

УДК [635.925:582.711.714]:57.082.261
DOI: 10.36305/0513-1634-2020-135-97-104

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ КЛОНАЛЬНОГО МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ ДЕКОРАТИВНЫХ СОРТОВ ИРГИ

Екатерина Николаевна Раева-Богословская, Ольга Ивановна Молканова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина Российской академии наук
127276, г. Москва, Ботаническая ул., 4
E-mail: katyaraeva@rambler.ru

Были оптимизированы условия культивирования *in vitro* представителей рода *Amelanchier* Medik. на этапах собственно микроразмножения и укоренения. Установлено существенное влияние минерального и гормонального составов питательных сред на морфогенетический потенциал сортов ирги. Применение на этапе микроразмножения питательной среды МС с добавлением 6-бензиламинопурина в концентрации 1,0 мг/л способствовало активному адвентивному побегообразованию у эксплантов изучаемых генотипов. Для индукции ризогенеза наиболее подходящим веществом ауксинового типа действия является индолилмасляная кислота в концентрации 1,0 мг/л.

Ключевые слова: *Amelanchier* Medik.; *in vitro*; минеральный состав питательной среды; регуляторы роста; морфогенетический потенциал

Введение

Род Ирга (*Amelanchier* Medik.) относится к семейству Rosaceae Juss. и включает 23 вида. Ирга представляет собой листопадный кустарник или небольшое деревце, отличающееся неприхотливостью к условиям выращивания [4, 22].

В России ирга, по большей части, известна как ягодная культура для переработки, однако, за границей её ценят не только за гармоничный вкус плодов и лекарственные свойства. В Европе, Канаде и США данное растение активно использовали в декоративных целях [5, 13, 16]. Некоторые исследователи также отмечали возможность применения в озеленении представителей рода *Amelanchier* Medik. на территории нашей страны [3, 11, 12].

Иргу широко применяют в ландшафте, как в групповых, так и солитерных посадках. Данная культура может быть сформирована в один штамб или в многостамбовую форму, подходит для создания высокой живой изгороди [5]. Растение эстетично круглый год. Весной декоративность заключается в обильном цветении. Окраска цветков и бутонов в основном белая, но есть сорта, отличающиеся розовыми и жёлтыми бутонами (Robin Hill и Princess Diana). Примечательна и окраска молодых листочков. Так, например, у сортов, относящиеся к виду *A. × grandiflora* Rehder, они имеют бронзовый оттенок. Летом ирга выделяется кроной сочного зеленого цвета и плодами от красного до фиолетового оттенка. Такое разнообразие цвета обусловлено неравномерностью созревания плодов в кисти. Осенью же листья кустарника окрашены ярко желто-оранжевым или алым цветом, сохраняющимся на растении до поздней осени. Стоит отметить, что плоды ирги активно поедаются различными видами птиц, что способствует поддержанию фауны в городе [8].

В настоящее время существует несколько способов вегетативного размножения сортовой ирги: корневой порослью, делением куста, зеленым черенкованием, прививкой и микроразмножением [2, 7, 9, 10]. Наиболее эффективным является метод клонального микроразмножения, который активно практикуется зарубежными странами для получения массового посадочного материала данной культуры.

Первые опыты по клональному микроразмножению были проведены в Канаде и США в 90-ых годах XX века. К. Pruski (1990) исследовал влияние минерального состава питательной среды на четырёх сортах ирги ольхолистной (Pembina, Smoky, Thiessen и Northline). Оптимальные условия для микроразмножения были достигнуты путем использования питательной среды Мурасиге и Скуга (МС) и добавления к ней 6-бензиламинопурина (6-БАП) в концентрации 8,8 и 13,3 μM [20]. Fengli Yang (2017) также отмечал эффективность применения 6-БАП для культивирования ирги ольхолистной в сравнении с другими типами цитокинина (тидиазурон, зеатин и кинетин). Mark H. Brand (1993) исследовал степень витрификации регенерантов ирги древовидной в зависимости от концентрации агара и нитрата аммония в питательной среде. Было установлено, что при повышении концентрации агара степень витрификации снижалась, а при добавлении нитрата аммония увеличивалась [14]. Júlia Hunková (2017) изучила влияние различных источников железа на рост и развитие ирги ольхолистной в культуре *in vitro*. Питательная среда МС, содержащая FeNaEDTA значительно увеличивала число микропобегов [17].

