

ОСОБЕННОСТИ ОРГАНОГЕНЕЗА
ТРУДНОКУЛЬТИВИРУЕМЫХ НИЗКОРОСЛЫХ СОРТОВ
ВИШНИ ОБЫКНОВЕННОЙ (*PRUNUS CERASUS* L.)
В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

С.С. МАКАРОВ¹, А.И. ЧУДЕЦКИЙ¹, И.Б. КУЗНЕЦОВА²,
Е.Е. ОРЛОВА¹, И.Н. ЗУБИК¹, Е.А. КОЗЛОВА¹

(¹Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева
²Костромская ГСХА)

В статье приведены результаты исследований по клональному микроразмножению трудноразмножаемой традиционными способами вишни обыкновенной (*Prunus cerasus* L.) на этапе пролиферации. Ряд современных зимостойких отечественных сортов *P. cerasus* является перспективным для плантационного выращивания данной культуры в условиях Нечерноземной зоны Европейской части России. Для получения большого количества оздоровленного и генетически однородного корнесобственного посадочного материала плодовых культур целесообразно использовать метод клонального микроразмножения. В качестве объектов исследования использовали растения-регенеранты *P. cerasus* низкорослых, средне-спелых и зимостойких сортов Ассоль и Шоколадница. Изучали особенности роста и развития растений-регенерантов *P. cerasus* при культивировании *in vitro* на питательной среде *QL* с добавлением регуляторов роста цитокининовой группы (6-БАП, тидиазурон, зеатин) в различных концентрациях. Наибольшие показатели по длине микропобегов (в среднем 13,4 мм) и количеству листьев (в среднем 6,0 шт.) растений *P. cerasus* в культуре *in vitro* отмечены у сорта Шоколадница. Наибольшая длина микропобегов *P. cerasus* сорта Ассоль отмечена на 60-е сутки культивирования на питательной среде *QL* с добавлением зеатина в концентрации 0,3 мг/л (10,5 мм) и тидиазулона в концентрации 0,3 мг/л (9,8 мм), причем при добавлении зеатина 0,3 мг/л наблюдалось наибольшее количество листьев (7,8 шт.). Наибольшая длина микропобегов *P. cerasus* сорта Шоколадница отмечена при выращивании в течение 60 сут. на питательной среде *QL* с добавлением 6-БАП в концентрациях 0,5 мг/л (17,7 мм) и 1,0 мг/л (14,2 мм). При этом наибольшее количество листьев (7,2 шт.) наблюдалось при выращивании на среде с добавлением зеатина 0,3 мг/л.

Ключевые слова: вишня обыкновенная, сорт, клональное микроразмножение, *in vitro*, микропобеги, питательная среда, регуляторы роста.

Введение

Вишня обыкновенная (*Prunus cerasus* L.) имеет высокое пищевое, лекарственное и декоративное значение и на сегодняшний день является одной из наиболее перспективных плодовых культур для плантационного выращивания в Нечерноземной зоне Европейской части России. В данных почвенно-климатических условиях на хорошем агрофоне и при рациональном подборе ассортимента вишня может давать 40–50 ц/га [15, 18]. Однако в промышленном садоводстве Центральной части страны культура вишни на сегодняшний день имеет низкий удельный вес, что во многом объясняется массовым вымерзанием косточковых, неправильным подбором земель под насаждения, низким уровнем агротехники, широким распространением грибных болезней (в первую очередь – коккомикоза) и другими причинами [14, 20, 24].

За последние годы в России выведен ряд новых перспективных сортов и сорто-подвойных комбинаций вишни, которые по сочетанию основных хозяйственно-биологических признаков (зимостойкость, самоплодность, урожайность, вкусовые и технологические качества) превосходят ранее известные районированные в различных областях Нечерноземья [1, 3, 9, 10, 13, 15, 22]. Однако массовое получение корнесобственного посадочного материала данной культуры с использованием традиционных способов размножения для плантационного выращивания является проблематичным [24]. В связи с этим следует прибегать к использованию метода клонального микроразмножения, который позволяет получать большое количество высококачественного, безвирусного и генетически однородного, корнесобственного посадочного материала за короткий срок в течение года [2, 4, 21].

Многочисленные исследования и имеющийся опыт клонального микроразмножения сортов, гибридов и подвоев *P. cerasus* во всем мире [5–7, 11, 12, 23, 25–30] показывают особенности роста и развития растений-регенерантов в зависимости от генотипа. Для ряда современных трудноразмножаемых отечественных сортов для средней полосы России требуются совершенствование и разработка полного технологического цикла их выращивания в культуре *in vitro*.

Цель исследований: изучение особенностей и совершенствование технологии клонального микроразмножения некоторых современных отечественных сортов *P. cerasus*.

Материал и методы исследований

Объектом исследований являлись растения вишни обыкновенной (*Prunus cerasus* L.) сортов Ассоль и Шоколадница, которые являются низкорослыми (до 2–2,5 м), среднеспелыми и зимостойкими. Исследования по клональному микроразмножению растений проводили на базе Костромской ГСХА и РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева с использованием общепринятых методик [21].

В качестве исходных эксплантов для введения в культуру *in vitro* использовали апикальные меристемы, изолированные из почек от 3-летних растений. Экспланты стерилизовали в растворах нитрата серебра (0,2%), сулемы (0,1%) и дезинфицирующего средства Лизоформин 3000 (5%) в течение 5–10 мин, после чего экспланты промывали в стерильной бидистиллированной воде. После процессов стерилизации и отмытки стерилизующих средств экспланты помещали в пробирки с питательной средой Кворина-Лепуавра (QL) и культивировали в течение 20–30 сут. для получения асептической культуры.

