

ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* И МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ХЕНОМЕЛЕСА (*CHAENOMELES* LINDL.)

И. Н. ОСТАПЧУК

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

АННОТАЦИЯ

В статье представлены данные исследований по эффективности введения в культуру *in vitro* перспективных гибридов хеномелеса японского, хеномелеса прекрасного и хеномелеса превосходного, а также определен коэффициент размножения на различных этапах субкультивирования.

Способность эксплантов хеномелеса японского (*Chaenomeles japonica* (Thunb.) Lindl. ex Spach), хеномелеса прекрасного (*Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai) и хеномелеса превосходного (*Chaenomeles* × *superba* (Frahm) Rehder) к регенерационным процессам в культуре *in vitro* определяется сортовыми особенностями. Высоким процентом жизнеспособных эксплантов выделились гибрид С-47 (82,60 %), сорт Лихтар (73,01 %), гибрид 1-34-22 (72,22 %) и гибрид 01-2019-1 (60,31 %).

Число субкультивирований оказывает достоверное влияние на коэффициент размножения хеномелеса. У хеномелеса японского высоким коэффициентом размножения характеризуются сорт Лихтар (5,60) и перспективные гибриды С-47 (5,13) и 1-66-05 (5,83). У хеномелеса прекрасного максимальный коэффициент размножения отмечен у перспективного гибрида 1-52-22 на 6-м пассаже и составил 3,7. Максимальный коэффициент размножения у образцов хеномелеса превосходного отмечен на 6-м пассаже: для гибрида 1-34-22 – 3,73, для гибрида 1-38-22 – 3,2.

Ключевые слова: хеномелес, культура *in vitro*, эксплант, стерилизация, инициация, некроз, инфекция, коэффициент размножения, пассаж, Беларусь.

ВВЕДЕНИЕ

Хеномелес (*Chaenomeles*) – небольшой род семейства розовых (Rosaceae), состоящий из трех видов, встречающихся в Китае и Японии: хеномелес японский (*Chaenomeles japonica* (Thunb.) Lindl. ex Spach), хеномелес прекрасный (*Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai), хеномелес превосходный (*Chaenomeles* × *superba* (Frahm) Rehder). Хеномелес превосходный – это гибрид хеномелеса японского и хеномелеса прекрасного. Все три вида с многочисленными декоративными сортами успешно культивируются в России и Беларуси. В настоящее время в государственный реестр сортов включено 3 отечественных сорта этой культуры – Ароматный, Осенний и Лихтар [1]. Плоды хеномелеса обладают многими ценными качествами и характеризуются повышенным содержанием витамина С, Р-активных катехинов, органических кислот, макро- и микро-элементов и других полезных веществ [2–9]. Богатый химический состав плодов хеномелеса японского обуславливает перспективность их использования в пищевой промышленности для изготовления соков, сиропа, пюре, джема, алкогольных и безалкогольных газированных напитков, цукатов, продуктов функционального и лечебно-профилактического назначения, а также в фармацевтической и косметической промышленности, что, в свою очередь, вызывает заинтересованность в выращивании этой культуры и расширении ее сортимента [10].

Биотехнологические методы размножения растений, основанные на микроразмножении в культуре *in vitro*, позволяют быстро размножить и сохранить генетическую стабильность растений [11]. Первым и наиболее трудоемким этапом биотехнологических исследований, связанных с культурой тканей растений, является введение растительного материала в стерильную культуру. Перевод растений *in vivo* – *in vitro* должен обеспечить полную стерильность исходного материала [12]. На втором этапе микроразмножения необходимо подобрать оптимальный состав питательной среды, который обеспечит максимальные показатели роста и развития эксплантов, а также высокий выход посадочного материала в конечном итоге [13–15].

Цель исследований – оценить эффективность этапа введения в культуру *in vitro* и выявить зависимость коэффициента размножения от числа субкультивирований.

ОБЪЕКТЫ, УСЛОВИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводили в отделе биотехнологии РУП «Институт плодоводства» в 2023–2024 гг.

Объектами исследований являлись 12 образцов (1 сорт, 11 перспективных гибридов) хеномелеса различной видовой принадлежности, выращенные на селекционном участке отдела ягодных культур РУП «Институт плодоводства»:

- районированный сорт хеномелеса японского белорусской селекции Лихтар;
- перспективные гибриды хеномелеса японского (С-47, 1-66-05, 5-50-03, 01-2019-1, 01-2019-2);
- перспективные гибриды хеномелеса прекрасного (1-52-22, 1-53-22, 1-4-23, 1-40-23);
- перспективные гибриды хеномелеса превосходного (1-34-22, 1-38-22).

