

Влияние цитокининов на пролиферацию сортов яблони в культуре in vitro

Л. В. Ташматова, Т. М. Хромова, О. В. Мацнева✉

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

✉ E-mail: tashmatova@orel.vniispk.ru

Аннотация. Цель исследования – определить наиболее оптимальный регулятор роста для повышения пролиферативной активности и выхода микропобегов, пригодных для укоренения. **Методы.** Объекты исследования – иммунные и устойчивые к парше сорта яблони Болотовское, Имрус, Ветеран, Кандиль орловский, Гирлянда, Приокское. Опыты были проведены в лаборатории биотехнологии отдела биотехнологии и молекулярной генетики с использованием приемов клонального микроразмножения. Для стимуляции пролиферативной активности использовали цитокинины 6-бензиламинопурин (БАП), тидиазурон (TDZ) и кинетин в различных концентрациях. **Научная новизна** заключается в том, что определены оптимальные концентрации цитокининов в составе питательных сред для повышения пролиферативной активности эксплантов яблони, а также для получения микропобегов, пригодных для этапа ризогенеза. **Результаты.** На основе полученных данных установили влияние на пролиферацию яблони сортовых особенностей, типа и концентрации цитокининов. Наибольшая пролиферативная активность у эксплантов яблони была отмечена на фоне БАП и тидиазурана. Однако необходимо учитывать концентрацию стимуляторов. Так, наиболее оптимальное содержание БАП для большинства сортов – 2,0 мг/л, тидиазурана – 0,2 мг/л. Повышение концентрации тидиазурана до 0,3 мг/л снижало значение коэффициента размножения. Для сортов Болотовское и Имрус применение БАП в концентрации 1,0 мг/л способствовало увеличению пролиферативной активности микропобегов. Использование тидиазурана у сорта Имрус вызывало образование витрифицированных микропобегов. При использовании кинетина коэффициент размножения не превышал значения 2,2. При всех концентрациях кинетина отмечали рост микропобегов в длину, делая их пригодными для этапа укоренения. Таким образом, кинетин рекомендуется использовать на стадии элонгации. Из исследуемых сортов наибольшей способностью к пролиферации отличался сорт Гирлянда, наименьшей – сорт Ветеран.

Ключевые слова: яблоня, микроразмножение, цитокинины, коэффициент размножения, пролиферирующие побеги, сортоспецифическая реакция

Для цитирования: Ташматова Л. В., Хромова Т. М., Мацнева О. В. Влияние цитокининов на пролиферацию сортов яблони в культуре in vitro // Аграрный вестник Урала. 2025. Т. 25, № 05. С. 769–778. <https://doi.org/10.32417/1997-4868-2025-25-05-769-778>.

Дата поступления статьи: 26.07.2024, **дата рецензирования:** 25.11.2024, **дата принятия:** 18.02.2025.

The influence of cytokinins on the proliferation of apple varieties in vitro culture

L. V. Tashmatova, T. M. Khromova, O. V. Matsneva✉

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

✉E-mail: tashmatova@orel.vniispk.ru

Abstract. The purpose is to determine the most optimal growth regulator for increasing proliferative activity and the yield of microshoots suitable for rooting. **Methods.** The objects of the study are immune and scab-resistant apple varieties Bolotovskoe, Imrus, Veteran, Kandil Orlovskiy, Girlyanda, Priokskoe. The experiments were carried out in the biotechnology laboratory of the Department of Biotechnology and Molecular Genetics using clonal micropropagation techniques. To stimulate proliferative activity, cytokinins were used: 6-benzylaminopurine (BA), thidiazuron (TDZ) and kinetin in various concentrations. **The scientific novelty** consists in the fact that optimal concentrations of cytokinins in the composition of nutrient media have been determined to increase the proliferative activity of apple tree explants, as well as to obtain microshoots suitable for the rhizogenesis stage. **Results.** Based on the data obtained, the influence of varietal characteristics, type and concentration of cytokinins on the proliferation of apple trees was established. The greatest proliferative activity in apple tree explants was observed against the background of BA and thidiazuron. However, the concentration of stimulants must be taken into account. Thus, the most optimal content of BA for most varieties is 2.0 mg/l and thidiazuron is 0.2 mg/l. Increasing the concentration of thidiazuron to 0.3 mg/l reduced the value of the multiplication factor. For the Bolotovskoye and Imrus varieties, the use of BA at a concentration of 1.0 mg/l contributed to an increase in the reproduction coefficient. The use of thidiazuron in the Imrus variety caused the formation of vitrified microshoots. When using kinetin, the multiplication factor did not exceed 2.2. At all kinetin concentrations, microshoots grew in length, making them suitable for the rooting stage. Thus, kinetin is recommended for use during the elongation stage. Of the studied varieties, the variety Girlyanda had the greatest ability to proliferate, and the variety Veteran had the least ability.

Keywords: apple tree, micropropagation, cytokinins, reproduction coefficient, proliferating shoots, variety-specific reaction

For citation: Tashmatova L. V., Khromova T. M., Matsneva O. V. The influence of cytokinins on the proliferation of apple varieties in vitro culture. *Agrarian Bulletin of the Urals*. 2025; 25 (05): 769–778. <https://doi.org/10.32417/1997-4868-2025-25-05-769-778>. (In Russ.)

Date of paper submission: 26.07.2024, **date of review:** 25.11.2024, **date of acceptance:** 18.02.2025.

