

## Регенерационная способность *Cerasus fruticosa* и *Prunus domestica* в культуре in vitro

М. Г. Маркова<sup>1</sup>✉, Е. Н. Сомова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Удмуртский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук, Ижевск, Россия

✉ E-mail: marmar1510@yandex.ru

**Аннотация.** Целью данных исследований было введение в культуру in vitro вишни степной (*Cerasus fruticosa*) сорта Щедрая и сливы домашней (*Prunus domestica*) сорта Синеокая для последующего микроразмножения. **Методы.** Исследовались оптимальные условия для получения жизнеспособных эксплантов, такие как стерилизующий агент и срок инициации. Также проверена пригодность различных питательных сред для культивирования in vitro данных культур. **В результате** проведенных экспериментов выявлено, что наиболее эффективным стерилизующими агентами были 38-процентный пергидроль (к.) и 6-процентный хлоргексидин: выход жизнеспособных эксплантов вишни составил 63,8 % и 61,5 %, сливы – 69,8 % и 66,6 % соответственно. Оптимальным сроком инициации эксплантов in vitro вишни оказался январь, где выход жизнеспособных эксплантов составил в среднем 53,9 %, в июне – 49,1 %, а для сливы срок инициации не имел значения – выход эксплантов составил 55,8 % зимой и 53,1 % в летний период. Культивирование in vitro вишни и сливы на питательной среде Кворина – Лепуавра обеспечило достоверно высокий коэффициент размножения, который составил в среднем 4,1 по вишне (2,7 в контроле) и 6,0 по сливе (3,9 в контроле). На той же среде получен максимальный коэффициент размножения: 6,2 у вишни и 8,2 у сливы. Таким образом, **научная новизна** данных исследований заключается в том, что подобраны оптимальные условия (стерилизующий агент, срок, питательная среда) для регенерации эксплантов in vitro вишни и сливы с последующим их микроразмножением.

**Ключевые слова:** вишня степная (*Cerasus fruticosa*), слива домашняя (*Prunus domestica*), клональное микроразмножение, стерилизующий агент, инициация эксплантов.

**Для цитирования:** Маркова М. Г., Сомова Е. Н. Регенерационная способность *Cerasus fruticosa* и *Prunus domestica* в культуре in vitro // Аграрный вестник Урала. 2021. № 06 (209). С. 43–52. DOI: 10.32417/1997-4868-2021-209-06-43-52.

**Дата поступления статьи:** 16.03.2021, **дата рецензирования:** 31.03.2021, **дата принятия:** 14.04.2021.

### Постановка проблемы (Introduction)

В условиях Среднего Предуралья России такие косточковые культуры, как вишня и слива, занимают прочное место в любительских садах. Их плоды ценятся за высокое содержание пектиновых веществ, которые являются антирадиантами, за богатый минеральный состав, наличие большого количества биологически активных веществ и витаминов.

Вишня по ботаническому обозначению принадлежит семейству розоцветных, роду *Cerasus* (церазус). Это скороспелая культура, дающая плоды на третий – четвертый год после посадки. В плодах вишни содержится до 12 % сахаров в наиболее усвояемой форме – глюкозе и фруктозе, достаточно высокое содержание фруктовых кислот, в основном яблочной и лимонной, которые человеческим организмом хорошо усваиваются. В плодах много витаминов (С, Р, В, провитамин А), а также амигдалин и кумарины. Минеральный состав плодов вишни также богат и разнообразен. В 100 г. плодов содержится в среднем (мг): калия – 197, кальция – 21, железа – 17, магния –

14, фосфора – 17, натрия – 34, а также соли кобальта, меди и других металлов. Такой богатый состав позволяет рассматривать плоды вишни как хорошее профилактическое средство для предупреждения сердечно-сосудистых заболеваний человека [1, с. 49]. Одним из наиболее зимостойких считается тетраплоидный вид – вишня степная (*Cerasus fruticosa*) [2, с. 44].

Слива принадлежит также семейству розоцветных, роду *Prunus*. Ценится за быстрый рост, скороплодность, урожайность. Плоды обладают хорошими вкусовыми и целебными качествами благодаря повышенному содержанию витамина В<sub>2</sub> (рибофлавин) и пектиновых веществ, которых в 2–3 раза больше, чем в плодах других садовых культур. В плодах сливы содержатся также фенольные соединения, антоцианы, лейкоантоцианы, обладающие капилляроукрепляющим и противосклеротическим действием. Из минеральных веществ в плодах найдено значительное количество соединений калия (214 мг / 100 г плодов), железа, йода, цинка, меди. Род сливы состоит из более чем 30 видов, одним из которых является слива домашняя (*Prunus domestica*) [3, с. 70].

Таблица 1  
Состав питательных сред

Группа веществ	Вещество	Мурасиге – Скуга (st.), мг/л	Кворина – Лепуавра, мг/л	Вуди Плант Медиум, мг/л	Гамборга, мг/л
Макроэлементы	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650	400	400	–
	KNO <sub>3</sub>	1900	1800	–	2500
	MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	370	360	250	250
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170	270	170	–
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	–	–	–	134
Источник кальция	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> 4H <sub>2</sub> O	–	1200	–	–
	CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O	490	–	150	150
Микроэлементы	Mn SO <sub>4</sub> 4H <sub>2</sub> O	22,3	1,0	10	10
	H <sub>2</sub> BO <sub>3</sub>	8,6	6,2	3	3,0
	ZnSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	6,2	8,6	2	2,0
	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> O	0,25	0,25	0,3	0,25
	CuSO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O	0,025	0,025	0,03	0,025
	CoCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	0,025	0,025	0,03	1,025
	KJ	0,83	0,8	2,5	0,75
	Si	–	–	–	–
Хелат железа	FeSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	57,6	55,7	55,6	55,6
	Na <sub>2</sub> ЭДТА 2H <sub>2</sub> O	74,6	74,5	74,6	74,6
Углеводы	Сахароза	25 000	25 000	25 000	25 000
	Агар	4000	4000	4000	4000
Витамины	Мезоинозит	100	100	100	100
	Никотиновая кислота	0,5	0,5	0,5	0,5
	Пиридоксин	0,5	0,5	0,5	0,5
	Тиамин	0,1	0,1	0,1	0,1
	Глицин	2,0	2,0	2,0	2,0

