

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 634.11:631.541.11]:581.143.6

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2018-63-3-339-349>

Поступила в редакцию 21.02.2018

Received 21.02.2018

**В. А. Шапорева<sup>1</sup>, А. А. Змушко<sup>2</sup>, Е. В. Колбанова<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Белорусский государственный педагогический университет им. М. Танка, Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Институт плодородия, пос. Самохваловичи, Республика Беларусь

## **ВЛИЯНИЕ ЭТИОЛЯЦИИ И СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ НА РИЗОГЕНЕЗ РАСТЕНИЙ-РЕГЕНЕРАНТОВ ПОДВОЕВ ЯБЛОНИ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO***

**Аннотация.** В ходе исследований установлено, что для ризогенеза *in vitro* подвоя 106-13 лучше использовать среду с 1/2 макро- и микросолей по MS, дополненную индолилмасляной кислотой (ИМК) в концентрации 0,5 мг/л без применения этиоляции (выход укорененных растений-регенерантов – 90,0 %, коэффициент развития корневой системы –  $1,14 \pm 0,18$ ), а для ризогенеза *in vitro* подвоя 54-118 – среду с 1/3 макро- и микросолей по MS, дополненную ИМК в концентрации 1,0 мг/л без этиоляции (выход укорененных растений-регенерантов – 85,35 %, коэффициент развития корневой системы –  $0,53 \pm 0,12$ ).

Положительное действие этиоляции на рост корневой системы зависело от сорта. Так, у подвоя 54-118 применение этиоляции стимулировало рост корней на среде с 1/3 макро- и микросолей MS в сочетании с ИМК в концентрации 1,0 мг/л, а у подвоя 106-13 – тормозило рост корневой системы растений-регенерантов как на среде с 1/2 макро- и микросолей, так и на среде с 1/3 макро- и микросолей MS, но оказывало стимулирующее влияние на закладку корней на протяжении всего времени субкультивирования. В то же время применение этиоляции продолжительностью 7 сут на этапе ризогенеза *in vitro* подвоев 106-13 и 54-118 в целом не представляется целесообразным, поскольку не оказывает стимулирующего эффекта на увеличение количества укорененных растений-регенерантов в конце субкультивирования.

**Ключевые слова:** яблоня, подвои 106-13 и 54-118, ризогенез *in vitro*, этиоляция, индолилмасляная кислота

**Для цитирования:** Шапорева, В. А. Влияние этиоляции и состава питательной среды на ризогенез растений-регенерантов подвоев яблони в культуре *in vitro* / В. А. Шапорева, А. А. Змушко, Е. В. Колбанова // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2018. – Т. 63, № 3. – С. 339–349. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2018-63-3-339-349>

**V. A. Shaporeva<sup>1</sup>, A. A. Zmushko<sup>2</sup>, E. V. Kolbanova<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Belarusian State Pedagogical University named after Maxim Tank, Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>Institute for Fruit Growing, Samokhvalovichy, Republic of Belarus

## **EFFECT OF ETIOLATION AND MEDIUM COMPOSITION ON RHYZOGENESIS OF APPLE ROOTSTOCK MICROPLANTS IN *IN VITRO* CULTURE**

**Abstract.** It was established that for *in vitro* rhyzogenesis of apple rootstock 106-13 it is better to use medium with 1/2 MS macro- and microsalts supplemented with IBA in concentration of 0.5 mg/l without use of etiolation (the yield of rooted microplants was 90.0 % with a coefficient of root system development –  $1.14 \pm 0.18$ ). For *in vitro* rhyzogenesis of apple rootstock 54-118, it is better to use medium with 1/3 MS macro and microsalts, supplemented with IBA in concentration of 1.0 mg/l without etiolation (the yield of rooted microplants was 85.35 % with a coefficient of root system development –  $0.53 \pm 0.12$ ).

The positive effect of etiolation on root system growth depended on cultivar. For rootstock 54-118, the use of etiolation stimulated the growth of roots on medium with 1/3 MS macro- and microsalts combined with IBA in concentration of 1.0 mg/l (until the end of subculture). Use of etiolation inhibited the root system growth of rootstock 106-13 microplants until the end of subculture both on medium with 1/2 MS macro- and microsalts and on medium with 1/3 MS macro- and microsalts, but it stimulated root formation of rootstock 106-13. However, use of 7 days etiolation at stage of *in vitro* rhyzogenesis of rootstocks 106-13 and 54-118 is not expedient, because it does not stimulate the increase in the number of rooted microplants at the end of subculture.

**Keywords:** apple rootstocks 106-13 and 54-118, *in vitro* rhyzogenesis, etiolation, indole-3-butyric acid

**For citation:** Shaporeva V. A., Zmushko A. A., Kolbanova E. V. Effect of etiolation and medium composition on rhyzogenesis of apple rootstock microplants in *in vitro* culture. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnych navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2018, vol. 63, no. 3, pp. 339–349 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2018-63-3-339-349>

**Введение.** Заключительный (ключевой) этап процесса микроразмножения, определяющий в целом его эффективность, – это успешное укоренение растений [1]. Способность растений в культуре тканей образовывать корни зависит от различных факторов, таких как состав культуральной среды, условия культивирования, природа и концентрация ауксинов [2].

В связи с тем что на протяжении всего периода пролиферации растения получают углеводы из питательной среды, они практически утрачивают способность к автотрофному питанию. Поэтому на этапе укоренения обычно используют менее богатые по минеральному составу среды (среду Уайта, разбавленную среду Мурасиге и Скуга (MS)) с пониженным содержанием углеводов. Как правило, минеральный состав среды MS уменьшают в 2–8 раз [3, 4].

Наиболее универсальным индуктором корнеобразования, эффективность которого доказана на широком наборе культур, является  $\beta$ -индолилмасляная кислота (ИМК). Оптимальная ее концентрация в среде укоренения зависит от вида растения и составляет 0,2–1,0 мг/л. Концентрации свыше 1 мг/л, как правило, ингибируют укоренение и вызывают интенсивное развитие раневого каллуса [5].

Ряд авторов рекомендуют на начальном этапе укоренения трудноукореняемых культур использовать темновой период. Продолжительность этого периода зависит от культуры и колеблется от 3–5 сут до 4 недель. Выявлена сложная зависимость укоренения от светового режима, регуляторов роста, pH среды [6, 7].

В работе И. Н. Прониной [8] отмечено, что этиоляция микропобегов в начальный период укоренения в течение 5–10 сут оказывала положительное влияние на ризогенез клоновых подвоев яблони (76-8-13, 76-6-13, ПБ 9) и клоновых подвоев и сортов груши. Согласно данным В. И. Демченко, К. А. Шестибратова, В. Г. Лебедева [4], укоренение побегов яблони зависит от способа и продолжительности этиоляции, температурного режима и регуляторов роста. Этиоляция пролиферирующих культур при пониженных температурах в дальнейшем увеличивает укоренение побегов на среде с ИМК. Установлено, что на этапе пролиферации микропобегов положительное действие этиоляции во многом зависит от сорта [9].

Помещение растений жимолости в условия полной темноты на 5–6 сут способствовало ускорению процесса ризогенеза и лучшему развитию корневой системы. Однако, несмотря на стимулирующий эффект, этиоляция продолжительностью 11 сут оказывала отрицательное воздействие на общее состояние растений, вызывая некрозы листьев и усыхание больших побегов [10]. Н. А. Семенова [11] рекомендует для жимолости сорта Гжелка применение этиоляции на этапе пролиферации (7–14 сут) и последующем этапе ризогенеза (7 сут) для сокращения длительности укоренения до 14 сут против 21 сут в контроле. Этиоляцию использовали и на этапе введения в культуру жимолости, при этом положительное действие этиоляции зависело от сорта (из четырех сортов – Бакчарская, Андерма, Морена и Герда – экспланты только первых трех необходимо этиолировать в течение 7 сут после введения в культуру) [11]. Таким образом, характер действия этиоляции *in vitro* зависит как от вида растений, так и от сорта.

