
ГЕНЕТИКА, БИОТЕХНОЛОГИЯ, СЕЛЕКЦИЯ И СЕМЕНОВОДСТВО

**Особенности органогенеза и оздоровления
клонового подвоя яблони от вирусов путем комплексной терапии *in vitro***

Михаил Тарьевич Упадышев^{1✉}, Сергей Сергеевич Макаров¹,
Галина Юрьевна Упадышева²

¹Российский государственный аграрный университет –
МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия;

²Федеральный научный селекционно-технологический центр
садоводства и питомниководства, Москва, Россия

✉ Автор, ответственный за переписку: upad8@mail.ru

Аннотация

Основными методами оздоровления растений яблони от латентных вирусов являются термотерапия и хемотерапия. В зависимости от вида вируса применяемые методы оздоровления растений яблони могут быть различными и требуют совершенствования применительно к биологическим особенностям подвоя 62–396 и свойствам вирусов. Цель исследований – изучение особенностей оздоровления от основных вредоносных вирусов клонового подвоя яблони 62–396 с применением методов комплексной терапии *in vitro*. Оздоровление растений клонового подвоя яблони 62–396 от вирусов ACLSV, ArMV и ASGV проводили в 2021–2022 гг. с использованием противовирусных препаратов (АВП) рибавирина (эталон) 40 мг/л, фенолкарбоновой кислоты 30 мг/л и циклопентанона 2,5 мг/л при температуре воздуха +20 и +38°C. Термотерапию эксплантов при температуре +38°C проводили в условиях климатостата КС-200 СПУ на протяжении 3 месяцев. Магнитно-импульсную обработку (МИО) проводили аппаратом АМИС-8. При температуре +20°C установлена возможность использования АВП на протяжении 45 и 90 дней. При сочетании АВП с температурой +38°C на протяжении 45 дней отмечали относительно высокие параметры выживаемости эксплантов, тогда как увеличение длительности до 90 дней приводило к снижению выживаемости в 1,7 раза. Высокую выживаемость обеспечивало сочетание температуры +38°C и МИО (без АВП), температуры +38°C и фенолкарбоновой кислоты (81,3%). Среднюю выживаемость обеспечивало сочетание температуры +38°C + рибавирина, температуры +38°C + рибавирина + МИО, температуры +38°C + фенолкарбоновой кислоты + циклопентанона – 56,3%. Параметры роста у эксплантов подвоя яблони 62–396 зависели от вида АВП, температуры и МИО. Применение изученных АВП при температуре +20°C через 1,5 месяца культивирования приводило к снижению числа побегов в 2,1–3,2 раз по сравнению с контролем. Повышение температуры до +38°C во всех вариантах ингибировало образование побегов, приводя к снижению их числа в 2,9 раза в контроле, в 1,1–1,5 раза – в вариантах с АВП. Обработка импульсами магнитной индукции уменьшала ингибирующий эффект высокой температуры в контроле. Выход свободных от латентных вирусов эксплантов клонового подвоя яблони 62–396 *in vitro* с применением различных методов оздоровления составлял 50%. Низкий индекс зараженности вирусами (1,2 – для ACLSV и ASGV, 1,6 – для ArMV) отмечен при комплексной терапии с применением АВП (фенолкарбоновая кислота + циклопентанон), термо- и магнитотерапии.

Ключевые слова

Вирусы, оздоровление, *in vitro*, термотерапия, хемотерапия, магнитотерапия, яблоня, клоновый подвой

Благодарности

Исследования выполнены в рамках государственного задания ФГБНУ ФНЦ Садоводства № 0432–2021–0002, FGUW-2021–0004.

Для цитирования

Упадышев М.Т., Макаров С.С., Упадышева Г.Ю. Особенности органогенеза и оздоровления клонового подвоя яблони от вирусов путем комплексной терапии *in vitro* // *Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии*. 2025. № 1. Р. 93–107.

GENETICS, BIOTECHNOLOGY, BREEDING AND SEED PRODUCTION

Peculiarities of organogenesis and recovery of apple tree clonal rootstock from viruses using complex *in vitro* therapy

Mikhail T. Upadyshev¹✉, Sergey S. Makarov¹, Galina Yu. Upadysheva²

¹Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia;

²Federal Horticultural Center for Breeding, Agrotechnology and Nursery, Moscow, Russia

✉Corresponding author: upad8@mail.ru

Abstract

The main methods of apple tree recovery from latent viruses are thermotherapy and chemotherapy. Depending on the type of virus, the applied methods of apple tree recovery can be different and require improvement in relation to the biological characteristics of the rootstock 62–396 and the properties of viruses. The aim of the research is to study the features of recovery from the main harmful viruses of the apple tree clonal rootstock 62–396 using the methods of complex *in vitro* therapy. The recovery of plants of the apple tree clonal rootstock 62–396 from the ACLSV, ApMV and ASGV viruses was carried out in 2021–2022 using antiviral drugs (AVD) of ribavirin (standard) 40 mg/L, phenolcarboxylic acid 30 mg/L and cyclopentanone 2.5 mg/L at air temperatures +20°C and +38°C. Thermotherapy of explants at a temperature of +38°C was carried out in the KS-200 SPU climatostat for three months. Magnetic pulse processing (MPP) was carried out using the AMIS-8 device. At a temperature of +20°C, the possibility of using AVD for 45 and 90 days was established. The combination of AVD with a temperature of +38°C for 45 days resulted in relatively high parameters of explant survival rate, while increasing of duration to 90 days led to a 1.7-fold decrease in survival rate. The combination of temperature +38°C and MPP (without AVD), temperature +38°C and phenolcarboxylic acid provided a high survival rate of 81.3%. The combination of a temperature of +38°C and ribavirin, a temperature of +38°C and ribavirin plus MPP, a temperature of +38°C with phenolcarboxylic acid plus cyclopentanone provided an average survival rate of 56.3%. Growth parameters in apple rootstock 62–396 explants depended on the type of AVD, temperature, and MPP. Application of the studied AVD at a temperature of +20°C after 1.5 months of cultivation resulted in a 2.1–3.2-fold decrease in the number of shoots compared to the control. Increasing the temperature to +38°C inhibited the formation of shoots in all variants, leading to a 2.9-fold decrease in the number of shoots in the control, and a 1.1–1.5-fold decrease in the variants with AVD. Treatment with magnetic induction pulses reduced the inhibitory effect of high temperature in the control. The yield of latent virus-free explants of apple tree clonal rootstock 62–396 *in vitro* by different methods of rehabilitation was 50%. A low virus infection index (1.2 for ACLSV and ASGV, 1.6 for ApMV) was observed during the complex therapy using AVD (phenolcarboxylic acid + cyclopentanone), thermal and magnetic therapy.

