

Влияние генотипа и регуляторов роста на развитие растений из зиготических зародышей недоразвитых семян винограда в культуре *in vitro*

Зленко В.А.¹, Павлова И.А.^{1✉}, Клименко В.П.¹, Лушчай Е.А.¹, Абдурашитова А.С.¹, Григоренко М.И.¹, Авидзба А.М.²

¹Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия «Магарач» РАН, г. Ялта, Республика Крым, Россия;

²Российская академия наук, Секция хранения и переработки сельскохозяйственной продукции, г. Москва, Россия.

✉pavlovairinal965@gmail.com

Аннотация. Семена, полученные путем скрещиваний соматклонов сортов Сфинкс и Рута с соматклоном гибридной формы Е-342, сортом Мускат Крыма и сеянцем ТТ-2, выделены из ягод на стадии начала созревания, продезинфицированы и разрезаны поперек в стерильных условиях с целью изучения влияния генотипа и регуляторов роста на развитие растений из зиготических зародышей. Затем сегменты семян с зародышами высажены в варианты жидкой среды РГ (1995) с добавкой: 10 мг/л тиамин, 5 мг/л никотиновой кислоты, 5 мг/л парааминобензойной кислоты и 5 мг/л Са-пантотената, которые различались содержанием регуляторов роста: 5 мг/л кинетин, 0,5 мг/л 6-бензиламинопурина (БАП), 5 мг/л β-индолилмасляной кислоты (ИМК) и 0,2 мг/л гибберелловой кислоты (ГАЗ) в различных комбинациях (I этап). Развивающиеся проростки пересаживали на твердую безгормональную среду РГ для развития из них растений-сеянцев (II этап). Растения с недостаточно развитыми побегами снова пересаживали в жидкую модифицированную среду РГ, но с добавкой 1,5 мг/л БАП (III этап). Для образования способных к укоренению побегов, развившихся из проростков, агрегаты почек и побегов субкультивировали в безгормональную среду РГ (IV этап). Затем эти побеги высаживали на твердую безгормональную среду РГ для развития из них растений-сеянцев в культуре *in vitro* (V этап). Зиготические зародыши из семян (без эндосперма) (92 дня после опыления) скрещивания соматклона № 49 Рута x Мускат Крыма прорастали и развивали на первом и втором этапах культивирования в вариантах жидких сред. Для развития полноценных растений из недоразвитых зародышей из семян (61 день после опыления), полученных в результате скрещиваний, в которых в качестве материнских форм были использованы соматклоны № 87 и № 89 Сфинкс, требовалось 2–5 этапов.

Ключевые слова: проростки; кинетин; 6-бензиламинопурина; β-индолилмасляная кислота; гибберелловая кислота; соматклон; сорт; каллус; побег.

Для цитирования: Зленко В.А., Павлова И.А., Клименко В.П., Лушчай Е.А., Абдурашитова А.С., Григоренко М.И., Авидзба А.М. Влияние генотипа и регуляторов роста на развитие растений из зиготических зародышей недоразвитых семян винограда в культуре *in vitro* // «Магарач». Виноградарство и виноделие. 2023;25(4):334-340. DOI 10.34919/IM.2023.90.97.002.

ORIGINAL RESEARCH

The effect of genotype and growth regulators on the development of plants from zygotic embryos of underdeveloped grape seeds in the culture *in vitro*

Zlenko V.A.¹, Pavlova I.A.^{1✉}, Klimenko V.P.¹, Lushchay E.A.¹, Abdurashitova A.S.¹, Grigorenko M.I.¹, Avidzba A.M.²

¹All-Russian National Research Institute of Viticulture and Winemaking Magarach of the RAS, Yalta, Republic of Crimea, Russia;

²Russian Academy of Sciences, Section of Storage and Processing of Agricultural Products, Moscow, Russia.

✉pavlovairinal965@gmail.com

Abstract. The seeds obtained in crossing of somaclones of 'Sphinx' and 'Ruta' varieties with hybrid somaclone E-342, 'Muscat Kryma' variety and TT-2 seedling, were isolated from berries at the beginning of ripening, disinfected and cross-cut under sterile conditions in order to study the effect of genotype and growth regulators on the development of plants from zygotic embryos. Then seed segments with embryos were planted in liquid PG medium variants (1995) with adding 10 mg/l thiamine, 5 mg/l nicotinic acid, 5 mg/l paraaminobenzoic acid, and 5 mg/l Ca-pantothenate, which differed in the content of growth regulators: 5 mg/l kinetin, 0.5 mg/l 6-benzylaminopurine (BAP), 5 mg/l β-indolylbutyric acid (IBA), and 0.2 mg/l gibberelic acid (GA₃) in different combinations (stage I). Germinating seedlings were replanted into a solid hormone-free PG medium for the development of plants-seedlings from them (stage II). Plants with insufficiently developed shoots were replanted again into a modified liquid PG medium, but with adding 1.5 mg/l BAP (stage III). In order to produce rootable shoots developed from seedlings, aggregates of buds and shoots were subcultured into a hormone-free PG medium (stage IV). Then these shoots were planted in a solid hormone-free PG medium for the development of plants-seedlings from them in the culture *in vitro* (stage V). Zygotic embryos from seeds (without endosperm) (92 days after pollination) of crossing somaclone No. 49 'Ruta' x 'Muscat Kryma' germinated and developed at the first and second stages of cultivation in liquid media variants. For the development of full-value plants from underdeveloped embryos of seeds (61 days after pollination), obtained as a result of crosses with somaclones No. 87 and No. 89 'Sphinx' used as maternal forms, 2–5 stages were required.