Постановка проблемы (Introduction)

Яблоня (*Malus × domestica* Borkh.; *Rosaceae*) – важная плодовая культура, которая выращивается в основном в регионах мира с умеренным климатом и играет важную роль в сбалансированном питании населения России [1]. В мире производится большое количество фруктов: яблоки, груши абрикосы, персики и др. Но именно яблокам отдается явное предпочтение. По последним данным, 51 страна производит яблоки. Их валовой сбор в мире увеличился за последние 20 лет с 59 млн до 87 млн т. Площадь возделывания яблоневых садов в мире превышает 4 млн га. В России возделывается 200 000 га. [2; 3]. Таким образом, яблоня является очень распространенной и важной культурой, поэтому актуальным вопросом является создание новых урожайных сортов с высоким качеством плодов, устойчивостью к биотическим факторам и болезням. Для генетического улучшения сортов (привоев) и подвоев яблони был использован биотехнологический

метод – культивирование тканей *in vitro* [4; 5]. Этот метод обладает огромными возможностями размножения растительного материала для селекционных программ за более короткий период времени с меньшими трудозатратами и меньшими затратами по сравнению с традиционными методами клонального размножения, такими как почкование или прививка. Микроразмножение может предоставить селекционерам хорошую возможность для быстрого размножения редких или ценных генотипов, а также для поддержания сбора и обмена зародышевой плазмы *in vitro* и *in vivo* [6]. Метод культуры тканей *in vitro* имеет следующие преимущества:

- высокий коэффициент размножения;
- быстрое внедрение в производство высококачественного посадочного материала;
- эффективное оздоровление посадочного материала от вирусной, бактериальной и грибной инфекции, а также вредителей;

- выпуск высококачественного посадочного материала;
- повышение генетической однородности растительного материала;
- повышение урожайности;
- возможность проведения работы в лабораториях в течение круглого года и планирования выпуска растений к определённому сроку;
- длительное депонирование стерильных растений;
- обмен материалом в международном масштабе без риска занести карантинные объекты [7; 8].

Процесс клонального микроразмножения включает несколько стадий:

- 1) инициация эксплантов в культуру *in vitro*;
- 2) собственно микроразмножение;
- 3) ризогенез микропобегов;
- 4) адаптация к условиям *in vivo* [9].

На стадии размножения образование дополнительных побегов зависит от пролиферативной активности меристем латеральных почек, которая определяется генотипом, а также типом и концентрацией регуляторов роста [5; 10].

Выделяют природные и синтетические регуляторы роста. Метаболические процессы в растениях протекают при непосредственном участии эндогенных регуляторов роста, к которым относятся метаболиты растений. Одним из фитогормонов являются цитокинины. При клональном микроразмножении цитокинины способны снимать апикальное доминирование. Они необходимы для деления клеток, роста и дифференцировки растений. Цитокинины обладают многообразным физиологическим действием и жизненно важны для роста и развития растений. Они также замедляют старение органов и повышают их устойчивость к неблагоприятным условиям внешней среды [11].

В культуре *in vitro* для повышения интенсивности формирования адвентивных побегов чаще используют синтетические гормоны, такие как 6-бензиламинопурин (БАП), кинетин, 2-изо-пентениладенин (2-іР), тидиазурон (TDZ) [12–14].

Для индукции пролиферации пазушных меристем у микрорастений плодовых и ягодных культур рекомендуют использовать 0,5–3,0 мг/л 6-бензиламинопурина [6]. Добавление в питательную среду 2,0 мг/л вызывает повышение коэффициента размножения, но снижает число растений, пригодных к укоренению, так как образуются мелкие побеги со сближенными междоузлиями [15]. Для яблони лучше использовать 1,0 мг/л БАП [16; 17].

В исследованиях А. Какимжановой в Национальном центре биотехнологии при микроразмножении дикой яблони *Malus sieversii* оптимальный уровень пролиферации был получен при добавлении в питательную среду сочетания 0,75 мг/л БАП и 0,2 мг/л ГК [18].

В последние годы при клональном микроразмножении древесных растений хорошие результаты показывает тидиазурон (TDZ) [19]. Его особенность проявляется в том, что его можно использовать в качестве как цитокинина, так и ауксина [20; 21]. Предполагается, что TDZ способен выводить боковые почки из покоя, стимулирует синтез и накопление других эндогенных цитокининов, регулировку клеточных мембран, усвоение питательных веществ и лучшее усвоение питательных веществ тканями растений [22]. Однако при стимуляции пролиферации у некоторых сортов яблони с помощью TDZ часто приводит к деформации листьев и побегов, гипергидратации микропобегов [5].

Для снижения витрификации, которая может наблюдаться при использовании БАП и TDZ, рекомендуется использовать кинетин в концентрации 5,0 мг/л. Коэффициент размножения достигал 1,5 шт/эксплант. Также кинетин способствует вытяжению микропобегов [23].

В связи с этим целью наших исследований было определить наиболее оптимальный регулятор роста для повышения пролиферативной активности и выхода микропобегов, пригодных для укоренения.

Методология и методы исследования (Methods)

В качестве объектов исследований были выбраны иммунные и устойчивые к парше сорта яблони селекции ФГБНУ ВНИИСПК Болотовское, Имрус, Ветеран, Кандиль орловский, Гирлянда, Приокское. Микрорастения яблони были введены и размножены в культуре *in vitro* по предложенной для размножения яблони и груши методике О. В. Матушкиной [24]. Побеги яблони были взяты из открытого грунта в периоды начала вегетации (апрель) или активного роста (первая половина июня). Апексы выделяли из покоящихся апикальных и латеральных почек (весна) и апикальных почек молодых развивающихся побегов. Жизнеспособные экспланты, полученные на этапе введения, переносили на питательную среду для размножения с различными регуляторами роста. Собственно микроразмножение проводили на питательной среде Кворина – Лепуавра (QL), обогащенной сахарозой – 30 г, аскорбиновой кислотой – 1,5 мг/л, тиаминном HCl, пиридоксином HCl, никотиновой кислотой – 0,5 мг/л, хелатом железа ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 27,8 мг/л, $\text{Na}_2\text{ЭДТА}$ – 3 7,3 мг/л) и цитокининам: 6-бензиламинопурина (БАП) в концентрации 1,0 мг/л, 2,0 мг/л, тидиазурон (TDZ) в концентрации 0,1 мг/л, 0,2 мг/л, 0,3 мг/л, кинетин в концентрации 1,0 мг/л, 2,0 мг/л, 3,0 мг/л, 4,0 мг/л, 5,0 мг/л. Добавляли агар-агара 4,2 г/л, pH 5,8–6,0. Для сокращения затрат времени на приготовление питательных сред использовали маточные концентрированные растворы солей. Готовили отдельно растворы макро-, микросолей, солей кальция и хелатов. Хелат железа готовили путем растворения $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ и $\text{Na}_2\text{ЭДТА}$ (трилон Б) в стерильной

дистиллированной воде и последующим смешиванием этих двух веществ и кипячении в течение нескольких минут до полного растворения компонентов. Витамины готовили непосредственно перед составлением питательной среды либо готовили в небольшом объеме маточные растворы и хранили в холодильнике. Цитокинины растворяли в 0,1N растворе соляной кислоты при легком нагревании. Для хранения маточных растворов использовали бытовой холодильник. При приготовлении питательной среды все компоненты смешивали в нужных пропорциях.