Keywords

Viruses, recovery, *in vitro*, thermotherapy, chemotherapy, magnetotherapy, apple tree, clonal rootstock

Acknowledgements

The research was carried out as part of the state task of the Federal Horticultural Research Center for Breeding, Agrotechnology and Nursery No. 0432–2021–0002, FGUW-2021–0004.

For citation.

Upadyshev M.T., Makarov S.S., Upadysheva G.Yu. Peculiarities of organogenesis and recovery of apple tree clonal rootstock from viruses using complex *in vitro* therapy. *Izvestiya of Timiryazev Agricultural Academy*. 2025. No. 1. P. 93–107.

Введение Introduction

В настоящее время актуальной задачей является расширение производства проверенного посадочного материала в селекционно-семеноводческих центрах путем его достоверной диагностики современными методами, применения оздоровительных мероприятий и ускоренного размножения, широкого внедрения системы сертификации посадочного материала и соблюдения организационно-агротехнических мероприятий [1, 2]. Федеральный закон «О семеноводстве» № 454 и подпрограмма «Развитие садоводства и питомниководства» на 2017–2030 гг. определяют необходимость производства оздоровленного посадочного материала садовых культур.

При получении посадочного материала яблони большое значение имеет тип подвоя. Для формирования компактных крон используют полукарликовые и карликовые подвои, однако выбор карликовых подвоев для средней и северной зон садоводства весьма ограничен. Одним из основных карликовых подвоев для указанных зон является подвой 62–396, характеризующийся древесиной средней прочности, высокой морозостойкостью корневой системы (–15...–16°C), хорошей способностью к размножению, скороплодностью привитых на нем деревьев [3, 4].

Клоновые подвои в связи с большими объемами размножения непроверенного посадочного материала характеризуются высокой зараженностью вирусами. Распространенность основных латентных вирусов на клоновых подвоях яблони варьировала от 24% до 39,1% [5–7]. Существенный вред на яблоне наносят вирусы хлоротической пятнистости листьев яблони, бороздчатости древесины яблони, ямчатости древесины яблони, мозаики яблони [8]. Указанные вирусы должны отсутствовать в посадочном материале категории «Проверенный» в соответствии с ГОСТ Р 59653–2021 «Материал посадочный плодовых и ягодных культур. Технические условия».

Основным методом оздоровления является суховоздушная термотерапия, к преимуществам которой относится возможность получения свободных от вирусов растений в течение одного вегетационного периода [9]. Однако суховоздушная термотерапия *ex situ* часто приводит к высокой гибели оздоравливаемых растений, характеризуется трудоемкостью и энергозатратностью, а в отношении некоторых сортов и вирусов – низким выходом здоровых растений [1, 6, 10, 11]. Альтернативой служит термотерапия *in vitro*, для которой применяют компактные термокамеры (термостаты, климатостаты) [12].

К преимуществам метода хемотерапии *in vitro* относятся возможность использования эксплантов величиной более 1 мм, сокращение времени оздоровления, высокий выход свободных от вредоносных вирусов растений [8]. Для хемотерапии исследователи часто использовали рибавирин. Рибавирин в концентрациях 25, 50 и 100 мг/л способствовал получению 60%, 91% и 100% соответственно регенерантов яблони сорта Jonagold, свободных от ACLSV. При сочетании термотерапии *in vitro* (+37°C в течение 3 недель) и рибавирина в концентрациях 50–100 мг/л достигалась полная элиминация ACLSV в растениях-регенерантах. Рибавирин в концентрациях

25–100 мг/л обеспечивал получение регенерантов яблони, свободных от ASGV, причем как в сочетании с термотерапией *in vitro*, так и без нее [13]. Вместе с тем эффективные концентрации противовирусных препаратов (АВП) способны существенно ингибировать ростовые процессы у эксплантов, что часто приводит к их гибели. Например, рибавирин в концентрациях 75–100 мг/л вызывал сильный (до 100%) некроз побегов яблони, тогда как уменьшение его концентрации до 50 мг/л снижало число некрозов до 5% и обеспечивало оздоровление от латентных вирусов при условии применения препарата на протяжении 3 субкультивирований [14].

Как альтернативу хемотерапии можно применять магнитную обработку. Использование магнитно-импульсной обработки исключает ингибирование ростовых процессов, повышает экологическую безопасность. Эффект зависит от вида вируса, частоты обработки и достигает 80–86% [15, 16].

В зависимости от вида вируса применяемые методы оздоровления растений яблони могут быть различными и требуют совершенствования применительно к биологическим особенностям подвоя 62–396 и свойствам конкретных вирусов.

Цель исследований: изучение особенностей оздоровления от основных вредоносных вирусов клонового подвоя яблони 62–396 с применением методов комплексной терапии *in vitro*.

Методика исследований

Research method

Тестирование и оздоровление растений клонового подвоя яблони 62–396 от вирусов ACLSV, АрMV и ASGV проводили в 2021–2022 гг. в соответствии с методическими указаниями [17]. Экспланты тестировали методом ИФА с использованием диагностических наборов фирмы “Loewe” (Германия). Результаты ИФА регистрировали на планшетном фотометре Stat Fax 2100 при длине волны 405 и 630 нм. Индекс зараженности вирусом определяли как отношение экстинкции образца к экстинкции сероотрицательного контроля. При индексе, равном 2,0 и более, образец считали зараженным вирусом.