Также опыты по клональному микроразмножению проводились на ирге канадской во ВСТИСП В.А. Высоцким в 1995 г. Максимальный коэффициент размножения был достигнут на питательной среде МС с добавлением 10,0 мг/л 2-изопентиладенина и составил $7,0 \pm 0,8$. Наибольший процент укоренившихся регенерантов (87%) был получен при замачивании микропобегов на 18 часов в растворе, содержащем 25,0 мг/л индолилмасляной кислоты [2].

В отечественной и зарубежной литературе опубликованы работы, посвящённые в основном особенностям развития в условиях *in vitro* видов ирги или некоторых сортов ирги ольхолистной, что делает актуальными исследования других сортов представителей рода *Amelanchier* Medik.

Целью данного исследования является выявление особенностей морфогенеза и сравнение регенерационного потенциала представителей рода *Amelanchier* Medik. на этапах микроразмножения и укоренения в зависимости от используемых минеральных составов питательных сред и регуляторов роста.

Объекты и методы исследования

В коллекции растений *in vitro* лаборатории биотехнологий растений ФГБУН ГБС им. Н.В. Цицина РАН размножаются и сохраняются сорта, относящиеся к различным видам рода *Amelanchier* Medik.: Красноярская, Mandan (*A. alnifolia* (Nutt.) Nutt. Ex M.Roem.); \times *Amelasorbus* Rehder; Prince William (*A. canadensis* (L.) Medik.); Ballerina (*A. \times grandiflora* Rehder).

В работе использовали общепринятые методы работы с культурой изолированных тканей и органов растений и приемы, разработанные в лаборатории биотехнологии растений ГБС РАН [1, 6].

Для определения оптимального минерального состава питательной среды были испытаны среды Woody Plant Medium (W) (1980) [18], Мурасиге и Скуга (МС) (Murashige, Skoog 1962) [19] и Quorin и Lepoivre (QL) (1977) [21], с добавлением 0,5 мг/л 6-бензиламинопурина (6-БАП).

Для выявления особенностей развития эксплантов ирги в зависимости от вещества цитокининового типа действия было проведено сравнение двух регуляторов роста: 6-бензиламинопурина и 2-изопентил-аденина (2-ИП) в концентрации 1,0 мг/л. Далее были испытаны 6-БАП в концентрации 0,2; 0,3; 0,5; 1,0 мг/л.

На этапе укоренения экспланты переносили на питательную среду, содержащую $\frac{1}{2}$ нормы минерального состава МС, а также индолилмасляную (ИМК) и индолилуксусную (ИУК) кислоты в концентрации 0,5 и 1,0 мг/л. В качестве контроля использовали МС без

регулятора роста. При культивировании поддерживали следующие условия: освещенность 2000 лк, фотопериод 16 ч., температура 23-25°C.

Через 28 суток на этапе микроразмножения измеряли высоту микропобегов, подсчитывали их число и рассчитывали коэффициент размножения. На этапе ризогенеза производили подсчёт корней, образованных у регенерантов, и вычисляли процент укоренения.

Для обработки полученных данных были использованы общепринятые методы статистического анализа, реализованные с помощью программного обеспечения Microsoft Office Excel 2010 и PAST 2.17.

Результаты исследований

Известно, что генотип, тип исходного экспланта, компоненты питательной среды и условия культивирования определяют процесс органогенеза. Минеральный состав питательной среды является одним из основных факторов, влияющих на реализацию морфогенетического потенциала растения. В первом опыте было проведено сравнение трёх вариантов минеральной основы питательных сред (Рис. 1).

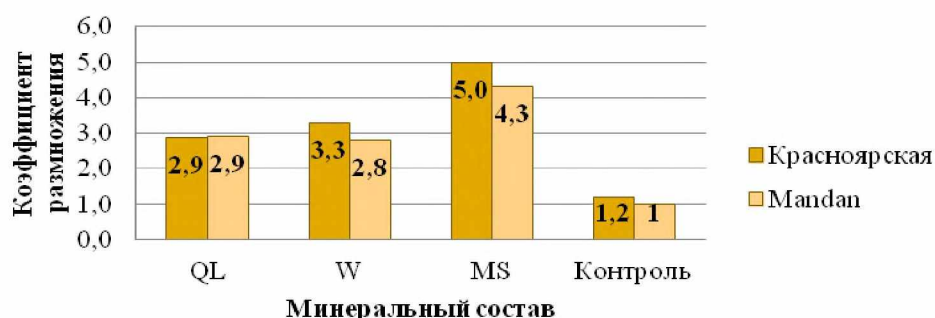


Рис. 1 Влияние минеральной основы питательной среды на коэффициент размножения ирги, (НСР₀₅ 1,42)