Далее растения подразделяли на микропобеги, после чего их культивирование проводили в стерильных лабораторных условиях при освещении 2500–3000 лк, фотопериоде 16/8 ч, температуре окружающей среды +25°C и относительной влажности воздуха 80%.

На этапе пролиферации (собственно микроразмножение) изучали влияние различных аналогов природных цитокининов, добавленных к питательной среде QL в разных концентрациях, на длину микропобегов и количество листьев растений. В качестве регуляторов роста использовали: 6-бензиламинопурин (6-БАП) в концентрациях 0,5 и 1,0 мг/л; тидиазурон (ТДЗ) в концентрациях 0,1 и 0,3 мг/л; зеатин в концентрациях 0,3 и 0,5 мг/л. В качестве контроля рассматривали безгормональный состав питательной среды QL. Проводили 3 учета через каждые 20 дней с момента пересадки растений на питательную среду с добавлением регуляторов роста. Повторность опыта – 3-кратная, по 10 пробирочных растений в каждой.

Обработку экспериментальных данных осуществляли методом дисперсионного анализа двухфакторного опыта по общепринятым методикам [8] с использованием наименьшей существенной разности на 5%-ном уровне значимости (HCp_{05}), где фактор А – состав питательной среды, фактор В – сорт.

Результаты и их обсуждение

По результатам первого учета на 20-е сутки после высадки растений-регенерантов *P. cerasus* на питательную среду QL отмечено, что микропобеги сорта Ассоль, высаженные на питательную среду с добавлением тидиазурона в концентрации 0,1 и 0,3 мг/л, зеатина в концентрациях 0,3 и 0,5 мг/л, были выровнены по длине (6,1–6,3 мм). Длина микропобегов *P. cerasus* сорта Шоколадница в культуре *in vitro* оказалась в среднем в 1,5 раза больше, чем у сорта Ассоль (табл. 1).

Таблица 1

Длина микропобегов *P. cerasus* в культуре *in vitro* в зависимости от сорта и состава питательной среды на этапе пролиферации на 20-е сутки, мм

Состав питательной среды	Сорт		Среднее
	Ассоль	Шоколадница	
QL (контроль)	3,9	6,1	5,0
QL + 6-БАП 0,5 мг/л	5,5	10,8	8,1
QL + 6-БАП 1,0 мг/л	9,2	10,3	9,7
QL + ТДЗ 0,1 мг/л	6,1	8,5	7,3
QL + ТДЗ 0,3 мг/л	6,3	12,6	9,4
QL + зеатин 0,3 мг/л	6,3	9,9	8,1
QL + зеатин 0,5 мг/л	6,3	9,1	7,7
Среднее	6,2	9,6	-
HCp ₀₅ ф. А = 1,27; ф. В = 2,16; общ. = 3,08			

Значительно выделяются по длине микропобегов (в среднем 9,4–9,7 мм) варианты питательной среды с добавлением QL 6-БАП в концентрации 1,0 мг/л и тидиазурона в концентрации 0,1 мг/л (рис. 1). Наименьший показатель длины побегов (7,3 мм) наблюдался в варианте с тидиазуоном в концентрации 0,1 мг/л.

Второй учет, на 40-е сутки после высадки *P. cerasus* на питательную среду QL, показал, что наибольшая длина микропобегов достигнута при выращивании на среде с добавлением 6-БАП в концентрации 0,5 мг/л (в среднем по сортам – 10,1 мм), тидиазурона в концентрации 0,3 мг/л (10,7 мм) и зеатина в концентрации 0,3 мг/л (11,3 мм). Наименьший показатель длины микропобегов (8,4 мм) отмечен в варианте с добавлением тидиазурона в концентрации 0,1 мг/л (табл. 2). Как и при первом учете, длина микропобегов была выше у сорта Шоколадница, чем у сорта Ассоль.



Рис. 1. Растения-регенеранты *P. cerasus* на этапе побегообразования *in vitro* на питательной среде QL

Таблица 2

Длина микропобегов *P. cerasus* в культуре *in vitro* в зависимости от сорта и состава питательной среды на этапе пролиферации на 40-е сутки, мм

Состав питательной среды	Сорт		Среднее
	Ассоль	Шоколадница	
QL (контроль)	5,7	6,3	6,0
QL + 6-БАП 0,5 мг/л	10,0	10,2	10,1
QL + 6-БАП 1,0 мг/л	8,5	11,0	9,8
QL + ТДЗ 0,1 мг/л	7,7	9,2	8,4
QL + ТДЗ 0,3 мг/л	8,7	12,7	10,7
QL + зеатин 0,3 мг/л	8,5	14,2	11,3
QL + зеатин 0,5 мг/л	9,2	9,7	9,4
Среднее	8,3	10,5	-
НСР ₀₅ ф. А = 1,39; ф. В = 2,38; общ. = 3,35			

На 40-е сутки выращивания растений-регенерантов *P. cerasus* на питательной среде QL при увеличении концентрации 6-БАП с 0,5 до 1,0 мг/л длина микропобегов у сорта Ассоль в культуре *in vitro* уменьшилась в среднем в 1,2 раза, тогда как у сорта Шоколадница она, напротив, незначительно возросла (в 1,1 раза). Увеличение концентрации тидиазурона с 0,1 до 0,3 мг/л для обоих исследуемых сортов привело к существенному увеличению длины микропобегов в 1,3 раза (в среднем по сортам). При увеличении в питательной среде концентрации зеатина с 0,3 до 0,5 мг/л длина микропобегов *P. cerasus* сорта Ассоль увеличилась в 1,1 раза, а у сорта Шоколадница уменьшилась в 1,5 раза.

