

ВЛИЯНИЕ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА НА ОРГАНОГЕНЕЗ ЖИМОЛОСТИ ПРИ КЛОНАЛЬНОМ МИКРОРАЗМНОЖЕНИИ

¹С.С. Макаров, аспирант

²И.Б. Кузнецова, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент

¹Филиал ФБУ ВНИИЛМ «Центрально-Европейская лесная опытная станция», Кострома, Россия

²Костромская государственная сельскохозяйственная академия, Кострома, Россия

E-mail: makarov_serg44@mail.ru

Ключевые слова: жимолость синяя, *Lonicera ceruleae* L., клональное микроразмножение, росторегулирующие вещества, цитокинины, органогенез, сорт

Реферат. Рассмотрено действие различных росторегулирующих веществ на процесс побегообразования при клональном микроразмножении жимолости. С использованием регуляторов роста возможно быстро и в большом объеме получать растения, а также более полно использовать их генетический потенциал. В результате исследований установлено, что цитокинины Дропп и Цитодеф при клональном микроразмножении жимолости синей более эффективны, чем 6-БАП. При добавлении в питательную среду Мурасиге-Скуга цитокинина Цитодеф в концентрации 0,5 мг/л суммарная длина побегов была наибольшей. При использовании биопрепарата Иммуноцитопфит значительно повышается устойчивость растений к различным заболеваниям, ускоряется процесс их роста. На биометрические показатели жимолости наличие в питательной среде адаптогена Иммуноцитопфит чаще всего не оказывало значительного влияния. Разработан регламент для клонирования жимолости синей, который позволяет в короткие сроки при использовании регуляторов роста цитокининовой группы получать наибольшее количество микрорастений.

INFLUENCE OF GROWTH REGULATORS ON ORGANOGENESIS OF HONEYBERRY WHEN CLONIC MICROPROPAGATION

¹ Makarov S.S., PhD-student

² Kuznetsova I.B., Candidate of Agriculture, Associate Professor

¹Branch of the Central European Forestry Experimental Station, Kostroma, Russia

²Kostroma State Agricultural Academy, Kostroma, Russia

Key words: sweet-berry honeysuckle, *Lonicera ceruleae* L., clonic micropropagation, growth regulators, cytokinins, organogenesis, variety.

Abstract. The paper explores the effect caused by various growth regulators on the process of shoot formation in clonal micropropagation of honeysuckle. Growth regulators contribute to receive higher number of plants and use their genetic potential to higher extent. The authors found out that Dropp and Cytodeff cytokinins when experiencing clonal micro-propagation of blue honeysuckle are more effective than 6-BAP. When adding 0.5 mg/l Cytodeff cytokinin into the nutrient environment of Murasige-Skuga, the length of shoots was observed as highest one. Immunocytophite influences plants resistance to plant diseases and enhances plants growth. The authors didn't observe any effect caused by immunocytophite on biometric parameters of honeysuckle. The researchers designed the

scheme of blue honeysuckle cloning, which allows to obtain the largest number of micro-plants in a short period of time when using cytokinin growth regulators.

Жимолость является одной из наиболее экологически пластичных ягодных культур, обладает высокой зимостойкостью и скороплодностью и привлекает к себе внимание ученых и садоводов высокой пищевой и лекарственной ценностью.

Жимолость синяя (*Lonicera ceruleae* L.) относится к семейству Жимолостные (Caprifoliaceae Juss.). Эта ягодная культура во время цветения выдерживает заморозки до -7°C , довольно неприхотлива в выращивании. Ягоды жимолости приятны на вкус, богаты питательными и биологически активными веществами, макро- и микроэлементами, витаминами. Их используют при сердечно-сосудистых заболеваниях, для выведения из организма солей тяжелых металлов [1, 2].

Повышенный спрос населения на посадочный материал жимолости синей не может быть полностью удовлетворен при использовании традиционных способов вегетативного размножения. Решение проблемы возможно при использовании современного эффективного биотехнологического метода – клонального микроразмножения, которое позволяет в короткий период получить необходимое количество сортового оздоровленного посадочного материала [3].

