

ОПТИМИЗАЦИЯ ПРИЕМОВ ВВЕДЕНИЯ САДОВЫХ РАСТЕНИЙ В СТЕРИЛЬНУЮ КУЛЬТУРУ *IN VITRO*

М.Г. МАРКОВА, Е.Н. СОМОВА

(Удмуртский федеральный исследовательский центр
Уральского отделения Российской академии наук)

*В клональном микроразмножении важная роль отводится этапу введения в стерильную культуру. Целью исследований стал поиск оптимального стерилизующего агента и оптимального состава питательных сред для введения садовых растений в культуру *in vitro*. В качестве стерилизующих агентов с оптимальной экспозицией использованы: 48% – этиловый спирт (контроль), 8–10 мин; 33% – пергидроль, 6–8 мин; 6% – хлоргексидин, 8–10 мин; 0,1% – сулема, 1–2 мин; 10,0% – Domestos, 6–7 мин; Amway pursue, 10–12 мин. При определении оптимального состава питательных сред экспланты высаживали на питательные среды с минеральными микросолями и 1/2 макросолей по следующим прописям: среда Мурасиге-Скуга (контроль), для жимолости синей – Мурасиге-Скуга модифицированная (с пониженным содержанием аммонийного азота (NH_4) на 15%) и Вуди Плант Медиум, для малины красной – Андерсона и Кворина-Лепорье. В результате проведенных экспериментов выявлено, что 33,0%-ный пергидроль является наиболее эффективным стерилизующим агентом для обработки исходного растительного материала всех изученных садовых культур при инициации эксплантов *in vitro*, так как он обеспечил в среднем достоверно высокий выход стерильных меристематических апексов (63,3%) и почек этиолированных подземных побегов (61,6%). Обработка растительного материала 33,0%-ным пергидролем обеспечила также отсутствие витрифицированных (стекловидных) эксплантов, экземпляров с морфозами и некрозами, а также хлоротических у вишни и сливы. На питательной среде Вуди Плант Медиум получены значительно лучшие результаты выживаемости меристематических апексов жимолости синей – 76,7%. Культивирование почек этиолированных подземных побегов малины на питательной среде Кворина-Лепорье существенно повысило их выживаемость до 56,7% малины красной с традиционным типом плодоношения и до 36,7% малины красной с ремонтантным типом плодоношения.*

Ключевые слова: клональное микроразмножение, меристематический апекс, почки этиолированных подземных побегов, стерилизующий агент, садовые культуры.

Введение

Использование новых, пластичных и устойчивых к болезням сортов садовых культур, позволяет существенно увеличить экологическую устойчивость садоводства [7]. Действенным способом освобождения растений от патогенной микрофлоры является размножение в культуре *in vitro*. Пролиферация пазушных меристем и побегов способна обеспечивать генетическую стабильность размножаемых форм [4].

В условиях Удмуртской Республики практический интерес представляют изучение регенерационной способности в культуре *in vitro* и оптимизация элементов технологии клонального микроразмножения таких культур, как жимолость синяя, малина, земляника садовая, вишня степная, слива домашняя [10, 15].

В технологии клонального микроразмножения особая роль отводится этапу введения в стерильную культуру. Известно, что на этот процесс оказывает влияние ряд факторов, в том числе срок введения, тип экспланта, стерилизующий агент, состав питательной среды [16]. При неправильно подобранной схеме стерилизации происходит контаминация питательной среды и эксплантов грибной и бактериальной

микрофлорой [1]. Внутренние инфекции, не проявляясь внешне, могут проявиться спустя несколько недель культивирования и оказывать влияние на рост и развитие экплантов. Индивидуальный подбор нетоксичных стерилизующих препаратов, их концентрации и экспозиции, при которых достигается высокий уровень стерильности культуры и низкий уровень угнетения экплантов, остается актуальным [11].

Основная группа стерилизаторов, используемых в качестве стандартов, – ртутьсодержащие и хлорсодержащие вещества. Из веществ, содержащих ртуть, чаще всего применяется 0,1%-ный раствор сулемы (HgCl_2) с экспозицией от 1 до 10 мин [17]. Из хлорсодержащих препаратов часто используют гипохлорит натрия в различных концентрациях (0,5–20%) и экспозициях (10–25 мин) в зависимости от культуры и типа экпланта [18].