При проведении третьего учета, на 60-е сутки выращивания растений-регенерантов *P. cerasus* на питательной среде QL, отмечено, что сорт Шоколадница так же, как и при предыдущих двух учетах, отличался от сорта Ассоль большей длиной

микроробегов. Длина микроробегов растений у сорта Ассоль при добавлении в питательную среду 6-БАП в концентрации 0,5 и 1,0 мг/л несущественно отличалась и составила в среднем 8,7–8,8 мм. Однако длина побегов растений сорта Шоколадница в культуре *in vitro* при уменьшении в питательной среде концентрации цитокинина 6-БАП с 1,0 до 0,5 мг/л увеличилась в 1,3 раза, причем эти показатели были самыми высокими по сравнению с остальными вариантами состава питательной среды (табл. 3).

Таблица 3

Длина микроробегов *P. cerasus* в культуре *in vitro* в зависимости от сорта и состава питательной среды на этапе пролиферации на 60-е сутки, мм

Состав питательной среды	Сорт		Среднее
	Ассоль	Шоколадница	
QL (контроль)	6,2	7,6	6,9
QL + 6-БАП 0,5 мг/л	8,7	17,7	13,2
QL + 6-БАП 1,0 мг/л	8,8	14,2	11,5
QL + ТДЗ 0,1 мг/л	6,8	9,2	8,0
QL + ТДЗ 0,3 мг/л	9,8	13,8	11,8
QL + зеатин 0,3 мг/л	10,5	13,8	12,2
QL + зеатин 0,5 мг/л	9,2	11,7	10,4
Среднее	8,6	12,6	-
НСР ₀₅ ф. А = 1,42; ф. В = 2,47; общ. = 3,45			

По всем вариантам питательной среды с гормонами длина микроробегов *P. cerasus* у сорта Шоколадница была в среднем в 1,5 раза выше, чем у сорта Ассоль. Наибольшие показатели длины микроробегов отмечены при добавлении 6-БАП в концентрации 0,5 мг/л (13,2 мм), зеатина 0,3 мг/л (12,2 мм), а также тидиазурона 0,3 мг/л (11,8 мм). Наименьший показатель длины побегов (8,0 мм), как и при предыдущих двух учетах, наблюдался при добавлении в питательную среду тидиазурона в концентрации 0,1 мг/л. В среднем по сортам увеличение концентрации тидиазурона с 0,1 до 0,3 мг/л способствовало значительному (в 1,5 раза) увеличению длины микроробегов *P. cerasus*. Для обоих сортов по данным третьего учета при увеличении концентрации зеатина с 0,3 до 0,5 мг/л наблюдалось незначительное снижение длины микроробегов (в 1,2 раза).

По результатам данных трех учетов установлено, что наиболее интенсивный рост микроробегов *P. cerasus* наблюдался при добавлении в питательную среду 6-БАП в концентрации 0,5 мг/л, зеатина 0,3 мг/л и тидиазурона 0,3 мг/л, когда длина микроробегов составила в среднем 10,5–10,7 мм. Наименьшая длина побегов была отмечена в варианте с тидиазуроном в концентрации 0,1 мг/л и в среднем по трем учетам составила 7,9 мм (табл. 4).

При проведении первого учета (20-е сутки культивирования растений *P. cerasus* на питательной среде QL) отмечено наибольшее количество листьев у сорта Шоколадница (в среднем по вариантам – 4,0 шт.), тогда как у сорта Ассоль количество листьев было в 1,5 раза ниже. При этом максимального значения (5,3 шт.) данный

показатель у сорта Шоколадница достигал в варианте с добавлением зеатина в концентрации 0,5 мг/л. Варианты питательной среды с добавлением 6-БАП 0,5 мг/л, зеатина 0,3 мг/л и 0,5 мг/л дали наибольшие показатели по сравнению с остальными и составили в среднем 3,7–4,1 шт. Наименьшее количество листьев (в среднем 2,8 шт.) наблюдалось в варианте с тидиазуроном 0,1 мг/л (табл. 5).

Таблица 4

Длина микропобегов *P. cerasus* в культуре *in vitro* в среднем по результатам трех проведенных учетов в зависимости от состава питательной среды, мм

Состав питательной среды	Период учета			Среднее по трем учетам
	20-е сутки	40-е сутки	60-е сутки	
QL (контроль)	5,0	6,0	6,9	6,0
QL + 6-БАП 0,5 мг/л	8,1	10,1	13,2	10,5
QL + 6-БАП 1,0 мг/л	9,7	9,8	11,5	10,3
QL + ТДЗ 0,1 мг/л	7,3	8,4	8,0	7,9
QL + ТДЗ 0,3 мг/л	9,4	10,7	11,8	10,7
QL + зеатин 0,3 мг/л	8,1	11,3	12,2	10,5
QL + зеатин 0,5 мг/л	7,7	9,4	10,4	9,2
НСР ₀₅	2,19	2,40	2,51	-

Таблица 5

Количество листьев *P. cerasus* в культуре *in vitro* в зависимости от сорта и состава питательной среды на этапе пролиферации на 20-е сутки, шт.

