



ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

http://ecobiotech-journal.ru



ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭМБРИОКУЛЬТУРЫ ДЛЯ ОТБОРА *IN VITRO* ФОРМ КОРИАНДРА, УСТОЙЧИВЫХ К НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОМУ СТРЕССУ

Егорова Н.А., Ставцева И.В.

Научно исследовательский институт сельского хозяйства
Крыма, Симферополь,
E-mail: yegorova.na@mail.ru

Одним из наиболее популярных ароматических растений, которое выращивается во многих странах мира, является кориандр посевной (*Coriandrum sativum*). В связи с проведением селекции сортов, пригодных для возделывания при озимом сроке сева, перспективна разработка биотехнологических методов создания устойчивых к низким температурам генотипов. Целью работы было изучение действия низкотемпературного стресса на развитие изолированных зиготических зародышей с целью создания селективной системы отбора устойчивых к этому фактору форм кориандра *in vitro*. На питательных средах культивировали зародыши 7 сортов и селекционных образцов, различающихся по полевой зимостойкости. Определены особенности развития эмбриокультур при разных вариантах стрессового воздействия и сублетальные режимы для формирования проростков. Показано, что для моделирования низкотемпературного стресса необходимо проводить закаливание (4 суток при $2\pm 2^\circ\text{C}$), промораживание (при снижении температуры от 0 до -8°C в течение 7 суток) и оттаивание эксплантов (2 суток при $2\pm 2^\circ\text{C}$). Установлена корреляция между зимостойкостью генотипов и основными показателями развития эмбриокультур (коэффициенты корреляции 0,71-0,96), что свидетельствует о возможности отбора форм *C. sativum*, устойчивых к действию отрицательной температуры *in vitro*.

Ключевые слова: *Coriandrum sativum* L., клеточная селекция, культура изолированных зародышей, низкотемпературный стресс

USE OF EMBRIO CULTURE FOR SELECTION *IN VITRO* OF CORIANDER FORMS, RESISTANT TO LOW-TEMPERATURE STRESS

Yegorova N.A., Stavtseva I.V.

Research Institute of Agriculture of Crimea,
Simferopol
E-mail: yegorova.na@mail.ru

One of the most popular aromatic plants grown worldwide is *Coriandrum sativum*. In connection with the breeding of cultivars suitable for cultivation with winter sowing, the development of biotechnological methods for creating genotypes resistant to low-temperatures is promising. The aim of the work was to study the effect of low-temperature stress on the development of isolated zygotic embryos in order to create a selective system for selecting *in vitro* coriander forms resistant to this factor. Embryos of 7 varieties and breeding samples differing in winter hardiness were cultivated on nutrient media. The features of the embryo cultures development under different variants of stress exposure and sublethal regimes for the formation of seedlings were determined. For modeling low-temperature stress, it is necessary to conduct hardening (4 days at $2\pm 2^\circ\text{C}$), freezing (with a decrease of temperature from 0 to -8°C during 7 days) and defrosting of explants (2 days at $2\pm 2^\circ\text{C}$). The correlation between the winter hardiness of genotype and the main indicators of embryo culture development (correlation coefficients 0,71-0,96) was found. This demonstrates the possibility to select *C. sativum* forms resistant to the negative temperature *in vitro*.

Keywords: *Coriandrum sativum* L., cell selection, embryo culture, low-temperature stress

Поступила в редакцию: 3.09.2019

DOI: [10.31163/2618-964X-2019-2-3-369-377](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2019-2-3-369-377)

ВВЕДЕНИЕ

Кориандр посевной (*Coriandrum sativum* L.), однолетнее травянистое растение семейства Сельдереиные, является одним из наиболее популярных ароматических растений во многих странах мира. В России, в том числе в Крыму, кориандр последние годы занимает

наибольшие площади промышленных посевов по сравнению с другими эфирноносими [Паштецкий и др., 2018]. Это в значительной степени связано с широким спектром использования его плодов, которые применяются как пряность, а также для получения эфирного и жирного масла. Сушеные плоды кориандра добавляют в качестве ароматизатора в консервы, маринады, копчености, винно-водочные изделия, а зеленые листья – в салаты. Кориандровое эфирное масло содержит свыше 20 компонентов и чаще всего из него получают линалоол, цитраль, гераниол, цитронеллол, которые используют при изготовлении парфюмерно-косметических изделий. Применение этого растения в медицине при лечении заболеваний пищеварительного тракта, дыхательных и мочевыводящих путей обусловлено его антибактериальным, болеутоляющим, противоспазматическим, желчегонным и антиоксидантными свойствами [Bhat et al., 2014]. Жирное масло применяют в мыловарении, текстильной и лакокрасочной промышленности.