Key words: germinating seedlings; kinetin; 6-benzylaminopurine; β-indolylbutyric acid; gibberelic acid; somaclone; variety; callus; shoot.

For citation: Zlenko V.A., Pavlova I.A., Klimenko V.P., Lushchay E.A., Abdurashitova A.S., Grigorenko M.I., Avidzba A.M. The effect of genotype and growth regulators on the development of plants from zygotic embryos of underdeveloped grape seeds in the culture *in vitro*. Magarach. Viticulture and Winemaking. 2023;25(4):334-340. DOI 10.34919/IM.2023.90.97.002 (in Russian).

Введение

Различные технологии, позволяющие индуцировать развитие зиготического зародыша, извлеченного из оплодотворенной семяпочки, известны как «эмбриоспасение» [1]. Эти технологии в настоящее время широко используются в программах селекции столового винограда, обеспечивая относительно высокую частоту развития зародыша (в среднем 50 %). Использование технологии эмбриоспасения в селекции столового винограда привело к созданию инновационных сортов и ускорению селекционного процесса. Многие новые сорта были получены методом спасения эмбрионов в Соединенных Штатах, Аргентине, Китае, Японии, Италии, Индии и Австралии [2, 3]. Стеноспермокарпические сорта винограда используют в качестве материнской формы в скрещиваниях с семенными и бессемянными опылителями [4–9]. Эффективность технологии зависит от генотипов родительских пар, периода после опыления, среды культивирования, биологически активных веществ, условий культивирования. В последнее время эти технологии используют для получения бессемянного потомства при скрещивании родительских пар разной ploidy. Результаты исследований показывают, что использование технологии эмбриоспасения может повысить эффективность селекции на тетраплоидном и гипотетраплоидном уровне [10, 11].

Покой семян винограда замедляет ход многих селекционных программ, что приводит к низкой однородности и низкому проценту всхожести. Культуру семян *in vitro* используют в качестве эффективной системы, способствующей ускорению процессов прорастания и развития растений [12].

Цель исследования – разработка системы *in vitro* получения растений из зиготических зародышей недоразвитых семян на основе изучения влияния генотипа и регуляторов роста на процессы развития морфологических структур.

Материалы и методы исследования

Материалом для исследования служили семена винограда, полученные в результате гибридизации. В качестве материнских форм использованы соматклоны (№ 87 и № 89) сорта винограда Сфинкс (обоеполюй тип цветка), сорта Рута (№ 49) (женский тип цветка), полученные путем соматического эмбриогенеза из клеток суспензионных культур, обработанных колхицином [13]. В качестве опылителей выступили: соматклон № 97 бессемянной гибридной формы Е-342, сорт Мускат Крыма и гибридная форма ТТ-2 (Тимур х Ташлы). Семена с недоразвитым зародышем были выделены в фазу начала созревания ягоды. У соматклонов № 87 и № 89 Сфинкс (сверххранний срок созревания) семена собраны на 61 день, у соматклона № 49 Рута (поздний срок созревания) – на 92 день после опыления соответственно. Для введения в культуру использовали только гибридные семена № 49 Руты без эндосперма (при замачивании в воде они всплывают).

Семена были выделены из ягод, продезинфицированы 96 % спиртом-ректификатом в течение 20 с,

затем диоцидом в течение 12 мин, промыты три раза стерильной H_2O в течение 30 мин. В стерильных условиях в чашках Петри отсекали халазальную часть и сегменты семян с зародышами. Высаживали по разработанной ранее методике в разные варианты жидкой среды РG с добавкой 10 мг/л тиамин, 5 мг/л никотиновой кислоты, 5 мг/л парааминобензойной кислоты, 5 мг/л Са-пантотената, 20 г/л сахарозы и регуляторов роста: цитокининов 5 мг/л (кинетин и 0,5 мг/л 6-бензиламинопурина (БАП)), ауксина 5 мг/л β -индолилмасляной кислоты (ИМК) и 0,2 мг/л гибберелловой кислоты в различных комбинациях (I этап, табл. 1, 2) [14, 15].