Цель исследования – определить питательные среды, обеспечивающие эффективный ризогенез *in vitro* растений-регенерантов подвоев яблони 106-13 и 54-118 и выявить целесообразность применения этиоляции на этапе ризогенеза.

**Материалы и методы исследования.** Объектом исследований, проведенных отделом биотехнологии РУП «Институт плодородства» в 2015–2016 гг., были подвои яблони 106-13 и 54-118, районированные в Беларуси. Растения-регенеранты на этапе ризогенеза *in vitro* подвергали этиоляции (выдерживали в темноте) длительностью 7 сут, контроль – без этиоляции.

Для ризогенеза *in vitro* использовали агаризованную среду Мурасиге и Скуга (MS) в двух модификациях:

I. 1/2 макро- и микросолей, 1/2 хелата железа по MS, дополненную витаминами  $B_1$ ,  $B_6$ , PP (по 0,5 мг/л), витамином С (1 мг/л), глицином (2 мг/л), с исключением мезоинозита, с пониженным содержанием сахарозы (20 г/л) и различным содержанием ИМК (0,5; 1,0; 1,5 мг/л);

II. 1/3 макро- и микросолей, 1/2 хелата железа по MS, дополненную витаминами  $B_1$ ,  $B_6$ , PP (по 0,5 мг/л), витамином С (1 мг/л), глицином (2 мг/л), с исключением мезоинозита, с пониженным содержанием сахарозы (20 г/л) и различным содержанием ИМК (0,5; 1,0; 1,5 мг/л).

Длительность субкультивирования составляла 6 недель. Условия культивирования растений-регенерантов *in vitro*: освещение (лампы NARVA LT, 36 W) 2,5–3 тыс. лк, температура 20–22 °С, фотопериод 16/8 ч.

Влияние концентрации ИМК и этиоляции оценивали через 3 и 6 недель культивирования, учитывая долю укоренившихся растений-регенерантов (%), среднюю длину стебля (см), среднее количество корней (шт.), среднюю длину корней (см), коэффициент развития корневой системы. Коэффициент развития корневой системы вычисляли по формуле  $N_{\text{корней}} \cdot L_{\text{корней}} / 10$ , где  $N_{\text{корней}}$  – число корней на растение-регенерант;  $L_{\text{корней}}$  – средняя длина корней [12].

Опыт был заложен в трехкратной повторности, по 10 растений-регенерантов в каждой.

Статистическую обработку проводили, используя ANOVA, двухфакторный дисперсионный анализ (фактор а – концентрация ИМК, фактор б – этиоляция), критерий Дункана при  $p < 0,05$  для сравнения средних величин ( $n = 3$ ) в программе Statistica 10.0.

**Результаты и их обсуждение. Влияние концентрации ИМК и этиоляции на ризогенез *in vitro* подвоя 106-13, культивируемого на средах 1/2 макро- и микросолей MS.** В ходе проведения двухфакторного дисперсионного анализа после 3 недель субкультивирования на питательной среде с 1/2 макро- и микросолей MS выявлено влияние этиоляции ( $p < 0,001$ ) и концентрации ИМК ( $p < 0,05$ ) на количество укоренившихся растений-регенерантов. В конце субкультивирования влияние на данный показатель оказывала только этиоляция ( $p < 0,001$ ).

Этиоляция продолжительностью 7 сут не оказала стимулирующего эффекта на процесс ризогенеза подвоя 106-13 на среде с 1/2 макро- и микросолей MS как после 3, так и после 6 недель субкультивирования. При использовании ИМК в низкой концентрации (0,5 мг/л) через 3 недели культивирования достоверных различий с контролем не было. На средах с добавлением ИМК в концентрациях 1,0 и 1,5 мг/л в сочетании с этиоляцией наблюдалось достоверное снижение доли укоренившихся растений-регенерантов по сравнению с контрольными вариантами на 16,66 и 10 % соответственно. Данная тенденция сохранялась и через 6 недель. При концентрациях ИМК 1,0 и 1,5 мг/л выход укоренившихся растений уменьшился на 10 и 16,67 % соответственно по сравнению с контрольными вариантами (табл. 1).

В начале субкультивирования длина стебля у растений-регенерантов подвоя 106-13 не зависела ни от концентрации ИМК в питательной среде, ни от применения этиоляции и варьировалась в пределах от  $1,17 \pm 0,12$  до  $1,86 \pm 0,13$  см в зависимости от варианта опыта. В конце субкультивирования установлено влияние на данный показатель только концентрации ИМК в питательной среде ( $p < 0,01$ ). Увеличение концентрации ИМК от 0,5 до 1,0 мг/л достоверно снижало среднюю длину стебля на 0,42 см, а при увеличении концентрации до 1,5 мг/л – на 0,68 см. Варианты опыта с применением этиоляции достоверно не отличались от контрольных вариантов без этиоляции при той же концентрации ИМК.

На среднее количество корней через 3 недели субкультивирования оказывала влияние только этиоляция ( $p < 0,01$ ), тогда как через 6 недель субкультивирования установлено влияние на данный показатель только концентрации ИМК в питательной среде ( $p < 0,01$ ). Достоверное различие наблюдали в варианте опыта с использованием ИМК в концентрации 1,0 мг/л: применение этиоляции увеличило среднее количество корней в 1,7 раза по сравнению с контролем без этиоляции. При этом положительное влияние этиоляции к концу субкультивирования нивелировалось и проявилось влияние концентрации ИМК в питательной среде на закладку корней. Наибольшее количество корней было заложено на среде с минимальным количеством ИМК (0,5 мг/л) как с применением этиоляции ( $4,17 \pm 0,18$  шт.), так и без нее ( $4,30 \pm 0,29$  шт.).

На рост корневой системы в начале субкультивирования оказывали влияние как концентрация ИМК ( $p < 0,001$ ), так и этиоляция ( $p < 0,001$ ) или оба эти показателя одновременно ( $p < 0,001$ ). В конце субкультивирования влияние на среднюю длину корней оказывала только этиоляция ( $p < 0,01$ ). Так, высокие концентрации ИМК (1,0 и 1,5 мг/л) на начальном этапе культивирования тормозили рост корневой системы: средняя длина корней составила  $0,50 \pm 0,03$  и  $0,60 \pm 0,09$  см соответственно по сравнению с вариантом опыта (0,5 мг/л ИМК) –  $1,21 \pm 0,06$  см. Применение этиоляции не оказывало стимулирующего влияния на рост корневой системы. Использование ИМК в концентрации 0,5 мг/л в сочетании с этиоляцией снижало рост корневой системы в 2,3 раза

Таблица 1. Влияние концентрации ИМК и этиоляции на ризогенез *in vitro* подвоя 106-13 на среде с 1/2 макро- и микросолей MS  
 Table 1. Effect of IBA concentration and etiolation on *in vitro* rhizogenesis of rootstock 106-13 on medium with 1/2 MS macro- and microsals