Существенным элементом инновационного развития эфиромасличной отрасли является создание и внедрение в производство новых сортов с высокой урожайностью и содержанием эфирного масла. В Крыму и других регионах России возделываются несколько сортов *C. sativum*, оригинатором которых является ФГБУН «НИИСХ Крыма» [Паштецкий и др., 2018]. В настоящее время перспективным направлением селекции этой культуры является выведение сортов, пригодных для возделывания при озимом сроке сева. Выращивание сортов кориандра с высокой зимостойкостью обеспечивает повышение их урожайности в 1,5-2 раза по сравнению с таковой при яровом сроке посева [Скиба, Кравченко, 2018]. Однако для этого необходим исходный материал, устойчивый к действию низких температур. Биотехнологический метод клеточной селекции позволяет создавать генотипы, устойчивые к отдельным биотическим или абиотическим стрессовым факторам, – болезням, гербицидам, засолению почв, засухе и другим [Сидоров, 1990; Калашникова, 2012, Дубровная, 2017]. При разработке методов отбора резистентных форм в изолированной культуре очень важно подобрать оптимальные объекты и схемы селекции, типы и дозы селективного фактора, обеспечить регенерацию устойчивых форм и решить многие другие методологические задачи. В качестве объектов для отбора *in vitro* чаще всего используют каллусные или суспензионные культуры [Rai et al., 2011; Никитина и др., 2013; Егорова, 2014; Россеев и др., 2016; Круглова и др., 2018]. Значительно реже для отбора *in vitro* применяют изолированные органы. Так, для селекции в изолированной культуре у ячменя, пшеницы и шалфея применяли зиготические зародыши [Сидоров, 1990; Игнатова, 2011; Егорова, Ставцева, 2013], а у рапса и банана – микрорастения [Burbulis et al., 2008; Marssaro et al., 2017]. При получении устойчивых к фузариозу форм люцерны показана эффективность последовательного применения различных биотехнологических объектов [Игнатова, 2011].

Разработке методов клеточной селекции на устойчивость к низкотемпературному стрессу посвящено мало работ. При отборе морозоустойчивых линий *in vitro* часто используют несколько этапов, включающих закаливание культур при положительных температурах, промораживание и оттаивание [Bartolozzi et al., 2001; Rugienius, Stanys, 2001; Kondic-Sipka et al., 2006; Lukoseviciute et al., 2007; Burbulis et al., 2008]. Однако используемые биотехнологические объекты, режимы обработки, продолжительность и схемы клеточной селекции очень отличались и зависели от вида растения, регенерационного потенциала в культуре органов и тканей, наличия методик получения растений и многих других факторов.

Биотехнологические исследования *C. sativum* в основном касаются индукции эмбриогенного каллуса и регенерации из него растений при использовании различных типов эксплантов [Murthy et al., 2008; Егорова, 2014; Ali et al., 2017; 2018]. Вопросы клеточной селекции, судя по имеющимся данным, были затронуты у этого вида только при получении устойчивых к засухе клеточных линий на среде с 0,25-1,50% полиэтиленгликоля [Babu et al., 2015]. В задачи нашей работы входило изучение действия низкотемпературного стресса на развитие изолированных зиготических зародышей с целью разработки селективной системы отбора устойчивых к этому фактору форм кориандра *in vitro*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследований служили органы кориандра посевного (*Coriandrum sativum* L.), выращенного в условиях предгорной зоны Крыма, на научно-производственной базе «НИИСХ Крыма» в Белогорском районе. Использовали сорта и селекционные образцы, различающиеся по полевой зимостойкости: Медун (98,0%), Нектар (91,3%), R 2891 (66,0%), Янтарь (54,7%), R 2792 (45,0%), R 2795 (33,0%) и Ранний (23,0%). Зимостойкость кориандра оценивали прямым полевым методом согласно методическим указаниям [Сергеева, Сильченко, 1989].

В качестве эксплантов использовали зиготические зародыши, выделенные из зрелых семян. Приготовление питательных сред, введение в изолированную культуру и культивирование органов проводили с применением традиционных методик, принятых в работах по культуре тканей [Калинин и др., 1980], а также разработанных нами ранее [Егорова, Ставцева, 2011]. Стерилизацию плодов проводили в 0,1 % растворе диацета 2 мин с последующей 3-х разовой промывкой автоклавированной водой. Затем зародыши вычленили под микроскопом МБС-9, помещали в пробирки на безгормональную питательную среду Мурасиге и Скуга (МС) и переносили в холодильную камеру.

