

Регенерационная способность генотипов подрода *Ribesia* Berl. в культуре in vitro

Н. В. Ряго[✉], О. В. Панфилова

Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур, д. Жилина, Орловская область, Россия

[✉]E-mail: ryago@orel.vniispk.ru

Аннотация. Цель. Работа направлена на усовершенствование элементов технологии микроклонального размножения смородины красной с учетом генетических особенностей, регенерационной системы для индукции морфогенеза экплантов. **Методы.** Исследования проведены в 2022/2023 гг. в условиях центрального региона России на базе ВНИИСПК. В качестве объектов исследования выбраны трудно размножающиеся сорта смородины красной 'Валентиновка', 'Мармеладница' и 'Подарок лета', полученные с участием родительской формы 'Rote Spatlese'. Отбор меристематических тканей побегов и стерилизаторов проводился в соответствии с современными отечественными и зарубежными протоколами и методиками. Введение в культуру – в конце зимнего периода, поздневесеннего и осеннего периодов в соответствии со стадиями онтогенетического развития смородины красной. Для математического анализа экспериментальных данных использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). Достоверность результатов опыта оценивали с помощью множественного рангового теста Тьюки при уровне значимости $P < 0,05$. **Результаты.** Экспериментально доказана целесообразность введения в культуру in vitro генотипов смородины красной на этапе вынужденного покоя. В период поздневесеннего введения значительные сортовые различия и снижение жизнеспособности микрорастений связаны с поражением бактериальной микрофлорой и некрозом. Оптимизированы режимы стерилизации апикальных меристем смородины при введении в культуру. Показана целесообразность использования стерилизаторов в зависимости от сорта и этапа введения в культуру. Высокая эффективность вне зависимости от срока введения и сорта получена в эксперименте со стерилизующим агентом $AgNO_3$. **Научная новизна.** Оработаны и научно обоснованы некоторые элементы технологии микроклонального размножения ягодных культур на примере подрода *Ribesia* Berl. Доказана эффективность регенерационной способности экплантов смородины красной в зависимости от периода введения апикальных меристем in vitro, периода онтогенеза смородины и физиологического состояния растений.

Ключевые слова: элементы технологии, сроки введения, онтогенез растений, жизнеспособность экплантов, регенерационная способность, меристема, стерилизующий агент, ступенчатая стерилизация, оздоровление растений

Для цитирования: Ряго Н. В., Панфилова О. В. Регенерационная способность генотипов подрода *Ribesia* Berl. в культуре in vitro // Аграрный вестник Урала. 2024. Т. 24, № 10. С. 1345–1358. DOI: <https://doi.org/10.32417/1997-4868-2024-24-10-1345-1358>.

Дата поступления статьи: 05.08.2024, **дата рецензирования:** 28.08.2024, **дата принятия:** 02.09.2024.

Regenerative ability of genotypes of the *Ribesia* Berl. in vitro

N. V. Ryago[✉], O. V. Panfilova

Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding, Zhilina village, Oryol region, Russia

[✉]E-mail: ryago@orel.vniispk.ru

Abstract. The work was aimed at improving the elements of the technology of microclonal propagation of red currants, taking into account the genetic characteristics and the regeneration system for inducing the morphogenesis of explants. **Methods.** The work was completed in 2022/2023 under the conditions of the central region of Russia on the basis of the Russian Research institute of Fruit Crop Breeding. Difficult to propagate red currant varieties 'Valentinovka', 'Marmeladnitsa' and 'Podarok Leta', which were obtained with the participation of the parent

form 'Rote Spatlese', were selected as the objects of the study. The selection of meristematic tissues of shoots and sterilizers was carried out in accordance with modern domestic and foreign protocols and methods. The introduction to culture was performed at the end of the winter, late spring and autumn periods in accordance with the stages of ontogenetic development of red currant. Statistical processing of the data was carried out using one-way analysis of variance (ANOVA). To analyze the significance of the results, Tukey's multiple rank tests was used at a significance level of $P < 0.05$. **Results.** The feasibility of introducing red currant genotypes into in vitro culture at the stage of forced dormancy was experimentally proven. During the period of late spring introduction, significant varietal differences and a decrease in the viability of microplants were associated with damage by bacterial microflora and necrosis. Sterilization regimes for currant apical meristems when introduced into culture were optimized. The feasibility of using sterilizers is shown depending on the genotype and the period of introduction into the culture. High efficiency, regardless of the period of introduction and variety, was obtained in the experiment with the sterilizing agent AgNO_3 . **Scientific novelty.** Some elements of the technology of microclonal propagation of berry crops were developed and scientifically substantiated using the example of the subgenus *Ribes* Berl. The effectiveness of the survival rate of red currant microplants was shown depending on the period of introduction of apical meristems into the culture and the physiological state of the plants.

Keywords: elements of technology, timing of introduction, plant ontogenesis, viability of explants, regenerative ability, meristem, sterilizing agent, stepwise sterilization, plant health improvement

For citation: Ryago N. V., Panfilova O. V. Regenerative ability of genotypes of the *Ribes* Berl. in vitro. *Agrarian Bulletin of the Urals*. 2024; 24 (10): 1345–1358. DOI: <https://doi.org/10.32417/1997-4868-2024-24-10-1345-1358>. (In Russ.)

Date of paper submission: 05.08.2024, **date of review:** 28.08.2024, **date of acceptance:** 02.09.2024.

Постановка проблемы (Introduction)

Разработка эффективных технологий получения чистосортного, оздоровленного растительного материала ягодных культур является важной задачей интенсификации садоводческой отрасли [1]. Вирусные болезни – одна из главных проблем современного ягодоводства, они приводят к снижению реализационного генетического потенциала существующих сортов [2]. Длительное положительное использование вегетативного размножения ягодных культур, в том числе смородины красной, привело к высокому накоплению инфекционного фона как в частных питомниках, так и в биоресурсных коллекциях НИИ [3]. Использование культуры апикальных меристем обеспечивает получение оздоровленного генетического материала, сохранение коллекции ценных генотипов и улучшение качества посадочного материала ягодных культур [4]. Подбор оптимальных сроков введения в культуру, совершенствование обработок изолированных меристем и выбор питательных сред, максимально эффективных для культивирования растений в *in vitro*, позволят сократить сроки получения чистосортного, безвирусного селекционного материала, а также получить высокотехнологичные адаптированные сорта.

Положительный эффект регенерации апикальных меристем зависит от срока их извлечения из исходного растения, генотипа, происхождения экспланта и стерилизующего агента [5–7]. Успех введения в культуру связан с изменением биохимических реакций в метаболизме растения, включая содержание того или иного фитогормона [8]. Во многих исследовательских работах нет единого мнения по вопросу лучшего срока для максимальной эф-

фективности введения *in vitro*. Для многих ягодных культур эффективным периодом изоляции эксплантов считается период активного роста [9; 10]. На данной стадии развития вероятность заражения (инфицирования) минимальна, повышенный гормональный фон способствует эффективному введению в культуру. Некоторые отмечают лучший результат при изоляции искусственно пробужденных зимующих почек или из почек в период окончания активного роста [9; 11; 12], другие используют спящие почки в конце осеннего периода [13].

Для введения смородины красной некоторые исследователи используют как спящие почки, взятые в конце зимы или ранней весной, так и молодые верхушки побегов в фазе активного роста (май – июнь) [2; 14–16]. Однако процент жизнеспособных эксплантов в указанные сроки сильно варьирует. Важным промежуточным этапом перед введением в культуру является обеззараживание исходного материала с использованием стерилизаторов. Подбор соединения, способствующего освобождению почек от инфекции и получению большего числа жизнеспособных эксплантов, является важным промежуточным этапом. Для каждого вида растений оптимальный режим стерилизации (тип стерилизатора, концентрация, время экспозиции) выбирается экспериментальным путем [17–19]. В качестве стерилизатора для смородины и других ягодных культур применяют различные соединения, которые отличаются степенью дезинфицирующего и антисептического действия: $\text{Ca}(\text{ClO})_2$, NaOCl , HgCl_2 , $\text{C}_9\text{H}_9\text{S}_2\text{HgNa}$, $\text{C}_{47}\text{H}_{53}\text{BrN}_2\text{O}_4$, H_2O_2 , AgNO_3 , $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, белизна, Domestos и т. д. [2; 15; 17; 20–26]. Важно подобрать стерилизующий агент с уче-

том генотипа, вида растений, который обеспечивал стерильность без повреждений культуры [27].

В связи с указанными пробелами в области микрклонального размножения разных представителей ягодных культур целью исследований было определить некоторые элементы технологии *in vitro* (сроки введения и подбор стерилизующего агента), обеспечивающие высокую эффективность микрклонального размножения генотипов подрода *Ribesia* на этапе введения в культуру.

