, но все растения имели пропорционально развитые листья и корень без видимых дефектов в развитии или отставании.

**Обсуждение результатов.** Данные учёта степени развития растений, полученных из изолированных незрелых эмбрионов черешни в культуре *in vitro*, для изучения влияния двух разных по длительности периодов стратификации, обобщены в таблице 1. В таблице 2 приведён общий процент нормально развивающихся растений по всем вариантам опыта.

Таблица 1 – Результаты высева незрелых зародышей черешни в культуру *in vitro* после различных сроков стратификации

Сорт	Ярославна	Краса Кубани		Краснодарская ранняя		
Неделя стратификации	0	1	3	1	3	
Количество	44 (100 %)	26 (100 %)	24 (100 %)	25 (100 %)	23 (100 %)	
<b>1 учёт - 14 дней после высева</b>						
Инфицировано	1 (2,3%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (4,0%)	0 (0,0%)	
Нет роста	18 (40,9%)	9 (34,6%)	10 (41,7%)	11 (44,0%)	9 (39,1%)	
Этиолированные	1 (2,3%)	0 (0,0%)	2 (8,3%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	
Недоразвитые	5 (11,4%)	4 (15,4%)	1 (4,2%)	3 (12,0%)	2 (8,7%)	
Не развивается корень	11(25,0%)	10 (38,5%)	9 (37,5%)	8 (32,0%)	7 (30,4%)	
Степень развития	1/5	2 (4,5%)	0 (0,0%)	1 (4,2%)	1 (4,0%)	1 (4,3%)
	2/5	0 (0,0%)	1 (3,8%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (4,3%)
	3/5	0 (0,0%)	2 (7,7%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	3 (13,0%)
	4/5	5 (11,4%)	0 (0,0%)	1 (4,2%)	1 (4,0%)	0 (0,0%)
	5/5	1 (2,3%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
<b>2 учёт - 21 день после высева</b>						
Инфицировано	1 (2,27%)	0 (0,00%)	1 (4,17%)	1 (4,00%)	0 (0,00%)	
Нет роста	9 (20,45%)	5 (19,23%)	5 (20,83%)	4 (16,00%)	5 (21,74%)	
Этиолированные	1 (2,27%)	0 (0,00%)	2 (8,33%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	
Недоразвитые	8 (18,18%)	4 (15,38%)	1 (4,17%)	3 (12,00%)	2 (8,70%)	
Не развивается корень	12 (27,27%)	8 (30,77%)	10 (41,67%)	10 (40,00%)	8 (34,78%)	
Степень развития	1/5	5 (11,36%)	2 (7,69%)	1 (4,17%)	3 (12,00%)	0 (0,00%)
	2/5	1 (2,27%)	2 (7,69%)	3 (12,50%)	3 (12,00%)	3 (13,04%)
	3/5	0 (0,00%)	1 (3,85%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	3 (13,04%)
	4/5	6 (13,64%)	4 (15,38%)	1 (4,17%)	1 (4,00%)	1 (4,35%)
	5/5	1 (2,27%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	1 (4,35%)
<b>3 учёт - 35 дней после высева</b>						
Инфицировано	1 (2,27%)	1 (3,85%)	1 (4,17%)	1 (4,00%)	0 (0,00%)	
Нет роста	8 (18,18%)	4 (15,38%)	3 (12,50%)	3 (12,00%)	3 (13,04%)	
Этиолированные	1 (2,27%)	0 (0,00%)	2 (8,33%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	
Недоразвитые	9 (20,45%)	5 (19,23%)	2 (8,33%)	3 (12,00%)	3 (13,04%)	
Не развивается корень	10 (22,73%)	5 (19,23%)	8 (33,33%)	8 (32,00%)	7 (30,43%)	
Степень развития	1/5	2 (4,55%)	3 (11,54%)	1 (4,17%)	2 (8,00%)	0 (0,00%)
	2/5	5 (11,36%)	2 (7,69%)	2 (8,33%)	0 (0,00%)	2 (8,70%)
	3/5	1 (2,27%)	2 (7,69%)	2 (8,33%)	3 (12,00%)	5 (21,74%)
	4/5	5 (11,36%)	4 (15,38%)	3 (12,50%)	5 (20,00%)	1 (4,35%)
	5/5	2 (4,55%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	2 (8,70%)

Таблица 2 – Процент нормально развивающихся растений по всем вариантам опыта

Сорт	Неделя учёта	2	3	5
	Стратификация	% нормально развитых растений		
<i>Ярославна</i>	-	18,2	29,5	34,1
<i>Краса Кубани</i>	1 неделя	11,5	34,6	42,3
	3 недели	8,3	20,8	33,3
<i>Краснодарская ранняя</i>	1 неделя	8,0	28,0	40,0
	3 недели	21,7	34,8	43,5

На основании этих данных построен график (рис. 2), анализируя который можно отметить, что наибольший процент нормально развивающихся эмбрионов сорта Краснодарская ранняя наблюдался в группе, прошедшей стратификацию в течение трёх недель, по сравнению со стратифицированными одну неделю. Это особо заметно на начальных этапах развития, на второй неделе учёта. В дальнейшем, на 3-й и 5-й неделе, разница в развитии эмбрионов, стратифицированных 1 и 3 недели, не так заметна, процент развитых зародышей, прошедших короткую стратификацию, начинает возрастать и приближается к таковому у зародышей с более длительной стратификацией.

