

ВЛИЯНИЕ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ НА МОРФОГЕНЕЗ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *RUBUS* L. В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Т. В. ПЛАКСИНА

ФГБНУ «Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий»,
п. Научный городок, 35, г. Барнаул, 656910, Россия,
e-mail: tplaksina@mail.ru

АННОТАЦИЯ

В работе представлены результаты исследований по микроразмножению *in vitro* сортов малины разного типа плодоношения и ежевики садовой с использованием питательных сред Драйвера и Куниоки (DKW) и Мурасиге и Скуга (MS), модифицированных по содержанию отдельных компонентов среды.

Установлено, что на коэффициент размножения (КР) в большей степени влияет генотип растения, а среда дает ему возможность раскрыть свой потенциал. Для малины обычного типа плодоношения Акварель и Добрая среда DKW оказала существенное влияние на этот показатель. Отмечено и статистически подтверждено, что среда DKW положительно влияет на рост побегов в длину и формирование гармонично развитых эксплантов у изученных сортов малины и ежевики, в отличие от среды MS.

Ключевые слова: малина, ежевика, эксплант, состав среды, регуляторы роста, коэффициент размножения.

ВВЕДЕНИЕ

Условия Западной Сибири с резко континентальным климатом, длительным морозным и снежным периодом в большей степени благоприятны для выращивания ягодных культур. Ягодные кустарники раньше вступают в плодоношение в отличие от косточковых и семечковых культур. Малина является одной из популярных ягодных культур в мире. В настоящее время в России возрос интерес к ежевике садовой, что связано с появлением современных сортов, обладающих высокими вкусовыми качествами, не имеющих шипов, с крупными, транспортабельными ягодами. Ежевика цветет позднее по сравнению с малиной, что расширяет ассортимент потребления свежих ягод. В НИИ садоводства Сибири имени М. А. Лисавенко (НИИСС), входящем в качестве отдела в Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий, селекцией малины занимаются с 30-х гг. XX в. и продолжают по настоящее время. Создано 34 сорта малины, в основном на основе вида малины обыкновенной (*Rubus idaeus* L.) и ее гибридов, приспособленных к росту и плодоношению в условиях Сибири. В настоящее время производство посадочного материала новых местных и интродуцированных сортов малины испытывает определенные трудности. Это обусловлено многими причинами экономического и социального характера, а также возросшими требованиями к качеству посадочного материала, необходимостью создания центров по выращиванию базисных растений плодовых и ягодных культур в питомниках [1, 2]. В настоящее время из-за санкций ограничен доступ к импортным саженцам. По разным оценкам, зависимость России от импорта саженцев плодовых и ягодных культур составляет от 40 до 50 % [3]. В связи с этим имеет место дефицит качественного посадочного материала ряда ягодных культур. С каждым годом растет интерес к современным сортам ежевики садовой, в том числе на Алтае.

Перспективно вести селекцию ежевики с использованием лучших современных интродуцированных зарубежных сортов данной культуры [4]. В отделе НИИСС за последние годы собрана коллекция различных сортов ежевики и малино-ежевичных гибридов. Для полного их изучения в условиях юга Западной Сибири необходимо получить достаточное количество посадочного материала. Для быстрого тиражирования ценных генотипов перспективно использовать метод клonalного микроразмножения *in vitro* [2, 5].

Цель данного исследования – оценить эффективность использования среды DKW для сортов малины и ежевики на этапе собственно микроразмножения в культуре *in vitro*.

ОБЪЕКТЫ, УСЛОВИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работу проводили на протяжении трех лет (2022–2024) в лаборатории биотехнологии и цитологии отдела НИИСС по общепринятой методике [6].

Объекты исследования: сорта малины обычного типа плодоношения (Акварель, Добрая, Затонская) и ремонтантного (Брянское Диво, Оранжевое Чудо, Пингвин); 4 сорта ежевики (Brzezina, Natchez, Ouachita, Heaven Can Wait).