Вариант опыта	Концентрация ИМК, мг/л	Доля укоренившихся растений-регенерантов, %		Средняя длина стебля, см		Среднее к-во корней, шт.		Средняя длина корней, см		Коэффициент развития корневой системы	
		через 3 недели	через 6 недель	через 3 недели	через 6 недель	через 3 недели	через 6 недель	через 3 недели	через 6 недель	через 3 недели	через 6 недель
Контроль	0,5	63,33 ± 3,33 <sup>a</sup>	90,0 ± 0 <sup>a</sup>	1,86 ± 0,13 <sup>a</sup>	2,12 ± 0,03 <sup>a</sup>	3,47 ± 0,60 <sup>abc</sup>	4,30 ± 0,29 <sup>a</sup>	1,21 ± 0,06 <sup>a</sup>	2,72 ± 0,47 <sup>a</sup>	0,41 ± 0,05 <sup>a</sup>	1,14 ± 0,18 <sup>a</sup>
	1,0	63,33 ± 3,33 <sup>a</sup>	86,67 ± 3,33 <sup>a</sup>	1,43 ± 0,32 <sup>a</sup>	1,70 ± 0,05 <sup>bc</sup>	2,58 ± 0,42 <sup>c</sup>	3,20 ± 0,40 <sup>c</sup>	0,50 ± 0,03 <sup>b</sup>	2,67 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,12 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,84 ± 0,10 <sup>ab</sup>
	1,5	60,00 ± 0 <sup>a</sup>	90,0 ± 0 <sup>a</sup>	1,17 ± 0,12 <sup>a</sup>	1,44 ± 0,08 <sup>c</sup>	2,78 ± 0,20 <sup>bc</sup>	3,33 ± 0,17 <sup>bc</sup>	0,60 ± 0,09 <sup>b</sup>	2,54 ± 0,12 <sup>ab</sup>	0,17 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,83 ± 0,03 <sup>ab</sup>
Этиоляция 7 сут	0,5	58,52 ± 1,48 <sup>a</sup>	86,30 ± 3,16 <sup>a</sup>	1,72 ± 0,33 <sup>a</sup>	1,88 ± 0,17 <sup>ab</sup>	4,03 ± 0,22 <sup>ab</sup>	4,17 ± 0,18 <sup>ab</sup>	0,52 ± 0,05 <sup>b</sup>	2,07 ± 0,19 <sup>ab</sup>	0,20 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,83 ± 0,17 <sup>ab</sup>
	1,0	46,67 ± 3,33 <sup>b</sup>	76,67 ± 3,33 <sup>b</sup>	1,41 ± 0,20 <sup>a</sup>	1,72 ± 0,14 <sup>bc</sup>	4,40 ± 0,42 <sup>a</sup>	3,90 ± 0,16 <sup>abc</sup>	0,42 ± 0,03 <sup>b</sup>	2,07 ± 0,20 <sup>ab</sup>	0,20 ± 0,04 <sup>b</sup>	0,72 ± 0,06 <sup>b</sup>
	1,5	50,00 ± 0 <sup>b</sup>	73,33 ± 3,33 <sup>b</sup>	1,51 ± 0,16 <sup>b</sup>	1,71 ± 0,16 <sup>bc</sup>	3,47 ± 0,29 <sup>abc</sup>	3,12 ± 0,34 <sup>c</sup>	0,44 ± 0,03 <sup>b</sup>	1,75 ± 0,35 <sup>b</sup>	0,15 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,53 ± 0,13 <sup>b</sup>

Примечание. В табл. 1–4 приведены средние значения ± стандартная ошибка. Данные с одинаковыми буквами в столбцах статистически не различаются при  $p < 0,05$  (критерий Дункана).

Таблица 2. Влияние концентрации ИМК и этиоляции на ризогенез *in vitro* подвоя 106-13 на среде с 1/3 макро- и микросолей MS  
 Table 2. Effect of IBA concentration and etiolation on *in vitro* rhizogenesis of rootstock 106-13 on medium with 1/3 MS macro- and microsals

Вариант опыта	Концентрация ИМК, мг/л	Доля укоренившихся растений-регенерантов, %		Средняя длина стебля, см		Среднее к-во корней, шт.		Средняя длина корней, см		Коэффициент развития корневой системы	
		через 3 недели	через 6 недель	через 3 недели	через 6 недель	через 3 недели	через 6 недель	через 3 недели	через 6 недель	через 3 недели	через 6 недель
Контроль	0,5	73,33 ± 3,33 <sup>a</sup>	86,67 ± 3,33 <sup>a</sup>	1,50 ± 0,12 <sup>ab</sup>	1,52 ± 0,02 <sup>b</sup>	3,64 ± 0,37 <sup>bc</sup>	3,78 ± 0,28 <sup>cd</sup>	1,08 ± 0,06 <sup>a</sup>	2,96 ± 0,17 <sup>a</sup>	0,39 ± 0,05 <sup>b</sup>	1,03 ± 0,09 <sup>ab</sup>
	1,0	56,33 ± 1,83 <sup>b</sup>	78,18 ± 2,78 <sup>a</sup>	1,11 ± 0,09 <sup>c</sup>	1,38 ± 0,15 <sup>b</sup>	3,17 ± 0,48 <sup>c</sup>	3,23 ± 0,15 <sup>d</sup>	0,63 ± 0,08 <sup>bc</sup>	3,08 ± 0,27 <sup>a</sup>	0,21 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,82 ± 0,04 <sup>bc</sup>
	1,5	53,33 ± 3,33 <sup>b</sup>	86,67 ± 3,33 <sup>a</sup>	1,27 ± 0,10 <sup>bc</sup>	1,39 ± 0,09 <sup>b</sup>	4,61 ± 0,12 <sup>ab</sup>	4,67 ± 0,17 <sup>b</sup>	0,77 ± 0,04 <sup>b</sup>	1,99 ± 0,16 <sup>b</sup>	0,37 ± 0,04 <sup>b</sup>	0,85 ± 0,14 <sup>abc</sup>
Этиоляция 7 сут	0,5	76,67 ± 3,33 <sup>a</sup>	86,67 ± 3,33 <sup>a</sup>	1,61 ± 0,04 <sup>a</sup>	1,85 ± 0,07 <sup>a</sup>	5,32 ± 0,54 <sup>a</sup>	5,34 ± 0,29 <sup>a</sup>	1,04 ± 0,01 <sup>a</sup>	2,33 ± 0,30 <sup>b</sup>	0,54 ± 0,07 <sup>a</sup>	1,12 ± 0,10 <sup>a</sup>
	1,0	63,33 ± 3,33 <sup>b</sup>	83,33 ± 3,33 <sup>a</sup>	1,32 ± 0,12 <sup>abc</sup>	1,46 ± 0,02 <sup>b</sup>	3,55 ± 0,32 <sup>bc</sup>	3,73 ± 0,08 <sup>cd</sup>	0,58 ± 0,08 <sup>c</sup>	1,80 ± 0,11 <sup>b</sup>	0,23 ± 0,03 <sup>c</sup>	0,69 ± 0,04 <sup>c</sup>
	1,5	43,33 ± 3,33 <sup>c</sup>	53,33 ± 3,33 <sup>b</sup>	1,22 ± 0,04 <sup>bc</sup>	1,53 ± 0,15 <sup>b</sup>	3,28 ± 0,39 <sup>c</sup>	4,28 ± 0,23 <sup>bc</sup>	0,56 ± 0,03 <sup>c</sup>	2,08 ± 0,13 <sup>b</sup>	0,20 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,91 ± 0,06 <sup>abc</sup>

по сравнению с контролем. Через 6 недель субкультивирования наименьшая длина корневой системы отмечена на питательной среде с высокой концентрацией ИМК (1,5 мг/л) с применением этиоляции ( $1,75 \pm 0,35$  см).

