

КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ И ТЕМПЕРАТУРЫ
НА СОХРАНЕНИЕ ЗЕМЛЯНИКИ САДОВОЙ *IN VITRO*

I. V. Knyazeva, V. N. Sorokopudov, O. A. Sorokopudova

INTEGRATED ASSESSMENT OF THE INFLUENCE OF NUTRIENT ENVIRONMENT
AND THE TEMPERATURE ON THE CONSERVATION OF GARDEN STRAWBERRY *IN VITRO*

Князева Инна Валерьевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. исследований технологических свойств сельскохозяйственных материалов Федерального научного агроинженерного центра ВИМ, Федеральный научный селекционно-технологический центр садоводства и питомниководства, г. Москва. E-mail: knyazewa.inna@yandex.ru

Сорокопудова Ольга Анатольевна – д-р биол. наук, проф. каф. ботаники, селекции и семеноводства садовых растений Российского государственного аграрного университета – МСХА им. К.А. Тимирязева, Федеральный научный селекционно-технологический центр садоводства и питомниководства, г. Москва.

E-mail: o.sorokopudova@rgau-msha.ru

Сорокопудов Владимир Николаевич – д-р с.-х. наук, проф. каф. декоративного садоводства и газоноведения Российского государственного аграрного университета – МСХА им. К.А. Тимирязева, Федеральный научный селекционно-технологический центр садоводства и питомниководства, г. Москва. E-mail: sorokopud2301@mail.ru

Knyazeva Inna Valeryevna – Cand. Biol. Sci., Senior Staff Scientist, Lab. of the Researches of Technological Properties of Agricultural Materials, Federal Scientific Agroengineering center VIM, Federal Scientific Selection and Technology Center for Horticulture and Nursery, Moscow. E-mail: knyazewa.inna@yandex.ru

Sorokopudova Olga Anatolyevna – Dr. Biol. Sci., Prof., Chair of Botany, Selection and Seed Farming of Garden Plants, Russian State Agrarian University – MAA named after K.A. Timiryazev, Federal Scientific Selection and Technology Center for Horticulture and Nursery, Moscow. E-mail: o.sorokopudova@rgau-msha.ru

Sorokopudov Vladimir Nikolaevich – Dr. Agr. Sci., Prof., Prof. Chair of Decorative Gardening and Lawn Science, Russian State Agrarian University – MAA named after K.A. Timiryazev, Federal Scientific Selection and Technology Center for Horticulture and Nursery, Moscow. E-mail: sorokopud2301@mail.ru

Цель исследования – изучение влияния питательной среды и температурного режима на сохранение земляники садовой *in vitro*. На основе анализа полученных данных нами определены факторы (температура и состав питательной среды) и дана их комплексная оценка для разработки параметров среднесрочного хранения ценного генотипа земляники садовой сорта Наше Подмосковье в культуре *in vitro*. Установлены различия в действии шестиатомных спиртов (маннита и дульцита) в зависимости от температуры на жизнеспособность растений-регенерантов земляники садовой. Добавление в питательную среду осмотически активных веществ в концентрации 0,45 % способствовало сохранению жизнеспособных эксплантов земляники при

температуре +22...24 °C в течение 12 месяцев на среде с маннитом (56,5 %) и 9 месяцев на среде с дульцитом (25,0 %). Дульцит не оказал существенного положительного влияния на сохранение микропобегов в стандартных условиях культивирования. Доля жизнеспособных эксплантов земляники находилась ниже контрольного варианта на протяжении всего периода сохранения. Показано, что в условиях пониженных положительных температур (+4...6 °C) наблюдалось увеличение периода беспересадочного культивирования от 3 месяцев для эксплантов на среде с дульцитом до 6 месяцев на среде с маннитом. Общая доля жизнеспособных эксплантов при температуре +4...6 °C составила 10–40 % через 12 месяцев депонирования. В контрольном вари-

анте жизнеспособность микропобегов варьировала в пределах 70,0–73,3 %. Оптимальным источником углеводного питания для микропобегов сорта Наше Подмосковье при температуре +22...24 °С являлся маннит в концентрации 0,45 %, при +4...6 °С – сахароза 3,0 %. На сохранение эксплантов сорта Наше Подмосковье существенное влияние оказали как питательная среда, так и условия культивирования.