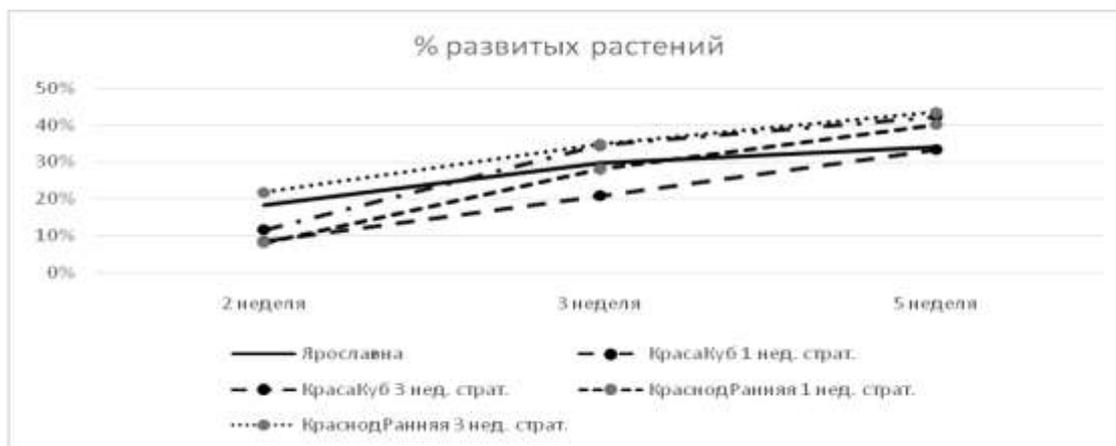


Рис. 2. График соотношения % развитых растений на различных этапах культивирования

В группе образцов сорта черешни Краса Кубани наблюдается противоположная зависимость: лучше развиваются образцы после короткой стратификации, чем после длительной. Разница между количеством развитых растений в группе с короткой стратификацией и более продолжительной

особо заметна на третьей неделе учёта и составляет 34,6 % и 20,8 % соответственно. Темпы и степень развития зародышей сорта Ярославна без стратификации находятся в среднем диапазоне между другими изучаемыми образцами с длительной и короткой стратификацией.

**Заключение.** Исходя из полученных данных, можно сделать вывод о превалировании сортовых особенностей конкретных образцов над длительностью стратификации в процессе увеличения выхода нормально развитых микрорастений, полученных из культуры эмбрионов *in vitro*. Таким образом, зависимость выхода нормально развитых микрорастений сеянцев черешни от продолжительности сроков стратификации вероятнее всего связана с генотипическими особенностями конкретных сортов.

Показана высокая эффективность дезинфицирующего средства в виде таблеток, содержащих натриевую соль дихлоризоциануровой кислоты, для обработки извлечённых из семенных оболочек незрелых эмбрионов. Применение данного метода не влияло на жизнеспособность зародышей, а количество инфицированных посторонней микрофлорой пробирок оставалось низким – не более одной пробирки в каждом опыте.

Апробирована шкала визуальной оценки степени развития микрорастений от 1/5 до 5/5, упрощающая и ускоряющая учёт результатов.

### Литература

1. Джигадло Е.Н. Совершенствование методов селекции, создание сортов вишни и черешни, их подвоев с экологической адаптацией к условиям Центрального региона России. Орел: ВНИИСПК. 2009. 268 с. <http://www.vniispk.ru/book.php?article=1&product=1&key=42>
2. Высоккий В.А. Использование методов культуры изолированных тканей и органов для оздоровления и ускоренного размножения плодовых и ягодных растений // Селекция плодовых и ягодных культур: сб. науч. тр. / ВАСХНИЛ Сиб. отд-ние НИИСС. Новосибирск, 1989. С. 132-138
3. Кузнецова А.П., Ленивецова М.С., Воронов А.А. Методы биотехнологии при создании устойчивых к коккомикозу форм рода *Cttrusus* Mill // Агро XXI. 2010. № 10-12. С. 15-17
4. Stewart, J. In vitro fertilization and embryo rescue / J. Stewart // Environ Exp Bot. – 1981. – V. 21(3/4). – P. 301–315
5. Emershad, R. *In-ovulo* embryo culture of *Vitis Vinifera* L.C.V. ‘Thompson seedless’ / R. Emershad, D. Ramming // Am J B. – 1984. – V.71(6). – P.873–877