Для стерилизации питательных сред использовали автоклав. Режим стерилизации: температура 120 °C, давление 1 атм в течение 15 минут.

Во время работы использовали стерильные лабораторную посуду, инструменты и другие сопутствующие материалы.

Операции изоляции и пересадки эксплантов осуществляли в условиях стерильного ламинар-бокса БАВнп-01-«Ламинар-С»-1,8 LORICA. Перед началом работы ламинар-бокс облучался бактерицидными ультрафиолетовыми лампами в течение 1 часа. Обработка внутренней поверхности и инструментов осуществляется с помощью 70-процентного раствора этанола. Обработку инструментов в процессе работы производили систематически перед каждой манипуляцией путем погружения в 70-процентный раствор этанола и последующего обжига в пламени спиртовки.

Пробирки и банки с микрорастениями помещали в культуральную комнату, где устанавливали освещенность 2500–3000 люкс, фотопериод 16/8 (16 часов – день, 8 часов – ночь), температуру 22–24 °C, влажность воздуха 50–60 %. Для освещения использовали светодиодные светильники.

Учет данных проводили через каждые 4–5 недель культивирования. Учитывали коэффициент размножения, который рассчитывали как среднее арифметическое от общего числа дополнительных побегов на эксплант, число микрочеренков, образовавших дополнительные побеги, и число побегов более 5 мм. Объем варианта по каждой концентрации составлял 30 микрочеренков (1 микрочеренок на 1 пробирку). Рассчитывали среднеквадратическое отклонение от средней арифметической. Обработка всех результатов исследований была проведена с применением метода дисперсионного анализа при помощи MS Excel.

Результаты (Results)

Известно, что в основе клонального микроразмножения растений лежит активация роста существующих в растении меристем в результате снятия апикального доминирования. Успешное протекание этого процесса обеспечивается либо удалением верхушечной меристемы, либо наличием в питательной среде всех компонентов, в том числе и ци-

токининов, в оптимальных концентрациях. Ранее проведенные исследования показали, что у культур и сортов растений имеется различная ответная реакция на тот или иной гормон роста, что обусловлено, по мнению Н. В. Кухарчик [25], их эндогенным содержанием и является генетически обусловленным признаком. Поэтому залогом успешного размножения яблони в культуре тканей является определение оптимального для конкретного сорта или группы сортов типа цитокинина и его концентрации.

Оценку реакции на добавление цитокининов в различных концентрациях у каждого из исследуемых сортов проводили по таким показателям, как число пролиферирующих микрочеренков от общего количества, значение коэффициента размножения пролиферирующих побегов и количество микропобегов, длина которых превышала 5 мм.

В контрольном варианте большое количество пролиферирующих микрочеренков наблюдали у сортов Болотовское и Кандиль орловский. Однако значение этого показателя не являлось максимальным для этих сортов. У сорта Ветеран при концентрации БАП 1,0 мг/л было самое низкое число микрочеренков, способных к пролиферации.

Повышение концентрации БАП до 2,0 мг/л привело к увеличению числа пролиферирующих микрочеренков у сортов Ветеран, Гирлянда и Приокское, незначительно у сортов Имрус и Кандиль орловский, а у сорта Болотовское несколько понизило данное значение.

Использование тидиазурана в концентрациях 0,1 мг/л снизило количество пролиферирующих микрочеренков по сравнению с контролем у всех сортов, кроме Ветерана. Самой оптимальной, вызывающей образование дополнительных побегов у большинства эксплантов, является концентрация TDZ 0,2 мг/л. У сорта Болотовское значение этого показателя было на уровне контроля. Для сорта Ветеран оптимальное содержание тидиазурана – 0,3 мг/л.

При использовании кинетина наблюдали снижение числа микрочеренков, образовавших дополнительные побеги у сортов Болотовское, Имрус, Кандиль орловский и Гирлянда. У сорта Ветеран при использовании кинетина в концентрации 4,0 мг/л и 5,0 мг/л были получены лучшие результаты по количеству пролиферирующих микрочеренков, превысив в четыре раза контроль (таблица 1).

Важным показателем при микроразмножении *in vitro* является коэффициент размножения, который рассчитывали как количество микропобегов, полученных за одно субкультивирование [26].

По результатам исследований было выявлено, что в среднем разницы между сортами по коэффициенту размножения не было, однако при детальном изучении каждого отдельного сорта прослеживается различная реакция генотипов на тип и концентрацию

цитокининов. Так, у сортов Болотовское и Имрус максимальное среднее количество регенерантов на один эксплант наблюдали в контрольном варианте и при добавлении в питательную среду 0,2 мг/л TDZ. Для сортов Кандиль орловский и Ветеран максимальные коэффициенты размножения получены при использовании TDZ в концентрации 0,2 мг/л.

У сортов Гирлянда и Приокское максимальное значение коэффициента было отмечено при БАП до 2,0 мг/л.

Повышение концентрации TDZ до 0,3 мг/л вызывало снижение пролиферативной активности в 1,5–2 раза.

При использовании кинетина наблюдали снижение коэффициента размножения у всех сортов яблони, кроме Ветерана.

Увеличение кинетина до 5,0 мг/л способствовало резкому снижению образования дополнительных микропобегов. Наиболее активная пролиферация под воздействием кинетина была отмечена при

концентрации 2,0–3,0 мг/л, однако она не превысила контрольные показатели.

В среднем по цитокининам наиболее оптимальным для размножения является БАП в концентрации 2,0 мг/л (таблица 2).

При рассмотрении доли хорошо развитых регенерантов сортов яблони наблюдается тенденция к снижению этого показателя при увеличении концентрации БАП и тидиазулона у сортов Кандиль орловский, Ветеран, Приокское. У сорта Болотовское повышение концентрации данных цитокининов стимулировало рост микропобегов в длину.