После трех месяцев культивирования, проростки были пересажены на твердую безгормональную среду РG (1995) с добавкой 20 г/л сахарозы и 7 г/л агара. После 40 дней развития на твердой среде была проведена оценка влияния различных регуляторов роста в вариантах жидких сред (I этап) на показатели развития побегов и корней у проростков на твердой безгормональной среде РG (II этап).

Зародыши в семенах материнской формы соматклона № 49 Рута были на более поздней стадии развития, поэтому у проростков лучше образовались корни и побеги на I и II этапах по сравнению с зародышами соматклонов № 87 и № 89 Сфинкс. В зависимости от вариантов сред I этапа и отцовской формы, применяемой в скрещиваниях, у зародышей соматклонов № 87 и № 89 Сфинкс 81 % проростков не образовывал полноценных побегов на II этапе. Такие проростки пересаживали из твердой безгормональной среды РG в жидкую среду РG с добавкой 5 мг/л никотиновой кислоты, 5 мг/л Са-пантотената, 170 мг/л $NaH_2PO_4 \cdot x H_2O$, 1,5 мг/л БАП и 20 г/л сахарозы (30 дней культивирования, III этап, рис. 2.1). Образовавшиеся из проростков агрегаты пролиферирующих почек или побегов субкультивировали в жидкую безгормональную среду РG (IV этап, рис. 2.2, 2.3). Затем побеги высаживали на безгормональную среду РG для их укоренения и развития растений в культуре *in vitro* (V этап, рис. 2.4).

На каждый вариант жидкой среды I этапа высаживали по 6–9 зародышей (отрезанных частей семян с зародышами) каждого скрещивания. НСР рассчитывали с применением Excel, $P=0,05$.

Результаты и их обсуждение

У многих проростков, полученных из зиготических зародышей от скрещивания № 49 Рута х Мускат Крыма, уже на I этапе в вариантах жидких сред (табл. 1, рис. 1.3) развивались побеги и корни. У растений, полученных из зиготических зародышей, после пересадки на твердую безгормональную среду РG (II этап) наблюдалась сильная зависимость от их генотипа и в меньшей степени от варианта жидкой среды, в которой их культивировали первоначально на I этапе (табл. 1, рис. 1).

Зародыши различались по их генетически детерминированной способности или к образованию единичных побегов, или единичным почкам, из которых не развились побеги, или конгломератом почек и

Таблица 1. Влияние регуляторов роста на развитие растений из зародышей семян с неразвитым эндоспермом популяции Рута соматклон № 49 х Мускат Крыма на I и II этапах культивирования

Table 1. The effect of growth regulators on the development of plants from seed embryos with undeveloped endosperm of the population 'Ruta' somaclone No. 49 x 'Muscat Kryma' at stages I and II of cultivation

Концентрация регуляторов роста (I этап), мг/л	Длина побегов и корней развившихся у проростков на I этапе, см		Развитие растений из проростков после их пересадки на твердую среду РГ без регуляторов роста, II этап		
	длина побегов, см	длина корней, см	длина побегов, см	доличество корней, шт.	длина корней, см
Кинетин-5	2,4	4,5	3,2	3,7	6,3
Кинетин-5; ГА ₃ -0,2	3,4	6,0	5,0	5,0	14,0
Кинетин-5; ИМК-5	2,8	1,7	4,0	4,3	2,3
Кинетин-5; ИМК-5; ГА ₃ -0,2	2,3	5,0	3,2	6,3	7,0
БАП-0,5	1,8	2,3	2,1	2,0	3,9
БАП-0,5; ГА ₃ -0,2	1,7	4,0	2,5	2,0	5,6
БАП-0,5; ИМК-5	2,0	1,5	3,0	1,0	2,0
БАП-0,5; ИМК-5; ГА ₃ -0,2	0,3	6,2	0,6	6,0	8,0
НСР	0,8	1,6	1,1	1,7	3,2



1.1

1.2

1.3

1.4

Рис. 1. Развитие проростков и растений из зародышей семян (I и II этапы). I этап: 1.1 – № 89 Сфинкс х № 97 Е-342, 5 мг/л кинетина; 1.2 – № 87 Сфинкс х Мускат Крыма, 5 мг/л кинетина и 0,2 мг/л ГА₃; 1.3 – № 49 Рута х Мускат Крыма, 5 мг/л кинетина и 5 мг/л ИМК. II этап: 1.4 – №89 Сфинкс х №97 Е-342, 5 мг/л кинетина (I этап) → твердая безгормональная среда РГ, развитие растений из проростков

Fig. 1. Development of germinating seedlings and plants from seed embryos (stages I and II). Stage I: 1.1 – No. 89 'Sphinx' x No. 97 E-342, 5 mg/l kinetin; 1.2 – No. 87 'Sphinx' x 'Muscat Kryma', 5 mg/l kinetin and 0.2 mg/l GA₃; 1.3 – No. 49 'Ruta' x 'Muscat Kryma', 5 mg/l kinetin and 5 mg/l IBA. Stage II: 1.4 – No. 89 'Sphinx' x No. 97 E-342, 5 mg/l kinetin (Stage I) → solid hormone-free PG medium, development of plants from germinating seedlings

очень коротких побегов у проростков на I и II этапах. Поэтому для развития побегов из почек у таких проростков их пересаживали в жидкую модифицированную среду РГ с добавкой 1,5 мг/л БАП (III этап).