Методология и методы исследования (Methods)

Исследование проведено в лаборатории биотехнологии ВНИИСПК в 2022/2023 гг. Отбор образцов проводился из биоресурсной коллекции красной смородины института. Объектами исследования служили сорта смородины красной 'Валентиновка', 'Мармеладница' и 'Подарок лета', полученные на основе сорта 'Rote Spatlese' во ВНИИСПК (таблица 1). Сорт 'Rote Spatlese' характеризуется высокой урожайностью, поздним сроком созревания, засухоустойчивостью. Генотипы, полученные на основе этого сорта, наследуют высокую урожайность, засухоустойчивость и поздний срок созревания, что пролонгирует период потребления свежей продукции. Однако сорта, полученные с участием 'Rote Spatlese', трудно размножаются вегетативным способом, их сложно привлечь в селекционную практику в связи с продолжительным периодом получения таких растений.

Отбор меристематических тканей побега проведен в соответствии с протоколом Micropropagation of *Rubus* and *Ribes* spp. [22]. В качестве исходного материала использовали почки без кроющих чешуй однолетних побегов сортов смородины красной. Введение в культуру проводили в позднелетний (конец февраля – начало марта), поздневесенний (май) и осенний (октябрь) периоды (опыт I). Для введения в культуру в течение указанных сроков использовали 90 однолетних побегов каждого сорта смородины красной из биоресурсной коллекции института. Длина побегов 20–25 см с 5–6 почками. Побеги переносили в теплое помещение (+20 °C) и помещали в воду на отрастание. Обработка побегов ауксином не проводилась. Через 10–12 дней проводили отбор эксплантов, их размер составлял 1–2 мм.

Стерилизацию почек проводили согласно методическим рекомендациям, разработанным Е. Н. Джигадло в соавторах [28], по многоступенчатой схеме (опыт II):

1. Проточная вода – 40 мин.
 2. Этиловый спирт 70 % – 10 с.
 3. Дистиллированная вода – 10 мин.
 4. Используемый стерилизатор – 5–10 мин.
 5. Стерильная дистиллированная вода – 3 × 10 мин.
- Используемые стерилизаторы (с разной длительностью экспозиции):
- 0,01-процентный раствор мертиолята (C₉H₉HgNaO₂S) (10 мин.);
 - 0,1-процентный раствор сулемы (HgCl₂) (10 мин.);
 - 12-процентный раствор перекиси водорода (H₂O₂) (5 мин.);
 - 0,2-процентный раствор нитрата серебра (AgNO₃) (5 мин.).

Использование комплексной многоступенчатой стерилизации растительного материала снижает инфицированность эксплантов на этапе введения *in vitro* [29].

После последней промывки водой почки помещали в раствор аскорбиновой кислоты в концентрации 3 г/л для предотвращения фенольного окисления. Экспланты высаживали на питательную среду по прописи Murashige – Skoog (таблица 2).

Для стимулирования ростовых процессов использовали регулятор роста 6-БАП (6-бензиламинопуридин) [2; 22]. Для предотвращения развития бактериального заражения среду дополняли антибиотиком гентамицином в концентрации 0,02 г/л. Плановые пересадки растительного материала проводили в ламинар-боксе БАВнп-01-«Ламинар-С»-1.2 (Россия) через каждые 30–35 дней с обновлением питательной среды согласно рекомендациям [15]. Культивирование эксплантов проводили в климатической комнате при температуре +23 ± 2 °C, влажностью воздуха 50–60 %, освещенностью 2500 Лк и фотопериодом 16/8 согласно рекомендациям [22].

Количество учетных растений по каждому опыту – 30 шт. Биологических повторностей – 3. Всего 90 шт. учетных растений.

Таблица 1

Происхождение сортов смородины красной

Сорт	Генетическое происхождение	Видовое происхождение
'Валентиновка'	'Rote Spatlese' × 'Jonkheer Van Tets'	<i>R. rubrum</i> L. <i>R. multiflorum</i> Kit.
'Мармеладница'	'Rote Spatlese' × 'Maarses Prominent'	
'Подарок лета'	'Rote Spatlese' × 'Jonkheer Van Tets'	

Table 1
The origin of red currant varieties

Variety	Genetic origin of plants	Origin of species of plants
'Valentinovka'	'Rote Spatlese' × 'Jonkheer Van Tets'	<i>R. rubrum</i> L. <i>R. multiflorum</i> Kit.
'Marmeladnitsa'	'Rote Spatlese' × 'Maarses Prominent'	
'Podarok leta'	'Rote Spatlese' × 'Jonkheer Van Tets'	

Таблица 2
Состав питательной среды Murashige – Skoog (мг/л)

Компоненты среды			
Макроэлементы		Микроэлементы	
NH_4NO_3	1650	Na_2EDTA	37,3
KNO_3	1900	$FeSO_4 \times 7H_2O$	27,8
KH_2PO_4	170	H_3BO_3	6,2
$CaCl_2 \times 2H_2O$	440	$MnSO_4 \times 4H_2O$	22,3
$MgSO_4 \times 7H_2O$	370	$ZnSO_4 \times 4H_2O$	8,6
		$ZnSO_4 \times 7H_2O$	–
		KJ	0,83
		$Na_2MoO_4 \times 2H_2O$	0,25
		$CuSO_4 \times 5H_2O$	0,025
		$CoCl_2 \times 5H_2O$	0,025
Витамины		Другие компоненты	
Тиамин HCl	0,5	Глицин	2,0
Пиридоксин HCl	0,5	Сахароза	$30 \cdot 10^3$
Никотиновая кислота	0,5	Агар-агар	$4,2 \cdot 10^3$
Аскорбиновая кислота	1,0		
pH			5,8–6,0

Table 2
Composition of the nutrient medium Murashige – Skoog (mg/l)

Components of the nutrient medium			
Macroelements		Microelements	
NH_4NO_3	1650	Na_2EDTA	37.3
KNO_3	1900	$FeSO_4 \times 7H_2O$	27.8
KH_2PO_4	170	H_3BO_3	6.2
$CaCl_2 \times 2H_2O$	440	$MnSO_4 \times 4H_2O$	22.3
$MgSO_4 \times 7H_2O$	370	$ZnSO_4 \times 4H_2O$	8.6
		$ZnSO_4 \times 7H_2O$	–
		KJ	0.83
		$Na_2MoO_4 \times 2H_2O$	0.25
		$CuSO_4 \times 5H_2O$	0.025
		$CoCl_2 \times 5H_2O$	0.025
Vitamins		Other components	
Thiamine HCl	0.5	Glycine	2.0
Pyridoxine HCl	0.5	Sucrose	$30 \cdot 10^3$
Nicotinic acid	0.5	Agar-agar	$4.2 \cdot 10^3$
Ascorbic acid	1.0		
pH			5.8–6.0

Экспериментальные данные были представлены как среднее \pm SE (стандартная ошибка). Средние значения были статистически проанализированы с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA), средние значения обработки считались значительно отличающимися от контрольных значений после анализа с помощью множественного рангового теста Тьюки (Tukey's test) при $P < 0,05$ уровня значимости.

Результаты (Results)

Опыт I. Сроки введения эксплантов в культуру *in vitro*

Прохождение основных вегетационных фаз развития *Ribesia* Berl. (начало вегетации, цветение, со-

зревание ягод, конец роста побегов, листопад) соответствует умеренно-континентальному климату Центрального региона России [30]. Согласно исследованиям О. V. Panfilova с соавторами [31], в феврале – начале марта смородина красная находится в состоянии вынужденного покоя. Среднеголетние значения температурного фактора зимне-весеннего периода Центрального региона (февраль $-7,5$ °C, март $-2,5$ °C) позволяют проводить «извлечение» почек уже в конце зимы. Результаты исследования регенерационной способности эксплантов генотипов смородины красной в периоды вынужденного зимне-весеннего покоя, активного периода вегетации и окончания вегетации показаны на рис. 1.