Состав питательной среды	Сорт		Среднее
	Ассоль	Шоколадница	
QL (контроль)	1,5	2,1	1,8
QL + 6-БАП 1,0 мг/л	2,4	3,6	3,0
QL + 6-БАП 0,5 мг/л	3,9	4,4	4,1
QL + ТДЗ 0,1 мг/л	2,1	3,4	2,8
QL + ТДЗ 0,3 мг/л	3,0	3,5	3,3
QL + зеатин 0,3 мг/л	3,0	4,0	3,5
QL + зеатин 0,5 мг/л	2,1	5,3	3,7
Среднее	2,6	3,8	-
НСР ₀₅ ф. А = 0,67; ф. В = 1,12; общ. = 1,56			

По результатам второго учета выявлено, что снижение концентрации препаратов способствовало увеличению облиственности микропобегов изучаемых сортов *P. cerasus* в культуре *in vitro* (табл. 6). При уменьшении в составе питательной среды QL концентрации 6-БАП с 1,0 до 0,5 мг/л количество листьев в среднем по сортам увеличилось в 1,5 раза. Уменьшение концентрации тидиазурона с 0,3 до 0,1 мг/л способствовало лишь незначительному увеличению количества листьев, причем у сорта Шоколадница при увеличении концентрации тидиазурона с 0,1 до 0,3 мг/л количество листьев увеличилось в 1,4 раза. Увеличение концентрации зеатина с 0,3 до 0,5 мг/л привело к значительному снижению облиственности микропобегов *P. cerasus* – в среднем в 1,4 раза.

Таблица 6

Количество листьев *P. cerasus* в культуре *in vitro* в зависимости от сорта и состава питательной среды на этапе пролиферации на 40-е сутки, шт.

Состав питательной среды	Сорт		Среднее
	Ассоль	Шоколадница	
QL (контроль)	2,2	3,6	2,9
QL + 6-БАП 0,5 мг/л	4,7	8,8	6,8
QL + 6-БАП 1,0 мг/л	4,0	5,3	4,7
QL + ТДЗ 0,1 мг/л	4,8	4,2	4,5
QL + ТДЗ 0,3 мг/л	2,7	6,0	4,3
QL + зеатин 0,3 мг/л	6,7	7,0	6,8
QL + зеатин 0,5 мг/л	3,3	6,3	4,8
Среднее	4,1	5,9	-
НСР ₀₅ ф. А = 1,08; ф. В = 1,79; общ. = 2,54			

Наибольшее количество листьев *P. cerasus* (6,8 шт.) отмечалось при культивировании на питательной среде QL с добавлением зеатина 0,3 мг/л и 6-БАП 0,5 мг/л. В варианте с добавлением тидиазурона 0,1 мг/л, как и в предыдущих учетах, выявлено наименьшее количество листьев.

Третий учет показал, что наибольшее количество листьев растений *P. cerasus* в культуре *in vitro* (в среднем по сортам 6,6–7,5 шт.) образовывалось на микропобегах, высаженных на питательную среду QL с добавлением 6-БАП в концентрации 1,0 мг/л и зеатина в концентрации 0,3 мг/л (табл. 7). В среднем по вариантам питательной среды количество листьев у сорта Шоколадница было несколько выше (в 1,1 раза), чем у сорта Ассоль.

При увеличении в питательной среде QL концентрации цитокинина 6-БАП с 0,5 до 1,0 мг/л количество листьев *P. cerasus* увеличилось в среднем по сортам в 1,5 раза. При уменьшении концентрации тидиазурона количество листьев на микропобегах вишни возросло в 1,3 раза. Снижение концентрации зеатина привело к увеличению облиственности микропобегов вишни обоих сортов – в среднем в 1,3 раза.

Таблица 7

Количество листьев *P. cerasus* в культуре *in vitro* в зависимости от сорта и состава питательной среды на этапе пролиферации на 60-е сутки, шт.

Состав питательной среды	Сорт		Среднее
	Ассоль	Шоколадница	
QL (контроль)	2,6	4,0	3,3
QL + 6-БАП 0,5 мг/л	3,8	5,2	4,5
QL + 6-БАП 1,0 мг/л	7,3	5,8	6,6
QL + ТДЗ 0,1 мг/л	5,0	6,3	5,7
QL + ТДЗ 0,3 мг/л	3,2	5,5	4,3
QL + зеатин 0,3 мг/л	7,8	7,2	7,5
QL + зеатин 0,5 мг/л	5,8	5,8	5,8
Среднее	5,1	5,7	-
НСР ₀₅ ф. А = 1,06; ф. В = 1,81; общ. = 2,55			

Подводя итоги по трем проведенным учетам, можно отметить, что наибольшее листообразование наблюдалось у микропобегов *P. cerasus*, выращенных на питательной среде QL с добавлением тидиазурона в концентрации 0,3 мг/л и 6-БАП в концентрации 1,0 мг/л, когда количество листьев увеличилось в 2,1–2,2 раза с первого до третьего учетов (табл. 8).

Таблица 8

Количество листьев *P. cerasus* в культуре *in vitro* в среднем по результатам трех проведенных учетов в зависимости от состава питательной среды, шт.