Table 1  
Composition of nutrient media

Group of substances	Substance	Murashige – Skoog (st.), mg/l	Qoirin – Lepoivre, mg/l	Woodi Plant Medium, mg/l	Gamborg, mg/l
Macronutrients	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650	400	400	–
	KNO <sub>3</sub>	1900	1800	–	2500
	MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	370	360	250	250
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170	270	170	–
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	–	–	–	134
Calcium source	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> 4H <sub>2</sub> O	–	1200	–	–
	CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O	490	–	150	150
Micronutrients	Mn SO <sub>4</sub> 4H <sub>2</sub> O	22.3	1.0	10	10
	H <sub>2</sub> BO <sub>3</sub>	8.6	6.2	3	3.0
	ZnSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	6.2	8.6	2	2.0
	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> O	0.25	0.25	0.3	0.25
	CuSO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O	0.025	0.025	0.03	0.025
	CoCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	0.025	0.025	0.03	1.025
	KJ	0.83	0.8	2.5	0.75
	Si	–	–	–	–
Iron chelate	FeSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	57.6	55.7	55.6	55.6
	Na <sub>2</sub> EDTA 2H <sub>2</sub> O	74.6	74.5	74.6	74.6
Carbohydrates	Saccharose	25 000	25 000	25 000	25 000
	Agar	4000	4000	4000	4000
Vitamins	Mesoinositis	100	100	100	100
	Nicotinic acid	0.5	0.5	0.5	0.5
	Pyridoxine	0.5	0.5	0.5	0.5
	Thiamine	0.1	0.1	0.1	0.1
	Glycine	2.0	2.0	2.0	2.0

Использование новых пластичных и устойчивых к болезням сортов косточковых культур, в том числе вишни и сливы, позволяет существенно увеличить экологическую устойчивость садоводства [4, с. 417]. В условиях Удмуртской республики неплохо

адаптировались сорт вишни степной Щедрая, выведенный Свердловской селекционной станцией садоводства, и сорт сливы домашней Синеокая селекции ТатНИИСХ.

Вишня сорта Щедрая относится к виду кустарниковых (степных) вишен, которые от обыкновенной вишни отличаются большей выносливостью к низким температурам, засухе, болезням и вредителям. Растет в виде невысокого куста, не превышающего 2 м. Широкая среднезагущенная крона имеет округлую приподнятую форму. Сорт позднеспелый, период созревания растянут. Плоды массой 3–4 г, округлой формы, темно-красного цвета, мякоть среднеплотная, сочная, кисло-сладкого вкуса. Плодоношение начинается на третий или четвертый год, урожайность высокая и стабильная [5, с. 105].

Слива домашняя Синеокая – сорт раннего срока созревания, универсального назначения. Дерево среднерослое, быстрорастущее, с густой шаровидной кроной. Плоды яйцевидной формы, средней массой 20,6 г, основная окраска плода синяя, мякоть желто-зеленая, вкус кисло-сладкий. Сорт самобесплоден, начинает плодоносить на третий – четвертый год. Болезнями и вредителями поражается в слабой степени. Сорт обладает средней устойчивостью к засухе, зимостойкий [6, с. 44].

Большой урон плодовым культурам наносят вирусные и фитоплазменные болезни, которые способны изменять фотосинтетическую деятельность, активность ферментных систем, потребление и накопление минеральных элементов и даже скорость прохождения фаз растений [7, с. 98]. Одним из действенных способов оздоровления растений является размножение в культуре *in vitro*. Клональное микроразмножение способом пролиферации пазушных меристем и побегов считается наиболее надежным с точки зрения генетической стабильности размножаемых форм [8, с. 25].

Практический интерес представляет изучение регенерационной способности вишни и сливы в культуре *in vitro* и оптимизация элементов технологии клонального микроразмножения данных культур [9, с. 160]. Известно, что на этот процесс оказывают влияние ряд факторов, в том числе стерилизующий агент при инициации эксплантов в культуру *in vitro*, а также состав питательной среды для микроразмножения [10, с. 39].

Патогенные микроорганизмы представляют собой серьезную проблему при инициации и культивировании культур *in vitro*. При дезинфекции растительных эксплантов, кроме стерилизующего вещества, немаловажными являются тип экспланта и срок введения. При неправильно подобранной схеме стерилизации происходит контаминация среды и эксплантов грибной и бактериальной микрофлорой [11, с. 46]. Внутренние инфекции, не проявляясь внешне, могут появляться спустя несколько недель культивирования и оказывать влияние на рост и развитие эксплантов. Индивидуальный подбор нетоксичных стерилизующих препаратов, их концентрации и экспозиции, при которых достигается высокий уровень стерильности культуры и низкий уровень угнетения эксплантов, остается актуальным [12, с. 105].