Наибольшая жизнеспособность (80–94%) экплантов жимолости синей отмечена при использовании в качестве стерилизующих агентов 5%-ного лизоформина 3000 и 0,2%-ного нитрата серебра при времени стерилизации 10 мин [9]. Исследованиями установлено, что в период начала роста побегов эффективность введения одноузловых черенков и точек роста определялась генотипом. Для одних сортов эффективным было введение на среде Вуди Планта Медиум одноузловых черенков (72,22% жизнеспособных экплантов жимолости), для других результативным стало использование мелких экплантов – точек роста (42,97 и 43,33% жизнеспособных экплантов) [8].

Наиболее эффективным режимом стерилизации для экплантов малины является 7%-ный гипохлорит натрия с экспозицией 16 мин. Приживаемость экплантов малины варьировала в пределах 62,5–100% [2].

Выявлена высокая приживаемость экплантов при изоляции в фазу активного роста (июнь). Наибольший выход стерильных и жизнеспособных экплантов отмечали в варианте стерилизации 0,1%-ным раствором сулемы (64,7–71,7%) [13].

В клональном микроразмножении плодовых культур (клоновые подвои яблони, косточковые) на этапе введения в культуру *in vitro* показал хорошую эффективность новый антисептический биоразлагаемый препарат широкого спектра действия «БИОПАК» в концентрации 0,1% с экспозицией в 3 мин. Эффективность санации при обработке экплантов косточковых культур препаратом «БИОПАК» составила 75%. Обработка экплантов белизной (1:3) и 0,1% AgNO_3 обеспечила количество чистых жизнеспособных экплантов: 28% и 51% соответственно [3].

Ряд авторов считает целесообразным использование для клонального микроразмножения садовых культур, в том числе на этапе введения в культуру *in vitro*, модификации таких питательных сред, как Мурасиге-Скуга и Вуди Планта Медиум [9, 12], Уайта, Кнопа, Андерсона, Ли и де Фоссарда, Кворина-Лепорье и др. [8].

Цель исследований: выявить оптимальный стерилизующий агент и оптимальный состав питательных сред для введения садовых растений в культуру *in vitro*.

Методика исследований

Объекты исследований – инициальные экпланты жимолости синей, малины красной с традиционным и ремонтантным типом плодоношения, земляники садовой с традиционным и ремонтантным типом плодоношения, вишни степной, сливы домашней. Введение в культуру *in vitro* проводили в период их активного роста. Исходным материалом у малины служили этиолированные подземные побеги, расположенные на корневищах материнского растения, у остальных культур брали верхушки однолетних приростов.

Исследования проведены на базе меристемной лаборатории УдмФИЦ УрО РАН с использованием современных методов биотехнологии согласно «Технологии получения оздоровленного посадочного материала плодовых и ягодных культур, 2013 [14].

В качестве стерилизующих агентов с оптимальной экспозицией использованы: 48%-ный этиловый спирт (контроль), 8–10 мин; 33%-ный пергидроль, 6–8 мин;

6%-ный хлоргексидин, 8–10 мин; 0,1%-ная сулема, 1–2 мин; 10,0%-ный Domestos, 6–7 мин; Amway pursue, 10–12 мин.

Для эксперимента брали по 30 ед. исходного материала каждой культуры. Растительный материал в течение 1 ч промывали проточной водой, после стерилизации промывали пятикратно в стерильной дистиллированной воде. Эксплантами для малины служили почки этиолированных подземных побегов, для остальных садовых культур – меристематические апексы. Культуральным сосудом служила пробирка биологическая П2–21–200.

Все питательные среды на этапе введения в стерильную культуру имели половинную дозу макросолей, концентрация цитокинина 6-бензиламинопурин (6-БАП) составляла 0,25 мг/л. Контрольной питательной средой была традиционная Мурасиге-Скуга. Для жимолости синей были использованы питательные среды Мурасиге-Скуга модифицированная (с пониженным содержанием $\text{NH}_4 \text{NO}_3$ на 15%) и Вуди Плант Медиум, для малины – Андерсона и Кворина-Лепорье.

Меристематические апексы культивировали в световой комнате при освещенности 75–85 мМоль/м²*сек.⁻¹; 6500 К; при температуре воздуха 22...25°C; относительной влажности воздуха 70–75%; в условиях 16-часового светового дня (табл. 1).