Для образования способных к укоренению удлиненных побегов с листьями агрегаты почек и укороченных побегов субкультивировали в жидкую безгормональную среду РГ, и только потом побеги отсекали от агрегатов (IV этап) и высаживали на твердую безгормональную среду РГ, на которой из них развивались полноценные растения (V этап, рис. 2.).

Этапы этого процесса у проростков из зародышей семян различных скрещиваний представлены на рис. 3: пролиферация побегов в жидкой модифицированной среде РГ с добавкой 1,5 мг/л БАП у пророст-

ка скрещивания № 49 Рута х Мускат Крыма (III этап), развившегося в варианте жидкой модифицированной среды РГ с добавкой 0,5 мг/л БАП и 5 мг/л ИМК на I этапе (рис. 3.1); образование побегов, способных к укоренению, из агрегата почек у проростка скрещивания № 87 Сфинкс х ТТ-2 после субкультивирования в варианты модифицированных жидких сред РГ: 0,5 мг/л БАП, 5 мг/л ИМК и 0,2 мг/л ГА₃ (I этап) → 1,5 мг/л БАП (III этап) → без регуляторов роста (IV этап, рис. 3.2); у проростка скрещивания № 49 Рута х Мускат Крыма субкультивирования те же, но на I этапе вариант среды с 5 мг/л кинетина и 5 мг/л ИМК (IV этап, рис. 3.3); развитие растений скрещивания № 89 Сфинкс х № 97 Е-342 после субкультивирования в жидких вариантах сред: 5 мг/л кинетина

(I этап) → 1,5 мг/л БАП (III этап) → без регуляторов роста (IV этап); отчленение побегов от агрегата почек и их высадка на твердую безгормональную среду РГ (V этап, рис. 3.4).

У сверххранных форм винограда до созревания ягод не успевают образоваться полноценные зародыши в семенах (недоразвитые зародыши) и поэтому они характеризуются низкой всхожестью [16]. Из зародышей семян от скрещиваний, в которых материнскими формами были соматклоны № 87 и № 89 Сфинкс, полноценные побеги образовывались на II этапе после пересадки проростков на твердую безгормональную среду РГ. У некоторых проростков наблюдалась пролиферация почек вместо развития побегов, поэтому требовались последовательные пересадки в жидкую модифицированную среду РГ, содержащую 1,5 мг/л БАП (III этап, рис. 3.1). Способные к укоренению побеги выращивали после субкультивирования агрегатов почек в жидкую безгормональную среду РГ (IV этап, рис. 3.2, 3.3). Затем для дальнейшего развития растений отделяли от этих агрегатов побеги и высаживали их на твердую безгормональную среду РГ (V этап, рис. 2.4). Совместная добавка гибберелловой кислоты в варианты сред с БАП на первом этапе не угнетала развитие побегов у проростков на II этапе по сравнению с кинетином. В вариантах сред с кинетином положительный эффект на развитие побегов и корней у проростков оказывала ИМК. Совместное добавление ИМК с БАП и гибберелловой кислоты с кинетином и БАП (в меньшей степени) оказало отрицательный эффект. Зародыши и проростки превращались в каллус (табл. 2).

Для развития растений из семян с недоразвитым эндоспермом или с несозревшими зародышами, взятых из ягод в начале их созревания, может применяться методика культивирования *in vitro* зиготических зародышей путем дезинфекции семян, отсекания халазальной части и высадки сегментов семян с зародышами в жидкую среду [14]. В зависимости от стадий



3.1



3.2



3.3



3.4

Рис. 3. Этапы получения растений из проростков, у которых не развились почки или побеги из почек на I этапе культивирования: 3.1 – пролиферация почек и побегов в варианте жидкой модифицированной среды РГ с добавкой 1,5 мг/л БАП (III этап); 3.2 и 3.3 – соответственно развитие единичных или многочисленных побегов из агрегатов почек в жидкой безгормональной среде РГ (IV этап); 3.4 – развитие растений-сеянцев на твердой безгормональной среде РГ из укорененных побегов (V этап)

Fig. 3. Stages of obtaining plants from germinating seedlings that did not develop buds or shoots from buds at stage I of cultivation: 3.1 – proliferation of buds and shoots in a modified liquid PG medium with adding 1.5 mg/l BAP (stage III); 3.2 and 3.3 – respectively, the development of single or numerous shoots from bud aggregates in a liquid hormone-free PG medium (stage IV); 3.4 – the development of plants-seedlings in a solid hormone-free PG medium from rooted shoots (stage V)

