

УДК 582.688.4:57.082.261

DOI: 10.36305/0513-1634-2019-133-80-86

ОСОБЕННОСТИ КЛОНАЛЬНОГО МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ РАЗНЫХ ФОРМ ПЕРСПЕКТИВНЫХ СОРТОВ *ACTINIDIA KOLOMIKTA* (RUPR. ET MAXIM) MAXIM**Ирина Леонидовна Крахмалева¹, Ольга Ивановна Молканова¹,
Елена Владимировна Малаева^{2,3}**¹ФГБУН Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН, г. Москва
127276, г. Москва ул. Ботаническая, 4

E-mail: seglory@bk.ru

²ГБУ ВО «Волгоградский региональный ботанический сад», г. Волгоград
400007, г. Волгоград, пос. Metallургов, 68³ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный социально-педагогический
университет» г. Волгоград
400066, г. Волгоград, проспект им. В.И. Ленина, 27

Впервые выявлены особенности регенерационного потенциала разных форм (мужской, женской, обоеполой) перспективных сортов *Actinidia kolomikta* на этапе собственно микроразмножения. Определено различие между сортами и формами *A. kolomikta* по коэффициенту размножения. Показано, что применение питательной среды QL с добавлением 6-БАП в концентрации 0,5 мг/л является оптимальным для эффективного клонального микроразмножения мужской формы, в концентрации 1,0 мг/л для женских форм и обоеполой.

Ключевые слова: *Actinidia kolomikta*; морфогенез *in vitro*; клональное микроразмножение; коэффициент размножения

Введение

Род Актинидия (*Actinidia* Lindley) семейства Актинидиевые (Actinidiaceae Van Tieghem /Hutchinson/) включает около 40 видов. Большинство из них – дикорастущие лианы, произрастающие в субтропических и тропических лесах юго-восточной Азии. Из всех видов рода *Actinidia* в России широкое распространение получили самые зимостойкие: *Actinidia kolomikta* (Rupr. Et Maxim) Maxim., *A. arguta* Planch. и *A. polygama* (Sieb. Et Zucc.) Maxim. и *A. giraldii* Diels.

A. kolomikta – самый распространенный вид, растения без повреждений переносят морозы до -40⁰С. Древовидная лиана достигает при свободном росте 6-8 м в длину. Растение двудомное, реже однодомное. Цветки однополые, редко обоеполые, расположены в пазухе листьев, имеют сильный аромат и белую окраску. Плоды – многосемянные ягоды с темными полосками по граням, продолговато-эллиптической формы, тупоконечные, зеленого цвета, размером в длину 2 – 3 см и 0,8 – 1,5 см в диаметре [3, 12].

Плоды *A. kolomikta* по содержанию полезных веществ, превосходят многие другие плодовые культуры. Особую ценность представляет высокое содержание витамина С (2200 мг/100 г сырых ягод у сорта Чемпион). Так же в них содержится витамин Е, ниацин, витамины группы В, пектины, дубильные, красящие вещества, флаваноиды, алкалоиды и множество других соединений. По своему лечебному спектру актинидия находит широкое применение в народной медицине. Её плоды применяются для стимулирования сердечной деятельности и как общеукрепляющее средство [4, 5].

Разработка и оптимизация методов клонального микроразмножения является основой для сохранения и эффективного воспроизводства коллекций растений.

Специфика клонального микроразмножения растений различных таксономических групп тесно связано с их биологическими особенностями. В зависимости от вида, сорта и формы, актинидия проявляет различную способность к образованию и развитию микропобегов на этапе собственно микроразмножения [7]. Многие исследователи указывают на значительное влияние компонентов питательной среды, особенно регуляторов роста, на реализацию морфогенетического потенциала [8, 9].

