

**ОСОБЕННОСТИ ВВЕДЕНИЯ И СТАБИЛИЗАЦИИ
В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO* ИРГИ ОЛЬХОЛИСТНОЙ
(*AMELANCHIER ALNIFOLIA* NUTT.)**

И. Н. ОСТАПЧУК, И. А. ПИВОВАРЧИК, Н. В. КУХАРЧИК

РУП «Институт плодоводства»,
ул. Ковалева, 2, аг. Самохваловичи, Минский район, 223013, Беларусь,
e-mail: irisha.ostap4uk@bk.ru

АННОТАЦИЯ

В статье представлены предварительные результаты исследований по введению в культуру *in vitro* и размножению на этапе стабилизации сортов ирги ольхолистной. Исследования проводили в отделе биотехнологии РУП «Институт плодоводства» в 2018–2019 гг. Объектами исследования явились интродуцированные сорта ирги ольхолистной Martin, Northline, Smoky, Honeywood. Определены типы эксплантов для введения сортов *in vitro*, изучено влияние различной концентрации 6-БА на коэффициент размножения растений-регенерантов.

Ключевые слова: ирга ольхолистная, культура *in vitro*, инициация, стабилизация, Беларусь.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из основных задач плодоводства в Республике Беларусь является расширение сортимента плодовых и ягодных культур. Существует несколько путей решения данной задачи, в том числе интродукция новых культур и популяризация староместных культур за счет внедрения интродуцированных высокопродуктивных сортов. Ирга ольхолистная (*Amelanchier alnifolia*) мало распространена в Беларуси, но при этом интересна не только как декоративная, но и как плодовая культура. Высокая зимостойкость делает ее пригодной для выращивания в условиях Республики Беларусь. Ирга ольхолистная повсеместно возделывается в Канаде и в северных регионах США. Кусты ирги долговечны, товарные плантации могут расти до 25 лет и дольше. Плодоношение наступает на 3–4-й год после посадки на постоянное место. Полное плодоношение достигается на 6–8-летних плантациях, где можно собирать больше 5 т плодов с 1 га, возможна механизированная уборка [1]. Плоды ирги сочные, сладкие и вкусные, содержат много сахаров, мало органических кислот, много антоцианов и минеральных соединений, витаминов групп А, В и С. Могут использоваться как для потребления в свежем виде, так и для переработки (в хлебопекарной и кондитерской промышленности), а также для производства соков, в том числе в смеси с другими плодами [2–4].

Важным моментом успеха популяризации культуры является разработка удобной и выгодной технологии вегетативного размножения посадочного материала. Сведений о размножении ирги в культуре *in vitro* немного и они весьма противоречивы [5–7]. Практически отсутствует информация и об адаптивности новых сортов ирги для выращивания в условиях Беларуси, в связи с чем возникла необходимость оценки эффективности размножения *in vitro* данной культуры.

Первым и обязательным этапом биотехнологических исследований, связанных с культурой тканей растений, является введение растительного материала в стерильную культуру. Полная стерильность исходного материала является необходимым условием нормального развития эксплантов в культуре *in vitro*. Для стерилизации органов и тканей растений, из которых будет изолироваться ткань, обычно применяют большой набор различных стерилизующих веществ, таких как диацид, сулема, мертиолат, перекись водорода, гипохлорит натрия, этанол. Стерилизующий раствор должен обеспечивать наибольший процент неповрежденных тканей, способных к росту и новообразованиям, при наименьшем проценте инфекций [8, 9].

Не менее важен и этап стабилизации растений-регенерантов в культуре *in vitro*. Видовые и сортовые особенности растений оказывают значительное влияние на потребности в минеральных и органических элементах питания и органогенеза, что особенно актуально при культиви-

ровании тканей растений в изолированных условиях. Именно поэтому эффективность микроразмножения в значительной степени определяется правильным выбором питательной среды [10].

Цель исследования – установить особенности введения в культуру *in vitro* сортов ирги ольхолистной, определить оптимальный гормональный состав питательной среды на этапе стабилизации.

УСЛОВИЯ, ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводили в отделе биотехнологии РУП «Институт плодоводства».

Объекты исследования: интродуцированные сорта ирги ольхолистной Martin, Northline, Smoky, Honeywood.