Таблица 1

Состав питательных сред

Группа веществ	Вещество	Мурасиге-Скуга контроль, мг/л	Кворина-Лепорье, мг/л	Вуди Плант Медиум, мг/л	Мурасиге-Скуга модифицированная, мг/л	Андерсона, мг/л
Макро-элементы	NH_4NO_3	1650	400	400	1410	400
	KNO_3	1900	1800	-	1900	480
	$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	370	360	250	370	370
	KH_2PO_4	170	270	170	170	380
	$(\text{NH}_4) \text{SO}_4$	-	-	-	-	-
Источник кальция	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$	-	1200	-	-	-
	$\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$	490	-	150	490	440
Микро-элементы	$\text{MnSO}_4 \times 4\text{H}_2\text{O}$	22,3	1,0	10	22,3	16,9
	H_3BO_3	6,2	6,2	3	6,2	6,2
	$\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	8,6	8,6	2	8,6	8,6
	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$	0,25	0,25	0,3	0,25	0,25
	$\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$	0,025	0,025	0,03	0,025	0,025
	$\text{CoCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$	0,025	0,025	0,03	0,025	0,025
	KJ	0,83	0,8	2,5	0,83	0,3
Хелат железа	$\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	27,8	27,8	27,8	27,8	27,8
	$\text{Na}_2\text{ЭДТА}$	37,3	37,3	37,3	37,3	37,3
Углеводы	сахароза	25000	25000	25000	25000	25000
	агар	4000	4000	4000	4000	4000
Витамины	мезоинозит	100	100	100	100	100
	никотиновая кислота	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
	пиридоксин	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
	тиамин	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
	глицин	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Цитокинины	6-БАП	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5

Этиловый спирт (C_2H_5OH) – антисептик – применяется как обеззараживающее и подсушивающее средство (Глазовский ЛВЗ, Удмуртская Республика). Пероксид водорода (H_2O_2) применяется в производстве дезинфицирующих и отбеливающих средств и обладает хорошими очищающими и антисептическими свойствами. 33% водный раствор пероксида водорода, стабилизированный добавлением фосфатов натрия, называется пергидролем (сеть «Госаптека»). Хлоргексидин ($C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}$) – антисептическое средство, оказывающее бактерицидное действие в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий при температуре $22^{\circ}C$ и воздействии в течение 1 мин, фунгицидное действие при температуре $22^{\circ}C$ и воздействии в течение 10 мин (сеть «Госаптека»). Сулема – хлорид ртути ($HgCl_2$), рекомендуется для дезинфекции против возбудителей грибных и бактериальных болезней и является весьма ядовитым (ОАО «Вектон»). Domestos – гипохлорит натрия $NaOCl$, антисептическое и дезинфицирующее средство, применяется как бактерицидное и стерилизующее (ООО «Юнилевер Русь»). В Amway pursue действующее вещество L – молочная кислота. Убивает до 99,99% бактерий, эффективен в отношении вирусов и патогенных грибов, не содержит отбеливателей, хлорида аммония, хлора и фосфатов, искусственных красителей и ароматизаторов (ООО «Амвэй»).

Статистическая обработка экспериментальных данных проведена методом дисперсионного анализа по Б.А. Доспехову (2011) [6].

Результаты и их обсуждение

На этапе введения в культуру *in vitro*, который осуществлялся для всех садовых культур на контрольной питательной среде Мурасиге-Скуга, стерилизующий агент оказал влияние на выход жизнеспособных эксплантов (табл. 2). Достоверно высокий выход стерильных меристематических апексов в 63,3% в среднем по культурам обеспечила обработка 33%-ным пергидролем при 42,0% в контроле (48% – этиловый спирт) и НСР₀₅–11,4%.

Использование для стерилизации исходного материала 6,0%-ного хлоргексидина способствовало выходу стерильных меристематических апексов – в среднем 52,0%, что выше контроля, но не существенно. Стерилизация исходного материала 0,1%-ной сулемой, 10,0%-ным Domestos и 100% Amway Pursue привело к выходу стерильных меристематических апексов: в среднем 38,7%; 38,6%; 36,0% соответственно, что ниже контрольного показателя, но незначительно.

Достоверно высокому выходу почек этиолированных подземных побегов малины способствовало использование для стерилизации исходного растительного материала 33%-ного пергидроля и 6,0%-ного хлоргексидина. Выход составил соответственно 61,6% и 51,6% при 31,6% в контроле и НСР₀₅6,7%. Обработка растительного материала 10,0%-ным Domestos и 100% Amway Pursue привела в сравнении с контролем к незначительному уменьшению количества жизнеспособных почек этиолированных подземных побегов малины в среднем до 30,0 и 28,3% соответственно. Стерилизация растительного материала 0,1%-ной сулемой обеспечила выход жизнеспособных почек малины в среднем 10,0%, что значительно ниже контроля.

