

УДК 634.74

Особенности укоренения перспективных сортов *Lonicera caerulea* L. в культуре *in vitro*

Орлова Н.Д., Раева-Богословская Е.Н., Стахеева Т.С., Молканова О.И.

Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН

Аннотация

Работа посвящена усовершенствованию методики укоренения в условиях *in vitro* ценных сортов *Lonicera caerulea* L. Определено влияние разных типов ауксинов и источников железа на этапе ризогенеза. Для укоренения сортов Соловей и Югана эффективно использование индолилмасляной кислоты в концентрации 1,0 мг/л, укореняемость составила 60% и 99%, соответственно. У сортов Гжелка, Длинноплодная, Княгиня и Леня не обнаружено существенных различий в проценте укореняемости при использовании индолилуксусной и индолилмасляной кислот. Установлено, что 200 мг/л хелата железа (Fe(III)-EDDHA) и 0,5 мг/л индолилуксусной кислоты в составе питательной среды оказывают положительное влияние на динамику корнеобразования большинства сортов жимолости. Для сорта Югана (укореняемость составила 76%) предпочтительно использование питательной среды с добавлением хелата железа Fe(III)-EDTA в концентрации 73,4 мг/л.

Ключевые слова: LONICERA CAERULEA, СОПТА, IN VITRO, РИЗОГЕНЕЗ, АУКСИНЫ, ИСТОЧНИКИ ЖЕЛЕЗА

Введение

Род Жимолость (*Lonicera* L.) относится к семейству Caprifoliaceae и включает около 200 видов, распространенных, преимущественно, в северном полушарии в районах умеренного климата [1]. *Lonicera caerulea* L. является одной из самых высоковитаминных и раннеплодоносящих ягодных культур [2]. Плоды этой культуры содержат комплекс веществ витамина Р – активных полифенолов: катехины – до 320 мг/100 г, антоцианы – до 750 мг/100 г, лейкоантоцианы – до 145 мг/100 г [3-4]. Кроме

Орлова Н.Д., Раева-Богословская Е.Н., Стахеева Т.С., Молканова О.И.

Особенности укоренения перспективных сортов *Lonicera caerulea* L. в культуре *in vitro*

Электронный научно-производственный журнал

«АгроЭкоИнфо»

этого, они являются источником витамина С – до 250 мг/100 г [5] и макроэлементов: кальция, калия, фосфора и магния [6]. Лекарственные средства на основе плодов жимолости обладают капилляроукрепляющим и защитным антирадиационным действиями [7].

В последние годы популярность жимолости съедобной растет, а спрос на плоды и посадочный материал этой культуры как у крупных садоводческих фирм, так и мелких фермерских хозяйств стремительно увеличивается. Традиционные методы размножения жимолости с применением зеленого черенкования, в отличие от клонального микроразмножения, не позволяют получать за короткие сроки большое количество выравненного посадочного материала.

Работы по клональному микроразмножению жимолости ведутся во многих научных учреждениях мира. Описаны протоколы по укоренению в культуре *in vitro* для разных видов жимолости [8-11]. Для представителей рода *Lonicera* были исследованы такие факторы, влияющие на ризогенез, как минеральная основа питательной среды, типы ауксинов и их концентрации. Dziedzic E. (2008) в своих трудах отметил высокий процент укоренения некоторых сортов *Lonicera* на питательной среде Woody Plant Medium (1980) (процент укоренения варьировал от 92% до 96%) [10], однако другие исследователи в своих опытах показали эффективность минерального состава Murashige and Skoog (1962) в различной концентрации [8, 12]. Экспланты видов *L. caerulea* var. *caerulea*, *L. caerulea* var. *edulis* и *L. japonica* характеризовались высоким процентом укореняемости на питательных средах, содержащих индолилмасляную кислоту [13].

Разработанные ранее протоколы по укоренению *in vitro* разных генотипов жимолости не всегда подходят для масштабного производства современных сортов, так как для данной культуры свойственна сортоспецифическая реакция на условия культивирования [14].

Поэтому **целью нашей работы** является совершенствование технологии клонального микроразмножения перспективных сортов *L. caerulea* на этапе укоренения.

Материалы и методы

Исследования проводили в Лаборатории биотехнологии растений Главного ботанического сада им. Н. В. Цицина Российской академии наук (ГБС РАН).

Объектами исследования были сорта жимолости: Гжелка, Диана, Длинноплодная, Камчадалка, Княгиня, Леня, Соловей, Югана.

Методы исследования основывались на общепринятых классических [15] и разработанных в Лаборатории биотехнологии растений ГБС РАН [16] методах работы с культурами изолированных тканей и органов растений.