Состав питательной среды	Период учета			Среднее по трем учетам
	20-е сутки	40-е сутки	60-е сутки	
QL (контроль)	1,8	2,9	3,3	2,7
QL + 6-БАП 0,5 мг/л	4,1	6,8	4,5	5,1
QL + 6-БАП 1,0 мг/л	3,0	4,7	6,6	4,8
QL + ТДЗ 0,1 мг/л	2,8	4,5	5,7	4,3
QL + ТДЗ 0,3 мг/л	3,3	4,3	4,3	4,0
QL + зеатин 0,3 мг/л	3,5	6,8	7,5	6,0
QL + зеатин 0,5 мг/л	3,7	4,8	5,8	4,8
НСР ₀₅	1,12	1,80	1,82	-

Сравнивая полученные результаты с данными опытов других исследователей по клональному микроразмножению *P. cerasus* [5–7, 11, 12, 23, 25–30], можно отметить, что разница в экспериментальных данных указывает на зависимость значений биометрических показателей растений-регенерантов не только от определенного генотипа, но и от применяемых в процессе выращивания в культуре *in vitro* составов питательных сред, типов росторегулирующих веществ и их концентраций, а также сроков культивирования.

Выводы

Таким образом, в результате проведенных исследований по клональному микроразмножению вишни обыкновенной низкорослых среднеспелых сортов российской селекции установлено, что при выборе оптимального состава питательной среды для каждого конкретного сорта необходимо учитывать его индивидуальные особенности и поведение в процессе культивирования *in vitro*. Полученные данные позволяют рекомендовать для клонального микроразмножения *P. cerasus* сорта Ассоль на этапе пролиферации использование питательной среды Кворина-Лепуавра с добавлением зеатина в концентрации 0,3–0,5 мг/л или тидиазурона 0,3 мг/л в концентрации; сорта Шоколадница – с добавлением 6-БАП в концентрации 0,5–1,0 мг/л.

Библиографический список

1. Астахов А.А. Новые сорта вишни и черешни для юга Нечерноземья // Садоводство и виноградарство. – 2007. – № 5. – С. 21–23.
2. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе. – М.: ФБК-Пресс, 1999. – 160 с.
3. Верзилин А.В. Новые сорто-подвойные комбинации вишни // Современное садоводство. – 2016. – № 4. – С. 19–24. – URL: <http://journal.vniispk.ru/> (дата обращения: 01.07.2023).
4. Вечернина Н.А. Методы биотехнологии в селекции, размножении и сохранении генофонда растений: М. – Барнаул: Изд-во Алтайского университета, 2004. – 205 с.
5. Высоцкий В.А., Олешко Е.В. Совершенствование питательной среды для клонального микроразмножения вишни // Агротехника и сортоизучение плодовых культур: Сборник научных трудов. – М., 1985. – С. 72–76.
6. Деменко В.И., Трушечкин В.Г. Размножение вишни методом *in vitro* // Сельскохозяйственная биология. – 1983. – № 7. – С. 51–53.
7. Джигадло М.И. Использование биотехнологических и биофизических методов в селекции и сорторазведении плодовых и ягодных культур: Автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. – Мичуринск, 2003. – 26 с.
8. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований): Учебник. – Изд. 6-е. – М.: Альянс, 2011. – 350 с.
9. Каньшина М.В., Астахов А.А., Мисникова Н.В., Яговенко Г.Л. Оценка адаптивности сортообразцов вишни и черешни на юге Нечерноземья // Селекция и сорторазведение садовых культур. – 2021. – Т. 8, № 1–2. – С. 45–48. DOI: 10.24411/2500–0454–2021–10114.
10. Карташова О.Н. Зимостойкость и продуктивность новых сортов вишни в условиях Нечерноземья: Автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. – М., 2009. – 26 с.
11. Коваленко Н.Н., Поливара Н.В. Совершенствование способа получения свободных от сапрофитной микрофлоры зародышей рода *Prunus* L. для культуры *in vitro* // Плодоводство и виноградарство Юга России. – 2020. – № 63 (3). – С. 107–120. DOI: 10.30679/2219–5335–2020–3–63–107–120.

