РАЗДЕЛ XVIII. СЕЛЬСКОЕ ХОЗЯЙСТВО

Молканова О.И., Мелешук Е.А., Ахметова Л.Р.

Изучение морфогенетического потенциала некоторых представителей рода *Cerasus* (Mill.) в культуре *in vitro*

ФГБУН Главный ботанический сад им.Цицина РАН
(Россия, Москва)

doi: 10.18411/lj-11-2019-294

idsp: ljjournal-11-2019-294

Аннотация

Представители рода *Cerasus* Mill. востребованы как культуры с широким комплексом хозяйственно-полезных свойств. Некоторые сорта ввиду трудности традиционного размножения или своей новизны, мало распространены. Применение методов микроклонального размножения помогает расширить ассортимент новых и упрощает производство трудноразмножаемых сортов. Изучали влияние на реализацию морфогенетического потенциала *C. incise* (Thunb.) сорт «Kojou –no-mai»; *C. fruticosa* (Pall.) сорт «Cupid»; *C. vulgaris* (MILL.) сорта «Жуковская», «Молодежная», «Харитоновская» в условиях *in vitro* генотипа, минерального состава питательной среды, концентрации регуляторов роста. Наибольшее влияние на коэффициент размножения, для данной группы генотипов, оказывали взаимодействие минеральной основы и концентрации регуляторов роста-34%.

Ключевые слова: *Cerasus incise*, *Cerasus fruticosa*, *Cerasus vulgaris*, клональное микроразмножение, коэффициент размножения.

Abstract

The representatives of genus *Cerasus* (Mill.) are important crops with a wide range of economic valuable properties. Some varieties are of limited occurrence because they are hardly propagated traditionally or due to their novelty. The application of clonal micropropagation methods helps to enlarge the range of new varieties and to simplify the production of the hardly propagated ones. The *in vitro* influence of the genotype, the mineral base of nutrient medium and the concentration of growth regulators on the implementation of morphogenetic potential of *C. incise* (Thunb.) variety «Kojou –no-mai»; *C. fruticosa* (Pall.) variety «Cupid»; *C. vulgaris* (MILL.) variety «Zhukovskaya», «Molodezhnaya», «Kharitonovskaya», was investigated. The interaction between the mineral base and the concentration of growth factors had the highest impact of 34% on the reproduction rate.

Keywords: *Cerasus incise*, *Cerasus fruticosa*, *Cerasus vulgaris*, clonal micropropagation, reproduction rate.

Введение

Вишни-это косточковые растения, относящиеся к роду *Cerasus* (Mill.) семейства Rosaceae – насчитывающие около 150 видов. Ряд видов со съедобными плодами и многочисленные сорта на основе этих видов возделываются как ценные пищевые культуры. Ягоды плодовых вишен сбалансированы по биохимическому составу. Наряду с витаминами, минералами и микроэлементами плоды вишни содержат такие вещества как эллаговая кислота, которая имеет кардиопротекторную, противоопухолевую, антимуtagenную, антиканцерогенную активность[15], и гормон мелатонин, являющийся важным регулятором циркадного цикла[16,17]. Так же плоды вишни обладают мощным антикоагулятивным свойством за счет входящих в состав кумарина и оксикумарина.

Примерно 40 видов рода *Cerasus* (Mill.) используют в ландшафтном дизайне. Листопадные кустарники и деревья отличаются высокой декоративностью. Раннее и обильное цветение, выразительная архитектура, контрастная сезонная окраска – ценные признаки для зеленого строительства. Теплолюбивые виды выращивают в контейнерной культуре, так же вишню используют для выгонки.

Высокая востребованность этой культуры требует производства саженцев в промышленных масштабах. Традиционные способы размножения не могут полностью удовлетворить потребность в посадочном материале. Технология микроклонального размножения позволяет получать стандартизированные саженцы в необходимых объемах.