В условиях Центрального федерального округа России жимолость синяя созревает на 10–14 дней раньше первых ягод земляники крупноплодной [4]. Существует большое количество сортов жимолости с разными сроками созревания, что позволяет увеличить время потребления на 30–40 дней.

В последние годы интерес к культуре жимолости возрастает. Еще И.В. Мичурин испытал жимолость в европейской части России и в 1909 г. рекомендовал ее для введения в культуру, призывая к широкому использованию в селекции с целью создания ценных сортов для районов с суровым кли-

матом [5]. Всероссийским НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова в 1975 г. были начаты работы по выведению новых сортов жимолости, что позволило вывести данную культуру с любительского уровня на промышленный [6].

Стимуляторы роста растений давно и успешно применяются в крупномасштабном сельскохозяйственном производстве. Именно благодаря регуляторам роста возможно быстро и в большом объеме получать посадочный материал. Регуляторы роста побуждают растения использовать генетический потенциал в более полном объеме. Синтетические регуляторы роста выполняют для растений роль фитогормонов, управляя процессами жизнедеятельности растений [7, 8]. В наших исследованиях мы изучали влияние цитокинина на органогенез жимолости. Цитокинины, производные 6-аминопурина (аденина), синтезируются в апикальных меристемах корня, активно транспортируются по ксилеме в другие органы растений. 6-БАП используются для снятия апикального доминирования и повышения коэффициента размножения при клональном микроразмножении.

В данной работе мы использовали биопрепарат Иммуноцитифит, который значительно повышает устойчивость растений к различным заболеваниям и ускоряет процесс их роста. Механизм действия иммунопротектора заключается в неспецифической системной устойчивости культур к бактериальным и вирусным инфекциям и стимуляции биологических и ростовых процессов. На растениях *in vitro* данный препарат не оставляет ожогов, не вызывает хлороза и не влияет угнетающе на их рост.

Цель исследований – изучить влияние регуляторов роста на органогенез растений жимолости при клональном микроразмножении.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Наши исследования были посвящены изучению эффективности различных цитокининов при клональном микроразмножении жимолости. Они проводились в 2016–2017 гг. в лаборатории биотехнологии на базе Центрально-Европейской лесной опытной станции ВНИИЛМ, а также в Костромской ГСХА (рис. 1).

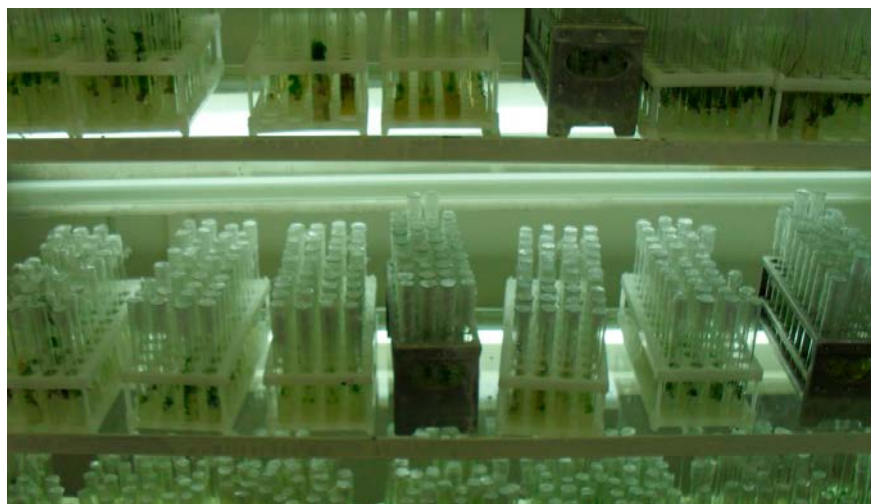


Рис. 1. Культивационное помещение лаборатории биотехнологии
Growing house at the laboratory of Biotechnology

3. Укоренение размноженных побегов благодаря добавке ауксинов.