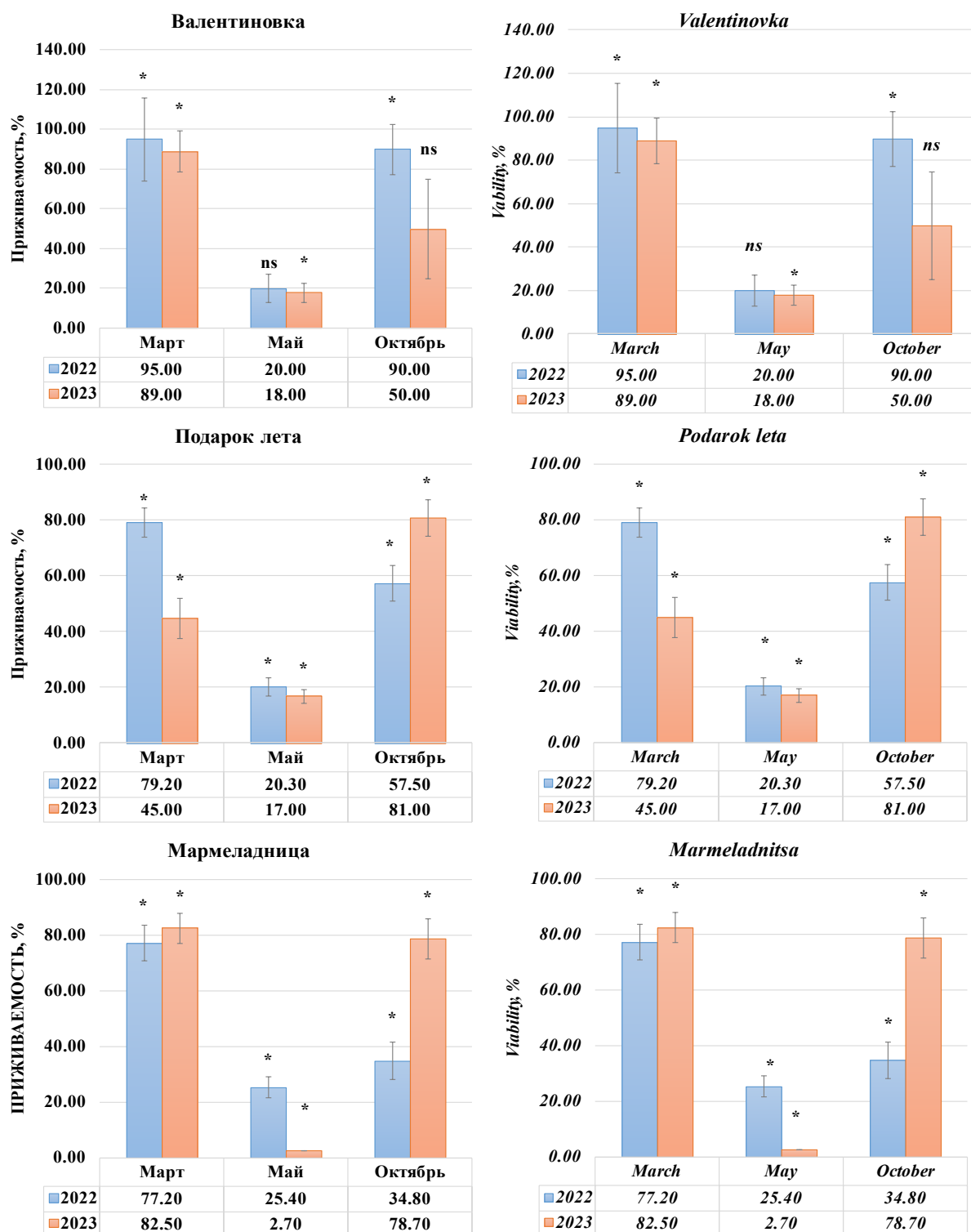


Рис. 1. Приживаемость генотипов *Ribesia Berl.* в зависимости от сроков введения в культуру *in vitro*. По критерию Tukey's (HSD) столбцы с обозначением *ns* не имеют значительных отличий

Fig.1. The viability of *Ribesia Berl.* of genotypes according to the dates of their *in vitro*. By Tukey's test (HSD), columns with «*ns*» indicated are not significantly different

В среднем по сортам эффективность введения в культуру *in vitro* значительно варьировала в зависимости от срока введения. Приживаемость эксплантов смородины в конце зимы составляла 77,9 %, в начале лета – 17,2 %, в осенний период – 65,3 %. Высокие значения жизнеспособности эксплантов

в зимне-весенний и осенний периоды связаны с физиологическим состоянием почек смородины, а именно с замедлением процесса обмена веществ, а также механическими барьерами для продвижения вирусной инфекции в меристематическую зону в связи с небольшим размером плазмодесм [32].

Перемещение растений в теплое помещение (весеннее и зимнее введение) ускоряет обмен веществ и в дальнейшем положительно сказывается на результатах приживаемости [33].

Низкие показатели приживаемости меристем зафиксированы в позднеосенний период для всех изученных сортов, что связано с высоким процентом некроза и количеством зараженных эксплантов. Полученные результаты объясняются интенсивным развитием сапрофитной микрофлоры на поверхности растений, которые приводят к заражению среды и гибели эксплантов некоторых сортов (таблица 3).

На примере сорта 'Подарок лета' (рис. 2) показаны развитие и приживаемость эксплантов в зависимости от срока введения в культуру.

Для представителей ягодных культур, в частности семян смородины черной, значительных отличий по инфицированности и приживаемости, регенерационной способности апикальных меристем почек, находившихся в состоянии покоя, и развивающихся однолетних побегов не выявлено [34]; для определенных сортов винограда высокая эффективность введения в культуру получена в начале вегетации и в фазу активного роста побегов [11]. Полученные нами результаты не подтвердили эти данные, что, вероятно, объясняется генотипическими особенностями растений подрода *Ribesia*.

Опыт II. Эффективность стерилизующих агентов на этапе введения меристем в стерильную культуру

Результат испытания разных стерилизаторов в зависимости от срока введения проверяли спустя 14 дней после культивирования. Учет погибших, инфицированных и жизнеспособных микрорастений позднезимнего введения представлен на рис. 3.

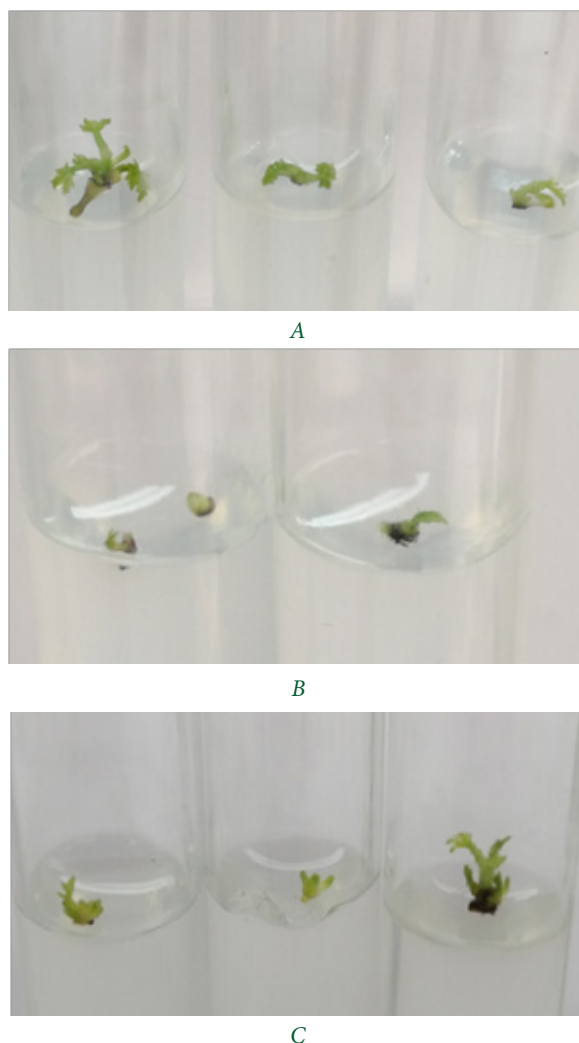


Рис. 2. Экспланты сорта 'Подарок лета' в конце 0-го пассажа (2023 г.) при введении: А – март; В – май; С – октябрь
 Fig. 2. Explants of the variety 'Podarok leta' at the end of the 0th passage (2023) at the introduction of: А – March; В – May; С – October

Таблица 3
Показатели жизнеспособности эксплантов сортов смородины красной в культуре in vitro в разные онтогенетические периоды, %

Сорт	Март		Май		Октябрь	
	Некроз	Заражение	Некроз	Заражение	Некроз	Заражение
Валентиновка	0	5,00	29,00	59,00	40,60	15,80
Мармеладница	17,50	3,10	71,10	12,40	32,70	7,50
Подарок лета	23,60	13,60	67,70	13,10	12,60	15,50
Среднее значение	13,70	7,23	55,93	28,17	28,63	12,93

Table 3
The viability indicators of explants of red currant varieties in vitro at the different ontogenetic periods, %

Variety	March		May		October	
	Necrosis	Contamination	Necrosis	Contamination	Necrosis	Contamination
Valentinovka	0	5.00	29.00	59.00	40.60	15.80
Marmeladnitsa	17.50	3.10	71.10	12.40	32.70	7.50
Podarok leta	23.60	13.60	67.70	13.10	12.60	15.50
Average	13.70	7.23	55.93	28.17	28.63	12.93