Сорт Martin выведен в Канаде, провинция Саскачеван. Рекомендуется для выращивания во всех зонах Северо-Западного региона. Куст сильнорослый, многоствольный. Плоды крупные, до 16–18 мм и более в диаметре, шаровидной формы, темно-синие, почти черные, с восковым налетом, ароматные. Сорт отличается дружным созреванием плодов, вступает в плодоношение на 3–4-й год после посадки. Цветение происходит в конце мая, после раскрытия листьев. В кисти находится от 1 до 20 цветков. Плоды созревают в конце июля – начале августа. Урожайность высокая. Сорт характеризуется зимостойкостью и устойчивостью к болезням и вредителям.

Сорт Northline выведен в Канаде, провинция Альберта. Рекомендуется для выращивания во всех зонах Северо-Западного региона. Куст средней величины, многоствольный, образует обильную корневую поросль. Плоды крупные, до 16 мм диаметром, от обратнояцевидных до шаровидных по форме, темно-синие, почти черные, с восковым налетом, замечательных вкусовых качеств. В кисти по 7–13 плодов, отличающихся дружным созреванием и устойчивостью к растрескиванию. Цветет во второй половине мая. Плоды созревают в конце июля – начале августа. Урожайность высокая. Зимостойкость и устойчивость к болезням и вредителям высокая.

Сорт Smoky выведен в Канаде, провинция Саскачеван. Рекомендуется для выращивания во всех зонах Северо-Западного региона. Куст сильнорослый, мощный, многоствольный, дает много корневых отпрысков. Плоды крупные, диаметром до 14–16 мм, шаровидной формы, темно-синие, почти черные, с восковым налетом, сочные, сладкие, с приятным мягким ароматом, прекрасного вкуса. Цветет во второй половине мая. Плоды созревают в конце июля – начале августа. Урожайность высокая, зимостойкость и устойчивость к болезням и вредителям высокая. Самый распространенный в Канаде сорт ирги (занимает до 80 % всех площадей под этой культурой).

Сорт Honeywood выведен в Канаде, провинция Саскачеван. Рекомендуется для выращивания во всех зонах Северо-Западного региона. Куст сильнорослый, многоствольный, образует мало корневых отпрысков. Плоды крупные, до 18 мм и более в диаметре, от сплюснутой у основания до шаровидной формы, темно-синие, почти черные, со слабым восковым налетом, сочные, сладкие, с превосходным ароматом. Плоды собраны в кисти в среднем по 9–15 шт. Вступает в плодоношение на 2–3-й год после посадки. Цветение происходит в самом конце мая (на 4–8 дней позже других сортов). Плоды созревают в начале августа. Урожайность высокая, зимостойкость высокая, устойчив к болезням и вредителям [11].

Эксплантами для инициации *in vitro* сортов ирги служили пазушные почки. Для введения в культуру использовали почки однолетних одревесневших побегов в состоянии вынужденного покоя (конец февраля) и вышедшие из состояния покоя (начало апреля). Экспланты в нестерильных условиях промывали сначала мыльным раствором, а затем в течение 30 мин проточной водой. Дальнейшую стерилизацию проводили в стерильных условиях в ламинар-боксе. Использовали следующую схему стерилизации: 1 мин – 70%-ный этанол; 5 мин – 30%-ная перекись водорода (H_2O_2); 2 раза по 5 мин – промывание стерильной водой. Выделенные экспланты культивировали на агаризованной питательной среде по прописи Мурасиге–Скуга (MS) [12], дополненной аскорбиновой кислотой (C) в концентрации 1 мг/л, 6-бензиладенином (6-БА) – 0,2 мг/л. Уровень кислотности питательной среды (pH) – 5,8.

Стерилизацию сред проводили после введения в них всех необходимых витаминов и физиологически активных веществ при давлении 0,9 атм. в течение 15 мин.

Условия культивирования растений *in vitro*: освещение – 2,5–3,0 тыс. люкс, температура – +22...+24 °С, фотопериод – 16/8 ч.

Растения-регенеранты после 0-го пассажа были перенесены на питательную среду MS, дополненную витамином С – 5 мг/л, гибберелловой кислотой – 1,0 мг/л и различными концентрациями 6-бензиладенина (6-БА): 0,2; 0,5; 1,0; 1,5 мг/л. Длительность субкультивирования – 4 недели.