Культивирование на питательной среде MS оказалось более эффективным по сравнению со средами Woody Plant Medium и Quorin и Lepoivre. У сорта Красноярская данный показатель составил 5,0 у Mandan – 4,3. Подобные результаты были получены некоторыми иностранными исследователями [20].

Увеличение количественных показателей культуры (высоты микропобегов и числа микропобегов) во многом зависит от правильного подбора вещества цитокининового типа действия. В ходе сравнительного анализа было выявлено существенное влияние регулятора роста на высоту микропобегов (Рис. 2).



Рис. 2 Влияние регулятора роста на высоту микропобегов ирги (НСР₀₅ 1,8)

Наименьшая высота микропобегов у сортов рода *Amelanchier* Medik. была получена на питательной среде без добавления регуляторов роста и составила 10,5 мм.

Максимальная высота была достигнута на питательной среде МС, содержащей 6-БАП и равнялась 16,0 мм. Экспланты, культивируемые на питательной среде МС, содержащей 2-ИП, занимали промежуточное значение 12,5 мм.

Число микропобегов важный признак, определяющий способность культуры к регенерации. При оценке групповых средних по данному признаку была отмечена значительная разница между веществами цитокининового типа действия (Рис. 3).

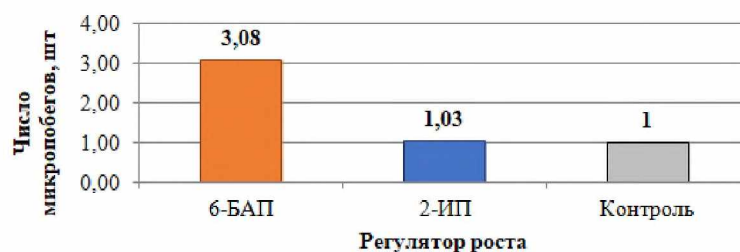


Рис. 3 Влияние регулятора роста на число микропобегов ирги (НСР₀₅ 0,35)

На питательной среде, содержащей 6-БАП, было получено максимальное число микропобегов 3,08 шт., что в 3 раза превышало число микропобегов, полученных на питательной среде с 2-ИП (1,03 шт.). 6-БАП индуцировал образование адвентивных побегов в базальной части эксплантов, в то время как 2-изопентил-аденин оказывал слабый стимулирующий эффект на рост пазушных почек (Рис. 4).



Рис. 4 Влияние различных регуляторов роста цитокининового типа действия на регенерацию микропобегов у сорта ирги Красноярская: а – 2-ИП; б – 6-БАП

Вследствие различного действия регуляторов роста на экспланты ирги, выявлено также существенное различие в коэффициентах размножения. На питательной среде без добавления регуляторов роста отмечали минимальный коэффициент размножения, не превышающий показателя 1,0 (Рис. 5).



Рис. 5 Влияние регулятора роста на коэффициент размножения ирги (НСР₀₅ 0,44)

Коэффициент размножения для сортов ирги на среде, содержащей 6-БАП, составляет 4,3. 2-изопентил-аденин в концентрации 1,0 мг/л оказывал незначительное

влияние на побегообразование *Amelanchier* Medik., коэффициент размножения был чуть выше, чем на безгормональной среде (1,0) и составил 1,2.

Наряду с этим был также проведен сравнительный анализ регенерационной способности сортов ирги при культивировании на средах с различными концентрациями 6-бензиламинопурина (Табл. 1).