Малаевой Е.В. получены результаты по влиянию типа и концентрации регуляторов роста – цитокининов на регенерационный потенциал представителей рода *Actinidia*. На питательной среде с минеральной основой MS (Murashige and Skoog, 1962) было установлено положительное влияние 2ip (N⁶-(2-isopentenyl)adenine) в концентрации 3,0 – 5,0 мг/л на коэффициент размножения и среднее число междоузлий на побег. Также было отмечено отрицательное действие 0,5 мг/л тидиазурина на развитие эксплантов, которое выразилось в появлении большого количества оводненных побегов [6]. Другие авторы наблюдали лучшее развитие *A. kolomikta* на питательной среде QL (Quorin and Lepoivre, 1977) содержащей 0,5 – 2,0 мг/л зеатина [11].

Несмотря на то, что многие исследователи изучали влияние генетических особенностей на регенерационную способность представителей рода *Actinidia* [6, 7, 14 – 19] сравнительный анализ морфогенетического потенциала разных форм проведен впервые.

Цель данной работы – выявление регенерационных способностей разных форм перспективных сортов *A. kolomikta* на этапе собственно микроразмножения.

Объект и методы исследований

Исследования проводили в лаборатории биотехнологий растений ФГБУН ГБС им. Н. В. Цицина РАН. В качестве объектов исследования были взяты разные сорта и формы *A. kolomikta*: мужская форма (сорт Adam), обоеполая форма (сорт Dr. Szymanowski), женские формы (сорта Университетская, Памяти Учителя, Прелестная, Находка).

Методика биотехнологических исследований с культурами изолированных тканей и органов растений основывалась на общепринятых классических приемах [2].

В качестве первичных эксплантов на этапе инициации использовали апикальные и латеральные почки. На этапе собственно микроразмножения использовали питательную среду QL [20] с добавлением 6-БАП (6-benzylaminopurine) в концентрации 0,3, 0,5 и 1,0 мг/л. В качестве контроля использовали питательную среду без добавления регуляторов роста. Через 1,5 месяца культивирования подсчитывали количество побегов, междоузлий и на основе полученных данных рассчитывали коэффициент размножения. Исследования были проведены в 2-кратной повторности, 15 эксплантов в каждом варианте.

В данном исследовании был проведен двухфакторный дисперсионный анализ для выявления доли влияния фактора: сорт (А), концентрация 6-БАП (В), взаимодействия этих двух факторов и случайного фактора на коэффициент размножения.

Микропобеги *A. kolomikta* выращивали при освещении 1500 – 2000 лк и 16-часовом фотопериоде, при температуре 23 – 25°C.

Обработку полученных данных проводили по общепринятым методам статистического анализа с использованием программного обеспечения Microsoft Office

Результаты и обсуждение

Основную роль при клональном микроразмножении играют видовые и сортовые

характеристики растений, выбранный эксплант, состав питательной среды и условия культивирования, а также происхождение растения, с которого взят исходный материал [7, 9, 11].

При изучении влияния генотипа и регулятора роста установлено, что каждый фактор влиял на исследуемые объекты в разной степени. Наибольшее влияние на коэффициент размножения оказывали сортовые особенности – 49%, гормональный состав питательной среды – концентрация 6-БАП (24%), взаимодействие факторов (22%), на случайный фактор приходилось наименьшее значение – 5% (рис. 1).

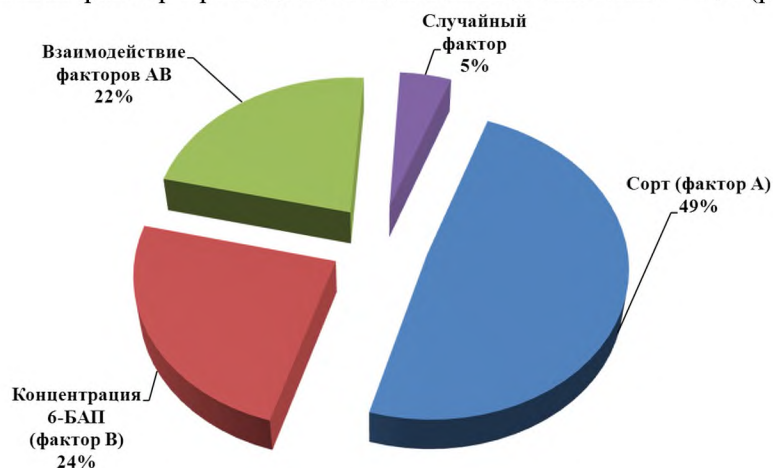


Рис. 1 Доля влияния факторов на коэффициент размножения сортов *A. kolomikta*

Определяющее влияние генотипа на коэффициент размножения *A. kolomikta* подтверждает ранее полученные данные при исследовании *Hydrangea paniculata* Siebold [1].