Опыты проводили в 3-кратной повторности, с неодинаковым числом эксплантов в каждом варианте. Обработку полученных данных проводили с помощью компьютерных программ Statistica 6.0 и Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На этапе введения в культуру *in vitro* изучаемых сортов ирги ольхолистной максимальное количество жизнеспособных эксплантов при инициации почек, отобранных в конце февраля и находящихся в состоянии вынужденного покоя, отмечено у сорта Northline (85,7 %) при отсутствии инфицированных эксплантов. У сорта Honeywood получено минимальное количество жизнеспособных эксплантов (39,1 %) при самом высоком уровне инфицирования (52,5 %). У сортов Martin и Smoky процент жизнеспособных эксплантов составил 72,7 и 50,0 % соответственно (рис. 1).

При использовании в качестве эксплантов почек, вышедших из состояния покоя, количество жизнеспособных эксплантов варьировало в пределах 20,7–81,2 %. При этом максимальное количество жизнеспособных эксплантов также отмечено у сорта Northline (81,2 %). У сорта Martin процент жизнеспособных эксплантов был минимальным и составил 20,7 %. Это обусловлено тем, что у большей половины выделенных эксплантов наблюдалась инфекция (58,62 %). Что касается сортов Smoky и Honeywood, то количество жизнеспособных эксплантов у них было высоким и составило 72,7 и 61,8 % соответственно (рис. 2).

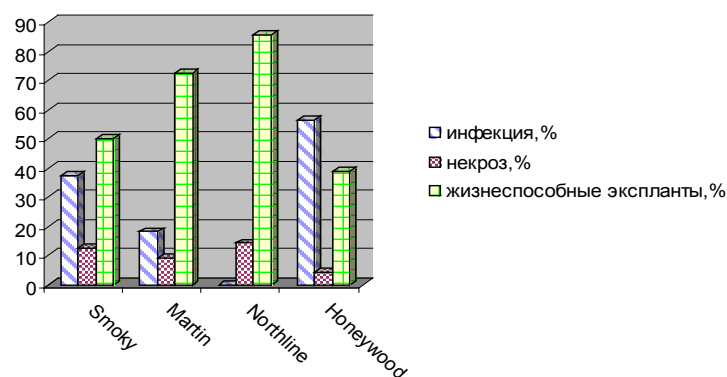


Рис. 1. Эффективность введения в культуру *in vitro* почек в состоянии вынужденного покоя сортов ирги ольхолистной

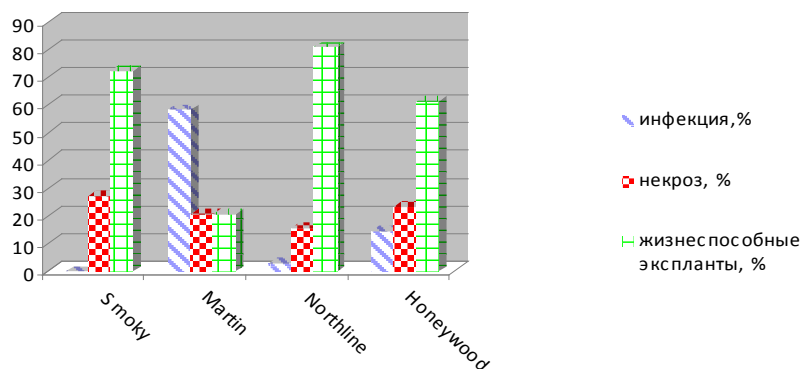


Рис. 2. Эффективность введения в культуру *in vitro* почек, вышедших из состояния вынужденного покоя, сортов ирги ольхолистной

