

КЛОНАЛЬНОЕ МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ ЯБЛОНИ

Лариса Владимировна Ташматова, кандидат сельскохозяйственных наук
Ольга Владимировна Мацнева

Татьяна Михайловна Хромова, кандидат биологических наук
Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур,
д. Жилина, Орловская область, Россия
E-mail: tashmatova@orel.vniispk.ru

Аннотация. Представлен обзор материала по изучению вопроса микроразмножения яблони в России и за рубежом. Клональное микроразмножение имеет преимущество по сравнению с традиционным вегетативным (получение оздоровленного генетически однородного материала, скорость процесса, возможность выпуска в течение всего года). За последние десятилетия зарубежными и отечественными исследователями, в том числе учеными нашего института, разработано большое количество протоколов культивирования сортов и подвоев яблони. В связи с гетерозиготностью рода *Malus* часто выпускают протоколы для конкретных генотипов. Проведенный анализ работ показал, что на успешное размножение яблони влияют внешние и внутренние факторы (генотип, физиологическое состояние, компоненты питательной среды, условия адаптации микрорастений). В статье отражены различные подходы к решению таких проблем, как получение асептической культуры на этапе инициации, снижение отрицательного воздействия продуктов окисления фенолов, повышение пролиферативной активности эксплантов при использовании различных питательных сред, а также природных и синтетических гормонов роста — цитокининов, стимуляция корнеобразования, адаптация микрорастений сортов и подвоев яблони в условиях *in vivo*. Появление новых сортов требует разработки индивидуальных условий культивирования.

Ключевые слова: яблоня, клональное микроразмножение, питательная среда, регуляторы роста, пролиферация, укоренение, адаптация

CLONAL MICROPROPAGATION OF APPLE TREES

L.V. Tashmatova, *PhD in Agricultural Sciences*

O.V. Matsneva

T.M. Khromova, *PhD in Biological Sciences*

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

E-mail: tashmatova@orel.vniispk.ru

Abstract. The purpose of the review is to analyze the state of knowledge of the issue of apple tree reproduction in Russia and abroad. Of all the methods of tissue culture, clonal micropropagation is the most studied, which has a number of advantages in comparison with traditional vegetative multiplication: obtaining healthy material, rapid reproduction, obtaining genetically homogeneous material, the possibility of releasing material throughout the year. Micropropagation has played an important role in the production of healthy, disease-free plants and in the rapid multiplication of apple varieties and rootstocks. This review shows that over the past decades, foreign and domestic researchers, including scientists of our institute, have developed a large number of methods for cultivating varieties and rootstocks of apple trees. Due to the heterozygosity of the genus *Malus*, protocols for specific gene types are often developed. The conducted research analysis showed that the successful reproduction of apple trees is influenced by external and internal factors (genotype, physiological state, components of nutrient media, conditions of adaptation of micro-plants). The review reflects various approaches to solving such problems as obtaining an aseptic culture at the initiation stage, reducing the negative effect of phenol oxidation products, increasing the proliferative activity of explants using various nutrient media, as well as natural and synthetic growth hormones — cytokinins, problems of stimulating root formation as a result of the use of various types of auxins and methods of exposure, the development of conditions for the adaptation of microplants of varieties and rootstocks of apple trees *in vivo*. The emergence of new varieties will require the development of new cultivation conditions.

Keywords: apple tree, clonal micropropagation, nutrient medium, growth regulators, proliferation, rooting, adaptation

Яблоня — одна из ведущих промышленных семечковых культур. Производство плодов яблони находится на третьем месте в мире, уступая кофе и маслине. Главные поставщики — Китай, США, Турция, Польша, Иран, Италия, Индия, Франция, Россия, Чили. С 2000–2019 годов валовый сбор яблок вырос с 59 до 87 млн т, а количество возделываемых площадей снизилось с 5,4 до 4,7 млн га. В Российской Федерации яблони выращивают на 200 тыс. га. Благодаря новым сортам и технологиям мировое производство яблони значительно интенсифицировалось. [1] Эффективность садоводства

зависит от технологии выращивания посадочного материала. [15] Вегетативный метод не гарантирует отсутствие болезней и подчиняется сезону. [30] В развитых странах Европы, Азии, Америки садоводство переведено на безвирусную основу. [13] На территории России посадочный материал высшей категории качества должен быть свободным от вредоносных вирусов. Его размножение возможно при использовании биотехнологических методов. [8, 12]

Достигнуты успехи в области клонального микро-размножения сортов и подвоев яблони. Однако воспроизводимость результатов *in vitro* низкая, и они не