Отбор образцов для введения в культуру *in vitro* проводили в первой декаде декабря. Эксплантами для инициации хеномелеса служили вегетативные почки. Для введения хеномелеса в культуру *in vitro* использовали питательную среду по прописи Мурасиге – Скуга [16], с добавлением аскорбиновой кислоты в концентрации 10 мг/л.

Схема стерилизации: экспланты в нестерильных условиях промывали сначала мыльным раствором, а затем в течение 30 мин 0,5%-ным раствором Оксихома, далее в ламинар-боксе: 1 мин – 70%-ный этанол, 3 мин – 30%-ная перекись водорода, 5 мин – промывка несколькими порциями стерильной дистиллированной водой.

Через 4–5 недель растения-регенеранты культивировали на модифицированной среде Мурасиге – Скуга с добавлением 6-БА – 1,0 мг/л и гибберелловой кислоты – 0,5 мг/л, pH – 5,6–5,7. Оценивали коэффициент размножения на различных этапах субкультивирования.

Условия культивирования растений *in vitro*: освещение – 2,5–3 тыс. лк, температура – +22...+24 °С, фотопериод – 16/8 ч. Растения-регенеранты культивировали в пробирках 200 × 21 мм с объемом питательной среды 10 мл.

Опыты проводили в трехкратной повторности. Обработку полученных данных осуществляли с помощью компьютерной программы STATISTICA 6.0 и Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Способность эксплантов хеномелеса японского, хеномелеса прекрасного и хеномелеса превосходного к регенерационным процессам в культуре *in vitro* определяется сортовыми особенностями.

При введении в культуру *in vitro* хеномелеса высоким процентом жизнеспособных эксплантов выделились гибрид С-47 (82,60 %), сорт Лихтар (73,01 %), гибрид 1-34-22 (72,22 %) и гибрид 01-2019-1 (60,31 %) (табл. 1). Минимальное количество жизнеспособных эксплантов выявлено у гибрида 5-50-03 (19,84 %). Количество инфицированных эксплантов варьировало в пределах 11,11–39,68 %. Высокая доля некротировавших эксплантов (более 40 %) отмечена у гибридов 5-50-03 (хеномелес японский), 1-53-22 (хеномелес прекрасный) и 1-38-22 (хеномелес превосходный).

Основная задача этапа микроразмножения – это получение необходимого количества посадочного материала. Растения-регенеранты высаживаются на питательную среду для микроразмножения, где культивируются в течение 4–5 недель, и образованный конгломерат растений вновь пересаживается на свежую питательную среду. Этап микроразмножения обычно состоит из нескольких пассажей, число которых зависит от способности сорта к размножению и от нужного объема посадочного материала [11].

Определен коэффициент размножения на протяжении шести пассажей. В процессе микроразмножения установлено достоверное влияние ($p < 0,005$) числа субкультивирований и сортовой принадлежности ($p < 0,005$) на коэффициент размножения хеномелеса японского. У сорта Лихтар, перспективных гибридов С-47, 1-66-05, 01-2019-1 и 01-2019-2 максимальный коэффициент размножения отмечен на 6-м пассаже (рис. 1).

Высоким коэффициентом размножения характеризуются сорт Лихтар (5,60) и перспективные гибриды С-47 (5,13) и 1-66-05 (5,83). Что касается гибрида 5-50-03, то его коэффициент

Таблица 1. Эффективность этапа введения в культуру *in vitro* сортообразцов хеномелеса, %

Название образца	Доля жизнеспособных эксплантов	Доля инфицированных эксплантов	Доля некритеризованных эксплантов
Сорт Лихтар	73,01 ± 0,16 ^b	13,18 ± 4,48 ^a	13,81 ± 4,36 ^{ab}
Гибрид С-47	82,60 ± 2,02 ^a	12,45 ± 2,40 ^a	4,94 ± 2,48 ^a
Гибрид 1-66-05	57,51 ± 2,23 ^c	22,53 ± 4,48 ^{ab}	19,96 ± 2,34 ^b
Гибрид 5-50-03	19,84 ± 4,42 ^f	39,68 ± 3,18 ^d	40,48 ± 6,30 ^d
Гибрид 01-2019-1	60,31 ± 3,17 ^c	25,40 ± 5,72 ^{bc}	14,29 ± 8,25 ^{ab}
Гибрид 01-2019-2	30,16 ± 1,59 ^e	34,92 ± 4,20 ^{cd}	34,92 ± 4,20 ^{cd}
Гибрид 1-52-22	23,72 ± 2,31 ^{ef}	39,53 ± 1,07 ^d	36,75 ± 1,71 ^{cd}
Гибрид 1-53-22	39,93 ± 1,47 ^d	15,20 ± 4,60 ^{ab}	44,87 ± 3,39 ^d
Гибрид 1-4-23	25,09 ± 2,88 ^{ef}	37,54 ± 0,92 ^d	37,36 ± 3,53 ^{cd}
Гибрид 1-40-23	52,38 ± 3,26 ^c	22,53 ± 0,55 ^{ab}	25,09 ± 2,88 ^{bc}
Гибрид 1-34-22	72,22 ± 5,55 ^b	11,11 ± 5,56 ^a	16,67 ± 0,00 ^{ab}
Гибрид 1-38-22	39,93 ± 1,47 ^d	17,40 ± 2,02 ^{ab}	42,67 ± 3,48 ^d