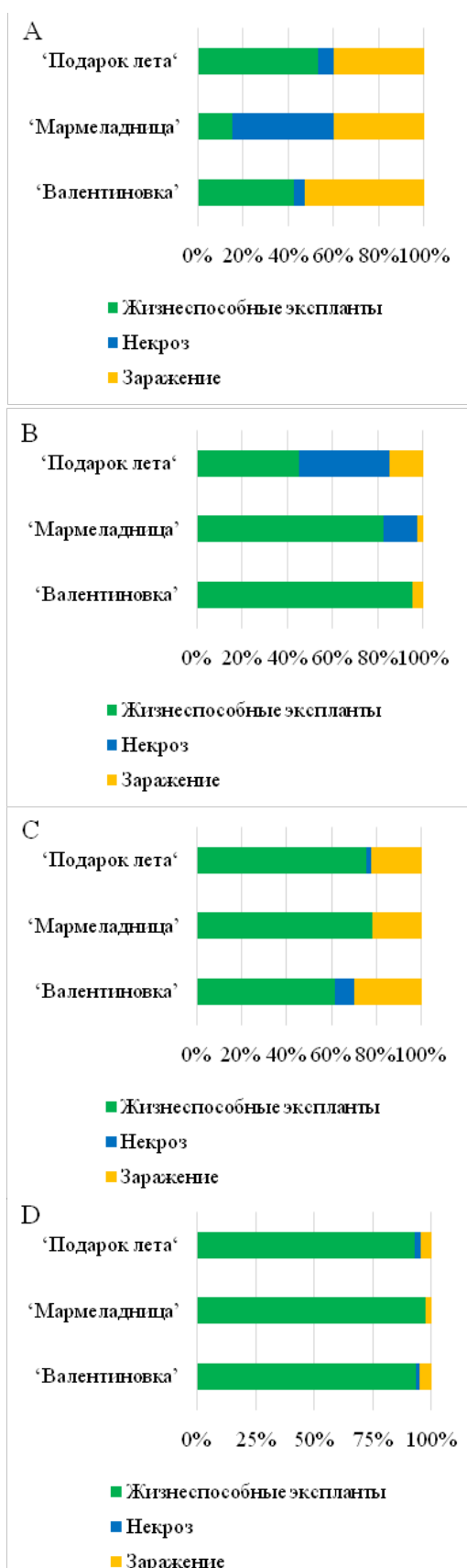


Рис. 3. Стерилизация эксплантов сортов смородины красной при введении в культуру *in vitro* (март, 2023):
 А) мертиолят; В) сулема; С) перекись водорода;
 Д) нитрат серебра

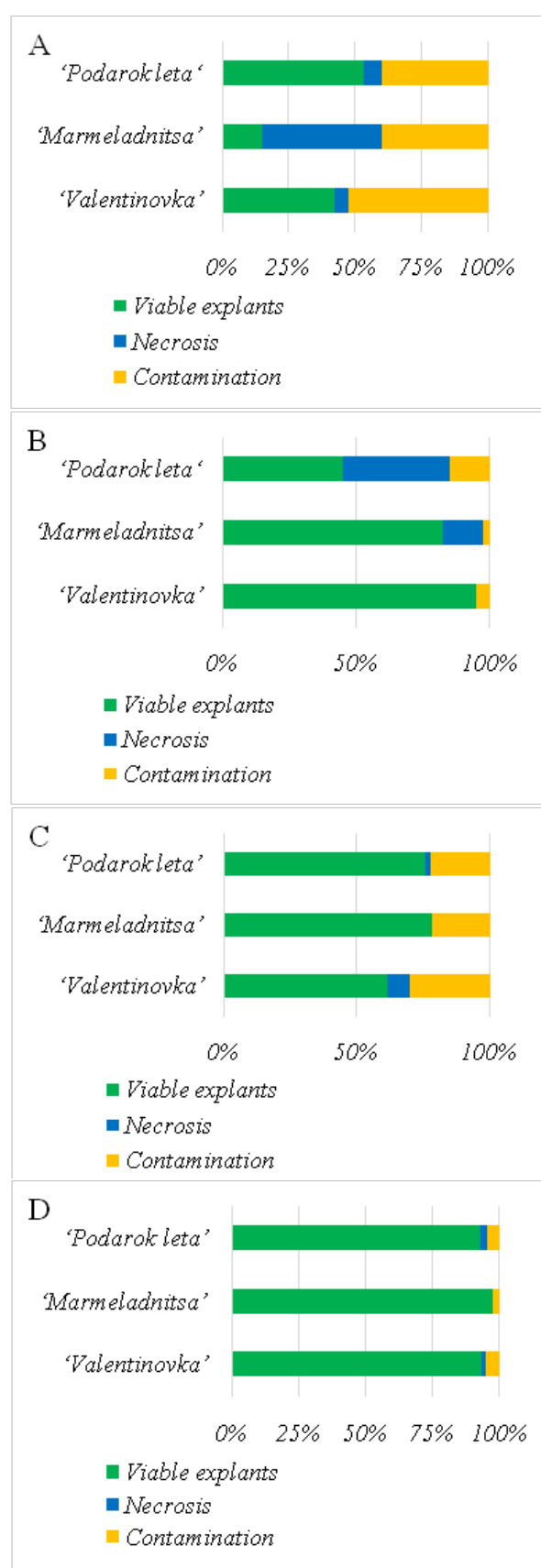


Fig.3. Sterilisation of red currant explants according to the dates of their *in vitro* (March, 2023):
 А) mertiolate; В) sulema; С) hydrogen peroxide;
 Д) silver nitrate

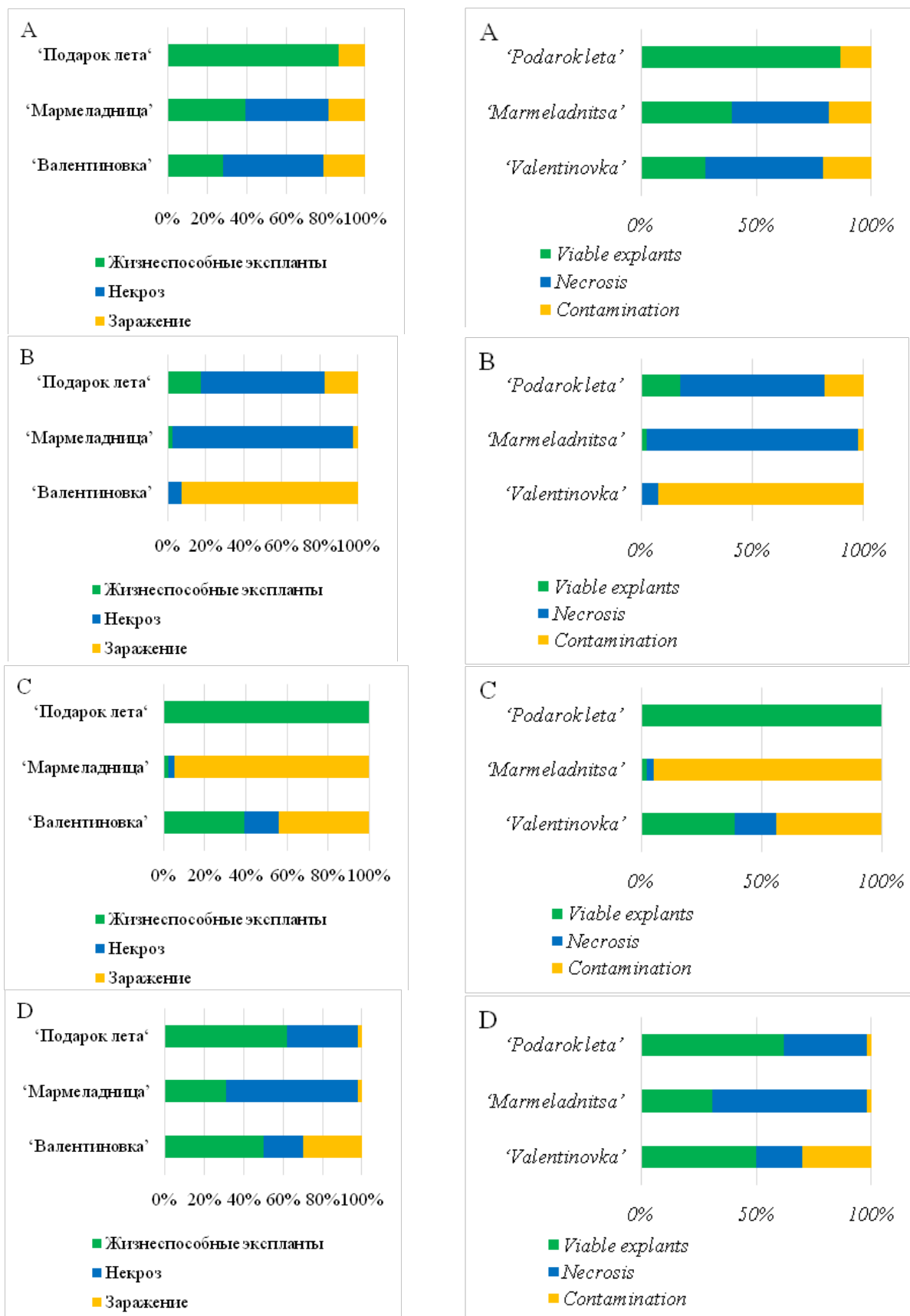


Рис. 4. Стерилизация эксплантов сортов смородины красной при введении в культуру *in vitro* (май, 2023): А) мертиолят; В) сулема; С) перекись водорода; Д) нитрат серебра

