

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,

хранилищ зародышевой плазмы и др.) и *in situ* (образование на территории государств заповедников, заказников и других природоохранных зон). Но, наряду с традиционными способами сохранения растений *ex situ* и *in situ*, все большее значение приобретает использование для этих целей методов биотехнологии, в частности, культивирование изолированных тканей и органов.

Методы биотехнологии широко используются для сохранения и размножения редких и исчезающих видов природной флоры [6, 13]. Деградация и уничтожение местообитаний популяций растений в результате изменения климата и деятельности человека ведёт к сокращению численности и исчезновению их популяций, нанося невосполнимый ущерб биологическому разнообразию растений. Среди видов, находящихся в критическом состоянии в регионе, подснежник Воронова.

Подснежник Воронова (*Galanthus woronowii* Losinsk.) эндемичный вид природной флоры, подлежащий охране. *G. woronowii* включён в Красную книгу Краснодарского края и рекомендован к охране на территории Большого Сочи [5]. Также включён в Приложение II Международной Конвенции СИТЕС. Встречается в Краснодарском крае на Черноморском побережье от Туапсе до р. Псоу, в Республике Адыгея, в Ставропольском крае близ г. Ессентуки.

Ранее в наших исследованиях для *G. woronowii* были отработаны этапы введения в культуру и клонального микроразмножения *in vitro* [10–12]. Однако адаптация растений к условиям *ex vitro* является заключительным, обязательным этапом клонального микроразмножения, определяющим успех всей работы, и одновременно стрессовым для растений, культивируемых в стерильных условиях [1, 3, 4, 6, 9]. Из литературных источников известно, что трудности адаптации могут быть обусловлены развитием у растений, культивируемых *in vitro*, морфо-анатомических особенностей, связанных с гетеротрофным питанием, высокой влажностью при выращивании в культуральных сосудах и т. д. [18]. Вследствие этого, часто для повышения адаптационной способности растений используют различные препараты, стимулирующие рост и развитие, и повышающие их иммунитет. Некоторыми авторами выявлено, что использование препаратов элиситорного действия Эль-1 (1 ампула/л) и Экост 1/3 (опудривание корней) позволяет легче перенести растениям *in vitro* стресс при пересадке в нестерильные условия и тем самым повысить выход укоренённых, хорошо адаптированных растений груши [15].

Также, применение экстрасола (5,0 и 10, мл/л) и эмистима (1 и 10 %) на этапе адаптации к нестерильным условиям растений винограда оказывало положительное влияние на приживаемость, высоту растений, число листьев и повышение устойчивости к фитопатогенам [14]. В наших

исследованиях, для адаптации растений-регенерантов *L. caucasicum*, был изучен ряд биопрепаратов, среди которых наилучшие результаты получены при обработке растений плантом-2,5 г/л (92,1 %) и эпином-0,5 мл/л (94,6 %), позволяющие получить адаптированные растения с хорошо развитой корневой системой и листовым аппаратом [9]. В тоже время для *Campanula sclerophylla* применение другого препарата – циркона в концентрации 0,25 мл/л улучшало рост и развитие растений и повышало приживаемость по сравнению с контролем (55,0 %), до 88,2 % [4]. Безусловно, что вопросы адаптации растений к условиям *ex vitro* изучены недостаточно и для каждой отдельной культуры или вида с учётом их особенностей требуются дополнительные исследования [1].

В связи с этим **целью исследований** было изучение особенностей адаптации культивируемых *in vitro* микролуковиц *Galánthus woronowii* Losinsk. к нестерильным условиям.

Объекты и методы исследований. Эксперимент проводили в период 2019–2020 гг. в отделе биотехнологии ФИЦ СЦ РАН. Объектом исследования являлись микролуковицы *G. Woronowii*, культивируемые в стерильных условиях. Первоначальный средний размер микролуковиц, подготовленных к адаптации: диаметр около 5 мм, высота около 0,6 мм.

