

¹ K. A. Timiryazev Institute of Plant Physiology
of the Russian Academy of Sciences,
Moscow, Russia, e-mail: NechaevaTatyana.07@yandex.ru

² Federal Research Centre
the Subtropical Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences,
Sochi, Russia, e-mail: m.v.gvasaliya@mail.ru

The adaptive potential of tea plants and micro-shoots (*in vivo* and *in vitro* systems, respectively) for long-term exposure to calcium ions (Ca^{2+}), as an element with multifunctional activity, was studied. There was a decrease in the level of lipid peroxidation in the plants' and micro-shoots' leaves of the experimental variants compared with the control, which indicated a decrease in the intensity of oxidative processes with an increase in the concentration of Ca^{2+} in the habitat. The total content of phenolic bioantioxidants in the micro-shoots' leaves was 3 times higher in comparison with the plants and did not change under the influence of calcium. The amount of carotenoids was comparable in the control variants and decreased against the background of an increased concentration of Ca^{2+} only in tea plants' leaves. In general, there is a significant similarity between the adaptive reactions of tea plants and micro-shoots to the effect of Ca^{2+} , which proves the validity of extrapolation of the data obtained in *in vitro* culture on tea plants when studying the action of various exogenous inducers.

Key words: *Camellia sinensis*, plants, microshoots, calcium, lipid peroxidation, phenolic compounds, carotenoids.

УДК:634.2:631.53

doi: 10.31360/2225-3068-2021-78-76-82

ВЛИЯНИЕ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД С РАЗЛИЧНЫМ ГОРМОНАЛЬНЫМ СОСТАВОМ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ РАЗМНОЖЕНИЯ СОРТОВ ВИШНИ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Ташматова Л.В., Ряго Н.В., Мельяновская А.Ю.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур».
г. Орёл, Россия, e-mail: Ryago@vniispk.ru

В целях совершенствования классического селекционного процесса все большее значение приобретает использование биотехнологических методов и приёмов, в частности культивирования растений *in vitro*, направленных на сокращение времени получения ценных генотипов. В статье представлены результаты изучения влияния питательных сред с различным гормональным составом на интенсивность размножения сортов вишни в культуре *in vitro*. Опыт проводился на базе лаборатории биотехнологии ВНИИСПК (г. Орёл) в 2019 и

2020 гг. Объектами исследования являлись сорта: 'Бусинка', 'Быстринка', 'Капелька', 'Ливенская', 'Мценская', 'Новелла', 'Орлица', 'Подарок учителям', 'Превосходная Колесниковой', 'Путинка', 'Ровесница', 'Тургеневка', 'Шоколадница'. На этапе размножения в культуре *in vitro* использовали минеральные основы сред по прописи Мурасиге-Скуга и WPM – Woody Plant Medium (среда Ллойда и Мак Коуна). Анализ полученных данных позволил сделать вывод о том, что оптимальной средой для культивирования сортов вишни на этапе пролиферации является среда с минеральным состав по прописи WPM.

Ключевые слова: вишня, размножение, *in vitro*, жизнеспособность, питательная среда, стимуляторы роста.

В целях совершенствования классического селекционного процесса все большее значение приобретает использование биотехнологических методов и приёмов, в частности культивирования растений *in vitro*, направленных на сокращение времени получения ценных генотипов. Основным методом получения высококачественного безвирусного материала является культивирование меристем путём клонального микроразмножения [2–5, 9, 14].

Для клонального микроразмножения косточковых культур используют различные среды: для микроразмножения вишни – среды Пиерика, Готре, Уайта, Хеллера, для вишни и сливы – среду Розенберга, модифицированную для плодовых культур и для сливы – среду Лепуавра и В5. Наиболее подходящей для клонального микроразмножения вишни, черешни и сливы является питательная среда Мурасиге-Скуга (МС). К питательным средам добавляют 6-бензиламинопурин (6-БАП) в концентрациях 0,2–2 мг/л в зависимости от этапа клонального микроразмножения плодовых косточковых культур. На этапе введения в культуру *in vitro* применяют более низкую концентрацию цитокинина — 0,2 мг/л БАП. С целью индукции пролиферации пазушных почек и получения максимального числа побегов микрорастения вишни культивируют с добавлением БАП, в концентрациях 0,5–2 мг/л, микрорастения сливы 0,5–1 мг/л БАП [7, 8, 13].