Fig.4. Sterilisation of red currant explants according to the dates of their *in vitro* (May, 2023): A) mertiolate; B) sulema; C) hydrogen peroxide; D) silver nitrate

Высокий процент обеззараживания и приживаемость меристем получены при обработке 0,2-процентным раствором нитрата серебра (AgNO_3). Доля жизнеспособных эксплантов по изученным сортам составляла в среднем 94,4 %. При испытании растворов сулемы HgCl_2 (0,1 %) и перекиси водорода H_2O_2 (12 %) жизнеспособность микрорастений немного снизилась до 70 %. При этом в опыте с HgCl_2 показана сортоспецифичность в отношении проявления некроза и заражения. Стерилизующие агенты AgNO_3 и H_2O_2 минимизировали образование некроза тканей до 8,3 %, что объясняется низкой токсичностью H_2O_2 и снижением времени обработки AgNO_3 . Полученные данные по испытанию AgNO_3 на эксплантах подрода *Ribesia* частично согласуются с результатами стерилизации почек при введении в культуру представителей родов *Vaccinium* [35] и *Lonicera* [36]. Раствор AgNO_3 в концентрации 0,2 % оказался достаточно эффективным по сравнению с другими соединениями. В то же время высокая эффективность при стерилизации эксплантов персика и земляники получены при использовании H_2O_2 в концентрации 10 % и 12 % [29; 37]. В данном эксперименте стерилизация почек раствором мертиолята (0,01 %) показала худший результат.

Противоречивые результаты получены при использовании испытываемых стерилизующих агентов

в позднеосенний период. Вариация по изучаемым признакам отмечалась не только по стерилизаторам, но и по генотипам. Для всех изученных сортов низкие значения получены при испытании раствора сулемы. Использование H_2O_2 не обеспечило подавление бактериальной микрофлоры у сортов 'Мармеладница' и 'Валентиновка', высокая контаминация микрообегов снизила сохранность апикальных меристем в культуре (рис. 4). Схожие результаты, демонстрирующие низкий эффект H_2O_2 в позднеосенний период, получены в опытах с эксплантами представителей подрода *Prunus* [24].

Лучшие показатели вне зависимости от испытания стерилизующих агентов показаны на данном этапе у сорта 'Подарок лета'.

На этапе осеннего введения высокая эффективность получена у сортов со стерилизатором AgNO_3 (рис. 5). В среднем по сортам жизнеспособность превышала 80 %. Испытание других стерилизаторов определялось генотипом. Для сорта 'Валентиновка' более 50 % жизнеспособных микрорастений получено в опытах с мертиолятом; более 70 % жизнеспособных эксплантов генотипов 'Подарок лета' и 'Мармеладница' получено при испытании раствора сулемы. Сортоспецифичность при испытании разных стерилизаторов на данном этапе введения получена в экспериментах со сливой, алычой, малиной [38; 39].

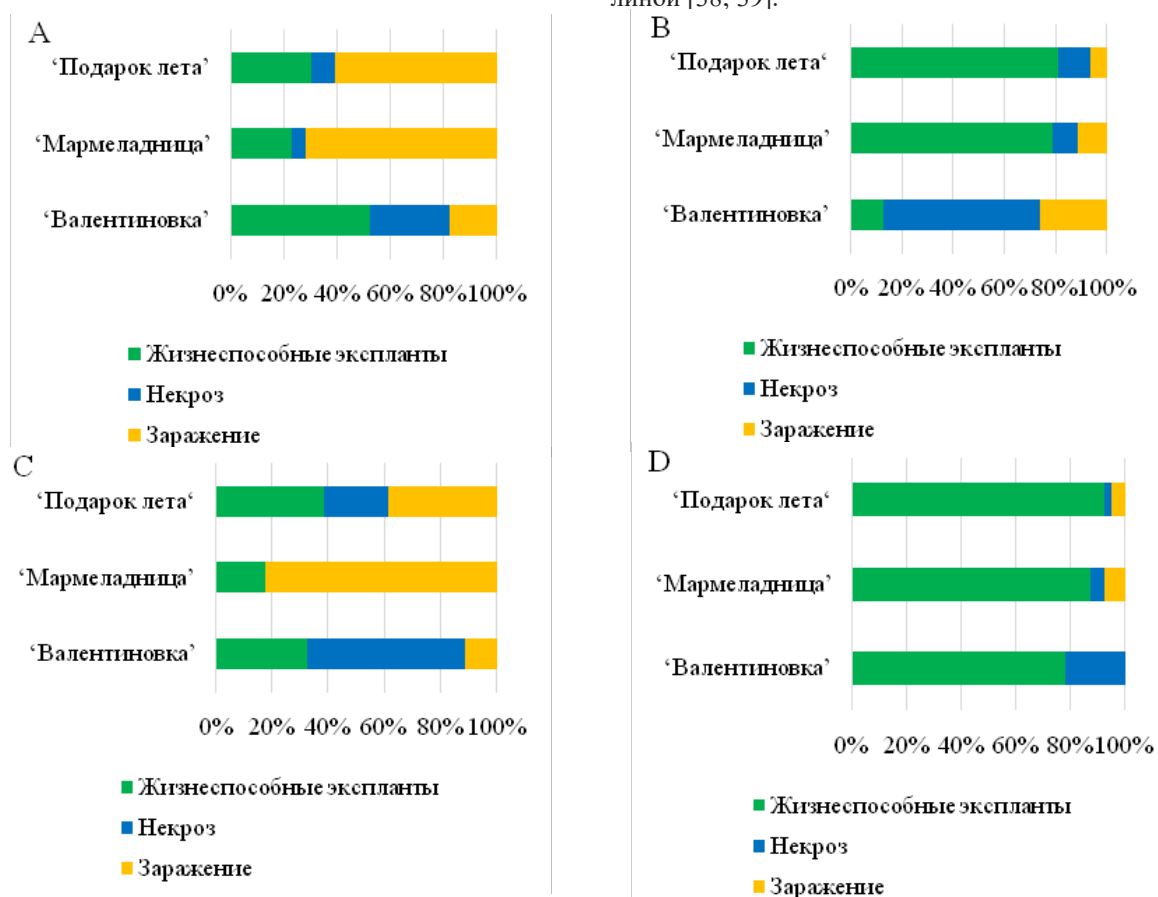


Рис. 5. Стерилизация эксплантов сортов смородины красной при введении в культуру *in vitro* (октябрь, 2023): А) мертиолят; В) сулема; С) перекись водорода; D) нитрат серебра