4. Адаптация растений *in vivo* в условиях теплицы и подготовка их к реализации или посадке в поле [9].

При культивировании эксплантов в течение 25–30 дней поддерживали температуру

Процесс клонального микроразмножения состоит из 4 этапов:

1. Введение в культуру *in vitro* – выбор растения-донора, изолирование эксплантов и получение хорошо растущей стерильной культуры.

2. Собственно микроразмножение – получение максимального количества меристематических клонов за счет добавки цитокининов.

18–25 °С, 16-часовой фотопериод и освещенность 2500–4000 лк (Line T528W 2700K). Субкультивирование регенератов в виде побегов с 1–2 междоузлиями на питательной среде осуществляли каждые 4 недели (рис. 2).

Мы изучали влияние цитокининов 6-БАП, Дропп и Цитодеф в концентрациях 0,5



Рис. 2. Растения-регенеранты жимолости синей в культуральных сосудах
Regenerative plants of blue honeysuckle in the culture bottles

и 1,0 мг/л, а также адаптогена Иммуноцитифит в концентрации 0,5 мг/л на побегообразование жимолости синей сортов Андерма и Морена на этапе собственно микроразмножения. Использовали питательную среду Мурасиге-Скуга (МС). Фактор А – добавки к питательной среде МС, фактор В – сорт. Повторность опыта десятикратная. Статистическая обработка данных производилась с помощью программного пакета Microsoft Office 2010.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Количество микропобегов у растений-регенерантов жимолости зависело от типа цито-

кининов и их концентрации. При увеличении концентрации цитокининов 6-БАП и Дропп от 0,5 до 1,0 мг/л количество побегов увеличивалось, а Цитодеф – незначительно снижалось.

Наибольшее количество побегов формировалось при добавлении в питательную среду Мурасиге-Скуга цитокининов Дропп 1,0 мг/л и Цитодеф 0,5 мг/л и составляло в среднем 13,3 и 13,5 шт. соответственно (табл. 1).

Наличие в питательной среде адаптогена Иммуноцитифит в вариантах с одинаковыми концентрациями 6-БАП не оказывало значительного влияния на количество побегов, то же самое наблюдалось и в вариантах с ци-

Таблица 1

Среднее количество побегов жимолости в зависимости от сорта и добавки к питательной среде МС росторегулирующих веществ, шт.

Average number of blue honeysuckle shoots in respect to the variety and MS growth regulators, un

Росторегулирующие вещества	Андерма	Морена	Среднее
6-БАП 0,5 мг/л	5,7	5,3	5,5
6-БАП 0,5 мг/л+ Иммуноцитифит	5,6	5,5	5,5
6-БАП 1,0 мг/л	7,1	7,3	7,2
6-БАП 1,0 мг/л+ Иммуноцитифит	7,7	7,7	7,7
Дропп 0,5 мг/л	9,5	9,6	9,5
Дропп 0,5 мг/л+ Иммуноцитифит	10,4	10,0	10,2
Дропп 1,0 мг/л	14,0	12,6	13,3
Дропп 1,0 мг/л+ Иммуноцитифит	13,7	12,0	12,8
Цитодеф 0,5 мг/л	13,2	13,8	13,5
Цитодеф 0,5 мг/л+ Иммуноцитифит	11,5	11,9	11,7
Цитодеф 1,0 мг/л	12,6	11,8	12,2
Цитодеф 1,0 мг/л+ Иммуноцитифит	10,9	10,6	10,7
Среднее	10,2	9,8	
НСР _{0,5} фактор А – 1,38, фактор В – 0,97, общ. – 3,38			

токинином Дропп (рис. 3). Иначе проявлялось действие Иммуноцитифита в вариантах с одинаковыми концентрациями Цитодефа, где количество побегов значительно уменьшалось. Так, в среднем количество побегов при концентрации Цитодефа 0,5 мг/л составляло 13,5 шт., при 1,0 мг/л – 12,2 шт., а при добавлении Иммуноцитифита – 11,7 и 10,7 шт. соответственно.