Моделирование низкотемпературного стресса включало три этапа: закаливание (при температуре $2\pm 2^{\circ}\text{C}$ в течение 4, 8, 12 и 16 суток), 3 варианта промораживания (при снижении температуры от 0 до -8°C или -10°C в течение 3 и 7 суток) и оттаивание (2 суток при $2\pm 2^{\circ}\text{C}$) (табл.1). Кроме того, изучали варианты с промораживанием и добавлением в питательную среду МС 200 мг/л пролина. После культивирования в холодильной камере зародыши пересаживали на свежую питательную среду, и пробирки переносили в культуральную комнату, где выращивали при $26\pm 2^{\circ}\text{C}$, 70%-ой влажности и освещенности 2-3 клк с 16-часовым фотопериодом. В контрольном варианте зародыши культивировали постоянно при $26\pm 2^{\circ}\text{C}$. В культуре изолированных зародышей анализировали на 10-е сутки частоту прорастания зародышей (%) и на 30-е сутки – частоту образования проростков (%). На 40-е сутки перед переводом в обычные условия выращивания измеряли длину основного побега, длину главного корня и количество листьев. После адаптации *in vivo* растения выращивали в полевых условиях.

В каждом варианте опыта анализировали не менее 20 зародышей в 3-х кратной повторности. Все эксперименты повторены не менее 2-х раз, а полученные данные обработаны статистически с использованием программы Microsoft Office Excel 2007. В таблицах представлены средние арифметические значения и ошибки средних.

Таблица 1. Варианты опыта по изучению действия низкотемпературного стресса на развитие зародышей кориандра *in vitro*

Вариант опыта	Длительность закаливания ($2\pm 2^{\circ}\text{C}$), сут	Условия промораживания		Добавки в питательную среду МС
		температура	длительность, сут	
1	4	0 – -8°C	3	–
2	8	0 – -8°C	3	–
3	12	0 – -8°C	3	–
4	16	0 – -8°C	3	–
5	4	0 – -8°C	7	–
6	8	0 – -8°C	7	–
7	12	0 – -8°C	7	–
8	16	0 – -8°C	7	–
9	4	0 – -10°C	7	–
10	8	0 – -10°C	7	–
11	12	0 – -10°C	7	–
12	16	0 – -10°C	7	–
13	4	0 – -8°C	7	200 мг/л пролина
14	8	0 – -8°C	7	200 мг/л пролина
15	12	0 – -8°C	7	200 мг/л пролина
16	16	0 – -8°C	7	200 мг/л пролина
17	4	0 – -10°C	7	200 мг/л пролина
18	8	0 – -10°C	7	200 мг/л пролина
19	12	0 – -10°C	7	200 мг/л пролина
20	16	0 – -10°C	7	200 мг/л пролина

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее в наших исследованиях при изучении действия низкотемпературного стресса на развитие эмбриогенных каллусных тканей и изолированных зародышей кориандра была выявлена более высокая устойчивость к холодному стрессу у эмбриокультур по сравнению с каллусами. При этом в разработанной схеме селекции были использованы достаточно длительные сроки отбора устойчивых форм в условиях *in vitro* – от 24 до 39 суток, в зависимости от объекта [Егорова, Ставцева, 2016]. В связи с этим в данной работе при моделировании селективной системы мы использовали культуру изолированных зародышей, а также более короткие экспозиции промораживания (для сокращения продолжительности отбора). Известно, что важную роль в формировании зимо- и морозоустойчивости играет закаливание, в процессе которого в клетке происходят структурные перестройки мембран и протопласта, способствующие повышению резистентности растений к низким температурам [Косулина и др., 2007; Vurbulis et al., 2008; Колупаев, Карпец, 2010]. Для оптимизации методики селекции в представленном исследовании была проанализирована эффективность четырех экспозиций закаливания при $2\pm 2^{\circ}\text{C}$ – от 4 до 16 суток. Всего было изучено 20 вариантов холодной обработки при культивировании зародышей кориандра (табл. 1).