В эксперименте по адаптации микролуковиц *G. woronowii* к нестерильным условиям использовали субстрат (смесь торфа и перлита в соотношении 3 : 1) пропаренный до 90 °С. Обработку луковиц и почвы проводили биопрепаратами:

1. Цирконом в концентрации 0,25 мл/л – действующее вещество гидроксикоричные кислоты (ГКК), а именно, кофейная кислота и её производные: цикориевая и хлорогеновая кислоты, выделенные из эхинацеи пурпурной. Препарат улучшает укоренение при адаптации, защищает растения от стрессов;

2. Эпином-экстра в концентрации 0,5 мл/л, который принадлежит к классу брассиностероидов, природных гормонов растений. Антистрессовый адаптоген, обладающий сильной ростостимулирующей активностью;

3. Индолил-3-масляная кислота (ИМК) в концентрации 1 мг/л – фитогормон из класса ауксинов;

4. Контроль – вода. Адаптацию проводили в культуральном помещении с использованием адаптационных камер при температуре $+22 \pm 1$ °С, влажности воздуха в первые три недели до 85 % и освещённости 3 000 лк. В каждом варианте использовали не менее 15 микролуковиц подснежника Воронова. Повторность опыта трёхкратная.

Статистическую обработку полученных результатов выполняли с использованием программы Statistica for Windows 10.0 (StatSoft, Inc.).

Результаты и обсуждение. Вопросы адаптации растений к условиям *ex vitro* изучены недостаточно и для каждой отдельной культуры с учётом её особенностей требуются дополнительные исследования. Особенно актуален этот вопрос для сохранения и размножения видов растений природной флоры, в частности для *G. woronowii*. Поэтому, для повышения адаптационной способности растений из культуры *in vitro* к нестерильным условиям мы использовали биопрепараты, стимулирующие рост и развитие и повышающие их иммунитет.

В результате изучения влияния биопрепаратов на адаптацию луковичек *G. woronowii*, установлено их положительное действие на биометрические показатели и на приживаемость к условиям *ex vitro* (табл. 1).

Таблица 1

Влияние действия биопрепаратов при адаптации к условиям *ex vitro* на рост и развитие луковичек *G. woronowii*, через 60 суток

Варианты	Длина корней, см	Кол-во корней, шт.	Диаметр луковицы, мм	Высота луковицы, мм	Приживаемость, %
Контроль	2,2 ±0,1	3,1 ±0,3	5,8 ±0,1	0,7 ±0,1	50,0 ±12,7
ИМК 1 мг/л	3,7 ±0,3	5,1 ±0,2	6,2 ±0,2	0,9 ±0,2	66,7 ±9,9
Эпин-экстра 0,5 мл/л	4,1 ±0,2	5,3 ±0,1	6,7 ±0,2	11,1 ±0,2	83,3 ±13,8
Циркон 0,25 мл/л	4,6 ±0,1	5,8 ±0,3	7,1 ±0,3	11,5 ±0,3	100,0 ±14,5
НСР ₀₅	0,2	0,3	0,3	0,4	11,3

Так, наилучшее развитие луковичек по таким показателям, как длина и количество корней, диаметр и высота луковичек, а также приживаемость растений отмечен на вариантах опыта с обработкой биопрепаратами эпин-экстра 0,5 мл/л (83,3 %) и цирконом 0,25 мл/л (100 %), по сравнению с ИМК 1 мг/л и контролем (различия между вариантами и контролем достоверно существенны, НСР₀₅ = 11,3).

Из литературных источников известно, что циркон вызывает повышение устойчивости растений к неблагоприятным биотическим и абиотическим факторам. Действующим веществом циркона является смесь гидроксикоричных кислот, которые относятся к классу фенольных соединений, распространённых в растениях. Биологическая активность циркона в значительной степени обусловлена антиоксидантными свойствами, характерными для фенольных соединений [2]. Также, по

мнению некоторых авторов, циркон активирует процессы синтеза хлорофилла, роста и ризогенеза растений, компенсирует дефицит природных регуляторов роста, повышает адаптационные свойства организма к неблагоприятным факторам среды, проявляет опосредованную антибактериальную активность [7, 8].