Сегмент семени
с зародышем

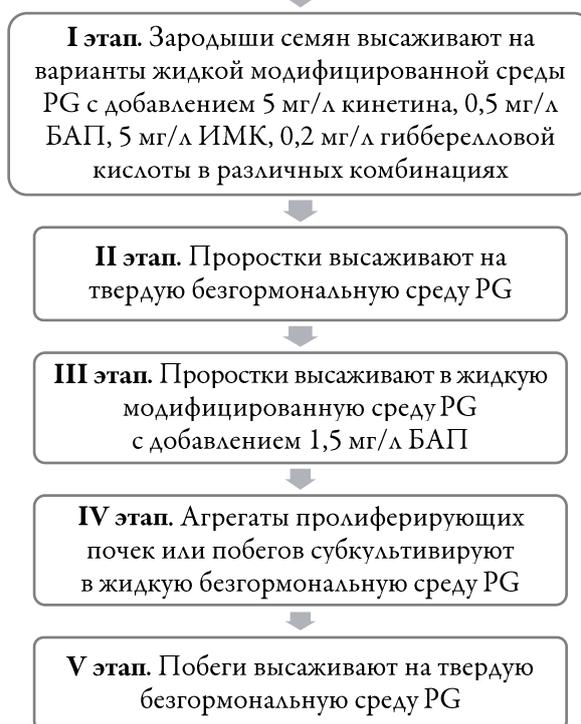


Рис. 2. Схема получения растений из зиготических зародышей винограда в условиях *in vitro*

Fig. 2. Scheme of obtaining plants from zygotic grape embryos in the conditions *in vitro*

развития зиготических зародышей в семенах, необходимо присутствие в среде разных регуляторов роста. Добавка БАП и кинетина с ИМК на первом этапе оказывала положительный эффект на развитие растений из зиготических зародышей от скрещивания № 49 Рута х Мускат Крыма.

Присутствовавшие во всех вариантах жидких

Таблица 2. Влияние регуляторов роста, добавленных в жидкую модифицированную среду PG (I этап), на развитие растений из недоразвитых зародышей после пересадки на твердую безгормональную среду PG (II этап)

Table 2. The effect of growth regulators added to a modified liquid PG medium (stage I) on the development of plants from underdeveloped embryos after re-planting into a solid hormone-free PG medium (stage II)

Концентрация регуляторов роста (I этап), мг/л	Развитие растений из проростков после их пересадки на твердую среду PG без регуляторов роста, II этап											
	длина побегов, см образование каллуса (к)				количество корней, шт.				длина корней, см			
	А	Б	В	Г	А	Б	В	Г	А	Б	В	Г
Кинетин-5	1,5	0,3	1,8	0,0	4,0	2,0	2,0	0,0	9,0	0,5	0,7	0,0
Кинетин-5; GA ₃ -0,2	0,0к	0,0	0,0	0,3к	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Кинетин-5; ИМК-5	0,9	4,0	3,0	0,0	5,0	5,0	3,0	0,0	10,0	5,0	1,0	0,0
Кинетин-5; ИМК-5; GA ₃ -0,2	0,0к	2,5	0,3	2,3	0,0	2,0	0,0	4,3	0,0	3,0	0,0	3,8
БАП-0,5	3,0	0,0	2,0	0,3	1,0	0,0	1,0	1,0	14,0	0,0	0,5	1,8
БАП-0,5; GA ₃ -0,2	7,0	0,0к	3,0	0,3к	4,0	0,0	0,0	0,0	13,0	0,0	0,0	0,0
БАП-0,5; ИМК-5	0,0	0,3	1,0к	0,3	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	1,7
БАП-0,5; ИМК-5; GA ₃ -0,2	0,3к	2,0	0,6	0,0к	2,0	1,0	1,0	0,0	7,0	12,0	1,0	0,0
НСР	2,0	1,3	1,0	0,6	1,7	1,5	0,9	1,2	4,9	3,5	0,4	1,2

Примечания: А – № 87 Сфинкс х № 97 Е-342; Б – № 87 Сфинкс х сеянец ТТ-2; В – № 89 Сфинкс х № 97 Е-342; Г – № 89 Сфинкс х Мускат Крыма

сред первого этапа цитокинины кинетин или БАП стимулировали образование проростков, а также индуцировали развитие побегов. Дополнительные добавки ГА или ИМК позволяли: улучшить образование и рост побегов и корней; вызвать превращение некоторых зародышей в каллус из гибридных семян соматоклонов № 87 и № 89 сорта Сфинкс. Среди полученного генеративного потомства было настолько сильное генетическое разнообразие по способности образовывать побеги и корни у проростков, что у некоторых из них этот процесс проходил на II этапе, а у других на III, IV или V этапах.