Установлено, что при достаточно длительном закаливании эксплантов в течение 12 и 16-ти суток при всех режимах промораживания (варианты опыта: 3,4,7,8,11,12,15,16,19,20) зародыши темнели и не прорастали, поэтому эти варианты не приведены в таблицах и на рисунках (для сокращения их объема). Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности использования при селекции *in vitro* меньших экспозиций закаливания (от

4 до 8 суток). Как видно из данных, представленных в табл. 2 и 3 и на рис. 1 и 2, во всех испытанных вариантах промораживания после закаливания в течение 4-8 суток при культивировании зародышей на безгормональной питательной среде МС наблюдалось снижение частоты прорастания зародышей и частоты образования проростков по сравнению с контролем. Остальные изученные параметры (длина побега и количество листьев, длина главного корня) проявили аналогичную тенденцию. При снижении температуры до -10°C в течение 7 суток (варианты: 9 и 10) не было отмечено прорастания зародышей. Только при снижении температуры до -8°C в течение 3 и 7-ми суток (варианты: 1, 2, 5, 6) наблюдали прорастание, в зависимости от генотипа и варианта обработки, от 9,7 до 88,0% зародышей (табл. 2), что составило 10,1 – 92,3% от контроля (рис.1).

Таблица 2. Влияние разных вариантов низкотемпературного стресса на частоту прорастания зародышей *in vitro* у различных генотипов кориандра, %

Сорт, образец	Контроль	Варианты опыта									
		1	2	5	6	9	10	13	14	17	18
Медун	90,4±1,5	80,5±2,2	83,4±1,5	60,9±1,5	56,7±4,5	0	0	0	0	58,7±2,1	0
Нектар	99,0±1,0	88,0±1,3	84,2±2,1	65,7±2,6	62,2±3,1	0	0	0	0	63,8±3,8	0
R2891	86,5±1,2	48,5±2,6	32,4±1,2	54,5±1,5	38,4±2,5	0	0	0	0	0	0
Янтарь	93,2±1,5	50,7±1,6	65,1±1,9	29,4±2,4	33,5±3,1	0	0	0	0	0	0
R2792	74,4±2,1	41,4±2,1	50,7±1,5	40,7±3,2	36,8±2,4	0	0	0	0	0	0
R2795	94,3±1,4	32,6±1,5	41,5±2,4	28,4±1,8	30,5±1,2	0	0	0	0	0	0
Ранний	96,0±1,0	9,7±1,1	20,3±1,4	17,3±1,4	23,1±1,9	0	0	0	0	0	0
r*		0,94	0,71	0,88	0,95	0	0	0	0	0,86	0

Примечание: r* - коэффициент корреляции между полевой зимостойкостью генотипов и частотой прорастания изолированных зародышей

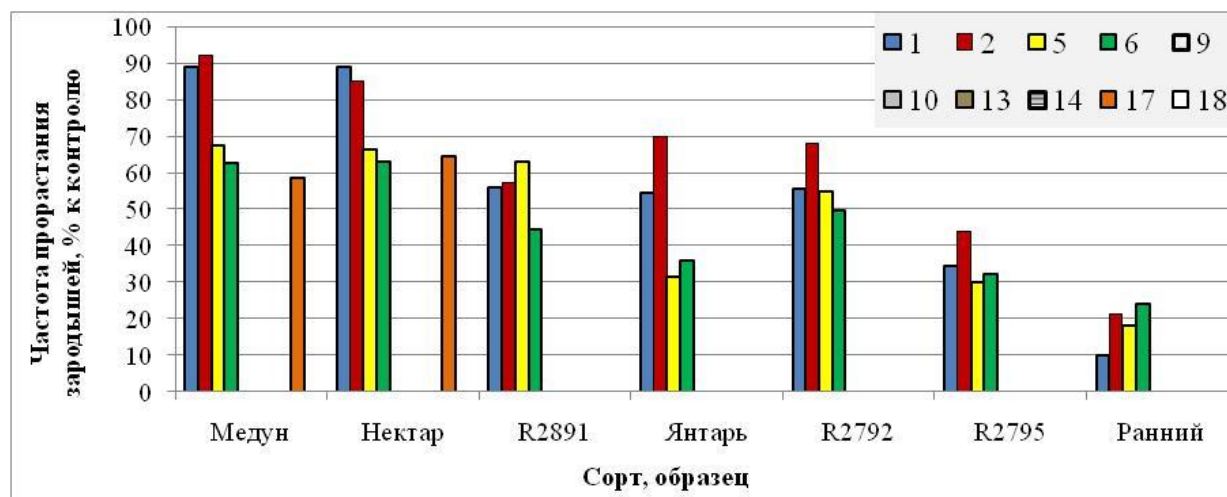


Рис. 1. Влияние разных вариантов низкотемпературного стресса на частоту прорастания зародышей *in vitro* у различных генотипов кориандра, % к контролю. Варианты опыта см. табл.1