В процессе исследования были выявлены различия по коэффициенту размножения у разных форм *A. kolomikta* (рис. 2, 3).

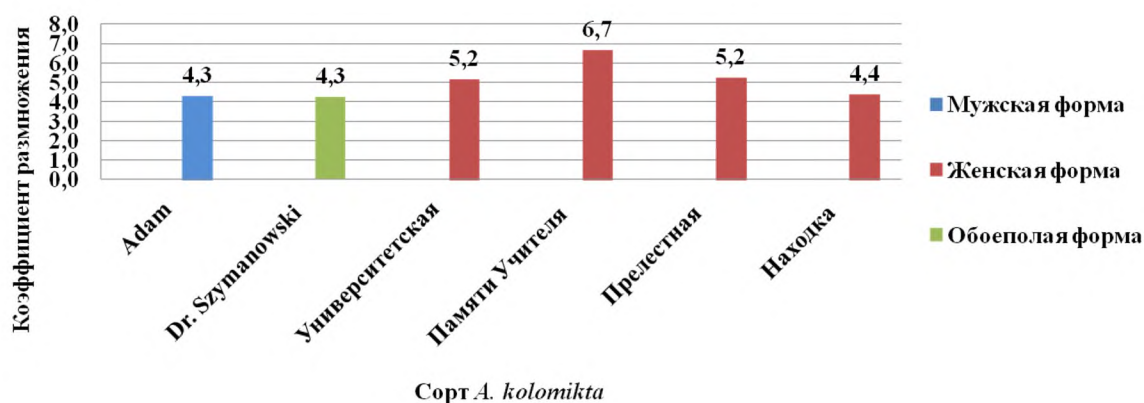


Рис. 2 Влияние сортовых особенностей на коэффициент размножения разных форм *A. kolomikta* (НСР₀₅ 0,4)

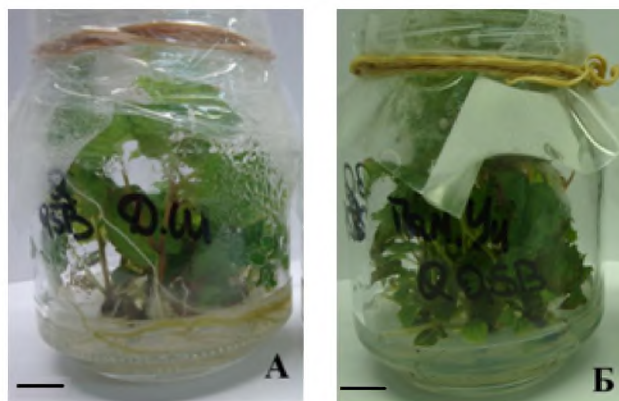


Рис. 3 Морфогенетический потенциал разных форм *A. kolomikta* на питательной среде QL с 0,5 мг/л 6-БАП: А - обоеполая (сорт Dr. Szymanowski), Б - женская (сорт Памяти Учителя) (масштаб 1 см)

На однолетних побегах взрослых лиан актинидии было установлено соотношение эндогенных ауксинов, цитокининов и абсцизовой кислоты. У женских растений актинидии коэффициент гормонального баланса более высокий, чем у мужских растений [13], что нашло подтверждение в наших исследованиях при культивировании микропобегов на питательных средах с различным содержанием регулятора роста.

Наибольшим значением коэффициента размножения (5,2 – 6,7) характеризовались женские формы. Мужская и обоеполая форма отличались более низким коэффициентом размножения (4,3).

