

Научная статья/Research Article

УДК 57.084.1

DOI: 10.36718/1819-4036-2026-1-78-93

Елена Павловна Мякишева¹, Ольга Владимировна Бычкова^{2✉},
Анастасия Викторовна Бережных³, Юлия Романовна Полтарацкая⁴,
Ольга Николаевна Мироненко⁵

^{1,2,3,4,5}Алтайский государственный университет, Барнаул, Россия¹emjak@yandex.ru²olga4ka_asu@mail.ru³nastaynebylitsa@mail.ru⁴lynxclaw@yandex.ru⁵olgmironenko@mail.ru

РАЗРАБОТКА БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЕМОВ СРЕДНЕСРОЧНОГО СОХРАНЕНИЯ ХМЕЛЯ *IN VITRO*

Цель исследования – разработка эффективных биотехнологических приемов среднесрочного сохранения коллекционных образцов хмеля в условиях *in vitro* путем использования питательных сред, позволяющих увеличить продолжительность межпассажных периодов при сохранении жизнеспособности культур. Исследования осуществлялись на базе Алтайского центра прикладной биотехнологии (АлтГУ, Барнаул) в 2025 г. Изучено влияние глюкозы, маннита, нитрата кальция ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$), хлорхолинхлорида (ССС), салициловой кислоты, абсцизовой кислоты (АБК), канамицина, цефотаксима и состава макро- и микроэлементов питательной среды MS на среднесрочное сохранение хмеля пяти сортов в культуре *in vitro*. Перспективность питательных сред зависит от генотипов сохраняемых образцов хмеля. Среда, дополненная 3,5 мг/л $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, поддерживала жизнеспособность регенерантов сортов Фаворит и Брянский на уровне 95 % в течение 12 мес. На данной среде максимальной жизнеспособностью (30 %) характеризовался сорт Таурус. Содержание 1 мг/л АБК в среде обеспечивало 90–100 % сохранность культур в течение 6–7 месяцев, тогда как у сортов Цивильский и Брянский после 1-го года культивирования жизнеспособность составляла 40 %. Применение маннита и СССР показало ограниченную эффективность, сильно зависящую от концентрации и сортовых особенностей. Антибиотик цефотаксим подтвердил свою перспективность, сохраняя до 80 % жизнеспособных эксплантов, тогда как канамицин оказался фитотоксичным и приводил к гибели регенерантов хмеля. Разработанные протоколы позволяют сохранять перспективные генотипы хмеля до 12 мес. в беспересадочной культуре, что имеет большое значение для создания биотехнологических коллекций, снижения трудозатрат и коммерческого применения технологии клонального микроразмножения.

Ключевые слова: *Humulus lupulus* L., беспересадочное культивирование, биотехнологические коллекции, генетическое разнообразие, морфогенез, питательная среда

Для цитирования: Мякишева Е.П., Бычкова О.В., Бережных А.В., и др. Разработка биотехнологических приемов среднесрочного сохранения хмеля *in vitro* // Вестник КрасГАУ. 2026. № 1. С. 78–93. DOI: 10.36718/1819-4036-2026-1-78-93.

Финансирование: исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-64-10040.

Elena Pavlovna Myakisheva¹, Olga Vladimirovna Bychkova²✉, Anastasia Viktorovna Berezhnykh³, Yulia Romanovna Poltaratskaya⁴, Olga Nikolaevna Mironenko⁵

^{1,2,3,4,5}Altai State University, Barnaul, Russia

¹emjak@yandex.ru

²olga4ka_asu@mail.ru

³nastaynebylitsa@mail.ru

⁴lynxclaw@yandex.ru

⁵olgmironenko@mail.ru

DEVELOPMENT OF BIOTECHNOLOGICAL METHODS FOR THE MEDIUM-TERM PRESERVATION OF HOPS *IN VITRO*

The objective of the study is to develop effective biotechnological methods for the medium-term preservation of collection hop accessions in vitro using nutrient media, allowing for increased interpassage periods while maintaining crop viability. Research was conducted at the Altai Center for Applied Biotechnology (Altai State University, Barnaul) in 2025. The effects of glucose, mannitol, calcium nitrate (Ca(NO₃)₂), chlorocholine chloride (CCC), salicylic acid, abscisic acid (ABA), kanamycin, cefotaxime, and the composition of macro- and microelements in the MS nutrient medium on the medium-term preservation of five hop varieties in vitro were studied. The effectiveness of the nutrient media depends on the genotypes of the hop accessions being preserved. Media supplemented with 3.5 mg/l Ca(NO₃)₂ maintained the viability of regenerated Favorit and Bryansky varieties at 95 % for 12 months. On this medium, the Taurus variety demonstrated maximum viability (30 %). A 1 mg/L ABA content in the medium ensured 90–100 % survival of the crops for 6–7 months, while the Tsvilsky and Bryansky varieties had a viability of 40 % after one year of cultivation. The use of mannitol and SSS showed limited effectiveness, depending heavily on concentration and varietal characteristics. The antibiotic cefotaxime proved its potential, preserving up to 80 % of viable explants, while kanamycin proved phytotoxic and led to the death of regenerated hops. The developed protocols allow the preservation of promising hop genotypes for up to 12 months in direct culture, which is of great importance for the creation of biotechnological collections, reducing labor costs, and the commercial application of clonal micropropagation technology.

Keywords: *Humulus lupulus* L., direct cultivation, biotechnological collections, genetic diversity, morphogenesis, nutrient medium

For citation: Myakisheva EP, Bychkova OV, Berezhnykh AV, et al. Development of biotechnological methods for the medium-term preservation of hops *in vitro*. *Bulletin of KSAU*. 2026;(1):78-93. (In Russ.). DOI: 10.36718/1819-4036-2026-1-78-93.

Funding: *This study was supported by grant № 23-64-10040 from the Russian Science Foundation.*

Введение. Современные достижения в области сельскохозяйственной биотехнологии создают огромный потенциал для науки и практики, позволяя не только эффективно размножать и оздоравливать растения, но и мобилизовать генетические ресурсы хозяйственно значимых видов и сортов. Особое значение приобретают методы *in vitro* культивирования, которые активно применяются как для массового размножения растений, так и для сохранения их генетического разнообразия [1, 2].

Сохранение генетического разнообразия растений реализуется в рамках двух основных стратегий: *in situ* – поддержание и восстановление жизнеспособных популяций в естественных условиях их обитания, и *ex situ* – сохранение

компонентов биологического разнообразия вне их природных местообитаний [3]. Несмотря на преимущества сохранения генофонда в естественной среде, многие исследователи отмечают ряд проблем, таких как трудности доступа к растениям, влияние биотических (наводнения, пожары, засухи) и абиотических факторов [4], а также риск генетической эрозии в случае фрагментации местообитаний и сокращения численности популяций [5].

В связи с этим, сохранение *ex situ* считается наиболее эффективным и распространенным инструментом сохранения генетических ресурсов, особенно благодаря деятельности ботанических садов [6]. Среди методов *ex situ* наиболее эффективным считается хранение семян,

однако его применение ограничено для видов с низким производством семян или плохой всхожестью [7].

Для вегетативно размножающихся видов традиционным подходом к сохранению является поддержание клоновых полевых коллекций, которые могут включать большое количество образцов, представляющих широкий спектр генетического разнообразия [8-11]. Однако данный метод имеет свои недостатки: ограниченная доступность качественного посадочного материала, а также, низкая эффективность размножения отдельных генотипов. Кроме того, поддержание полевых коллекций сопряжено с существенными экономическими затратами и риском потерь из-за биотических (патогены, вредители) и абиотических (почвенные или климатические факторы) стрессов. В связи с этим, особую актуальность приобретают альтернативные методы сохранения *ex situ*, включающие создание дублирующих коллекций, например, криобанков пыльцы и ДНК-депозитариев. Эти подходы не только минимизируют риски потери генетического материала, но и обеспечивают долгосрочное сохранение ценных генотипов с максимальной генетической стабильностью.