могут быть перенесены с одних объектов на другие, поскольку большинство подвоев и сортов имеют ярко выраженную специфичность морфо- и органогенетической реакции на активность ростовых веществ, витаминов, макро-, микроэлементов и их композиций. [4] Поэтому для наиболее эффективного управления ростом и развитием эксплантов *in vitro* сорта культурных растений нуждаются в индивидуальном подборе компонентов питательных сред и их соотношений. В России получены новые подвои и сорта, размножение которых культурой изолированных меристем мало изучено. [7]

С помощью культуры меристем можно быстро размножить новые сорта или селекционные линии, обеспечивая генетическую стабильность потомства из-за строгого контроля в меристематических клетках. [27, 29]

Растение, выращенное из меристемы, меньше поражается грибными, бактериальными и другими болезнями и, следовательно, не требует большого количества обработок против них, в результате повышается урожайность и регенерационная способность растений в условиях открытого грунта. [14] Такой способ позволяет получить потомство от трудно размножаемых традиционными способами растений. [19]

Процесс клонального микроразмножения можно разделить на четыре этапа: выбор маточных растений, введение в культуру *in vitro*; микроразмножение; укоренение микропобегов; адаптация мериклонов к нестерильным условиям среды. [22, 24]

Этап инициации

Высокая эффективность этапа введения в культуру зависит от схемы стерилизации и типа стерилизаторов, видовых и сортовых особенностей растений, возраста и качества эксплантов. [11]

Для этапа инициации важное значение имеет выбор экспланта. Апоикальная меристема обеспечивает максимальное количество хорошо развитых растений при минимальной доле инфекции и некроза, а также генетическую стабильность регенерантов. Рекомендуемый размер экспланта – 0,1...0,2 мм. [18]

В лаборатории биотехнологии ФГБНУ ВНИИСПК в качестве эксплантов использовали спящие и активно растущие почки. У восьми исследуемых сортов яблони наибольшей регенерационной способностью отличались активно вегетирующие апоикальные почки. [23]

Инициацию культуры *in vitro* яблони можно проводить во время активного роста (конец мая–июль) и в период покоя. [2, 16, 19] В последнем случае процент прижившихся эксплантов ниже. Эти данные подтверждают результаты, полученные в ФГБНУ ВНИИСПК. Приживаемость эксплантов, введенных при активной вегетации (июнь) – 66,5...93,0%, в период затухания роста (август) у всех исследуемых сортов (кроме сорта *Орловское полесье* – 65,6%) – 0%. [21]

На первом этапе важно добиться получения хорошо растущей стерильной культуры, так как на поверхностных тканях растений находятся споры грибов и бактерии. Изучение антисептиков показало неодинаковое влияние их на жизнеспособность и контаминацию эксплантов. [20] Для стерилизации эксплантов яблони многие зарубежные и отече-

ственные исследователи рекомендуют использовать ртутьсодержащие препараты (сулема или диацид 0,1%), хлорсодержащие (1% раствор гипохлорит натрия или Белизна), перекись водорода 12 или 33%. [6, 17, 24, 32] Стерилизация 0,01% раствором диацида или гипохлорита натрия (1:3) в течение 2...5 мин. позволяет получить до 92...99% стерильных эксплантов. [20] Установили, что при стерилизации 0,2% $HgCl_2$ в течение 4 мин. у сорта *Голден Делишес* регенерировало 76% эксплантов, *Восход* – 85, *Максам* – 75%. [31]

Процедура стерилизации включает в себя несколько этапов: промывание однопочковых сегментов в мыльном растворе – 1...2 мин., под проточной водой – 20...40 мин., 70% этанолом – 1 мин., стерильной водой – 10 мин., основным стерилизующим агентом – 5...10 мин., трехкратно стерильной водой по 10 мин. [25]

В лаборатории биотехнологии нашего института изучали влияние ртутьсодержащих стерилизаторов на уровень контаминации и выход жизнеспособных эксплантов яблони. Степень зараженности колебалась от 20,8 (мертиолят) до 98,0% (сулема) в марте-апреле и от 0% (мертиолят) до 10% (сулема) в мае-июне. [21]

Введение в асептическую культуру *in vitro* осложняется окислением фенольных соединений, выделяемых в питательную среду при изоляции экспланта. [5] Было предложено несколько способов предотвращения потемнения эксплантов: выбор времени сбора, добавление в культуральную среду антиоксидантов (аскорбиновая кислота, активированный уголь или поливинилпирролидин). Наши исследования показали, что наибольшее выделение продуктов окисления фенолов было при введении эксплантов в конце весны – начале лета (период активного роста). Для снижения уровня окисления добавляли в питательную среду 10 мг/л аскорбиновой кислоты, почки перед изоляцией меристем выдерживали в растворе аскорбиновой кислоты (3 г/л). Окисление это полностью не снимало, но повышалось выход жизнеспособных эксплантов и не требовало дополнительной пересадки на новую среду. [21]

Этап размножения

На эффективность размножения побегов влияют генотип, состав среды, содержание фитогормонов и другое.