Существенных различий по количеству микропобегов в зависимости от сорта не выявлено, оно составляло в среднем: у сорта жимолости Андерма – 10,2, Морена – 9,8 шт.

Средняя длина побегов уменьшалась при увеличении концентрации от 0,5 до 1,0 мг/л каждого из регуляторов роста от 2,8–3,0 до 1,5–1,7 см. При одинаковых концентрациях различия средней длины побегов в зависимости от типа регулятора роста составляли 0,2 см, а от сорта – 0,1 см (табл. 2).

Суммарная длина побегов жимолости зависела от типа и концентрации росторегулирующих веществ. У каждого из цитокининов при концентрации 0,5 мг/л она была больше, чем при 1,0 мг/л. В вариантах с одинаковыми концентрациями наибольшая суммарная дли-

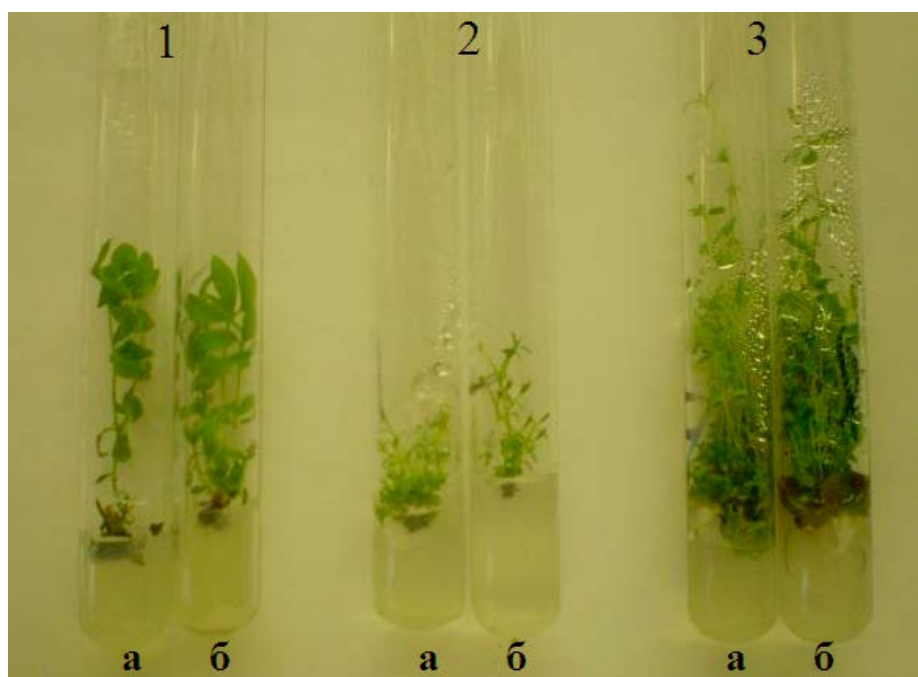


Рис. 3. Микрочеренки жимолости в период побегообразования в пробирке:
1 – МС + Дропп; 2 – МС + 6-БАП; 3 – МС + Цитодеф; концентрации: а – 0,5 мг/л; б – 1,0 мг/л
Microquicksets of blue honeysuckle in the period of shoots forming in the beaker:
1 – MS + Dropp; 2 – MS + 6-BAP; 3 – MS + Cytodeff;
concentration: a – 0,5 mg/l; b – 1,0 mg/l

Таблица 2

Средняя длина побегов жимолости в зависимости от сорта и добавки к питательной среде МС
росторегулирующих веществ, см

Average length of blue honey suckle shoots in respect to the variety and MS growth regulators, cm