В настоящее время среди методов сохранения биоразнообразия *ex situ* центральное место занимает метод культивирования *in vitro*, позволяющий поддерживать жизнеспособность меристемных культур в контролируемых условиях в течение продолжительного времени. Данные культуры выполняют двойную функцию: служат стратегическим резервом ценного генофонда и одновременно представляют собой уникальный экспериментальный материал для проведения фундаментальных и прикладных исследований в области генетики, селекции и биотехнологии. Разработка методов сохранения растительного материала в коллекциях *in vitro* в течение длительного периода времени является важной задачей современной биотехнологии.

Возможность депонирования растительного материала изучалась многими учеными на протяжении нескольких десятилетий. В последние годы эти методики существенно усовершенствовались благодаря развитию новых технологий и углублению знаний в области молекулярной биологии, генетики и смежных дисциплин, что значительно расширило возможности их применения для различных групп растений. Успешно используются методы среднесрочного сохране-

ния *in vitro* для овощных [9], декоративных [12, 13], плодовых и ягодных [14, 15], древесных культур [16], а также редких и исчезающих видов растений [17].

Методы сохранения культур *in vitro* в стерильных условиях на питательных средах, рассчитанные на период от нескольких месяцев до нескольких лет, определяются биологическими особенностями конкретных видов растений. Основные подходы включают модификацию условий культивирования путем снижения температуры и интенсивности освещения, а также введение в состав питательных сред специальных соединений, снижающих уровень метаболизма и как следствие замедляющих рост [9, 12-17]. Данные методические приемы обеспечивают эффективное сохранение генетического материала при одновременном сокращении трудозатрат на поддержание коллекций.

Эффективность и выбор конкретного метода сохранения *in vitro* зависят от ряда факторов. Растения, которые сохраняют генетическую стабильность в условиях *in vitro*, легко регенерируют из каллуса или тканей, лучше подходят для длительного хранения. Для среднесрочного сохранения лучше подходят виды устойчивые к низким температурам, осмотическому стрессу или ограничению питательных веществ. Медленно растущие растения (например, древесные или хвойные) лучше сохраняются *in vitro*, чем быстрорастущие виды. Таким образом, методы среднесрочного сохранения *in vitro* наиболее эффективны для растений, которые обладают высокой регенерационной способностью, устойчивостью к стрессу и медленным ростом.

Культивирование коллекций *in vitro*, как правило, сопряжено с рядом существенных ограничений, которые включают биологические риски (инфицирование микроорганизмами, генетическая нестабильность, соматическая изменчивость), технические сложности, а также значительные экономические затраты. Важным направлением минимизации этих недостатков может являться оптимизация условий культивирования, в частности, за счет увеличения продолжительности межпассажных интервалов. Такой подход позволяет снизить частоту манипуляций с культурами, что уменьшает риск контаминации и трудовые затраты, одновременно способствуя поддержанию генетической стабильности за счет сокращения числа субкультивирований.

В Алтайском центре прикладной биотехнологии (АлтГУ, г. Барнаул) создана уникальная коллекция, насчитывающая более 60 генотипов хмеля – ценного технического растения. В собрание вошли как культурные сорта, так и дикорастущие формы, отобранные в ходе экспедиционных исследований из природных популяций юга Западной Сибири [18]. Коллекция представляет значительный интерес для селекционных программ и биотехнологических исследований.

Хмель (*Humulus lupulus* L.) – многолетняя лиана с отмирающими на зиму надземными побегами, характеризуется исключительно высокой скоростью ростовых процессов, достигающей в природных условиях 15–30 см в сутки. Эта биологическая особенность сохраняется при культивировании *in vitro*, что обуславливает необходимость частого (каждые 4–6 недель) пересаживания эксплантов на свежую питательную среду. Однако при длительном культивировании наблюдается сортоспецифичное снижение регенерационного потенциала: после 4–5 пассажей у отдельных генотипов отмечается уменьшение коэффициента размножения и эффективности регенерации [19]. В связи с этим особую актуальность приобретает разработка специализированных протоколов, включающих оптимизацию состава питательных сред, и ре-

жимов культивирования для долгосрочного хранения генетического материала. Эти подходы позволяют минимизировать потерю морфогенетического потенциала при длительном поддержании коллекций хмеля *in vitro*.

Цель исследования – разработка эффективных биотехнологических приемов среднесрочного сохранения коллекционных образцов хмеля в условиях *in vitro* путем использования питательных сред, позволяющих увеличить продолжительность межпассажных периодов при сохранении жизнеспособности культур.

Объекты и методы. В качестве объекта исследования использовали стерильную культуру хмеля пяти сортов в фазе активного роста: Цивильский, Таурус, Флагман, Фаворит и Брянский. Перед депонированием образцы культивировали на питательной среде по прописи Мурасиге и Скуга (MS), содержащей 0,5 мг/л индолмасляной кислоты (ИМК).

Эксперимент состоял из двух этапов. На первом этапе изучалось влияние 16 вариантов питательных сред (табл. 1) на развитие регенерантов сорта Цивильский. По результатам первого этапа были отобраны пять наиболее эффективных питательных сред, которые дополнительно протестировали на сортах Флагман, Таурус, Брянский и Фаворит.

Таблица 1

Состав питательных сред для среднесрочного сохранения хмеля
Composition of nutrient media for medium-term *in vitro* conservation of hops

Номер варианта	Название	Состав питательной среды
1	MS1	MS + глюкоза 20 г/л (контроль)
2	MS2	½ MS + глюкоза 20 г/л
3	MS3	½ MS + глюкоза 20 г/л + (Ca(NO ₃) ₂) 3,5 мг/л
4	MS4	½ MS + глюкоза 40 г/л
5	MS5	½ MS + маннит 10 г/л
6	MS6	½ MS + маннит 20 г/л
7	MS7	½ MS + глюкоза 20 г/л + АБК 0,5 мг/л
8	MS8	½ MS + глюкоза 20 г/л + АБК 1 мг/л
9	MS9	½ MS + глюкоза 20 г/л + салициловая кислота 0,1 мг/л
10	MS10	½ MS + глюкоза 20 г/л + салициловая кислота 1 мг/л
11	MS11	½ MS + глюкоза 20 г/л + CCC 0,2 г/л
12	MS12	½ MS + глюкоза 20 г/л + CCC 0,4 г/л
13	MS13	½ MS + глюкоза 20 г/л + цефотаксим 100 мг/л
14	MS14	½ MS + глюкоза 20 г/л + канамицин 25 мг/л
15	MS15	½ MS + глюкоза 20 г/л + канамицин 50 мг/л
16	MS16	½ MS + глюкоза 20 г/л + канамицин 100 мг/л

Для контроля использовали безгормональную питательную среду MS (MS1). Оценивали влияние следующих компонентов в различных концентрациях: глюкозы, маннита, нитрата кальция ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$), хлорхолинхлорида (CCC), салициловой кислоты, абсцисовой кислоты (АБК), канамицина, цефотаксима и уменьшения вдвое состава макро- и микроэлементов (MS2–MS16). В качестве основного источника углерода использовали глюкозу в концентрации 20 г/л, исключение составили питательные среды, где осмотическими агентами выступали повышенная концентрация глюкозы (MS4) или маннит (MS5, MS6).

Эксплантами служили одноузловые микрочеренки, отобранные из центральной части побега. Для каждого варианта эксперимента повторение составляло не менее 20 растений. В качестве культуральных сосудов использовали пробирки размером 200×21 мм с 15 мл питательной среды.

Растения культивировали в течение 12 мес. без проведения субкультивирования при стандартных условиях: температура в диапазоне 20–22 °С, фотопериод – 16 ч свет и 8 ч темнота, интенсивность освещения – 2 клк.

Согласно авторской методике [20] в ходе исследования фиксировали сроки достижения

различных фаз развития: I фаза – формирование 2 пар настоящих листьев, II – 3–4 пар, III – 5–6 пар, IV – более 7 пар настоящих листьев. Срок фиксировался, при вступлении в него 70 % регенерантов. Через 2, 4, 6, 9 и 12 мес. беспересадочного культивирования регистрировали процент жизнеспособных растений, а также морфологические особенности развития.