Зависимость размножения яблони от генотипа была описана несколькими авторами. Обнаружено, что культурные сорта различаются по их реакции на концентрацию цитокинина 6-бензиламинопурина (БАП) в среде.

О.В. Магушкиной и И.И. Прониной отмечены различия в коэффициенте размножения у девяти сортов яблони. Значения этого показателя колебались от 2,6 (*Имрус*) до 5,0 шт./экспл. (*Синап Орловский*). [9] Сорт *Грушовка Верненская* и дикорастущая форма ТМ-6 также по-разному реагировали на регуляторы роста БАП, ИМК и ГК. [32] Проведенные опыты подтверждают генотипическую реакцию сортов яблони на состав питательной среды, тип и концентрацию цитокининов. [34]

В мировой практике культуру яблони *in vitro* в основном размножают на средах МС с 1/4 содержания

аммонийной формы азота, QL или WPM (для древесных культур), но не все сорта и виды хорошо на них растут и размножаются. [5, 9, 37] На питательной среде WPM наблюдали уменьшение высоты побегов и появление хлороза, возможно, из-за малого количества азота. [30]

В наших работах для повышения коэффициента размножения сортов *Ветеран* и *Имрус* была рекомендована одна из модификаций питательной среды МС, разработанной И.М. Фардиновой для груши, со средним значением компонентов. Коэффициент размножения повышался до 3,3 (*Имрус*) и 2,4 (*Ветеран*). [34]

Некоторые исследователи использовали питательную среду, содержащую комплексные водорастворимые минеральные вещества (Мастер, Акварин), применяемые в садоводстве. Концентрация зависела от генотипических особенностей. [10]

Для культивирования эксплантов плодовых культур можно применять твердые, жидкие и двухслойные питательные среды. На жидких необходимо зафиксировать эксплант с помощью фильтровальных мостиков. [20]

Регуляторы роста в малых дозах активно влияют на обмен веществ высших растений, способствуют снятию апикального доминирования и увеличению коэффициента размножения из-за развития пазушных меристем. [8] К ним относятся природные (метаболиты самих растений) и синтетические (6-бензиламинопурин (БАП), кинетин, 2-изо-пентиладенин (2-IP), тидиазурон (TDZ), аденин-сульфат) соединения. [26]

Изучение воздействия БАП, кинетина, тидиазурона и зеатина на пролиферацию клоновых подвоев яблони (62-396, 57-195) показало различную реакцию растений на цитокинин, которая также носит генотипический характер. [8]

Для подавляющего большинства исследований по микроразмножению побегов яблони использовали БАП или TDZ. Стимуляция пролиферации с помощью ТДЗ приводит к деформации листьев и побегов, гипертрофии микроробегов. [36]

При культивировании шести сортов яблони на питательной среде, содержащей ТДЗ, было отмечено снижение коэффициента размножения, а также витрификация побегов. [35]

Зеатин в концентрации 5,0 мг/л для подвоев яблони несколько снижал коэффициент размножения, по сравнению с БАП, но стимулировал рост побегов, делая их пригодными для укоренения. [8]

В большинстве работ БАП применяли в концентрации от 0,5 до 2 мг/л и установили взаимосвязь между концентрацией 6-БАП и эффективностью пролиферации побегов. [3] При низких концентрациях 6-БАП (0,5 мг/л) было меньше дополнительных почек, побеги развивались из почек экспланта с образованием 3...5 новых микроробегов. Применение высоких концентраций 6-БАП (3 мг/л) вызывало снижение длины микроробегов, делая их не пригодными к укоренению. При концентрации 6-БАП 1 мг/л от одного экспланта в среднем образовывалось 7,5 новых микроробегов.

Оптимальное количество пассажей для клоновых подвоев и сортов яблони — 9...11, с четвертого можно начинать укоренение побегов. [7]

Этап укоренения

Укоренение микроробегов — важный этап процесса микроразмножения. Для этого на питательную среду высаживают побеги длиной 1,5...3,0 см, так как более мелкие хуже укореняются, имеют слабый рост и плохо переносят адаптацию к нестерильным условиям. [7, 23]

Стимулировать ризогенез у размноженных *in vitro* побегов яблони можно, изменяя состав питательной среды на этапе, предшествующем укоренению, способ аппликации индуктора ризогенеза и, в отдельных случаях, температурные условия культивирования.