Выводы

Цитокинины кинетин и БАП стимулируют образование проростков из зиготических зародышей, а дополнительные добавки в варианты сред ауксина ИМК или гиббереловой кислоты способствуют как развитию побегов и корней у проростков, так и вызывают образование каллуса.

Способность к образованию побегов и корней у проростков из зрелых зародышей семян (92 дня после опыления) с недоразвитым эндоспермом скрещивания соматоклона № 49 Рута х Мускат Крыма в большей мере зависела от их генотипа, чем от присутствия различных регуляторов роста в вариантах сред.

У семян от скрещивания сверххранных материнских форм соматоклонов № 87 и № 89 Сфинкс недоразвитые зародыши характеризовались не только их генетически детерминированной способностью к об-

разованию проростков, побегов, корней и каллуса, но и влиянием различных регуляторов роста в вариантах сред на эти процессы. Варианты сред с добавкой 5 мг/л кинетина, или 5 мг/л кинетина с 5 мг/л ИМК, или 5 мг/л БАП не вызывали превращение в каллус зародышей из семян скрещиваний материнских форм соматоклонов № 87 и № 89 Сфинкс.

Большинство более зрелых зародышей материнской формы соматоклона № 49 Рута превращались в проростки и образовывали растения на I и II этапах, тогда как для сверххранных материнских форм соматоклонов № 87 и № 89 Сфинкс для развития растений-сеянцев требовалось больше субкультивирований на различные варианты сред.

Источник финансирования

Работа выполнена в рамках государственного задания № FNZM-2023-0009.

Financing source

The work was conducted under public assignment No. FNZM-2023-0009.

Конфликт интересов

Не заявлен.

Conflict of interests

Not declared.

Список литературы

1. Dalla Costa L., Malnoy M., Lecourieux D., Deluc L., Ouaked-Lecourieux F., Thomas M.R., Torregrosa L.J. The state-of-the-art of grapevine biotechnology and new breeding technologies

- (NBTs). *OENO One*. 2019;53(2):205-228. DOI 10.20870/oeno-one.2019.53.2.2405.
2. Chatbanyong R., Torregrosa L. A highly efficient embryo rescue protocol to recover a progeny from the microvine. *Vitis*. 2015;54(1):41-46.
 3. Razi M., Jalili Marandi R., Doulati Baneh H., Hosseini B., Darvishzadeh R. Effect of paternal genotypes sprays with BA and IAA concentration on embryo rescue of F1 progenies from 'Askari' (*Vitis vinifera* L.) cultivar. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 2013;15(5):1023-1032.
 4. Li S., Keke L., Yu S., Ji S., Chen S., Fu Y., Sun F., Luo Q., Wang Y. The process of embryo abortion of stenospermocarpic grape and it develops into plantlet *in vitro* using embryo rescue. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*. 2020;143(2):389-409. DOI 10.1007/s11240-020-01926-y.
 5. Ismail A.S.M., El-Bassel E.H., Khalil B.M. In vitro embryo rescue of flame seedless grape. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*. 2021;21(2):98-107. DOI 10.5829/idosi.aejaes.2021.98.107.
 6. Menezes F., Silva E.M., Yano-Melo A.M., Souza Leão P.C., Melo N.F. Immature embryo rescue and *in vitro* development evaluation of intraspecific hybrids from Brazilian seedless grapevine "Superior × Thompson" clones Eiryanne. *American Journal of Plant Sciences*. 2014;05(13):1956-1960. DOI 10.4236/ajps.2014.513209.
 7. Jiao Y., Li Z., Xu K., Guo Y., Zhang C., Li T., Jiang Y., Liu G., Xu Y. Study on improving plantlet development and embryo germination rates in *in vitro* embryo rescue of seedless grapevine. *New Zealand journal of crop and horticultural science*. 2018;46(1):39-53. DOI 10.1080/01140671.2017.1338301.
 8. Giancaspro A., Mazzeo A., Carlomagno A., Gadaleta A., Somma S., Ferrara G. Optimization of an *in vitro* embryo rescue protocol for breeding seedless table grapes (*Vitis vinifera* L.) in Italy. *Horticulturae*. 2022;8(2):121. DOI 10.3390/horticulturae8020121.
 9. Valdez J.G., Ulanovsky S. *In vitro* germination of stenospermic seeds from reciprocal crosses (*Vitis vinifera* L.) applying different techniques. *Vitis*. 1997;36(3):105-107. DOI 10.5073/vitis.1997.36.105-107.
 10. Kim S.H., Kwon J.H., Park Y.S., Heo J.Y. *In vitro* embryo rescue for the production of hypotetraploids after cross between hypotetraploid and tetraploid grape cultivars. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 2020;48(1):503-508. DOI 10.15835/nbha48111795.
 11. Liu Q., Zhang J., Wang Y., Yu D., Xia H. Breeding for cold-resistant, seedless grapes from Chinese wild *Vitis amurensis* using embryo rescue. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*. 2016;44(2):136-151. DOI 10.1080/01140671.2016.1153489.
 12. Generoso A.L., Viana A.P., Carvalho V.S., Costa Júnior O.D. *In vitro* germination to overcome dormancy in seeds of 'Red Globe', 'Italia' and 'Niagara Rosada' grapes. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 2019;41(5):e-495. DOI 10.1590/0100-29452019495.
 13. Зленко В.А., Клименко В.П., Павлова И.А., Луцшай Е.А., Петухова А.В., Абурашитова А.С., Лиховской В.В. Сомаклональная изменчивость растений винограда, регенерированных из колхичинированных клеток суспензионных культур // «Магарач». *Виноградарство и виноделие*. 2020;22(3):190-195. DOI 10.35547/IM.2020.22.3.001.
 14. Зленко В.А., Котиков И.В., Трошин Л.П., Павлова И.О. Пат. 17919А Украина, МПК 6 АО1Н4/00, АО1Н1/04. Спосіб вирощування рослин з важко пророщуваного насіння і відбору стійких генотипів на рівні зародків / Україна. № 95010191; Заявл. 11.01.95; Опубл. 03.06.97. 1997;5:3.1.18-3.1.19.
 15. Zlenko V.A., Troshin L.P., Kotikov I.V. An optimized medium for clonal micropropagation of grapevine. *Vitis*. 1995;34(2):125-126. DOI 10.5073/vitis.1995.34.125-126.
 16. Павлова И.А., Лиховской В.В. Селекция столового винограда на раннеспелость с применением методов *in vitro* // «Магарач». *Виноградарство и виноделие*. 2013;4:4-6.