Результаты и их обсуждение. Основной задачей депонирования является создание условий, способствующих снижению метаболической активности культур при условии сохранения их жизнеспособности. Для достижения этой цели могут применяться различные подходы, включая модификацию питательных сред. Действие различных компонентов на интенсивность ростовых процессов и сохранение жизнеспособности регенерантов хмеля было изучено на примере сорта Цивильский.

Экспериментальные данные демонстрируют, что введение в питательные среды определенных групп соединений (осмолитиков, ингибиторов роста, антибиотиков) достоверно снижает скорость и силу роста эксплантов, а также сроки вступления в соответствующие фазы развития (рис. 1, табл. 2).

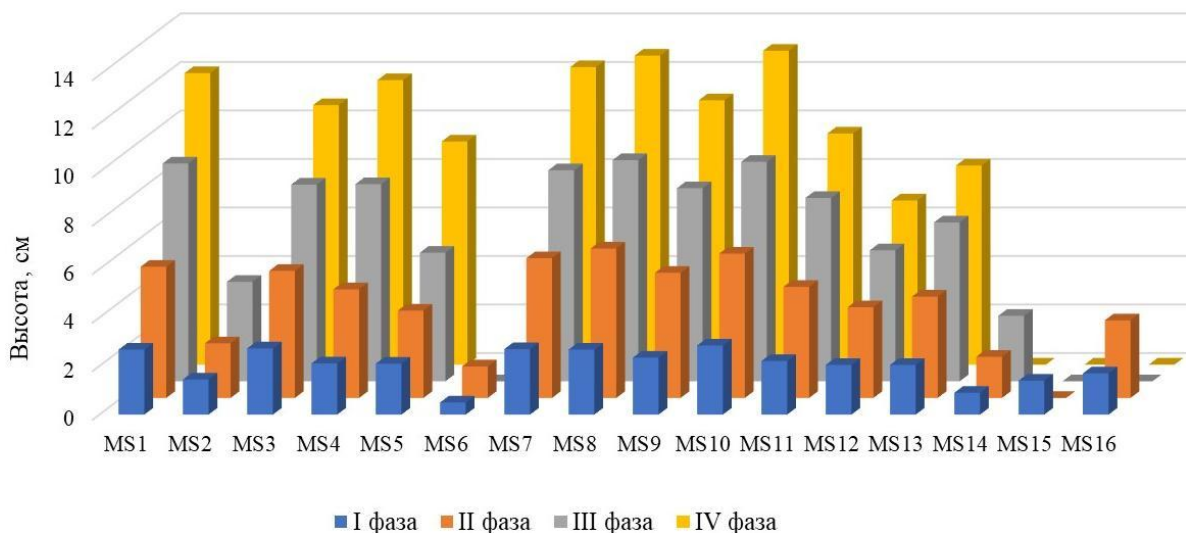


Рис. 1. Высота регенерантов хмеля сорта Цивильский на разных фазах развития
Height of Tsvilsky hop regenerants at different stages of in vitro development

На контрольной питательной среде (MS1) растения хмеля демонстрировали максимальную скорость развития – регенеранты достигали IV фазы на 41-й день культивирования. Осталь-

ные среды в той или иной степени замедляли рост регенерантов. Пять сред не позволили растениям полноценно развиваться и достичь IV фазы (см. табл. 2).

Динамика развития регенерантов хмеля сорта Цивильский
Dynamics of *in vitro* development of Tsivilsky hop regenerants

Питательная среда	Сроки вступления в фазу развития, сут			
	I фаза	II фаза	III фаза	IV фаза
MS1	17	22	32	41
MS2	24	45	50	–
MS3	17	28	40	55
MS4	24	39	43	55
MS5	17	28	47	68
MS6	48	52	–	–
MS7	13	17	36	45
MS8	22	30	42	52
MS9	22	27	34	53
MS10	20	29	39	47
MS11	22	36	51	65
MS12	17	38	43	58
MS13	17	28	39	53
MS14	26	40	59	–
MS15	32	–	–	–
MS16	42	63	–	–

Однако данный тип безгормональной среды не обеспечивал стабильности культуры, и высокая жизнеспособность сохранялась лишь в те-

чение четырех месяцев (табл. 3), что указывает на непригодность среды MS1 для среднесрочного хранения.

Таблица 3

Жизнеспособность регенерантов хмеля сорта Цивильский при среднесрочном хранении, %
Viability of Tsivilsky hop regenerants during medium-term *in vitro* storage, %

Питательная среда	Длительность пассирования, мес.				
	2	4	6	9	12
MS1	100,0	70,0	50,0	10,0	5,0
MS2	100,0	100,0	10,0	10,0	0
MS3	100,0	100,0	90,9	70,0	25,0
MS4	100,0	100,0	89,5	27,2	20,1
MS5	100,0	100,0	84,6	35,0	15,0
MS6	100,0	36,3	0	0	0
MS7	100,0	100,0	92,3	50,0	10,0
MS8	100,0	100,0	100,0	50,0	40,0
MS9	100,0	100,0	100,0	95,0	5,0
MS10	100,0	100,0	100,0	83,0	7,0
MS11	100,0	100,0	80,0	40,0	15,0
MS12	100,0	100,0	81,8	20,0	0
MS13	100,0	100,0	100,0	80,0	5,0
MS14	70,0	10,0	0	0	0
MS15	40,0	0	0	0	0
MS16	70,0	50,0	0	0	0

Согласно литературным данным, использование разбавленных питательных сред (2–8-кратное разведение) является эффективным подходом к депонированию культур *in vitro* [15, 21]. Так, при культивировании эксплантов отдельных сортов груши на таких средах в течение 6 мес. наблюдалась высокая жизнеспособность при низкой пролиферации, тогда как некоторые гибриды сохраняли жизнеспособность лишь до 4 мес. [15]. Эти результаты подчеркивают важность оптимизации условий депонирования для различных генотипов с учетом их специфики.

В нашем исследовании применение питательной среды MS2 с двукратно уменьшенной концентрацией минеральных компонентов, обеспечило значительное торможение ростовых процессов у хмеля в 1,4–2,0 раза по сравнению с контролем MS1 и лишь единичные экземпляры достигали IV фазы развития (см. рис. 1). Все регенеранты сохраняли жизнеспособность в течение 4 мес. (120 сут) культивирования, однако более длительное пассирование (свыше 6 мес.) вызывало гибель до 90 % образцов (см. табл. 3).

В исследованиях, проведенных Н.П. Дорошенко с соавторами, для создания беспересадочной коллекции винограда использовались модифицированные питательные среды, в которых дополнительно присутствовали ионы кальция [14]. Ионы Ca^{2+} играют ключевую роль в регуляции множества процессов в растениях, включая морфогенез, активацию защитных механизмов в ответ на воздействие факторов окружающей среды и патогенов, а также снижение окислительных повреждений при засухе за счет индукции антиоксидантной системы и взаимодействия с фитогормонами [22]. В качестве источников ионов кальция могут выступать такие соли, как хлорид или нитрат кальция, причем в ряде работ отмечено преимущество нитрата кальция перед хлоридом [12].

Использование питательной среды с нитратом кальция (MS3) продемонстрировало значительный эффект в среднесрочном сохранении культур хмеля *in vitro*. Введение данного компонента приводило к умеренному замедлению ростовых процессов (на 6–14 сут) по сравнению с контролем, что свидетельствует о его регуляторном влиянии на метаболизм растений. Ключевым преимуществом использования данной питательной среды явилось сохранение более 90 % жизнеспособных регенерантов в течение 6 мес., а 25 % оставались жизнеспособны до

12 мес. беспересадочного культивирования (см. табл. 3). Растения отличались развитой корневой системой, интенсивной зеленой окраской побегов, отсутствием признаков хлороза на листьях, что свидетельствует об оптимальном минеральном балансе и физиологической стабильности.