При использовании тидиазулона наблюдали специфическую реакцию сортов. После длительного культивирования микрочеренков на среде с этим цитокинином образовывались мелкие бледные побеги. У сорта Имрус тидиазурон вызывал витрификацию микропобегов и их отмирание уже со второго пассажа. Также наблюдали образование каллуса, особенно у сорта Имрус.

Таблица 1
Влияние типа цитокинина на число эксплантов, образовавших дополнительные побеги, %

Регуляторы роста, мг/л	Сорт						Среднее значение	НСР ₀₅
	Болотовское	Имрус	Кандиль орловский	Ветеран	Гирлянда	Приокское		
БАП 1,0 (контроль)	80,5	59,1	73,9	18,0	54,5	49,2	55,9	52,9
БАП 2,0	76,3	62,2	97,1	54,0	94,4	92,0	79,3	36,7
TDZ 0,1	74,3	33,6	42,9	61,5	34,0	27,3	45,6	29,2
TDZ 0,2	81,3	80,8	89,8	63,3	86,1	34,4	72,6	26,7
TDZ 0,3	37,6	61,3	52,6	71,0	58,9	40,3	53,6	22,1
Кинетин 1,0	30,5	33,2	—	35,0	43,1	33,0	35,4	58,8
Кинетин 2,0	27,2	11,3	31,2	48,3	42,3	—	32,01	188,3
Кинетин 3,0	40,0	44,3	40,0	36,4	58,9	—	43,9	28,9
Кинетин 4,0	64,0	78,6	45,9	78,2	23,0	—	57,9	38,3
Кинетин 5,0	54,1	32,0	58,1	74,8	40,0	—	51,8	30,3
Среднее значение	56,6	49,6	59,0	54,0	53,5	46,0		
НСР ₀₅	58,4	62,8	40,9	54,2	60,5	55,0		

Примечание. Прочерк означает отсутствие данных.

Table 1
Effect of cytokinin type on the number of explants that formed additional shoots, %

Growth regulators, mg/l	Variety						Average value	LSD ₀₅
	Bolotovskoe	Imrus	Kandil Orlovskiy	Veteran	Girlyanda	Priokskoe		
BA 1,0 (control)	80.5	59.1	73.9	18.0	54.5	49.2	55.9	52.9
BA 2,0	76.3	62.2	97.1	54.0	94.4	92.0	79.3	36.7
TDZ 0,1	74.3	33.6	42.9	61.5	34.0	27.3	45.6	29.2
TDZ 0,2	81.3	80.8	89.8	63.3	86.1	34.4	72.6	26.7
TDZ 0,3	37.6	61.3	52.6	71.0	58.9	40.3	53.6	22.1
Kinetin 1,0	30.5	33.2	—	35.0	43.1	33.0	35.4	58.8
Kinetin 2,0	27.2	11.3	31.2	48.3	42.3	—	32.01	188.3
Kinetin 3,0	40.0	44.3	40.0	36.4	58.9	—	43.9	28.9
Kinetin 4,0	64.0	78.6	45.9	78.2	23.0	—	57.9	38.3
Kinetin 5,0	54.1	32.0	58.1	74.8	40.0	—	51.8	30.3
Average value	56.6	49.6	59.0	54	53.5	46.0		
LSD ₀₅	58.4	62.8	40.9	54.2	60.5	55.0		

Note. A dash indicates no data.

Таблица 2

Влияние цитокининов на коэффициент размножения яблони

Регуляторы роста, мг/л	Сорт						Среднее значение	НСР ₀₅
	Болотовское	Имрус	Кандиль орловский	Ветеран	Гирлянда	Приокское		
БАП 1,0 (контроль)	3,1 ± 0,2	2,7 ± 0,3	2,7 ± 0,3	1,5 ± 0,1	3,1 ± 0,3	1,5 ± 0,2	2,4 ± 0,2	1,7
БАП 2,0	2,0 ± 0,1	2,1 ± 0,1	2,9 ± 0,2	2,1 ± 0,1	4,4 ± 0,2	4,3 ± 0,7	3,0 ± 0,4	2,2
ТДЗ 0,1	2,5 ± 0,4	1,9 ± 0,1	1,6 ± 0,2	2,2 ± 0,1	1,6 ± 0,1	1,4 ± 0,1	1,9 ± 0,2	1,5
ТДЗ 0,2	3,1 ± 0,3	2,6 ± 0,3	3,2 ± 0,3	2,4 ± 0,3	2,7 ± 0,3	2,1 ± 0,3	2,7 ± 0,3	1,8
ТДЗ 0,3	1,5 ± 0,1	2,2 ± 0,3	1,7 ± 0,1	1,7 ± 0,1	1,8 ± 0,2	1,6 ± 0,1	1,7 ± 0,1	0,5
Кинетин 1,0	1,8 ± 1,4	1,7 ± 0,2	—	1,7 ± 0,1	2,2 ± 0,2	1,2 ± 0,1	1,7 ± 0,4	1,4
Кинетин 2,0	1,9 ± 0,1	1,5 ± 0,2	1,3 ± 0,2	2,2 ± 0,2	2,2 ± 0,2	—	1,8 ± 0,2	0,7
Кинетин 3,0	1,9 ± 0,1	1,7 ± 0,2	1,6 ± 0,2	2,0 ± 0,3	2,2 ± 0,1	—	1,9 ± 0,2	0,9
Кинетин 4,0	1,6 ± 0,2	1,7 ± 0,1	1,6 ± 0,2	2,3 ± 0,2	1,5 ± 0,2	—	1,7 ± 0,2	0,7
Кинетин 5,0	1,4 ± 0,1	1,4 ± 0,3	1,4 ± 0,2	1,4 ± 0,2	1,4 ± 0,1	—	1,4 ± 0,2	0,5
Среднее значение	2,1 ± 0,3	1,9 ± 0,3	2,0 ± 0,2	1,9 ± 0,2	2,3 ± 0,2	2,0 ± 0,2		
НСР ₀₅	2,2	2,03	1,6	1,7	1,7	2,5		

Примечание. Прочерк означает отсутствие данных.