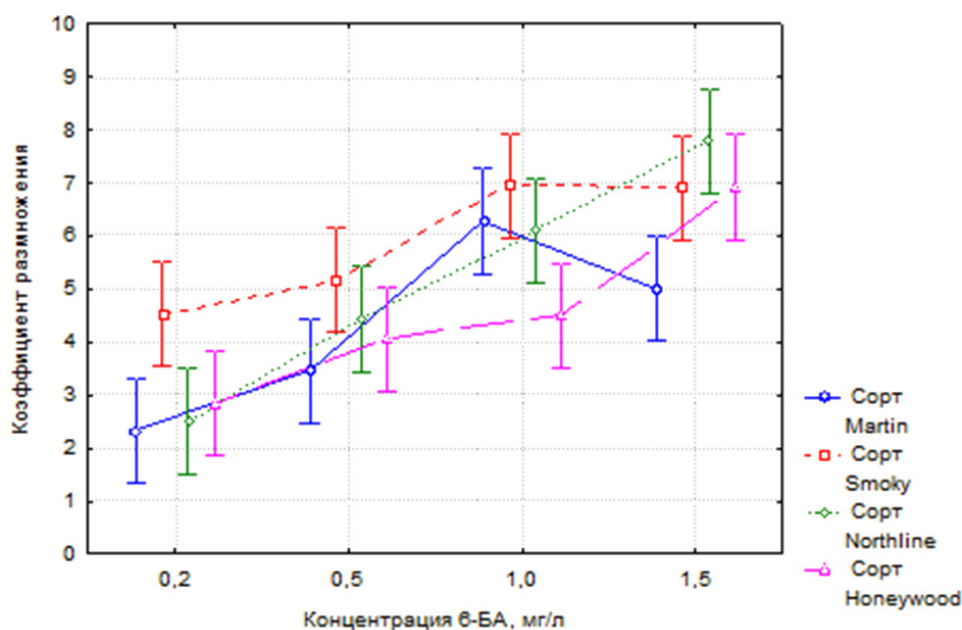


Рис. 3. Коэффициент размножения растений-регенерантов сортов ирги ольхолистной при различных концентрациях 6-БА

Растения-регенеранты после 0-го пассажа были перенесены на питательную среду MS, дополненную аскорбиновой кислотой С – 5 мг/л, гиббереловой кислотой – 1,0 мг/л и различными концентрациями 6-БА (0,2; 0,5; 1,0; 1,5 мг/л) (рис. 3).

В результате проведенных исследований отмечено, что на этапе стабилизации культуры *in vitro* растения ирги разных сортов неодинаково реагируют на концентрацию 6-БА в питательной среде. Зависимость коэффициента размножения от концентрации 6-БА является статистически значимой для сортов Martin, Northline, Honeywood ($p < 0,001$). Для растений сорта Martin максимальный коэффициент размножения (КР) получен при концентрации 6-БА – 1,0 мг/л ($6,28 \pm 0,21$), а для сортов Northline и Honeywood при концентрации 1,5 мг/л КР равен $7,79 \pm 0,57$ и $6,91 \pm 0,93$ соответственно. Зависимость коэффициента размножения от концентрации 6-БА является статистически незначимой для сорта Smoky ($p > 0,05$). Микрорастения сорта Smoky одинаково хорошо размножаются при концентрациях 6-БА 1,0 и 1,5 мг/л (коэффициент размножения – $6,94 \pm 0,44$ и $6,89 \pm 0,58$ соответственно).

ВЫВОДЫ

1. Результаты исследований показывают, что в качестве эксплантов ирги ольхолистной могут быть использованы как почки, находящиеся в вынужденном состоянии покоя (конец февраля), так и почки, вышедшие из состояния покоя (начало апреля). Для эксплантов, отобранных в конце февраля, количество жизнеспособных варьировало в пределах 39,1–85,7 %, для эксплантов отобранных в начале апреля, – в пределах 20,7–81,2 %. Максимальное количество жизнеспособных эксплантов на этапе инициации в обоих случаях отмечено у сорта ирги ольхолистной Northline (85,7 и 81,2 %).

2. Установлено значимое влияние концентрации 6-БА на коэффициент размножения сортов ирги ольхолистной Martin, Northline, Honeywood ($p < 0,001$) на этапе стабилизации культуры *in vitro*. Оптимальной концентрацией 6-БА для сорта Martin является 1,0 мг/л, для сортов Northline и Honeywood – 1,5 мг/л. Что касается сорта Smoky, то растения-регенеранты имеют высокий коэффициент размножения при концентрациях 6-БА – 1,0 и 1,5 мг/л. Максимальный коэффициент размножения составил для сорта Martin – $6,28 \pm 0,21$, для сорта Northline – $7,79 \pm 0,57$, для сорта Honeywood – $6,91 \pm 0,93$, для сорта Smoky – $6,94 \pm 0,44$.