По опубликованным данным кальций часто используется как фактор, предотвращающий развитие стресса у растений. Например, в исследованиях, посвященных влиянию ионов кальция на культуры *in vitro* чая (*Camellia sinensis* L.) и медленнорастущей культуры гортензии (*Hydrangea macrophylla* Ser.), было выявлено, что избыток кальция в питательных средах приводит к уменьшению размеров листьев и замедлению кинетики роста. При этом присутствие экзогенного кальция помогает растениям справляться со стрессом, вызванным как длительным культивированием, так и осмотическим стрессом, например, при обогащении среды маннитом. Эти выводы подтверждаются данными биохимического анализа регенерантов, включая уровень содержания пролина и показатели перекисного окисления липидов [12, 13]. Таким образом, полученные в ходе эксперимента результаты позволяют рассматривать добавление нитрата кальция в состав питательной среды как перспективный подход для среднесрочного сохранения хмеля *in vitro*.

Среда MS4 отличалась увеличенной концентрацией глюкозы. Углеводы в питательных средах, помимо своей основной функции – источник энергии, оказывают существенное осмотическое воздействие на культивируемые растения, что, в свою очередь, имитирует условия умеренного водного дефицита, и как следствие, приводит к физиологическому замедлению ростовых процессов *in vitro*. Проведенные исследования на хмеле демонстрируют преимущество глюкозы перед традиционно применяемой в культуре клеток и тканей сахарозой [19]. Глюкоза как углеводный субстрат обеспечивает более эффективное энергоснабжение клеток, проявляет выраженное осморегулирующее действие, способствует поддержанию морфогенетического потенциала, оптимизирует метаболические процессы при длительном культивировании. Эти особенности делают глюкозу предпочтительным выбором для культивирования хмеля *in vitro*, особенно в контексте задач среднесрочного сохранения генетических ресурсов.

Увеличение концентрации глюкозы в питательной среде MS4 показало себя как эффективный способ снижения скорости развития хмеля *in vitro* на 7–14 сут по сравнению со контролем. После 12 мес. беспересадочного культивирования на среде MS4 сохранялось до 20 % жизнеспособных регенерантов. Эти результаты подтверждают перспективность использования глюкозосодержащих сред для среднесрочного хранения коллекционного хмеля.

Применение маннита в качестве углеродного источника в питательной среде MS5 показало выраженное ингибирующее действие на рост хмеля *in vitro*. Сахарный спирт в концентрации 10 г/л вызывал значительное замедление скорости морфогенеза – переход в IV фазу развития задерживался на 27 сут по сравнению с контролем. Однако длительное культивирование, свыше 5 мес., на такой среде приводило к постепенной потере жизнеспособности эксплантов (табл. 3). Увеличение концентрации маннита до 20 г/л (среда MS6) усиливало угнетающее действие на ростовые процессы, сроки образования морфологических структур для регенерантов существенно увеличились и высота растений во II фазе развития составила всего 1,3 см. Концентрация маннита в данной питательной среде оказалась чрезмерной для клеточного метаболизма, и после 4 мес. культивирования наблюдалась массовая гибель регенерантов (более 60 %). Выжившие растения демонстрировали признаки сильного стресса, хлорозные пятна и выраженный некроз тканей. Эти данные свидетельствуют, что маннит может использоваться для временного замедления роста хмелевых культур *in vitro*, однако его применение требует тщательного подбора концентрации и контроля сроков культивирования. Оптимальным представляется использование 10 г/л маннита для краткосрочного (до 4–5 мес.) сохранения коллекционного материала с последующим переводом на стандартные среды.

Использование ретардантов, таких как АБК и ССС, является распространенной практикой в культуре *in vitro* для контроля ростовых процессов. Согласно литературным данным, эти соединения доказали свою эффективность в регулировании развития растений [16, 17, 23, 24]. Абсцизовая кислота представляет особый интерес как природный регулятор роста, обладающий выраженным ингибирующим влиянием на процессы клеточного деления и растяжения, акти-

визируя механизмы стрессоустойчивости растений, а также поддерживая жизнеспособность клеток в условиях *in vitro*.

Применение АБК (среды MS7 и MS8) в питательной среде продемонстрировало высокую эффективность для среднесрочного сохранения хмеля *in vitro*. Экспериментальные данные показали, что концентрация 1,0 мг/л АБК позволяет поддерживать жизнеспособность регенерантов на уровне 90–100 % в течение 6–7 мес. непрерывного культивирования. После 12 мес. культивирования сохраняется до 40 % жизнеспособных эксплантов, что является максимальным результатом для столь продолжительного периода (см. табл. 3). При этом АБК оказывает выраженное регулирующее действие на ростовые процессы, увеличивая сроки формирования характерных морфологических структур к IV фазе на 5–11 сут. по сравнению с контрольным вариантом. Такой эффект достигается благодаря комплексному физиологическому воздействию: активации стресс-адаптационных механизмов, ингибированию процессов клеточного деления и растяжения, а также стабилизации клеточных структур. Эти свойства делают АБК особенно ценным компонентом питательных сред для среднесрочного и долгосрочного сохранения генетических ресурсов хмеля *in vitro*. Важно отметить, что наблюдаемое замедление ростовых процессов не сопровождается потерей морфогенетического потенциала или снижением жизнеспособности культур. Напротив, растения демонстрируют хорошее физиологическое состояние и сохраняют способность к нормальному развитию после переноса на свежие питательные среды. При культивировании хмеля применение АБК позволяет не только замедлить ростовые процессы и увеличить межпассажные интервалы, но и повысить устойчивость эксплантов к стрессовым факторам, характерным для условий *in vitro*. Это особенно важно при среднесрочном и долгосрочном сохранении коллекционного материала. Это подтверждает перспективность использования АБК-содержащих сред в практике работы с коллекциями хмеля, особенно при необходимости длительного беспересадочного культивирования.

Положительное влияние АБК подтверждено в исследованиях при депонировании как древесных, так и травянистых культур. Например, показана возможность хранения культуры березы

карельской (*Betula pendula* var. *Carelica*) в условиях *in vitro* в течение 12 мес. [25]. В работе по сохранению колокольчика жестколистного (*Campanula sclerophylla*) авторы предлагают использовать комплекс факторов, включающий ингибитор роста – АБК (2,0 мг/л), осмотик – сорбит (1,0 мг/л), низкую положительную температуру и неполный состав питательной среды MS [26].

Салициловая кислота – еще одно эндогенное фенольное соединение растений, регулирующее их рост и развитие, состояние антиоксидантной системы, процессы прорастания, фотосинтеза и созревания [27]. Например, при концентрации 0,14–1,0 мг/л салициловая кислота стимулировала корнеобразование у винограда (*Vitis* L.) а также оказывала ингибирующее воздействие на рост побегов [28]. При культивировании подвоев яблонь (*Malus* P. Mill.) добавление 3,0 мг/л салициловой кислоты в питательные среды тормозило рост корней на протяжении всего пассажа [29]. Кроме этого, отмечено, что высокие концентрации салициловой кислоты усиливают окислительный стресс в растениях [27]. Применение салициловой кислоты при среднесрочном хранении хмеля на средах MS9 и MS10 незначительно снижало рост побегов хмеля, при этом способствовало сохранению жизнеспособности регенерантов на уровне 80–95 % после 9 мес. культивирования (см. табл. 3). У регенерантов после 10 мес. культивирования отмечалось отмирание верхушечной части побега.

Хлорхолинхлорид (ССС), как регулятор роста, проявляет свое действие через ингибирование синтеза гиббереллинов, что приводит к выраженному замедлению ростовых процессов, особенно на критических стадиях развития растений. Добавление этого ретарданта в питательные среды MS11 и MS12 существенно повышает уровень эндогенных ингибиторов роста, создавая условия для контролируемого снижения скорости развития *in vitro*. Среди применяемых ретардантов СССР в концентрации 0,4 г/л продемонстрировал наибольшую эффективность в замедлении кинетики роста и развития регенерантов хмеля. Так, переход в IV фазу развития наступал на 24 сут позже, чем в контрольном варианте. При этом, в течение 5 мес. культивирования наблюдалось 100 % сохранение жизнеспособности регенерантов. Дальнейшее увеличение сроков пассирования на средах MS11 и MS12 приводило к снижению жизнеспособности.