Примечание. Данные с одинаковыми буквами по столбцам статистически не различаются при $p < 0,05$ (критерий Дункана).

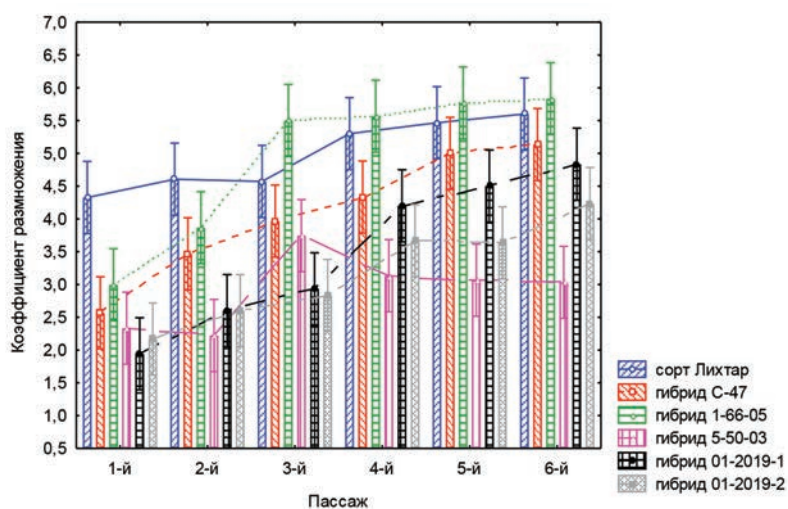


Рис. 1. Коэффициент размножения сортообразцов хеномелеса японского в зависимости от пассажа

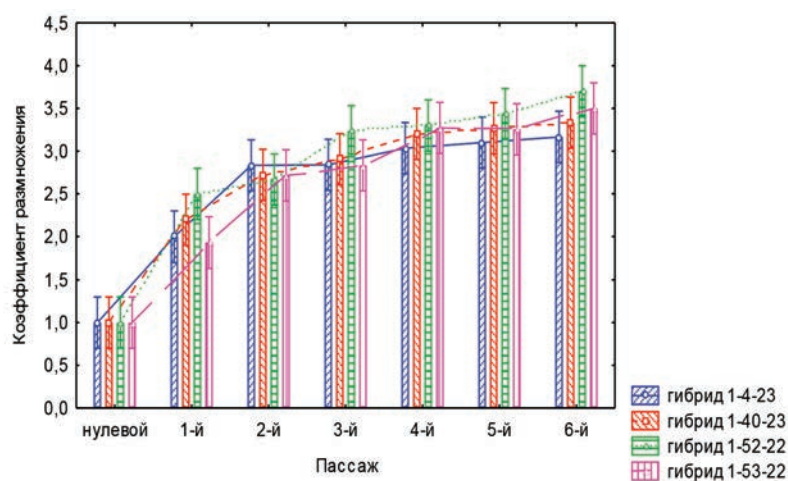


Рис. 2. Коэффициент размножения перспективных гибридов хеномелеса прекрасного в зависимости от пассажа

размножения на протяжении всего времени субкультивирования варьировал в пределах 2,22–3,74. Максимальный коэффициент размножения наблюдался на 3-м пассаже (3,74).

У всех изучаемых образцов хеномелеса прекрасный коэффициент размножения увеличивался от пассажа к пассажи, однако был ниже, чем у образцов хеномелеса японского (рис. 2).

На 1-м пассаже наблюдается низкий коэффициент размножения у всех изучаемых гибридов хеномелеса прекрасного (1,93–2,57). Максимальный коэффициент размножения отмечен у перспективного гибрида 1-52-22 на 6-м пассаже и составил 3,7.