Исследования показали, что наивысшая степень укоренения (76%) микроробегов яблони сорта *Royal Gala* была достигнута при культивировании на среде, содержащей 1,0 мг/л бензиладенина в течение четырех недель. [33]

Основной индуктор ризогенеза в условиях *in vitro* — это индолилмасляная кислота (ИМК). [26] Используют также индолилуксусную (ИУК) и нафтилуксусную кислоту (НУК), но последняя может вызывать обильный рост каллуса, который ингибирует процессы корнеобразования. [7, 36]

Наиболее распространенный способ аппликации — введение ауксина в состав питательной среды концентрацией 1,0...2,0 мг/л. Но ауксин требуется только на ранней стадии процесса укоренения — индукции корневых зачатков. Длительное воздействие ауксина ингибирует рост корней и стимулирует каллусообразование. [7] Базальную часть микроробегов обрабатывают ИМК в различных концентрациях и экспозиции: 100 мг/л в течение 30 мин., 30 мг/л — 18 ч, 2,0...3,0 мг/л — 4...7 дн. в темноте. После этого побеги пересаживают на среду, свободную от гормонов. Поэтому происходит более раннее начало корнеобразования (на 4...5 дн.), повышение укореняемости на 10...39%, лучшее развитие корневой системы. [19, 33]

У подвоев частота укоренения выше, чем у сортов, что считается селекционным признаком. [30]

Этап адаптации

Переход от условий *in vitro* к *ex vitro* — важный шаг в структурной и физиологической адаптации растений, так как побеги и растения должны переносить стрессовые условия пересадки. На процесс адаптации оказывают влияние внешние (влажность воздуха, pH, температура, освещение, почвенный субстрат и другие) и внутренние факторы. [3, 30]

Определяющую роль играет влажность воздуха, поскольку при произрастании в культуральном сосуде растения теряют способность регулировать водный режим, гибель может достигать до 80%. [34] Некоторые ученые рекомендуют для создания 100%-й влажности высаживать растения в условия искусственного тумана, в ящики под пленочные каркасы или стаканы. Через две недели снижать влажность до 50...60%, постепенно открывая, а затем удаляя пленку. Начало нового роста адаптируемых регенерантов свидетельствует о завершении процесса. Процент растений, успешно прошедших адаптацию, может достигать в среднем 74. Например, для обеспечения высокой влажности использовали пластиковый купол две-три недели. Растения адаптировали в камере для выращивания с теми же

условиями, что и при микроразмножении. Горшки с микрорастениями накрывали пластиковыми пакетами, которые постепенно снимали в течение одной недели. В итоге несколько сортов яблони были успешно закалены (70...100%). [28]

В качестве субстрата многие исследователи предлагают применять готовые смеси почв, чернозем, торф, перлит, вермикулит, песок, щебень, опилки и другие в различных сочетаниях и пропорциях.

Н.В. Кухарчик с соавторами успешно акклиматизировали подвои яблони на ионообменном субстрате БИОНА-112. Приживаемость растений достигала в среднем 90%. [6]

Метод клонального микроразмножения дает возможность решать проблемы при получении сертифицированного посадочного материала высших категорий. Разработано множество протоколов культивирования яблони, в которых отражены как общие условия, применяемые для широкого спектра сортов и подвоев, так и индивидуальные, для конкретных генотипов. Исследования, проведенные в течение последних лет, значительно их улучшили и расширили из-за внедрения новых регуляторов роста, модификаций питательных сред. Увеличился список сортов, культивируемых в условиях *in vitro*.

