

УДК 634.6:58.083

doi: 10.31360/2225-3068-2019-68-125-131

## ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* И МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ ФЕЙХОА СОРТА ‘КУЛИДЖ’

Кастрицкая М. С., Кухарчик Н. В.

*Республиканское научно-производственное  
дочернее унитарное предприятие «Институт плодоводства»,  
аг. Самохваловичи, Республика Беларусь, e-mail: nkykhardtchuk@gmail.com.*

В статье рассмотрен один из способов размножения фейхоа – микро-размножение в культуре *in vitro*. Представлены результаты исследований по введению в культуру *in vitro* фейхоа сорта ‘Кулидж’. Показана высокая результативность введения в культуру *in vitro* фейхоа при использовании вегетативных почек, подобран способ стерилизации и питательная среда Мурасиге-Скуга (MS) с добавлением мезоинозита – 100 мг/л, биотина – 1,0 мг/л, фолиевой кислоты – 1,0 мг/л, цитокинина 2-иР (2 мг/л) на этапе введения. Описаны оптимальные среды (Woody Plant Medium, WPM) с фитогормонами (зеатин, 2-изопентениладенина) для этапа микроразмножения с коэффициентом размножения 1,8–3,0. Выявлена концентрация ИМК и состав питательной среды на этапе ризогенеза, которая позволила получить через 2 месяца, укоренённые растения-регенеранты длиной 2,9 см, с 3 междоузлиями имеющие 2–4 придаточных корня, длиной не менее 6,8 см. Проведённые исследования по адаптации фейхоа показали высокий процент приживаемости растений-регенерантов на двух исследуемых субстратах: на БИОНА-112 – 65 % и на торфяном субстрате (торф Двина +перлит) – 89 %.

**Ключевые слова:** фейхоа, культура *in vitro*, микроразмножение, ризогенез, адаптация, Беларусь.

В наши дни культура фейхоа получает всё большее распространение. Питомники научились её выращивать, а у потребителей создалась и закрепились вкусовая привычка к фейхоа. Размножают фейхоа

посевом семян, черенкованием и отводками. Семена растения очень мелкие и при выращивании из них сеянцев не обеспечивают сортового постоянства, они не всегда сохраняют лучшие качества сорта. Черенки слабо укореняются, более успешно летнее черенкование зелёными побегами [3]. И отработан способ размножения одревесневшими черенками [5].

Лучше удаётся размножение отводками, которые укореняются в течение 5–6 месяцев. Существует способ вегетативного размножения фейхоа *Feijoa sellowiana* Berg прививкой зелёными черенками, включающий размножение и выращивание семенных подвоев с закрытой корневой системой, и подготовку привоев [4].

Сеянцы вступают в пору плодоношения на пятый или шестой год, черенковые – на третий-четвёртый год.

Биологическая особенность культуры – трудность вегетативного размножения и, как следствие, возникает спрос на генетически однородный посадочный материал, и разработку высокоэффективных технологий его получения.

**Объекты и методы, результаты и их обсуждение.** Целью наших исследований являлась отработка элементов микроразмножения *in vitro* фейхоа сорта ‘Кулидж’.

Исследования проводили в отделе биотехнологии РУП «Институт плодородства» в 2017–2018 гг.

Процесс размножения растений в культуре *in vitro* состоял из классических этапов: введение эксплантов в культуру *in vitro*; микроразмножение растений-регенерантов; ризогенез растений в культуре *in vitro*; адаптация укоренённых растений *ex vitro*.

Эксплантами для введения *in vitro* служили черенки фейхоа сорта ‘Кулидж’. Стерилизацию растительного материала проводили по следующей схеме: обработка 0,2%-ным бенлатом – 30 минут; далее в ламинар-боксе мини-черенки с узловыми сегментами обрабатывали 70%-ым этанолом 1 минуту, затем – 30%-ной перекисью водорода – 5 минут; три раза промывали в стерильной дистиллированной воде, содержащей 250 мг/л лимонной кислоты и 250 мг/л аскорбиновой кислоты для предотвращения окисления.

Условия культивирования эксплантов: освещение 2,5–3,0 тыс. люкс, температура +21...+23 °С, фотопериод 16/8 ч.

