

О. И. Молканова, СНС, К. С.-Х. Н.,  
Т. С. Стахеева, МНС,  
О. Г. Васильева, МНС, К. Б. Н.,  
Д. А. Егорова, МНС  
ФГБУН ГБС им. Н. В. Цицина РАН, г. Москва  
*molkanova@mail.ru*

УДК 582.688.3:602.6

## ОСОБЕННОСТИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *IN VITRO* ЦЕННЫХ ЯГОДНЫХ КУЛЬТУР

**Резюме.** Работа посвящена усовершенствованию методик клонального микроразмножения ценных ягодных культур. Изучены особенности морфогенетических процессов происходящих при клональном микроразмножении этих культур и оптимизированы условия на всех этапах культивирования. Сформирована коллекция ягодных культур *in vitro*, состоящая из 238 видов, сортов и отборных форм.

**Ключевые слова:** ягодные культуры, клональное микроразмножение, состав питательной среды, коэффициент размножения, генетический банк *in vitro*.

**Summary.** The work is devoted to improving the technology of clonal micropropagation of valuable small-fruit culture. Peculiarities of morphogenetic processes occurring during clonal micropropagation of this culture were studied and the conditions on the main stages of cultivation were optimized. A bank of *in vitro* small-fruit cultures comprising 238 species varieties and elite forms was formed.

**Key words:** small-fruit plants, clonal micropropagation, nutrient medium composition, multiplication factor, *in vitro* gene bank.

Ягодные культуры имеют важное хозяйственное и экономическое значение. Разработка и совершенствование эффективных методов устойчивого воспроизводства этих растений является необходимым этапом при создании генетического банка *in vitro*. Использование системы *in vitro* в современном садоводстве позволит получить оздоровленный посадочный материал, свободный от вирусов и патогенов, тиражировать материал, трудно размножаемый традиционными способами, создавать генетические коллекции и длительно хранить ценные генотипы [1].

**Цель наших исследований** заключалась в оптимизации приемов культивирования изолированных тканей перспективных ягодных культур в условиях *in vitro*, изучении закономерностей морфогенетических процессов и сохранении коллекции *in vitro*.

Для выявления наиболее перспективных таксонов проводился скрининг коллекционных фондов ботанических и селекционных учреждений. В качестве исходного материала были взяты представители следующих семейств и

родов: Ericaceae Juss. (*Vaccinium* L.), Caprifoliaceae Juss. (*Lonicera* L.), Actinidiaceae Gilg & Werderm. (*Actinidia* Lindl.), Rosaceae Juss. (*Rubus* L.), Grossularia Mill. (*Ribes* L.) В основу методики были положены общепринятые классические приемы с культурами изолированных тканей и органов растений [2]. На этапах инициации и собственно микроразмножения использовали следующие питательные среды: Мурасиге-Скуга, Кворина-Лепорье и Андерсона — с добавлением различных концентраций цитокининов 6-бензиламинопурина (6-ВАР), зеатина (Z), 2-изопентиладенина (2-іР) в концентрации 0,2 — 2 мг/л. Дополнительно испытывали питательные среды, содержащие гиббереллиновую кислоту (GA) в концентрации 0,1 — 1 мг/л и разные типы углеводов: сахарозу и глюкозу в концентрации 30 мг/л.

В качестве инициальных эксплантов использовали апикальные и латеральные почки. Эксперименты выполнялись в трех проворностях, в каждой — не менее 30 эксплантов. Микроробег вырощивали при освещении (3000 лк) и фотопериоде 16/8 ч., температуре +23...+25 °С и влажности 70%.

Основными факторами, определяющими процесс органогенеза, являются: генотип, эпигенетические характеристики клеток экспланта, физиологическое состояние интактных растений, состав питательной среды и условия культивирования. Различия в реализации морфогенетического потенциала обусловлены, прежде всего, генотипическими особенностями растений. Для каждого генотипа существуют предел нормы реакции, который изменяется под воздействием экзогенных факторов [3].