Аналогичные результаты были продемонстрированы в ряде работ и для других растений. У лука (*Allium ivasczenkoae*) комбинация СССР с повышенной дозой сахарозы позволила удлинить межпассажные интервалы, снизив жизнеспособность только до 80 % [17]. Применение 0,2–0,4 г/л СССР вместе с 60 г/л сахарозы для хризантемы (*Chrysanthemum* × *morifolium*) в 1,5 раза замедляло рост сохранив жизнеспособность на уровне 95–98 % [30]. В то же время, исследования с лавандой (*Lavandula angustifolia* Mill.) показали, что даже высокие концентрации СССР (200–400 мг/л) не обеспечивали достаточного эффекта и сопровождались значительной потерей жизнеспособности [31]. Эти данные подчеркивают видоспецифичность реакции растений на ретарданты и необходимость индивидуального подхода к разработке протоколов депонирования для каждой культуры.

Антибиотики нашли широкое применение в практике клонального микроразмножения растений, выполняя различные функции в зависимости от этапа культивирования и поставленных задач. Как свидетельствуют многочисленные исследования, эти соединения активно используются как для первичной стерилизации эксплантов [32], так и для химиотерапии инфицированного материала [33]. Примечательно, что в низких дозах антибиотики не только предотвращают бактериальную контаминацию [34], но и могут проявлять неожиданные стимулирующие свойства — от улучшения приживаемости микрочеренков аборигенных сортов винограда [35] до повышения регенерационной способности каллусных культур кукурузы [36] и березы карельской. Наряду с этим, исследователи предлагают использовать антибиотики в качестве ингибитора роста, что подтверждается успешным опытом длительного (7–10 мес.) хранения виноградных культур *in vitro* при добавлении гентамицина [33].

В ходе настоящего эксперимента антибиотики проявили выраженное влияние на ростовые процессы, однако их эффект оказался неоднозначным. Цефотаксим проявил себя как перспективный компонент питательных сред для среднесрочного хранения. В питательной среде MS13 этот антибиотик цефалоспоринового спектра способствовал увеличению срока вступления растений во II–IV фазы развития на 6–12 сут. Кроме этого, растения демонстрировали 100 % жизнеспособность в течение первых 6 мес. бес-

пересадочного культивирования, сохраняя высокий уровень жизнеспособности к 9-му мес. пассирования (80 %). Полученные данные согласуются с результатами других исследований [35, 37], подтверждающие низкую фитотоксичность цефотаксима и его потенциал для использования в растительных биотехнологиях.

Напротив, при использовании питательных сред с канамицином (MS14–MS16) продемонстрирована выраженная фитотоксичность. Уже после 5 недель культивирования наблюдалась полная потеря жизнеспособности эксплантов, которые не могли сформировать более 5 междоузлий. Регенеранты, перешедшие во II и III фазы развития имели изменения в развитии в виде сильного хлороза нижних листьев, некроза стеблевой части и компенсаторного образования воздушных корней, что свидетельствует о глубоком нарушении физиологических процессов. После 5 мес. культивирования, все регенеранты погибали (см. табл. 3).

Эти контрастные результаты подчеркивают важность тщательного подбора типа и концен-

трации антибиотиков для каждой конкретной культуры. Если канамицин оказался непригодным для работы с хмелем из-за выраженного токсического действия, то цефотаксим способен замедлять ростовые процессы без существенного ущерба для жизнеспособности растений, что делает этот антибиотик перспективным компонентом для создания специализированных питательных сред.

Таким образом, для среднесрочного сохранения хмеля сорта Цивильский путем длительного, беспересадочного культивирования *in vitro* были выявлены наиболее перспективные питательные среды – MS3, MS4, MS5, MS8 и MS11. В дальнейшем была проведена оценка эффективности использования данных питательных сред для сохранения четырех перспективных сортов хмеля – Флагман, Таурус, Брянский и Фаворит. Результаты эксперимента выявили выраженные сортоспецифические различия в жизнеспособности регенерантов при длительном культивировании *in vitro* (рис. 2).

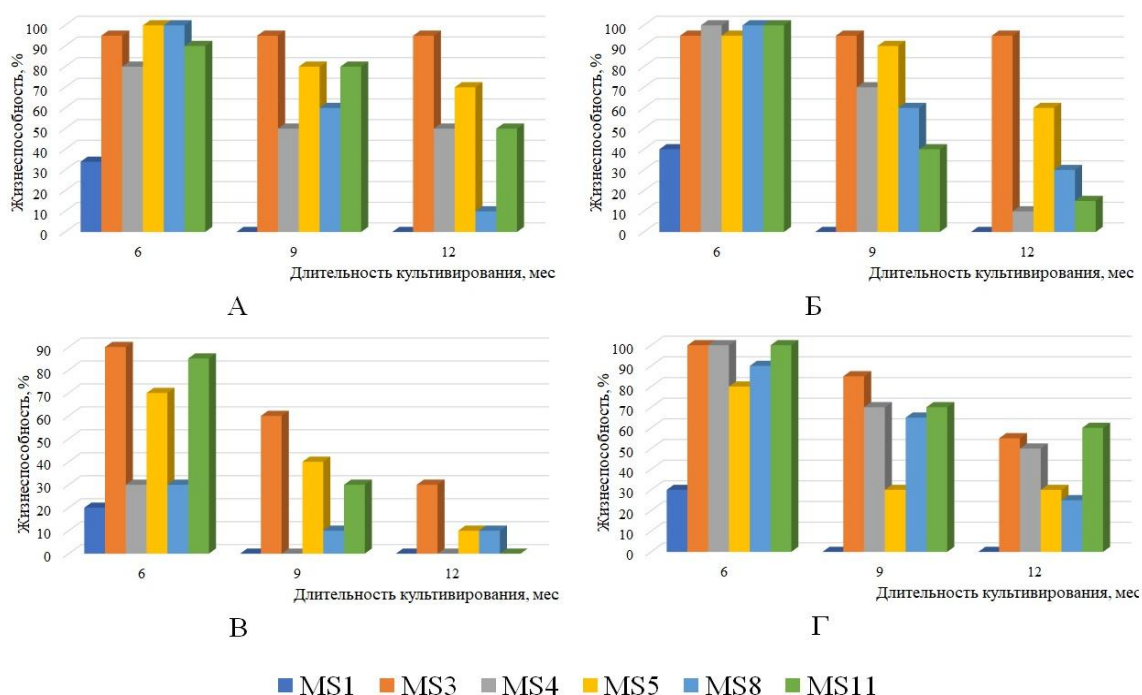


Рис. 2. Жизнеспособность регенерантов хмеля при среднесрочном культивировании *in vitro*:
 А – Фаворит; Б – Брянский; В – Таурус; Г – Флагман
 Viability of hop regenerants during medium-term storage *in vitro*:
 А – Favorit; Б – Bryansky; В – Taurus; Г – Flagman

В течение 4 мес. беспересадочного культивирования на указанных средах сохранялось 100 % жизнеспособных регенерантов у трех сортов, за исключением сорта Таурус, у которо-

го показатель снижался до 80 %. После культивирования хмеля на средах, содержащих ингибиторы роста на протяжении 6 мес. выживаемость регенерантов составляла 70–100 %, на

контрольной среде MS1 – 20–40 %. Важно отметить, что дальнейшее культивирование свыше 6 мес. на среде MS1 приводило к гибели всех образцов. Эти данные убедительно подтверждают необходимость использования специализированных средовых композиций для длительного сохранения регенерантов хмеля *in vitro*.

Содержание культуры хмеля в условиях *in vitro* без субкультивирования в течение одного

года позволило выделить среды, подходящие для среднесрочного сохранения. Все генотипы, показали высокий процент выживаемости на среде MS3 с добавлением нитрата кальция. Например, сорта Фаворит и Брянский сохраняли жизнеспособность в 95 % случаев (рис. 3). Культивирование хмеля сорта Таурус на данной среде в течение 12 мес. способствовало сохранению до 30 % жизнеспособного материала.