Table 2

The effect of cytokinins on the reproduction rate of apple trees

Growth regulators, mg/l	Variety						Average value	LSD ₀₅
	Bolotovskoe	Imrus	Kandil Orlovskiy	Veteran	Girlyanda	Priokskoe		
BA 1,0 (control)	3.1 ± 0.2	2.7 ± 0.3	2.7 ± 0.3	1.5 ± 0.1	3.1 ± 0.3	1.5 ± 0.2	2.4 ± 0.2	1.7
BA 2,0	2.0 ± 0.1	2.1 ± 0.1	2.9 ± 0.2	2.1 ± 0.1	4.4 ± 0.2	4.3 ± 0.7	3.0 ± 0.4	2.2
TDZ 0,1	2.5 ± 0.4	1.9 ± 0.1	1.6 ± 0.2	2.2 ± 0.1	1.6 ± 0.1	1.4 ± 0.1	1.9 ± 0.2	1.5
TDZ 0,2	3.1 ± 0.3	2.6 ± 0.3	3.2 ± 0.3	2.4 ± 0.3	2.7 ± 0.3	2.1 ± 0.3	2.7 ± 0.3	1.8
TDZ 0,3	1.5 ± 0.1	2.2 ± 0.3	1.7 ± 0.1	1.7 ± 0.1	1.8 ± 0.2	1.6 ± 0.1	1.7 ± 0.1	0.5
Kinetin 1,0	1.8 ± 1.4	1.7 ± 0.2	—	1.7 ± 0.1	2.2 ± 0.2	1.2 ± 0.1	1.7 ± 0.4	1.4
Kinetin 2,0	1.9 ± 0.1	1.5 ± 0.2	1.3 ± 0.2	2.2 ± 0.2	2.2 ± 0.2	—	1.8 ± 0.2	0.7
Kinetin 3,0	1.9 ± 0.1	1.7 ± 0.2	1.6 ± 0.2	2.0 ± 0.3	2.2 ± 0.1	—	1.9 ± 0.2	0.9
Kinetin 4,0	1.6 ± 0.2	1.7 ± 0.1	1.6 ± 0.2	2.3 ± 0.2	1.5 ± 0.2	—	1.7 ± 0.2	0.7
Kinetin 5,0	1.4 ± 0.1	1.4 ± 0.3	1.4 ± 0.2	1.4 ± 0.2	1.4 ± 0.1	—	1.4 ± 0.2	0.5
Average value	2.1 ± 0.3	1.9 ± 0.3	2.0 ± 0.2	1.9 ± 0.2	2.3 ± 0.2	2.0 ± 0.2		
LSD ₀₅	2.2	2.03	1.6	1.7	1.7	2.5		

Note. A dash indicates no data.

Повышение концентрации в питательной среде кинетина на фоне снижения коэффициента размножения и числа пролиферирующих микрочеренков вызывало рост в длину образовавшихся микропобегов. Те микрочеренки, которые не образовывали дополнительные микропобеги, продолжали расти в длину, достигая 30–35 мм. Такие микропобеги пригодны для укоренения либо для черенкования, если необходимо проводить дальнейшее размножение.

Обсуждение и выводы (Discussion and Conclusion)

Успех клонального микроразмножения яблони в значительной степени зависит от пролиферативной активности микропобегов, на которую оказывают влияние генотип, состав среды и регуляторы роста растений, а также *in vitro* факторы окружающей среды [5]. Исследования показали существенное влияние цитокининов и их количество на регенера-

ционные процессы яблони на этапе размножения. На всем протяжении экспериментов прослеживалась сортоспецифическая реакция на использование цитокининов в различных концентрациях. В результате выполненных исследований были оптимизированы приемы повышения коэффициента размножения и стимуляции роста микропобегов в длину, делая их пригодными для этапа укоренения.

Было отмечено, что увеличение концентрации БАП повышало коэффициент размножения и снижало долю побегов, пригодных для укоренения, (кроме сортов Болотовское и Имрус).

Для сорта яблони Болотовское для повышения коэффициента размножения рекомендуется применять БАП в концентрации 1,0 мг/л и TDZ в концентрации 0,2 мг/л.

Таблица 3

Влияние типа цитокинина на выход микропобегов яблони более 5 мм, %

Регуляторы роста, мг/л	Сорт						Среднее значение	НСР ₀₅
	Болотовское	Имрус	Кандиль орловский	Ветеран	Гирлянда	Приокское		
БАП 1,0 (контроль)	63,9	66,9	70,2	83,6	69,8	88,0	73,7	33,8
БАП 2,0	69,5	64,1	60,0	77,3	66,8	63,5	66,9	27,3
ТДЗ 0,1	54,8	78,5	92,0	61,1	78,6	91,9	76,1	24,8
ТДЗ 0,2	52,0	70,1	57,0	78,2	56,0	82,6	66,0	32,4
ТДЗ 0,3	72,3	64,4	66,3	30,8	70,6	65,1	61,6	37,5
Кинетин 1,0	89,6	60,7	—	95,8	95,2	97,3	85,3	47,9
Кинетин 2,0	93,9	37,6	100	100	92,9	—	84,9	54,9
Кинетин 3,0	72,3	97,2	75,0	100	100	—	88,9	10,7 $F_{\phi} > F_{05}$
Кинетин 4,0	100	100	100	100	100	—	100	—
Кинетин 5,0	100	100	100	100	100	—	100	—
Среднее значение	71,1	73,9	80,0	82,7	83,0	81,4		
НСР ₀₅	29,0	82,1	35,6	18,6, $F_{\phi} > F_{05}$	28,1	36,2		

Примечание. Прочерк означает отсутствие данных.

Table 3

Effect of cytokinin type on the yield of apple microshoots over 5 mm, %

Growth regulators, mg/l	Variety						Average value	LSD ₀₅
	Bolotovskoe	Imrus	Kandil Orlovsky	Veteran	Garlyanda	Priokskoe		
BA 1,0 (control)	63.9	66.9	70.2	83.6	69.8	88.0	73.7	33.8
BA 2,0	69.5	64.1	60.0	77.3	66.8	63.5	66.9	27.3
TDZ 0,1	54.8	78.5	92.0	61.1	78.6	91.9	76.1	24.8
TDZ 0,2	52.0	70.1	57.0	78.2	56.0	82.6	66.0	32.4
TDZ 0,3	72.3	64.4	66.3	30.8	70.6	65.1	61.6	37.5
Kinetin 1,0	89.6	60.7	—	95.8	95.2	—	85.3	47.9
Kinetin 2,0	93.9	37.6	100	100	92.9	—	84.9	54.9
Kinetin 3,0	72.3	97.2	75.0	100	100	—	88.9	10.7 $F_f > F_{05}$
Kinetin 4,0	100	100	100	100	100	—	100	—
Kinetin 5,0	100	100	100	100	100	—	100	—
Average value	71.1	73.9	80.0	82.7	83.0	78.2		
LSD ₀₅	29.0	82.1	35.6	18.6, $F_f > F_{05}$	28.1	36.2		

Note. A dash indicates no data.