Основная группа стерилизаторов, используемых в качестве стандартов, – ртутьсодержащие и хлорсодержащие вещества. Из веществ, содержащих ртуть, чаще всего применяется 0,1-процентный раствор сулемы ( $\text{HgCl}_2$ ) с экспозицией от 1 до 10 минут [13, с. 802]. Из хлорсодержащих препаратов часто используют гипохлорит натрия в различных концентрациях (0,5–20 %) и экспозициях (10–25 мин.) в зависимости от культуры и типа экспланта [14, с. 228].

Особенностью работы с культурой *in vitro* является индивидуальный подбор компонентов питательной среды (макро- и микроэлементов, стимуляторов роста и т. д.) на всех этапах микроразмножения. Ряд авторов считает целесообразным использование для клонального микроразмножения косточковых культур модификации таких питательных сред, как Мура-сиге – Скуга и Вуди Планта Медиум [15, с. 150], Уайта, Кнопа, Андерсона, Ли и де Фоссарда, Кворина – Лепуавра и др. [16].

Цель работы – изучить регенерационную способность эксплантов вишни и сливы в зависимости от срока инициации и стерилизующего агента.

#### Методология и методы исследования (Methods)

Объекты исследований – вишня степная сорта Щедрая и слива домашняя сорта Синеокая. Введение в культуру вишни и сливы проводили в два периода: вынужденного выхода из покоя (январь) и активного роста (первая половина июня). Исходным материалом служили в зимний период – набухшие почки одревесневших побегов, во время активного роста (июнь) – верхушки растущих побегов. Исследования проведены на базе меристемной лаборатории Удмуртского НИИСХ УдмФИЦ УрО РАН с использованием современных методов биотехнологии согласно «Технологии получения оздоровленного посадочного материала плодовых и ягодных культур» (2013 г.). В качестве стерилизующих агентов использованы 38-процентный пергидроль, 48-процентный этиловый спирт, 6-процентный хлоргексидин и Amway™ Pursue™. Растительный материал в течение часа промывали проточной водой, затем стерилизовали с экспозицией 6–8 мин., далее промывали пятикратно в стерильной дистиллированной воде. Перед высаживанием почки очищались от почечных чешуй с помощью стерильных иглы и скальпеля.

Пероксид водорода ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) применяется в производстве дезинфицирующих и отбеливающих средств, обладает хорошими очищающими и антисептическими свойствами. 38-процентный водный раствор пероксида водорода, стабилизированный добавлением фосфатов натрия, называется пергидролем. Хлоргексидин ( $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{Cl}_2\text{N}_{10}$ ) – антисептическое средство, проявляет бактерицидное действие в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий при температуре 22 °C и воздействии в течение 1 мин.; фунгицидное действие при температуре 22 °C и воздействии в течение 10 мин.; имеет вирулицидное действие в отношении липофильных вирусов. Этиловый спирт ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ) – антисептик, применяется

как обеззараживающее и подсушивающее средство. Amway™ Pursue™ – концентрированное дезинфицирующее чистящее средство, действующее вещество L – молочная кислота. Убивает до 99,99 % бактерий в (том числе кишечную и синегнойную палочки, золотистый стафилококк и сальмонеллу), эффективен в отношении вирусов и патогенных грибов, не содержит отбеливателей, хлорида аммония, хлора и фосфатов, искусственных красителей и ароматизаторов.

Инициация эксплантов проходила на питательной среде Мурасиге – Скуга с половинной дозой макро- и микросолей (МС½) с содержанием цитокинина 6-БАП в концентрации 0,2 мг/л. **Культивирование выживших эксплантов осуществлялось на питательных средах Мурасиге – Скуга (контроль), Вуди Плант Медиум, Гамборга, Кворина – Лепуавра, компонентный состав которых представлен в таблице 1.** Освещенность составляла 75–85 мМоль/м² · с–1, 6500 К, температура 22–25 ° С, относительная влажность воздуха 70–75 %, световой день 14 часов. Культуральными сосудами служили пробирки биологические П2-21-200 и колбы круглые плоскодонные объемом 250 мл. Ростовые параметры микрорастений определялись согласно ГОСТ Р 54051-2010 «Пло-

довые и ягодные культуры. Стерильные культуры и адаптированные микрорастения. Технические условия». Обработка экспериментальных данных проведена методом дисперсионного анализа по Б. А. Доспехову.

**Результаты (Results)**

На этапе инициации исследована возможность получения стерильной культуры вишни и сливы в условиях in vitro. Основной задачей было установить зависимость приживаемости эксплантов вишни и сливы от сроков инициации и стерилизующих агентов. Немаловажным также являлся подбор оптимальной питательной среды для микроразмножения данных культур. Большими проблемами на данном этапе являлись зараженность эксплантов грибной и бактериальной инфекцией, приживаемость эксплантов и фенольное окисление апексов и питательной среды.

Выявлено, что на уровень инфицированности исследуемых культур и на выход жизнеспособных эксплантов оказал влияние как срок введения, так и стерилизующий агент (таблица 2). Инфицированных эксплантов в летний срок введения по вишне оказалось в 2,2 раза, по сливе – в 1,8 раза больше, чем в зимний.