Таблица 1

Влияние различных концентраций 6-БАП на морфогенетический потенциал сортов ирги

Сорт	Концентрация 6-БАП, мг/л	Высота микропобегов, мм	Число микропобегов, шт.	Коэффициент размножения
Красноярская	0,2	19,0±1,4	1,8±0,1	1,8±0,1
	0,3	17,4±1,2	1,3±0,1	1,9±0,2
	0,5	14,8±1,4	3,5±0,5	5,9±1,0
	1,0	14,5±0,8	4,8±0,6	7,1±0,7
Mandan	0,2	16,4±0,8	1,5±0,1	1,9±0,2
	0,3	15,7±0,9	1,9±0,1	2,1±0,2
	0,5	16,3±1,5	3,0±0,4	4,3±0,6
	1,0	13,5±0,9	3,4±0,2	4,5±0,3
×Amelasorbus	0,2	15,2±0,9	1,2±0,1	1,3±0,1
	0,3	16,1±0,7	1,3±0,1	1,3±0,2
	0,5	16,9±0,9	1,8±0,2	1,7±0,4
	1,0	14,1±2,2	3,3±0,4	3,0±0,6
Prince William	0,2	12,0±1,2	1,1±0,1	1,7±0,1
	0,3	11,9±0,9	1,2±0,1	1,7±0,1
	0,5	13,9±1,3	1,5±0,1	2,7±0,2
	1,0	18,8±0,7	1,9±0,2	4,7±0,2
Ballerina	0,2	11,7±0,6	1,3±0,1	1,5±0,1
	0,3	13,6±1,1	1,4±0,1	1,6±0,1
	0,5	15,1±1,1	1,4±0,1	1,6±0,1
	1,0	19,1±1,3	2,0±0,2	2,9±0,3

Полученные результаты показали, что высота микропобегов варьировала в пределах от 11,7 до 19,1 мм. С повышением концентрации 6-БАП в питательной среде прямо пропорционально увеличивалась высота микропобегов у сортов Prince William (*A. canadensis*) и Ballerina (*A. × grandiflora*). Максимальная высота у данных сортов была достигнута при концентрации 1,0 мг/л и равнялась 18,8 и 19,1 мм соответственно, минимальная при 0,2 мг/л – 12,0 и 11,7 мм. При этом стоит отметить, что с увеличением концентрации регулятора роста происходило снижение высоты микропобегов у сортов, относящихся к *A. alnifolia* (Красноярская и Mandan). Таким образом, на питательной среде, содержащей 1,0 мг/л 6-БАП она составила у сорта Красноярская 14,5, а у сорта Mandan 13,5 мм. При 0,2 мг/л 6-БАП высота микропобегов составила 19,0 мм у сорта Красноярская и 16,4 мм у сорта Mandan.

Питательная среда, содержащая 6-бензиламинопурина в концентрации 1,0 мг/л способствовала образованию наибольшего числа микропобегов, а также характеризовалась максимальным коэффициентом размножения у всех сортов ирги. На среде с 1,0 мг/л 6-БАП у сорта Красноярская были отмечены максимальные показатели числа микропобегов (4,8±0,6) и коэффициента микроразмножения (7,1±0,7). Формированием незначительного числа микропобегов на данной питательной среде характеризовался сорт Prince William (1,9±0,2), а минимальным коэффициентом размножения – сорт Ballerina (2,9±0,3).

В процессе выявления особенностей ризогенеза на этапе укоренения микропобегов в зависимости от используемых типов ауксина и их концентраций было установлено существенное влияние генотипа и гормонального состава питательной среды на число образовавшихся корней у сортов ирги ольхолистной (Табл. 2)

Таблица 2

Влияние регуляторов роста и генотипа на ризогенез сортов ирги ольхолистной

Сорт (НСР ₀₅ 0,56)	Регуляторы роста, мг/л (НСР ₀₅ 1,33)	Число корней, шт	Частота укоренения, %
Красноярская	0,5 ИУК	1,5	47
	0,5 ИМК	4,5	90
	0,5 ИУК+0,5 ИМК	2,3	29
	1,0 ИУК	1,8	38
	1,0 ИМК	4,7	90
	1,0 ИУК+ 1,0 ИМК	4,3	85
Mandan	0,5 ИУК	1,1	24
	0,5 ИМК	1,8	33
	0,5 ИУК+0,5 ИМК	1,3	67
	1,0 ИУК	2,0	29
	1,0 ИМК	2,6	71
	1,0 ИУК+ 1,0 ИМК	2,5	67