12. *Красинская Т.А.* Стабилизация эксплантов сортов вишни в культуре in vitro // Плодоводство. – 2017. – Т. 29. – С. 88–92.
13. *Кузнецова Л.А.* Хозяйственно-биологические особенности новых сорто-подвойных комбинаций вишни в питомнике: Автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. – Мичуринск, 2011. – 22 с.
14. *Метлицкая К.В., Упадъшев М.Т., Петрова А.Д., Упадъшева Г.Ю.* Мониторинг вредоносных вирусов в насаждениях вишни и черешни в Подмосковье // Плодоводство и ягодоводство России. – 2016. – Т. 46. – С. 227–231.
15. *Михеев А.М., Ревякина Н.Т.* Вишня: М. – Изд. 2-е, перераб. и доп. – М.: Агропромиздат, 1991. – 40 с.
16. *Михеев А.М., Евстратов А.И., Симонов В.С.* Новые перспективные в условиях Нечерноземья сорта вишни и сливы // Плодоводство и ягодоводство России. – 1997. – Т. 4. – С. 14–19.
17. *Молканова О.И., Королева О.В., Стахеева Т.С., Крахмалева И.Л., Мелещук Е.А.* Совершенствование технологии клонального микроразмножения ценных плодовых и ягодных культур для производственных условий // Достижения науки и техники АПК. – 2018. – Т. 32, № 9. – С. 66–69. DOI: 10.24411/0235–2451–2018–10915.
18. *Орлова С.Ю.* Биологические особенности и селекционная ценность сортов вишни в условиях северо-запада России: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – СПб., 2002. – 20 с.
19. *Острикова О.В., Федотова И.Э., Хархардина Е.Л.* Изучение репродукционного потенциала клоновых подвоев вишни при клональном микроразмножении // Плодоводство и ягодоводство России. – 2020. – Т. 59. – С. 39–46. DOI: 10.31676/2073–4948–2019–59–39–46.
20. *Приходько Ю.Н., Чирков С.Н., Метлицкая К.В., Цубера Л.В.* Распространенность вирусных болезней косточковых культур в Европейской части России // Сельскохозяйственная биология. – 2008. – № 1. – С. 26–32.
21. Сельскохозяйственная биотехнология и биоинженерия: Учебник / Под ред. В.С. Шевелухи. – М.: URSS, 2015. – 715 с.
22. *Солонкин А.В.* Стратегия селекции вишни и сливы для создания сортов в Нижнем Поволжье, возделываемых по современным технологиям: Дис. ... д-ра с.-х. наук. – Волгоград, 2017. – 349 с.
23. *Фаустов В.В., Олешко Е.В., Жаркова И.В., Асадулаев З.М., Шарафутдинов Х.В., Исмаил Х.* Микрклональное размножение вишни // Известия ТСХА. – 1988. – Вып. 5. – С. 131–148.
24. *Шарафутдинов Х.В.* Саженцы вишни и черешни. Эффективные способы получения привитых растений: Монография. – М.: МЭСХ, 2020. – 136 с.
25. *Шахов В.В., Федотова И.Э., Ташматова Л.В., Мацнева О.В., Хромова Т.М.* Влияние сезонного фактора на приживаемость эксплантов вишни обыкновенной в культуре in vitro // Международный научно-исследовательский журнал. – 2020. – № 11–1 (101). – С. 159–162. DOI: 10.23670/IRJ.2020.101.11.027.
26. *Cerović R., Ružić D.* Micropropagation of Sour Cherry (*Prunus cerasus* L.) cv. Šumadinka // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 1987. – Vol. 9. – Pp. 151–157.
27. *Dorić D., Ognjanov V., Barać G., Ljubojević M., Pranjčić A., Dugalić K., Erčićli S.* Use of In Vitro Propagation of «Oblačinska» Sour Cherry in Rootstock Breeding // Turkish Journal of Biology. – 2015. – Vol. 39, № 4. – Article 8. – URL: <https://journals.tubitak.gov.tr/biology/vol39/iss4/8>. DOI: 10.3906/biy-1412–85.
28. *Gashi A., Thomaj T., Mitrushi T., Kukali E.* Optimization of Nutrient Media of in Vitro Propagation for Some Cherry Rootstocks (*Prunus cerasus*) // Anglisticum Journal (IJLLIS). – 2017. – Vol. 6, Iss. 12. – Pp. 54–61. DOI: 10.5281/zenodo.1134340.

29. Singh S.R., Sundouri A.S., Sharma M.K., Srivastava K.K., Dar H.A. Proliferation and Rooting Efficiency Studies in Sour Cherry (*Prunus cerasus*) Using In Vitro Techniques // Journal of Horticultural Sciences. – 2010. – Vol. 5, № 1. – Pp. 48–52.

30. Tang H., Ren Z., Krczal G. Somatic Embryogenesis and Organogenesis from Immature Embryo Cotyledons of Three Sour Cherry Cultivars (*Prunus cerasus* L.) // Scientia Horticulturae. – 2000. – Vol. 83. – Pp. 109–126.

PECULIARITIES OF ORGANOGENESIS OF HARD CULTURED LOW-GROWING CULTIVARS OF SOUR CHERRY (*PRUNUS CERASUS* L.) IN IN VITRO CULTURE

S.S. MAKAROV¹, A.I. CHUDETSKIY¹, I.B. KUZNETSOVA²,
E.E. ORLOVA¹, I.N. ZUBIK¹, E.A. KOZLOVA¹

(¹Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, ²Kostroma State Agricultural Academy)

*The article presents the results of research on clonal micropropagation of sour cherry (*Prunus cerasus* L.) which is difficult to reproduce at the proliferation stage by traditional methods. A number of modern winter-hardy domestic cultivars of *P. cerasus* are promising for plantation cultivation of this crop in the Nonchernozem zone of the European part of Russia. The method of clonal micropropagation is advisable to obtain a large amount of healthy and genetically homogeneous rootstocks of fruit crops. Regenerated plants of *P. cerasus* of low-growing, mid-season and winter-hardy cultivars Assol' and Shokoladnitsa were used as research objects. The growth and developmental features of *P. cerasus* regenerated plants were studied during in vitro cultivation on a QL nutrient medium supplemented with growth regulators of the cytokinin group (6-BAP, thidiazuron, zeatin) in different concentrations. The highest indicators for the length of microshoots (average 13.4 mm) and the number of leaves (average 6.0 pcs.) of *P. cerasus* plants in in vitro culture are recorded for the Shokoladnitsa cultivar. The maximum length of microshoots of *P. cerasus* Assol' cultivar is observed on the 60th day of cultivation on a QL nutrient medium with the addition of zeatin at a concentration of 0.3 mg/l (10.5 mm) and thidiazuron at a concentration of 0.3 mg/l (9.8 mm), while the maximum number of leaves (7.8 pieces) is observed with addition of 0.3 mg/l zeatin. The maximum length of microshoots of *P. cerasus* of the Shokoladnitsa cultivar is observed when grown for 60 days on a QL nutrient medium with the addition of 6-BAP at concentrations of 0.5 mg/l (17.7 mm) and 1.0 mg/l (14.2 mm), while the maximum number of leaves (7.2 pieces) is observed with addition of 0.3 mg/l zeatin.*

Key words: sour cherry, cultivars, clonal micropropagation, in vitro, microshoots, nutrient medium, growth regulators.