Анализ основного параметра при культивировании зародышей – частоты образования проростков также показал, что только после промораживания при температуре до -8°C в течение 3 и 7-ми суток (варианты: 1, 2, 5, 6) происходило формирование от 6,5 до 80,0% зародышей (табл. 3). Это составило 7,2 – 93,8% от контроля (рис. 2), в зависимости от генотипа и варианта опыта. При дальнейшем снижении температуры проростки после снятия стрессовой нагрузки не формировались ни у одного генотипа. Наибольшее снижение частоты образования проростков отмечено в 5 и 6 вариантах опыта (промораживание 7 суток до -8°C после 4 и 8 суток закаливания), которые можно использовать для селекции

устойчивых форм. Так как достоверной разницы между 5 и 6 вариантами не выявлено, целесообразно проводить закаливание в течение 4 суток, что позволит сократить сроки отбора *in vitro*.

Таблица 3. Влияние разных вариантов низкотемпературного стресса на частоту образования проростков в эмбриокультуре у различных генотипов кориандра, %

Сорт, образец	Контроль	Варианты опыта									
		1	2	5	6	9	10	13	14	17	18
Медун	88,9± 2,5	75,5±3,2	79,4±1,5	48,6±2,5	44,2±3,5	0	0	0	0	48,4±1,8	0
Нектар	85,5± 4,1	78,6±2,7	80,2±3,4	56,8±3,6	46,4±2,8	0	0	0	0	58,3±3,5	0
R2891	76,6± 3,2	40,4±1,8	28,6±1,7	42,7±1,5	30,5±2,5	0	0	0	0	0	0
Янтарь	85,8±3,6	45,4±2,1	54,5±2,4	19,2±1,4	20,8±2,1	0	0	0	0	0	0
R2792	62,4± 3,2	32,5±2,4	39,6±1,6	24,5±2,2	20,1±1,7	0	0	0	0	0	0
R2795	85,6 ±4,0	26,7±1,7	30,8±2,4	25,4±1,4	20,6±1,6	0	0	0	0	0	0
Ранний	90,5± 3,5	6,5±0,8	13,2±1,0	0	0	0	0	0	0	0	0
r*		0,96	0,79	0,89	0,87	0	0	0	0	0,86	0

r* - коэффициент корреляции между полевой зимостойкостью генотипов и частотой образования проростков в эмбриокультуре

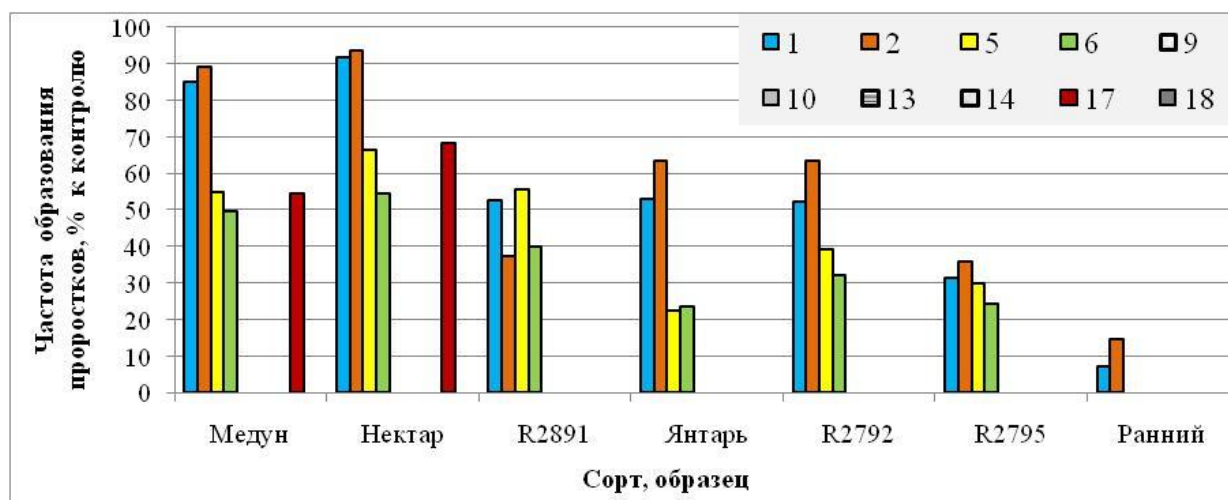


Рис. 2. Влияние разных вариантов низкотемпературного стресса на частоту образования проростков в эмбриокультуре у различных генотипов кориандра, % к контролю. Варианты опыта – см. табл.1