Работа по исследованию специфики размножения генотипов рода *Cerasus* (Mill.) в системе *in vitro* ведется постоянно как в России, так и в других странах. Для успешного размножения вишни используют различные питательные среды: Пиерика, Готре, Уайта, Хеллера, адаптированную среду Розенберга. Однако ряд авторов отмечают что наиболее оптимальными для микроклонального размножения вишни являются питательные среды MS (Murashige and Skoog, 1962) и QL (Quorin and Lepoivre, 1977) [1;2;4;5;8;9;].

В исследованиях Коваленко Н.Н [7] жизнеспособные экспланты сортов вишни обыкновенной (*C.vulgaris*) были получены на агаризованной среде на основе солей MS в присутствии гормонов гибберелловой кислоты (ГК) в концентрации 1 мг/л и бензиламинопурина (6-БАП) в концентрации 0,001, а также в присутствии ГК в концентрации 1 мг/л без добавления 6-БАП.

В своей работе Плаксина Т.В. [9] отмечает что для вишни степной- *C.fruticosa* сорта «Селивестровская» больший коэффициент размножения был зафиксирован на среде MS с добавлением 6БАП в концентрации 1-2 мкМ, а для сорта «Кристина» наибольшее число пазушных почек развивалось при концентрации гормона 5 мкМ.

Отмечено что пределы изменчивости регенерационной способности эксплантов и количество формирующихся микрорастений *in vitro* определяются генотипически. Многие авторы отмечают [1,2,4-7], что для реализации морфогенетического потенциала важен индивидуальный подбор среды, концентрации гормона на каждом этапе клонального микроразмножения.

Исследования посвящено изучению влияния сортовых особенностей, минерального состава питательной среды и концентрации гормонов роста на коэффициент размножения перспективных сортов плодовых и декоративных вишен.

Условия, материалы и методы.

Исследование проводили в лаборатории биотехнологии растений Главного ботанического сада имени Н.В. Цицина Российской академии наук (ГБС РАН) в 2017-2019 гг.

В работе были использованы представители рода *Cerasus* сорт вишни надрезанной (*C. incise* Thunb.) «Kojou –no-mai»; сорт вишни степной (*C. fruticosa* Pall.) «Cupid»; сорта вишни обыкновенной (*C.vulgaris* MILL.) «Жуковская», «Молодежная», «Харитоновская». Применяли общепринятые и разработанные в лаборатории биотехнологии растений ГБС РАН приемы работы с культурами изолированных тканей и органов растений [12,13]. На этапе собственно размножения использовали питательные среды MS и QL с добавлением регуляторов роста 6-БАП в концентрации 0,3; 0,5 мг/л и индолилуксусной кислоты (ИУК) в концентрации 0,01 мг/л. В качестве контроля использовали безгормональные питательные среды MS и QL. Период субкультивирования длился 30 суток при освещении 1500-2000 лк и фотопериоде 16/8 часов, и температуре 23-25°C. Опыт проводили в двух повторностях, по 10 экземпляров в каждом варианте. В процессе исследования измеряли длину побега, подсчитывали число побегов и междоузлий, рассчитывали коэффициент размножения. Полученные данные обрабатывали согласно общепринятым методам

статистического анализа с использованием программного обеспечения Microsoft Office Excel 2010.

Результаты и их обсуждение.

Главные факторы, определяющие процесс органогенеза,- генотип, эпигенетические характеристики клеток экспланта, физиологическое состояние интактных растений, состав питательной среды и условия культивирования[14]. На основании полученных данных был проведен трехфакторный дисперсионный анализ для выявления степени влияния сорта-фактор А, минеральной основы питательной среды- фактор В и концентрации 6-БАП- фактор С, а так же взаимодействие факторов на коэффициент размножения изучаемых генотипов рода *Cerasus*.

В результате исследований было выявлено, что наибольшее влияние на коэффициент размножения группы изучаемых генотипов оказывает взаимодействие фактор ВС (минеральная основа и концентрация 6-БАП)- 34%, наименьшее - фактор А(сорт)-5%. Фактор В(минеральная основа)- 6%, взаимодействие факторов АС (сорт и концентрация 6- БАП)- 26% и доля влияния взаимодействия факторов АВ (сорт и минеральная основа) составила 6%, случайный фактор оказывает влияние на 23% (рис.1).