Действующим веществом другого биопрепарата, показавшего положительный эффект на рост и развитие луковичек *G. woronowii* – эпин-экстра является эпибрассинолид, который принадлежит к классу брассиностероидов, природных гормонов растений. Брассиностероиды – группа полигидроксильных стероидов, играющих важную роль в жизни растений (задерживают опадание листьев, повышают дифференцировку ксилемы, участвуют в процессах роста черешков и листьев и т. д.) [16, 20]. Известно, также, что они вызывают сдвиги в гормональном балансе других эндогенных гормонов, тем самым, стимулируя рост, растяжение и деление клеток. Эти сдвиги на клеточном уровне отражаются на уровне целого растения усилением роста и повышением продуктивности [17, 19].

Заключение. Таким образом, резюмируя выше сказанное, можно заключить, что для адаптации луковиц редкого эндемичного вида *G. woronowii* из культуры *in vitro* к условиям *ex vitro* наиболее оптимальными биопрепаратами являются эпин-экстра и циркон, эффективно стимулирующие развитие корневой системы и размеров луковиц. При этом использование данных биопрепаратов, позволяет получить наибольший процент приживаемости адаптированных растений, от 83,3 до 100 %, соответственно.

Публикация подготовлена в рамках реализации
ГЗ ФИЦ СНЦ РАН № 0492-2021-0005

Библиографический список

1. Деменко В.И., Лебедев В.Г. Адаптация растений, полученных *in vitro*, к нестерильным условиям // Известия ТСХА. – 2011. – № 1. – С. 60-70. – ISSN 0021-342X.
2. Запрометов М.Н. Фенольные соединения: распространение, метаболизм и функции в растениях. – М.: Наука, 1993. – 272 с.
3. Кодун-Иванова М.А. Показатели водного стресса микроклонально размноженных растений осины *Populus tremula* при их выращивании в условиях *ex vitro* // Труды БГТУ. – 2017. – № 1(2). – С. 146-155. – ISSN 2519-402X.
4. Коломиец Т.М., Маляровская В.И., Самарина Л.С., Рахмангулов Р.С. Адаптация растений *Campanula sclerophylla* Kolak. *in vitro* к нестерильным условиям среды // Субтропическое и декоративное садоводство. – 2016. – № 58. – С. 95-99. – ISSN 2225-3068.
5. Красная книга Краснодарского края: Растения и грибы / отв. ред. С.А. Литвинская. – Изд. 2-е. – Краснодар: Дизайн Бюро, 2007. – 639 с. – ISSN 0513-1634.