В наших исследованиях в питательную среду MS для подавления активности ряда ферментов, присущих культуре фейхоа добавляли 0,2 % активированного угля, который также обеспечивал связывание и вывод ряда токсических веществ, в первую очередь, фенольных соединений, возникающих в процессе выращивания.

Следует отметить, эффективность стерилизации при ведении черенков в культуру *in vitro* сорта 'Кулидж' составила 49,5 %. На этапе введения в состав питательной среды MS добавляли мезоинозит – 100 мг/л, биотин – 1,0 мг/л, фолиевую кислоту – 1,0 мг/л, цитокинин 2-иР (2 мг/л). Длительность культивирования – 8 недель. Предложенный способ стерилизации и питательная среда на этапе введения позволили получить асептическую культуру эксплантов-регенерантов фейхоа сорта 'Кулидж', и перейти ко второму этапу – микроразмножению, в частности, подбору оптимальной питательной среды и выбору фитогормонов.

Эффективность микроразмножения в значительной степени определяется правильным выбором питательной среды и стимуляторов роста для конкретного генотипа. Для микроразмножения фейхоа, по литературным данным, используют среды для древесных растений (Woody Plant Medium, WPM) и Мурасиге и Скуга (MS) [1, 2, 6–8]. В нашей работе по микроразмножению фейхоа в условиях *in vitro* использованы питательные среды с добавлением цитокининов: зеатина (Z – 0,5–2,0 мг/л); 2-изопентениладенина (2-иР – 2,0–5,0 мг/л); 6-бензиладенина (6-БА – 2,0 мг/л).

Среда 1 (WPM+Z) – макро- и микросоли Woody Plant Medium, тиамин, пиридоксин, никотиновая кислота по 2 мг/л, биотин – 1,0 мг/л, фолиевая кислота 0,5 мг/л, мезоинозит – 100,0 мг/л, зеатин – 1,0 мг/л, сахара 30 г, агар 4,5 г, pH 5,8.

Среда 2 (WPM+2-иР) – макро- и микросоли Woody Plant Medium, тиамин, пиридоксин, никотиновая кислота по 2 мг/л, биотин – 1,0 мг/л, фолиевая кислота 0,5 мг/л, мезоинозит – 100,0 мг/л, 5 мг/л 2-изопентениладенина (2-иР), сахара 30 г, агар 4,5 г, pH 5,8.

Среда 3 (MS + 6-БА – 2,0 мг/л) – макро- и микросоли Мурасиге и Скуга тиамин, пиридоксин, никотиновая кислота по 0,5 мг/л, гибберелловая кислота (1,0 мг/л), ИМК (0,1 мг/л), 6-БА (2,0 мг/л), сахара 30 г/л, агар 4,5 г, pH 5,8.

Следует отметить, что для получения нормально сформированных растений-регенерантов фейхоа требуется культивирование в течение не менее 60 дней, причём в течение 1–2 пассажей отмечается только стабилизация культуры, без размножения микрочеренков.

С 3-го пассажа размножение фейхоа сорта 'Кулидж' проводили на питательной среде MS, дополненной гибберелловой кислотой (1,0 мг/л), ИМК (0,1 мг/л), 6-БА (2,0 мг/л) и на питательной среде WPM, дополненной зеатином (1,0 мг/л) или 2-иР (5 мг/л). Коэффициент размножения для растений-регенерантов культивируемых на питательной среде WPM по 3–6 пассажам составлял от 1,8 до 3,0 (табл. 1, рис. 1).

Таблица 1

## Коэффициент размножения фейхоа на 3-6 пассаже

Пассаж	Коэффициент размножения		
	MS + 6-БА	WPM + Z	WPM + 2iP
3	1,7	2,5	1,8
4	1,3	2,3	2,9
5		2,0	2,0
6		2,9	3,0



Рис. 1. Растения-регенеранты на этапе микроразмножения

Размноженные *in vitro* растения высаживали на этапе ризогенеза на среды, содержащие: 1/4 макро- и микросолей MS с добавлением 0,25 мг/л ИМК; 1/2 макро- и микросолей MS + 0,5 мг/л ИМК; WPM + 0,5 мг/л ИМК. Через 2 месяца после посадки на среды для ризогенеза укоренённые растения-регенеранты достигали длины 2,9 см, содержали 3 междоузлия, 2–4 придаточных корня, длиной не менее 6,8 см. На всех средах отмечено значительное количество микрочеренков с каллусом у основания (табл. 2, рис. 2) и укоренившиеся растения-регенеранты.