Лучший коэффициент развития корневой системы у растений-регенерантов подвоя 106-13 в начале субкультивирования был отмечен в опытах на среде с ИМК в концентрации 0,5 мг/л без этиоляции ( $0,41 \pm 0,05$ ), причем данная тенденция сохранялась и в конце субкультивирования ( $1,14 \pm 0,18$ ).

Таким образом, при укоренении подвоя 106-13 на питательной среде с 1/2 макро- и микросолей MS лучше использовать ИМК в концентрации 0,5 мг/л без применения этиоляции (выход укорененных растений-регенерантов – 90,0 %, наилучший коэффициент развития корневой системы –  $1,14 \pm 0,18$ ). Применение этиоляции в сочетании с низкой концентрацией ИМК (0,5 мг/л) не оказало стимулирующего эффекта на выход укорененных растений, а влияние более высоких концентраций (1,0 и 1,5 мг/л) было даже отрицательным, при этом выход укоренившихся растений уменьшился на 10 и 16,67 % соответственно по сравнению с контрольными вариантами опыта.

**Влияние концентрации ИМК и этиоляции на ризогенез *in vitro* подвоя 106-13, культивируемого на средах 1/3 макро- и микросолей MS.** В результате проведения двухфакторного дисперсионного анализа после 3 недель субкультивирования на питательной среде с 1/3 макро- и микросолей MS выявлено влияние концентрации ИМК ( $p < 0,001$ ) и совместное влияние двух факторов – концентрации ИМК и этиоляции ( $p < 0,05$ ) – на количество укоренившихся растений-регенерантов. В конце субкультивирования на данный показатель оказывали влияние этиоляция ( $p < 0,01$ ), концентрация ИМК ( $p < 0,001$ ) или оба эти фактора одновременно ( $p < 0,001$ ).

При культивировании подвоя 106-13 на питательной среде с 1/3 макро- и микросолей MS стимулирующего эффекта при применении этиоляции на выход укорененных растений не наблюдалось на протяжении всего времени субкультивирования, как и на среде с 1/2 макро- и микросолей MS. Сочетание высокой концентрации ИМК (1,5 мг/л) и этиоляции достоверно снижало выход укорененных растений по сравнению с контролем на 10 % через 3 недели субкультивирования и на 33,34 % в конце субкультивирования. Другие варианты опыта с этиоляцией достоверно не отличались от контрольных вариантов на протяжении всего времени субкультивирования. В конце пассажа выход укорененных растений при применении этиоляции в сочетании с ИМК в концентрациях 0,5 и 1,0 мг/л был не менее 83,33 % (табл. 2).

В начале субкультивирования выявлено значимое влияние концентрации ИМК ( $p < 0,01$ ) на рост стебля в длину, к концу субкультивирования – влияние концентрации ИМК ( $p < 0,05$ ) и этиоляции ( $p < 0,05$ ). Добавление в питательную среду ИМК в концентрациях 1,0 и 1,5 мг/л тормозило рост стебля в длину у растений-регенерантов в начале субкультивирования как в контрольных вариантах без этиоляции, так и в вариантах опыта с этиоляцией. Через 6 недель субкультивирования применение этиоляции в сочетании с низкой концентрацией ИМК (0,5 мг/л) положительно повлияло на рост стебля в длину. Средняя длина стебля в контрольном варианте составила  $1,52 \pm 0,02$  см, тогда как при применении этиоляции –  $1,85 \pm 0,07$  см, данные различия были достоверны.

На среднее количество корней через 3 недели субкультивирования влияли концентрация ИМК ( $p < 0,05$ ), концентрация ИМК и этиоляция одновременно ( $p < 0,01$ ), а через 6 недель – этиоляция ( $p < 0,01$ ), концентрация ИМК ( $p < 0,001$ ) и концентрация ИМК и этиоляция совместно ( $p < 0,01$ ). Увеличение концентрации ИМК в питательной среде, содержащей 1/3 макро- и микросолей по MS без применения этиоляции, стимулирует закладку корней у растений-регенерантов. Наибольшее число корней отмечено на средах с добавлением ИМК в концентрации 1,5 мг/л как в начале субкультивирования ( $4,61 \pm 0,12$  шт.), так и в конце ( $4,67 \pm 0,17$  шт.). Целесообразно применение этиоляции в сочетании с низкой концентрацией ИМК (0,5 мг/л), что увеличивает среднее количество корней до  $5,34 \pm 0,29$  шт. по сравнению с контрольным вариантом ( $3,78 \pm 0,28$  шт.) через 6 недель субкультивирования.

На рост корневой системы на среде с 1/3 макро- и микросолей по MS в начале субкультивирования оказывала влияние только концентрация ИМК ( $p < 0,001$ ), увеличение концентрации ИМК до 1,0–1,5 мг/л в питательной среде уменьшало рост корней в 1,4–1,7 раза по сравнению

с их ростом при концентрации ИМК 0,5 мг/л ( $1,08 \pm 0,06$  см). В конце субкультивирования на рост корневой системы оказывала влияние не только концентрация ИМК ( $p < 0,01$ ), но и этиоляция ( $p < 0,05$ ), а также оба фактора одновременно ( $p < 0,05$ ). Применение этиоляции не дало положительного эффекта на рост корневой системы. Наибольшая длина корневой системы ( $3,08 \pm 0,27$  см) была у растений-регенерантов на питательной среде с добавлением ИМК в концентрациях 0,5 ( $2,96 \pm 0,17$  см) и 1,0 мг/л без этиоляции.

Таким образом, при укоренении подвоя 106-13 на питательной среде с 1/3 макро- и микро-солей MS лучше использовать ИМК в концентрации 0,5 мг/л (выход укорененных растений-регенерантов –  $86,67 \pm 3,33$  %). Применение этиоляции с использованием ИМК в той же концентрации не влияло на выход укорененных растений-регенерантов ( $86,67 \pm 3,33$  %), но оказывало положительное воздействие на рост стебля в длину и среднее количество корней, однако тормозило рост корневой системы, поэтому в целом коэффициент развития корневой системы ( $1,12 \pm 0,10$ ) достоверно не отличался от контрольного варианта ИМК 0,5 мг/л без этиоляции ( $1,03 \pm 0,09$ ). Таким образом, использование для ризогенеза подвоя 106-13 среды с 0,5 мг/л ИМК без содержания растений-регенерантов в темноте ведет к упрощению рабочего процесса.

**Влияние минерального состава среды на морфологические параметры подвоя 106-13.** Поскольку лучшие результаты были получены при использовании ИМК в концентрации 0,5 мг/л без этиоляции как на среде с 1/2 макро- и микро-солей MS, так и на среде с 1/3 макро- и микро-солей MS, проведено сравнение морфологических показателей развития растений-регенерантов в этих вариантах опыта. Выход укорененных растений в обоих вариантах опыта был высокий: 90,0 % (1/2 макро- и микро-солей MS) и 86,67 % (1/3 макро- и микро-солей MS). Также следует отметить, что достоверных различий по таким морфологическим параметрам, как количество корней и их длина, не наблюдалось, поэтому и коэффициент развития корневой системы у растений-регенерантов отличался незначительно. Однако на среде с 1/2 макро- и микро-солей MS рост растений в высоту был достоверно лучше, чем на среде с 1/3 макро- и микро-солей MS, что положительно скажется при адаптации этих растений к нестерильным условиям *ex vitro* (рис. 1).

Таким образом, для ризогенеза *in vitro* подвоя 106-13 лучше использовать среду с 1/2 макро- и микро-солей по MS, дополненную ИМК в концентрации 0,5 мг/л без применения этиоляции.