Стерилизация исходного растительного материала садовых культур 33%-ным пергидролем при инициации эксплантов вошла в наши методики клонального микроразмножения как наиболее эффективная. Выявлено, что обработка данным стерилизующим агентом способствовала отсутствию витрифицированных (стекловидных), некротических и экземпляров с морфозами у всех изучаемых культур, а также

хлоротических – у вишни и сливы (табл. 3). Согласно ГОСТ Р 54051–2010 [5] в процессе инициации инфицированные, хлоротические, витрифицированные, а также экспланты с наличием некрозов и морфозов отбраковывались.

Таблица 2

Выход жизнеспособных эксплантов на питательной среде Мурасиге-Скуга в зависимости от стерилизующего агента, %

Культура	Стерилизующий агент					
	этиловый спирт 48,0% (контроль)	пергидроль 33,0%	хлоргексидин 6,0%	сулема 0,1%	Domestos 10,0%	Amway Pursue 100%
Меристематические апексы						
Жимолость синяя	40,0	43,3	40,0	40,0	40,0	36,7
Земляника садовая с традиционным типом плодоношения	46,7	66,7	60,0	36,7	46,7	40,0
Земляника садовая с ремонтантным типом плодоношения	46,7	53,3	50,0	36,7	43,3	36,7
Вишня степная	46,7	73,3	53,3	40,0	30,0	23,3
Слива домашняя	30,0	80,0	56,7	40,0	33,3	43,3
среднее	42,0	63,3	52,0	38,7	38,6	36,0
НСР ₀₅	11,4					
Почки этиолированных подземных побегов						
Малина красная с традиционным типом плодоношения	33,3	63,3	53,3	10,0	33,3	26,7
Малина красная с ремонтантным типом плодоношения	30,0	60,0	50,0	10,0	26,7	30,0
среднее	31,6	61,6	51,6	10,0	30,0	28,3
НСР ₀₅	6,7					

Питательная среда для жимолости и малины также имела значение на этапе введения в стерильную культуру *in vitro* при стерилизации исходного растительного материала 33,0%-ным пергидролем. Выявлено, что значительно лучшие результаты выживаемости меристематических апексов жимолости получились при культивировании их на питательной среде Вуди Планта Медиум – 76,7% при 43,3% в контроле и НСР₀₅ 10,4% (табл. 4). Культивирование апексов жимолости на питательной среде

Мурасиге-Скуга модифицированной также способствовало незначительному увеличению их выживаемости до 53,3%.

Достоверно высокие результаты выживаемости почек этиолированных подземных побегов малины получены при культивировании на питательной среде с минеральной основой Кворина-Лепорье. Выживаемость почек этиолированных подземных побегов малины красной с традиционным типом плодоношения на данной питательной среде на 23,4% выше, чем в контроле (33,3%), и составила 56,7% при НСР₀₅ 16,7%. У малины красной с ремонтантным типом плодоношения выживаемость почек этиолированных подземных побегов также наибольшая на питательной среде Кворина-Лепорье – 36,7% при 30,0% в контроле и НСР₀₅–6,4%.

При использовании питательной среды Андерсона выживаемость почек этиолированных подземных побегов малины красной с традиционным типом плодоношения составила 46,7%, малины красной с ремонтантным типом плодоношения – 33,3%, что также выше, чем в контрольном варианте, но не существенно.

Длительность субкультивирования всех садовых культур на этапе введения в *in vitro* составила 14 сут. Все выжившие экспланты были жизнеспособны и готовы к высадке на следующий пассаж.

Таблица 3

Выживаемость эксплантов после стерилизации пергидролем на этапе введения в культуру *in vitro*, %

Культура	Инфицированные	Витрифицированные	Хлоротические	Некрозы	Морфозы	Выживаемость
Меристематические апексы						
Жимолость синяя	23,3	0	33,3	0	0	43,4
Земляника садовая с традиционным типом плодоношения	10,0	0	23,3	0	0	66,7
Земляника садовая с ремонтантным типом плодоношения	23,3	0	23,3	0	0	53,4
Вишня степная	26,7	0	0	0	0	73,3
Слива домашняя	20,0	0	0	0	0	80,0
Почки этиолированных подземных побегов						
Малина красная с традиционным типом плодоношения	30,0	0	6,7	0	0	63,3
Малина красная с ремонтантным типом плодоношения	26,7	0	13,3	0	0	60,0