Для обеспечения активной пролиферации микропобегов в условиях *in vitro* весьма существенным является правильный выбор цитокинина и его концентрации. Наиболее эффективным при клональном микроразмножении покрытосемянных растений является применение цитокинина 6-БАП [7, 9].

В процессе исследования был рассчитан коэффициент размножения сортов *A. kolomikta* при разных концентрациях 6-БАП (рис. 4).



Рис. 4 Влияние концентрации 6-БАП на коэффициент размножения сортов *A. kolomikta* (НСР₀₅ 0,3)

Установлено, что с повышением концентрации 6-БАП от 0,3 до 1,0 мг/л среди исследуемых сортов наблюдали увеличение коэффициента размножения от 5,0 до 5,6 по сравнению с контролем (4,1).

Показано влияние концентрации регулятора роста в питательной среде на регенерационную способность микропобегов исследуемых сортов актинидии (рис. 5).

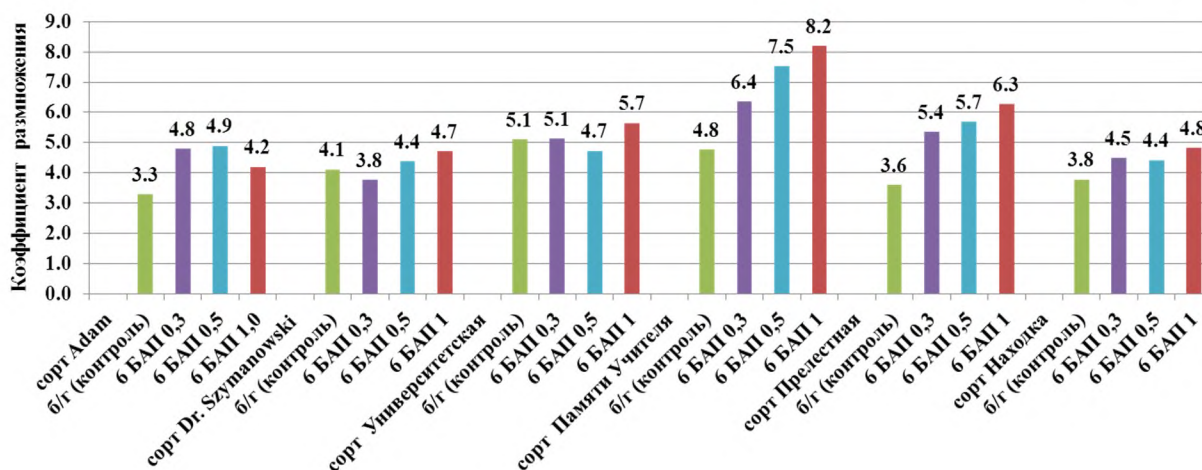


Рис. 5 Влияние концентрации 6-БАП на коэффициент размножения разных сортов и форм *A. kolomikta* (НСР₀₅ 0,3)

У разных форм были установлены оптимальные концентрации 6-БАП для реализации морфогенетического потенциала. Наибольший коэффициент размножения сорта Adam мужской формы был получен при применении 6-БАП в концентрации 0,3 и 0,5 мг/л (4,8 и 4,9 соответственно). Экспланты сорта Dr. Szymanowski обоеполой формы и все сорта женских форм показали лучшие результаты при культивировании на питательной среде QL с применением 6-БАП в концентрации 1,0 мг/л.

Выводы

Впервые проведено сравнительное изучение регенерационной способности мужской, обоеполой и женских форм *A. kolomikta*. Выявлены общие закономерности и специфические особенности культивирования отдельных сортов и форм в условиях *in vitro*.

В процессе исследований разных форм перспективных сортов *A. kolomikta* было установлено, что на этапе собственно микроразмножения из всех рассматриваемых факторов большее влияние на коэффициент размножения оказывают сортовые особенности (49%), меньше влияет концентрация 6-БАП и взаимодействие факторов (24% и 22%), доля влияния случайного фактора составила 5%. Установлено, что высоким морфогенетическим потенциалом характеризовались женские формы *A. kolomikta*, особенно выделялся сорт Памяти Учителя (6,7). Мужская и обоеполоая формы по коэффициенту размножения имели равное значение (4,3).