**Влияние концентрации ИМК и этиоляции на ризогенез *in vitro* подвоя 54-118, культивируемого на средах 1/2 макро- и микро-солей MS.** Двухфакторный дисперсионный анализ показал,

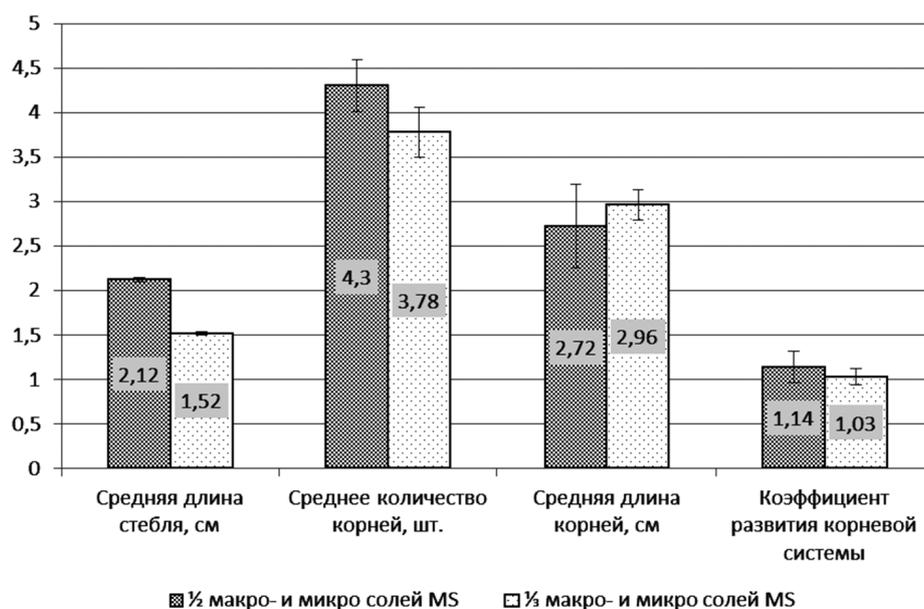


Рис. 1. Влияние минерального состава среды на морфологические параметры подвоя 106-13 (через 6 недель культивирования, 0,5 мг/л ИМК без этиоляции)

Fig. 1. Influence of medium mineral composition on morphological parameters of rootstock 106-13 (after 6 weeks of cultivation, 0,5 mg/l IBA without etiolation)

что при культивировании подвоя 54-118 на питательной среде с 1/2 макро- и микросолей MS на выход укорененных растений-регенерантов оказывали влияние концентрация ИМК ( $p < 0,001$ ) и два фактора – концентрация ИМК и этиоляция одновременно ( $p < 0,001$ ) – как после 3, так и после 6 недель субкультивирования. Увеличение концентрации ИМК в питательной среде без применения этиоляции отрицательно влияло на процесс укоренения подвоя 54-118. Выход укорененных растений-регенерантов на среде с максимальным количеством ИМК (1,5 мг/л) был на 50 % меньше, чем на среде с 0,5 мг/л ИМК через 3 недели субкультивирования, и на 43,33 % меньше через 6 недель субкультивирования. Применение этиоляции в сочетании с ИМК в концентрации 0,5 мг/л отрицательно влияет на процесс укоренения подвоя 54-118 на среде с 1/2 макро- и микросолей MS, но сочетание этиоляции с ИМК в высокой концентрации (1,5 мг/л) положительно влияло на процесс ризогенеза как в начале, так и в конце субкультивирования. Выход укорененных растений на среде с 1,5 мг/л ИМК в сочетании с этиоляцией в конце субкультивирования составил  $56,67 \pm 3,33$  %, что достоверно превышало контрольный вариант (1,5 мг/л ИМК б/э) на 36,67 %, однако не имело достоверных различий со средой с 0,5 мг/л ИМК без этиоляции ( $63,33 \pm 3,33$  %) (табл. 3).

В начале субкультивирования выявлено значимое влияние этиоляции ( $p < 0,01$ ), концентрации ИМК ( $p < 0,001$ ) или обоих этих факторов одновременно ( $p < 0,001$ ) на рост стебля в длину, к концу субкультивирования сохранилось лишь совместное влияние двух факторов – этиоляции и концентрации ИМК ( $p < 0,01$ ). Растения-регенеранты подвоя 54-118 на питательной среде с ИМК в концентрации 1,5 мг/л без этиоляции значительно отставали в росте от растений-регенерантов в других вариантах опыта на протяжении всего времени субкультивирования.

В конце субкультивирования влияния ни одного из факторов на количество и длину корней, а соответственно, и на коэффициент развития корневой системы не выявлено. Коэффициент развития корневой системы во всех вариантах опытов был высоким.

Таким образом, при укоренении подвоя 54-118 на питательной среде с 1/2 макро- и микросолей MS лучше использовать ИМК в концентрации 0,5–1,0 мг/л без применения этиоляции (выход укорененных растений-регенерантов – 63,33 и 60,0 %, коэффициент развития корневой системы –  $0,87 \pm 0,02$  и  $0,86 \pm 0,06$ ). Применение этиоляции не оказало стимулирующего эффекта на выход укорененных растений данного подвоя.

**Влияние концентрации ИМК и этиоляции на ризогенез *in vitro* подвоя 54-118, культивируемого на средах 1/3 макро- и микросолей MS.** Установлено влияние концентрации ИМК ( $p < 0,01$ ) и этиоляции ( $p < 0,01$ ) на выход укорененных растений-регенерантов подвоя 54-118 при культивировании на среде 1/3 макро- и микросолей MS через 3 недели культивирования и влияние концентрации ИМК ( $p < 0,001$ ) и совместное влияние двух факторов (этиоляции и концентрации) ИМК ( $p < 0,001$ ) через 6 недель субкультивирования.

В начале культивирования наблюдался стимулирующий эффект от применения этиоляции в сочетании с высокими концентрациями ИМК – 1,0 и 1,5 мг/л (выход укорененных растений – 56,67 и 53,33 % соответственно). Однако в конце субкультивирования максимальный процент укорененных растений получен на среде с добавлением ИМК в концентрации 1,0 мг/л без применения этиоляции (85,35 %), что было достоверно выше, чем в варианте опыта с применением этиоляции при той же концентрации ИМК (60,0 %) (табл. 4).

На такие показатели развития растений-регенерантов, как длина стебля, количество корней, не оказывал влияние ни один из факторов на протяжении всего времени их культивирования. На среднюю длину корней влияло применение этиоляции как через 3 ( $p < 0,001$ ), так и через 6 недель культивирования ( $p < 0,01$ ). На коэффициент развития корневой системы оказывала влияние этиоляция через 3 недели культивирования ( $p < 0,001$ ), в конце субкультивирования – этиоляция ( $p < 0,05$ ) и совместное действие двух факторов ( $p < 0,01$ ).