**Выживаемость эксплантов ягодных культур при стерилизации пергидролем
в зависимости от питательной среды, %**

Питательная среда	Жимолость синяя (меристематические апексы)	Малина красная с традиционным типом плодоношения (почки этиолированных подземных побегов)	Малина красная с ремонтантным типом плодоношения (почки этиолированных подземных побегов)
Мурасиге-Скуга (контроль)	43,4	33,3	30,0
Мурасиге-Скуга модифицированная	53,4	-	-
Вуди Планта Медиум	76,7	-	-
Кворина-Лепорье	-	56,7	36,7
Андерсона	-	46,7	33,3
НСР ₀₅	10,4	16,7	6,4

Выводы

Выявлено, что 33,0%-ный пергидроль является наиболее эффективным стерилизующим агентом для обработки исходного растительного материала жимолости, земляники, вишни, сливы, так как при инициации эксплантов *in vitro* он обеспечил достоверно высокий выход стерильных меристематических апексов: 63,3% при 42,0% в контроле и НСР₀₅₋₁ 1,4%.

Существенный выход стерильных жизнеспособных почек этиолированных подземных побегов малины в 61,6% получен при использовании как 33,0%-ного пергидроля, так и 6%-ного хлоргексидина: 51,6% при 31,6% в контроле (48% этиловый спирт) и НСР₀₅₋₆ 6,7%.

Установлено, что обработка растительного материала 33,0%-ным пергидролем обеспечила отсутствие витрифицированных (стекловидных), некротических эксплантов и экземпляров с морфозами, а также хлоротических – у вишни и сливы.

Таким образом, выявлено, что для стерилизации исходного растительного материала садовых культур более предпочтительно использовать 33,0%-ный пергидроль.

На этапе введения в культуру *in vitro* жимолости синей оптимальной питательной средой является Вуди Планта Медиум, на которой выживаемость меристематических апексов составляет 76,7%, что достоверно выше, чем на контрольной Мурасиге-Скуга. В сравнении с питательной средой Мурасиге-Скуга (контроль) культивирование почек этиолированных подземных побегов малины на среде Кворина-Лепорье существенно повышает их выживаемость: до 56,7% малины красной с традиционным типом плодоношения и 36,7% малины красной с ремонтантным типом плодоношения.