References

1. Dalla Costa L., Malnoy M., Lecourieux D., Deluc L., Ouaked-Lecourieux F., Thomas M.R., Torregrosa L.J. The state-of-the-art of grapevine biotechnology and new breeding technologies (NBTs). *OENO One*. 2019;53(2):205-228. DOI 10.20870/oeno-one.2019.53.2.2405.
2. Chatbanyong R., Torregrosa L. A highly efficient embryo rescue protocol to recover a progeny from the microvine. *Vitis*. 2015;54(1):41-46.
3. Razi M., Jalili Marandi R., Doulati Baneh H., Hosseini B., Darvishzadeh R. Effect of paternal genotypes sprays with BA and IAA concentration on embryo rescue of F1 progenies from 'Askari' (*Vitis vinifera* L.) cultivar. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 2013;15(5):1023-1032.
4. Li S., Keke L., Yu S., Ji S., Chen S., Fu Y., Sun F., Luo Q., Wang Y. The process of embryo abortion of stenospermocarpic grape and it develops into plantlet *in vitro* using embryo rescue. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*. 2020;143(2):389-409. DOI 10.1007/s11240-020-01926-y.
5. Ismail A.S.M., El-Bassel E.H., Khalil B.M. In vitro embryo rescue of flame seedless grape. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*. 2021;21(2):98-107. DOI 10.5829/idosi.aejaes.2021.98.107.
6. Menezes F., Silva E.M., Yano-Melo A.M., Souza Leão P.C., Melo N.F. Immature embryo rescue and *in vitro* development evaluation of intraspecific hybrids from Brazilian seedless grapevine "Superior × Thompson" clones Eiryanne. *American Journal of Plant Sciences*. 2014;05(13):1956-1960. DOI 10.4236/ajps.2014.513209.
7. Jiao Y., Li Z., Xu K., Guo Y., Zhang C., Li T., Jiang Y., Liu G., Xu Y. Study on improving plantlet development and embryo germination rates in *in vitro* embryo rescue of seedless grapevine. *New Zealand journal of crop and horticultural science*. 2018;46(1):39-53. DOI 10.1080/01140671.2017.1338301.
8. Giancaspro A., Mazzeo A., Carlomagno A., Gadaleta A., Somma S., Ferrara G. Optimization of an *in vitro* embryo rescue protocol for breeding seedless table grapes (*Vitis vinifera* L.) in Italy. *Horticulturae*. 2022;8(2):121. DOI 10.3390/horticulturae8020121.
9. Valdez J.G., Ulanovsky S. *In vitro* germination of stenospermic seeds from reciprocal crosses (*Vitis vinifera* L.) applying different techniques. *Vitis*. 1997;36(3):105-107. DOI 10.5073/vitis.1997.36.105-107.
10. Kim S.H., Kwon J.H., Park Y.S., Heo J.Y. *In vitro* embryo rescue for the production of hypotetraploids after cross between hypotetraploid and tetraploid grape cultivars. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 2020;48(1):503-508. DOI 10.15835/nbha48111795.
11. Liu Q., Zhang J., Wang Y., Yu D., Xia H. Breeding for cold-resistant, seedless grapes from Chinese wild *Vitis amurensis* using embryo rescue. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*. 2016;44(2):136-151. DOI 10.1080/01140671.2016.1153489.
12. Generoso A.L., Viana A.P., Carvalho V.S., Costa Júnior O.D. *In vitro* germination to overcome dormancy in seeds of 'Red Globe', 'Italia' and 'Niagara Rosada' grapes. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 2019;41(5):e-495. DOI 10.1590/0100-29452019495.