Для перспективных гибридов хеномелеса превосходного установлено статистически значимое влияние числа субкультивирований ($p < 0,001$) на коэффициент размножения (рис. 3). На протяжении первых двух пассажей коэффициент размножения для гибридов 1-34-22 и 1-38-22 оставался невысоким и составил 2,29–2,75 и 2,07–2,50 соответственно. Максимальный коэффициент размножения у обоих образцов отмечен на 6-м пассаже: для гибрида 1-34-22 – 3,73, для гибрида 1-38-22 – 3,2.

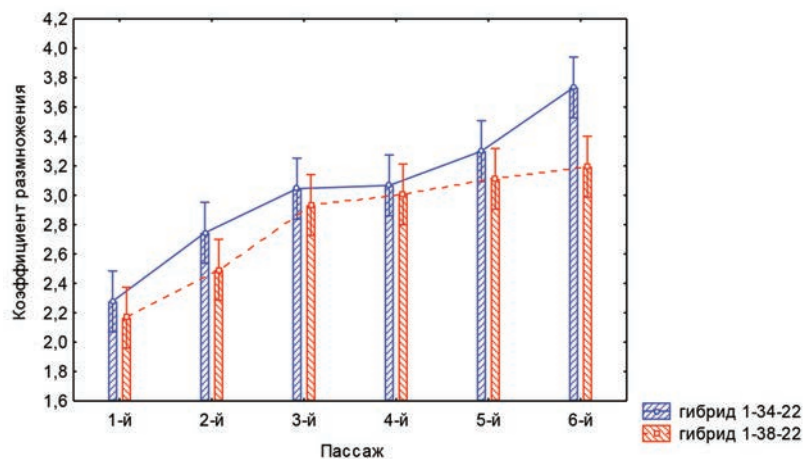


Рис. 3. Коэффициент размножения перспективных гибридов хеномелеса превосходного в зависимости от пассажа

ВЫВОДЫ

Таким образом, при введении в культуру *in vitro* хеномелеса различного видового типа установлено влияние сортовых особенностей, однако не выявлено влияние вида. Низкая регенерационная способность наблюдалась у гибридов всех изучаемых видов хеномелеса.

Установлено достоверное влияние числа субкультивирований на коэффициент размножения у всех изучаемых видов хеномелеса. Коэффициент размножения сортообразцов хеномелеса японского значительно выше, чем у сортообразцов хеномелеса прекрасного и превосходного, за исключением гибрида хеномелеса японского 5-50-03.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Государственный реестр сортов и древесно-кустарниковых пород Республики Беларусь / Гос. инспекция по испытанию и охране сортов растений ; отв. ред. В. А. Бейня. – Минск, 2017. – 225 с.
2. Перспективные формы хеномелеса для использования в функциональном питании / В. Н. Сорокопудов, О. А. Сорокопудова, А. Г. Куклина [и др.] // Овощи России. – 2017. – № 5 (38). – С. 80–83.
3. Valcheva-Kuzmanova, S. Chemical composition and antioxidant activity of *Chaenomeles maulei* fruit juice / S. Valcheva-Kuzmanova, M. Ognyanov, P. Denev // Journal of Biomedical and Clinical Research. – 2018. – Vol. 11, № 1. – P. 41–48.
4. *Chaenomeles japonica*, *Cornus mas*, *Morus nigra* fruits characteristics and their processing potential // Journal of Food Science and Technology. – URL: https://www.researchgate.net/publication/257798746_Chaenomeles_japonica_Cornus_mas_Morus_nigra_fruits_characteristics_and_their_processing_potential (date of access: 03.03.2025).
5. Biochemical composition and antioxidant activity of Japanese quince (*Chaenomeles japonica*) fruit, their syrup and candied fruit slices / M. Rubinskiene, P. Viskelis, J. Viskelis [et al.] // Scientific works of the Institute of Horticulture. – Baitai, 2014. – № 33 (1–2). – P. 45–52.