Остаются нерешенными вопросы низкой регенерационной способности отдельных генотипов, витрификации тканей, ингибирования ростовых процессов фенольными соединениями, отсутствия знаний о закономерностях процессов регенерации, больших материальных затрат, недостаточного количества высококвалифицированного персонала. Необходимо дальнейшее усовершенствование методики клонального микроразмножения.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Атажанова Е.В., Лукичева Л.А. Анализ состояния и мировые тенденции выращивания и селекции яблони // Журнал Биология растений и садоводство: теория, инновации. 2021. № 3(160). С. 76–85. DOI:10.3605/2712-7788-2021-3-160-76-85
- Беседина Е.Н., Бунцевич Л.Л. Усовершенствования технологии клонального микроразмножения подвоя яблони на этапе введения в культуру *in vitro* // Политематический сетевой электронный журнал Кубанского государственного аграрного университета. 2015. № 111. С. 1716–1734.
- Бочарова Т.Е., Тарасова А.М. Особенности пролиферации при клональном микроразмножении клонового подвоя 54-118 // Плодоводство и ягодоводство России. 2011. Т. 28. № 1. С. 59–64.
- Бунцевич Л.Н., Киян А.Т., Беседина Е.Н., Костюк М.А. Оптимизация питательных сред при клональном микроразмножении подвоев яблони серии СК // Плодоводство и ягодоводство России. 2013. Т. 37. № 1. С. 46–51.
- Ковальчук И.Ю., Кабылбекова Б.Ж., Чуканова Н.И. и др. Клональное микроразмножение в производстве посадочного материала яблони Казахстана // Вестник Нижегородской государственной сельскохозяйственной академии. 2020. № 3 (27). С. 5–12.
- Кухарчик Н.В., Кастрицкая М.С., Семенов С.Э., и др. Размножение плодовых и ягодных растений в культуре *in vitro*. Под общ. ред. Н.В. Кухарчик. Минск: Белорусская наука, 2016. 208 с. ISBN: 978-985-08-1952-9.
- Матушкина О.В., Пронина И.Н. Клональное микроразмножение яблони и груши в системе производства высококачественного посадочного материала // АГРО XXI. 2009. № 4–6. С. 28–29.
- Матушкина О.В., Пронина И.Н. Особенности воздействия экзогенных цитокининов и их производных на регенерацию яблони и груши *in vitro* // Достижения науки и практики АПК. 2010. № 8. С. 34–35.
- Матушкина О.В., Пронина И.Н. Регенерационная способность перспективных сортов яблони *in vitro* // Плодоводство и ягодоводство России. 2016. Т. 47. С. 211–215.
- Матушкина О.В., Пронина И.Н. Технология клонального микроразмножения яблони и груши на основе использования новых питательных сред // Сборник научных трудов Государственно Никитского ботанического сада. 2017. Т. 144-2. С. 77–81.
- Никитина А.В., Леконцева Т.Г., Федоров А.В., Ленточкин А.М. Влияние способа стерилизации и срока введения в культуру *in vitro* на жизнеспособность эксплантов клонового подвоя 54-118 // Вестник Удмуртского университета. 2020. Т. 30. Вып. 4. С. 411–416.
- Посадочный материал плодовых, ягодных, субтропических, орехоплодных, цитрусовых культур и чая. Технические условия. М.: Стандартинформ, 2009. 45 с.
- Производство и сертификация посадочного материала ягодных культур и винограда в России. Контроль качества. Ягодные культуры. под ред. И.М. Куликова. 2005. Ч. I. 156 с.
- Пронина И.Н., Матушкина О.В. Продуктивность меристемных растений плодовых и ягодных культур *in vitro* // Мат. Всерос. Конф. Перспективы развития интенсивного садоводства. 2016. С. 90–95.
- Ромаданова Н.В. Биотехнология получения оздоровленных саженцев яблони. Алматы, 2020. 126 с. ISBN: 978-601-80631-7-6.
- Ромаданова Н.В., Кушнарченко С.В. Биотехнология для получения безвирусных посадочных материалов яблони // Вестник Карагандинского университета. 2021. № 3 (103). С. 102–118. DOI: 10.31489/2021BMG3/102-118
- Ромаданова Н.В., Мишустина Г.Н., Матакова Г.Н. и др. Введение в культуру *in vitro* и микроразмножение перспективных сортов, клоновых подвоев и дикорастущих форм яблони // Исследования, результаты. Научный журнал. 2013. № 3 (059). С. 142–146. DOI: 10/31489/2021BMG3/102-118
- Семенов С.Э., Змушко А.А., Кухарчик Н.В. Технология производства оздоровленных клоновых подвоев яблони // Плодоводство. 2014. Т. 26. С. 64–78.
- Сулейманова С.Д. Микроразмножение плодовых культур (обзор) // Восточно-европейский научный журнал. 2016. С. 47–54.
- Собралиева Э.А., Палаева Д.О., Батукаев М.С., Батукаев А.А. Состояние изученности микроразмножения плодово-ягодных культур и винограда (обзор литературы) // Мат. междунар. конф. Инновационная деятельность как фактор развития агропромышленного комплекса в современных условиях. Грозный, 2020. С. 100–118. DOI: 10.36684/22-2020-1-100-118.
- Ташматова Л.В., Мацнева О.В., Шахов В.В., Хромова Т.М. Особенности первого этапа клонального микроразмножения иммунных сортов яблони // Современное садоводство. 2018. № 3 (27). DOI: 10.24411/2312-6701-2018-10315.