Ключевые слова: земляника садовая, маннит, дульцит, депонирование, жизнеспособность, *in vitro*.

The research objective was studying the influence of nutrient medium and temperature condition on the preservation of garden strawberry *in vitro*. On the basis of the analysis of the obtained data the factors (the temperature and structure of nutrient medium) were defined and their complex assessment for the development of parameters of medium-term storage of valuable genotype of garden strawberry variety *Nashe Podmoskovye in vitro* culture was given. The distinctions in the effect of hexatomic alcohols (mannitol and dulcitol) depending on the temperature on the viability of regenerated plants of garden strawberry were established. The addition of osmotically active substances in the concentration of 0.45 % in the medium contributed to the preservation of viable explants of strawberries at the temperature of + 22...24 °C for 12 months on the medium with mannitol (56.5 %) and 9 months on the medium with dulcitol (25.0 %). Dulcitol did not have a significant positive effect on the preservation of microtubes under standard cultivation conditions. The proportion of viable explants of strawberries was below the control option throughout the conservation period. It was shown that under low positive temperature (+ 4...6 °C) conditions the increase in the period of direct cultivation was observed from 3 months for the explants on the medium with dulcitol to 6 months on the medium with mannitol. The total share of viable explants at the temperature of + 4...6 °C was 10–40 % after 12 months of deposition. In control variant the viability of microprobe ranged from 70.0–73.3 %. Optimal source of carbohydrate nutrition for the variety *Nashe Podmoskovye* micrun shoots at the temperature of + 22...24 °C was mannitol at the concentration of 0.45 %; at +4...6 °C – sucrose at the concentration of 3.0 %. The conservation of explants of the variety *Nashe Podmoskovye* was

significantly affected both by the nutrient medium and cultivation conditions.

Keywords: strawberry, mannitol, dulcitol, depositing, vitality, *in vitro*.

Введение. Стратегии по поддержанию генетических ресурсов растений направлены на улучшение долгосрочного сохранения, управления и восстановления разнообразия растений, растительных сообществ и связанных с ними сред обитания и экосистем как *in situ*, так и *ex situ*. Подходы *ex situ* включают методы хранения семян, ДНК, пыльцы, культуры тканей *in vitro*, полевые генные банки и ботанические сады. Сохранение растений с помощью приемов культивирования клеток, тканей и органов *in vitro* является наиболее безопасной альтернативой для размножения и долгосрочного поддержания большого количества культур [1–4].

В ведущих мировых генбанках в условиях *in vitro* сохраняются дублетные коллекции растений, которые являются резервом сохранения генофонда полевых насаждений. Основные преимущества *in vitro* коллекций заключаются в их компактности, возможностях оздоровления микрорастений от вирусных инфекций и фитоплазм [5–6]. Генетические ресурсы растений в ВИР сохраняются в виде *in vitro* и криоколлекций. Коллекция *in vitro* ВИР включает более 330 образцов ягодных и плодовых культур, из них 32 образца приходится на землянику, из которых 28 сортов (23 российских и 5 зарубежных) [7]. Сохранение и использование генетических ресурсов растений, животных и микроорганизмов в Японии реализуется в проекте «Genebank» для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства. Национальный институт агробиологических наук (NIAS) функционирует как центральный банк, в котором сохраняется около 233 000 образцов зародышевой плазмы сельскохозяйственных культур и диких сороридей; около 1 450 видов, включая 45 000 образцов клональных культур. Из них 205 000 образцов относится к базовой коллекции, а 129 000 образцов используются в исследовательских целях [8]. NPGS (National Plant Germplasm System) США включает в себя более 20 различных индивидуальных генных банков. Через информационную сеть ресурсов зародышевой плазмы (GRIN) генные банки NPGS управляют информацией, связанной с сохранением более 539 000 образцов зародышевой плазмы расте-

ний [9]. Бразилия является одной из самых биоразнообразных стран на Земле, на ее долю приходится около 10 % всех видов сосудистых растений в мире. Бразильская сельскохозяйственная исследовательская корпорация (Embrapa) является правительственным учреждением, которое с 1973 г. несет ответственность за пополнение и сохранение всех генетических ресурсов в Бразилии. Растительные генетические ресурсы Embrapa сохраняются в активных геномных банках (134 AG), долгосрочных банках семян (735 видов в Colbase), а также геномных банках *in vitro* (1 250 образцов) и ДНК (12 000 образцов) [10]. В Германии вся деятельность по долгосрочному сохранению, использованию, исследованию и развитию генетических ресурсов растений основана на Немецкой национальной программе «Генетические ресурсы сельского хозяйства и садоводства». Генетические ресурсы растений (ГРП) сохраняются в немецком «German Fruit Genebank», который насчитывает около 19 000 растений (14 000 образцов *ex situ* и 5 000 *in situ*), из которых 239 уникальных сортов *Fragaria* [11].