6. Industrial characteristics and consumer properties of *Chaenomeles* Lindl. fruits / Y. V. Lukholat, N. O. Khromykh, T. Y. Lykholat [et al.] // Ukrainian journal of ecology. – 2019. – Vol. 9 (3). – P. 132–137.
7. Chromatographic characterization of juice in fruits of different Japanese quince (*Chaenomeles japonica* L.) genotypes cultivated in Sweden / M. P. Hellin, M. J. Jordán, K. Rumpunen [et al.] // Emirates Journal of Food and Agriculture. – 2020. – Vol. 32 (11). – P. 816–825.
8. Биохимический состав плодов малораспространенных культур садоводства в Беларуси / Ж. А. Рупасова, И. М. Гаранович, Т. В. Шпитальная [и др.]. – Минск : Беларус. навука, 2014. – 315 с.
9. Пигуль, М. Л. Биохимический состав плодов хеномелеса японского (*Chaenomeles japonica* (Thunb.) Lindl. ex Spach) в условиях Беларуси / М. Л. Пигуль, М. С. Шалкевич, И. Н. Остапчук // Плодоводство : сб. науч. тр. / НАН Беларуси, Ин-т плодоводства ; редкол.: А. А. Таранов (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2022. – Т. 34. – С. 43–47.
10. Macro- and microelement content and other properties of *Chaenomeles japonica* L. fruit and protective effects of its aqueous extract on hepatocyte metabolism / I. Baranowska-Bosiacka, B. Bosiacka, J. Rast [et al.] // Biological Trace Element Research. – 2017. – Vol. 178. – P. 327–337.
11. Размножение плодовых, ягодных растений, винограда и хмеля в культуре *in vitro* / Н. В. Кухарчик, М. С. Кастрицкая, Е. В. Колбанова [и др.] ; под общ. ред. Н. В. Кухарчик. – Минск : Колорград, 2021. – 400 с.
12. Остапчук, И. Н. Введение в культуру *in vitro* малораспространенных культур в Беларуси: облепихи крушиновидной и хеномелеса японского / И. Н. Остапчук, Н. В. Кухарчик // Плодоводство : сб. науч. тр. / НАН Беларуси, Ин-т плодоводства ; редкол.: В. А. Самусь (гл. ред.) [и др.]. – Самохваловичи, 2016. – Т. 28. – С. 205–211.
13. Остапчук, И. Н. Влияние концентрации бензиладенина на микроразмножение хеномелеса японского / И. Н. Остапчук // Биотехнология в плодоводстве : материалы междунар. науч. конф., аг. Самохваловичи, 13–17 июня 2016 г. / НАН Беларуси, Ин-т плодоводства ; редкол.: В. А. Самусь (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2016. – С. 92–94.
14. Колбанова, Е. В. Размножение смородины черной (*Ribes nigrum* L.) методом культуры ткани / Е. В. Колбанова, Н. В. Кухарчик // Плодоводство : науч. тр. / Белорус. науч.-исслед. ин-т плодоводства ; редкол.: В. А. Самусь (гл. ред.) [и др.]. – Самохваловичи, 2000. – Т. 13. – С. 119–124.
15. Красинская, Т. А. Морфогенез растений-регенерантов сортов винограда в культуре *in vitro* при использовании биологически активных веществ синтетического происхождения / Т. А. Красинская, А. А. Змушко // Журнал Белорусского государственного университета. Биология. – 2018. – № 2. – С. 95–104.
16. Murashige, T. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // Physiologia Plantarum. – 1962. – Vol. 15, iss 3. – P. 473–497.

INTRODUCTION TO *IN VITRO* CULTURE AND MICROPROPAGATION OF VARIOUS CHAENOMELES SPECIES (*CHAENOMELES* LINDL.)

I. N. OSTAPCHUK

Abstract

This article presents research data on the efficiency of *in vitro* introduction and micropropagation of promising hybrids of Japanese quince, flowering quince, and hybrid quince (*Chaenomeles japonica*, *Chaenomeles speciosa*, and *Chaenomeles* × *superba*, respectively), along with multiplication rates at different subculturing stages.

The regeneration capacity of explants of *C. japonica* (Thunb.) Lindl. ex Spach, *C. speciosa* (Sweet) Nakai, and *C. × superba* (Frahm) Rehder in *in vitro* culture depends on varietal characteristics. High explant viability was observed in hybrid C-47 (82.60 %), cultivar Likhtar (73.01 %), hybrid 1-34-22 (72.22 %), and hybrid 01-2019-1 (60.31 %).

The number of subcultures significantly affected the multiplication rate. In *C. japonica*, high multiplication rates were recorded in cultivar Likhtar (5.60) and promising hybrids C-47 (5.13) and 1-66-05 (5.83). In *C. speciosa*, the highest multiplication rate was observed in hybrid 1-52-22 at the sixth subculture (3.7). In *C. × superba*, the maximum multiplication rates were also observed at the sixth subculture: 3.73 in hybrid 1-34-22 and 3.2 in hybrid 1-38-22.

Keywords: *Chaenomeles*, *in vitro* culture, explant, sterilization, initiation, necrosis, contamination, multiplication rate, subculture, Belarus.

Поступила в редакцию 17.03.2025