В каждом варианте высаживали по 16 эксплантов (всего в опыте 192 экспланта) величиной 5–10 мм на питательную среду Мурасиге и Скуга с добавлением 6-бензиламинопурина 1 мг/л, противовирусных препаратов (АВП) рибавирина (эталон) 40 мг/л, фенолкарбоновой кислоты 30 мг/л и циклопентанона 2,5 мг/л. Контроль – без препарата. Изучение действия АВП на выживаемость эксплантов, ростовые параметры и выход свободных от вирусов эксплантов осуществляли при двух температурах воздуха: +20°C и +38°C. Термотерапию эксплантов при температуре +38°C проводили в условиях климатостата КС-200 СПУ на протяжении 3 месяцев. Магнитно-импульсную обработку проводили аппаратом АМИС-8 частотой 200 Гц.

После окончания терапии экспланты пересаживали на питательную среду Мурасиге-Скуга без противовирусных препаратов, содержащую 1 мг/л 6-БАП, и культивировали при температуре +20°C, освещенности 3000 лк и фотопериоде 16 ч.

Результаты и их обсуждение

Results and discussion

При оздоровлении растений клонового подвоя яблони 62–396 в процессе комплексной терапии путем сочетания термо-, хемо- и магнитотерапии *in vitro* установлено, что выживаемость эксплантов зависела от температуры, вида противовирусного препарата, магнитно-импульсной обработки и длительности культивирования (табл. 1).

**Выживаемость эксплантов клонового подвоя яблони 62–396
в процессе оздоровления от вирусов в зависимости от действия химических,
физических факторов и длительности культивирования на питательной среде, %**

Table 1

**Survival rate of explants of apple tree clonal rootstock 62–396 in the process
of recovery from viruses, depending on the action of chemical, physical factors
and the duration of cultivation on a nutrient medium, %**

Физические факторы культивирования	Антивирусный препарат							
	Рибавирин (эталон)		Фенолкарбоновая кислота		Фенолкарбоновая кислота + циклопентанон		Контроль (без препарата)	
	45*	90	45	90	45	90	45	90
Температура +20°C	81,3	68,8	87,5	68,8	93,8	62,5	100	75,0
Температура +38°C	56,3	18,8	81,3	12,5	56,3	12,5	18,8	0,0
Температура +38°C + магнитно-импульсная обработка	56,3	0,0	50,0	18,8	37,5	6,3	81,3	12,5

*Примечание. 45 и 90 – число дней культивирования.

При температуре культивирования +20°C на питательных средах с антивирусными препаратами (АВП) в течение 45 дней отмечали высокую выживаемость эксплантов: от 81,3% на среде с рибавирином до 93,8% на среде, содержащей фенолкарбоновую кислоту + циклопентанон. В контроле при температуре +20°C выживаемость составляла 100%. Увеличение длительности культивирования до 90 дней приводило к снижению выживаемости на 12,5–31,3%. В контроле при культивировании в течение 90 дней сохранность эксплантов составила 75%. Гибель эксплантов происходила преимущественно по причине интоксикации тканей ввиду накопления в питательной среде продуктов жизнедеятельности растений.

Воздействие температурой +38°C в течение 45 дней по сравнению со стандартной температурой культивирования приводило к значительному снижению выживаемости при использовании рибавирина (на 25%), фенолкарбоновой кислоты + циклопентанона (на 37,5%). Исключение составил вариант с фенолкарбоновой кислотой, где снижение составило всего 6,2%. Следовательно, фенолкарбоновая кислота повышала устойчивость эксплантов к высокой температуре в связи с ее антистрессовым действием. В варианте без препарата высокая температура приводила к гибели 81,2% эксплантов. При культивировании эксплантов подвоя яблони при температуре +38°C в среднем отмечено снижение их выживаемости в 1,7 раза по сравнению с температурой +20°C.

Увеличение длительности культивирования до 90 дней при температуре +38°C приводило к полной гибели эксплантов в контроле, а выживаемость на средах с АВП была низкой и варьировала от 12,5% до 18,8%. В эксперименте иранских исследователей процент выживших микропобегов груши также зависел от продолжительности термообработки: через 55 дней выживаемость составляла 83,3%, через 70 дней – 33,3% [18].

Комплексное воздействие высокой температурой и магнитно-импульсной обработкой на среде без АВП обеспечило высокую выживаемость эксплантов в течение

45 дней (81,3%), однако при увеличении длительности культивирования до 90 дней выживаемость эксплантов в данном варианте снизилась до 12,5%. На фоне высокой температуры и МИО выживаемость эксплантов на средах с рибавирином и фенолкарбоновой кислотой составляла 56,3% и 50% соответственно, а на среде с фенолкарбоновой кислотой и циклопентаном была ниже (37,5%). Следовательно, оценка выживаемости эксплантов позволяет сделать заключение о возможности использования АВП при температуре культивирования +20°C на протяжении как 45, так и 90 дней. Увеличение длительности культивирования на средах с АВП может способствовать повышению выхода свободных от вирусов растений. При сочетании АВП с температурой +38°C культивирование эксплантов на протяжении 45 дней обеспечивает относительно высокие параметры выживаемости, тогда как увеличение длительности до 90 дней приводит к ее значительному снижению.

Высокую выживаемость обеспечивало сочетание температуры +38°C и МИО (без АВП) – 81,3%, температуры 38 °C и фенолкарбоновой кислоты (81,3%). Среднюю выживаемость обеспечивали температуры +38°C + рибавирина, температуры +38°C + рибавирина + МИО, температуры +38°C + фенолкарбоновой кислоты + циклопентанона (56,3%). В наших экспериментах на подвое груши Загорьевский выживаемость эксплантов через 90 суток культивирования на питательных средах с АВП при сочетании с МИО и температурой +38°C составила 81,3–87,5% [19].

Важным аспектом является изучение последствий химических и физических факторов на выживаемость эксплантов при последующих пересадках на питательную среду, не содержащую АВП, и при культивировании в стандартных условиях. После культивирования эксплантов на среде с рибавирином при температуре +20°C их сохранность после 1-й и 2-й пересадок составляла 43,8 и 50% соответственно, тогда как на средах с добавлением фенолкарбоновой кислоты, фенолкарбоновой кислоты + циклопентанона отмечена 100%-ная гибель эксплантов (табл. 2).