22. Ташматова Л.В., Мацнева О.В., Шахов В.В., Хромова Т.М. Клональное микроразмножение сортов яблони с геном Vf // Современное садоводство. 2019. № 4. С. 127-134. DOI:10.24411/2312-6701-2019-10413.
23. Ташматова Л.В., Мацнева О.В., Хромова Т.М., Шахов В.В. Регенерационная способность сортов яблони в культуре *in vitro* // Вестник российской сельскохозяйственной науки. 2020. № 1. С. 22-25. DOI:10.30850/vrsn/22-25.
24. Фролова Л.В. Оптимизация некоторых этапов клонального микроразмножения яблони // Плодоводство и ягодоводство России. 2011. Т. 26. С. 250–254.
25. Шевелуха В.С., Калашникова У.А., Дегтярев С.В. и др. Сельскохозяйственная биотехнология. М.: Высшая школа, 1998. 416 с. ISBN: 5-06-003535-2.
26. Amiri E., Elahinia A. Optimization of medium composition for apple rootstocks // Afr. J Biotech. 2011. 30. PP. 3594–3601. DOI: 10.4314/AJB.V1018.
27. Amirchakmaghi 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. <https://doi.org/10.1007/s11627-019-09992-4>.
28. Bolar J.P., Norelli J.L., Aldwinckle H.S. An efficient method for rooting and acclimation of micropropagated apple cultivars // HortScience. 1998. Vol. 33. PP. 1251–1252. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.33.7.1251>.
29. Caboni E., Lauri P., Damiano C., D’Angeli S. Somaclonal variation induced by adventitious shoot regeneration in pear and apple // Acta Hort. 2000. Vol. 530. PP. 195–201. DOI: 10.17660/ActaHortic.2000.530.22.
30. Dobránszki J., Teixeira da Silva J.A. Micropropagation of apple — A review // Biotechnology Advances. 2010. V. 28. No. 4, P. 462–488. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.02.008>.
31. Kabyzbekova B.Zh., Chukanova N.I., Turdiyev T.T. et al. Optimization of the cloning *in vitro* different apple genotypes // Experimental Biology. 2019. № 3 (80). PP. 48-57. <https://doi.org/10.26577/eb-2019-3-b5>.
32. Kakimzhanova A., Dyussembekova D., Nurtaza A. et al. An Efficient Micropropagation System for the Vulnerable Wild Apple Species, *Malus silversii*, and Confirmation of Its Genetic Homogeneity // Erwerbs-Obstbau_2022. <https://doi.org/10.1007/s10341-022-00720-8> E.
33. Magyar-Tabori K., Dobranszki J., Hudak I. Effect of cytokinin content of the regeneration media on *in vitro* rooting ability of adventitious apple shoots // Scientia Horticulturae. 2011. Vol. 129. P. 910–913. <https://doi.org/10.1016/j.scienta>.
34. Tashmatova L.V., Matsneva O.V., Khromova T.M., Shakhov V.V. Optimization of individual elements of clonal micropropagation of fruit and berry crops in the production system of healthy planting material // E3S Web of Conferences. Ser. “International Scientific and Practical Conference “Fundamental and Applied Research in Biology and Agriculture: Current Issues, Achievements and Innovations”, FARBA 2021”. 2021. C. 04001. DOI: 10.1051/e3sconf/202125404001.
35. 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 Conf. Sciences, 2021.36 03012 DOI: 10.31360/2225-3068-2021-78-76.
36. 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. <https://doi.org/10.1007/s00425-019-03100-x>.
37. Zhang Y., Bozorov T.A., Li D. X. et al. An efficient *in vitro* regeneration system from different wild apple (*Malus sieversii*) // Plant Methods. 2020. Vol. 56. PP. 1–10. <https://doi.org/10.1186/s13007-020-00599-0>