Таблица 2

**Инфицированность эксплантов после применения различных стерилизующих агентов, %**

Стерилизующий агент	Срок		Среднее по стерилизующему агенту
	Январь	Июнь	
<b>Вишня</b>			
Пергидроль 33,0 % (st.)	12,5	31,3	21,9
Этиловый спирт 48,0 %	6,3	26,7	16,5
Хлоргексидин 6,0 %	6,7	28,6	17,6
Amway™ Pursue™	36,6	50,0	43,3
Среднее по сроку	15,5	34,2	–
<b>Слива</b>			
Пергидроль 33,0 % (к.)	3,4	7,8	5,6
Этиловый спирт 48,0 %	25,8	44,2	35,0
Хлоргексидин 6,0 %	2,3	10,0	6,2
Amway™ Pursue™	15,5	22,0	18,8
Среднее по сроку	11,8	21,0	–

Table 2

**Infection of explants after using various sterilizing agents, %**

Sterilizing agent	Time		Average by sterilizing agent
	January	June	
<b>Cherry</b>			
Perhydrol 33,0 % (st.)	12.5	31.3	21.9
Ethanol 48,0 %	6.3	26.7	16.5
Chlorhexidine 6,0 %	6.7	28.6	17.6
Amway™ Pursue™	36.6	50.0	43.3
Average in time	15.5	34.2	–
<b>Plum</b>			
Perhydrol 33,0 % (st.)	3.4	7.8	5.6
Ethanol 48,0 %	25.8	44.2	35.0
Chlorhexidine 6,0 %	2.3	10.0	6.2
Amway™ Pursue™	15.5	22.0	18.8
Average in time	11.8	21.0	–



## Выход жизнеспособных эксплантов вишни в зависимости от стерилизующего агента и сроков введения, %

Стерилизующий агент (А)	Сроки введения (В)		Среднее по фактору А
	Январь	Июнь	
Пергидроль 33,0 % (st.)	53,0	74,5	63,8
Этиловый спирт 48,0 %	56,4	46,6	51,5
Хлоргексидин 6,0 %	69,9	53,0	61,5
Amway™ Pursue™	36,3	22,3	29,3
Среднее по фактору В	53,9	49,1	–
НСР <sub>05</sub>	Главных эффектов		Частных различий
А	5,8		8,1
В	3,9		5,8

Table 3

## Yield of viable cherry explants depending on the sterilizing agent and the timing of introduction, %

Sterilizing agent (A)	Timing of introduction (B)		Average by factor A
	January	June	
Perhydrol 33,0 % (st.)	53.0	74.5	63,8
Ethanol 48,0 %	56.4	46.6	51,5
Chlorhexidine 6,0 %	69.9	53.0	61,5
Amway™ Pursue™	36.3	22.3	29,3
Average by factor B	53.9	49.1	–
LSD (95 %)	Of main effects		Of particular differences
A	5.8		8.1
B	3.9		5.8

Независимо от сроков введения наибольшая инфицированность (43,3 %) эксплантов вишни наблюдалась после стерилизации их Amway™ Pursue™, что почти в 2 раза выше, чем в контроле (21,9 %). Невысокая степень инфицированности эксплантов вишни получена при стерилизации их этиловым спиртом (16,5 %) и хлоргексидином (17,6 %), что на уровне контрольного показателя.

Выход инфицированных эксплантов сливы при обработке этиловым спиртом и Amway™ Pursue™ соответственно в 6,2 и в 3,4 раза выше, чем в контроле (5,6 %). Стерилизация эксплантов хлоргексидином по эффективности сравнима с контрольным вариантом или использованием пергидроля, так как инфицированность снизилась до 6,2 %.

Наименьшая инфицированность эксплантов отмечена в зимний период введения в культуру *in vitro*: по вишне – 6,3 % при стерилизации этиловым спиртом, по сливе – 2,3 % при обработке хлоргексидином.

Лучшим сроком введения в культуру вишни независимо от стерилизующего агента оказался январь, где выход жизнеспособных эксплантов составил в среднем 53,9 %, в июне – 49,1 % при НСР<sub>05</sub> 3,9 % (таблица 3).

Наибольший выход жизнеспособных эксплантов вишни обеспечила стерилизация растительного материала пергидролем 63,8 % и хлоргексидином 61,5 % при НСР<sub>05</sub> 5,8 %. Существенно снизился в сравнении с контролем (63,8 %) данный показатель при использовании этилового спирта и Amway™ Pursue™ – до 51,5 % и 29,3 % соответственно.

В летний срок введения в культуру *in vitro* отмечено максимальное выделение в питательную среду продуктов окисления фенолов. Эти вещества вызывают гибель таких мелких структур, как меристема, а также оказывают ингибирующее воздействие на рост побегов и образование дополнительных почек при культивировании.

Наибольший выход жизнеспособных эксплантов вишни получен при стерилизации пергидролем в летний срок – 74,5 %.

Независимо от времени инициации высокий выход жизнеспособных эксплантов сливы в среднем обеспечила стерилизация пергидролем и хлоргексидином – 69,8 % и 66,6 % соответственно при НСР<sub>05</sub> 5,6 % (таблица 4). Срок введения сливы в стерильную культуру не оказал влияния на выход жизнеспособных эксплантов, который составил 55,8 % зимой и 53,1 % в летний период при НСР<sub>05</sub> 4,4 %. Наибольший выход жизнеспособных эксплантов сливы получен при стерилизации пергидролем в летний срок и составил 82,3 %.

Обеспечение быстрого размножения эксплантов в течение культивирования в нескольких пассажах достигается снятием апикального доминирования при добавлении в питательную среду оптимальной концентрации цитокинина и правильным подбором питательной среды. Концентрация 6-бензиламинопурина (6-БАП) составляла во всех используемых питательных средах 0,5 мг/л.