Таким образом, на первой и второй стадиях в среду добавляют цитокинины для увеличения интенсивности размножения, иногда в сочетании с ауксином или гиббереллиновой кислотой. Необходимо подобрать оптимальные концентрации гормонов для каждого вида, а иногда и для сортов растений [9, 11, 12].

Общий недостаток микроразмножения заключается в том, что при массовом размножении сразу нескольких сортов в культуре *in vitro* наблюдается различная сортовая реакция растений на стандартную питательную среду. При этом наблюдается значительное ухудшение роста и развития растений *in vitro* (ветвление, отмирание верхушек, образование каллуса), снижение коэффициента размножения [1, 10].

Целью исследований являлось изучение влияния питательных сред с различным гормональным составом на интенсивность размножения сортов вишни в культуре *in vitro*.

Материалы и методы. Опыт проводился на базе лаборатории биотехнологии ВНИИСПК (г. Орёл) в 2019 и 2020 гг.

Объектами исследования являлись сорта 'Бусинка', 'Быстринка', 'Капелька', 'Ливенская', 'Мценская', 'Новелла', 'Орлица', 'Подарок учителям', 'Превосходная Колесниковой', 'Путинка', 'Ровесница', 'Тургеневка', 'Шоколадница'. В культуру *in vitro* вводили экспланты размером 1–2 мм.

На этапе размножения в культуре *in vitro* использовали минеральные основы сред по прописи Мурасиге-Скуга и WPM – Woody Plant Medium (среда Ллойда и Мак Коуна) с добавлением регуляторов роста 6-БАП (бензиламинопурин) и ИМК (индолилмасляная кислота).

Исследование проводили на следующих вариантах: MS 6-БАП – 0,5 мг/л (контроль) и 6-БАП – 0,5 мг/л + ИМК 0,1 мг/л, WPM 6-БАП – 0,5 мг/л и 6-БАП – 0,5 мг/л + ИМК 0,1 мг/л.

Для поддержания нормального роста на этапе мультипликации микропобегов *in vitro* в среду MS и WPM с полным составом солей вносили регуляторы роста: 6-бензиламинопурин (1,0 мг/л), индолилмасляную кислоту (0,1 мг/л).

В качестве основного желирующего агента применяли агар-агар бактериологический. Основным источником углеводного питания на этапе микроразмножения являлась сахароза (30 г/л).

Каждый вариант опыта включал 2–3 повторности.

Лабораторные исследования проводили по общепринятой методике [5, 7, 12].

Обработка всех результатов исследований была проведена с применением метода дисперсионного анализа, при помощи MS Excel и SPSS Statistics Base [4].

Результаты и их обсуждение. Для длительного поддержания активно пролиферирующей культуры *in vitro* важно подобрать оптимальное соотношение цитокинина и ауксина. Как показали результаты наших исследований, темпы роста сортов вишни были значительно выше при концентрациях 6-БАП – 0,5 мг/л + ИМК 0,1 мг/л.

Среди исследуемых сортов (табл. 1) лучшие показатели размножения микропобегов отмечены на комбинированной среде MS (6-БАП – 0,5 мг/л + ИМК 0,1 мг/л) у сорта 'Быстринка' – 2,7 шт./экспл., несколько хуже у сортов 'Шоколадница' и 'Ровесница' – 2,6 шт./экспл. На среде WPM с содержанием в составе 6-БАП – 0,5 мг/л + ИМК 0,1 мг/л наибольший коэффициент размножения оказался у сорта 'Новелла' – 3 и 2,9 шт./экспл..

Таблица 1

**Коэффициент размножения
сортов вишни на различных питательных средах, шт./экспл.**

Сорта	Питательные среды			
	MS 6-БАП – 0,5 мг/л	MS 6-БАП – 0,5 мг/л + ИМК 0,1 мг/л	WPM 6-БАП – 0,5 мг/л	WPM 6-БАП – 0,5 мг/л + ИМК 0,1 мг/л
‘Бусинка’	1,7	2,3	1,5	2,5
‘Быстринка’	1,2	2,7	1,6	1,5
‘Капелька’	1,2	2,2	2,8	2,4
‘Ливенская’	1,5	2,5	2,7	2,3
‘Мценская’	1,4	2,5	1,6	1,7
‘Новелла’	1	2	3	2,9
‘Орлица’	1,6	2,3	2,9	2,7
‘Подарок учителям’	2,1	2	2,3	2,5
‘Превосходная Колесниковой’	1	2,2	2,9	2,7
‘Путинка’	2	2	2,8	2
‘Ровесница’	1,8	2,6	2,3	1,8
‘Тургеневка’	2,1	2	2	1,2
‘Шоколадница’	1	2,6	2,9	2,3
НСР _{0,5} = 0,37				