Рисунок 1- Доля влияния факторов на коэффициент размножения представителей рода *Cerasus* Mill.

При изучении совместного влияния генотипа и минерального состава среды было выявлено что *C. vulgaris* сорта «Харитоновская», «Молодежная», «Жуковская», *C. incise* сорт «Kojou-no-mai» показывают максимальные коэффициенты размножения при использовании среды QL. Для *C. fruticosa* сорт «Cupid» максимальный коэффициент размножения наблюдали при использовании среды MS (рис.2).

Рисунок 2- Влияние минеральной основы питательной среды и сортовых особенностей на коэффициент размножения ($HCp_{0,5}=1,43$)

В группе исследуемых сортов проявлялась высокая вариабельность коэффициента размножения (табл.1). Максимальным коэффициентом размножения характеризовался сорт «Молодежная» *C. vulgaris* - 8,4 при культивировании на минеральной среде QL в присутствии 6-БАП в концентрации 0,5мг/л, минимальным *C. fruticosa* сорт «Cupid» при культивировании на минеральной среде QL без добавления гормона. Повышение концентрации регуляторов роста среди исследуемых сортов не всегда приводило к увеличению коэффициента размножения, а у некоторых генотипов наблюдалось снижение показателей. Так у *C. vulgaris* сорт «Харитоновская» и сорт «Жуковская» при культивировании на минеральной среде QL с увеличением концентрации 6-БАП с 0,3 мг/л до 0,5 мг/л наблюдалось снижение коэффициента размножения на 1,8 и 0,9 соответственно.

Таблица 1

Влияние генотипа, минеральной основы, концентрации гормона на коэффициент размножения исследуемых генотипов *Cerasus* (Mill.) (HCP_{0,5}=3,0)

Минеральный состав питательной среды	Концентрации регуляторов роста мг/л	Генотип				
		<i>C.vulgaris</i> Харитоновская	<i>C.vulgaris</i> Молодежная	<i>C.vulgaris</i> Жуковская	<i>C.fruticosa</i> Cupid	<i>C.incise</i> Kojou-no-mai
MS	0,5БАП	2,9	3,8	2,7	3,4	4,3
	0,3БАП	3,0	2,7	2,9	3,5	4,3
	0,5БАП+0,01ИУК	5,6	3,9	3,7	5,2	2,7
	0,3БАП+0,01ИУК	3,3	3,2	2,9	4,5	4,7
	контроль	2,8	3,8	3,0	2,1	2,3
QL	0,5БАП	3,7	8,4	3,5	5,5	7,0
	0,3БАП	5,5	5,0	4,4	2,7	6,8
	0,5БАП+0,01ИУК	7,0	6,2	2,9	3,6	1,5
	0,3БАП+0,01ИУК	7,0	4,8	3,8	3,6	2,3
	контроль	3,1	3,7	2,2	0,2	4,3

Для *C. fruticosa* сорт «Cupid» с повышением концентрации 6-БАП с 0,3 до 0,5 мг/л наряду с увеличением коэффициента размножения было отмечено проявление физиологических нарушений, обводненность тканей и разрастание каллуса у основания побега.

C. incise сорт «Kojou-no-mai» при культивировании на питательных средах с 6-БАП в концентрации 0,5мг/л в присутствии ИУК проявлял снижение коэффициента размножения. Также было отмечено гипертрофированное разрастание каллусной ткани в базальной части, существенное сокращение длины междоузлий, на части эксплантов отмечали обводненность тканей. При культивировании на безгормональных средах и на средах с 6-БАП в концентрацией 0,3 мг/л растения-регенеранты «Kojou-no-mai» *C. incise* характеризовался спонтанным ризогенезом.

Заключение

В результате проведенных исследований была усовершенствована технология клонального микроразмножения для представители рода *Cerasus* вишни обыкновенной *C.vulgaris* MILL. сортов «Жуковская», «Молодежная», «Харитоновская». Для вишни надрезанной *C. incise* Thunb. сорт «Kojou –no-mai» и вишни степной *C. fruticosa* Pall. сорт «Cupid» впервые применен метод клонального микроразмножения, подобраны оптимальные среды.