References

1. Astakhov A.A. New varieties of sour cherry and sweet cherry for the South of the Non-Chernozem Region. Horticulture and Viticulture. 2007; 5: 21–23. (In Rus.)
2. Butenko R.G. Biology of cells of higher plants in vitro and biotechnology based on them. Moscow: FBK-Press, 1999: 160. (In Rus.)
3. Verzilin A.V. New variety-rootstock combinations of cherry. Contemporary Horticulture. 2016; 4: 19–24. URL: <http://journal.vniispk.ru> (In Rus.)
4. Vechernina N.A. Methods of biotechnology in breeding, reproduction and conservation of the plant gene pool. Barnaul: Izd-vo Altayskogo un-ta. 2004: 205. (In Rus.)

5. *Vysotskiy V.A., Oleshko E.A.* Improvement of the nutrient medium for clonal micropropagation of cherry. *Agrotekhnika i sortoizuchenie plodovykh kul'tur*. Moscow, 1985: 72–76. (In Rus.)
6. *Demenko V.I., Trushechkin V.G.* Cherry propagation by in vitro method. *Agricultural Biology*. 1983; 7: 51–53. (In Rus.)
7. *Dzhigadlo M.I.* Use of biotechnological and biophysical methods in selection and cultivar breeding of fruit and berry crops. CSc (Ag) thesis. Michurinsk, 2003: 26. (In Rus.)
8. *Dospekhov B.A.* Methods of field experience (with the basics of statistical processing of research results): Textbook. Moscow: Al'yans. 2011: 350. (In Rus.)
9. *Kanshina M.V., Astakhov A.A., Misnikova N.V., Yagovenko G.L.* Evaluation of the adaptability of sour cherry and sweet cherry cultivars in the South of the Non-Chernozem Region. *Selektsiya i sortorazvedenie sadovykh kul'tur*. 2021; 8; 1–2: 45–48. DOI: 10.24411/2500–0454–2021–10114 (In Rus.)
10. *Kartashova O.N.* Winter hardiness and productivity of new cherry cultivars in the conditions of the Non-Chernozem Region. CSc (Ag) thesis. Moscow, 2009: 26. (In Rus.)
11. *Kovalenko N.N., Polivara N.V.* Improvement of the method for obtaining free from saprophytic microflora embryos of the genus *Prunus* L. for in vitro culture. *Plodovodstvo i Vinogradarstvo Yuga Rossii*. 2020; 63 (3): 107–120. DOI: 10.30679/2219–5335–2020–3–63–107–120 (In Rus.)
12. *Krasinskaya T.A.* Stabilization of explants of cherry cultivars in in vitro culture. *Fruit-Growing*. 2017; 29: 88–92. (In Rus.)
13. *Kuznetsova L.A.* Economic and biological features of new variety-rootstock combinations of cherry in the nursery. CSc (Ag) thesis. Michurinsk, 2011: 22. (In Rus.)
14. *Metlitskaya K.V., Upadyshev M.T., Petrova A.D., Upadysheva G.Yu.* Monitoring of harmful viruses in sour cherry and sweet cherry plantations in the Moscow Region. *Pomiculture and Small Fruits Culture in Russia*. 2016; 46: 227–231. (In Rus.)
15. *Mikheev A.M., Revyakina N.T.* Cherry. Moscow: Agropromizdat, 1991: 40. (In Rus.)
16. *Mikheev A.M., Evstratov A.I., Simonov V.S.* New promising cultivars of cherry and plum in the conditions of the Non-Chernozem Region. *Pomiculture and Small Fruits Culture in Russia*. 1997; 4: 14–19. (In Rus.)
17. *Molkanova O.I., Koroleva O.V., Stakheeva T.S., Krakhmaleva I.L., Meleshchuk E.A.* Improving the technology of clonal micropropagation of valuable fruit and berry crops for production conditions. *Achievements of Science and Technology in Agro-Industrial Complex*. 2018; 32 (9): 66–69. DOI: 10.24411/0235–2451–2018–10915 (In Rus.)
18. *Orlova S.Yu.* Biological features and breeding value of cherry cultivars in the conditions of the North-West of Russia. CSc (Bio) thesis. St. Petersburg, 2002: 20. (In Rus.)
19. *Ostrikova O.V., Fedotova I.E., Kharkhardina E.L.* Study of the reproductive potential of clonal cherry rootstocks during clonal micropropagation. *Pomiculture and Small Fruits Culture in Russia*. 2020. 59: 39–46. DOI: 10.31676/2073–4948–2019–59–39–46 (In Rus.)
20. *Prihod'ko Yu.N., Chirkov S.N., Metlitskaya K.V., Tsubera L.V.* Prevalence of viral diseases of stone fruit crops in the European part of Russia. *Agricultural Biology*. 2008; 1: 26–32. (In Rus.)
21. *Shevelukha V.S.* Agricultural biotechnology and bioengineering. Textbook. Moscow: URSS, 2015: 715. (In Rus.)
22. *Solonkin A.V.* Cherry and plum breeding strategy to create cultivars cultivated using modern technologies in the Lower Volga Region. DSc (Ag) thesis. Volgograd, 2017: 349. (In Rus.)