Среднее число образовавшихся корней у сорта Красноярская составило 3,8 шт. на эксплант, что по своим показателям значительно превышает сорт Mandan (2,0 шт.). Анализируя проведенный эксперимент, было установлено, что наибольшее влияние на корнеобразование оказали питательные среды, содержащие ИМК. Максимальное число корней было получено при культивировании микропобегов на среде МС с 1,0 мг/л ИМК (Красноярская – 4,7 шт., Mandan – 2,6 шт.). Наименьшим числом корней характеризовались микропобеги, помещенные для ризогенеза на питательную среду, содержащую ИУК в концентрации 0,5 мг/л. Так этот показатель составил 1,5 шт. у сорта Красноярская и 1,1 шт. у сорта Mandan. Стоит отметить, что высокую частоту ризогенеза микропобегов наблюдали на питательной среде с 1,0 мг/л ИМК (Красноярская – 90%, Mandan – 71%).

Выводы

Таким образом, в ходе проведенного исследования были выявлены особенности регенерации эксплантов у сортов, относящихся к различным видам рода *Amelanchier* Medik. Установлено, что наиболее подходящей для индукции регенерации сортов ирги является питательная среда Мурасиге и Скуга, а оптимальным веществом цитокининового типа действия – 6-бензиламинопури, стимулирующий образование адвентивных микропобегов.

У сортов Prince William (*A. canadensis*) и Ballerina (*A. ×grandiflora*) отмечено увеличение высоты микропобегов в зависимости от повышения концентрации регуляторов роста в питательной среде. Максимальная высота микропобегов была достигнута в варианте опыта с 1,0 мг/л 6-БАП и составила 18,8 и 19,1 мм соответственно. Однако, у генотипов, относящихся к виду *A. alnifolia* (Красноярская, Mandan), а также у *×Amelasorbis*, при повышении концентрации регулятора роста

наблюдали уменьшение высоты микропобегов. Наибольшая высота микропобегов получена на среде МС с 0,2 мг/л 6-БАП (19,0 и 16,4 мм соответственно).

Оптимальным регулятором роста для сортов *A. alnifolia* на этапе ризогенеза является ИМК в концентрации 1,0 мг/л. Среди сортов данного вида максимальная частота корнеобразования микропобегов был отмечена у сорта Красноярская (70%).

Работа выполнена в рамках ГЗ ГБС РАН (№18-118021490111-5)

Список литературы

1. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнология на их основе. – М.: ФБК-ПРЕСС, 1999. – С. 160.
2. Высоцкий В.А. Биотехнологические методы в системе производства оздоровленного посадочного материала и селекции плодовых и ягодных растений: автореф. дис. – М., 1998. – С. 44.
3. Герасимова Е.Ю. Эколого-биологическая оценка видового состава и методы создания зеленых насаждений с использованием интродуцентов в условиях степной зоны Южного Урала: на примере Оренбургской области: автореф. дис. – Тольятти, 2017. – С. 19.
4. Корунчикова В.В. Виды рода ирга // Генетические ресурсы лекарственных и ароматических растений. – М.: Изд-во Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений, 2001. – С. 196 – 197.
5. Куклина А.Г. Жимолость, ирга. – М.: Ниола-пресс, 2007. – С. 240.
6. Молканова О.И., Васильева О.Г., Коновалова Л.Н. Научные основы сохранения и воспроизводства генофонда ценных и редких видов растений в культуре *in vitro* // Бюллетень ГБС РАН. – 2015. – № 2. – С. 78-82.
7. Овчинников И.Ф. Ирга. – Кудымкар: Коми-Перм. кн. изд-во – 1963. – 32 с.
8. Сахвон В.В., Янчуревич О.В. Значение ирги колосистой *Amelanchier spicata* для птиц в летний период года // Русский орнитологический журнал. – 2016. – Т.25. – Экспресс-выпуск № 1292 – С. 1964-1966.
9. Скрипниченко М.М., Степанова О.А. Размножение актинидии и ирги зелёными черенками // Научный вклад молодых исследователей в сохранение традиций и развитие АПК. – СПб: Санкт-Петербургский государственный аграрный университет, 2016. – С. 83-84.
10. Степанова А.В. Технология размножения ирги методом укоренения зелёных черенков в условиях искусственного тумана с применением подогрева субстрата // Успехи современной науки и образования. – 2017. – Т. 2. – № 3. – С. 82-84.
11. Хромов Н.В. Оценка видов ирги на пригодность к использованию в озеленении // Плодоводство и ягодоводство России, Всероссийский селекционно-технологический институт садоводства и питомниководства, 2006. – С. 30-32.
12. Шилов Е.П. Перспективность введения в культуру интродуцированных кустарников рода *Amelanchier* в засушливых условиях // Экология и мелиорация агроландшафтов, Федеральный научный центр агроэкологии, комплексных мелиораций и защитного лесоразведения РАН, 2017. – С. 248-252.
13. Annette M., Richard G. Revised International Registry of Cultivars and Germplasm of the Genus *Amelanchier* // Small Fruits Review. – 2003. – Vol. 2. – P. 51-80.
14. Brand M.H. Agar and ammonium nitrate influence hyperhydricity, tissue nitrate and total nitrogen content of serviceberry (*Amelanchier arborea*) shoots *in vitro* // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 1993. – Vol. 35. – P. 235-239.
15. Fengli Y., Baoguo D. *In vitro* proliferation of Saskatoon berry (*Amelanchier alnifolia* Nutt.) is affected by plant growth regulators and their concentrations but less by carbon source // Indian Journal of Biotechnology. – 2017. – Vol. 16. – P. 648-654.