ЛИТЕРАТУРА И ИСТОЧНИКИ

1. Леонченко, В. Г. Пищевая и биологическая ценность плодов нетрадиционных садовых растений / В. Г. Леонченко, Е. В. Жбанова // Состояние и перспективы развития нетрадиционных садовых культур. – Воронеж, 2003. – С. 202–207.
2. Википедия-свободная энциклопедия [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://ru.wikipedia.org/wiki/Ирга>. – Дата доступа: 22.05.2019.
3. Ермаков, Б. С. Витаминные растения в любительском садоводстве / Б. С. Ермаков. – М. : Знание, 1992. – 201 с.
4. Степанова, А. В. Эколого-биологическая оценка генофонда ирги (*Amelanchier Medik.*) при интродукции в условиях юго-запада ЦЧР : дис. ... канд. биол. наук : 06.01.05 [Электронный ресурс] / А. В. Степанова ; Всерос. науч.-исслед. ин-т сахарной свеклы и сахара им. А. Л. Мазлумова. – Воронеж, 2015. – 174 с. – Режим доступа: <http://www.dslib.net/semeno-vodstvo/jekologo-biologicheskaja-ocenka-genofonda-irgi-pri-introdukcii-v-uslovijah-jugo-zapada.html>. – Дата доступа: 22.05.2019.
5. Хромов, Н. В. Оценка генофонда ирги по хозяйственно-биологическим признакам и технология размножения в условиях Тамбовской области : дис. ... канд. с.-х. наук : 06.01.05 [Электронный ресурс] / Н. В. Хромов. – Мичуринск, 2007. – 154 с. – Режим доступа: <http://www.dslib.net/semeno-vodstvo/ocenka-genofonda-irgi-po-hozjajstvenno-biologicheskim-priznakam-i-tehnologija.html>. – Дата доступа: 22.05.2019.
6. Zurawicz, E. *Amelanchier* – a NEW Berry Crop in Poland with Good Potential for Commercial Cultivation / E. Zurawicz, S. Pluta, D. Kuchrska // Acta Hort. – 2014. – № 1017. – P. 251–255.
7. Pruski, K. Saskatoon (*Amelanchier alnifolia* Nutt.) / K. Pruski, M. Mohyuppin, G. Grainger // Biotechnology in Agriculture and Forestry. – 1991. – Vol. 16. – P. 164–179.
8. Бутенко, Р. Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнология на их основе : учебное пособие / Р. Г. Бутенко. – М. : ФБК-ПРЕСС, 1999. – 160 с.
9. Муратова, С. А. Особенности введения в культуру *in vitro* плодовых и ягодных растений / С. А. Муратова, М. Б. Янковская, Д. Г. Шорников // Плодоводство : сб. науч. тр. / Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т плодоводства ; редкол.: В. А. Матвеев (гл. ред.) [и др.]. – Самохваловичи, 2005. – Т. 17, ч. 2. – С. 182–185.
10. Размножение плодовых и ягодных растений в культуре *in vitro* / Н. В. Кухарчик [и др.] ; под общ. ред. Н. В. Кухарчик. – Минск : Беларуская навука, 2016. – 208 с.
11. Куклина, А. Г. Жимолость, ирга : пособие для садоводов-любителей / А. Г. Куклина. – М. : Ниола-Пресс, 2007. – 240 с.
12. Murashige, T. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // Physiol. Plantar. – 1962. – Vol. 15. – P. 473–497.

CHARACTERISTICS OF *IN VITRO* INITIATION AND STABILIZATION OF *AMELANCHIER ALNIFOLIA* NUTT.

I. N. OSTAPCHUK, I. A. PIVOVARCHIK, N. V. KUHARCHYK

Summary

The article presents the preliminary results of studies on *in vitro* initiation and propagation at the stabilization stage for *Amelanchier alnifolia* varieties. The studies were carried out in Biotechnology Department of the Institute for Fruit Growing in 2018–2019. The study objects were the introduced varieties Martin, Northline, Smoky, Honeywood. Explant types for *in vitro* initiation were determined; the effect of 6-BA concentration on the propagation factor for the regenerated plants was studied.

Keywords: *Amelanchier alnifolia* L., *in vitro*, initiation, stabilization, Belarus.

Поступила в редакцию 04.06.2019 г.