Изолированные клетки, ткани и органы культивируют на многокомпонентных питательных средах, преимущественно для земляники – Андерсона, Ли де Фоссарда, Боксю и Мурасиге-Скуга. Они могут существенно различаться по своему составу, однако в состав всех сред обязательно входят необходимые растениям макро- и микроэлементы, углеводы, витамины, фитогормоны и их синтетические аналоги. Традиционно работы по совершенствованию метода клонального микроразмножения растений связаны с разработкой индивидуальных протоколов на основе оптимизации состава питательной среды и условий культивирования [12, 13]. Итальянскими учеными разработаны протоколы регенерации эксплантов земляники садовой (сортов Calyrso и Sveva) и голубики (сорт Duke) на основе модификации гормонального состава питательной среды. Наилучший результат регенерации эксплантов земляники садовой сорта Calyrso был получен при культивировании на среде, дополненной тиадазуроном (ТДЗ) 0,5- и 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислотой (2,4-Д) (0,02 мг/л); для сорта Sveva – 6-бензиладенином (БА) (3 мг/л) и индол-3-масляной кислотой (IBA) (0,2 мг/л) [14]. Изменение кинетики роста и развития микрорастений на искусственной питательной среде возможно

в присутствии шестиатомных спиртов (маннит, сорбит и дульцит), обладающих осмотической активностью [15–17]. В результате проведенных исследований показано, что совместное использование оптимальных показателей температуры и состава питательной среды значительно увеличивало как период субкультивирования, так и жизнеспособность эксплантов в процессе сохранения *in vitro* [18, 19]. Внесение в питательную среду Мурасиге и Скуга (МС) для культивирования органических соединений (3 % сахарозы, 2 или 3 % маннита, 2 % сахарозы + 2 % маннита) способствовало сохранению микропобегов малины в жизнеспособном состоянии при температуре +4 °С на протяжении 12–15 месяцев, а единичных растений – до 21 месяца [20]. В Научно-исследовательском институте помологии и цветоводства (Польша) для хранения микропобегов земляники и малины использовали инкапсулирование в альгинат кальция при температуре +4 °С на модифицированной питательной среде МС с добавлением 10 г/л маннита [21].

Протоколы регенерации земляники доступны для различных сортов, однако существует ограниченность информации по индивидуальным сортам и гибридным профилям в направлении среднесрочного сохранения в процессе беспересадочного культивирования *in vitro*. Необходимо создавать новые системы выращивания для получения оздоровленного растительного материала, а также сохранения ценных генотипов с целью дублирования образцов полевого генбанка в контролируемых условиях среды.

Цель исследования: изучение влияния питательной среды и температурного режима на сохранение земляники садовой *in vitro*.

Задачи исследования: подобрать оптимальные факторы культивирования в контролируемых условиях среды; оптимизировать технологию *in vitro* и оценить возможность ее унификации для среднесрочного сохранения ценного генотипа земляники.

Объекты и методы исследования. Исследование проведено в 2018–2019 гг. на базе ФГБНУ «Всероссийский селекционно-технологический институт садоводства и питомниководства» (ФГБНУ ВСТИСП). Объект исследования – экспланты земляники садовой (*Fragaria* × *anapassa* Duch.) сорта Наше Подмосковье селекции Кокинского опорного пункта (Брянская

область), авторами которого являются д-р. с.-х. наук С.Д. Айтжанова и канд. с.-х. наук Н.В. Андропова, относится к перспективным сортам земляники для возделывания в Центральном регионе РФ.