В качестве минеральной основы применяли среду DKW [7], в нашей модификации [8], дополненную хелатом железа в удвоенной концентрации. Витамины и глицин вносили согласно прописи среды MS, а бактериологический агар – в концентрации 7,0 г/л. Данная среда пока не получила широкого применения в культуре *in vitro* для плодовых и ягодных культур. Обычно при микроразмножении представителей рода *Rubus* применяют среду по прописи MS [6, 9, 10]. В опытах также использована традиционная среда MS, но с удвоенной концентрацией хелатного железа. В среды вносили регуляторы роста (PP): цитокинин – 6-бензиламинопурин (БАП) в концентрации от 2,5 до 4,5 мкМ и ауксин – индолил-3-масляная кислота (ИМК) – 0,25–0,90 мкМ, а также варианты без добавления ИМК.

Условия культивирования – согласно методике [8]. Источник света – белые светодиодные лампы (Jazzway 6500K).

Схема опыта: 3 экспланта на повторность, от 5 до 10 повторностей на вариант. В качестве экспланта брали микропобеги длиной 10–13 мм. Длительность пассажа – 60 дней. Результаты получены за одно субкультивирование.

Элементы учета: КР (количество микропобегов, шт/эксплант); средняя длина побегов (мм) или доля побегов длиной \geq 13 мм (%).

Статистическую обработку данных ($p = 0,05$) проводили с использованием программы Excel, Word 2007 путем сравнения средних величин с расчетом доверительного интервала.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

К настоящему времени разработаны протоколы по микроразмножению более чем для 2400 видов растений, тем не менее для каждого вида и даже сорта часто требуется оптимизация условий в культуре *in vitro* [9, 11]. Создание новых гибридов и сортов сложного генетического происхождения часто приводит к трудностям при клонировании их *in vitro*. Поэтому постоянно ведется работа по оптимизации уже имеющихся методик и технологий согласно современным требованиям и тенденциям.

На Алтае проведена работа с сортами малины разного типа плодоношения и предложена универсальная технология микроразмножения [8]. На модифицированной среде DKW экспланты длительно росли без пересадок, листья оставались зелеными, в отличие от тех, что культивировали на среде MS. Экспланты образовывали побеги длиной более 13 мм.

Установлено отсутствие достоверных различий влияния минерального состава питательной среды на КР у большинства изученных сортов малины. По данному показателю достоверно выделились сорта Акварель и Добрая, для которых среда DKW явилась лучшей. Этот показатель у сорта Акварель превышал в 2 раза, а у сорта Добрая – в 4 раза таковой на среде MS (табл. 1).

Таблица 1. Коэффициент размножения сортов малины, шт/эксплант

Сорт	Среда					
	БАП 2,5 + ИМК 0,5		БАП 3,5 + ИМК 0,7		БАП 4,5 + ИМК 0,9	
	DKW	MS	DKW	MS	DKW	MS
Акварель	9,0 ± 1,7	3,7 ± 0,9	10,3 ± 1,8	4,2 ± 0,7	6,6 ± 1,6	3,3 ± 0,7
Добрая	8,8 ± 1,0	2,7 ± 0,8	9,6 ± 1,3	2,4 ± 0,9	11,0 ± 1,4	3,7 ± 0,7
Затонская	6,5 ± 1,6	7,6 ± 2,3	8,6 ± 1,9	9,4 ± 2,5	8,4 ± 2,2	7,8 ± 3,1
Брянское Диво	9,1 ± 1,8	7,3 ± 1,4	6,7 ± 1,4	6,2 ± 1,3	8,3 ± 1,6	7,1 ± 1,3
Оранжевое Чудо	12,2 ± 2,5	9,8 ± 2,6	11,5 ± 1,9	12,3 ± 1,7	11,8 ± 1,8	*
Пингвин	5,7 ± 1,0	6,1 ± 2,0	5,8 ± 1,1	5,3 ± 1,2	6,2 ± 0,8	*

* Эксперимент не проводили.

Развитие эксплантов малины на разных по гормональному составу средах показало, что увеличение концентрации БАП до 4,5 мкМ и ИМК до 0,9 мкМ способствует образованию каллуса в базальной части побега, что нежелательно при клонировании сортов. Также отмечены признаки гипергидратации у вновь образовавшихся побегов и листьев. Среда DKW, дополненная БАП 3,5 + + ИМК 0,7, выделена как оптимальная для всех изученных генотипов малины. Она в целом положительно влияла на рост побегов в длину и их гармоничное развитие. Это позволило уже на этапе собственно размножения отказаться от этапа элонгации. В зависимости от концентрации РР на среде с минеральной основой по прописи DKW длина побегов малины превышала в 1,4–5,6 раза длину побегов при сравнении со средой MS (табл. 2).