Таблица 4  
Выход жизнеспособных эксплантов сливы в зависимости от стерилизующего агента и сроков введения, %

Стерилизующий агент (А)	Срок (В)		Среднее по фактору А
	Январь	Июнь	
Пергидроль 33,0 % (st.)	57,3	82,3	69,8
Этиловый спирт 48,0 %	25,8	30,0	27,9
Хлоргексидин 6,0 %	77,8	55,5	66,6
Amway™ Pursue™	62,5	44,5	53,5
Среднее по фактору В	55,8	53,1	—
HCP <sub>05</sub>	Главных эффектов		Частных различий
А	5,6		7,9
В	4,4		8,9

Table-4  
Yield of viable plum explants depending on the sterilizing agent and the timing of introduction, %

Sterilizing agent (A)	Timing of introduction (B)		Average by factor A
	January	June	
Perhydrol 33,0 % (st.)	57.3	82.3	69,8
Ethanol 48,0 %	25.8	30.0	27,9
Chlorhexidine 6,0 %	77.8	55.5	66,6
Amway™ Pursue™	62.5	44.5	53,5
Average by factor B	55.8	53.1	—
LSD (95 %)	Of main effects		Of particular differences
A	5.6		7.9
B	4.4		8.9

Таблица 5  
Коэффициент размножения эксплантов вишни и сливы в зависимости от питательной среды

Питательная среда	Пассаж				Среднее значение
	I	II	III	IV	
<b>Вишня</b>					
Мурасиге – Скуга (st.)	2,5	2,4	2,6	3,2	2,7
Вуди Планта Медиум	1,5	1,4	1,7	1,6	1,6
Кворина – Лепуавра	2,5	2,6	5,0	6,2	4,1
Гамборга	1,5	1,4	1,6	1,8	1,6
HCP <sub>05</sub> = 1,4					
<b>Слива</b>					
Мурасиге – Скуга (к.)	2,9	3,0	4,2	5,6	3,9
Вуди Планта Медиум	2,4	2,5	2,5	3,7	2,8
Кворина – Лепуавра	5,0	5,2	5,4	8,2	6,0
Гамборга	2,1	2,3	2,7	3,1	2,6
HCP <sub>05</sub> = 0,9					

Table 5  
Multiplication factor of cherry and plum explants depending on the nutrient medium

Nutrient medium	Passage				Average
	I	II	III	IV	
<b>Cherry</b>					
Murashige – Skoog (st.)	2.5	2.4	2.6	3.2	2.7
Woodi Plant Medium	1.5	1.4	1.7	1.6	1.6
Quoirin – Lepoivre	2.5	2.6	5.0	6.2	4.1
Gamborg	1.5	1.4	1.6	1.8	1.6
LSD <sub>05</sub> = 1,4					
<b>Plum</b>					
Murashige – Skoog (st.)	2.9	3.0	4.2	5.6	3.9
Woodi Plant Medium	2.4	2.5	2.5	3.7	2.8
Quoirin – Lepoivre	5.0	5.2	5.4	8.2	6.0
Gamborg	2.1	2.3	2.7	3.1	2.6
LSD <sub>05</sub> = 0,9					

## Качественный анализ микропобегов пролиферации в зависимости от питательной среды

Питательная среда	Число побегов в конгломерате, шт.	Число листьев, шт/эксплант	Длина микро-побегов, мм	Хлороз, %	Витрификация, %
<b>Вишня</b>					
Мурасиге – Скуга (st.)	1–3	3,3	7,8	2	0
Вуди Планта Медиум	1–2	2,4	6,6	4	1
Кворина – Лепуавра	1–3	3,8	9,2	2	0
Гамборга	1–2	2,3	6,8	3	2
<b>Слива</b>					
Мурасиге – Скуга (к.)	1–3	3,6	8,2	3	0
Вуди Планта Медиум	1–2	2,6	7,0	3	2
Кворина – Лепуавра	1–5	3,9	10,1	2	0
Гамборга	1–2	2,7	6,7	5	3

Table 6

## Qualitative analysis of microshoots on proliferation depending on the nutrient medium

Nutrient medium	The number of shoots in the conglomerate, pcs.	Number of leaves, pcs/explant	Microshoots length, mm	Chlorosis, %	Vitrification, %
<b>Cherry</b>					
<i>Murashige – Skoog (st.)</i>	<i>1–3</i>	<i>3.3</i>	<i>7.8</i>	<i>2</i>	<i>0</i>
<i>Woodi Plant Medium</i>	<i>1–2</i>	<i>2.4</i>	<i>6.6</i>	<i>4</i>	<i>1</i>
<i>Quoirin – Lepoivre</i>	<i>1–3</i>	<i>3.8</i>	<i>9.2</i>	<i>2</i>	<i>0</i>
<i>Gamborg</i>	<i>1–2</i>	<i>2.3</i>	<i>6.8</i>	<i>3</i>	<i>2</i>
<b>Plum</b>					
<i>Murashige – Skoog (st.)</i>	<i>1–3</i>	<i>3.6</i>	<i>8.2</i>	<i>3</i>	<i>0</i>
<i>Woodi Plant Medium</i>	<i>1–2</i>	<i>2.6</i>	<i>7.0</i>	<i>3</i>	<i>2</i>
<i>Quoirin – Lepoivre</i>	<i>1–5</i>	<i>3.9</i>	<i>10.1</i>	<i>2</i>	<i>0</i>
<i>Gamborg</i>	<i>1–2</i>	<i>2.7</i>	<i>6.7</i>	<i>5</i>	<i>3</i>

Выявлено существенное влияние состава питательных сред на коэффициент размножения вишни и сливы. Наибольшую пролиферативную активность у обеих культур вызывала питательная среда Кворина – Лепуавра. При культивировании на данной питательной среде коэффициент размножения вишни составил в среднем за четыре пассажа 4,1 при 2,7 в контроле и НСР<sub>05</sub> 1,4 (таблица 5). Коэффициент размножения сливы на среде Кворина – Лепуавра также достигал максимального значения – 6,0 при 3,9 в контроле и НСР<sub>05</sub> 0,9. На питательных средах Вуди Планта Медиум и Гамборга коэффициент размножения вишни оказался невысоким и в среднем составил 1,6 (2,7 в контроле). Такая же тенденция наблюдается по сливе: коэффициент размножения на данных средах существенно снизился до 2,8 и 2,6 соответственно при 3,9 в контроле (НСР<sub>05</sub> 0,9). Максимальный коэффициент размножения микрочеренков получен на среде Кворина – Лепуавра в четвертом пассаже и составил 6,2 у вишни и 8,2 у сливы.