В качестве минеральной основы питания использовали среду Мурасиге и Скуга (МС), дополненную 6-бензиламинопурином (БАП) (0,7 мг/л), индолил-3-масляной кислотой (ИМК) (0,1 мг/л), витаминами, мг/л: тиамином (В₁), пиридоксином (В₆), никотиновой кислотой (РР) – по 0,5 и аскорбиновой кислотой (С) – 1,0 мг/л и 8 г/л агар-агара (Panreac, Spain), рН – 5,7. В ходе исследования использовали 3 варианта питательной среды МС, различавшихся по концентрации маннита и дульцита: 1-й вариант (0,45 %), 2-й вариант (0,75 %) и 3-й вариант (1,05 %). Контроль – среда с добавлением сахарозы 3,0 %.

Культивирование осуществляли в климатической камере КС-200 (Россия) в стандартных условиях (при 22–24 °С, 16-часовом световом дне и освещенности 3000–5000 люкс); среднесрочное депонирование эксплантов – в холодильной камере Liebherr (Германия) с регулируемой температурой от +3 до 6 °С, интенсивностью освещения 70–80 мкМ м²·с⁻¹ и фотопериодом 8/16 ч. В качестве культуральных сосудов использовали химические пробирки 1,5 × 16 см, предварительно стерилизованные сухим жаром (150–200 °С) с 10 мл агаризованной среды. В опытах по сохранению эксплантов учитывали основные факторы, такие как температура и состав питательной среды. Объем выборки по каждому варианту концентраций сахаров и шестиатомных спиртов составлял 20 эксплантов.

Способность эксплантов к органогенезу в условиях *in vitro* оценивали визуально по четырехступенчатой бонитировочной шкале один раз в месяц [22].

В исследовании использовали методику работы по регенерации плодовых и ягодных растений в культуре эксплантов различного происхождения [23], по получению посадочного материала ремонтантных сортов земляники садовой и методические указания по сохранению вегетативно размножаемых культур в *in vitro* и криоколлекциях [24, 25].

Результаты исследования и их обсуждение. Культивирование эксплантов земляники садовой сорта Наше Подмосковье при температуре +22...24 °С на среде с добавлением маннита в концентрациях 0,75 и 1,05 % через 6 месяцев привело к полной гибели эксплантов. Оптимальной оказалась концентрация маннита 0,45 % (1-й вариант). Экспланты на среде с этой концентрацией дольше сохраняли жизнеспособность на уровне 56,5 %. Использование модифицированной питательной среды на основе шестиатомных спиртов (маннита) в сравнении с контролем (8,5 %) увеличивало долю сохранения растений на 6,6 % в течение 12 месяцев беспересадочного культивирования. Внесение в среду дульцита способствовало сохранению микропобегов в течение 9 месяцев в пределах 13–25 % в 1-м и 2-м вариантах (табл. 1). Дульцит не оказал существенного положительного влияния на сохранение микропобегов в стандартных условиях культивирования. Доля жизнеспособных эксплантов земляники находилась ниже контрольного варианта на протяжении всего периода сохранения.

Таблица 1

Влияние сахаров и шестиатомных спиртов на сохранение эксплантов земляники садовой сорта Наше Подмосковье при температуре +22...24 °С, %

Концентрация веществ, %	Продолжительность культивирования, месяцы							
	3		6		9		12	
	Д	М	Д	М	Д	М	Д	М
1-й вариант – 0,45	63,3	96,5	31,7	81,5	25,0	68,0	-	56,5
2-й вариант – 0,75	53,3	76,5	25,0	-	13,3	-	-	-
3-й вариант – 1,05	46,7	63,0	26,7	-	-	-	-	-
Среднее значение	54,4	78,7	27,8	27,2	12,8	22,7	-	18,8
Контроль – сахароза – 3,0	81,7	75,0	60,0	53,3	33,3	25,0	15,0	8,5

Примечание: Д – дульцит; М – маннит.

Депонирование эксплантов земляники при низких положительных температурах (+4...6 °С) на среде с добавлением маннита в разных концентрациях обеспечивало выход 10,0–30,0 % жизнеспособных растений (табл. 2). При культивировании микропобегов на среде с дульцитом

отмечалась полная гибель опытных образцов в вариантах 1 и 2 к 12-му месяцу сохранения. По мере увеличения срока культивирования количество жизнеспособных эксплантов в варианте 3 постепенно уменьшалось до 40,0 %.