Росторегулирующие вещества	Андерма	Морена	Среднее
6-БАП 0,5 мг/л	2,9	3,1	3,0
6-БАП 0,5 мг/л+ Иммуноцитифит	3,2	2,9	3,0
6-БАП 1,0 мг/л	1,6	1,6	1,6
6-БАП 1,0 мг/л+ Иммуноцитифит	1,5	1,5	1,5
Дропп 0,5 мг/л	2,9	2,9	2,9
Дропп 0,5 мг/л+ Иммуноцитифит	3,0	2,9	2,9
Дропп 1,0 мг/л	1,5	1,6	1,5
Дропп 1,0 мг/л+ Иммуноцитифит	1,6	1,6	1,6
Цитодеф 0,5 мг/л	2,8	3,0	2,9
Цитодеф 0,5 мг/л+ Иммуноцитифит	2,9	2,8	2,8
Цитодеф 1,0 мг/л	1,6	1,6	1,6
Цитодеф 1,0 мг/л+ Иммуноцитифит	1,6	1,8	1,7
Среднее	22,6	22,7	

НСР_{0,5} фактор А – 0,05, фактор В – 0,04, общ. – 0,13

на побегов отмечена при добавлении в питательную среду цитокинина Цитодеф, а наименьшей – 6-БАП.

Суммарная длина побегов в вариантах с добавлением в питательную среду Иммуноцитифита не имела существенных различий по сравнению с вариантами без него, за исключением Цитодефа 0,5 мг/л. Его присутствие в питательной среде способ-

ствовало значительному снижению суммарной длины побегов жимолости. В зависимости от сорта различия были несущественны (табл. 3).

Разработан регламент для клонирования жимолости синей, который позволяет в короткие сроки при использовании регуляторов роста цитокининовой группы получать наибольшее количество микрорастений по

Таблица 3

Средняя суммарная длина побегов жимолости в зависимости от сорта и добавки к питательной среде
МС росторегулирующих веществ, см

Average total shoot length of blue honey suckle shoots in respect to the variety and MS growth regulators, cm

Росторегулирующие вещества	Андерма	Морена	Среднее
6-БАП 0,5 мг/л	16,3	16,5	16,4
6-БАП 0,5 мг/л+ Иммуноцитифит	18,0	17,1	17,5
6-БАП 1,0 мг/л	11,5	11,8	11,7
6-БАП 1,0 мг/л+ Иммуноцитифит	11,6	12,1	11,8
Дропп 0,5 мг/л	27,6	28,0	27,8
Дропп 0,5 мг/л+ Иммуноцитифит	29,7	28,5	29,1
Дропп 1,0 мг/л	21,0	20,4	20,7
Дропп 1,0 мг/л+ Иммуноцитифит	21,9	18,9	20,4
Цитодеф 0,5 мг/л	37,6	41,5	39,5
Цитодеф 0,5 мг/л+ Иммуноцитифит	33,3	33,6	33,4
Цитодеф 1,0 мг/л	20,8	18,7	19,7
Цитодеф 1,0 мг/л+ Иммуноцитифит	17,5	17,2	17,4
Среднее	22,2	22,0	
НСР _{0,5} фактор А – 3,26, фактор В – 2,30, общ. – 7,98			

сравнению с классическими способами размножения.

Не меньший интерес представляет эффективность сельскохозяйственных мероприятий в увеличении урожайности жимолости. Наиболее важное значение из них имеют: использование здорового посадочного материала, удобрений, пестицидов, интенсивной технологии возделывания ягодных культур. Основными экономическими показателями являются себестоимость продукции, урожайность, прибыль, рентабельность [10, 11]. Поэтому следующим шагом в наших исследованиях будет анализ экономической эффективности производства жимолости, благодаря которому будет возможно по основным количественным и качественным показателям определить результаты отрасли и найти пути повышения рентабельности.

ВЫВОДЫ

1. При клональном микроразмножении жимолости синей регуляторы роста Дропп и Цитодеф проявляли большую цитокининовую активность по сравнению с 6-БАП.

2. Наибольшая суммарная длина побегов была отмечена при наличии в питательной среде Мурасиге-Скуга цитокинина Цитодеф в концентрации 0,5 мг/л.

3. Наличие в питательной среде Иммуноцитифита в концентрации 0,5 мг/л не оказывало существенного влияния на суммарную длину побегов за исключением вариантов с Цитодеф 0,5 мг/л, где суммарная длина побегов жимолости значительно снижалась.