6. Alberto P, Deither Rogers S, Byrne D (1994) Growth of immature peach embryos in response to media, ovule support method and ovule perforation / P. Alberto, S. R. Deither, D. Byrne // HortScience. – 1994. – V. 29(9). – P.1081–1083
7. Stanys, V. *In vitro* techniques to increase the output of cherry seedlings from early-ripening parents / V. Stanys // Acta Hortic. – 1998. – V. 468. – P.203–208
8. Arbeloa, A. Successful establishment of *in vitro* cultures of *Prunus cerasifera* hybrids by embryo culture of immature fruits / A. Arbeloa, E. Daorden, A. Garcia, J. A. Marin // Acta Hortic. – 2003.- V. 616. – P.315–378
9. Dulić, J. *In vitro* Germination of Early Ripening Sweet Cherry Varieties (*Prunus avium* L.) at Different Fruit Ripening Stages / J. Dulić, V. Ognjanov, S. Ercisli, M. Miodragović, G. Barać, M. Ljubojević, D. Dorić // Erwerbs-Obstbau. – 2016. – V.58(2). – P. 113-118
10. Коваленко Н.Н., Гладких С.В. Получение исходного селекционного материала сортов вишни, черешни и её отдаленных гибридов на основе использования культуры зародышей *in vitro* // Научные труды СКФНЦСВВ. Том. 14. Краснодар: СКФНЦСВВ, 2018. С. 108-114
11. Schmidt, H. Raising sweet cherry seedlings by using *in vitro* techniques / H. Schmidt, A. Ketzler // Progress in Temperate Fruit Breeding. – 1994. – V.1. – P. 381-383
12. Высоккий В.А. Биотехнологические приёмы в современном садоводстве // Плодоводство и ягодоводство России: Сб. науч. работ // Москва: ГНУ ВСТИСП Россельхозакадемии. 2011. Т. XXVI. С. 3-10
13. Плаксина Т.В. Возможности эмбриокультуры *in vitro* при сохранении ценных гибридов вишни // Северная вишня: III Всероссийский симпозиум косточковедов: сб. науч. тр. Челябинск, 2015. С. 109-113
14. Hanning, E. Zur Physiologie pflanzenlicher Embryonem, I Uberdie Kultur von Crucieren-Embryonenausserhalb des Embryosacks / E. Hanning // Z Bot., 1904. - V. 62. - P. 45-80
15. Stingl, G. Experimentelle Studie uber die Ernahrung von Pflanzlichen Embryonen / G. Stingl // Flora, 1907. – V. 97. – P. 308-331
16. Brooks, H. J., Hough, L.F., 1958. Vernalization studies with peach embryos / H. J. Brooks, L. F. Hough // Proc. Am. Soc. - Hortic. Sci. - 1958. – V.71. – P. 95-102
17. Lammerts, W. E. Embryo culture an effective technique for shortening the breeding cycle of deciduous trees and increasing germination of hybrid seed / W. E. Lammerts // American Journal of Botany, 1942. – V. 29. – P. 166-171
18. Митрофанова И.В. Соматический эмбриогенез как система *in vitro* размножения культурных растений // Физиология и биохимия культурных растений. Т. 41. № 6. 2009. С. 496-508
19. Захарченко В.В., Бунцевич Л.Л. Использование культуры изолированных зародышей черешни в селекции на раннеспелость // Генетические ресурсы культур растений: тезисы докладов межд. науч.-практ. конф. (13-16 ноября 2001 г.). СПб., 2001. С. 287-288
20. Коваленко Н.Н., Поливара Н.В. Оценка развития эксплантов вишни на этапе ввода в культуру *in vitro* // Северная вишня: Сборник материалов III Всероссийского симпозиума косточковедов (03-04 марта 2015 г.). Челябинск: ОАО «Челябинский Дом печати», 2015. С. 144-147

### References

1. Dzhigadlo E.N. Sovershenstvovanie metodov selekcii, sozdanie sortov vishni i chereshni, ih podvoev s ekologicheskoj adaptaciej k usloviyam Central'nogo regiona Rossii. Orel: VNIISPK. 2009. 268 s. <http://www.vniispk.ru/book.php?article=1&product=1&key=42>
2. Vysockij V.A. Ispol'zovanie metodov kul'tury izolirovannyh tkanej i organov dlya ozdorovleniya i uskorennoho razmnozheniya plodovyh i yagodnyh rastenij // Selekcija plodovyh

i yagodnyh kul'tur: sb. nauch. tr. / VASHNIL Sib. otd-nie NIISS. Novosibirsk, 1989. S. 132-138