Таблица 2

Влияние сахаров и шестиатомных спиртов на сохранение эксплантов земляники садовой сорта Наше Подмосковье при температуре +4...6 °С, %

Концентрация веществ, %	Продолжительность культивирования, месяцы							
	3		6		9		12	
	Д	М	Д	М	Д	М	Д	М
1-й вариант – 0,45%	48,3	55,0	30,0	40	3,3	26,7	-	10,0
2-й вариант – 0,75%	61,7	75,0	50,0	55,0	16,7	28,3	-	18,3
3-й вариант – 1,05%	81,7	76,7	70,0	48,3	63,3	40,0	40,0	30,0
Среднее значение	63,9	68,9	50,0	47,8	36,8	31,7	13,3	19,4
Контроль – сахароза – 3,0%	88,3	90,0	81,7	83,3	78,3	76,7	70,0	73,3

Примечание: Д – дульцит, М – маннит.

На протяжении всего периода сохранения более высокий процент жизнеспособных эксплантов был отмечен на среде с сахарозой. В контрольном варианте жизнеспособность микропобегов варьировала в пределах

70,0–73,3 % (рис.). На сохранение земляники садовой сорта Наше Подмосковье существенное влияние оказали как питательная среда, так и условия культивирования.



Влияние сахарозы на сохранение эксплантов земляники садовой сорта Наше Подмосковье через 11 месяцев депонирования при температуре +4...6 °С.

Следует отметить, что в условиях низких положительных температур в зависимости от активно действующего вещества и его концентрации наблюдали увеличение сроков сохранения эксплантов по сравнению со стандартными условиями культивирования от 3 месяцев для варианта 3 на питательной среде с дульцитом и до 6 месяцев для вариантов 2 и 3 на среде с маннитом.

Выводы. Проведенное исследование позволило установить различия в действии шестиатомных спиртов (маннита и дульцита) в зависимости от температурного фактора на жизнеспособность растений-регенерантов земляники садовой сорта Наше Подмосковье. Добавление в питательную среду осмотически активных веществ в концентрации 0,45 % способствовало сохранению жизнеспособных эксплантов земляники садовой при температуре +22...24 °С в течение 12 месяцев на среде с маннитом (56,5 %) и 9 месяцев на среде с дульцитом (25,0 %). Показано, что в условиях пониженных положительных температур наблюдалось увеличение периода беспересадочного культивирования от 3 месяцев для эксплантов на среде с дульцитом до 6 месяцев на среде с маннитом. Общая доля жизнеспособных эксплантов при температуре +4...6 °С составила 10–40 % через 12 месяцев депонирования. Оптимальным источником углеводного питания для микропобегов сорта Наше Подмосковье при температуре +22...24 °С являлся маннит в концентрации 0,45 %, при +4...6 °С – сахароза 3,0 %. На основе анализа полученных данных нами определены факторы (температура и состав питательной среды) и дана комплексная их оценка для разработки параметров среднесрочного хранения ценного генотипа земляники садовой в культуре *in vitro*.