Таблица 2

Выживаемость эксплантов клонового подвоя яблони 62–396 в процессе оздоровления от вирусов после 1-й и 2-й пересадок на стандартную питательную среду в зависимости от последствий АВП и физических факторов культивирования, %

Table 2

Survival rate of explants of apple tree clonal rootstock 62–396 in the process of recovery from virus after the 1st and 2nd transplants to a standard nutrient medium, depending on the afteraction of AVD and physical factors of cultivation, %

Физические факторы культивирования	Антивирусный препарат							
	Рибавирин (эталон)		Фенолкарбоновая кислота		Фенолкарбоновая кислота + циклопентанон		Контроль (без препарата)	
	1*	2**	1	2	1	2	1	2
Температура +20°C	43,8	50,0	7,7	0,0	0,0	0,0	93,8	46,7
Температура +38°C	85,7	72,2	0,0	0,0	83,3	78,6	0,0	0,0
Температура 38°C + магнитно-импульсная обработка	0,0	0,0	100	72,7	50,0	100	50,0	100

Примечание. 1*, 2** – соответственно 1-я и 2-я пересадки на стандартную питательную среду.

После термообработки высокой температурой при последующем культивировании в стандартных условиях отмечена высокая выживаемость эксплантов, культивировавшихся ранее на средах с рибавирином (72,2–85,7%), фенолкарбоновой кислотой + циклопентанолом (78,6–83,3%), тогда как применение одной фенолкарбоновой кислоты или среды без АВП (контроль) приводило к полной гибели эксплантов. При комплексной терапии путем сочетания высокой температуры, МИО и АВП наибольшая сохранность эксплантов после 2-й пересадки (72,7–100%) отмечена после введения в состав среды фенолкарбоновой кислоты, фенолкарбоновой кислоты и циклопентанола, а также в контроле (без АВП).

Следовательно, изучение последствий химических и физических факторов на сохранность эксплантов при последующих пассажах культивирования выявило преимущество использования сочетания следующих способов терапии: температура +38°C + рибавирин; температура +38°C + МИО; температура +38°C + МИО + фенолкарбоновая кислота; температура +38°C + МИО + фенолкарбоновая кислота + циклопентанол, обеспечивших выживаемость эксплантов от 72,7% до 100%. Температура +38°C в сочетании с рядом АВП (рибавирин, фенолкарбоновая кислота + циклопентанол) оказывала положительное последствие на выживаемость эксплантов при последующем культивировании, что предположительно может быть связано с синтезом антистрессовых соединений как ответной реакции растений на высокотемпературное воздействие.

Параметры роста у эксплантов подвоя яблони 62–396 зависели от вида АВП, температуры и МИО. Применение изученных АВП при температуре +20°C через 1,5 месяца культивирования приводило к снижению числа побегов в 2,1–3,2 раз по сравнению с контролем (табл. 3).

Таблица 3

Число побегов у эксплантов клонового подвоя яблони 62–396 в процессе оздоровления от вирусов в зависимости от действия химических и физических факторов через 1,5 месяца культивирования, шт.

Table 3

Number of shoots in explants of apple tree clonal rootstock 62–396 in the process of recovery from viruses, depending on the action of chemical and physical factors after 1.5 months of cultivation, pcs.

Физические факторы культивирования	Химический препарат, мг/л				Среднее
	Рибавирин (эталон)	Фенолкарбоновая кислота	Фенолкарбоновая кислота + циклопентанол	Контроль (без препарата)	
Температура +20°C	1,8 вг*	1,5 бвг	1,2 аб	3,8 д	2,1 б
Температура +38°C	1,4 абв	1,0 а	1,1 аб	1,3 аб	1,2 а
Температура +38°C + магнитно-импульсная обработка	1,2 аб	1,1 аб	1,3 аб	1,9 г	1,4 а
Среднее	1,5 а	1,2 а	1,2 а	2,3 б	

*Примечание. Разные буквы обозначают наличие существенных различий при 5%-м уровне значимости.

Повышение температуры до +38°C во всех вариантах ингибировало образование побегов, приводя к снижению их числа в 2,9 раза в контроле, в 1,1–1,5 раза – в вариантах с АВП. Дополнительная обработка импульсами магнитной индукции уменьшала ингибирующий эффект высокой температуры в контроле, но не влияла на число побегов в вариантах с АВП.

В отношении длины побегов в целом установлены аналогичные тенденции, как и по их числу. Наибольшую длину побегов экспланты клонового подвоя яблони формировали в контроле, наименьшую – при использовании АВП и температуры +38°C (табл. 4).

При температуре +20°C АВП ингибировали ростовые процессы у эксплантов.

На фоне температуры +38°C МИО только в контроле способствовала увеличению длины побегов в 1,5 раза. Рибавирин оказывал меньший ингибирующий эффект в отношении ростовых процессов по сравнению с фенолкарбоновой кислотой.

После пересадки на среду без АВП экспланты подвоя 62–396 формировали побеги наибольшей длины в контроле и после культивирования на среде с рибавирином (рис. 1).

После комплексного воздействия температурой +38°C и АВП, температурой +38°C + АВП + МИО максимальная длина побегов отмечена после 1-й пересадки в варианте с добавлением фенолкарбоновой кислоты + циклопентанона.

Наибольшее число побегов экспланты подвоя яблони образовывали после использования среды с рибавирином (температура +20°C и +38°C), фенолкарбоновой кислоты и циклопентанона (температура +38°C, +38°C + МИО), в контроле (температура +38°C + МИО) (рис. 2).

Таблица 4

Длина побегов у эксплантов у клонового подвоя яблони 62–396 в процессе оздоровления от вирусов в зависимости от действия химических и физических факторов через 1,5 месяца культивирования, мм

Table 4

Length of shoots in explants of apple tree clonal rootstock 62–396 in the process of recovery from viruses, depending on the action of chemical and physical factors after 1.5 months of cultivation, mm

Физические факторы культивирования	Химический препарат, мг/л				Среднее
	Рибавирин (эталон)	Фенолкарбоновая кислота	Фенолкарбоновая кислота + циклопентанон	Контроль (без препарата)	
Температура +20°C	15,3 е	10,4 б-д	9,7 б-г	21,9 ж	14,3 б
Температура +38°C	12,6 д	6,6 а	10,7 вгд	8,0 аб	9,5 а
Температура +38°C + магнитно-импульсная обработка	9,4 бв	8,6 абв	9,1 абв	12,2 гд	9,8 а
Среднее	12,4 б	8,5 а	9,8 а	14,0 б	

*Примечание. Разные буквы обозначают наличие существенных различий при 5%-м уровне значимости.