Известно, что в формировании признака устойчивости ко многим абиотическим стрессовым факторам у растений важную роль играет аминокислота пролин [Сидоров, 1990; Косулина и др., 2007; Колупаев, Карпец, 2010]. Имеются сведения об использовании пролина или его аналога при селекции *in vitro* к некоторым стрессовым факторам. Так, гидроксипролин применяли в качестве селективного фактора для получения морозоустойчивых линий и регенерантов пшеницы, а у табака и сои при селекции на фоне токсического аналога пролина выделены линии, устойчивые к NaCl, осмотическому и температурному стрессам [цит. по Дубровная, 2017]. В связи с этим в задачи настоящего исследования входило изучение действия на развитие эмбриокультур кориандра пролина. Предполагалось, что его введение в состав питательной среды могло бы повысить устойчивость культур к стрессу. Установлено, что добавление в питательную среду этой аминокислоты оказало положительное действие только в одном варианте опыта (вариант 17) при минимальной температуре промораживания (до -10°C) после 4 суток закаливания (табл. 2, 3). Следует обратить внимание, что положительное влияние пролина на устойчивость к

стрессу проявилось у наиболее зимостойких сортов. У сортов Медун и Нектар эта аминокислота способствовала лучшему развитию эмбриокультур, прорастанию зародышей и формированию проростков с частотой соответственно 54,4 и 68,2% к контролю (рис. 2). В то же время при аналогичном режиме закаливания и промораживания, но без добавления в среду МС пролина (вариант 9), зародыши этих сортов не проросли (табл. 2). Однако у других сортов положительного влияния пролина не было выявлено. По-видимому, вопрос о целесообразности использования этой аминокислоты при клеточной селекции у кориандра нуждается в дальнейшем изучении.

Наибольшее внимание в представленном эксперименте было уделено реакции на низкотемпературный стресс разных генотипов кориандра, различающихся по полевой зимостойкости. Было изучено развитие эмбриокультур четырех сортов и трех селекционных образцов, зимостойкость которых варьировала от максимальной у сорта Медун (98,0%) до минимальной у сорта Ранний (23,0%). В таблицах и на рисунках изученные генотипы расположены по мере снижения их зимостойкости. Установлено, что на питательной среде без добавления пролина развитие изолированных зародышей и формирование проростков у изученных генотипов наблюдалось только после закаливания в течение 4 и 8 суток и промораживания при температуре до -8°C в течение 3 и 7 суток (варианты 1, 2, 5, 6). Следует отметить, что в этих вариантах опыта прослеживалась четкая зависимость между показателями зимостойкости изучаемых генотипов и частотой прорастания зародышей (табл. 2) и образования проростков (табл. 3) в условиях температурного стресса. Наиболее высокие показатели развития зародышей после действия низких отрицательных температур были у зимостойких сортов. Особенно хорошо это видно при анализе данных показателей в % к контролю – частота прорастания и образования проростков существенно снижалась у менее зимостойких R2795 и сорта Ранний (зимостойкость 33,0 и 23,0%) по сравнению с устойчивыми сортами Медун и Нектар (зимостойкость 98,0 и 91,3%) (рис. 1, 2). Так, при более жестких режимах температурного стресса (6 вариант: закаливание 8 суток и промораживание 7 суток до -8°C) частота прорастания зародышей у сортов Медун и Нектар была в 2,5-2,7 раз выше, чем у менее зимостойкого сорта Ранний (табл. 2). Проростки у сорта Ранний в этом варианте опыта не были получены совсем, тогда как у ‘Медуна’ и ‘Нектара’ частота образования проростков составила 44,2 и 46,4% (табл. 3).

Коэффициенты корреляции между полевой зимостойкостью и частотой прорастания зародышей составили 0,71-0,95 (табл.2), а между зимостойкостью и частотой образования проростков – от 0,79 до 0,96 (табл.3). Выявленный в данном исследовании высокий уровень корреляции между зимостойкостью генотипов в полевых условиях и основными показателями развития эмбриокультур свидетельствует о возможности селекции *in vitro* форм кориандра, устойчивых к действию низкой отрицательной температуры. Поскольку кориандр является перекрестноопыляемой культурой и его сорта представляют достаточно гетерогенную популяцию такой отбор целесообразно проводить с привлечением сортообразцов с высокой урожайностью, у которых необходимо повысить устойчивость к низким температурам. Однако более эффективным может быть селекция *in vitro* с использованием гибридных зародышей.