Экспланты разных видов и сортов рода *Actinidia* существенно различались по способности к регенерации. Установлено, что экспланты *A. arguta* и *A. polygama* развивались более активно на всех стадиях культивирования *in vitro* по сравнению с *A. kolomikta* и это коррелировало с энергией роста вышеназванных видов в природных условиях [4]. Сравнительный анализ изучения влияния различных цитокининов показал, что под воздействием 2-іР (1 мг/л) коэффициент размножения *A. kolomikta* и *A. arguta* в 1,5 раза превышал значение этого показателя на питательных средах с добавлением 6-ВАР (1 мг/л). Для *A. polygama* отмечено максимальное значение коэффициента (4,2) размножения на среде, содержащей 6-ВАР и (0,5 мг/л).

У всех изученных сортов рода *Actinidia* выявлена тенденция увеличения коэффициента размножения и длины микроробегов при изменении источника углеводного питания — сахарозы на глюкозу (рис. 1).

У представителей семейства *Ericaceae* на этапе микроразмножения отчетливо проявились сортовые особенности, что выражалось в различном количестве дополнительно заложенных почек и развивающихся из них впоследствии микроробегов. Коэффициент размножения некоторых сортов высокой голубики на среде Андерсона, дополненной 4 мг/л β-индолилуксусной кислотой и 15 мг/л 2 іР, ниже коэффициента размножения полувысокой голубики в 1,5–2 раза [5].

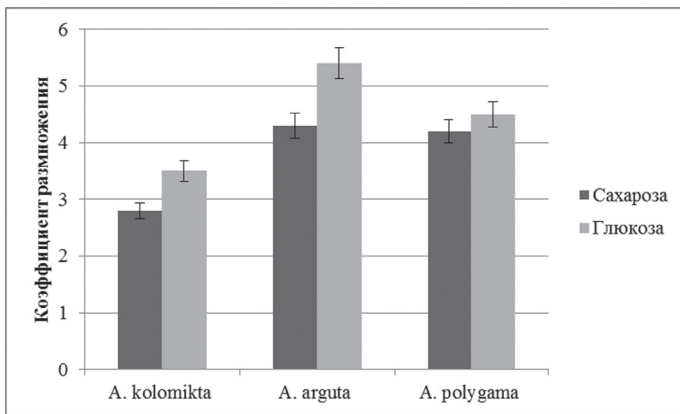


Рис. 1. Влияние типа углевода на коэффициент размножения представителей рода *Actinidia*

При культивировании эксплантов родов *Actinidia*, *Lonicera*, *Rubus*, для большинства генотипов на питательных средах MS с различной концентрацией 6-ВАР (0,2–1,5 мг/л) через три недели происходило образование конгломератов микропобегов (от 0,5 до 25,7 адвентивных микропобегов в зависимости от вида и сорта). Использование питательных сред с повышенным содержанием регуляторов роста (более 2,0 мг/л), в большинстве случаев приводило к появлению витрофицированных микропобегов, которые в дальнейшем хуже укоренялись.

Максимальным морфогенетическим потенциалом характеризовались представители *Lonicera L.* У *L. tolmachevii* коэффициент размножения составил 75,8, у сортов *L. edulis* — 37,5 при культивировании на питательной среде Кворина-Лепорье с добавлением 1,3 мг/л 6-ВАР, 0,02 мл/л ИАА.

Виды рода *Rubus* отличаются по способности к размножению в культуре *in vitro*. Наблюдалось снижение регенерационного потенциала в следующей последовательности: сорта ежевики, малино-ежевичные гибриды, сорта малины красной, сорта малины черной. Для малины и малино-ежевичных гибридов увеличение коэффициента размножения и лучшее развитие микропобегов, наблюдали при увеличении в 2 раза содержания хелата железа в питательной среде (рис. 2). Коэффициент размножения в среднем составил  $14,9 \pm 0,4$ . Это согласуется с экспериментальными данными, полученными другими исследователями [6, 7].

Использование GA в концентрации 0,1–0,5 мг/л при культивировании растений рода *Rubus* приводило к достоверному увеличению длины микропобегов.

Также необходимо отметить специфические требования культивирования у представителей семейства *Grossulariaceae*. Для успешного микроразмножения различных сортов крыжовников было необходимо содержание культуры при пониженной температуре (15–18 °С) и освещении 1500 лк и уменьшение в 1,5–2 раза содержания аммонийного и нитратного азота (особенно аммиачной формы).