Рис. 3. Регенеранты хмеля (сорт Фаворит) через 12 месяцев среднесрочного сохранения на различных питательных средах: А – MS3; Б – MS5; В – MS4
Hop regenerants (Favorit variety) after 12 months of medium-term storage on various nutrient media: А – MS3; Б – MS5; В – MS4

Питательная среда MS4, содержащая 40 г/л глюкозы, поддерживала жизнеспособность сортов Фаворит, Брянский и Флагман на уровне 50–70 % при культивировании в течение 9 мес. При продлении срока пассирования до 1 года эффективность среды сохранялась лишь для сортов Фаворит и Флагман.

Использование среды MS5, содержащей 10 г/л маннита позволило сохранить большой процент жизнеспособных растений сортов Фаворит и Брянский (70 и 60 % соответственно), и 30 % жизнеспособных регенерантов сорта Флагман.

Применение среды MS8 с добавлением АБК обеспечивало высокий процент сохранности культур в течение 6–9 месяцев, и поддерживало жизнеспособность 40 % эксплантов сорта Брянский после годичного культивирования.

Для сорта Флагман выделялось три типа питательных сред MS3, MS4, MS11, при культивировании на которых, выживаемость эксплантов через 12 мес. беспересадочного пассирования варьировала от 50 до 60 %.

Полученные результаты подчеркивают необходимость учета сортоспецифичных реакций регенерантов *in vitro*, что особенно актуально

для создания коллекций, включающих широкий спектр генотипов хмеля.

Заключение. Проведенное исследование позволило разработать эффективные биотехнологические приемы среднесрочного сохранения коллекционных образцов хмеля *in vitro*. Оптимизация состава питательных сред обеспечила значительное увеличение межпассажных интервалов при сохранении высокой жизнеспособности культур.

Исследование выявило сортоспецифичность реакций хмеля при длительном культивировании. Наиболее устойчивые показатели развития демонстрировали сорта Фаворит и Брянский, тогда как Таурус проявлял повышенную чувствительность к химическим модификациям среды и отличался низкой способностью к длительному культивированию.

Наибольшую результативность продемонстрировала среда, обогащенная 3,5 мг/л нитратом кальция ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$), которая поддерживала жизнеспособность регенерантов сортов Фаворит и Брянский на уровне 95 % даже после 12 мес. культивирования.

Абсцизовая кислота в концентрации 1 мг/л проявляла комплексное регуляторное действие и обеспечивала 90–100 % сохранность культур в течение 6–7 мес. при хороших морфологических показателях, а у сортов Цивильский и Брянский после годичного культивирования поддерживалась жизнеспособность 40 % эксплантов.

В то же время применение маннита и хлоролинхлорида (ССС) показало ограниченную эффективность, сильно зависящую от концентрации и сортовых особенностей.

Антибиотики проявили неоднозначное действие: цефотаксим подтвердил свою перспективность, тогда как канамицин оказался фитотоксичным и приводил к гибели регенерантов хмеля. Цефотаксим в дозировке 100 мг/л, демонст-

рируя умеренное ингибирующее действие при минимальной фитотоксичности, показал себя как перспективный регулятор роста. Его применение позволило сохранить 80 % жизнеспособных эксплантов сорта Цивильский в течение 9 мес., что делает данный антибиотик ценным компонентом для среднесрочного хранения коллекционного материала.

Разработанные протоколы питательных сред позволяют сохранять перспективные генотипы хмеля *in vitro* до 12 мес. в беспересадочной культуре, что имеет важное значение для создания биотехнологических коллекций, снижения трудозатрат и коммерческого применения технологии клонального микроразмножения.

Список источников

1. Kaya E. Importance of Plant Biodiversity and longterm Conservation of Plant Genetic Resources via Biotechnological Strategies // Journal of Biosciences and Medicines. 2024. Vol. 12. P. 584–591. DOI: 10.4236/jbm.2024.1211044.
2. Benelli C., Tarraf W., Izgu T., et al. In Vitro Conservation through Slow Growth Storage Technique of Fruit Species: An Overview of the Last 10 Years // Plants. 2022. Vol. 11. P. 3188. DOI: 10.3390/plants11233188.
3. Конвенция о биологическом разнообразии: принята в г. Рио-де-Жанейро 05.06.1992. Доступно по: <https://cbd.int/convention/text>. Ссылка активна на 25.07.2025.
4. Хлесткина Е.К., Чухина И.Г. Генетические ресурсы растений: стратегия сохранения и использования // Вестник Российской академии наук. 2020. Т. 90, № 6. С. 522–527. DOI: 10.31857/S0869587320060043.
5. Bosse M., van Loon S. Challenges in quantifying genome erosion for conservation // Front. Genet. 2022. Vol. 13. Art. 960958. DOI: 10.3389/fgene.2022.960958.
6. Gorbunov Yu.N., Kuzevanov V.Ya. The Role of Russian Botanical Gardens in plant biodiversity conservation. In: *Botanical Gardens and their role in plant conservation*. European and American Botanical Gardens. Vol. 3. CRC Press., 2023. P. 63–89. DOI: 10.1201/9781003282556-4.
7. Швачко Н.А., Хлесткина Е.К. Молекулярно-генетические основы устойчивости семян к окислительному стрессу при хранении // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2020. Т. 24, № 5. С. 451–458. DOI: 10.18699/VJ20.47-о.
8. Сорокопудова О.А., Артюхова А.В. К организации полевых коллекций многолетних травянистых растений во Всероссийском селекционно-технологическом институте садоводства и питомниководства // Плодоводство и ягодоводство России. 2018. Т. 55. С. 208–212.
9. Овэс Е.В., Гаитова Н.А., Шишкина О.А. Сохранение сортовых ресурсов картофеля в полевой и *in vitro* коллекциях Федерального исследовательского центра картофеля им. А.Г. Лорха // Биотехнология и селекция растений. 2022. Т. 5, № 1. С. 28–41. DOI: 10.30901/2658-6266-2022-1-о5.
10. Осипова Ю.С., Леонтьева В.В., Дементьев Д.А. Оценка сортов коллекции хмеля обыкновенного (*Humulus lupulus* L.) по хозяйственно важным признакам // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2022. Т. 23, № 2. С. 194–202. DOI: 10.30766/2072-9081.2022.23.2.194-202.
11. Никонова З.А., Короткова З.П. Создание и сохранение коллекции хмеля обыкновенного в качестве генофонда для селекции // Нива Поволжья. 2017. № 4. С. 104–108. DOI: 10.24412/feqwlgnaqhy.
12. Малюкова Л.С., Конинская Н.Г. Влияние кальция на физиолого-биохимические параметры гидрангеи крупнолистной (*Hydrangea macrophylla* Ser.) в медленнорастущей культуре *in vitro* //