Таким образом, в результате проведенных исследований показано, что при создании селективной системы *in vitro* для отбора устойчивых к низкой отрицательной температуре форм кориандра можно использовать в качестве объекта изолированные зародыши. Для моделирования низкотемпературного стресса необходимо проводить закаливание при $2\pm 2^{\circ}\text{C}$ (4 суток), промораживание (при снижении температуры от 0 до -8°C в течение 7 суток) и

оттаивание при $2\pm 2^{\circ}\text{C}$ (2 суток). В общей сложности отбор по данной схеме занимает 13 суток, что гораздо короче ранее рекомендованных 24-39 суток [Егорова, Ставцева, 2016]. Отобранные с использованием разработанных приемов формы кориандра переведены в полевые условия, где в дальнейшем будет изучаться устойчивость их семенного потомства к стрессу. Вместе с тем такая селективная система может быть использована не только для отбора, но и для косвенной оценки *in vitro* генотипов кориандра с повышенной зимостойкостью. Для этого планируется проанализировать более широкий спектр сортов и селекционных образцов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дубровная О.В. Селекция *in vitro* на устойчивость к абиотическим стрессовым факторам // Физиология растений и генетика. 2017. Т. 49, № 4. С. 279-292.
2. Егорова Н.А., Ставцева И.В. Культура изолированных тканей и органов кориандра и ее использование в селекции. Методические рекомендации. Симферополь: ИЭЛР НААН, 2011. 24 с.
3. Егорова Н.А., Ставцева И. В. Биотехнологические приемы получения форм шалфея, устойчивых к осмотическому стрессу *in vitro* // Экосистемы, их оптимизация и охрана. 2013. Вып. 8. С. 93-100.
4. Егорова Н.А. Некоторые аспекты биотехнологии эфиромасличных растений: индукция каллюсо- и морфогенеза, использование соматической вариативности // Физиология растений и генетика. 2014. Т. 46, № 2. С. 108-120.
5. Егорова Н.А., Ставцева И.В. Разработка биотехнологических приемов получения устойчивых к низкотемпературному стрессу форм кориандра *in vitro* // Масличные культуры. 2016. Вып. 1 (165). С. 43-50.
6. Игнатова С.А. Клеточные технологии в растениеводстве, генетике и селекции возделываемых растений: задачи, возможности, разработки систем *in vitro*. Одеса: Астропринт, 2011. 224 с.
7. Калашникова Е.А. Клеточная инженерия растений: Учебное пособие. М.: Изд-во РГАУ-МСХА, 2012. 318 с.
8. Калинин Ф.Л., Сарнацкая В.В., Полищук Е.Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. К.: Наук. Думка. 1980. 488 с.
9. Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В. Формирование адаптивных реакций растений на действие абиотических факторов. Киев: Основа. 2010. 231 с.
10. Косулина Л.Г., Луценко Э.К., Аксенова В.А. Физиология устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды. Ростов на Дону: Изд-во Ростовского ун-та. 2007. 236 с.
11. Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А., Зинатуллина А.Е. Каллус *in vitro* как модельная система для исследования стрессоустойчивости растений к абиотическим факторам (на примере злаков) // Успехи современной биологии. 2018. Т. 138, № 3. С. 283-293. DOI: [10.7868/S0042132418030067](https://doi.org/10.7868/S0042132418030067)
12. Никитина Е.Д., Хлебова Л.П., Соколова Г.Г., Ерещенко О.В. Создание стрессоустойчивого материала яровой мягкой пшеницы с использованием клеточной селекции *in vitro* // Известия Алтайского государственного университета. 2013, № 3. С. 95–98. DOI: [10.14258/izvasu\(2013\)3.2-20](https://doi.org/10.14258/izvasu(2013)3.2-20)
13. Паштецкий В.С., Невкрытая Н.В., Мишнев А.В., Назаренко Л.Г. Эфиромасличная отрасль Крыма. Вчера, сегодня, завтра. Симферополь: ИТ «Ариал», 2018. 320 с.