3. Kuznecova A.P., Lenivceva M.S., Voronov A.A. Metody biotekhnologii pri sozdanii ustoichivyyh k kokkomikozu form roda *Strasus* Mill // Agro XXI. 2010. № 10-12. S. 15-17

4. Stewart, J. In vitro fertilization and embryo rescue / J. Stewart // Environ Exp Bot. – 1981. – V. 21(3/4). – P. 301–315

5. Emershad, R. *In-ovulo* embryo culture of *Vitis Vinifera* L.C.V. 'Thompson seedless' / R. Emershad, D. Ramming // Am J B. – 1984. – V.71(6). – P.873–877

6. Alberto P, Deither Rogers S, Byrne D (1994) Growth of immature peach embryos in response to media, ovule support method and ovule perforation / P. Alberto, S. R. Deither, D. Byrne // HortScience. – 1994. – V. 29(9). – P.1081–1083

7. Stanys, V. *In vitro* techniques to increase the output of cherry seed-lings from early-ripening parents / V. Stanys // Acta Hort. – 1998. – V. 468. – P.203–208

8. Arbeloa, A. Successful establishment of in vitro cultures of *Prunus cerasifera* hybrids by embryo culture of immature fruits / A. Arbeloa, E. Daorden, A. Garcia, J. A. Marin // Acta Hort. – 2003.- V. 616. – P.315–378

9. Dulić, J. In vitro Germination of Early Ripening Sweet Cherry Varieties (*Prunus avium* L.) at Different Fruit Ripening Stages / J. Dulić, V. Ognjanov, S. Ercisli, M. Miodragović, G. Barać, M. Ljubojević, D. Dorić // Erwerbs-Obstbau. – 2016. – V. 58(2). – P. 113-118

10. Kovalenko N.N., Gladkih S.V. Poluchenie iskhodnogo selekcionnogo materiala sortov vishni, chereshni i eë otdalennyh gibridov na osnove ispol'zovaniya kul'tury zarodyshej in vitro // Nauchnye trudy SKFNCSVV. Tom. 14. Krasnodar: SKFNCSVV, 2018. C. 108-114

11. Schmidt, H. Raising sweet cherry seedlings by using in vitro techniques / N. Schmidt, A. Ketzler // Progress in Temperate Fruit Breeding. – 1994. – V.1. – P. 381-383

12. Vysockij V.A. Biotekhnologicheskie priyomy v sovremennom sadovodstve // Plodovodstvo i yagodovodstvo Rossii: Sb. nauch. rabot // Moskva: GNU VSTISP Rossel'hozakademii. 2011. T. XXVI. S. 3-10

13. Plaksina T.V. Vozmozhnosti embriokul'tury in vitro pri sohraneni cennyh gibridov vishni // Severnaya vishnya: III Vserossijskij simpozium kostochkovedov: sb. nauch. tr. Chelyabinsk, 2015. S. 109-113

14. Hanning, E. Zur Physiologie pflanzenlicher Embryonen, I Uberdie Kultur von Cruciferen-Embryonen ausserhalb des Embryosacks / E. Hanning // Z Bot., 1904. - V. 62. - P. 45-80

15. Stingl, G. Experimentelle Studie uber die Ernahrung von Pflanzlichen Embryonen / G. Stingl // Flora, 1907. – V. 97. – P. 308-331

16. Brooks, H. J., Hough, L.F., 1958. Vernalization studies with peach embryos / H. J. Brooks, L. F. Hough // Proc. Am. Soc. - Hort. Sci. - 1958. – V.71. – P. 95-102

17. Lammerts, W. E. Embryo culture an effective technique for shortening the breeding cycle of deciduous trees and increasing germination of hybrid seed / W. E. Lammerts // American Journal of Botany, 1942. – V. 29. – P. 166-171

18. Mitrofanova I.V. Somaticheskij embriogenez kak sistema *in vitro* razmnozheniya kul'turnykh rastenij // Fiziologiya i biohimiya kul'turnykh rastenij. T. 41. № 6. 2009. S. 496-508

19. Zaharchenko V.V., Bunceovich L.L. Ispol'zovanie kul'tury izolirovannykh zarodyshej chereshni v selekcii na rannespelost' // Geneticheskie resursy kul'tur rastenij: tezisy dokladov mezhd. nauch.-prakt. konf. (13-16 noyabrya 2001 g.). SPb., 2001. S. 287-288

20. Kovalenko N.N., Polivara N.V. Ocenka razvitiya eksplantov vishni na etape vvoda v kul'turu *in vitro* // Severnaya vishnya: Sbornik materialov III Vserossijskogo simpoziuma kostochkovedov (03-04 marta 2015 g.). Chelyabinsk: OAO «Chelyabinskij Dom pečati», 2015. S. 144-147