Таблица 2. Длина микропобегов сортов малины на разных средах, мм

Сорт	Среда					
	БАП 2,5 + ИМК 0,5		БАП 3,5 + ИМК 0,7		БАП 4,5 + ИМК 0,9	
	DKW	MS	DKW	MS	DKW	MS
Акварель	7,0 ± 1,1	2,7 ± 0,7	6,8 ± 1,4	4,2 ± 0,7	5,6 ± 0,6	3,3 ± 0,7
Добрая	15,1 ± 1,9	2,7 ± 0,7	12,3 ± 1,4	4,6 ± 0,9	6,9 ± 2,1	2,2 ± 0,7
Затонская	5,0 ± 0,8	2,7 ± 0,5	4,8 ± 1,1	2,4 ± 0,3	6,3 ± 0,8	4,0 ± 0,7
Брянское Диво	16,5 ± 1,8	10,3 ± 1,5	10,2 ± 1,6	7,1 ± 1,0	9,8 ± 1,1	6,7 ± 1,6
Оранжевое Чудо	7,9 ± 1,0	4,4 ± 1,3	8,8 ± 1,0	4,2 ± 0,5	11,0 ± 1,0	*
Пингвин	12,6 ± 1,8	4,0 ± 0,8	14,7 ± 1,8	4,5 ± 0,6	14,6 ± 1,6	*

* Эксперимент не проводили.

Таким образом, для размножения малины *in vitro* мы предлагаем использовать модифицированную питательную среду DKW, дополненную РР БАП в концентрации 3,5 мкМ совместно с ИМК в концентрации 0,7 мкМ.

Ежевика с малиной принадлежат к одному роду, но сорта ежевики имеют сложное генетическое происхождение [4]. Это во многом определяет реакцию отдельных сортов на условия культивирования *in vitro*. При работе с ежевикой нам пришлось скорректировать соотношение и состав РР в питательной среде. Концентрация ауксина была снижена в 10 раз по отношению к цитокинину. Культивирование эксплантов ежевики на среде, оптимальной для малины (БАП 3,5 + + ИМК 0,7), приводило к сильному разрастанию каллуса в основании экспланта и гипергидратации листьев в нижней части микропобегов. Особенно это проявилось на сорте Heaven Can Wait. Возможно, это связано с уровнем эндогенных РР и, в частности, с концентрацией ауксинов. Не выявлено достоверных различий относительно влияния среды DKW или MS на КР. Различия отмечены лишь в двух случаях. У сорта Brzezina на среде DKW с БАП 2,5 + ИМК 0,25 КР в среднем составлял 17,5 шт/эксплант, что в 1,5 раза превысило аналогичный показатель на среде MS. Сорт Natchez проявил обратную реакцию: на среде MS с БАП 3,0 мкМ КР был в 2 раза выше, чем на среде DKW, и составил 9,9 шт/эксплант. Такая реакция сортов подтверждает роль генотипа при культивировании *in vitro* [9, 11].

Среда DKW оказала положительное влияние на рост побегов в длину как для сортов ежевики, так и малины (табл. 3).

Таблица 3. Количество побегов ежевики длиной ≥ 13 мм на разных средах, %

Среда	Сорт			
	Brzezina	Natchez	Heaven Can Wait	Ouachita
DKW + БАП 2,5	14,3	6,5	58,4	54,3
DKW + БАП 2,5 + ИМК 0,25	44,2	21,8	64,9	42,5
DKW + БАП 3,0	10,3	35,1	37,8	25,0
DKW + БАП 3,0 + ИМК 0,3	26,5	12,2	75,0	45,6
MS + БАП 2,5	22,4	19,5	55,7	42,2
MS + БАП 2,5 + ИМК 0,25	18,3	21,0	61,3	60,0
MS + БАП 3,0	23,0	30,2	49,2	58,0
MS + БАП 3,0 + ИМК 0,3	20,9	31,3	52,1	52,0

На среде DKW получено от 35 до 75 % побегов длиной 13 мм и более. Это дает возможность использовать часть побегов на последующих этапах укоренения и адаптации, что значительно ускоряет выход посадочного материала.