16. *Hinrichsen J., Hatterman-Valenti H.* Serviceberry biotypes in North Dakota: new woody edible ornamental trials // *Acta Horticulturae*. – 2018. – 1191. – P. 53-58.
17. *Hunková J., Libiaková I. G., Fejér J., Gajdošová A.* Improved *Amelanchier alnifolia* (Nutt.) Nutt. ex M. Roem. shoot proliferation by manipulating iron source // *Propagation of Ornamental Plants*. – 2017. – Vol. 17. – № 3. – P. 103-107.
18. *Lloud G., McCown B.* Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture // *Proc. Intern. Plant Prop. Soc.* – 1980. – Vol. 30. – P. 420-427.
19. *Murashige T., Skoog F.* A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiologia Plantarum*. – 1962. – Vol. 15. – P. 473 – 497.
20. *Pruski K., Nowak J., Grainger G.* Micropropagation of four cultivars of Saskatoon berry (*Amelanchier alnifolia* NUTT.) // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. – 1990. – Vol. 21. – P. 103-109.
21. *Quoirin M., Lepoivre P.* Improved medium for in vitro culture of *Prunus* sp. // *Acta Horticulturae*. – 1977. – V. 78. – P. 437-442.
22. The Plant List. Version 1.1., 2013.

Статья поступила в редакцию 09.04.2020 г.

Raeva-Bogoslovskaya E.N., Molkanova O.I. Some features of clonal micropropagation of decorative cultivars of *Amelanchier* Medik. // *Bull. of the State Nikita Botan. Gard.* – 2020. – № 135. – P. 97-104.

In vitro culture conditions were optimized for representatives of the genus *Amelanchier* Medik. at the stages of micropropagation and rooting. A significant effect of the mineral and hormonal compositions of culture media on the morphogenetic potential of the cultivars of serviceberry has been established. The use at the stage of micropropagation of the MS culture medium with addition 1,0 mg / L 6-benzylaminopurine (6-BAP) promoted the active microshoot regeneration of the studied genotypes. For the induction of rhizogenesis the type of auxin as IBA at a concentration of 1,0 mg / L was used.

Keywords: *Amelanchier* Medik.; *in vitro*; mineral composition of the culture medium; growth regulators; morphogenetic potential

УДК 631.523:634.1:635.9

DOI: 10.36305/0513-1634-2020-135-104-111

ВЛИЯНИЕ СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ НА РАЗВИТИЕ СПОРОФИТОВ *OSMUNDA REGALIS* L. *IN VITRO*

**Валентина Ивановна Маляровская, Руслан Султанович Рахмангулов,
Наталья Григорьевна Конинская**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский
научно-исследовательский институт цветоводства и субтропических культур»
354002, г. Сочи, ул. Яна Фабрициуса 2/28
E-mail: malyarovskaya@yandex.ru

Одним из значимых этапов для размножения редкого исчезающего папоротника *Osmunda regalis* L. посредством спор в культуре *in vitro* является регенерация спорофитов из гаметофитов. В статье показано, что эффективное образование спорофитов *O. regalis* наступало раньше (через 60 суток) и в большем процентном отношении (51,6%) на питательной среде с меньшим содержанием солей ½ МС, а