REFERENCES

- Atazhanova E.V., Lukicheva L.A. Analiz sostoyaniya i mirovye tendencii vyrashchivaniya i selekcii yablони // Zhurnal Biologiya rastenij i sadovodstvo: teoriya, innovacii. 2021. № 3(160). S. 76-85. DOI: 10.3605/2712-7788-2021-3-160-76-85
- Besedina E.N., Bunceovich L.L. Uovershenstvovaniya tekhnologii klonal'nogo mikrorazmnozheniya podvoya yablони na etape vvedeniya v kul'turu *in vitro* // Politematicheskij setevoy elektronnyj zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. 2015. № 111. S. 1716-1734.
- Bocharova T.E., Tarasova A.M. Osobennosti proliferacii pri klonal'nom mikrorazmnozhenii klonovogo podvoya 54-118 // Plodovodstvo i yagodovodstvo Rossii. 2011. T.28. № 1. S. 59-64.
- Bunceovich L.N., Kiyani A.T., Besedina E.N., Kostyuk M.A. Optimizaciya pitatel'nyh sred pri klonal'nom mikrorazmnozhenii podvoev yablони serii SK // Plodovodstvo i yagodovodstvo Rossii. 2013. T.37. № 1. S. 46-51.
- Koval'chuk I.Yu., Kabyzbekova B.Zh., Chukanova N.I. i dr. Klonal'noe mikrorazmnozhenie v proizvodstve posadochnogo materiala yablони Kazah-stana // Vestnik Nizhegorodskoj gosudarstvennoj sel'skohozyajstvennoj akademii. 2020. № 3(27). S. 5-12.
- Kuharchik N.V., Kastrickaya M.S., Semenas S.E., i dr. Razmnozhenie plodovyh i yagodnyh rastenij v kul'ture *in vitro*. Pod obshch. red. N.V. Kuharchik. Minsk: Belaruskaya navuka, 2016. 208 s. ISBN: 978-985-08-1952-9.
- Matushkina O.V., Pronina I.N. Klonal'noe mikrorazmnozhenie yablo-ni i grushi v sisteme proizvodstva vysokokachestvennogo posadochnogo materiala // AGRO XXI. 2009. № 4-6. S. 28-29.
- Matushkina O.V., Pronina I.N. Osobennosti vozdejstviya ekzogenykh citokininov i ih proizvodnyh na regeneraciyu yablони i grushi *in vitro* // Dostizheniya nauki i praktiki APK. 2010. № 8. S. 34-35.
- Matushkina O.V., Pronina I.N. Regeneracionnaya sposobnost' perspektivnyh sortov yablони *in vitro* // Plodovodstvo i yagodovodstvo Rossii. 2016. T.47. S. 211-215.
- Matushkina O.V., Pronina I.N. Tekhnologiya klonal'nogo mikrorazmnozheniya yablони i grushi na osnove ispol'zovaniya novykh pitatel'nyh sred // Sbornik nauchnyh trudov Gosudarstvenno Nikitskogo botanicheskogo sada. 2017. T.144-2. S. 77-81.
- Nikitina A.V., Lekonceva T.G., Fedorov A.V., Lentochkin A.M. Vliyanie sposoba sterilizacii i sroka vvedeniya v kul'turu *in vitro* na zhiznesposobnost' eksplantov klonovogo podvoya 54-118 // Vestnik Udmurtskogo uni-versiteta. 2020. T.30. Vyp.4. S. 411-416.
- Posadochnyj material plodovyh, yagodnyh, subtropicheskikh, orekhoplodnyh, citrusovyh kul'tur i chaya. Tekhnicheskie usloviya. M.: Standartin-form, 2009. 45 s.
- Proizvodstvo i sertifikaciya posadochnogo materiala yagodnyh kul'tur i vinograda v Rossii. Kontrol' kachestva. Yagodne kul'tury. pod red. I.M. Kulikova. 2005. Ch.I. 156 s.
- Pronina I.N., Matushkina O.V. Produktivnost' meristemnyh rastenij plodovyh i yagodnyh kul'tur *in vitro* // Mat. Vseros. Konf. Perspektivy razvitiya intensivnogo sadovodstva. 2016. S. 90-95.