Литература

1. Khan S., Al-Qurainy F., Nadeem M. Biotechnological approaches for conservation and improvement of rare and endangered plants of Saudi Arabia // *Saudi Journal of Biological Sciences* 2012. 19. pp. 1–11. DOI: 10.1016/j.sjbs.2011.11.001.
2. FAO. Gene bank standards for plant genetic resources for food and agriculture. Second edition, corrected and amended. Rome. 2015. P. 162.
3. Peter Wyse Jackson, Kathryn Kennedy The Global Strategy for Plant Conservation: a challenge and opportunity for the international community // *Trends in Plant science*. 2009. 14. pp. 578–580. DOI: 10.1016/j.tplants.2009.08.011.
4. Vinoth A., Ravindhran R. *In vitro* propagation – a potential method for plant conservation // *International Journal of Computing Algorithm Integrated Intelligent Research*. 2013. 02. pp. 268–272.
5. Мумрофанова И.В. Основы создания генобанка *in vitro* видов, сортов и форм декоративных, ароматических и плодовых культур: кол. монография / под общ. ред. И.В. Мумрофановой; Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН. Симферополь. 2018. 260 с.
6. Lambardi M., Ruta C. Biotechnology for plant genetic resources conservation: an overview of *in vitro*-banking and cryobanking in the world, Proceedings of the VIII International Scientific and Practical Conference «Biotechnology as an Instrument for Plant Biodiversity Conservation (physiological, Biochemical, embryological, genetic and legal aspects)». 2018. pp. 15.
7. Дунаева С.Е., Орлова С.Ю., Тихонова О.А., Гавриленко Т.А. Образцы ягодных и плодовых культур и их дикорастущих родичей в коллекции *in vitro* ВИР // *Биотехнология и селекция растений*. 2018. № 1 (1). С. 43–51. DOI: 10.30901/2658-6266-2018-1-43-51.
8. Okuno K., Shirata K., Nino T., Kawase M. Plant Genetic Resources in Japan: Platforms and Destinations to Conserve and Utilize Plant Genetic Diversity // *JARQ* 2005. 39 (4). pp. 231–237. URL: <http://www.jircas.affrc.go.jp>.
9. Bretting P.K., Kinard G.R., Millard M.J., Gardner C.A., Cyr P.D. The role of the Germplasm Resources Information Network (GRIN) in unifying the U. S. National Plant Germplasm System (NPGS) // *European Plant Genetic Resources Conference* 2011. pp. 8.
10. Alves A.A.C., Azevedo V.C.R. Embrapa Network for Brazilian Plant Genetic Resources Conservation // *Biopreservation and Biobanking*.

- king 2018. V. 16. № 5. pp. 350–359. DOI: 10.1089/bio.2018.0044.
11. Höfer M., Flachowsky H., Hanke M-V. German Fruit Genebank – looking back 10 years after launching a national network for sustainable preservation of fruit genetic resources // Journal für Kulturpflanzen. 2019. V. 71 (2/3). pp. 41–51. DOI: 10.5073/JfK.2019.02-03.01.
 12. Мацнева О.В., Ташматова Л.В. Клональное микроразмножение земляники – перспективный метод современного питомниководства (обзор) // Современное садоводство. 2019. № 4. С. 113–119. DOI: 10.24411/2312-6701-2019-10411.
 13. Маркова М.Г., Сомова Е.Н. Влияние питательной среды и спектрального состава света на размножение земляники *in vitro* // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2018. Т. 63, № 2. С. 35–41. DOI: 10.30766/2072-9081.2018.63.2.35-41.
 14. Cappelletti R., Sabbadini S., Mezzetti B. The use of TDZ for the efficient regeneration and organogenesis of strawberry and blueberry cultivars // Scientia Horticulturae 2016. V. 207. pp. 117–124. DOI: 10.1016/j.scienta.2016.05.016.
 15. Valerie C. Pence The possibilities and challenges of *in vitro* methods for plant conservation // Kew Bulletin. 2010. 65(4). pp. 539–547.
 16. Bretting P.K., Kinard G.R., Millard M.J., Gardner C.A., Cyr P.D. The role of the Germplasm Resources Information Network (GRIN) in unifying the U. S. National Plant Germplasm System (NPGS) // To serve and conserve European Plant Genetic Resources Conference. 2011. pp. 8.
 17. Упадышев М.Т., Князева И.В., Афанасьев А.Д. и др. Управление репродукционной активностью микрорастений ягодных культур путем модификации углеводного и гормонального состава питательной среды // Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования: сб. науч. тр. по мат-лам 13-го междунар. симп. М.: Изд-во РУДН, 2019. С. 157–160.
 18. Молканова О.И., Коновалова Т.Ю., Ширнина И.В. и др. Методологические основы сохранения растений в генетическом банке *in vitro* // Плодоводство и ягодоводство России. 2019. Т. 58. С. 253–258.
 19. Marino G., Negri P., Cellini A., Masia A. Effect of carbohydrates on *in vitro* low-temperature storage of shoot cultures of apricot // Sci. Hort. 2010. 126(4). pp. 434–440.
 20. Турдиев Т.Т., Ковальчук И.Ю., Мухитдинова З.Р., Фролов С.Н., Чуканова Н.И., Кабылбекова Б.Ж. Создание и содержание клоновой коллекции гермоплазмы малины *in vitro* // Ботанический вестник Северного Кавказа. 2019. № 2. С. 61–70. DOI: 10.33580/240924442019526170.
 21. Lisek A., Orlikowska T. *In vitro* Storage of Strawberry and Raspberry in Calcium-Alginate Beads at 4 °C, Plant Cell // Tissue and Organ Culture. 2004. 78 (2). pp. 167–172.
 22. Высоцкий В.А. Совершенствование методов сохранения ценных генотипов плодовых и ягодных культур *in vitro* // Плодоводство и ягодоводство России. 2015. Т. 41. С. 69–73.
 23. Алексеенко Л.В., Высоцкий В.А. Методика регенерации плодовых и ягодных растений в культуре эксплантов различного происхождения. М., 2008. 25 с.
 24. Поляков А.В., Линник Т.А. Методическое руководство по получению посадочного материала ремонтантных сортов земляники садовой (*Fragaria × ananassa* Duch.), характеризующихся низкой усобразовательной способностью. М., 2014. 21 с.
 25. Дунаева С.Е., Пендинен Г.И., Антонова О.Ю. и др. Сохранение вегетативно размножаемых культур в *in vitro* и криоколлекциях: метод. указание / под. ред. Т.А. Гавриленко. СПб.: Изд-во ВИР, 2017. 71 с.