Библиографический список

1. Бессонова В.А. Введение в культуру *in vitro* *Ginkgo biloba* (Linnaeus, 1771) / В.А. Бессонова, О.Е. Черепанова // Аграрный вестник Урала. – 2020. – № 12 (203). – С. 43–49.
2. Вершинина О.В. Особенности развития эксплантов *rubus idaeus* L. и *ribes nigrum* L. перспективных сортов селекции ФГБНУ ФНИЦ садоводства на этапе введения в культуру *in vitro* / О.В. Вершинина, И.А. Бьядовский // Плодоводство и ягодоводство России. – 2020. – Т. 63. – С. 44–52.
3. Винтер М.А. Эффективность антисептика «Биопак» при санации эксплантов в ходе клонального микроразмножения плодовых культур / М.А. Винтер, С.В. Федорович, И.Х. Тхамокова // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2020. – № 162. – С. 105–113.
4. Высоцкий В.А. Подходы к прогнозированию конечного выхода растений при клональном микроразмножении плодовых и ягодных культур // Селекция и сорторазведение садовых культур. – 2019. – Т. 6, № 1. – С. 24–26.
5. ГОСТ Р 54051–2010 «Плодовые и ягодные культуры. Стерильные культуры и адаптированные микрорастения. Технические условия». – 15 с.
6. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований): Учебник для студентов высших сельскохозяйственных учебных заведений по агрономическим специальностям. – Изд. 6-е, стер., перепеч. с 5-го изд. 1985 г. – Москва: Альянс, 2011. – 350 с.
7. Еремин Г.В. Использование генофонда дикорастущих видов рода *Prunus* L. в селекции клоновых подвоев косточковых культур / Г.В. Еремин, В.Г. Еремин // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 2015. – Т. 176, № 4. – С. 416–428.
8. Колбанова Е.В. Введение в культуру *in vitro* сортов жимолости синей (*Lonicera caerulea* l. Var. *Kamtschatica*). Плодоводство / Е.В. Колбанова, С.Э. Семенин // Сборник научных трудов. – Минск: Республиканское унитарное предприятие Издательский дом «Белорусская наука», 2019. – С. 162–168.
9. Куликова Е.И. Особенности культивирования российских и зарубежных сортов жимолости съедобной (*Lonicera edulis turcz.*) *in vitro* / Е.И. Куликова, С.С. Макаров, И.Б. Кузнецова, А.И. Чудецкий // Техника и технология пищевых производств. – 2021. – Т. 51, № 4. – С. 712–722.
10. Макаров С.С. Влияние способов стерилизации и типов эксплантов жимолости синей на их жизнеспособность в условиях *in vitro* / С.С. Макаров, И.Б. Кузнецова, В.С. Смирнов // Лесохозяйственная информация. – 2018. – № 2. – С. 96–101.
11. Маркова М.Г. Регенерационная способность *Cerasus fruticosa* и *Prunus domestica* в культуре *in vitro* / М.Г. Маркова, Е.Н. Сомова // Аграрный вестник Урала. – 2021. – № 6 (209). – С. 43–52.
12. Маркова М.Г. Клональное микроразмножение ягодных культур: Монография / М.Г. Маркова, Е.Н. Сомова. – Ижевск: Изд-во «Алкид», 2020. – 102 с.
13. Мацнева О.В. Введение сортов земляники в культуру *in vitro* / О.В. Мацнева, Л.В. Ташматова, Т.М. Хромова, В.В. Шахов // Плодоводство и ягодоводство России. – 2019. – Т. 56. – С. 28–34.
14. Упадышев М.Т. Технология получения оздоровленного от вирусов посадочного материала плодовых и ягодных культур: Методические указания / М.Т. Упадышев и др. – Москва: Росинформагротех, 2013. – 91 с.
15. Шахов В.В. Влияние сезонного фактора на приживаемость эксплантов вишни обыкновенной в культуре *in vitro* / В.В. Шахов, И.Э. Федотова, Л.В. Ташматова, О.В. Мацнева, Т.М. Хромова // Международный научно-исследовательский журнал. – 2020. – № 11–1 (101). – С. 159–162.

16. Шахов В.В. Эффективность стерилизующих агентов при введении сортов вишни в культуру *in vitro* / В.В. Шахов, И.Э. Федотова, Л.В. Ташматова, О.В. Мацнева, Т.М. Хромова // Современное садоводство. – 2018. – № 4 (28). – С. 32–37.

17. Yancheva S. *In vitro* propagation of grape cultivars and rootstocks for production of pre-basic planting material / S. Yancheva, P. Marchev, V. Yaneva et al. // Bulgarian Journal of Agricultural Science. – 2018. – V. 24 (№ 5). – Pp. 801–806.

18. Ghasheem N.AL. *In vitro* effect of various sterilization techniques on peach (*Prunus persica* (L.) Batsch) explants / N.AL. Ghasheem F. Stănică, A.G. Peticilă, O. Venat // Scientific Papers. Series B, Horticulture. – 2018. – Vol. LXII. – Pp. 227–234.

INITIATION OF HORTICULTURAL CROP EXPLANTS *IN VITRO*

M.G. MARKOVA, E.N. SOMOVA

(«Udmurt Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences»)

*The stage of introduction into sterile culture plays an important role in clonal micropropagation. The purpose of these studies was to find the optimal sterilizing agent at the stage of introducing blue honeysuckle, red raspberry, garden strawberry, steppe cherry, house plum into *in vitro* culture, as well as the optimal nutrient medium at this stage for blue honeysuckle and red raspberry. As sterilizing agents with optimal exposure, the following were used: 48% ethyl alcohol (control) 8–10 min., 33% perhydrol 6–8 min., 6% chlorhexidine 8–10 min., 0.1% sublimate 1–2 min., 10.0% Domestos 6–7 min., Amway pursue 10–12 min. Murashige-Skooga modified (NH₄ content reduced at 15%) and Woody Plant Medium nutrient media were used to identify the optimal media for blue honeysuckle, and Anderson and Quorin-Leporrier media – for raspberries. All nutrient media had a half dose of macro- and microsalts. The control medium was traditional Murashige-Skooga. The results of the experiment showed that 33.0% perhydrol is the most effective sterilizing agent for processing the initial plant material of all horticultural crops when initiating explants *in vitro*, since it provided a significantly high yield of sterile apices of 63.0% on average. A significantly high result was also obtained when using 6% chlorhexidine – 51.9% with 39.1% in control (48% ethyl alcohol). Treatment of plant material with 33.0% perhydrol ensured the absence of vitrified (glassy) explants in all studied cultures, as well as chlorotic explants in cherries and plums. Significantly better results of the survival rate of blue honeysuckle apices were obtained on the nutrient medium Woody Plant Medium – 76.7%. Cultivation of raspberry apices on the Kvorin-Leporie nutrient medium significantly increased their survival rate to 56.7% of red raspberry and 36.7% of remontant raspberry.*