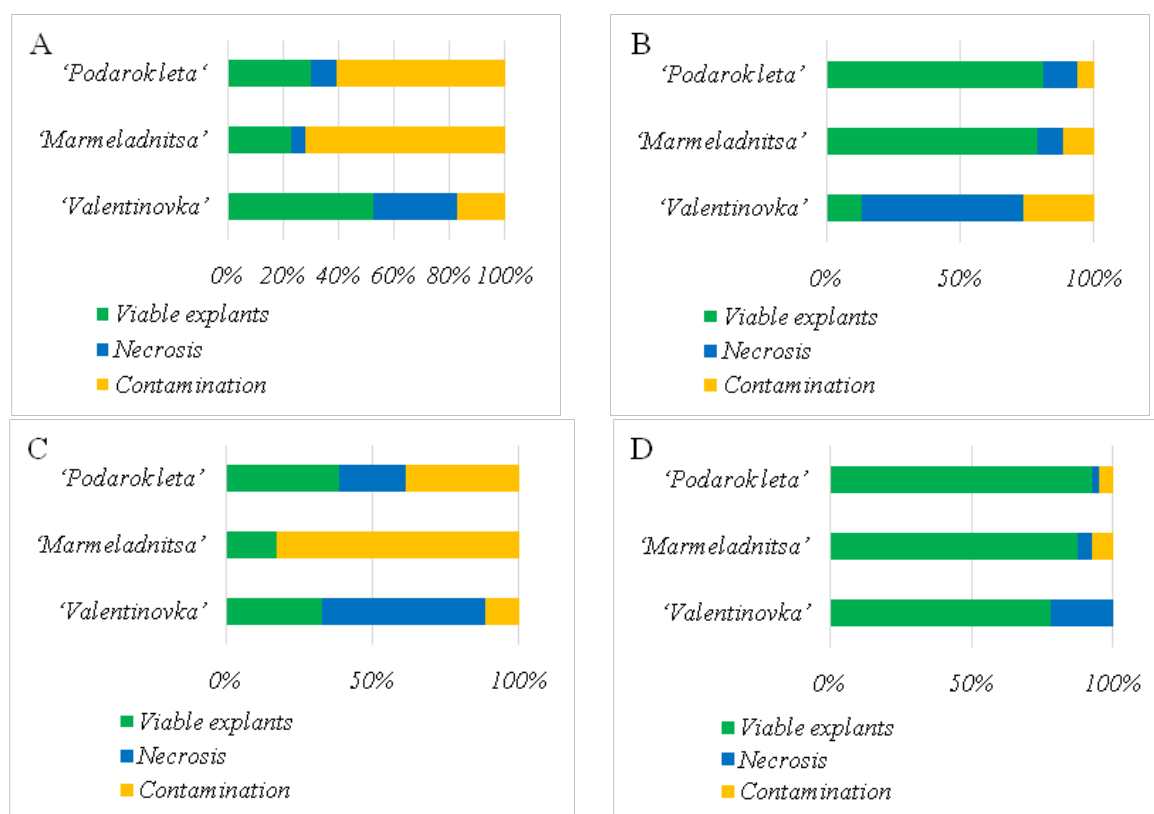


Fig. 5. Sterilisation of red currant explants according to the dates of their *in vitro* (October, 2023): A) mertiolate; B) sulema; C) hydrogen peroxide; D) silver nitrate

Обсуждение и выводы (Discussion and Conclusion)

Усовершенствованы некоторые элементы технологии микроклонального размножения представителей подрода *Ribesia* Berl. с учетом генетических особенностей, регенерационной системы для индукции морфогенеза эксплантов и совершенствованных обработок изолированных меристем.

Определена эффективность приживаемости эксплантов представителей смородины красной в зависимости от срока введения апикальных меристем в культуру и физиологического состояния растений. Высокие показатели приживаемости и жизнеспособности микрорастений были на этапе вынужденного покоя исходных форм. Регенерационная способность эксплантов растений не сильно варьирует по изучаемым сортам. Значительные сортовые различия связаны с жизнеспособностью

эксплантов: поражение некрозом, заражение бактериальной и микотической инфекциями.

Тип выбранного стерилизатора определяется генотипом и периодом введения *in vitro*. Стерилизующий агент $AgNO_3$ показал высокую эффективность вне зависимости от срока введения в культуру и сорта. Способность $AgNO_3$ нарушать жизнедеятельность сапрофитной микрофлоры за счет быстрого проникновения в клетку, оказания бактериостатического и бактериолитического эффекта оказала решающее воздействие на результат данного эксперимента. Данные исследования будут востребованы как в научном, так и в производственном плане: сокращение сроков получения трудно размножающихся генотипов для селекции, сохранение ценных генотипов биоресурсных коллекций, отработка технологий массового получения безвирусного посадочного материала

Библиографический список

1. Badjakov I., Georgiev V., Georgieva M., Dincheva I., Vrancheva R., Ivanov I., Georgiev D., Hristova D., Kondakova V., Pavlov A. Bioreactor technology for *in vitro* berry plant cultivation // Plant Cell and Tissue Differentiation and Secondary Metabolites: Fundamentals and Applications. 2021. Pp. 383–431. DOI: 10.1007/978-3-030-30185-9_18.
2. Kulikov I. M., Evdokimenko S. N., Tumaeva T. A., Kelina A. V., Sazonov F. F., Andronova N. V., Podgaetsky M. A. Scientific support of small fruit growing in Russia and prospects for its development // Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2021. Vol. 25, No. 4. Pp. 414–419. DOI: 10.18699/VJ21.046.
3. Correia S., Matos M., Leal F. Advances in blueberry (*Vaccinium* spp.) *in vitro* culture: a review // Horticulturae. 2024. Vol. 10, No. 6. Article number 533. DOI: 10.3390/horticulturae10060533.

4. Ромаданова Н. В., Кушнаренко С. В. Биотехнология получения безвирусных саженцев яблони // Вестник Карагандинского университета. Серия: Биология. Медицина. География. 2021. Т. 103, № 3. С. 102–118. DOI: 10.31489/2021BVG3/102-118.
5. Макаров С. С., Чудецкий А. И., Родин С. А., Куликова Е. И. Методические рекомендации по выращиванию посадочного материала лесных ягодных растений в культуре *in vitro* [Электронный ресурс]. Пушкино: ВНИИЛМ, 2023. 32 с. URL: https://vniilm.ru/media/edition2023/Recommendations_growing_planting_material.pdf?ysclid=lzi3dlvev4983464521 (дата обращения: 20.07.2024).
6. Хромова Т. М., Ташматова Л. В., Мацнева О. В., Шахов В. В. Некоторые аспекты введения в культуру *in vitro* сортов смородины черной селекции ВНИИСПК // Вестник аграрной науки. 2020. № 4 (85). С. 31–36.
7. Антонов А. М., Макаров С. С., Куликова Е. И., Кузнецова И. Б., Чудецкий А. И., Кульчицкий А. Н. Особенности ризогенеза женских растений морозки приземистой (*Rubus chamaemorus* L.) в культуре *in vitro* // Современное садоводство. 2023. № 2. С. 51–59. DOI: 10.52415/23126701_2023_0204.
8. Кухарчик Н. В., Кастрицкая М. С., Семенов С. Э., Колбанова Е. В., Красинская Т. А., Волосевич Н. Н., Соловей О. В., Змушко А. А., Божидай Т. Н., Рундя А. П., Малиновская А. М. Размножение плодовых и ягодных растений в культуре *in vitro*. Минск: Беларуская навука, 2016. 208 с.
9. Кузьмина Т. И., Кузнецова А. П., Федорович С. В. Повышение экономической эффективности клонального микроразмножения плодовых культур путем оптимизации периода интродукции *in vitro* эксплантов // Вестник Университета Российской академии образования. 2020. № 5. С. 51–58.
10. Супрун И. И., Амосова М. А., Егорова О. В., Лободина Е. В., Авакимян А. О. Особенности клонального микроразмножения клонового подвоя сливы ПК СК 1 // Садоводство и виноградарство. 2024. № 2. С. 5–12. DOI: 10.31676/0235-2591-2024-2-5-12.
11. Бободжанова Х. И., Кухарчик Н. В. Анализ регенерационной способности эксплантов винограда в зависимости от времени введения в культуру *in vitro* и типа экспланта // Плодоводство. 2022. Т. 32, № 1. С. 177–182.
12. Зонтиков Д. Н., Зонтикова С. А., Малахова К. В. Влияние состава питательных сред и регуляторов роста при клональном микроразмножении некоторых хозяйственно ценных представителей рода *Rubus* L. // Агрехимия. 2021. № 6. С. 36–42. DOI: 10.31857/S0002188121060144.
13. Севет О. Л., Авдеенко И. А. Использование биологических методов при микроклональном размножении культурного винограда // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. 2021. № 1 (166). С. 70–76.
14. Manole C. G., Balan V., Mencinicopschi I. C., Golea D., Rodino S., Butu A. The influence of growth regulators concentrations on *in vitro* micropropagation of *Ribes rubrum* species // Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies. 2012. Vol. 16. Pp. 26–29.
15. Dziejdz E., Jagła J. Micropropagation of *Rubus* and *Ribes* spp. // Protocols for Micropropagation of Selected Economically-Important Horticultural Plants. 2013. Pp. 149–160.
16. Cárdenas M. J. S. Adaptación de protocolos de establecimiento *in vitro* de *Ribes rubrum* L., *Ribes nigrum* L. y *Ribes uva-crispa* L.: la disertación ... doctor en ciencias agrícolas. Valdivia: Universidad Austral de Chile, 2016. 41 p.
17. Никитина А. В., Ленточкин А. М., Леконцева Т. Г., Федоров А. В. Влияние способа стерилизации и срока введения в культуру *in vitro* на жизнеспособность эксплантов клонового подвоя яблони 54-118 // Вестник Удмуртского университета. Серия «Биология. Науки о Земле». 2020. Т. 30, № 4. С. 411–416.
18. Ugur R. Development of *in vitro* sterilization protocol for DO-1 (*Prunus domestica*) rootstock // Applied Ecology & Environmental Research. 2020. Vol. 18 (2). DOI: 10.15666/aer/1802_23392349.
19. Singh B. K., Ali M. N., Samanta S., Mandal N. A Comparative analysis among different surface sterilisation methods for rice *in vitro* culture // International Journal of Plant Soil Science. 2021. Vol. 33 (17). Pp. 148–154.
20. Фоменко Н. Г., Жолобова О. О., Сорокопудов В. Н. Ингибирование фенольных соединений на этапе введения в культуру *in vitro* *Ribes aureum* Pursh для увеличения приживаемости эксплантов // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. 2022. № 7. С. 85–92.
21. Князева И. В., Сорокопудов В. Н., Сорокопудова О. А. Элементы оптимизации технологии сохранения смородины черной *in vitro* // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. 2020. № 6 (159). С. 48–55.
22. Sedlák J., Paprštein F. *In vitro* establishment and proliferation of red currant cultivars // Horticultural Science. 2012. Vol. 39, No. 1. Pp. 21–25.
23. Ряго Н. В. Особенности микроклонального размножения некоторых представителей смородины рода *Ribes* spp.: обзор // Аграрный вестник Урала. 2023. Т. 23, № 10. С. 69–80. DOI: 10.32417/1997-4868-2023-23-10-69-80.