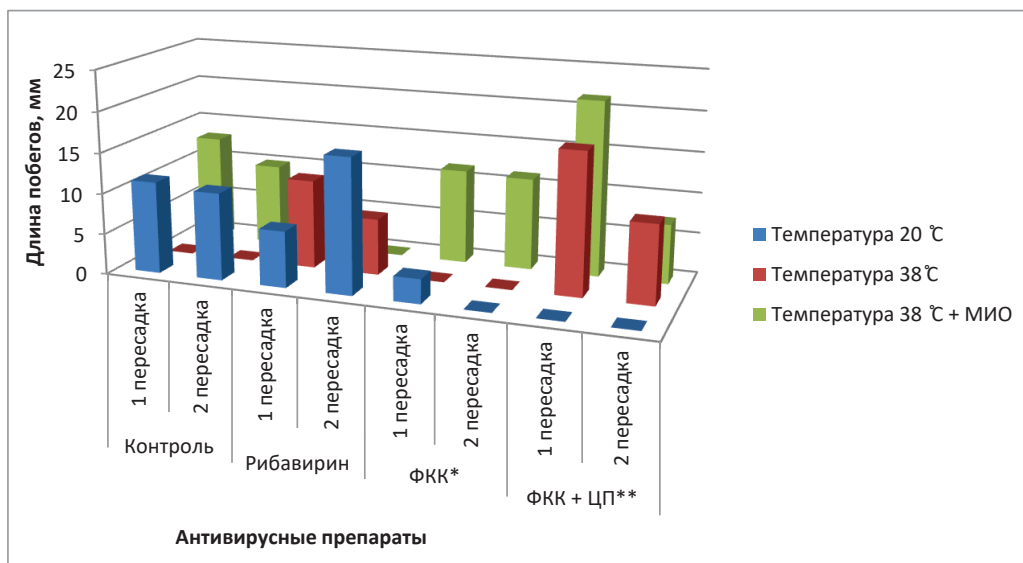


Рис. 1. Длина побегов у эксплантов подвоя 62–396 в зависимости от АВП, температуры, МИО после 1-й и 2-й пересадок на стандартную среду (*ФКК – фенолкарбоновая кислота; **ФКК + ЦП – фенолкарбоновая кислота + циклопентанон)

Figure 1. Length of shoots in explants of rootstock 62–396 depending on AVD, temperature, and MPP after the 1st and 2nd transplants to a standard medium (*PCA – phenol carboxylic acid; **PCA + CP – phenol carboxylic acid + cyclopentanone)

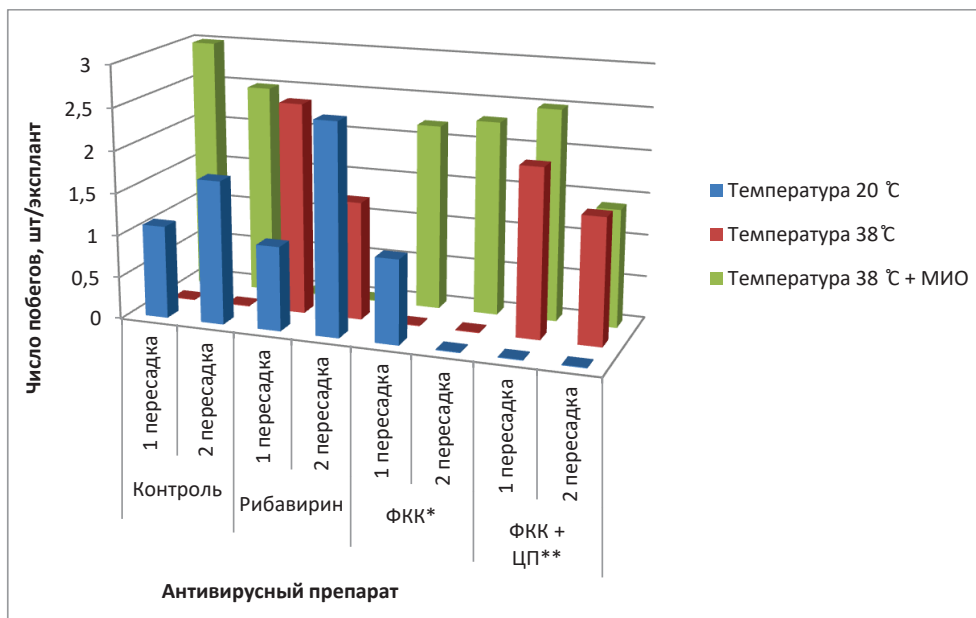


Рис. 2. Число побегов у эксплантов подвоя 62–396 в зависимости от АВП, температуры, МИО после 1-й и 2-й пересадок на стандартную среду (*ФКК – фенолкарбоновая кислота; **ФКК + ЦП – фенолкарбоновая кислота + циклопентанон)

Figure 2. The number of shoots in rootstock 62–396 explants depending on antiviral preparations, temperature, and MPP after the 1st and 2nd transplants to a standard medium (*PCA – phenol carboxylic acid; **PCA + CP – phenol carboxylic acid + cyclopentanone)

В экспериментах на груше были установлены аналогичные тенденции. Обработка эксплантов физическими и химическими факторами приводила к снижению числа побегов в 1,8–2,1 раз, их длины – в 1,6–2,3 раз по сравнению с вариантом без обработки [19].

Выход свободных от латентных вирусов эксплантов клонового подвоя яблони 62–396 *in vitro* с применением различных методов оздоровления составлял 50% (табл. 5).

Низкий индекс зараженности вирусами (1,2 для ACLSV и ASGV, 1,6 – для АрMV) отмечен при комплексной терапии с применением АВП (фенолкарбоновая кислота + циклопентанон), термо- и магнитотерапии.