Literatura

1. Khan S., Al-Qurainy F., Nadeem M. Biotechnological approaches for conservation and improvement of rare and endangered plants of Saudi Arabia // Saudi Journal of Biological Sciences 2012. 19. pp. 1–11. DOI: 10.1016/j.sjbs.2011.11.001.
2. FAO. Gene bank standards for plant genetic resources for food and agriculture. Second edition, corrected and amended. Rome. 2015. P. 162.
3. Peter Wyse Jackson, Kathryn Kennedy The Global Strategy for Plant Conservation: a chal-

- lenge and opportunity for the international community // Trends in Plant science. 2009. 14. pp. 578–580. DOI: 10.1016/j.tplants.2009.08.011.
4. *Vinoth A., Ravindhran R.* In vitro propagation a potential method for plant conservation // International Journal of Computing Algorithm Integrated Intelligent Research. 2013. 02. pp. 268–272.
 5. *Mitrofanova I.V.* Osnovy sozdaniya genobanka in vitro vidov, sortov i form dekorativnyh, aromatischeskih i plodovyh kul'tur: kol. Monografija / pod obshh. red. I.V. Mitrofanovoj; Nikitckij botanicheskiy sad – Nacional'nyj nauchnyj centr RAN. Simferopol'. 2018. 260 s.
 6. *Lambardi M., Ruta C.* Biotechnology for plant genetic resources conservation: an overview of in vitro-banking and cryobanking in the world, Proceedings of the VIII International Scientific and Practical Conference «Biotechnology as an Instrument for Plant Biodiversity Conservation (physiological, Biochemical, embryological, genetic and legal aspects)». 2018. pp. 15.
 7. *Dunaeva S.E., Orlova S.Ju., Tihonova O.A., Gavrilenko T.A.* Obrazcy jagodnyh i plodovyh kul'tur i ih dikorastushhih rodichej v kollekcii in vitro VIR // Biotehnologija i selekcija rastenij. 2018. № 1 (1). S. 43–51. DOI: 10.30901/2658-6266-2018-1-43-51.
 8. *Okuno K., Shirata K., Nino T., Kawase M.* Plant Genetic Resources in Japan: Platforms and Destinations to Conserve and Utilize Plant Genetic Diversity // JARQ 2005. 39 (4). pp. 231–237. URL: <http://www.jircas.affrc.go.jp>.
 9. *Bretting P.K., Kinard G.R., Millard M.J., Gardner C.A., Cyr P.D.* The role of the Germplasm Resources Information Network (GRIN) in unifying the U. S. National Plant Germplasm System (NPGS) // European Plant Genetic Resources Conference 2011. pp. 8.
 10. *Alves A.A.C., Azevedo V.C.R.* Embrapa Network for Brazilian Plant Genetic Resources Conservation // Biopreservation and Biobanking 2018. V. 16. № 5. pp. 350–359. DOI: 10.1089/bio.2018.0044.
 11. *Höfer M., Flachowsky H., Hanke M-V.* German Fruit Genebank – looking back 10 years after launching a national network for sustainable preservation of fruit genetic resources // Journal für Kulturpflanzen. 2019. V. 71 (2/3). pp. 41–51. DOI: 10.5073/JfK.2019.02-03.01.
 12. *Macneva O.V., Tashmatova L.V.* Klonal'noe mikrorazmnozhenie zemljaniki – perspektivnyj metod sovremennogo pitomnikovodstva (obzor) // Sovremennoe sadovodstvo. 2019. № 4. S. 113–119. DOI: 10.24411/2312-6701-2019-10411.