Keywords: *clonal micropropagation, meristematic apex, buds of etiolated underground shoots, sterilizing agent, horticultural crops*

References

1. Bessonova V.A., Cherepanova O.E. Vvedenie v kul'turu *in vitro* Ginkgo biloba (Linnaeus, 1771) [Introduction to *in vitro* culture of Ginkgo biloba (Linnaeus, 1771)] Agriarnyj vestnik Urala. 2020; 12 (203): 43–49. (In Rus.)

2. Vershinina O.V., B'yadovskij, I.A. Osobennosti razvitiya eksplantov rubus idaeus L. i ribes nigrum L. perspektivnyh sortov selekcii FGBNU FNC sadovodstva na etape vvedeniya v kul'turu *in vitro* [Features of the development of explants rubus idaeus L. and ribes nigrum L. of promising varieties of breeding of the Federal State Budgetary Institution of Horticulture at the stage of introduction into culture *in vitro*] Plodovodstvo i yagodovodstvo Rossii. 2020; 63: 44–52. (In Rus.)

3. *Vinter M.A., Fedorovich S.V., Thamokova I.H.* Effektivnost' antiseptika "biopak" pri sanacii eksplantov v hode klonal'nogo mikrorazmnozheniya plodovyh kul'tur [The effectiveness of the antiseptic "biopak" in the rehabilitation of explants during clonal micropropagation of fruit crops] *Politematicheskij setevoj elektronnyj nauchnyj zhurnal kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. 2020; 162: 105–113. (In Rus.)

4. *Vysockij V.A.* Podhody k prognozirovaniyu konechnogo vyhoda rastenij pri klonal'nom mikrorazmnozhenii plodovyh i yagodnyh kul'tur [Approaches to predicting the final yield of plants during clonal micropropagation of fruit and berry crops]. *Selekcija i sortorazvedenie sadovyh kul'tur*. 2019; 1(6): 24–26. (In Rus.)

5. GOST R54051–2010 Plodovye i yagodnye kultury sterilnye kultury i adaptirovannye mikrorasteniya tekhnicheskie usloviya [Fruit and berry crops. Sterile cultures and adapted microplants. Specifications]. 2010; 15 s. (In Rus.)

6. *Dospekhov B.A.* Metodika polevogo opyta (s osnovami statisticheskoy-obrabotki rezultatov issledovanij) [Field experience methodology: (with the basics of statistical processing of research results): uchebnik dlya studentov vysshih-selskohozyajstvennyh uchebnyh zavedenij po agronomicheskim specialnostyam / izd 6-e ster perepech s 5-go izd 1985g. Moscow: Alliance, 2011. 350 s. (In Rus.)

7. *Eremin G.V., Eremin V.G.* Ispol'zovanie genofonda dikorastushchih vidov roda *Prunus L.* v selekcii klonovyh podvoev kostochkovykh kul'tur [The use of the gene pool of wild species of the genus *Prunus L.* in the selection of clone rootstocks of stone crops]. *Trudy po prikladnoj botanike, genetike i selekcii*. 2015; 4(176): 416–428. (In Rus.)

8. *Kolbanova E.V., Semenas S.E.* Vvedenie v kul'turu in vitro sortov zhimolosti sinej (*Lonicera caerulea l. Var. Kamtschatica*) [Introduction to in vitro culture of varieties of blue honeysuckle (*Lonicera caerulea l. Var. Kamtschatica*)]. *Plodovodstvo. sbornik nauchnyh trudov*. Izdatel'stvo: Respublikanskoe unitarnoe predpriyatie "Izdatel'skij dom "Belorusskaya nauka". Minsk: 2019: 162–168 (In Rus.)