Применение этиоляции в сочетании с концентрациями ИМК 1,0 и 1,5 мг/л положительно влияло на рост корней (через 3 недели субкультивирования длина корней составила 2,31 и 2,03 см соответственно), что достоверно превышало данные показатели в контрольных вариантах (0,45 и 0,93 см). Соответственно, и коэффициент развития корневой системы был выше у растений-регенерантов, которые культивировались на питательной среде с 1,0 и 1,5 мг/л ИМК с применением

Т а б л и ц а 3. Влияние концентрации ИМК и этиоляции на ризогенез *in vitro* подвоя 54-118 на среде с 1/2 макро- и микросолей MS  
 T a b l e 3. Effect of IBA concentration and etiolation on *in vitro* rhizogenesis of rootstock 54-118 on medium with 1/2 MS macro- and microsals

Вариант опыта	Концентрация ИМК, мг/л	Доля укоренившихся растений-регенерантов, %		Средняя длина стебля, см		Среднее к-во корней, шт.		Средняя длина корней, см		Коэффициент развития корневой системы	
		через 3 недели	через 6 недель	через 3 недели	через 6 недель	через 3 недели	через 6 недель	через 3 недели	через 6 недель	через 3 недели	через 6 недель
Контроль	0,5	63,33 ± 3,33 <sup>a</sup>	63,33 ± 3,33 <sup>a</sup>	1,57 ± 0,05 <sup>a</sup>	1,90 ± 0,10 <sup>a</sup>	3,98 ± 0,33 <sup>ab</sup>	4,03 ± 0,28 <sup>a</sup>	1,84 ± 0,31 <sup>b</sup>	2,34 ± 0,31 <sup>ab</sup>	0,67 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,87 ± 0,02 <sup>ab</sup>
	1,0	53,33 ± 3,33 <sup>b</sup>	60,0 ± 0 <sup>ab</sup>	1,99 ± 0,23 <sup>a</sup>	2,31 ± 0,18 <sup>a</sup>	3,42 ± 0,12 <sup>abc</sup>	3,94 ± 0,20 <sup>a</sup>	1,20 ± 0,14 <sup>c</sup>	2,27 ± 0,31 <sup>ab</sup>	0,46 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,86 ± 0,06 <sup>ab</sup>
	1,5	13,33 ± 3,33 <sup>d</sup>	20,0 ± 0 <sup>d</sup>	0,43 ± 0,07 <sup>b</sup>	1,05 ± 0,33 <sup>b</sup>	2,93 ± 0,07 <sup>c</sup>	3,17 ± 0,44 <sup>a</sup>	0,83 ± 0,09 <sup>c</sup>	2,14 ± 0,35 <sup>ab</sup>	0,25 ± 0,02 <sup>c</sup>	0,70 ± 0,05 <sup>b</sup>
Этиоляция 7 сут	0,5	33,33 ± 3,33 <sup>c</sup>	36,67 ± 3,33 <sup>c</sup>	1,95 ± 0,26 <sup>a</sup>	2,20 ± 0,16 <sup>a</sup>	3,06 ± 0,24 <sup>bc</sup>	3,36 ± 0,53 <sup>a</sup>	2,54 ± 0,23 <sup>a</sup>	3,42 ± 0,66 <sup>a</sup>	0,69 ± 0,06 <sup>a</sup>	1,02 ± 0,01 <sup>a</sup>
	1,0	53,33 ± 3,33 <sup>b</sup>	53,33 ± 3,33 <sup>b</sup>	1,54 ± 0,03 <sup>a</sup>	1,78 ± 0,03 <sup>a</sup>	4,24 ± 0,46 <sup>a</sup>	4,36 ± 0,35 <sup>a</sup>	1,22 ± 0,11 <sup>c</sup>	2,08 ± 0,11 <sup>b</sup>	0,52 ± 0,09 <sup>ab</sup>	0,89 ± 0,14 <sup>ab</sup>
	1,5	50,00 ± 0 <sup>b</sup>	56,67 ± 3,33 <sup>ab</sup>	1,79 ± 0,13 <sup>a</sup>	2,15 ± 0,19 <sup>a</sup>	3,27 ± 0,29 <sup>bc</sup>	3,55 ± 0,45 <sup>a</sup>	1,18 ± 0,08 <sup>c</sup>	2,40 ± 0,34 <sup>ab</sup>	0,40 ± 0,09 <sup>bc</sup>	0,82 ± 0,08 <sup>ab</sup>

Т а б л и ц а 4. Влияние концентрации ИМК и этиоляции на ризогенез *in vitro* подвоя 54-118 на среде с 1/3 макро- и микросолей MS  
 T a b l e 4. Effect of IBA concentration and etiolation on *in vitro* rhizogenesis of rootstock 54-118 on medium with 1/3 MS macro- and microsals

Вариант опыта	Концентрация ИМК, мг/л	Доля укоренившихся растений-регенерантов, %		Средняя длина стебля, см		Среднее к-во корней, шт.		Средняя длина корней, см		Коэффициент развития корневой системы	
		через 3 недели	через 6 недель	через 3 недели	через 6 недель	через 3 недели	через 6 недель	через 3 недели	через 6 недель	через 3 недели	через 6 недель
Контроль	0,5	40,15 ± 3,58 <sup>b</sup>	42,93 ± 1,26 <sup>c</sup>	1,47 ± 0,09 <sup>a</sup>	1,71 ± 0,24 <sup>a</sup>	3,68 ± 0,22 <sup>a</sup>	3,87 ± 0,18 <sup>ab</sup>	1,41 ± 0,08 <sup>abc</sup>	2,40 ± 0,07 <sup>abc</sup>	0,49 ± 0,04 <sup>b</sup>	0,94 ± 0,10 <sup>ab</sup>
	1,0	44,19 ± 1,26 <sup>b</sup>	85,35 ± 2,81 <sup>a</sup>	1,69 ± 0,24 <sup>a</sup>	1,72 ± 0,33 <sup>a</sup>	3,13 ± 0,47 <sup>a</sup>	3,33 ± 0,28 <sup>b</sup>	0,45 ± 0,07 <sup>c</sup>	1,47 ± 0,23 <sup>c</sup>	0,15 ± 0,03 <sup>c</sup>	0,53 ± 0,12 <sup>c</sup>
	1,5	43,33 ± 3,33 <sup>c</sup>	46,67 ± 3,33 <sup>c</sup>	1,47 ± 0,25 <sup>a</sup>	1,85 ± 0,23 <sup>a</sup>	3,77 ± 0,54 <sup>a</sup>	4,63 ± 0,49 <sup>a</sup>	0,93 ± 0,17 <sup>bc</sup>	1,87 ± 0,57 <sup>bc</sup>	0,34 ± 0,01 <sup>bc</sup>	0,77 ± 0,12 <sup>bc</sup>
Этиоляция 7 сут	0,5	40,0 ± 0 <sup>b</sup>	43,33 ± 3,33 <sup>c</sup>	1,64 ± 0,04 <sup>a</sup>	1,90 ± 0,03 <sup>a</sup>	2,58 ± 0,68 <sup>a</sup>	2,92 ± 0,51 <sup>b</sup>	1,82 ± 0,56 <sup>ab</sup>	2,55 ± 0,33 <sup>abc</sup>	0,52 ± 0,22 <sup>b</sup>	0,73 ± 0,09 <sup>bc</sup>
	1,0	56,67 ± 3,33 <sup>a</sup>	60,0 ± 0 <sup>b</sup>	1,66 ± 0,27 <sup>a</sup>	2,03 ± 0,12 <sup>a</sup>	3,68 ± 0,30 <sup>a</sup>	3,94 ± 0,31 <sup>ab</sup>	2,31 ± 0,40 <sup>a</sup>	3,22 ± 0,32 <sup>a</sup>	0,83 ± 0,07 <sup>a</sup>	1,18 ± 0,10 <sup>a</sup>
	1,5	53,33 ± 3,33 <sup>a</sup>	66,67 ± 3,33 <sup>b</sup>	1,40 ± 0,12 <sup>a</sup>	1,69 ± 0,14 <sup>a</sup>	3,34 ± 0,34 <sup>a</sup>	3,47 ± 0,43 <sup>ab</sup>	2,03 ± 0,27 <sup>a</sup>	2,63 ± 0,23 <sup>ab</sup>	0,66 ± 0,01 <sup>ab</sup>	0,89 ± 0,06 <sup>ab</sup>

этиоляции ( $0,83 \pm 0,07$  и  $0,66 \pm 0,01$  соответственно). Минимальный коэффициент развития корневой системы ( $0,15 \pm 0,03$ ) наблюдали у контрольного варианта (1,0 мг/л ИМК без этиоляции). Через 6 недель субкультивирования положительное влияние этиоляции сохранилось на рост и на коэффициент развития корневой системы на средах с применением ИМК в концентрации 1,0 мг/л.