В наших экспериментах на подвое груши выход свободных от вирусов эксплантов составил 71,4–100% [19]. В исследованиях иранских ученых выявлена высокая эффективность оздоровления груши от вирусов АрMV и ASPV (100%) при сочетании термо- и хемотерапии (рибавирин 10–20 мг/л) *in vitro* [18]. В Китае сочетание термотерапии (+36°C) и рибавирина (25 мг/л) обеспечило выход 95% свободных от латентных вирусов эксплантов яблони [20].

В Испании при оздоровлении 6 сортов яблони применение термотерапии (+40°C) *in vitro* с последующей изоляцией меристематических верхушек величиной 0,7–1,0 мм позволило получить 100% свободных от вируса АрMV и 57–100% свободных от вируса ACLSV растений [21].

Таблица 5

Выход свободных от латентных вирусов эксплантов клонового подвоя яблони 62–396 *in vitro* в зависимости от действия химических и физических факторов

Table 5

Yield of latent virus-free explants of apple tree clonal rootstock 62–396 *in vitro* depending on the action of chemical and physical factors

Вариант	Число тестированных эксплантов, шт/выход свободных от вирусов эксплантов, %/индекс зараженности			
	ACLSV	ASGV	АрMV	Комплекс вирусов
Контроль (без обработки)	2/0,0/25,8	2/0,0/9,8	2/100/1,1	2/0,0/-
Рибавирин + термотерапия (эталон)	2/100/1,3	2/100/1,2	2/50,0/1,8	2/50,0/-
МИО + термотерапия	2/100/1,3	2/100/1,1	2/50,0/2,0	2/50,0/-
Фенолкарбоновая кислота + + циклопентанон + термотерапия	2/100/1,6	2/50,0/3,7	2/100/1,6	2/50,0/-
Фенолкарбоновая кислота + + циклопентанон + термотерапия + МИО	2/100/1,2	2/100/1,2	2/50,0/1,6	2/50,0/-

Следует отметить, что в контроле при высокой степени зараженности вирусами ACLSV и ASGV (индексы зараженности – 25,8 и 9,8 соответственно) вирус ArMV отсутствовал. В ряде опытных вариантов (рибавирин + термотерапия, МИО + термотерапия) при ингибировании вирусов ACLSV и ASGV отмечали увеличение концентрации вируса ArMV. Возможно, данный феномен связан с дивергенцией вирусов, когда при оздоровлении от одних вирусов в растениях происходит накопление других вирусов.

Выводы Conclusions

Таким образом, по результатам проведенных исследований можно сделать выводы.

1. При температуре культивирования эксплантов +20°C установлена возможность использования АВП на протяжении как 45, так и 90 дней. При сочетании АВП с температурой +38°C культивирование эксплантов на протяжении 45 дней обеспечивало относительно высокие параметры выживаемости, тогда как увеличение длительности до 90 дней приводило к ее значительному снижению. Высокую выживаемость обеспечивало сочетание температуры +38°C и МИО (без АВП), температуры +38°C и фенолкарбоновой кислоты (81,3%); среднюю выживаемость – температуры +38°C + рибавирина, температуры +38°C + рибавирин + МИО, температуры +38°C + фенолкарбоновой кислоты + циклопентанона (56,3%).

2. Параметры роста у эксплантов подвоя яблони 62–396 зависели от вида АВП, температуры и МИО. Применение изученных АВП при температуре +20°C через 1,5 месяца культивирования приводило к снижению числа побегов в 2,1–3,2 раза по сравнению с контролем. Повышение температуры до +38°C во всех вариантах ингибировало образование побегов, приводя к снижению их числа в 2,9 раза в контроле, в 1,1–1,5 раза – в вариантах с АВП. Обработка импульсами магнитной индукции уменьшала ингибирующий эффект высокой температуры в контроле, но не влияла на число побегов в вариантах с АВП. Наибольшую длину побегов экспланты клонового подвоя яблони формировали в контроле, наименьшую – при использовании АВП и температуры +38°C.

3. Выход свободных от латентных вирусов эксплантов клонового подвоя яблони 62–396 *in vitro* с применением различных методов оздоровления составлял 50%. Низкий индекс зараженности вирусами (1,2 для ACLSV и ASGV, 1,6 – для ArMV) отмечен при комплексной терапии с применением АВП (фенолкарбоновая кислота + циклопентанон), термо- и магнитотерапии.

Список источников

1. Упадышев М.Т., Куликов И.М., Петрова А.Д. и др. *Современные методы оздоровления плодовых и ягодных культур от вредоносных вирусов*: Монография. Москва: ВСТИСП; Саратов: Амирит, 2019. 168 с. EDN: PSLDCG.

2. Макаров С.С., Упадышев М.Т., Хамитов Р.С. и др. *Перспективы промышленного выращивания и биотехнологические методы размножения лесных ягодных растений*: Монография. Москва: Колос-с, 2023. 152 с. EDN: VGKYGZ.

3. Куликов И.М., Трунов Ю.В., Соловьев А.В. и др. *Основы инновационного развития питомниководства России*: Монография. Москва: ВСТИСП, 2018. 188 с. EDN: PDHTNR.