Качественный анализ микропобегов вишни и сливы проведен по итогам первого пассажа пролиферации, так как в последующих пассажах хлоротичных и витрифицированных экземпляров не отмечалось (таблица 6). В сравнении с использованием питательных сред Вуди Планта Медиум и Гамборга, установлено

преимущество культивирования микрочеренков вишни на средах Мурасиге – Скуга и Кворина – Лепуавра, так как микропобеги имели большую длину – 7,8 и 9,2 мм соответственно, большее число листьев – 3,3 и 3,8 шт., хлоротичных побегов насчитывалось всего 2 %, витрифицированных не наблюдалось.

Подобная картина наблюдается и по сливе. Культивирование микрочеренков сливы на средах Мурасиге – Скуга и Кворина – Лепуавра также обеспечило соответственно: большую высоту микропобегов – 8,2 и 10,1 мм, большее число листьев – 3,6 и 3,9 шт., микропобегов с хлорозом насчитывалось 3 % и 2 %, витрификации не наблюдалось.

**Обсуждение и выводы (Discussion and Conclusion)**

Таким образом, инфицированность исследуемых культур и выход жизнеспособных эксплантов зависел как от стерилизующего агента, так и от срока инициации *in vitro*. Наиболее эффективными стерилизующими агентами являлись 38-процентный пергидроль и 6-процентный хлоргексидин: выход жизнеспособных эксплантов вишни составил 63,8 % и 61,5 %, сливы – 69,8 % и 66,6 % соответственно. Лучшим сроком введения в культуру вишни оказался январь, где выход жизнеспособных эксплантов составил в среднем 53,9 %, в июне – 49,1%. Для сливы время инициации не оказало влияния на выход жизнеспособных экс-

плантов, который составил 55,8 % зимой и 53,1 % в летний период. Наибольший выход жизнеспособных эксплантов получен при стерилизации 38-процентным пергидролем в летний срок и составил у вишни 74,5 %, у сливы – 82,3%. Культивирование *in vitro* вишни и сливы на питательной среде Кворина – Лепуавра обеспечило достоверно высокий коэффициент размножения, который составил в среднем 4,1 по вишне (2,7 в контроле) и 6,0 по сливе (3,9 в контроле).

На среде Кворина – Лепуавра также получен максимальный коэффициент размножения, который составил 6,2 у вишни и 8,2 у сливы.

Качественный анализ микропобегов вишни и сливы показал преимущество культивирования микрочеренков обеих культур на средах Мурасиге – Скуга и Кворина – Лепуавра, так как микропобеги имели большую высоту, большее число листьев, меньшее количество хлоротичных побегов при полном отсутствии витрифицированных.

#### Библиографический список

1. Гасымов Ф. М., Галимов В. Р. Плодовые культуры на Южном Урале: монография. Челябинск, 2014. 80 с.
2. Васильев А. А., Гасымов Ф. М., Галимов В. Р. Адаптивный потенциал вишни в Челябинской области // Плодоводство и виноградарство юга России. 2021. № 67 (1). С. 44–54. DOI: 10.30679/2219-5335-2021-1-67-44-54.
3. Бунцевич Л. Л., Костюм М. А. Клональное микроразмножение сливы домашней *in vitro* // Научные труды государственного научного учреждения северо-кавказского зонального научно-исследовательского института садоводства и виноградарства Российской академии сельскохозяйственных наук. 2017. Т. 12. С. 70–78.
4. Еремин Г. В., Еремин В. Г. Использование генофонда дикорастущих видов рода *Prunus* L. в селекции клоновых подвоев косточковых культур // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2015. Т. 176. № 4. С. 416–428. DOI: 10.30901/2227-8834-2015-4-416-428.
5. Васильев А. А., Гасымов Ф. М., Галимов В. Р. Сортоизучение вишни степной в Челябинской области // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2020. № 181 (1). С. 105–109. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-1-105-109.
6. Осипов Г. Е., Осипова З. А. Новый сорт сливы домашней Синеокая селекции Татарского НИИСХ // Садоводство и виноградарство. 2016. № 5. С. 43–45. DOI: 10.18454/VSTISP.2016.5.3448.
7. Бунцевич Л. Л., Винтер М. А., Щербаков Н. А. Влияние вируса шарки сливы (PPV) на эффективность клонового микроразмножения сливы домашней // Вестник АПК Ставрополя. 2018. № 4 (34). С. 98–101. DOI: 10.31279/2222-9345-2018-7-32-98-101.
8. Высоцкий В. А. Подходы к прогнозированию конечного выхода растений при клоновом микроразмножении плодовых и ягодных культур // Селекция и сорторазведение садовых культур. 2019. Т. 6. № 1. С. 24–26.
9. 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.
10. Шахов В. В., Ташматова Л. В., Мацнева О. В., Хромова Т. М. Эффективность стерилизующих агентов при введении сортов вишни в культуру *in vitro* // Современное садоводство. 2018. № 4 (28). С. 32–37.
11. Бессонова В. А., Черепанова О. Е. Введение в культуру *in vitro* *Ginkgo biloba* (Linnaeus, 1771) // Аграрный вестник Урала. 2020. № 12 (203). С. 43–49. DOI: 10.32417/1997-4868-2020-203-12-43-49.
12. Винтер М. А., Федорович С. В., Тхамокова И. Х. Эффективность антисептика «Биопак» при санации эксплантов в ходе клонового микроразмножения плодовых культур // Политематический сетевой электронный научный журнал кубанского государственного аграрного университета. 2020. № 162. С. 105–113. DOI: 10.21515/1990-4665-162-007.
13. Yancheva S., Marchev P., Yaneva V., Roichev V. *In vitro* propagation of grape cultivars and rootstocks for production of pre-basic planting material // Bulgarian Journal of agricultural science. 2018. Vol. 24 (No. 5). Pp. 801–806.
14. Al Ghasheem N., 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. Vol. LXII. Pp. 227–234.
15. Корнацкий С. А. Технологические подходы к использованию метода *in vitro* для массового производства растений косточковых культур // Международный научно-исследовательский журнал. 2016. № 10-4 (52). С. 150–152.
16. Острикова О. В., Хархардина Е. Л., Бобкова Е. Б., Ветрова Е. Н. Влияние органоминерального и гормонального состава питательной среды на эффективность клонового микроразмножения отдаленных гибридов вишни на этапе пролиферации в культуре *in vitro* // Природные ресурсы центрального региона России и их рациональное использование: материалы международной научно-практической конференции. Орел, 2017. С. 31–35.