Для сорта Имрус рекомендуется использовать только 1,0 мг/л БАП. При использовании 0,2 мг/л TDZ у данного сорта отмечали наибольшее число пролиферирующих микрочеренков и высокий коэффициент размножения, однако этот цитокинин вызывает образование витрифицированных бледных побегов, которые затем погибали, поэтому его не рекомендуется применять при культивировании сорта Имрус. Способность тидиазурина вызывать витрификацию побегов была подтверждена работами других авторов [4].

Использование питательной среды с 2,0 мг/л БАП и 0,2 мг/л TDZ способствовало увеличению ко-

эффициента у большого количества микрочеренков сортов Кандиль орловский, Гирлянда и Приокское.

Использование кинетина оказывает благоприятное воздействие на рост микрочеренков в длину, что способствует получению материала для следующего этапа микроразмножения – ризогенеза, так как хорошо укореняются и в дальнейшем хорошо переносят адаптацию хорошо развитые микропобеги. Поэтому при культивировании яблони *in vitro* кинетин можно использовать на этапе элонгации. Результаты исследований могут быть применены в дальнейшей работе по ускоренному получению посадочного материала яблони.

Библиографический список

1. Горланов С. В., Макаренко С. А. Зимостойкость сортов яблони в условиях восточного Оренбуржья // Современное садоводство. 2023. № 1. С. 31–39. DOI: 10.52415/2312670120230103.
2. Атажанова Е. В., Лукичева Л. А. Анализ состояния и мировые тенденции выращивания и селекции яблони // Биология растений и садоводство: теория, инновации. 2021. № 3 (160). С. 76–85. DOI: 10.36305/2712-7788-2021-3-160-76-85.
3. Макаркина М. А., Седов Е. Н., Ветрова О. А. Оценка и отбор сортов яблони для селекции на повышенное содержание фенольных соединений в плодах // Современное садоводство. 2023. № 4. С. 23–35. DOI: 10.52415/23126701-2023-0403.
4. Григорьева Е. В., Привалов А. А., Папихин Р. В., Шамрина И. А. Клональное микроразмножение яблони [Электронный ресурс] // Наука и образование. 2022. Т. 5, № 1. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/klonalnoe-mikrorazmnozhenie-yabloni?ysclid=mal3khmqllu308531241> (дата обращения: 10.07.2024).
5. Teixeira da Silva J. A., Gulyás A., Magyar-Tábori K., et al. In vitro tissue culture of apple and other *Malus* species: recent advances and applications // Planta. 2019. Vol. 249. Pp. 975–1006. DOI: 10.1007/s00425-019-03100-x.
6. Amirchakhmaghi N., Hosseinpour B., Yousefzadeh H. Development of a micropropagation protocol for *Malus orientalis* using axillary buds // In vitro Cellular & Developmental Biology – Plant. 2019. Vol. 55. Pp. 625–634. DOI: 10.1007/s11627-019-09992-4.
7. Ковальчук И. Ю., Кабылбекова Б. Ж., Чуканова Н. И., Турдиев Т. Т., Фролов С. Н. Клональное микроразмножение в производстве посадочного материала яблони Казахстана // Вестник Нижегородской государственной сельскохозяйственной академии. 2020. № 3 (27). С. 5–12.
8. Собралиева Э. А., Палаева Д. О., Батукаев М. С., Батукаев А. А. Состояние изученности микроразмножения плодово-ягодных культур и винограда (обзор литературы) // Инновационная деятельность как фактор развития агропромышленного комплекса в современных условиях: материалы II Международной научной конференции, посвященной 75-летию ФГБНУ «Чеченский НИИСХ». Грозный, 2020. С. 100–118. DOI: 10.36684/22-2020-1-100-118.
9. Isroilova Sh. Ja. In vitro microclonal multiplication of fruit cultures // Theoretical & Applied Science. 2019. No. 5 (73). Pp. 531–535. DOI: 10.15863/TAS.2019.05.73.81.
10. Ташматова Л. В., Мацнева О. В., Хромова Т. М. Клональное микроразмножение яблони // Вестник российской сельскохозяйственной науки. 2023. № 6. С. 72–77. DOI: 10.31857/2500-2082/2023/6/72-77.
11. Хромова Т. М., Ташматова Л. В., Мацнева О. В. Применение различных регуляторов роста при клональном микроразмножении смородины черной (*Ribes nigrum* L.) // Вестник российской сельскохозяйственной науки. 2024. № 1. С. 30–34. DOI: 10.31857/S2500208224010071.
12. Zhang Y., Bozorov T. A., Li D. X., Zhou P., Wen X. J., Ding Y., Zhang D. Y. An efficient in vitro regeneration system from different wild apple (*Malus sieversii*) explants // Plant Methods. 2020. Vol. 56. DOI: 10.1186/s13007-020-00599-0.
13. Abdella B., Yusuf Z., Petros Y. Optimization of Hormonal compositions of media for in vitro propagation of apple (*Malus × domestica* Borkh.) // Cultivars The Open Biotechnology Journal. 2023. Vol. 17, No. 1. DOI: 10.2174/18740707-v17-e230202-2022-15.
14. Матушкина О. В., Пронина И. Н., Шорников Д. Г. Особенности морфогенеза клонового подвоя яблони М9 в культуре in vitro // Достижения науки и техники АПК. 2019. Т. 33, №5. С. 14–16.
15. Матушкин С. А. Влияние регуляторов роста на удлинение микропобегов сортов смородины черной // Селекция и сорторазведение садовых культур. 2020. Т. 7. № 1-2. С. 105–108. DOI: 10.24411/2500-0454-2020-11227.
16. Кабылбекова Б. Ж., Чуканова Н. И., Турдиев А. Н., Рымханова Н., Ковальчук И. Ю. Оптимизация клонирования in vitro различных генотипов яблони // Экспериментальная биология. 2019. № 3 (80). С. 48–57. DOI: 10.26577/eb-2019-3-b5.
17. Bibi S., Erum S., Abbas S., Baloch A., Yousra M., Ullah I., Shamim S., Khan A., Ijaz ul Hassan S., Saleem S. In vitro Propagation of *Malus domestica* and its Conservation // Plant Health. 2023. Vol. 02, No. 02. Pp. 67–76. DOI: 10.33687/planthealth.02.02.4919.
18. Kakimzhanova A., Dyussembekova D., Nurtaza A., Yessimseitova A., Shevtsov A., V Lutsay., Ramankulov Y., Kabieva S. An efficient micropropagation system for the vulnerable wild apple species, *Malus sieversii* and confirmation of its genetic homogeneity // Erwerbs-Obstbau. 2023. Vol. 65, No. 4. Pp. 621–632. DOI: 10.1007/s10341-022-00720-8.
19. Амброс Е. В., Чертенкова Е. И., Толузакова С. Ю., Трофимова Е. Г., Новикова Т. И. Влияние антиоксидантов и регуляторов роста на органогенез побегов в культуре апикальных меристем *Fragaria × ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2021. Т. 11, № 4. С. 549–560. DOI: 10.21285/2227-2925-2021-11-4-549-560.