4. Стройкова В.Р., Сахаров А.О. Особенности цветения декоративных яблонь на территории РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева // *Актуальные вопросы современной селекции, биотехнологии и ботаники: Всероссийская студенческая научно-практическая конференция*, г. Москва, 7-8 ноября 2024 г. Москва: РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, 2024. С. 173-175. EDN: SHKFZY.
5. Упадышев М.Т., Метлицкая К.В., Тихонова К.О. и др. Распространенность вирусных болезней плодовых и ягодных культур и современные методы борьбы с ними // *Живые и биокосные системы*. 2014. № 9. <https://www.jbks.ru/archive/issue-9/article-22>. EDN: VFYYDR.
6. Упадышев М.Т., Метлицкая К.В., Петрова А.Д. Распространенность вирусных болезней плодовых и ягодных культур // *Плодоводство и виноградарство Юга России*. 2017. № 44 (2). С. 5-16. EDN: YGAET.
7. Упадышев М.Т., Петрова А.Д., Туть Е.А. Особенности биоэкологии вредоносных латентных вирусов в насаждениях яблони // *Плодоводство и ягодоводство России*. 2021. Т. 64. С. 93-100. <https://doi.org/10.31676/2073-4948-2021-64-93-100>
8. Приходько Ю.Н., Магомедов У.Ш. *Вирусы семечковых и косточковых плодовых культур*: Монография. Воронеж: Научная книга, 2011. 468 с. EDN: QLCJHT.
9. Certification Scheme Fruit Plants Explanatory Guide to Top Fruit. Cydonia, Malus, Prunus, Pyrus Mother Trees Pre-basic, Basic 1, Basic 2 and Certified Categories. UK: Animal and Plant Health Agency, 2021. 10 p. https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/985184/certification-scheme-top-fruit-mother-trees.pdf.
10. Li X.L., Li M.J., Zhou J., Wei Q.P., Zhang J.K. Anzucht von virusfreien Bäumen durch Wärmebehandlung und Faktoren, die den Erfolg der Virusfreimachung beeinflussen. *Erwerbs-Obstbau*. 2020;62:257-264. <https://doi.org/10.1007/s10341-020-00480-3>
11. Упадышев М.Т., Макаров С.С., Упадышева Г.Ю. Устойчивость яблони к высокотемпературному стрессу // *Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии*. 2024. № 1. С. 89-99. <https://doi.org/10.26897/0021-342X-2024-1-89-99>
12. Wang M.R., Cui Z.H., Li J.W. et al. In Vitro Thermotherapy-based Methods for Plant Virus Eradication. *Plant Methods*. 2018;6(14):87. <https://doi.org/10.1186/s13007-018-0355-y>
13. Cieslinska M., Zavadzka B. Preliminary Results of Investigation on Elimination of Viruses from Apple, Pear and Raspberry Using Thermotherapy and Chemotherapy In Vitro. *Phytopath. Pol.* 1999;17:41-48.
14. Romadanova N., Tolegen A., Koken T. et al. Chemotherapy of Apple Shoots In Vitro as Method of Viruses Eradication. *International Journal of Biology and Chemistry*. 2021;14(1):48-55. <https://doi.org/10.26577/ijbch.2021.v14.i1.04>
15. Донецких В.И., Упадышев М.Т., Петрова А.Д. и др. Применение препарата АМИС-8 при получении оздоровленного от вирусов посадочного материала плодовых культур // *Техника и оборудование для села*. 2017. № 1 (235). С. 16-22. EDN: XXRSNB.
16. Upadyshev M.T., Kulikov I.M., Donetskich V.I. et al. Magnetic-pulse Processing at Micropropagation and Cleaning Up of Fruit and Small Fruit Crops from Viruses. *Acta Horticulturae*. 2021;1324:105-110. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2021.1324.16>
17. *Технология получения оздоровленного от вирусов посадочного материала плодовых и ягодных культур*: Методические указания / Сост. М.Т. Упадышев, К.В. Метлицкая, В.И. Донецких и др. Москва: Росинформагротех, 2013. 92 с. EDN: URHXNT.

18. Karimpour S., Davarynejad G., Zaki A.M., Safarnejad M.R. *In Vitro* Thermo-therapy and Thermo-chemotherapy Approaches to Eliminate Some Viruses in *Pyrus communis* L. cv. 'Natanz'. *J. Agr. Sci. Tech.* 2020;22(6):1645-1653.
19. Упадышев М.Т. Оздоровление клонового подвоя груши от вирусов методом комплексной терапии *in vitro* // *Аграрный научный журнал*. 2024. № 2. С. 55-61. <https://doi.org/10.28983/asj.y2024i2pp55-61>
20. Lizarraga A., Ascasiibar J., Gonzalez M.L. Fast and Effective Lizarraga A., Ascasiibar J., Gonzalez M.L. Fast and Effective Thermo-therapy Treatment for In Vitro Virus Elimination in Apple and Pear Trees. *American Journal of Plant Sciences*. 2017;8(10):2474-2482. <https://doi.org/10.4236/ajps.2017.810168>
21. Hu G.-J., Dong Y., Zhang Z. et al. Virus Elimination from *In Vitro* Apple by Thermo-therapy Combined with Chemotherapy. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*. 2015;121. <https://doi.org/10.1007/s11240-015-0714-6>

References

1. Upadyshev M.T., Kulikov I.M., Petrova A.D. et al. *Modern methods of recovering fruit and small fruit crops from harmful viruses: a monograph*. Moscow, Russia: All-Russia Selection and Technological Institute of Horticulture and Nursery; Saratov, Russia: Amirit, 2019:168. (In Russ.)
2. Makarov S.S., Upadyshev M.T., Khamitov R.S. et al. *Prospects for industrial cultivation and biotechnological methods of propagation of forest berry plants: a monograph*. Moscow, Russia: Kolos-s, 2023:152. (In Russ.)
3. Kulikov I.M., Trunov Yu.V., Soloviev A.V. et al. *Fundamentals of Innovative Development Nursery in Russia: a monograph*. Moscow, Russia: All-Russia Selection and Technological Institute of Horticulture and Nursery, 2018:188. (In Russ.)
4. Stroykova V.R., Sakharov A.O. Peculiarities of flowering ornamental apple trees on the territory of 'Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy. *Vserossiyskaya studencheskaya nauchno-prakticheskaya konferentsiya 'Aktualnye voprosy sovremennoy selektsii, biotekhnologii i botaniki'*. November 07-08, 2024. Moscow, Russia: Russian State Agrarian University-Moscow Agricultural Academy named after K.A. Timiryazev, 2024:173-175. (In Russ.)
5. Upadyshev M.T., Metlitskaya K.V., Tikhonova K.O. et al. Prevalence of viral diseases of fruit and berry crops and modern methods of dealing with them. *Live and Bio-abiotic Systems*. 2014;9:22. (In Russ.) <https://www.jbks.ru/archive/issue-9/article-22>
6. Upadyshev M.T., Metlitskaya K.V., Petrova A.D. Prevalence of virus diseases of fruit and berry crops. *Plodovodstvo i vinogradarstvo Yuga Rossii*. 2017;44:5-16. (In Russ.)
7. Upadyshev M.T., Petrova A.D., Tut', E.A. Peculiarities of bioecology of harmful viruses in apple plants. *Pomiculture and Small Fruits Culture in Russia*. 2021;64:93-100. (In Russ.) <https://doi.org/10.31676/2073-4948-2021-64-93-100>
8. Prikhodko Yu.N., Magomedov U.Sh. *Viruses of Pome and Stone Fruit Crops: a monograph*. Voronezh, Russia: Nauchnaja kniga, 2011:468. (In Russ.)
9. *Certification Scheme Fruit Plants Explanatory Guide to Top Fruit. Cydonia, Malus, Prunus, Pyrus Mother Trees Pre-basic, Basic 1, Basic 2 and Certified Categories*. UK: Animal and Plant Health Agency, 2021:10. https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/985184/certification-scheme-top-fruit-mother-trees.pdf