#### Об авторах:

Марина Геннадьевна Маркова<sup>1</sup>, научный сотрудник, ORCID 0000-0002-9427-6766, AuthorID 721818; +7 919 912-05-07, marmar1510@yandex.ru



## Regeneration capacity of *Cerasus fruticosa* and *Prunus domestica* into the *in vitro* culture

M. G. Markova<sup>1</sup>✉, E. N. Somova<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Udmurt Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Izhevsk, Russia

✉E-mail: [marmar1510@yandex.ru](mailto:marmar1510@yandex.ru)

**Abstract.** The aim of these studies was to introduce into the *in vitro* culture the steppe cherry (*Cerasus fruticosa*) variety Shchedraya and the domestic plum (*Prunus domestica*) variety Sineokaya for subsequent micropropagation. **Methods.** Optimal conditions for obtaining viable explants, such as sterilizing agent and initiation time, have been investigated. The suitability of various nutrient media for *in vitro* cultivation of these cultures has also been tested. **As a result** of the experiments, it was revealed that the most effective sterilizing agents were 38 % perhydrol (control) and 6% chlorhexidine: the yield of viable cherry explants was 63.8 % and 61.5 %, plums – 69.8 % and 66.6 %, respectively. The optimal time for the initiation of cherry explants *in vitro* was January, where the yield of viable explants averaged 53.9 %, in June – 49.1 %, and for plums the initiation time did not matter – the yield of explants was 55.8 % in winter and 53.1 % in summer. *In vitro* cultivation of cherries and plums on the Quoirin – Lepoivre nutrient medium provided a significantly high multiplication factor, which averaged 4.1 for cherries (2.7 in control) and 6.0 for plums (3.9 in control). On the same medium, the maximum multiplication factor was obtained, which was 6.2 for cherries and 8.2 for plums. Thus, **the scientific novelty** of these studies is that the optimal conditions (sterilizing agent, time, nutrient medium) have been selected for the regeneration of cherry and plum explants *in vitro* with their subsequent micropropagation.

**Keywords:** steppe cherry (*Cerasus fruticosa*), domestic plum (*Prunus domestica*), clonal micropropagation, sterilizing agent, explant initiation.

**For citation:** Markova M. G., Somova E. N. Regeneratsionnaya sposobnost' *Cerasus fruticosa* i *Prunus domestica* v kul'ture *in vitro* [Regeneration capacity of *Cerasus fruticosa* and *Prunus domestica* into the *in vitro* culture] // Agrarian Bulletin of the Urals. 2021. No. 06 (209). Pp. 43–52. DOI: 10.32417/1997-4868-2021-209-06-43-52. (In Russian.)

**Date of paper submission:** 16.03.2021, **date of review:** 31.03.2021, **date of acceptance:** 14.04.2021.

### References

1. Gasymov F. M., Galimov V. R. Plodovye kul'tury na Yuzhnom Urale [Fruit crops in the Southern Urals]. Chelyabinsk, 2014. Pp. 45–64. (In Russian.)
2. Vasil'yev A. A., Gasymov F. M., Galimov V. R. Adaptivnyy potentsial vishni v Chelyabinskoy oblasti [The adaptive potential of cherries in the Chelyabinsk region] // Fruit growing and viticulture of South Russia. 2021. No. 67 (1). Pp. 44–54. DOI: 10.30679/2219-5335-2021-1-67-44-54. (In Russian)
3. Buntsevich L. L., Kostyum M. A. Klonal'noye mikrorazmnozheniye slivy domashney *in vitro* [Clonal micropropagation of domestic plum *in vitro*] // Nauchnyye trudy gosudarstvennogo nauchnogo uchrezhdeniya severo-kavkazskogo zonal'nogo nauchno-issledovatel'skogo instituta sadovodstva i vinogradarstva Rossiyskoy akademii sel'skokhozyaystvennykh nauk. 2017. Vol. 12. Pp. 70–78. (In Russian.)
4. Eremin G. V., Eremin V. G. Ispol'zovaniye genofonda dikorastushchikh vidov roda *Prunus L.* v seleksii klonovykh podvoyev kostochkovykh kul'tur [The use of the gene pool of wild species of the genus *Prunus L.* in the selection of clonal rootstocks of stone fruit crops] // Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding. 2015. Vol. 176. No. 4. Pp. 416–428. DOI: 10.30901/2227-8834-2015-4-416-428. (In Russian.)
5. Vasil'yev A. A., Gasymov F. M., Galimov V. R. Sortoizucheniye vishni stepnoy v Chelyabinskoy oblasti [Studying steppe cherry culti-vars in Chelyabinsk Province] // Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding. 2020. Vol. 181(1). Pp. 105–109. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-1-105-109 (In Russian)
6. Osipov G. E., Osipova Z. A. A new variety of plum home Sineokaya breeding of the Tatar Scientific Research Institute of Agriculture [A new variety of home-made Blue plum selected by the Tatar Research Institute of Agriculture] // Horticulture and viticulture. 2016. No. 5 Pp. 43–45. DOI: 10.18454/VSTISP.2016.5.3448. (In Russian.)