 13. *Markova M.G., Somova E.N.* Vlijanie pitatel'noj sredy i spektral'nogo sostava sveta na razmnozhenie zemljaniki in vitro // Agrarnaja nauka Evro-Severo-Vostoka. 2018. T. 63, № 2. S. 35–41. DOI: 10.30766/2072-9081.2018.63.2.35-41.
 14. *Cappelletti R., Sabbadini S., Mezzetti B.* The use of TDZ for the efficient regeneration and organogenesis of strawberry and blueberry cultivars // Scientia Horticulturae 2016. V. 207. pp. 117–124. DOI: 10.1016/j.scienta.2016.05.016.
 15. *Valerie C. Pence* The possibilities and challenges of in vitro methods for plant conservation // Kew Bulletin. 2010. 65(4). pp. 539–547.
 16. *Bretting P.K., Kinard G.R., Millard M.J., Gardner C.A., Cyr P.D.* The role of the Germplasm Resources Information Network (GRIN) in unifying the U. S. National Plant Germplasm System (NPGS) // To serve and conserve European Plant Genetic Resources Conference. 2011. pp. 8.
 17. *Upadyshev M.T., Knjazeva I.V., Afanas'ev A.D.* i dr. Upravlenie reprodukcijnoy aktivnost'ju mikrorastenij jagodnyh kul'tur putem modifikacii uglevodnogo i gormonal'nogo sostava pitatel'noj sredy // Novye i netradicionnye rastenija i perspektivy ih ispol'zovanija: sb. nauch. tr. po mat-lam 13-go mezhdunar. simp. M.: Izd-vo RUDN, 2019. S. 157–160.
 18. *Molkanova O.I., Konovalova T.Ju., Shiriina I.V.* i dr. Metodologicheskie osnovy sohraneniya rastenij v geneticheskom banke in vitro // Plodo-vodstvo i jagodovodstvo Rossii. 2019. T. 58. S. 253–258.
 19. *Marino G., Negri P., Cellini A., Masia A.* Effect of carbohydrates on in vitro low-temperature storage of shoot cultures of apricot // Sci. Hort. 2010. 126(4). pp. 434–440.
 20. *Turdiyev T.T., Koval'chuk I.Ju., Muhitdinova Z.R.* i dr. Sozdanie i soderzhanie klonovoj kollekcii germoplazmy maliny in vitro // Botanicheskiy vestnik Severnogo Kavkaza. 2019. № 2. C. 61–70. DOI: 10.33580/240924442019526170.
 21. *Lisek A., Orlikowska T.* In vitro Storage of Strawberry and Raspberry in Calcium-Alginate

- Beads at 4 °C, Plant Cell // Tissue and Organ Culture. 2004. 78 (2). pp. 167–172.
22. *Vysockij V.A.* Sovershenstvovanie meto-dov sohraneniya cennyh genotipov plodo-vyh i jagodnyh kul'tur in vitro // Plodovodstvo i jagodovodstvo Rossii. 2015. T. 41. S. 69–73.
23. *Alekseenko L.V., Vysockij V.A.* Metodika regeneracii plodovyh i jagodnyh rastenij v kul'ture jeksplantov razlichnogo proiz-hozhdenija. M., 2008. 25 s.
24. *Poljakov A.V., Linnik T.A.* Metodicheskoe rukovodstvo po polucheniju posadochnogo ma-teriala remontantnyh sortov zemljaniki sadovoj (*Fragaria* × *ananassa* Duch.), harakterizujushhihsja nizkoj usoobrazovatel'noj sposobnost'ju. M., 2014. 21 s.
25. *Dunaeva S.E., Pendinen G.I., Antonova O.Ju.* i dr. Sohranenie vegetativno razmnozhaemyh kul'tur v in vitro i kriokollekcijah: metod. ukazanie / pod. red. T.A. Gavrilenko. SPb.: Izd-vo VIR, 2017. 71 s.