20. Железниченко Т. В., Мурасева Д. С., Стасова В. В., Новикова Т. И. Морфогенез *Picea Pungns* Engelm. в культуре *in vitro* под действием тидиазурина // Сибирский лесной журнал. 2019. № 1. С. 57–64. DOI: 10.15372/SJFS20190105.

21. Tashmatova L. V., Matsneva O. V., Khromova T. M., Shakhov V. V. Influence of different concentrations of 6-benzylaminopurine and thidiazuron on the proliferative activity of apple varieties in *in vitro* culture // BIO Web of Conference Sciences. 2021. Vol. 36. Article number 03012. DOI: 10.31360/2225-3068-2021-78-76.

22. Ram K., Patel A. K., Choudhary S. K., Shekhawat N. S. Synergetic effects of TDZ with various phytohormones on high-frequency plant regeneration from mature nodal explants of *Capparis decidua* and their *ex vivo* implications // Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC). 2022. Vol. 149. Pp. 621–633. DOI: 10.1007/s11240-022-02234-3.

23. Матушкина О. В. Особенности регенерации яблони и груши на этапе собственно микроразмножения // Агроэкологические аспекты устойчивого развития АПК: материалы XVII Международной научной конференции. Брянск, 2020. С. 176–181.

24. Матушкина О. В., Пронина И. Н. Технология клонального микроразмножения яблони и груши: методические рекомендации. Мичуринск, 2008. 32 с.

25. Кухарчик Н. В., Кастрюк М. С., Семенов С. Э. [и др.] Размножение плодовых и ягодных растений в культуре *in vitro* / Под общ. ред. Н. В. Кухарчик. Минск: Беларуская навука, 2016. 208 с.

26. Тевфик А. Ш., Егорова Н. А. Клональное микроразмножение тимьяна обыкновенного *in vitro*: методические рекомендации. Симферополь: ИТ «АРИАЛ», 2021. 28 с.

Об авторах:

Лариса Владимировна Ташматова, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник, заведующая лабораторией биотехнологии, Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур, д. Жилина, Орловская область, Россия; ORCID 0000-0001-7105-088x, AuthorID 742383. E-mail: tashmatova@orel.vniispk.ru

Татьяна Михайловна Хромова, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биотехнологии, Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур, д. Жилина, Орловская область, Россия; ORCID 0000-0002-7596-7772, AuthorID 649402. E-mail: khromova@orel.vniispk.ru

Ольга Владимировна Мацнева, научный сотрудник лаборатории биотехнологии, Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур, д. Жилина, Орловская область, Россия; ORCID 0000-0001-7007-2710, AuthorID 968818. E-mail: macneva@orel.vniispk.ru

References

1. Gorlanov S. V., Makarenko S. A. Winter hardiness of apple cultivars in the conditions of the eastern Orenburg region. *Contemporary Horticulture*. 2023; 1: 23–35. DOI: 10.52415/2312670120230103. (In Russ.)

2. Atazhanova E. V., Lukicheva L. A. Analysis of the state and global trends in the cultivation and breeding of apple trees. *Plant Biology and Horticulture: Theory, Innovations*. 2021; 3: 76–85. DOI: 10.36305/2712-7788-2021-3-160-76-85. (In Russ.)

3. Makarkina M. A., Sedov E. N., Vetrova O. A. Evaluation and selection of apple cultivars for breeding for higher content of phenol compounds in fruit. *Contemporary Horticulture*. 2023; 4: 31–39. DOI: 10.52415/2312670120230403. (In Russ.)

4. Grigoryeva E. V., Privalov A. A., Papikhin R. V., Shamrina I. A. Clonal micropropagation of apple trees. *Science and Education* [Internet] 2022 [cited 2024 Jul 10]; 5 (1). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/klonalnoe-mikrorazmnozhenie-yablони?ysclid=mal3khmq1u308531241>. (In Russ.)

5. Teixeira da Silva J. A., Gulyás A., Magyar-Tábori K., et al. *In vitro* tissue culture of apple and other *Malus* species: recent advances and applications. *Planta*. 2019; 249: 975–1006. DOI: 10.1007/s00425-019-03100-x.

6. Amirchakhmaghi N., Hosseinpour B., Yousefzadeh H. Development of a micropropagation protocol for *Malus orientalis* using axillary buds. *In vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. 2019; 55: 625–634. DOI: 10.1007/s11627-019-09992-4.

7. Kovalchik I. Yu., Kabyrbekova N. I., Chukanova N. I., Turdiyev T. T., Frolov S. N. Clonal micropropagation in the production of planting material of apple in Kazakhstan. *Vestnik of Nizhny Novgorod State Agricultural Academy*. 2020; 3 (27): 5–12.

8. Sobralieva E. A., Palaeva D. O., Batukaev M. S., Batukaev A. A., Status of the study of microclonal reproduction of fruit-berry crops and grapes. Innovative activity as a factor in the development of the agro-industrial complex in modern conditions: materials of the II International scientific conference dedicated to the 75th anniversary of the Chechen Research Institute. Grozny, 2020. Pp. 100–118. DOI: 10.36684/22-2020-1-100-118. (In Russ.)