Однако, несмотря на положительное влияние этиоляции в сочетании с ИМК в концентрациях 1,0 и 1,5 мг/л на рост и коэффициент развития корневой системы подвоя 54-118 на питательной среде с 1/3 макро- и микро солей MS, основной показатель – выход укорененных растений-регенерантов был максимальным на среде с 1,0 мг/л ИМК без применения этиоляции ( $85,35 \pm 2,81$  %). Средняя длина стебля ( $1,72 \pm 0,33$  см) на этой среде, достоверно не отличающаяся от таковой при проведении других вариантов опыта, превышала минимальный порог (1,5 см), необходимый для этапа адаптации *ex vitro*. Поэтому для укоренения данного подвоя на питательной среде с 1/3 макро- и микро солей MS применение этиоляции не является целесообразным и ИМК лучше использовать в концентрации 1,0 мг/л.

**Влияние минерального состава среды на морфологические параметры подвоя 54-118.** Лучшие результаты по количеству укорененных растений-регенерантов получены при использовании ИМК в концентрациях 0,5 и 1,0 мг/л без этиоляции на среде с 1/2 макро- и микро солей MS (63,33 и 60 % соответственно) и на среде с 1/3 макро- и микро солей MS без этиоляции в сочетании с ИМК в концентрации 1,0 мг/л (85,35 %). Поэтому морфологические показатели развития растений-регенерантов сравнивали между собой в этих вариантах опыта. Среднее количество корней на растение, их длина и, соответственно, коэффициент развития корневой системы были достоверно выше на питательной среде с 1/2 макро- и микро солей MS, чем на питательной среде с 1/3 макро- и микро солей MS. Средняя длина стебля на среде с 1/2 макро- и микро солей MS (1,0 мг/л ИМК) также достоверно превышала данный показатель на среде с 1/3 макро- и микро солей MS (1,0 мг/л ИМК) (рис. 2).

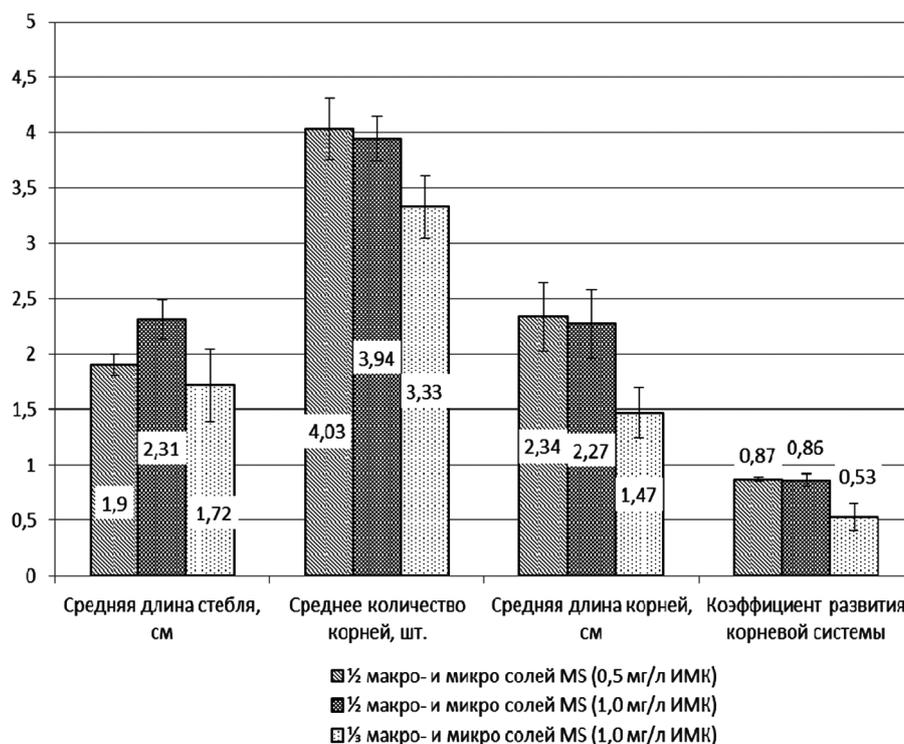


Рис. 2. Влияние минерального состава среды на морфологические параметры подвоя 54-118 (через 6 недель культивирования, без этиоляции)

Fig. 2. Influence of medium mineral composition on morphological parameters of rootstock 54-118 (after 6 weeks of cultivation, without etiolation)

Таким образом, несмотря на более низкие показатели морфологического развития растений-регенерантов на среде с 1/3 макро- и микросолей MS (следует отметить, что они не являются критически низкими для дальнейшей успешной адаптации *ex vitro*), выход укорененных растений на этой среде значительно превышает (более чем на 20 %) данный показатель на питательной среде с 1/2 макро- и микросолей MS, поэтому для ризогенеза *in vitro* подвоя 54-118 лучше использовать среду с 1/3 макро- и микросолей MS, дополненную ИМК в концентрации 1,0 мг/л без этиоляции.

**Закключение.** Для ризогенеза *in vitro* подвоя 106-13 лучше использовать среду с 1/2 макро- и микросолей по MS, дополненную ИМК в концентрации 0,5 мг/л без применения этиоляции (выход укорененных растений-регенерантов – 90,0 % коэффициент развития корневой системы –  $1,14 \pm 0,18$ ). Для ризогенеза *in vitro* подвоя 54-118 лучше использовать среду с 1/3 макро- и микросолей по MS, дополненную ИМК в концентрации 1,0 мг/л без этиоляции (выход укорененных растений-регенерантов – 85,35 %, коэффициент развития корневой системы –  $0,53 \pm 0,12$ ).

Положительное действие этиоляции на рост корневой системы зависело от сорта. Так, у подвоя 54-118 применение этиоляции стимулировало рост корней на среде с 1/3 макро- и микросолей MS в сочетании с ИМК в концентрации 1,0 мг/л, а у подвоя 106-13 – тормозило рост корневой системы растений-регенерантов как на среде с 1/2 макро- и микросолей, так и на среде с 1/3 макро- и микросолей MS, но оказывало стимулирующее влияние на закладку корней на протяжении всего времени субкультивирования. В то же время применение этиоляции продолжительностью 7 сут на этапе ризогенеза *in vitro* подвоев 106-13 и 54-118 в целом не представляется целесообразным, так как не оказывает стимулирующего эффекта на увеличение количества укорененных растений-регенерантов в конце субкультивирования.