Таблица 2

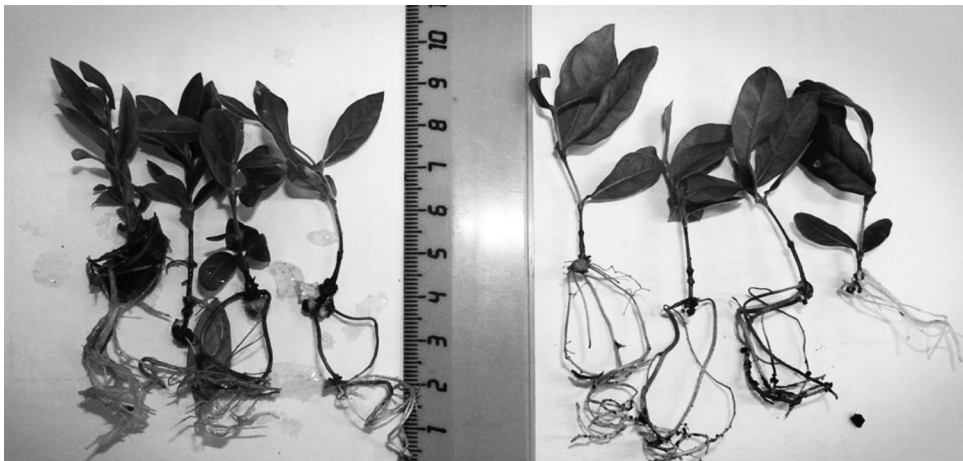
## Ризогенез растений-регенерантов

Питательная среда	Количество растений, шт.		
	посажено	укоренённых	с каллусом
MS 1/4 + 0,25 мг/л ИМК	60	20	36
MS 1/2 + 0,5 мг/л ИМК	60	11	34
WPM + 0,5 мг/л ИМК	88	24	52



**Рис. 2.** Образование корней у микрорастений сорта 'Кулидж' на среде MS + с 0,25 мг/л ИМК и MS + ИМК 0,5 мг/л

Для адаптации в нестерильных условиях отобраны растения-регенеранты, достигшие 2,9 см высоты и имеющие хорошо развитую корневую систему (рис. 3).



**Рис 3.** Растения фейхоа после этапа укоренения

Процесс адаптации растений-регенерантов после культуры *in vitro* проводили в два этапа.

1-й этап. Растения после укоренения *in vitro* высаживали в кассеты объёмом 50 мл, заполненные субстратом торф Двина + перлит (3 : 1) и БИОНА-112 (рис. 4).



Растения на этапе адаптации

Саженец фейхоа  
через 7 месяцев высадки  
из пробирок

**Рис. 4.** Этапы адаптации растений фейхоа

Корни растений отмывали от остатков среды в слабом растворе перманганата калия. Кассету с растениями накрывали полиэтиленовой плёнкой, создавая условия повышенной влажности, до тех пор, пока не появлялись молодые верхушки. Полив производился дистиллированной водой. Длительность 1-го этапа адаптации – 2 месяца. Проведённые исследования по адаптации фейхоа показали высокий процент приживаемости растений-регенерантов на двух исследуемых субстратах: на БИОНА-112 65 % и на торфяном субстрате (торф Двина + перлит) – 89 %.

2-ой этап (этап постадаптации). Адаптированные растения пересаживали в горшки объёмом 500 мл с торфяным (торф Двина + перлит) субстратом, состав которого идентичен субстрату, используемому на 1-ом этапе (рис. 4). Длительность 2-го этапа адаптации – 3–4 месяца. Полив производился водопроводной водой. На втором этапе адаптации гибели растений не отмечено.

**Заключение.** Показана высокая (49,5 %) результативность введения в культуру *in vitro* фейхоа при использовании черенков и питательной среды MS с мезоинозитом – (100 мг/л), биотином (1,0 мг/л), фолиевой кислотой (1,0 мг/л), 2-іР (2 мг/л). Коэффициенты размножения на этапе микроразмножения на питательных средах WPM с зеатином (1,0 мг/л) или 2-іР (5 мг/л) составляют 1,8–3,0. Питательная среда для ризогенеза, содержащая  $\frac{1}{4}$  MS с добавлением 0,25 мг/л ИМК, позволяет в течение 60 дней получить до 30 % растений с хорошо развитой корневой системой. Установлен высокий процент (65–89 %) адаптации растений-регенерантов фейхоа на двух исследуемых субстратах (БИОНА-112 и торф Двина + перлит).