Установлено для эффективного клонального микроразмножения исследуемых форм предпочтительно использовать питательную среду QL со следующей концентрацией 6-БАП – при культивировании мужской формы – 0,5 мг/л, для женских и обоеполой форм – 1,0 мг/л.

Работа выполнена в рамках ГЗ ГБС РАН (№118021490111-5).

Список литературы

1. Ахметова Л.Р., Егорова Д.А. Особенности клонального микроразмножения представителей *Hydrangea paniculata* Siebold. – Т.: Научный альманах. – 2018. – № 2 – 2 (40). – С. 153 – 156.
2. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнология на их основе. – М.: ФБК-ПРЕСС, 1999. – 160 с.

3. Колбасина Э.И. Актинидии и лимонник в России (биология, интродукция, селекция). – М.: Россельхозакадемия, 2000. – 264 с.
4. Колбасина Э.И. Культурная флора России: актинидия, лимонник. – М.: Россельхозакадемия, 2007. – 327 с.
5. Колбасина, Э.И. Ягодные лианы и редкие кустарники. – М.: Издательский дом МСП, 2003. – 112 с.
6. Малаева Е.В. Биологические и молекулярно-генетические особенности дальневосточных видов рода *Actinidia* Lindl.: Автореф. дисс... канд. биол. наук: 03.00.05 – М., 2008. – 20 с.
7. Малаева Е.В., Коновалова Е.В., Молканова О.И. Использование биотехнологических методов для сохранения и поддержания коллекции актинидии в культуре *in vitro* // Плодоводство и ягодоводство России. – 2009. – Т. 21, № 1. – С. 212 – 218.
8. Молканова О.И., Козак Н.В., Коновалова Л.Н., Малаева Е.В. Биологические особенности дальневосточных видов рода *Actinidia* Lindl. // Вестник Удмуртского университета. – 2014. – С. 42 – 48.
9. Молканова О.И., Королева О.В., Стахеева Т.С., Крахмалева И.Л., Мелещук Е.А. Совершенствование технологии клонального микроразмножения ценных плодовых и ягодных культур для производственных условий // Достижения науки и техники АПК. 2018. – Т. 32, № 9. – С. 66 – 69.
10. Митрофанова И.В. Соматический эмбриогенез и органогенез как основа биотехнологии получения и сохранения многолетних садовых культур. – К.: Аграрная наука, 2011. – 344 с.
11. Муратова С.А, Соловых Н.В., Терехов В.И. Индукция морфогенеза из изолированных соматических тканей растений. – Мичуринск: Изд-во Мичуринского госагроуниверситета. 2011. – 107 с.
12. Помология: Земляника, Малина, Орехоплодные и редкие культуры / Под редакцией Е.Н. Седова, Л.А. Грюнер. – Орел: ВНИИСПК. – 2014. – 592 с.
13. Скрипченко Н.В., Мусатенко Л.И., Мороз П.А., Васюк В.А. Функциональная связь фитогормонального статуса интродуцированных видов актинидии с регенерационной способностью и полом растения // Интродукция растений. – 1999. – № 2. – С. 96 – 100.
14. Akbas F.A., İşikalan C., Namli S., Basaran D. Micropropagation of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) // J. Agri. Biol. – 2007. – Vol. 9 (3). – P. 489 – 493.
15. Caldwell J.D., Cotton D.C., Brock K.H. Rooting of semi-hardwood 'Hayward' kiwifruit cuttings // HortScience. – 1988. – Vol. 23(4). – P. 714 – 717.
16. Calugaru – Spataru T., Ivanova R., Dascaluc A. *In vitro* multiplication and cultivation of *Actinidia arguta* in the Republic of Moldova // Biologia. – 2013. – Vol. 59 (3). – P. 301 – 308.
17. Harada H. *In vitro* organ culture of *Actinidia chinensis* Pl. as a technique for vegetative multiplication // J. Hort. Sci. – 1975. – Vol. 50. – P. 81 – 83.
18. Moncaleon, P., Rodriguez A., Fernandez B. *In vitro* responses of *Actinidia deliciosa* explants to different BA incubation periods // Plant Cell Tissue and Organ Culture. – 2001. – Vol. 67. – P. 257 – 66.
19. Monnette P.L. Organogenesis and plantlet regeneration following *in vitro* cold storage of kiwifruit shoot tip cultures // Scientia Horticulturae. – 1987. – Vol. 31. – P. 101 – 106.
20. Quoirin M., Lepoivre P. Etude de milieux adaptés aux cultures *in vitro* de *Prunus* // Acta Hort. – 1977. – Vol. 78. – P. 437 – 442.