#### Список использованных источников

1. Калинин, Ф. Л. Технология микрклонального размножения растений / Ф. Л. Калинин, Г. П. Кушнир, В. В. Сарнацкая. – Киев : Наук. думка, 1992. – 232 с.
2. Вечернина, Н. А. Методы биотехнологии в селекции, размножении и сохранении генофонда растений / Н. А. Вечернина, О. К. Таварткиладзе. – Барнаул : Изд-во Алт. гос. ун-та, 2014. – 250 с.
3. Brian, C. H. Micropropagation of the Cold-hardy apple rootstock KSC-3 / C. H. Brian, G. Hicks // *Canad. J. of Plant Science*. – 1989. – Vol. 69, N 2. – P. 555–564. <https://doi.org/10.4141/cjps89-068>
4. Деменко, В. И. Укоренение – ключевой этап размножения растений *in vitro* / В. И. Деменко, К. А. Шестибратов, В. Г. Лебедев // *Изв. Тимирязев. с.-х. акад.* – 2010. – № 1. – С. 73–85.
5. Сохранение и размножение ценных форм ягодных и декоративных растений методами биотехнологии / М. Б. Янковская [и др.] // *Вестн. Иркут. гос. с.-х. акад.* – 2011. – Т. 4, № 44. – С. 160–166.
6. James, D. J. The control of rhizogenesis *in vitro* in difficult-to-root apple rootstocks / D. J. James, I. J. Wakerell // *Plant tissue culture 1982 : proc. of 5th Intern. Congr., Japan, July 11–16, 1982 / Jap. Assoc. for Plant Tissue Culture ; ed. A. Fujiwara.* – Tokyo, 1982. – P. 187–188.
7. Ripley, K. P. Micropropagation of *Euphorbia lathyris* / K. P. Ripley, J. E. Preece // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. – 1986. – Vol. 5, N 3. – P. 213–218. <https://doi.org/10.1007/bf00040132>
8. Пронина, И. Н. Влияние этиоляции на ризогенную активность микропобегов яблони и груши *in vitro* / И. Н. Пронина // *Плодоводство и ягодоводство России : сб. науч. работ / Всерос. селекц.-технол. ин-т садоводства и питомниководства.* – М., 2011. – Т. 26. – С. 76–81.
9. Amitrani, A. The effect of the time of indole-3-butyric acid application and of darkness on the rooting of micropropagated M.27 shoots / A. Amitrani, F. Romani, A. Standardi // *Agricoltura Mediterranea*. – 1989. – Vol. 119, N 4. – P. 417–423.
10. Шорников, Д. Г. Совершенствование технологии размножения редких садовых растений в культуре *in vitro* и оценка их потенциала устойчивости к абиотическим стрессорам : дис. ... канд. с.-х. наук : 06.01.05 / Д. Г. Шорников. – Мичуринск, 2008. – 192 л.
11. Семенова, Н. А. Совершенствование технологии размножения *in vitro*, условий адаптации и доращивания жимолости съедобной : дис. ... канд. с.-х. наук : 06.01.08 / Н. А. Семенова. – М., 2016. – 189 л.
12. Hujun, J. The study of meristem-tip culture of peach (*Prunus persica* L.) / H. Jiang, J. Pan, X. Men // *Acta agriculturae Universitatis Pekinensis*. – 1993. – Vol. 19, N 1. – P. 49–52.

#### References

1. Kalinin F. L., Kushnir G. P., Sarnatskaya V. V. *Micropropagation technology*. Kiev, Naukova dumka Publ., 1992. 232 p. (in Russian).
2. Vechernina N. A., Tavartkiladze O. K. *Methods of biotechnology in breeding, reproduction and conservation of the gene pool of plants*. Barnaul, Publishing house of Altai State University, 2014. 250 p. (in Russian).

3. Brian C. H., Hicks G. Micropropagation of the Cold-hardy apple rootstock KSC-3. *Canadian Journal of Plant Science*, 1989, vol. 69, no. 2, pp. 555–564. <https://doi.org/10.4141/cjps89-068>
4. Demenko V. I., Shestibratov K. A., Lebedev V. G. Rooting is a key stage of *in vitro* plant propagation. *Izvestiya Timiryazevskoi sel'skokhozyaistvennoi akademii* [Proceedings of the Timiryazev Agricultural Academy], 2010, no. 1, pp. 73–85 (in Russian).
5. Yankovskaya M. B., Shornikov D. G., Muratova S. A., Solovykh N. V. Preservation and reproduction of valuable forms of berry and ornamental plants by the methods of biotechnology. *Vestnik Irkutskoi gosudarstvennoi sel'skokhozyaistvennoi akademii* [Bulletin of the Irkutsk State Agricultural Academy], 2011, vol. 4, no. 44, pp. 160–166 (in Russian).
6. James D. J., Wakerell I. J. The control of rhizogenesis in vitro in difficult-to-root apple rootstocks. *Plant tissue culture 1982: proceedings of the 5th International Congress of Plant Tissue and Cell Culture held at Tokyo and Lake Yamanaka, Japan, July 11–16, 1982*. Tokyo, 1982, pp. 187–188.
7. Ripley K. P., Preece J. E. Micropropagation of *Euphorbia lathyris*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 1986, vol. 5, no. 3, pp. 213–218. <https://doi.org/10.1007/bf00040132>
8. Pronina I. N. Influence of etiolation on rhizogenesis activity of apple and pear microcuttings in *in vitro* conditions. *Plodovodstvo i yagodovodstvo Rossii: sbornik nauchnykh rabot* [Pomiculture and small fruits culture in Russia: a collection of scientific works]. Moscow, 2011, vol. 26, pp. 76–81 (in Russian).
9. Amitrani A., Romani F., Standardi A. The effect of the time of indole-3-butyric acid application and of darkness on the rooting of micropropagated M.27 shoots. *Agricoltura Mediterranea*, 1989, vol. 119, no. 4, pp. 417–423.
10. Shornikov D. G. *Improvement of technology of propagation of rare garden plants in in vitro culture and estimation of their resistance potential to abiotic stressor*. Ph. D. Thesis. Michurinsk, 2008. 23 p. (in Russian).
11. Semenova N. A. *Improvement of in vitro propagation technology, adaptation conditions and growing of honeysuckle edible*. Ph. D. Thesis. Moscow, 2016. 189 p. (in Russian).
12. Hujun J., Jishu P., Xinfu M. The study of meristem-tip culture of peach (*Prunus persica* L.). *Acta agriculturae Universitatis Pekinensis*, 1993, vol. 19, no. 1, pp. 49–52.

### Информация об авторах

*Шапорева Виктория Александровна* – студентка. Белорусский государственный педагогический университет им. М. Танка (ул. Советская, 18, 220050, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [viktoria\\_shaporeva@mail.ru](mailto:viktoria_shaporeva@mail.ru)

*Змушко Александр Александрович* – канд. с/х наук, науч. сотрудник. Институт плодородия (ул. Ковалева, 2, 223013, пос. Самохваловичи, Минский район, Республика Беларусь). E-mail: [temlein2015@yandex.ru](mailto:temlein2015@yandex.ru)

*Колбанова Елена Вячеславовна* – канд. биол. наук, заведующий лабораторией (ул. Ковалева, 2, 223013, пос. Самохваловичи, Минский район, Республика Беларусь). E-mail: [kolbanova@tut.by](mailto:kolbanova@tut.by)

### Information about the authors

*Viktoria A. Shaporeva* – Student. Belarusian State Pedagogical University named after Maxim Tank (18, Sovetskaya Str., 220050, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [viktoria\\_shaporeva@mail.ru](mailto:viktoria_shaporeva@mail.ru)

*Aleksandr A. Zmushko* – Ph. D. (Agric.), Researcher. Institute for Fruit Growing (2, Kovalyov Str., 223013, Samokhvalovichy, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: [temlein2015@yandex.ru](mailto:temlein2015@yandex.ru)

*Elena V. Kolbanova* – Ph. D. (Biol.), Head of the Laboratory. Institute for Fruit Growing (2, Kovalyov Str., 223013, Samokhvalovichy, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: [kolbanova@tut.by](mailto:kolbanova@tut.by)