**Библиографический список**

1. Кастрицкая М.С., Кухарчик Н.В., Месхидзе А.М. Введение в культуру *in vitro* фейхоа сорта 'Кулидж' // Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология: тезисы докладов XI Междунар. конф., Минск, 23-27 сентября 2018 г. / НАН Беларуси; Центральный ботанический сад; Белорусский республиканский фонд фундаментальных исследований; Рос. акад. наук; Ин-т физиологии растений им. К.А. Тимирязева, МГУ им. М.В. Ломоносова; редкол.: В.Н. Решетников [и др.]. – Минск: Медисонт, 2018. – С. 88-89. – ISBN 978-985-7199-23-5.
2. Кухарчик Н.В., Кастрицкая М.С., Семенас С.Э. Размножение плодовых и ягодных растений в культуре *in vitro* / под общ. ред. Н.В. Кухарчик. – Минск: Беларуская навука, 2016. – 208 с. – ISBN 978-985-08-1952-9.
3. Пирцхалайшвили С.Х., Горгошидзе Г.М. Размножение фейхоа семенами и черенками // Субтропические культуры. – 1970. – № 3. – С. 81-89.
4. Способ вегетативного размножения фейхоа прививкой зелёными черенками: Патент России № 2434378 А01G 1/00 // А.А. Тибилов, Н.М. Разгонов, З.А. Тибилов, № 1 200914730/13, подача заявки – 30.12.2009; опубл. 27.11.2011.
5. Шишкина Е.Л. Размножение фейхоа одревесневшими черенками // Вестник Российского Государственного аграрного заочного университета. – 2014. – № 16(21). – С. 24-27. – ISSN 2075-3756.
6. Canhoto J.M., Gruz G.S. Micropropagation of pineapple guave organogenesis and axillary shoot proliferation // Proc. XXV IHC – Part 10. Acta Hort. 2000. – 520. – P. 109-117.
7. Mitrofanova I.V., Mitrofanova O.V. Development of recipient system of woody subtropical plants *in vitro* // Acta Universitatis Latviensis, Biology. – 2004. – Vol. 676. – P. 189-196.
8. Ross S., Grasso R. *In vitro* propagation of 'Guayabo del país' (*Acca sellowiana* Berg) Burret // Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology. – 4 (Special issue 1). – 2010. – P. 83-87.

**IN VITRO-CULTURE INITIATION AND MICROPROPAGATION  
OF FEIJOA CULTIVAR 'COOLIDGE'**

**Kastritskaya M. S., Kukharchik N. V.**

*Republican Research and Production  
Associated Unitary Enterprise "Institute for Fruit Growing",  
agro-town Samokhvalovichy, Republic of Belarus, e-mail: nkykhartchyk@gmail.com*

The paper studied one of feijoa propagation methods – *in vitro* micropropagation. The study results on *in vitro* culture initiation of feijoa cultivar 'Coolidge' are presented, high efficiency of feijoa *in vitro* initiation using vegetative buds is shown. We determined the sterilization method and optimal nutrient medium for the initiation stage – Murashige Skoog (MS) supplemented with 100 mg/l of mezo-inositol, 1.0 mg/l of biotin, 1.0 mg/l of folic acid, and 2.0 mg/l of cytokinin 2-iP. Optimal media on the base of Woody Plant Medium (WPM) with phytohormones (zeatine, 2-isopentenyladenine) are described for the micropropagation stage with the multiplication coefficient 1.8–3.0. We also determined the concentration of IBA and composition of the nutrient medium at the stage of rhizogenesis, which allowed us within 2 months to get rooted regenerants of 2.9 cm long having 3 internodes, 2.4 adventitious roots, at least 6.8 cm long. Our studies on feijoa adaptation showed a high rate of survived regenerants on two examined substrates: 65 % on BIONA-112 and 89 % on peat substrate ('Dvina' peat + perlite).

**Key words:** feijoa, culture *in vitro*, micropropagation, rhizogenesis, adaptation, Belarus.