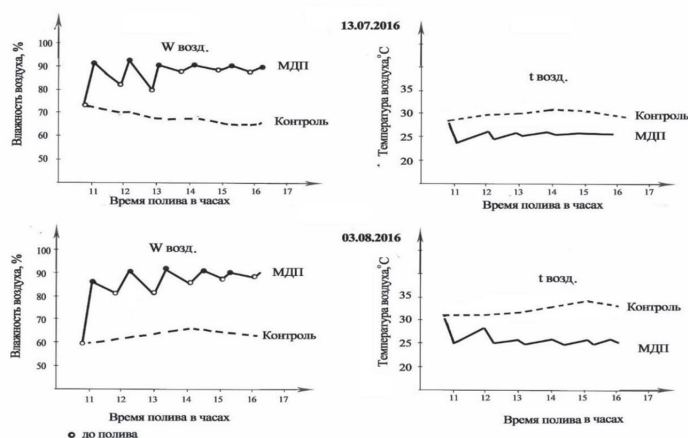


Рис. 2. Влияние содержания железа в питательной среде на коэффициент размножения разных сортов *Rubus*.

У микропобегов различных сортов большинства ягодных культур наблюдалось явление спонтанного ризогенеза при длительном культивировании более 1,5 месяцев. На этапе укоренения частота корнеобразования зависела как от таксономической принадлежности, так и от используемого ауксина. Для большинства изученных ягодных культур наиболее эффективно использовать  $\beta$ -индолилуксусную кислоту (0,5-1,5 мг/л).

### Выводы

Оптимизированы условия клонального микроразмножения ценных и перспективных сортов ягодных культур. Морфогенетические процессы *in vitro* в первую очередь определяются таксономической принадлежностью и генетическими особенностями исходных растений.

Повысить коэффициент размножения оказалось возможным у представителей рода *Rubus* с помощью добавления двойной нормы железа и гиббереллиновой кислоты в концентрации 0,1–0,5 мг/л, а у представителей *Actinidia* — с помощью замены сахарозы на глюкозу.

Сформирована коллекция *in vitro*, состоящая из 238 образцов ягодных культур, которая поддерживается в условиях замедленного роста.

### Список использованной литературы

1. Высоцкий В. А. Биотехнологические методы в системе производства оздоровленного посадочного материала плодово-ягодных культур: Автореф. дисс. ... д. с.-х. наук. — М., 1998. — 109 с.

2. Бутенко Р. Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе. — М.: ФБК-ПРЕСС, 1999. — 160 с.

3. Мамаева Н. А., Ветчинкина Е. М., Горбунов Ю. Н., Молканова О. И. Сохранение растений в генетических банках *in vitro*: преимущества и недостатки // Бюлл. ГБС, 2008. — Вып. 194. — С. 141–149.

4. Малаева Е. В. Биологические и молекулярно-генетические особенности дальневосточных видов рода *Actinidia* Lindl.: Автореф. дисс. ...к. б. наук. — М., 2008. — 21 с.

5. Молканова О. И., Коновалова Л. Н., Стахеева Т. С. Особенности размножения и сохранения коллекции ценных и редких видов растений в условиях *in vitro* // Бюлл. Никитского ботанического сада, 2016. — Вып. 120. — С. 17–23.

6. Муратова С. А., Соловых Н. В., Терехова В. И. Индукция морфогенеза из изолированных соматических тканей растений. — Мичуринск: Изд-во МичГАУ, 2011. — 107 с.

7. Соловых Н. В. Использование биотехнологических методов в работе с ягодными культурами: Метод. рекомендации. — Мичуринск: Изд-во МичГАУ, 2009. — 47 с.



**O. I. Molkanova, T. S. Staheeva, O. G. Vasilyeva, D. A. Egorova**  
Federal State Institution of Science Botanical Garden named after N. V. Tsitsin  
of the Russian Academy of Sciences, Moscow

**PECULIARITIES OF IN VITRO CULTIVATION  
OF VALUABLE *SMALL-FRUIT* CROPS**