Таким образом, для изученных сортов ежевики можно рекомендовать модифицированную среду DKW с РР БАП в концентрации 2,5–3,0 мкМ с добавлением 0,25–0,3 мкМ ИМК.

ВЫВОДЫ

В результате проведенных исследований на 6 сортах малины и 4 сортах ежевики установлено, что модифицированная среда DKW положительно влияет на морфогенез в условиях *in vitro* у изученных представителей рода *Rubus*. Для сортов малины Акварель и Добрая культивирование на данной среде повышает коэффициент размножения в 2 и 4 раза соответственно по сравнению со средой MS. Применение среды DKW позволяет уже на этапе собственно размножения увеличить выход побегов длиной более 13 мм, тем самым исключить этап элонгации и ускорить выход посадочного материала.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Организация технологических процессов производства посадочного материала плодовых культур : моногр. / под общ. ред. Е. А. Егорова. – Краснодар : СКФНЦСВВ, 2019. – 243 с.
2. Гегечкори, Б. С. Инновационные технологии производства посадочного материала плодовых и ягодных культур : учеб. пособие для вузов / Б. С. Гегечкори, Т. Н. Дорошенко, Н. А. Щербаков. – СПб. : Лань, 2022. – 208 с.
3. Кузичева, Н. Ю. Стратегические проблемы развития садоводства России / Н. Ю. Кузичева // Вестник Мичуринского государственного аграрного университета. – 2023. – Т. 72, № 1. – С. 142–146.
4. Грюнер, Л. А. Приоритетные направления и перспективы селекции ежевики в условиях средней полосы России / Л. А. Грюнер, Б. Б. Корнилов // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2020. – Т. 24, № 5. – С. 489–500.
5. Высоцкий, В. А. Биотехнологические приемы в современном садоводстве / В. А. Высоцкий // Плодоводство и ягодоводство России. – 2011. – Т. 26. – С. 3–10.
6. Соловых, Н. В. Использование биотехнологических методов в работе с ягодными культурами : метод. рекомендации / Н. В. Соловых. – Мичуринск : Изд-во Мичур. госагроун-та, ВНИИГиСПР им. И. В. Мичурина, 2009. – 47 с.
7. Driver, J. A. *In vitro* propagation of paradox walnut rootstock / J. A. Driver, A. H. Kuniyuki // HortScience. – 1984. – Vol. 19, № 4. – P. 507–509.
8. Плаксина, Т. В. Микроклональное размножение сортов малины обычного и ремонтантного типа : метод. рекомендации / Т. В. Плаксина, Д. А. Гусев. – Барнаул, 2023. – 27 с.
9. Мелихов, И. Д. Микроразмножение растений рода *Rubus* на питательных средах разного минерального состава / И. Д. Мелихов, С. А. Муратова // Вестник Мичуринского государственного аграрного университета. – 2024. – Т. 76, № 1. – С. 77–82.
10. Clapa, D. Propagation of blackberry cultivars in three *in vitro* culture systems and evaluation of genetic uniformity / D. Clapa, M. Harta, M. I. Cordea // Journal of Central European Agriculture. – 2024. – Vol. 25, № 4. – P. 1076–1087.
11. Плаксина, Т. В. Совершенствование элементов технологии клонального микроразмножения малины разного типа плодоношения / Т. В. Плаксина, Д. А. Гусев // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2024. – Т. 54, № 4. – С. 5–12.

EFFECT OF NUTRIENT MEDIUM ON MORPHOGENESIS OF *RUBUS L.* REPRESENTATIVES IN *IN VITRO* CULTURE

T. V. PLAKSINA

Abstract

This study presents the results of *in vitro* micropagation of raspberry cultivars with different fruiting types and garden blackberry using Driver and Kuniyuki (DKW) and Murashige and Skoog (MS) media, modified in terms of specific medium components.

It was established that the multiplication rate (MR) is primarily influenced by the plant genotype, while the culture medium provides the conditions for expressing this potential. For traditionally fruiting raspberry cultivars Aquarelle and Dobraya, the DKW medium had a significant positive effect on this parameter. It was statistically confirmed that DKW medium promotes better shoot elongation and the formation of well-developed explants in the studied raspberry and blackberry cultivars, in contrast to MS medium.

Keywords: raspberry, blackberry, explant, medium composition, growth regulators, multiplication rate.

Поступила в редакцию 06.03.2025