На базовой среде MS с добавлением 0,5 мг/л 6-БАП коэффициент размножения сортов значительно ниже, за исключением сортов ‘Подарок учителям’, ‘Путинка’ и ‘Тургеневка’ – 2,1, 2,0, 2,1, соответственно. Тогда как на базовой среде WPM у сорта ‘Шоколадница’ коэффициент размножения лучше и составляет 2,9.

Составы питательных сред не оказали влияния на морфологические признаки растений (рис. 1).



а

б

Рис. 1. Внешний вид сорта 'Новелла' на двух средах:

а) Сорт 'Новелла' среда MS 6-БАП – 0,5 мг/л

б) Сорт 'Новелла' среда WPM 6-БАП – 0,5 мг/л

Заключение. Сравнивая приведённые характеристики стандартных стимуляторов роста, пришли к выводу, что действие питательной среды с комбинированными гормонами роста близко по своим результатам к питательной среде с концентрацией 6-БАП – 0,5 мг/л. Максимальной регенерационной способностью на среде WPM обладает сорт 'Новелла', далее идут сорта 'Орлица' и 'Превосходная Колесниковой'. Тогда как на среде MS таковыми являются сорта 'Тургеневка', 'Путинка' и 'Подарок учителям'.

Анализ полученных данных позволил сделать вывод о том, что оптимальной средой для культивирования сортов вишни на этапе пролиферации является среда с минеральным составом WPM 6-БАП – 0,5 мг/л.

Эффективность клонального микроразмножения сортов вишни на этапе размножения зависит от минерального состава питательной среды и соотношения в ней регуляторов роста.

Библиографический список

1. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнология на их основе: учебное пособие. – М.: ФБК-Пресс, 1999. –160 с.
2. Бутенко Р.Г. Клеточные технологии в селекционном процессе // Состояние и перспективы развития сельскохозяйственной биотехнологии: мат. всесоюз. конф. – Л., 1986. – С. 29-38.

3. Вечернина Н.А. Методы биотехнологии в селекции, размножении и сохранении генофонда растений. – Барнаул: Изд-во Алт. гос. Ун-та, 2004. – 205 с. – ISBN 5-7904-0389-1.
4. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований): учеб. пособие для высш. с.-х. учеб. заведений. – 5-е изд. – М.: Агропромиздат, 1985. — С. 351.
5. Джигадло Е.Н. Методические рекомендации по использованию биотехнологических методов в работе с плодовыми, ягодными и декоративными культурами. – Орёл: ВНИИСПК, 2005. – 49 с. – ISBN 5-МЕ-РЕ-ПО-ИС-Х.
6. Джигадло Е.Н., Джигадло М.И. Размножение вишни методом верхушечных меристем // Улучшение сортамента и прогрессивные приёмы возделывания плодовых и ягодных культур. — Тула: Приок. кн. Изд-во, 1988. – С. 52-56.
7. Индукция морфогенеза и тканевая селекция плодовых и ягодных культур / под ред. Перфильева В.Е.: методические рекомендации. – Мичуринск: ВНИИ генетики и селекции плодовых растений им. И.В. Мичурина, 1996. – С. 73.
8. Кузнецова Н.В., Митрофанова О.В. Влияние регуляторов роста на регенерационную способность четырёх сортов черешни (*Prunus avium* L.) в условиях *in vitro* // Фактор и экспериментальной эволюции организмов: зб. наук. праць. – Киев: Логос, 2008. – Т. 5. – С. 287-290.
9. Катаева Н.В., Аветисов В.А. Клональное размножение растений в культуре тканей // Культура клеток растений. – М.: Наука, 1981. – С. 137-149.
10. Кухарчик Н.В., Кастрюцкая М.С., Семенов С.Э., Колбанова Е.В. и др. Размножение плодовых и ягодных растений в культуре *in vitro*. — Минск: Беларуская навука, 2016. – 208 с. – ISBN 978-985-08-1952-9.
11. Лутова Л.А. Биотехнология высших растений. – СПб.: Изд-во С.-Петербур. ун-та, 2010. – 228 с. – ISBN 978-5-288-05048-0.
12. Острикова О.В. Оптимизация микроклонального размножения отдалённых гибридов вишни на этапе введения в культуру. // Факториї експериментальної еволюції організмів: зб. наук. пр./ НАН України, НААН України, НАМН України, Укр. т-во генетиків і селекціонерів ім І.М. Вавилова; редкол.: В.А. Кунах (голов. ред.) [та ін.]. – Киев: Логос, 2003–2011. – Т. 11.: присвяч. 90-річчю від дня народження Р.Г. Бутенко. – 2011. – С. 378-383.
13. Расторгуев С.Л. Культура изолированных тканей и органов в селекции плодовых растений. – Мичуринск: МичГАУ, 2009. – 170 с. – ISBN 978-5-94664-162-3.
14. Шевелуха В.С., Калашникова Е.А., Дегтярев С.В. и др. Сельскохозяйственная биотехнология. – М.: Высшая школа, 1998. – 416 с.