13. Zlenko V.A., Klimenko V.P., Pavlova I.A., Lushchay E.A., Petukhova A.V., Abdurashitova A.S., Likhovskoi V.V. Somaclonal variation of grape plants regenerated from colchicinated cells of suspension cultures. *Magarach. Viticulture and Winemaking*, 2020;22(3):190-195. DOI 10.35547/IM.2020.22.3.001 (in Russian).
14. Zlenko V.A., Troshin L.P., Kotikov I.V., Pavlova I.A. Pat. 17919A Ukraine, МРК 6 АО1Н4/00, АО1Н1/04. Method for growing plants from hard-to-germinate seeds and selecting stable genotypes at the germ level. Ukraine. No. 95010191; Appl. 11.01.95; Publ. 03.06.97. 1997;5:3.1.18-3.1.19 (in Ukrainian).
15. Zlenko V.A., Troshin L.P., Kotikov I.V. An optimized medium for clonal micropropagation of grapevine. *Vitis*. 1995;34(2):125-126. DOI 10.5073/vitis.1995.34.125-126.
16. Pavlova I.A., Likhovskoi V.V. Breeding of table grapes for early ripeness with the use of *in vitro* methods. *Magarach. Viticulture and Winemaking*. 2013;4:4-6 (in Russian).

Информация об авторах

Валерий Анатольевич Зленко, канд. с.-х. наук, доцент, вед. науч. сотр. лаборатории генетики, биотехнологий селекции и размножения винограда; e-мейл: vazlenko@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-3363-8292>;

Ирина Александровна Павлова, канд. биол. наук, ст. науч. сотр., вед. науч. сотр. лаборатории генетики, биотехнологий селекции и размножения винограда; e-мейл: pavlovairinal965@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-0818-8215>;

Виктор Павлович Клименко, д-р с.-х. наук, ст. науч. сотр., зав. лабораторией генетики, биотехнологий селекции и размножения винограда; e-мейл: vikklim@magarach-institut.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7452-0776>;

Екатерина Александровна Лушай, мл. науч. сотр. лаборатории генетики, биотехнологий селекции и размножения винограда; e-мейл: ekaterina.lushai@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-5695-5936>;

Анифе Смаиловна Абдурашитова, мл. науч. сотр. лаборатории генетики, биотехнологий селекции и размножения винограда; e-мейл: abdurashitova97@inbox.ru; <https://orcid.org/0000-0003-2419-6477>;

Мария Игоревна Григоренко, мл. науч. сотр. лаборатории генетики, биотехнологий селекции и размножения винограда; e-мейл: mary_kosuyk@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-8565-0082>;

Анатолий Мканович Авидзба, д-р с.-х. наук, канд. экон. наук, академик РАН, профессор; e-мейл: svodagro@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2354-1374>.

Information about authors

Valery A. Zlenko, Cand. Agric. Sci., Associate Professor, Leading Staff Scientist, Laboratory of Grapevine Genetics, Biotechnologies of Selection and Propagation; e-mail: vazlenko@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-3363-8292>;

Irina A. Pavlova, Cand. Biol. Sci., Senior Staff Scientist, Leading Staff Scientist, Laboratory of Grapevine Genetics, Biotechnologies of Selection and Propagation; e-mail: pavlovairinal965@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-0818-8215>;

Victor P. Klimenko, Dr. Agric. Sci., Senior Staff Scientist, Head of the Laboratory of Grapevine Genetics, Biotechnologies of Selection and Propagation; e-mail: vikklim@magarach-institut.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7452-0776>;

Ekaterina A. Lushchay, Junior Staff Scientist, Laboratory of Grapevine Genetics, Biotechnologies of Selection and Propagation; e-mail: ekaterina.lushai@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-5695-5936>;

Anife S. Abdurashitova, Junior Staff Scientist, Laboratory of Grapevine Genetics, Biotechnologies of Selection and Propagation; e-mail: abdurashitova97@inbox.ru; <https://orcid.org/0000-0003-2419-6477>;

Maria I. Grigorenko, Junior Staff Scientist, Laboratory of Grapevine Genetics, Biotechnologies of Selection and Propagation; e-mail: mary_kosuyk@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-8565-0082>;

Anatoliy M. Avidzba, Dr. Agric. Sci., Cand. Econ. Sci., Academician of the RAS, Professor; e-mail: svodagro@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2354-1374>.

Статья поступила в редакцию 23.10.2023, одобрена после рецензии 15.11.2023, принята к публикации 22.11.2023.