9. Isroilova Sh. Ja. *In vitro* microclonal multiplication of fruit cultures. *Theoretical & Applied Science*. 2019; 5 (73): 531–535. DOI: 10.15863/TAS.2019.05.73.81.

10. Tashmatova L. V., Matsneva O. V., Khromova T. M. Clonal micropropagation of apple trees. *Vestnik of the Russian Agricultural Science*. 2023; 6: 72–77. DOI: 10.31857/2500-2082/2023/6/72-77. (In Russ.)
11. Khromova T. M., Tashmatova L. V., Matsneva O. V. Application for various growth regulators in clonal micropropagation of black currant (*Ribes nigrum* L.). *Vestnik of the Russian Agricultural Science*. 2024; 1: 30–35. DOI: 10.31857/S2500208224010071.
12. Zhang Y., Bozorov T. A., Li D. X., Zhou. P., Wen X. J., Ding Y., Zhang D. Y. An efficient *in vitro* regeneration system from different wild apple (*Malus sieversii*) explants. *Plant Methods*. 2020; 56. DOI: 10.1186/s13007-020-00599-0.
13. Abdella B., Yusuf Z., Petros Y. Optimization of Hormonal Compositions of Media for *In vitro* Propagation of Apple (*Malus × domestica* Borkh.) Cultivars. *The Open Biotechnology Journal* 023; 17 (1). DOI: 10.2174/18740707-v17-e230202-2022-15.14.
14. Matushkina O. V., Pronina I. N., Shrnikov D. G. Morphogenesis peculiarities of M9 clonal rootstock of apple *in vitro* culture. *Achievements of Science and Technology of AIC*. 2019; 33 (5): 14–16. (In Russ.)
15. Matushkin S. A. The influence of growth regulators on lengthening micropobes of blackcurrant. *Breeding and Grace of Garden Crops*. 2020; 7 (1-2): 105–108. DOI: 10.24411/2500-0454-2020-11227
16. Kabylbekova B. Zh., Chukanova N. I., Turdiyev T. T., Rymkhanova N., Kovalchuk I. Y. Optimization of the cloning *in vitro* different apple genotypes. *Experimental Biology*. 2019; 3 (80): 48–57. DOI: 10.26577/eb-2019-3-b5.
17. Bibi S., Erum S., Abbas S., Baloch A., Yousra M., Ullah I., Shamim S., Khan A., Ijaz ul Hassan S., Saleem S. *In vitro* Propagation of *Malus domestica* and its Conservation. *Plant Health*. 2023; 02 (02): 67–76. DOI: 10.33687/planthealth.02.02.4919.
18. Kakimzhanova A., Dyussembekova D., Nurtaza A., Yessimseitova A., Shevtsov A., Lutsay V., Ramankulov Y., Kabieva S. An efficient micropropagation system for the vulnerable wild apple species, *Malus sieversii*, and confirmation of its genetic homogeneity. *Erwerbs-Obstbau*. 2023; 65 (4): 621–632.
19. Ambros E. V., Chertenkova E. I., Toluzakova S. Y., Trofimova E. G., Novikova T. I. Effect of antioxidants and growth regulators on shoot organogenesis in the apical meristem culture of *Fragaria × ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2021; 11 (4): 549–560. DOI: 10.21285/2227-2925-2021-11-4-549-560. (In Russ.)
20. Zheleznichenko T. V., Muraseva D. S., Stasova V. V., Novikova T. I. Morphogenesis of *Picea Pungens engelm.* *in vitro* under the influence of thidiazuron. *Siberian Journal of Forest Science*. 2019; 1: 57–64. DOI: 10.15372/SJFS20190105. (In Russ.)
21. Tashmatova L. V., Matsneva O. V., Khromova T. M., Shakhov V. V. Influence of different concentrations of 6-benzylaminopurine and thidiazuron on the proliferative activity of apple varieties in *in vitro* culture. *BIO Web of Conference Sciences*. 2021; 36: 03012. DOI: 10.31360/2225-3068-2021-78-76. (In Russ.)
22. Ram K., Patel A. K., Choudhary S. K., Shekhawat N. S. Synergetic effects of TDZ with various phytohormones on high-frequency plant regeneration from mature nodal explants of *Capparis decidua* and their *ex vivo* implications. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*. 2022; 149: 621–633. DOI: 10.1007/s11240-022-02234-3.
23. Matushkina O. V. Features of regeneration of apple and pear trees at the stage of micropropagation itself. *Agroecological aspects of sustainable development of the agro-industrial complex: proceedings of the XVII International Scientific Conference*. Bryansk, 2020. Pp. 176–181.
24. Matushkina O. V., Pronina I. N. *Technology of clonal micropropagation of apple and pear: methodological recommendations*. Michurinsk, 2008. 32 p. (In Russ.)
25. Kukharchik N. V., Kastritskaya M. S., Semenas S. E. Reproduction of fruit and berry plants *in vitro* culture. Ed. by N. V. Kukharchik. Minsk: Belaruskaya navuka, 2016. 208 p.
26. Tefvik A. Sh., Egorova N. A. Clonal micropropagation of thyme *in vitro*: methodological recommendation. Simferopol: IT “ARIAL”, 2021. 28 p. (In Russ.)

Authors' information:

Larisa V. Tashmatova, candidate of agricultural sciences, senior researcher, head of the laboratory of biotechnology, Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding (VNIISPK), Zhilina village, Oryol region, Russia;

ORCID 0000-0001-7105-088x, AuthorID 742383. E-mail: tashmatova@orel.vniispk.ru

T. M. Khromova, candidate of biological sciences, senior researcher of the laboratory of biotechnology, Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding (VNIISPK), Zhilina village, Oryol region, Russia;

ORCID 0000-0002-7596-7772, AuthorID 649402. E-mail: khromova@orel.vniispk.ru

Olga V. Matsneva, researcher of the laboratory of biotechnology, Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding (VNIISPK), Zhilina village, Oryol region, Russia; ORCID 0000-0001-7007-2710, AuthorID 968818.

E-mail: macneva@orel.vniispk.ru