14. Сергеева Д.С., Сильченко В.М. Методические указания по оценке селекционного материала кориандра на морозо- и зимостойкость. Симферополь, 1989. С. 3–8.
15. Сидоров В.А. Биотехнология растений. Клеточная селекция. Киев: Наук. Думка, 1990. 280 с.
16. Скиба А.В., Кравченко Г.Д. Этапы и результативность селекционной работы по созданию скороспелого сорта кориандра, пригодного для возделывания при озимом сроке сева // Таврический вестник аграрной науки. 2018, № 4 (16). С. 160-165. DOI: [10.25637/TVAN.2018.04.15](https://doi.org/10.25637/TVAN.2018.04.15)
17. Россеев В.М., Белан И.А., Россеева Л.П. Использование метода *in vitro* в селекции пшеницы мягкой яровой // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2016, № 2 (136). С. 5-9.
18. Ali M., Mujib A., Tonk D., Zafar N. Plant regeneration through somatic embryogenesis and genome size analysis of *Coriandrum sativum* L. // Protoplasma. 2017. N 254 (1). P. 343-352. DOI: [10.1007/s00709-016-0954-2](https://doi.org/10.1007/s00709-016-0954-2)
19. Ali M., Mujib A., Zafar N., Tonk D. Protoplast isolation and plant regeneration in two cultivated coriander varieties, Co-1 and RS // J. of Biotechnology, Computational Biology and Bionanotechnology. 2018. V. 99, N 4. P. 345-355. DOI: [10.5114/bta.2018.79965](https://doi.org/10.5114/bta.2018.79965)
20. Babu R.N., Divakaran M., Ray R.P., Anupama K., Peter K.V., Sarma Y.R. Botechnological Approaches in Improvement of Spices: A Review. In Book: Plant Biology and Biotechnology: Volume II: Plant Genomics and Biotechnology (Eds: Bahadur B., Rajam M.V., Sahijram L., Krishnamurthy K.V.). Springer: New Delhi, Heidelberg, New York, Dordrecht, London, 2015. P. 487-516.
21. Bartolozzi F., Mencuccini M., Fontanazza G. Enhancement of frost tolerance in olive shoots *in vitro* by cold acclimation and sucrose increase in the culture medium // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 2001. V. 67, N 3. P. 299-302. DOI: [10.1023/A:1012727617105](https://doi.org/10.1023/A:1012727617105)
22. Bhat S., Kaushal P., Kaur M., Sharma H. K. Coriander (*Coriandrum sativum* L.): Processing, nutritional and functional aspects // African Journal of Plant Science. 2014. V. 8, N 1. P.25-33. DOI: [10.5897/AJPS2013.1118](https://doi.org/10.5897/AJPS2013.1118)
23. Burbulis N., Kupriene R., Blinstrubiene A. Investigation of cold resistance of winter rapeseed *in vitro* // Horticulture and Lithuanian University of agriculture. Sodininkyste ir darzininkyste. 2008. V. 27, N 4. P. 223-232.
24. Kondic-Sipka A., Hristov N., Kobiljski B. *In vitro* screening for low temperature tolerance of wheat genotypes // Genetica. 2006. V. 38, N 2. P. 137-144.
25. Lukoseviciute V., Rugienius R., Kavaliauskaite D. Investigation of strawberry hardening in low temperatures *in vitro* // Scientific works of the Lithuanian Institute of Horticulture and Lithuanian University of Agriculture. Sodininkyste ir darzininkyste. 2007. V. 26, N 3. P. 274-281.
26. Marssaro A.L., Morais-Lino L.-S., Cruz J.L., da Silva Ledo C.A., dos Santos-Serejo J.A. Simulation of *in vitro* water deficit for selecting drought-tolerant banana genotypes // Pesq. Agropec. Bras. 2017. V. 52, N 12. P. 1301-1304. DOI: [10.1590/s0100-204x2017001200021](https://doi.org/10.1590/s0100-204x2017001200021)
27. Murthy H.N., Hahn E.J., Paek K.Y. Recurrent somatic embryogenesis and plant regeneration in *Coriandrum sativum* L. // Scientia Horticulturae. 2008, N 118. P. 168-171. DOI: [10.1016/j.scienta.2008.05.037](https://doi.org/10.1016/j.scienta.2008.05.037)
28. Rai M., Kalia R., Singh R. Developing stress tolerant plants through *in vitro* selection — an overview of the recent progress // Environ. Exp. Bot. 2011. 71. P. 89-98. DOI: [10.1016/j.envexpbot.2010.10.021](https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.10.021)
29. Rugienius R., Stanys V. *In vitro* screening of strawberry plants for cold resistance // Euphytica. 2001. V. 122, N 2. P. 269-277.