24. Шахов В. В., Федотова И. Э., Ташматова Л. В., Мацнева О. В., Хромова Т. М. Сравнительный анализ стерилизаторов на основе периодизации их использования // Вестник КрасГАУ. 2019. № 12 (153). С. 38–42.
25. Камбарова А., Карипбаева Р. К., Бахтаулова А. С. Получение асептически чистой культуры смородины Мейера для введения в культуру *in vitro* // Селекция и сорторазведение садовых культур. 2020. Т. 7, № 1–2. С. 80–82.
26. Аникина И. Н., Адамжанова Ж. А., Камарова А. Н., Кусаинов А. А. Преодоление микроорганизмов-контаминантов в культуре растительных тканей *in vitro* // Биологические науки Казахстана. 2020. № 4. С. 133–143.
27. Шевелуха В. С., Калашникова Е. А., Воронин Е. С. [и др.] Сельскохозяйственная биотехнология: учебник. Москва: Высшая школа, 1998. 416 с.
28. Джигадло Е. Н., Джигадло М. И., Голышкина Л. В. Методические рекомендации по использованию биотехнологических методов в работе с плодовыми, ягодными и декоративными культурами. Орел: ВНИИСПК, 2005. 51 с.
29. Мацнева О. В., Ташматова Л. В., Шахов В. В. Эффективность применения стерилизующих агентов для эксплантов земляники // Селекция и сорторазведение садовых культур. 2018. Т. 5, № 1. С. 71–73.
30. Panfilova O., Kahramanoğlu I., Ondrasek G., Okatan V., Ryago N., Tsoy M., Golyaeva O., Knyazev S. Creation and use of highly adaptive productive and technological red currant genotypes to improve the assortment and introduction into different ecological and geographical zones // Plants. 2022. Vol. 11 (6). Article number 802. DOI: 10.3390/plants11060802.
31. Panfilova O., Tsoy M., Golyaeva O., Knyazev S., Karpukhin M. Agrometeorological and morpho-physiological studies of the response of red currant to abiotic stresses // Agronomy. 2021. Vol. 11 (8). Article number 1522. DOI: 10.3390/agronomy11081522.
32. Anikina I., Kamarova A., Issayeva K., et al. Plant protection from virus: a review of different approaches // Frontiers in Plant Science. 2023. Vol. 14. Article number 1163270. DOI: 10.3389/fpls.2023.1163270.
33. Змушко А. А. Период покоя сельскохозяйственных растений // Плодоводство. 2021. Т. 33. С. 246–252.
34. Ковалева И. С., Мацнева А. Е., Ханбабаева О. Е., Мазаева А. С. Введение в культуру *in vitro* и клональное микроразмножение перспективного сеянца смородины черной (*Rubus nigrum* L.) // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. 2019. № 12 (153). С. 43–48. DOI: 10.36718/1819-4036-2019-12-43-48.
35. Чудецкий А. И., Родин С. А., Зарубина Л. В., Кузнецова И. Б., Тяк Г. В. Микроклональное размножение и особенности адаптации к условиям *ex vitro* лесных ягодных растений рода *Vaccinium* // Техника и технология пищевых производств. 2022. Т. 52, № 3. С. 570–581.
36. Куликова Е. И., Макаров С. С., Кузнецова И. Б., Чудецкий А. И. Особенности культивирования российских и зарубежных сортов жимолости съедобной (*Lonicera edulis* Turcz.) *in vitro* // Техника и технология пищевых производств. 2021. Т. 51, № 4. С. 712–722.
37. 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. 227. Pp. 227–234.
38. Кастрицкая М. С., Кухарчик Н. В., Змушко А. А. Введение в культуру *in vitro* и микроразмножение сортов сливы и алычи белорусского сортимента // Плодоводство. 2018. Т. 30, № 1. С. 86–92.
39. Колпаков Н. А., Сулова К. С. Совершенствование технологии стерилизации эксплантов малины и ускорение морфогенеза в культуре *in vitro* // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2024. № 2 (232). С. 32–40. DOI: 10.53083/1996-4277-2024-232-2-32-40.

Об авторах:

Нелли Васильевна Ряго, аспирант, младший научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур, д. Жилина, Орловская область, Россия; ORCID 0000-0003-2871-6126; AuthorID 1110256. E-mail: ryago@orel.vniispk.ru

Ольга Витальевна Панфилова, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур, д. Жилина, Орловская область, Россия; ORCID 0000-0003-4156-6919, AuthorID 722405. E-mail: panfilova@orel.vniispk.ru

References

1. Badjakov I., Georgiev V., Georgieva M., Dincheva I., Vrancheva R., Ivanov I., Georgiev D., Hristova D., Kondakova V., Pavlov A. Bioreactor technology for *in vitro* berry plant cultivation. *Plant Cell and Tissue Differentiation and Secondary Metabolites: Fundamentals and Applications*. 2021: 383–431. DOI: 10.1007/978-3-030-30185-9_18.