7. Buntsevich L. L., Vinter M. A., Shcherbakov N. A. Vliyaniye virusa sharki slivy (ppv) na effektivnost' klonal'nogo mikrorazmnozheniya slivy domashney [Influence of plum sharki virus (ppv) on the efficiency of clonal micropropagation of domestic plum] // Agricultural Bulletin of Stavropol Region. 2018. No. 4 (34). Pp. 98–101. DOI: 10.31279/2222-9345-2018-7-32-98-101. (In Russian.)
8. Vysotskiy V. A. Podkhody k prognozirovaniyu konechnogo vykhoda rasteniy pri klonal'nom mikrorazmnozhenii plodovykh i yagodnykh kul'tur [Approaches to predicting the final yield of plants during clonal micropropagation of fruit and berry crops] // Seleksiya i sortorazvedeniye sadovykh kul'tur. 2019. Vol. 6. No. 1. Pp. 24–26. (In Russian.)
9. Shakhov V. V., Fedotova I. E., Tashmatova L. V., Matsneva O. V., Khromova T. M. Vliyaniya sezonnogo faktora na prizhivayemost' eksplantov vishni obyknovennoy v kul'ture *in vitro* [Influence of the seasonal factor on the survival rate of common cherry explants into *in vitro* culture] // International Research Journal. 2020. No. 11-1 (101). Pp. 159–162. DOI: 10.23670/IRJ.2020.101.11.027. (In Russian.)
10. Shakhov V. V., Tashmatova L. V., Matsneva O. V., Khromova T. M. Effektivnost' sterilizuyushchikh agentov pri vvedenii sortov vishni v kul'turu *in vitro* [The effectiveness of sterilizing agents when introducing cherry varieties into culture *in vitro*] // Contemporary horticulture. 2018. No. 4 (28). Pp. 32–37. (In Russian.)
11. Bessonova V. A., Cherepanova O. E. Vvedeniye v kul'turu *in vitro* *Ginkgo biloba* (Linnaeus, 1771) [Introduction into culture *in vitro* *Ginkgo biloba* (Linnaeus, 1771)] // Agrarian Bulletin of the Urals. 2020. No. 12 (203). Pp. 43–49. DOI: 10.32417/1997-4868-2020-203-12-43-49. (In Russian.)
12. Vinter M. A., Fedorovich S. V., Tkhamokova I. Kh. Effektivnost' antiseptika “Biopak” pri sanatsii eksplantov v khode klonal'nogo mikrorazmnozheniya plodovykh kul'tur [The effectiveness of the antiseptic “Biopack” in the rehabilitation of explants in the course of clonal micropropagation of fruit crops] // Polythematic online scientific journal of Kuban State Agrarian University. 2020. No. 162. Pp. 105–113. DOI: 10.21515/1990-4665-162-007. (In Russian.)
13. Yancheva S., Marchev P., Yaneva V., Roichev V. In vitro propagation of grape cultivars and rootstocks for production of pre-basic planting material // Bulgarian Journal of agricultural science. 2018. Vol. 24 (No. 5). Pp. 801–806.
14. Al Ghasheem N., 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. Vol. LXII. Pp. 227–234.
15. Kornatskiy S. A. Tekhnologicheskiye podkhody k ispol'zovaniyu metoda *in vitro* dlya massovogo proizvodstva rasteniy kostochkovykh kul'tur [Technological approaches to the use of the *in vitro* method for the mass production of stone fruit plants] // International Research Journal. 2016. No. 10-4 (52). Pp. 150–152. (In Russian.)
16. Ostrikova O. V., Kharkhardina E. L., Bobkova E. B., Vetrova E. N. Vliyaniye organo-mineral'nogo i gormonal'nogo sostava pitatel'noy sredy na effektivnost' klonal'nogo mikrorazmnozheniya otdalennykh gibridov vishni na etape proliferatsii v kul'ture *in vitro* [Influence of the organomineral and hormonal composition of the nutrient medium on the efficiency of clonal micropropagation of distant cherry hybrids at the stage of proliferation into culture *in vitro*] // Prirodnyye resursy tsentral'nogo regiona Rossii i ikh ratsional'noye ispol'zovaniye: materialy mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii. Orel, 2017. Pp. 31–35. (In Russian.)

**Authors' information:**

Marina G. Markova<sup>1</sup>, researcher, ORCID 0000-0002-9427-6766, AuthorID 721818; +7 919 912-05-07, [marmar1510@yandex.ru](mailto:marmar1510@yandex.ru)

Elena N. Somova<sup>1</sup>, senior researcher, ORCID 0000-0002-7917-8738, AuthorID 721821; +7 950 175-46-27, [ugniish-nauka@yandex.ru](mailto:ugniish-nauka@yandex.ru)

<sup>1</sup> Udmurt Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Izhevsk, Russia