6. Кухарчик Н.В. Адаптация в нестерильных условиях регенерантов косточковых культур, выращенных *in vitro*// «Совершенствование сортимента и технологии возделывания косточковых культур: материалы науч.-метод. конф. – Орёл, 14-17 июля 1998 г. / ред.: В.С. Докукин (отв. ред.) [и др.]: – Орёл: Всерос. науч.-исслед. ин-т селекции плодовых культур, 1998. – С. 114-116. – ISBN 5-900705-14-5.
7. Малеванная Н.Н. Препарат циркон – иммуномодулятор нового типа // Применение препарата циркон в производстве сельскохозяйственной продукции: мат-лы научно-практ. конф. – М.: 2004. – С. 17-20.
8. Малеванная Н.Н. Циркон – новый стимулятор роста и развития растений // Регуляторы роста и развития растений в биотехнологиях: мат-лы VI Междунар. конф. – М., 2001. – С. 163-171.
9. Маляровская В.И., Самарина Л.С. Особенности адаптации *Lilium caucasicum* (Miscz. ex Grossh.) к условиям *ex vitro* // Субтропическое и декоративное садоводство. – 2018. – Вып. 66. – С. 120-125. – <https://doi.org/10.31360/2225-3068-2018-66-120-125>
10. Маляровская В.И., Самарина Л.С., Конинская Н.Г. Индукция ризогенеза *Galanthus woronowii* Losinsk. в культуре *in vitro* // Научное обеспечение устойчивого развития плодового и декоративного садоводства: матер. междунар. науч.-практ. конф., Сочи, 23-27.09.2019. – Сочи: ВНИИЦиСК, 2019. – С. 253-257. – ISSN 2225-3068.
11. Маляровская В.И., Самарина Л.С., Конинская Н.Г., Рахмангулов Р.С. Индукция морфогенеза *Galánthus woronowii* Losinsk. в условиях культуры *in vitro* // Растения и микроорганизмы: биотехнология будущего. – PLAMIC2018, 13-17 июня 2018 г., Уфа: / отв. ред. И.А. Тихонович: мат-лы международной научной конференции. – 2018. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://plamic.ru/sbornik/>. – С. 189. – ISBN 978-5-6041302-1-6.
12. Маляровская В.И., Самарина Л.С., Рахмангулов Р.С., Конинская Н.Г. Изучение этапов микроразмножения *Galánthus woronowii* Losinsk. // Плодоводство и ягодоводство России. – 2018. – Т. 55. – С. 71-77. – ISSN 2073-4948.
13. Митрофанова И.В., Митрофанова О.В., Никифоров А.Р., Лесникова-Седошенко Н.П., Челомбит С.В. Биотехнологические подходы в размножении редкого эндемика флоры горного Крыма *Scrophularia exilis* Popí. // Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада. – 2018. – Вып. 127. – С. 59-67. – <https://doi.org/10.25684/NBG.boolt.127.2018.08>.
14. Ребров А.Н. Адаптация растений винограда *in vitro* к условиям нестерильной среды: дис. ... канд. биол. наук. – Новочеркасск, 2007 – 168 с.
15. Ташматова Л.В. Укоренение и адаптация груши в условиях *in vitro* // Современное садоводство. – 2013. – № 1(5). – С. 57-64. – ISSN 2218-5275.
16. Хрипач В.А., Лахвич Ф.А., Жабинский В.Н. Брассиностероиды. – Минск, 1993. – 285 с.
17. Fridman Y., Savaldi-Goldstein S. Brassinosteroids in growth control: How, when and where // Plant Sci. – 2013. – № 209. – P. 24-31. – <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2013.04.002>.
18. Rohr R. Acclimatization of micropropagated forest trees // Acta Horticulturae. – 2003 – № 616. – P. 59-69.
19. Sikander Pal Choudhary, Jing-Quan Yu, Kazuko Yamaguchi-Shinozaki, Kazuo Shinozaki, Lam-Son Phan Tran. Benefits of brassinosteroid crosstalk // Trends in Plant Sci. – 2012. – № 17. – P. 594-605. – <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.05.012>.

20. Tanaka K., Nakamura Ya., Asami T., Yoshida Sh., Matsuo T., Okamoto Sh. Physiological roles of brassinosteroids in early growth of Arabidopsis: Brassinosteroids have a synergistic relationship with gibberellin as well as auxin in light-grown hypocotyl elongation // J. Plant Growth Regulation. – 2003. – № 22. – P. 259-271. – <https://doi.org/10.1007/s00344-003-0119-3>.

**ADAPTATION FEATURES
OF *GALANTHUS WORONOWII* LOSINSK.
TO *EX VITRO* CONDITIONS**

Shurkina Ye.S., Malyarovskaya V.I.

*Federal Research Centre
the Subtropical Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences,
Sochi, Russia, e-mail: malyarovskay@yandex.ru*

The issues of plant adaptation to *ex vitro* conditions have not been sufficiently studied, and additional research is required for each individual crop, taking into account its characteristics. The aim of the research was to study the adaptation features of *Galanthus woronowii* Losinsk microlubulbes cultured *in vitro* to non-sterile conditions. The effect of various biologics (zircon 0.25 ml/l, epin-extra 0.5 ml/l, Indolyl-3-butyric acid (IBA) 1 mg/l) on biometrics and survival of *G. woronowii* bulbs were studied. It is established that the most optimal biological products are epin-extra and zircon, which effectively stimulate the development of the root system and the bulbs' size of Woronow's snowdrop. At the same time, they allow obtaining the highest percentage of survival rate among the adapted plants, from 83.3 to 100 %, respectively.

Key words: *Galanthus woronowii* adaptation, *ex vitro* conditions, biologics, biometrics, rooting.