- Плодоводство и виноградарство Юга России. 2020. № 66 (6). С. 270–283. DOI: 10.30679/2219-5335-2020-6-66-270-283.
13. Нечаева Т.Л., Зубова М.Ю., Малюкова Л.С., и др. Адаптация *in vivo* и *in vitro* растений *Camellia sinensis* (L.) Kuntze к действию кальция // Субтропическое и декоративное садоводство. 2021. № 78. С. 66–76. DOI: 10.31360/2225-3068-2021-78-66-76.
 14. Дорошенко Н.П. Модификация питательной среды для депонирования винограда *in vitro* // Русский виноград. 2017. Т. 6. С. 8–16.
 15. Ташматова Л.В., Высоцкий В.А., Джафарова В.Е. Клональное микроразмножение и депонирование груши *in vitro*. Орел: ВНИИСПК, 2015. 18 с.
 16. Шабанова Е.А., Внукова Н.И., Машкина О.С. Влияние модификаций состава питательных сред на эффективность длительного хранения *in vitro* клонов тополя и осины // Вестник ВГУ. Серия «Химия. Биология. Фармация». 2020. № 1. С. 42–49.
 17. Силантьева М.М., Мироненко О.Н., Овчарова Н.В., и др. Фитоценотическая приуроченность хмеля обыкновенного на юге Западной Сибири // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2024. Т. 185, № 4. С. 20–31. DOI: 10.30901/2227-8834-2024-4-20-31.
 18. Гашенко О.А., Кастрицкая М.С., Кухарчик Н.В. Микроразмножение сортов хмеля в культуре *in vitro* // Субтропическое и декоративное садоводство. 2019. № 68. С. 111–118. DOI: 10.31360/2225-3068-2019-68-111-118.
 19. Мякишева Е.П., Бычкова О.В., Мироненко О.Н. Новые элементы оценки морфогенеза регенерантов хмеля *in vitro* // Аграрный научный журнал. 2024. № 5. С. 40–46. DOI: 10.28983/asj.y2024i5pp40-46. EDN: UGXNVZ.
 20. Иванова Н.Н., Корзина Н.В., Цюпка В.А., и др. Влияние условий сохранения *in vitro* на жизнеспособность и генетическую стабильность садовых растений // Таврический вестник аграрной науки. 2024. № 2. С. 53–66. DOI: 10.5281/zenodo.12178658.
 21. Negi N.P., Prakash G., Narwal P., et al. The calcium connection: exploring the intricacies of calcium signaling in plant-microbe interactions // Front. Plant Sci. 2023. Vol. 14. Art. 1248648. DOI: 10.3389/fpls.2023.1248648.
 22. Kumar S., Shah S., Vimala Y., et al. Absciscic acid: Metabolism, transport, crosstalk with other plant growth regulators, and its role in heavy metal stress mitigation // Frontiers in Plant Science. 2022. Vol. 13. Art. 972856. DOI: 10.31857/S0006813620030072.
 23. Круглова Н.Н., Сельдиминова О.А., Зинатуллина А.Е., и др. Абсцизовая кислота в системах культуры *in vitro* эксплантов // Известия Уфимского научного центра РАН. 2018. № 2. С. 55–60. DOI: 10.31040/2222-8349-2018-0-2-55-60.
 24. Концевая И.И. Эффект абсцизовой кислоты при депонировании карельской березы в культуре *in vitro* // Бюллетень науки и практики. 2018. Т. 4, № 7. С. 11–16.
 25. Маляровская В.И., Шуркина Е.С. Влияние факторов культивирования на длительность депонирования *in vitro* эндемичного вида *Campanula sclerophylla* Kolak. // Субтропическое и декоративное садоводство. 2022. № 81. С. 98–106. DOI: 10.31360/2225-3068-2022-81-98-106.
 26. Лубянова А.А., Безрукова М.В., Шакирова Ф.М. Взаимодействие сигнальных путей при формировании защитных реакций растений в ответ на стрессовые факторы окружающей среды // Физиология растений. 2021. Т. 68, № 6. С. 563–578.
 27. Дорошенко Н.П., Пузырнова В.Г. Способы замедления ростовых процессов для создания коллекции генофонда винограда *in vitro* // Субтропическое и декоративное садоводство. 2024. № 88. С. 102–122. DOI: 10.31360/2225-3068-2024-88-102-122.
 28. Шапорева В.А., Змушко А.А., Колбанова Е.В. Влияние салициловой кислоты на ризогенез растений-регенерантов подвоев яблони в культуре *in vitro* // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя біялагічных навук. 2017. № 4. С. 75–80.
 29. Митрофанова И.В., Иванова Н.Н., Митрофанова О.В., и др. Особенности депонирования хризантемы садовой в условиях *in vitro* // Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада. 2019. № 131. С. 110–117.

30. Егорова Н.А., Ставцева И.В., Коваленко М.С. Длительное хранение сортов лаванды в культуре *in vitro* при использовании питательных сред разного состава // Таврический вестник аграрной науки. 2024. № 3. DOI: 10.5281/zenodo.13782781.
31. Сухопаров А.А., Лебедев А.Н., Темиров К.С. Влияние различных способов стерилизации эксплантов гороха при введении в культуру *in vitro* // Международный научно-исследовательский журнал. 2023. № 11. С. 56–61. DOI: 10.23670/IRJ.2023.137.56.
32. Дорошенко Н.П., Жукова Т.В. Совместное применение антибиотиков гентамицин и цефотаксим при культивировании винограда *in vitro* // Русский виноград. 2015. Т. 1. С. 67–71.
33. Tewelde S., Patharajan S., Teka Z., et al. Assessing the efficacy of broad-spectrum antibiotics in controlling bacterial contamination in the *in vitro* micropropagation of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) // The Scientific World Journal. 2020. Vol. 2020. Art. 6431301. DOI: 10.1155/2020/6431301.
34. Дорошенко Н.П., Ребров А.Н., Трошин Л.П. Биотехнология оздоровления и сохранения аборигенных донских сортов винограда // Научный журнал КубГАУ. 2019. № 154. С. 327–345. DOI: 10.21515/1990-4665-154-031.
35. Концевая И.И. Применение антибиотиков для оптимизации микроразмножения *Betula pendula* var. *carelica* Merckl. // Бюллетень науки и практики. 2018. Т. 4, № 5. С. 68–73.
36. Verhaegen M., Bergot T., Liebana E., et al. On the use of antibiotics to control plant pathogenic bacteria: a genetic and genomic perspective // Front. Microbiol. Vol. 14. Art. 1221478. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1221478.

References

1. Kaya E. Importance of Plant Biodiversity and longterm Conservation of Plant Genetic Resources via Biotechnological Strategies. *Journal of Biosciences and Medicines*. 2024;12:584-591. DOI: 10.4236/jbm.2024.1211044.
2. Benelli C, Tarraf W, Izgu T, et al. In vitro conservation through slow growth storage technique of fruit species: an overview of the last 10 years. *Plants*. 2022;11:3188. DOI: 10.3390/plants11233188.
3. Convention on Biological Diversity: adopted in Rio de Janeiro on 05.06.1992. Available at: <https://cbd.int/convention/text>. Accessed: 07.25.2025.
4. Khlestkina EK, Chukhina IG. Plant genetic resources: conservation and use strategy. *Bulletin of the RAS*. 2020;90(6):522-527. (In Russ.). DOI: 10.31857/S0869587320060043.
5. Bosse M, van Loon S. Challenges in quantifying genome erosion for conservation. *Front. Genet*. 2022;13:960958. DOI: 10.3389/fgene.2022.960958.
6. Gorbunov YuN, Kuzevanov VYa. The Role of Russian Botanical Gardens in Plant Biodiversity Conservation. In: *Botanical Gardens and their role in plant conservation. European and American Botanical Gardens*. Vol. 3. CRC Press., 2023:63-89. DOI: 10.1201/9781003282556-4.
7. Shvachko NA, Khlestkina EK. Molecular genetic bases of seed resistance to oxidative stress during storage. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2020;24(5):451-458. (In Russ.). DOI: 10.18699/VJ20.47-o.
8. Sorokopudova OA, Artyukhova AV. To the organization of field collections of perennial herbaceous plants at the all-russian horticultural institute for breeding, agrotechnology and nursery. *Pomiculture and small fruits culture in Russia*. 2018;55:208-212. (In Russ.).
9. Oves EV, Gaitova NA, Shishkina OA. Maintenance of potato varieties in in vitro and field collections of the Russian Potato Research Centre. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2022;5(1):28-41. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2022-1-o5.
10. Osipova YuS, Leontieva VV, Dementiev DA. Evaluation of varieties of common hop (*Humulus lupulus* L.) collection according to agronomic traits. *Agricultural Science Euro-North-East*. 2022;23(2):194-202. (In Russ.). DOI: 10.30766/2072-9081.2022.23.2.194-202.
11. Nikonova ZA, Korotkova ZP. Creating and preservation of collections of hop as the gene fund for breeding. *Volga Region Farmland*. 2017;4(45):104-108. (In Russ.). DOI: 10.24412/feqwignakhy.
12. Malyarovskaya V, Malyukova L, Koninskaya N. Effect of calcium the physiological and biochemical parameters of large-bed hydrangea (*Hydrangea macrophylla* Ser.) in a slow-growing culture *in vitro*.