**THE EFFECT OF NUTRIENT MEDIAS
WITH DIFFERENT HORMONAL COMPOSITION ON THE INTENSITY
OF PROPAGATION OF CHERRY CULTIVARS *IN VITRO***

Tashmatova L.V., Ryago N.V., Melyanovskaya A.Yu.

*Federal State Budgetary Scientific Institution
"Russian Research Institute for Fruit Crops Breeding",
Orel, Russia, e-mail: Ryago@vniispk.ru*

In order to improve the classical breeding process, biotechnological methods and techniques, in particular, *in vitro* cultivation, used with the aim to reduce the time of obtaining valuable genotypes, are becoming increasingly important. The paper presents research results about the effect of nutrient medias with different

hormonal composition on the intensity of propagation of cherry cultivars *in vitro*. The experiment was conducted in Orel, on the basis of the Biotechnology Laboratory (Russian Research Institute for Fruit Crops Breeding), in 2019 and 2020. The study objects were the cultivars: 'Businka', 'Bystrinka', 'Kapelka', 'Livenskaya', 'Mtsenskaya', 'Novella', 'Orlitsa', 'Podarok uchitelyam', 'Prevoskhodnaya Kolesnikovoy', 'Putinka', 'Rovesnitsa', 'Turgenevka', 'Shocoladnitsa'. At the stage of reproduction *in vitro*, mineral bases from Murashige and Skoog medium (MS) and Woody Plant Medium (WPM) (Lloyd and McCown medium) were used. Analysis of the data obtained allowed us to conclude that the optimal medium for cultivating cherry cultivars at the proliferation stage is a medium based on mineral salts from WPM.

Key words: cherry, reproduction, *in vitro*, viability, nutrient medium, growth stimulants.

УДК 578:581.5(470.62)

doi: 10.31360/2225-3068-2021-78-82-88

**ОСОБЕННОСТИ АДАПТАЦИИ
GALANTHUS WORONOWII LOSINSK.
К УСЛОВИЯМ EX VITRO**

Шуркина Е.С., Маляровская В.И.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«Федеральный исследовательский центр «Субтропический научный центр
Российской академии наук»,
г. Сочи, Россия, e-mail: malyarovskay@yandex.ru*

Вопросы адаптации растений к условиям *ex vitro* изучены недостаточно и для каждой отдельной культуры с учётом её особенностей требуются дополнительные исследования. Целью исследований было изучение особенностей адаптации культивируемых *in vitro* микролуковиц *Galanthus woronowii* Losinsk. к нестерильным условиям. Изучено влияние различных биопрепаратов (циркон 0,25 мл/л, эпин-экстра 0,5 мл/л, Индолил-3-масляной кислоты (ИМК) 1 мг/л) на биометрические показатели и приживаемость луковиц *G. woronowii*. Установлено, что наиболее оптимальными биопрепаратами являются эпин-экстра и циркон, эффективно стимулирующие развитие корневой системы и размеров луковиц подснежника Воронова. Одновременно позволяющие получить наибольший процент приживаемости адаптированных растений, от 83,3 до 100 %, соответственно.

Ключевые слова: *Galanthus woronowii*, адаптация, условия *ex vitro*, биопрепараты, биометрические показатели, укоренение.

Сохранение биологического разнообразия – одна из важнейших задач в деле охраны природы, которой уделяют большое внимание во всем мире. В качестве мер по сохранению биоразнообразия в России и за рубежом используют методы *ex situ* (создание ботанических садов,