2. Kulikov I. M., Evdokimenko S. N., Tumaeva T. A., Kelina A. V., Sazonov F. F., Andronova N. V., Podgaetsky M. A. Scientific support of small fruit growing in Russia and prospects for its development. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2021; 25 (4): 414–419. DOI: 10.18699/VJ21.046.
3. Correia S., Matos M., Leal F. Advances in blueberry (*Vaccinium* spp.) *in vitro* culture: a review. *Horticulturae*. 2024; 10 (6): 533. DOI: 10.3390/horticulturae10060533.
4. Romadanova N. V., Kushnarenko S. V. Biotechnology for obtaining virus-free apple planting stocks. *Bulletin of the Karaganda University. Biology. Medicine. Geography series*. 2021; 103 (3): 102–118. DOI: 10.31489/2021BMG3/102-118. (In Russ.)
5. Makarov S. S., Chudetskiy A. I., Rodin S. A., Kulikova E. I. Guidelines to produce forest berry plant planting stock *in vitro* [Internet]. 2023 [cited 2024 July 10]; 32 p. Available from: https://vniilm.ru/media/edition2023/Recommendations_growing_planting_material.pdf?ysclid=lzi3dlvev4983464521. (In Russ.)
6. Khromova T. M., Tashmatova L. V., Matsneva O. V., Shakhov V. V. Some aspects of introduction into *in vitro* culture of black currant varieties (*Ribes nigrum* L.) of the russian research institute of fruit crop breeding. *Bulletin of Agrarian Science*. 2020; 4 (85): 31–36. (In Russ.)
7. Antonov A. M., Makarov S. S., Kulikova E. I., Kuznetsova I. B., Chudetskiy A. I., Kul'chitskiy A. N. Features of rhizogenesis of female plants of cloudberry (*Rubus chamaemorus* L.) in *in vitro* culture. *Contemporary Horticulture*. 2023; 2: 51–59. DOI: 10.52415/23126701_2023_0204. (In Russ.)
8. Kukharchik N. V., Kastritskaya M. S., Semenas S. E., Kolbanova E. V., Krasinskaya T. A., Volosevich N. N., Solovey O. V., Zmushko A. A., Bozhiday T. N., Rundya A. P., Malinovskaya A.M. Reproduction of fruit and berry plants in culture *in vitro*. Minsk: Belaruskaya navuka, 2016. 208 p. (In Russ.)
9. Kuz'mina T. I., Kuznetsova A. P., Fedorovich S. V. Increasing economic efficiency of clonal micro-propagation of fruit crops by optimizing period of *in vitro* explants introduction. *Herald of the University of Russian Academy of Education*. 2020; 5: 51–58. (In Russ.)
10. Suprun I. I., Amosova M. A., Egorova O. V., Lobodina E. V., Avakimyan A. O. Features of clonal micro-propagation of plum PK SK 1 clonal rootstock. *Horticulture and Viticulture*. 2024; 2: 5–12. DOI: 10.31676/0235-2591-2024-2-5-12. (In Russ.)
11. Bobodzhanova Kh. I., Kukharchyk N. V. Analysis of regenerative ability of grape explants depending on time of initiation of *in vitro* culture and type of explant. *Fruit Growing*. 2020; 32 (1): 177–182. (In Russ.)
12. Zontikov D. N., Zontikova S. A., Malakhova K. Influence of the composition of nutrient media and growth regulators during clonal micropropagation of some economically valuable representatives of the genus *Rubus* L. *Agrokimiya*. 2021; 6: 36–42. DOI: 10.31857/S0002188121060144. (In Russ.)
13. Seget O. L., Avdeenko I. A. The use of biological methods at microclonal reproduction of cultural grapes. *The Bulletin of KrasGAU*. 2021; 1 (166): 70–76. (In Russ.)
14. Manole C. G., Balan V., Mencinicopschi I. C., Golea D., Rodino S., Butu A. The influence of growth regulators concentrations on *in vitro* micropropagation of *Ribes rubrum* species. *Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies*. 2012; 16: 26–29.
15. Dziedzic E., Jagła J. Micropropagation of *Rubus* and *Ribes* spp. // *Protocols for Micropropagation of Selected Economically-Important Horticultural Plants*. 2013: 149–160.
16. Cárdenas M. J. S. Adaptación de protocolos de establecimiento *in vitro* de *Ribes rubrum* L., *Ribes nigrum* L. y *Ribes uva-crispa* L.: la disertación ... doctor en ciencias agrícolas. Valdivia: Universidad Austral de Chile, 2016. 41 p. (In Span.)
17. Nikitina A. V., Lentochkin A. M., Lekontseva T. G., Fedorov A. Influence of the sterilization method and the time of introduction into *in vitro* culture on the viability of explants of the clonal apple stock 54-118. *Bulletin of Udmurt University. Series Biology. Earth Sciences*. 2020; 30 (4): 411–416. (In Russ.)
18. Ugr R. Development of *in vitro* sterilization protocol for DO-1 (*Prunus domestica*) rootstock // *Applied Ecology & Environmental Research*. 2020. Vol. 18 (2). DOI: 10.15666/aer/1802_23392349.
19. Singh B. K., Ali M. N., Samanta S., Mandal N. A Comparative analysis among different surface sterilisation methods for rice *in vitro* culture. *International Journal of Plant Soil Science*. 2021; 33 (17): 148–154.
20. Fomenko N. G., Zholobova O. O., Sorokopudov V. N. Inhibition of phenol compounds at the stage of introduction *in vitro* culture *Ribes aureum* Pursh to increase explants enhability. *Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy*. 2022; 7: 85–92. (In Russ.)
21. Knyazeva I. V., Sorokopudov V. N., Sorokopudova O. A. The elements of optimization of the technology for the conservation of black currant *in vitro*. *Bulletin of KSAU*. 2020; 6 (159): 48–55. (In Russ.)
22. Sedlák J., Paprštein F. *In vitro* establishment and proliferation of red currant cultivars. *Horticultural Science*. 2012; 39 (1): 21–25.
23. Ryago N. V. Features of micro clone reproduction of some currant representatives of the genus *Ribes* spp.: review. *Agrarian Bulletin of the Urals*. 2023; 23 (10): 69–80. DOI: 10.32417/1997-4868-2023- 23-10-69-80. (In Russ.)

24. Shakhov V. V., Fedotova I. E., Tashmatova L. V., Matsneva O. V., Khromova T. M. Comparative analysis of sterilizers on the basis of periodization of their use. *The Bulletin of KrasGAU*. 2019; 12 (153): 38–42. (In Russ.)
25. Kambarova A., Karipbaeva R. K., Bakhtaulova A. S. Obtaining an aseptically pure ‘Meyer’ currant culture for *in vitro* culture. *Selektsiya i Sortorazvedenie Sadovykh Kul'tur*. 2020; 7 (1-2): 80–82. (In Russ.)
26. Anikina I. N., Adamzhanova Zh. A., Kamarova A. N., Kusainov A. A. Prevention of microorganisms contaminants in the plant tissues culture. *Biological Sciences of Kazakhstan*. 2020; 4: 133–143. (In Russ.)
27. Shevelukha V. S., Kalashnikova E. A., Voronin E. S., et al. *Agricultural biotechnology: textbook*. Moscow: Vysshaya shkola, 1998. 416 p. (In Russ.)
28. Dzhigadlo E. N., Dzhigadlo M. I., Golyshkina L. V. Methodical recommendations for using biotechnological methods in work with fruit, berry and ornamental crops. Oryol: VNIISPK, 2005. 51 p. (In Russ.)
29. Matsneva O. V., Tashmatova L. V., Shakhov V. V. Efficiency of using sterilizing agents for strawberry explants. *Selektsiya i Sortorazvedenie Sadovykh Kul'tur*. 2018; 5(1): 71-73. (In Russ.)
30. Panfilova O., Kahramanoğlu I., Ondrasek G., Okatan V., Ryago N., Tsoy M., Golyaeva O., Knyazev S. Creation and use of highly adaptive productive and technological red currant genotypes to improve the assortment and introduction into different ecological and geographical zones. *Plants*. 2022; 11 (6): 802. DOI: 10.3390/plants11060802.
31. Panfilova O., Tsoy M., Golyaeva O., Knyazev S., Karpukhin M. Agrometeorological and morpho-physiological studies of the response of red currant to abiotic stresses. *Agronomy*. 2021; 11 (8): 1522. DOI: 10.3390/agronomy11081522.
32. Anikina I., Kamarova A., Issayeva K., Issakhanova S., Mustafayeva N., Insebayeva M., Mukhamedzhanova A., Khan S.M., Ahmad Z., Lho L.H., Han H., Raposo A. Plant protection from virus: a review of different approaches. *Frontiers in Plant Science*. 2023; 14: 1163270. DOI: 10.3389/fpls.2023.1163270.
33. Zmushko A. A. Dormancy period of agricultural plants. *Fruit Growing*. 2021; 33: 246–252. DOI: 10.47612/0134-9759-2021-33-246-252. (In Russ.)
34. Kovaleva I. S., Matsneva A. E., Khanbabaeva O. E., Mazaeva A. S. The introduction to culture *in vitro* and clonal micropropagation of perspective seedling of black currant (*Ribes nigrum* L.). *The Bulletin of KrasGAU*. 2019; 12 (153): 43–48. DOI: 10.36718/1819-4036-2019-12-43-48. (In Russ.)
35. Chudetskiy A. I., Rodin S. A., Zarubina L. V., Kuznetsova I. B., Tyak G. V. Clonal micropropagation and peculiarities of adaptation to *ex vitro* conditions of forest berry plants of the genus *Vaccinium*. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2022; 52 (3): 570–581. (In Russ.)
36. Kulikova E. I., Makarov S. S., Kuznetsova I. B., Chudetskiy A. I. Russian and foreign cultivars of honeysuckle (*Lonicera edulis* Turcz.): cultivation studies *in vitro*. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2021; 51 (4): 712–722. DOI: 10.21603/2074-9414-2021-4-712-722. (In Russ.)
37. 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; 227: 227–234. (Web of Science)
38. Kastritskaya M. S., Kukcharchyk N. V., Zmushko A. A. *In vitro* initiation and Belarusian assortment plum and cherry plum micropropagation. *Fruit Growing*. 2018; 30 (1): 86–92. (In Russ.)
39. Kolpakov N. A., Suslova K. S. Improving the technology of sterilization of raspberry explants and accelerating morphogenesis *in vitro* culture. *Bulletin of Altai State Agricultural University*. 2024; 2 (232): 32–40. DOI: 10.53083/1996-4277-2024-232-2-32-40. (In Russ.)

Authors' information:

Nelli V. Ryago, junior researcher, Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding, Zhilina village, Oryol region, Russia, ORCID 0000-0003-2871-6126, AuthorID 1110256. *E-mail: ryago@orel.vniispk.ru*

Olga V. Panfilova, senior researcher, Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding, Zhilina village, Oryol region, Russia, ORCID 0000-0003-4156-6919, AuthorID 722405. *E-mail: panfilova@orel.vniispk.ru*