- Fruit growing and viticulture of South Russia*. 2020;66(6):270-283. (In Russ.). DOI: 10.30679/2219-5335-2020-6-66-270-283.
13. Nechaeva TL, Zubova MYu, Malyukova LS et al. Adaptation of *In vivo* and *in vitro* propagated *Camellia sinensis* (L.) Kuntze plants to the action of calcium. *Subtropical and ornamental horticulture*. 2021;78:66-76. (In Russ.). DOI: 10.31360/2225-3068-2021-78-66-76.
 14. Doroshenko NP. Modification of the nutrient medium for the deposit of grape *in vitro*. *Russian vine*. 2017;6:8-16. (In Russ.).
 15. Tashmatova LV, Vysotsky VA, Dzhaferova VE. *Clonal micropropagation and deposition of pear in vitro*. Orel; 2015. Vol. 18. (In Russ.).
 16. Shabanova EA, Vnukova NI, Mashkina OS. Influence of modifications in the composition of nutrient media on the effectiveness of *in vitro* long-term storage of poplar and aspen clones. *Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*. 2020;1:42-49. (In Russ.).
 17. Silantyeva MM, Mironenko ON, Ovcharova NV, et al. Phytocenotic arrangement of the common hop in the South of Western Siberia. *Proceedings on applied botany, genetics and breeding*. 2024;185(4):20-31. (In Russ.). DOI: 10.30901/2227-8834-2024-4-20-31.
 18. Gashenko OA, Kastritskaya MS, Kukharchik NV. *In vitro* micropropagation of hop cultivars. *Subtropical and ornamental horticulture*. 2019;68:111-118. (In Russ.). DOI: 10.31360/2225-3068-2019-68-111-118.
 19. Myakisheva E, Bychkova O, Mironenko O. New elements for assessing the morphogenesis of hops regenerants *in vitro*. *Agrarian Scientific Journal*. 2024;5:40-46. (In Russ.). DOI: 10.28983/asj.y2024i5pp40-46. EDN: UGXNVZ.
 20. Ivanova NN, Korzina NV, Tsyupka VA, et al. Influence of *in vitro* preservation on viability and genetic stability of garden plants. *Taurida Herald of the Agrarian Sciences*. 2024;2(38):53-66. (In Russ.). EDN: UPRRPG. DOI: 10.5281/zenodo.12178658.
 21. Negi NP, Prakash G, Narwal P, et al. The calcium connection: exploring the intricacies of calcium signaling in plant-microbe interactions. *Front. Plant Sci*. 2023;14:1248648. DOI: 10.3389/fpls.2023.1248648.
 22. Kumar S, Shah S, Vimala Y, et al. Absciscic acid: Metabolism, transport, crosstalk with other plant growth regulators, and its role in heavy metal stress mitigation. *Frontiers in Plant Science*. 2022;13(972856). DOI: 10.31857/S0006813620030072.
 23. Kruglova NN, Seldimirova OA, Zinatullina AE, et al. Absciscic acid in the *in vitro* culture explant systems. *Proceedings of the RAS Ufa Scientific Centre*. 2018;2:55-60. (In Russ.). DOI: 10.31040/2222-8349-2018-0-2-55-60.
 24. Kontsevaya I. Effect of absciscic acid on depositing of the Karelian birch *in vitro*. *Bulletin of Science and Practice*. 2018;4(7):11-16. (In Russ.).
 25. Malyarovskaya VI, Shurkina ES. Influence of cultivation factors on the duration of *in vitro* deposition of the endemic species *Campanula sclerophylla* Kolak. *Subtropical and ornamental horticulture*. 2022;81:98-106. (In Russ.). DOI: 10.31360/2225-3068-2022-81-98-106.
 26. Lubyanova AR, Bezrukova MV, Shakirova FM. Interaction of signaling pathways in the formation of plant protective reactions in response to environmental stress factors. *Russian journal of plant physiology*. 2021;68(6):563-578. (In Russ.).
 27. Doroshenko NP, Puzyrnova VG. Ways to slow down growth processes for creating a grapevine gene pool collection *in vitro*. *Subtropical and ornamental horticulture*. 2024;88:102-122. (In Russ.). EDN: UQBLAC. DOI: 10.31360/2225-3068-2024-88-102-122.
 28. Shaporeva VA, Zmushko AA, Kolbanova EV. Effect of salicylic acid on rhizogenesis of apple rootstock microplants in *in vitro* conditions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus*. 2017;4:75-80.
 29. Mitrofanova IV, Ivanova NN, Mitrofanova OV, et al. Features of deposition of garden chrysanthemum under *in vitro* conditions. *Bulletin of the State Nikitsky Botanical Gardens*. 2019;131:110-117. (In Russ.). DOI: 10.25684/NBG.boilt.131.2019.15.
 30. Egorova NA, Stavtzeva IV, Kovalenko MS. Long-term storage of lavender cultivars *in vitro* using culture media of different compositions. *Taurida Herald of the Agrarian Sciences*. 2024;3(39):58-71. (In Russ.). EDN: PDRVBB. DOI: 10.5281/zenodo.13782781.

31. Sukhoparov AA, Lebedev AN, Temirov KS, et al. Influence of different methods of sterilization of pea explants when introduced into culture *in vitro*. *International Research Journal*. 2023;11(137):56-61. (In Russ.). DOI: 10.23670/IRJ.2023.137.56.
32. Doroshenko NP, Zhukova TV. Combined application of antibiotics gentamicin and cefotaxime for cultivation of grapevine *in vitro*. *Russian vine*. 2015;1:67-71. (In Russ.).
33. Tewelde S, Patharajan S, Teka Z, et al. Assessing the efficacy of broad-spectrum antibiotics in controlling bacterial contamination in the *in vitro* micropropagation of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.). *The Scientific World Journal*. 2020; 2020:6431301. DOI: 10.1155/2020/6431301.
34. Doroshenko NP, Rebrov AN, Troshin LP. Biotechnology of improvement and preservation of native don grape varieties. *Scientific Journal of KubSAU*. 2019;154:327-345. (In Russ.). DOI: 10.21515/1990-4665-154-031.
35. Kontsevaya I. Use of antibiotics to optimize micropropagation of *Betula pendula* var. *carelica* Merckl. *Bulletin of Science and Practice*. 2018;4(5):68-73. (In Russ.).
36. Verhaegen M, Bergot T, Liebana E, et al. On the use of antibiotics to control plant pathogenic bacteria: a genetic and genomic perspective. *Front. Microbiol.* 2023;14:1221478. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1221478.

Статья принята к публикации 12.01.2026 / The article accepted for publication 12.01.2026.

Информация об авторах:

Елена Павловна Мякишева, заведующая лабораторией Алтайского центра прикладной биотехнологии

Ольга Владимировна Бычкова, ведущий научный сотрудник Алтайского центра прикладной биотехнологии, кандидат сельскохозяйственных наук

Анастасия Викторовна Бережных, младший научный сотрудник Алтайского центра прикладной биотехнологии

Юлия Романовна Полтарацкая, лаборант-исследователь Алтайского центра прикладной биотехнологии

Ольга Николаевна Мироненко, директор Алтайского центра прикладной биотехнологии, кандидат биологических наук

Information about the authors:

Elena Pavlovna Myakisheva, Head of Laboratory, Altai Center for Applied Biotechnology

Olga Vladimirovna Bychkova, Leading Researcher, Altai Center for Applied Biotechnology, Candidate of Agricultural Sciences

Anastasia Viktorovna Berezhnykh, Junior Researcher, Altai Center for Applied Biotechnology

Yulia Romanovna Poltaratskaya, Laboratory Research Assistant, Altai Center for Applied Biotechnology

Olga Nikolaevna Mironenko, Director, Altai Center for Applied Biotechnology, Candidate of Biological Sciences