10. Li X.L., Li M.J., Zhou J., Wei Q.P., Zhang J.K. Anzucht von virusfreien Bäumen durch Wärmebehandlung und Faktoren, die den Erfolg der Virusfreimachung beeinflussen. *Erwerbs-Obstbau*. 2020;62:257-264. <https://doi.org/10.1007/s10341-020-00480-3>
11. Upadyshev M.T., Makarov S.S., Upadysheva G.Yu. Apple tree resistance to high temperature stress. *Izvestiya of Timiryazev Agricultural Academy*. 2024;1:89-99. (In Russ.) <https://doi.org/10.26897/0021-342X-2024-1-89-99>
12. Wang M.R., Cui Z.H., Li J.W. et al. In Vitro Thermo-therapy-based Methods for Plant Virus Eradication. *Plant Methods*. 2018;6(14):87. <https://doi.org/10.1186/s13007-018-0355-y>
13. Cieslinska M., Zavadzka B. Preliminary Results of Investigation on Elimination of Viruses from Apple, Pear and Raspberry Using Thermo-therapy and Chemotherapy In Vitro. *Phytopath. Pol.* 1999;17:41-48.
14. Romanova N., Tolegen A., Koken T. et al. Chemotherapy of Apple Shoots In Vitro as Method of Viruses Eradication. *International Journal of Biology and Chemistry*. 2021;14(1):48-55. <https://doi.org/10.26577/ijbch.2021.v14.i1.04>
15. Donetskiy V.I., Upadyshev M.T., Petrova A.D. et al. Application of amis-8 apparatus to combat viruses when preparing planting stock of fruit crops. *Machinery and Equipment for Rural Areas*. 2017;1:16-22. (In Russ.)
16. Upadyshev M.T., Kulikov I.M., Donetskiy V.I. et al. Magnetic-pulse Processing at Micropropagation and Cleaning Up of Fruit and Small Fruit Crops from Viruses. *Acta Horticulturae*. 2021;1324:105-110. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2021.1324.16>
17. Upadyshev M.T., Metlitskaya K.V., Donetskiy V.I. et al. *Technology of obtaining planting material of fruit and small fruit crops healed from viruses: methodological guidelines*. Moscow, Russia: Rosinformagrotech, 2013:92. (In Russ.)
18. Karimpour S., Davarynejad G., Zaki A.M., Safarnejad M.R. In Vitro Thermo-therapy and Thermo-chemotherapy Approaches to Eliminate Some Viruses in *Pyrus communis* L. cv. 'Natanz'. *J. Agr. Sci. Tech.* 2020;22(6):1645-1653.
19. Upadyshev M.T. Recovery of pear clonal rootstock from viruses using complex in vitro therapy. *The Agrarian Scientific Journal*. 2024;2:55-61. (In Russ.) <https://doi.org/10.28983/asj.y2024i2pp55-61>
20. Lizarraga A., Ascasiabar J., Gonzalez M.L. Fast and Effective Lizarraga A., Ascasiabar J., Gonzalez M.L. Fast and Effective Thermo-therapy Treatment for In Vitro Virus Elimination in Apple and Pear Trees. *American Journal of Plant Sciences*. 2017;8(10):2474-2482. <https://doi.org/10.4236/ajps.2017.810168>
21. Hu G.-J., Dong Y., Zhang Z. et al. Virus Elimination from In Vitro Apple by Thermo-therapy Combined with Chemotherapy. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*. 2015;121. <https://doi.org/10.1007/s11240-015-0714-6>

Сведения об авторах

Михаил Тарьевич Упадышев, доктор сельскохозяйственных наук, член-корреспондент РАН, профессор кафедры биотехнологии, Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева; 127550, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; тел.: (499) 976–40–72; e-mail: upad8@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1069-3771>

Сергей Сергеевич Макаров, доктор сельскохозяйственных наук, заведующий кафедрой декоративного садоводства и газоноведения, Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева; 127550,

Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; тел.: (499) 976–49–06; e-mail: s.makarov@rgau-msha.ru; <https://orcid.org/0000-0003-0564-8888>

Галина Юрьевна Упадышева, кандидат сельскохозяйственных наук, заведующий отделом агротехнологий в садоводстве, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный селекционно-технологический центр садоводства и питомниководства»; 115598, Российская Федерация, г. Москва, ул. Загорьевская, 4; тел.: (495) 329–34–11; e-mail: upad64@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-9547-9178>

Information about the authors

Mikhail T. Upadyshev, DSc (Ag), Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Professor at the Department of Biotechnology, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy; 49 Timiryazevskaya st., Moscow, 127550, Russian Federation; phone: (499) 976–40–72; e-mail: upad8@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1069-3771>

Sergey S. Makarov, DSc (Ag), Head of the Department of Ornamental Horticulture and Turfgrass Science, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy; 49 Timiryazevskaya st., Moscow, 127550, Russian Federation; phone: (499) 976–49–06; e-mail: s.makarov@rgau-msha.ru; <https://orcid.org/0000-0003-0564-8888>

Galina Yu. Upadysheva, CSc (Ag), Head of the Department of Agricultural Technologies in Horticulture, Federal Horticultural Research Center for Breeding, Agrotechnology and Nursery; 4 Zagoryevskaya st., Moscow, 115598, Russian Federation; phone: (495) 329–34–11; e-mail: upad64@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-9547-9178>