Статья поступила в редакцию 27.11.2018 г.

Krakhmaleva I.L., Molkanova O.I., Malaeva E.V. Features of clonal micropropagation of different forms in promising cultivars of *Actinidia kolomikta* (Rupr. Et Maxim) Maxim // Bull. of the State Nikita Botan. Gard. – 2019. – № 133. – P. 80-86.

For the first time, the features of the regeneration capacity of various forms (male, female, bisexual) of promising *Actinidia kolomikta* cultivars at the propagation stage were revealed. The difference between cultivars and forms of *A. kolomikta* was determined by the multiplication rate. It was shown that the use of the QL culture medium with 0.5 mg/l 6-BAP was been optimal for effective clonal micropropagation of the male form, at 1.0 mg/l for female and bisexual forms.

Key words: *Actinidia kolomikta*; *morphogenesis in vitro*; *clonal micropropagation*; *proliferation*; *multiplication rate*

РЕПРОДУКТИВНАЯ БИОЛОГИЯ

УДК 582.711.712(571.1)

DOI: 10.36305/0513-1634-2019-133-86-93

ОНТОГЕНЕЗ *PRUNUS PUMILA* L. И *ROSA GLAUCA* POURR. В ИНТРОДУКЦИОННЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ НА ЮГЕ УРАЛА И ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

Ольга Юрьевна Васильева¹, Михаил Сергеевич Лёзин²,
Маргарита Викторовна Козлова¹

¹Центральный сибирский ботанический сад СО РАН
630090, г. Новосибирск, ул. Золотодолинская 101
E-mail: vasil.flowers@rambler.ru

²Челябинский государственный плодово-ягодный сортоиспытательный участок
456680, Россия, Челябинская обл., Красноармейский р-н, с. Шумово, ул. Мира, 6
E-mail: lezin-misha@mail.ru

В статье впервые представлены результаты изучения онтогенеза *Prunus pumila* L. и *Rosa glauca* Pourr. семенного происхождения при выращивании растений за пределами естественного ареала в условиях континентального климата южного Урала и лесостепи Западной Сибири. Описаны маркерные признаки онтогенетических состояний *Rosa glauca* в процессе формирования кустарниковой биоморфы. Отмечено ускоренное развитие *Prunus pumila* в ювенильном и имматурном состоянии с формированием мощной зоны гипокотили и корневой шейки, определяющей в дальнейшем технологические качества подвоя.

Ключевые слова: *онтогенез*; *Prunus pumila*; *Rosa glauca*; *подвои плодовых и декоративных культур*; *южный Урал*; *лесостепь Западной Сибири*

Введение

При интродукции видов и форм растений, имеющих практическую значимость в качестве пищевых, декоративных или лекарственных, их сезонное развитие, биоморфологические характеристики, продолжительность периодов и возрастных состояний онтогенеза, особенности репродуктивной биологии обязательно анализируются и с точки зрения хозяйственной ценности [1]. Среди подобных объектов особую группу растений представляют подвои плодовых и декоративных культур. В большинстве своем это – таксономически близкие к прививаемым сортам дикорастущие виды. В условиях умеренно континентального и более мягкого климата нашей страны находятся зоны промышленного садоводства, виноградарства, питомниководства. Изучение биологических особенностей применяемых видов и форм