23. Faustov V.V., Oleshko E.V., Zharkova I.V., Asadulaev Z.M., Sharafutdinov Kh.V., Ismail Kh. Clonal micropropagation of cherry. *Izvestiya of Timiryazev Agricultural Academy*. 1988; 5; 131–148. (In Rus.)
24. Sharafutdinov Kh.V. Sour cherry and sweet cherry seedlings. Effective methods for obtaining grafted plants. Monograph. Moscow: MESKh, 2020: 136. (In Rus.)
25. Shakhov V.V., Fedotova I.E., Tashmatova L.V., Matsneva O.V., Khromova T.M. Effect of the seasonal factor on the survival of sour cherry explants in in vitro culture. *International Research Journal*. 2020; 11–1 (101): 159–162. DOI: 10.23670/IRJ.2020.101.11.027 (In Rus.)
26. Cerović R., D. Ružić Micropropagation of Sour Cherry (*Prunus cerasus* L.) cv. Šumadinka. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 1987; 9: 151–157.
27. Dorić D., Ognjanov V., Barać G., Ljubojević M., Pranjčić A., Dugalić K., Ercišli S. Use of In Vitro Propagation of ‘Oblačinska’ Sour Cherry in Rootstock Breeding. *Turkish Journal of Biology*. 2015; 39; 4: 8. [Electronic source]. URL: <https://journals.tubitak.gov.tr/biology/vol39/iss4/8> DOI: 10.3906/biy-1412–85
28. Gashi A., Thomaj T., Mitrushi T., Kukali E. Optimization of Nutrient Media of In Vitro Propagation for Some Cherry Rootstocks (*Prunus cerasus*). *Anglisticum Journal (IJLLIS)*. 2017; 6; 12: 54–61. DOI: 10.5281/zenodo.1134340
29. Singh S.R., Sundouri A.S., Sharma M.K., Srivastava K.K., Dar H.A. Proliferation and Rooting Efficiency Studies in Sour Cherry (*Prunus cerasus*) Using In Vitro Techniques. *Journal of Horticultural Sciences*. 2010; 5; 1: 48–52.
30. Tang H., Ren Z., Krczal G. Somatic Embryogenesis and Organogenesis from Immature Embryo Cotyledons of Three Sour Cherry Cultivars (*Prunus cerasus* L.). *Scientia Horticulturae*. 2000; 83: 109–126.

Макаров Сергей Сергеевич, д-р с.-х. наук, заведующий кафедрой декоративного садоводства и газоноведения, Российский государственный аграрный университет – МСХА К.А. Тимирязева; 127434, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; e-mail: s.makarov@rgau-msha.ru; тел.: (499) 976–05–45

Чудецкий Антон Игоревич, канд. с.-х. наук, доцент кафедры декоративного садоводства и газоноведения, Российский государственный аграрный университет – МСХА К.А. Тимирязева; 127434, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; e-mail: chudetski@rgau-msha.ru; тел.: (499) 976–05–45

Кузнецова Ирина Борисовна, канд. с.-х. наук, доцент, доцент кафедры агрохимии, биологии и защиты растений, Костромская государственная сельскохозяйственная академия; 156530, Костромская обл., Костромской район, пос. Караваево, Учебный городок, 34; e-mail: sonneraiser@yandex.ru; тел.: (4942) 629–130

Орлова Елена Евгеньевна, канд. с.-х. наук, доцент, доцент кафедры декоративного садоводства и газоноведения, Российский государственный аграрный университет – МСХА К.А. Тимирязева; 127434, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; e-mail: elena.orlova@rgau-msha.ru; тел.: (499) 976–05–45

Зубик Инна Николаевна, канд. с.-х. наук, доцент, доцент кафедры декоративного садоводства и газоноведения, Российский государственный аграрный университет – МСХА К.А. Тимирязева; 127434, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; e-mail: innazubik@rgau-msha.ru; тел.: (499) 976–05–45

Козлова Елена Анатольевна, канд. с.-х. наук, доцент, доцент кафедры декоративного садоводства и газоноведения, Российский государственный аграрный университет – МСХА К.А. Тимирязева; 127434, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; e-mail: kozlova.e@rgau-msha.ru; тел.: (499) 976–05–45

Sergey S. Makarov, DSc (Ag), Head of the Department of Decorative Gardening and Lawn Science, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49, Timiryazevskaya str., Moscow, 127434, Russian Federation; phone: (499) 976–05–45; E-mail: s.makarov@rgau-msha.ru)

Anton I. Chudetskiy, CSc (Ag), Associate Professor of the Department of Decorative Gardening and Lawn Science, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49, Timiryazevskaya str., Moscow, 127434, Russian Federation; phone: (499) 976–05–45; E-mail: chudetski@rgau-msha.ru)

Irina B. Kuznetsova, CSc (Ag), Associate Professor, Associate Professor of the Department of Agrochemistry, Biology and Plant Protection, Kostroma State Agricultural Academy (34, Educational campus, Karavaevo village, Kostroma district, Kostroma Oblast, 156530, Russian Federation; phone: (4942) 62–91–30; E-mail: sonneraiser@yandex.ru)

Elena E. Orlova, CSc (Ag), Associate Professor, Associate Professor of the Department of Decorative Gardening and Lawn Science, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49, Timiryazevskaya str., Moscow, 127434, Russian Federation; phone: (499) 976–05–45; E-mail: elena.orlova@rgau-msha.ru)

Inna N. Zubik, CSc (Ag), Associate Professor, Associate Professor of the Department of Decorative Gardening and Lawn Science, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49, Timiryazevskaya str., Moscow, 127434, Russian Federation; phone: (499) 976–05–45; E-mail: innazubik@rgau-msha.ru)

Elena A. Kozlova, CSc (Ag), Associate Professor, Associate Professor of the Department of Decorative Gardening and Lawn Science, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49, Timiryazevskaya str., Moscow, 127434, Russian Federation; phone: (499) 976–05–45; E-mail: kozlova.e@rgau-msha.ru)