9. *Kulikova E.I., Makarov S.S., Kuznecova I.B., CHudeckij A.I.* Osobennosti kul'tivirovaniya rossijskih i zarubezhnyh sortov zhimolosti s"edobnoj (*Lonicera edulis turcz.*) in vitro [Features of cultivation of Russian and foreign varieties of edible honeysuckle (*Lonicera edulis turcz.*) in vitro]. *Tekhnika i tekhnologiya pishchevyh proizvodstv*. 2020; 4 (51): 712–722. (In Rus.)

10. *Makarov S.S., Kuznecova I.B., Smirnov V.S.* Vliyanie sposobov sterilizacii i tipov eksplantov zhimolosti sinej na ih zhiznesposobnost' v usloviyah in vitro [Influence of sterilization methods and types of blue honeysuckle explants on their viability in vitro] *Lesohozyajstvennaya informaciya*. 2018; 2: 96–101. (In Rus.)

11. *Markova M.G., Somova E.N.* Regeneracionnaya sposobnost' *Cerasus fruticosa* i *Prunus domestica* v kul'ture in vitro [Regenerative capacity of *Cerasus fruticosa* and *Prunus domestica* in in vitro culture]. *Agrarnyj Vestnik Urala*. 2021; 6 (209): 43–52. (In Rus.)

12. *Markova M.G., Somova E.N.* Klonal'noe mikrorazmnozhenie yagodnyh kul'tur [Clonal micro-propagation of berry crops] *Izhevsk: Izd-vo «Alkid»*. 2020: 102. (In Rus.)

13. *Macneva O.V., Tashmatova L.V., Hromova T.M., SHahov V.V.* Vvedenie sortov zemlyaniki v kul'turu in vitro [Introduction of strawberry varieties into culture in vitro]. *Plodovodstvo i yagodovodstvo Rossii*. 2019; 56: 28–34. (In Rus.)

14. *Upadyshev M.T.* Tekhnologiya polucheniya ozdorovlennogo ot virusov posadochnogo materialy plodovyh i yagodnyh kul'tur [Technology for obtaining virus-cured planting materials of fruit and berry crops]: metodicheskie ukazaniya – Moskva: Rosinformagrotekh. 2013: 91. (In Rus.)

15. *Shahov V.V., Fedotova I.E., Tashmatova L.V., Macneva O.V., Hromova T.M.* Vliyaniya sezonnogo faktora na prizhivaemost' eksplantov vishni obyknovennoj v kul'ture

in vitro [The influence of the seasonal factor on the survival rate of explants of the common cherry in culture in vitro] *Mezhdunarodnyj nauchno-issledovatel'skij zhurnal*. 2020; 11–1(101): 159–162. (In Rus.)

16. *Shahov V.V., Tashmatova L.V., Macneva O.V., Hromova T.M.* Effektivnost' sterilizuyushchih agentov pri vvedenii sortov vishni v kul'turu in vitro [The effectiveness of sterilizing agents when introducing cherry varieties into culture in vitro] *Sovremennoe sadovodstvo*. 2018; 4 (28): 32–37 (In Rus.)

17. *Yancheva S., Marchev R., Yaneva V. et al.* In vitro propagation of grape cultivars and rootstocks for production of pre-basic planting material. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 2018;5 (24): 801–806. (In Bolgariya)

18. *Ghasheem N. AL, Stănică F., Peticilă A.G., Venat O.* In vitro effect of various sterilization techniques on peach (*Prunus persica* (L.) Batsch) explants. *Scientific Papers Series B, Horticulture*. 2018; LXII: 227–234.

Маркова Марина Геннадьевна, научный сотрудник, Удмуртский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук (426067, Российская Федерация, г. Ижевск, ул. Татьяны Барамзиной, 34; тел.: (919) 912–05–07; e-mail: markovamg@udman.ru).

Сомова Елена Николаевна, старший научный сотрудник, Удмуртский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук (426067, Российская Федерация, г. Ижевск, ул. Татьяны Барамзиной, 34; тел.: (950) 175–46–27; e-mail: somovaen@udman.ru).

Marina G. Markova, research, Federal State Budgetary Institution of Science «Udmurt Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences» (426067, Russian Federation, Udmurt Republic, Izhevsk, st. T. Baramzinoj, 34, (919) 912–05–07, e-mail: ugniish-nauka@yandex.ru).

Elena N. Somova, research Federal State Budgetary Institution of Science «Udmurt Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences» (426067, Russian Federation, Udmurt Republic, Izhevsk, st. T. Baramzinoj, 34, (950) 175–46–27, e-mail: somovaen@udman.ru).