15. Romadanova N.V. Biotekhnologiya polucheniya ozdorovlennykh sazhencev yabloni. Almaty, 2020. 126 s. ISBN: 978-601-80631-7-6.
16. Romadanova N.V., Kushnarenko S.V. Biotekhnologiya dlya polucheniya bez-virusnykh posadochnykh materialov yabloni // Vestnik Karagandinskogo uni-versiteta. 2021. № 3(103). S. 102–118. DOI: 10.31489/2021BMG3/102-118
17. Romadanova N.V., Mishustina G.N., Matakova G.N. i dr. Vvedenie v kul'turu in vitro i mikroklonal'noe razmnnozhenie perspektivnykh sortov, klonovykh podvoev i dikorastushchih form yabloni // Issledovaniya, rezul'taty. Nauchnyy zhurnal. 2013. № 3 (059). S. 142–146. DOI: 10/31489/2021BMG3/102-118
18. Semenas S.E., Zmushko A.A., Kuharchik N.V. Tekhnologiya proizvodstva ozdorovlennykh klonovykh podvoev yabloni // Plodovodstvo. 2014. T. 26. S. 64–78.
19. Sulejmanova S.D. Mikroklonal'noe razmnnozhenie plodovoy kul'tur (obzor) // Vostochno-evropejskij nauchnyy zhurnal. 2016. S. 47–54.
20. Sobralieva E.A., Palaeva D.O., Batukaev M.S., Batukaev A.A. Sostoya-nie izuchennosti mikroklonal'nogo razmnnozheniya plodovo-yagodnykh kul'tur i vinograda (obzor literatury) // Mat. mezhd. konf. Innovacionnaya deyatelnost' kak faktor razvitiya agropromyshlennogo kompleksa v sovremen-nykh usloviyah. Groznyj, 2020. S. 100–118. DOI: 10.36684/22-2020-1-100-118
21. Tashmatova L.V., Macneva O.V., Shahov V.V., Hromova T.M. Osobenno-sti pervogo etapa klonal'nogo mikrorazmnnozheniya immunnykh sortov yabloni // Sovremennoe sadovodstvo. 2018. № 3 (27). DOI: 10.24411/2312-6701-2018-10315
22. Tashmatova L.V., Macneva O.V., Shahov V.V., Hromova T.M. Klonal'noe mikrorazmnnozhenie sortov yabloni s genom Vf // Sovremennoe sadovodstvo. 2019. № 4. S. 127–134. DOI: 10.24411/2312-6701-2019-10413
23. Tashmatova L.V., Macneva O.V., Hromova T.M., Shahov V.V. Regeneracionnaya sposobnost' sortov yabloni v kul'ture in vitro // Vestnik Rossijskoj sel'skohozyajstvennoj nauki. 2020. № 1. S. 22–25. DOI: 10.30850/vrsn/22-25
24. Frolova L.V. Optimizaciya nekotorykh etapov klonal'nogo mikrorazmnnozheniya yabloni // Plodovodstvo i yagodovodstvo Rossii. 2011. T. 26. S. 250–254.
25. Sheveluha V.S., Kalashnikova U.A., Degtyarev S.V. i dr. Sel'skohozyajstvennaya biotekhnologiya. M.: Vysshaya shkola, 1998. 416 s. ISBN:5-06-003535-2.
26. Amiri E., Elahinia A. Optimization of medium composition for apple root-stocks // Afr. J Biotech. 2011. 30. PP. 3594–3601. DOI: 10.4314/AJB.V1018
27. 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. <https://doi.org/10.1007/s11627-019-09992-4>
28. Bolar J.P., Norelli J.L., Aldwinckle H.S. An efficient method for rooting and acclimation of micropropagated apple cultivars // HortScience. 1998. Vol. 33. PP. 1251–1252. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.33.7.1251>
29. Caboni E., Lauri P., Damiano C., D'Angeli S. Somaclonal variation induced by adventitious shoot regeneration in pear and apple // Acta Hort. 2000. Vol. 530. PP. 195–201. DOI: 10.17660/ActaHortic.2000.530.22
30. Dobránszki J., Teixeira da Silva J.A. Micropropagation of apple — A re-view // Biotechnology Advances. 2010. V. 28. No. 4, P. 462–488. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.02.008>
31. Kabybekova B.Zh., Chukanova N.I., Turdiyev T.T. et al. Optimization of the cloning in vitro different apple genotypes // Experimental Biology. 2019. № 3 (80). PP. 48–57. <https://doi.org/10.26577/eb-2019-3-b5>
32. Kakimzhanova A., Dyussembekova D., Nurtaza A. et al. An Efficient Micropropagation System for the Vulnerable Wild Apple Species, Malus silversii, and Confirmation of Its Genetic Homogeneity // Erwerbs-Obstbau. 2022. <https://doi.org/10.1007/s10341-022-00720-8>
33. Magyar-Tabori K., Dobranszki J., Hudak I. Effect of cytokinin content of the regeneration media on in vitro rooting ability of adventitious apple shoots // Scientia Horticulturae. 2011. Vol. 129. P. 910–913. <https://doi.org/10.1016/j.scienta>
34. Tashmatova L.V., Matsneva O.V., Khromova T.M., Shakhov V.V. Optimization of individual elements of clonal micropropagation of fruit and berry crops in the production system of healthy planting material // E3S Web of Conferences. Ser. “International Scientific and Practical Conference “Fundamental and Applied Research in Biology and Agriculture: Current Issues, Achievements and Innovations”, FARBA 2021”. 2021. S. 04001. DOI: 10.1051/e3sconf/202125404001
35. 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 Conf. Sciences, 2021.36 03012. DOI: 10.31360/2225-3068-2021-78-76
36. 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. <https://doi.org/10.1007/s00425-019-03100-x>
37. Zhang Y., Bozorov T.A., Li D. X. et al. An efficient in vitro regeneration system from different wild apple (Malus sieversii) // Plant Methods. 2020. Vol. 56. PP. 1–10. <https://doi.org/10.1186/s13007-020-00599-0>

*Поступила в редакцию 26.06.2023
Принята к публикации 10.07.2023*