4. При клональном микроразмножении жимолости синей сортов Андерма и Морена значительных различий в биометрических показателях нами не выявлено.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Кулагина В. Л., Казаков И. В. Нетрадиционные садовые культуры для Центрального региона России: учеб.-метод. пособие по курсу «Плодоводство». – Брянск: Изд-во Брян. ГСХА, 2010. – 30 с.
- Скворцов А. К., Куклина А. Г. Голубые жимолости. – М.: Наука, 2002. – 160 с.
- Куклина А. Г., Семерикова Е. А., Молканова О. И. Опыт клонального микроразмножения голубых жимолостей // Бюл. Гл. бот. сада. – 2003. – Вып. 185. – С. 160–167.
- Плеханова М. Н. Актинидия, лимонник, жимолость. – 2-е изд., перераб. и доп. – Л.: Агропромиздат, 1990. – 88 с.
- Гидзюк И. К. Жимолость со съедобными плодами. – Томск: Изд-во Том. ун-та, 1981. – 230 с.
- Хайрова Л. Н. Селекционная оценка исходного материала жимолости синей: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. – СПб., 1996. – 18 с.

7. Агафонов Н. В., Фаустов В. В. Применение регуляторов роста в плодоводстве. – М.: ВНИИТЭИСХ, 1972. – 64 с.
8. Гуськов А. В. Метаболизм ауксинов в растениях и его регуляция // Итоги науки и техники. Сер. Физиология растений. – М., 1991. – Т. 8. – С. 125–158.
9. Катаева Н. В., Бутенко Р. Г. Клональное микроразмножение растений. – М.: Наука, 1983. – 96 с.
10. Рязанова В. А., Люшина Э. Ю. Организация и планирование производства / под ред. М. Ф. Балакина. – М.: Академия, 2010. – 272 с.
11. Корнацкий С. А. Клональное микроразмножение может быть рентабельно // Достижения науки и техники АПК. – 2004. – № 4. – С. 20–21.

REFERENCES

1. Kulagina V.L., Kazakov I.V. *Netradicionnye sadovye kul'tury dlja Central'nogo regiona Rossii* (Non-traditional garden crops for the Central region of Russia), Bryansk, BSAA Publ., 2010. 30 p.
2. Skvortcov A. K., Kuklina A. G. *Golubye zhimolosti* (Blue honeysuckle), Moscow, Nauka, 2002. 160 p.
3. Kuklina A. G., Semerikova E. A., Molkanova O. I. *Bjul. Gl. botan. sada*, 2003, Vol. 185, pp. 160–167. (In Russ.)
4. Plehanova M. N. *Aktinidija, limonnik, zhimolost»* (Actinidia, lemongrass, honeysuckle), Leningrad, Agropromizdat, 1990. 88 p.
5. Gidzjuk, I. K. *Zhimolost» so s'edobnymi plodami* (Honeysuckle with edible fruit), Tomsk, Tomsk University Publ., 1981. 230 p.
6. Hajrova, L. N. *Selekcionnaja ocenka ishodnogo materiala zhimolosti sinej* (Selection evaluation of the initial material of blue honeysuckle), Saint-Petersburg, 1996, 18 p.
7. Agafonov N. V., Faustov V. V. *Primenenie reguljatorov rosta v plodovodstve* (Application of growth regulators in horticulture), Moscow, VNIITeISH, 1972, 64 p.
8. Gus'kov A. V. *Itogi nauki i tehniki. Serija: Fiziologija rastenij*, 1991, Vol. 8, pp. 125–158. (In Russ.)
9. Kataeva N. V., Butenko R. G. *Klonal'noe mikrorazmnozhenie rastenij* (Clonal micropropagation of plants), Moscow, Nauka, 1983, 96 p.
10. Rjazanova V. A., Ljushina E. Yu. *Organizacija i planirovanie proizvodstva* (Organization and planning of production), Moscow, Akademija, 2010, 272 p.
11. Kornackij S. A. *Dostizhenija nauki i tehniki APK*, 2004, No. 4, pp. 20–21. (In Russ.)