Максимальным влиянием на реализацию морфогенетического потенциала среди группы исследуемых генотипов имело совокупное взаимодействие состава минеральной питательной среды и концентрации регуляторов роста и составило 34%.

Взаимодействие факторов генотипа и концентрации регуляторов роста также имело существенное значение – 26%. Влияние генотипа и минеральный состав питательной среды имели примерно равное значение – 5% и 6% соответственно.

1. Высоцкий, В.А. Биотехнологические приемы в современном садоводстве/ В.А. Высоцкий//Садоводство и виноградарство.-2006.-№2.- С.2-3.
2. Джигадло Е.Н. Использование метода микроклонального размножения для создания и сохранения коллекции сортов вишни рода *Cerasus vulgaris*/ Е.Н. Джигадло, А.Ф. Колесникова, Л.В. Фролова/ Селекция и сортовая агротехника плодовых культур: сб.науч. тр.-Орел: Изд-во ГНУ ВНИИСПК, 2004.-С. 135-142
3. Коваленко Н.Н Общие тенденции ризогинеза сортов вишни обыкновенной в условиях *in vitro*/ Н.Н. Коваленко, Н.В. Поливара //Плодоводство и виноградарство Юга России, 2015.- №36(06)
4. Красинская, Т.А. Микроразмножение различных форм *Cerasus Mill in vitro* / Т.А. Красинская, Н.В. Кухарчик // Плодоводство / ИП НАН Беларуси.– Самохваловичи, 2004.– Т. 16.– С. 26-31.
5. Методические рекомендации по использованию биотехнологических методов в работе с плодовыми, ягодными и декоративными культурами / Под ред. Е. Н. Джигадло. Орел, 2005. С. 50.
6. Митрофанова И.В. Основы создания генобанка *in vitro* видов, сортов и форм декоративных, ароматических и плодовых культур/ Митрофанова И.В, Симферополь: Изд-во Ареал, 2018.
7. Молканова О. И., Коновалова Л. Н., Стахеева Т. С. Особенности размножения и сохранения коллекции ценных и редких видов растений в условиях *in vitro* // Бюллетень ГНБС. 2016. № 120. С. 17-23.
8. Олешко Е. В. Особенности клонального микроразмножения подвоев и сортов вишни: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1985. С. 15.
9. Плаксина Т.В. Использование биотехнологических методов в работе с косточковыми культурами // Достижения науки и техники АПК -2008. №8.- С.27.
10. Шипунова А. А. Клональное микроразмножение плодовых растений: Автореф. дис. ... канд. сельскохозяйственных наук. М., 2003. С. 24.
11. Юшев А.А. Генофонд родов *Cerasus*, *Microcerasus* и *Padelus* и его ценность для селекции/ А.А. Юшев//Совершенствование сортимента и технологии возделывания косточковых культур: тез.докл. и выступл. на науч.-метод.конф.(Орел, 14-17 июля 1998г.).-Орел:ВНИИСПК, 1998.- С.293-296.
12. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнология на их основе. М.: ФБК-ПРЕСС, 1999. 160 с.
13. 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. Вып. 201. № 2. С. 78–82.
14. Молканова О.И., Королева О.В., Стахеева Т.С., Крахмалева И.Л., Мелешук Е.А. Совершенствование технологии клонального микроразмножения ценных плодовых и ягодных культур для производственных условий.//Достижения науки и техники АПК.-2018,-Т.38-№9.-С.66-69.
15. Журнал Провизор [Электронный ресурс].- Режим доступа: http://www.provisor.com.ua/archive/1998/N22/el_acid.php?part_code=8&art_code=1338
16. Howatson G., Bell P.G., Tallent J., Middleton B., McHugh M.P., Ellis J. Effect of tart cherry juice (*Prunus cerasus*) on melatonin levels and enhanced sleep quality - Eur. J. Nutr. 2012, 51(8), 909-916.
17. Howatson G., Bell P.G., Tallent J., Middleton B., McHugh M.P., Ellis J. Effect of tart cherry juice (*Prunus cerasus*) on melatonin levels and enhanced sleep quality - Eur. J. Nutr. 2011, Oct 30.