Опыты проводили в 3-кратной повторности, по 10 растений в каждой.

На стадии ризогенеза в первом опыте использовали питательную среду с основой $\frac{1}{2}$ MS [17] с добавлением регуляторов роста индолилуксусной кислоты (ИУК) и индолилмасляной кислоты (ИМК) в концентрации 1,0 мг/л. Через 45 суток с момента посадки подсчитывали число укоренившихся регенерантов.

На стадии ризогенеза во втором опыте использовали питательную среду $\frac{1}{2}$ MS с добавлением 73,4 мг/л хелата железа Fe(III)-EDTA и питательную среду $\frac{1}{2}$ MS с добавлением 200 мг/л хелата железа Fe(III)-EDDHA; в качестве регулятора роста был использован ИУК в концентрации 0,5 мг/л. Через 25 и 40 дней культивирования подсчитывали число регенерантов, образовавших корни.

Питательную среду стерилизовали насыщенным паром под давлением (P=101 кПа) при температуре 120°C в течение 20 минут. Стерилизацию сосудов для культивирования, инструментов и оборудования проводили по общепринятым методикам [16].

Регенеранты культивировали при освещенности 1,5...2,0 Кл, 16-часовом фотопериоде и поддержании температурного режима в пределах 25±2°C. В качестве эксплантов использовали участки микропобегов, содержащих 2-3 метамера.

Обработку полученных данных проводили по общепринятым методам статистического анализа ANOVA [18] с использованием программного обеспечения Microsoft Office Excel 2010.

Результаты и обсуждение

Этап ризогенеза является важной стадией клонального микроразмножения. Для эффективного укоренения в условиях *in vitro* большое значение имеет правильный выбор компонентов в составе питательной среды.

При анализе влияния типа ауксина на корнеобразование сортов жимолости наибольший процент укоренения наблюдали у сорта Гжелка (94%), наименьший – у сорта

Соловей (41%). Для сортов Соловей и Югана оптимальным источником ауксина в составе питательной среды являлась ИМК, укореняемость составила 60% и 99%. Для сортов Гжелка, Длинноплодная, Княгиня и Леня существенной разницы при использовании регуляторов роста ИУК и ИМК не обнаружено. (рис. 1, 2).

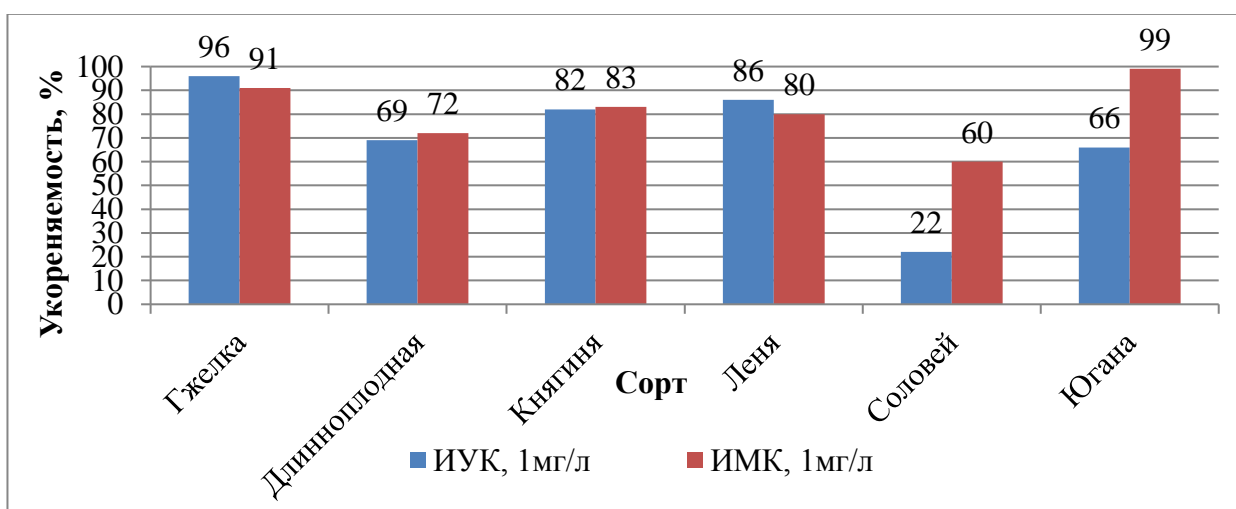


Рис. 1. Влияние типа ауксина на укоренение микропобегов *L. caerulea*, % ($p < 0,05$)

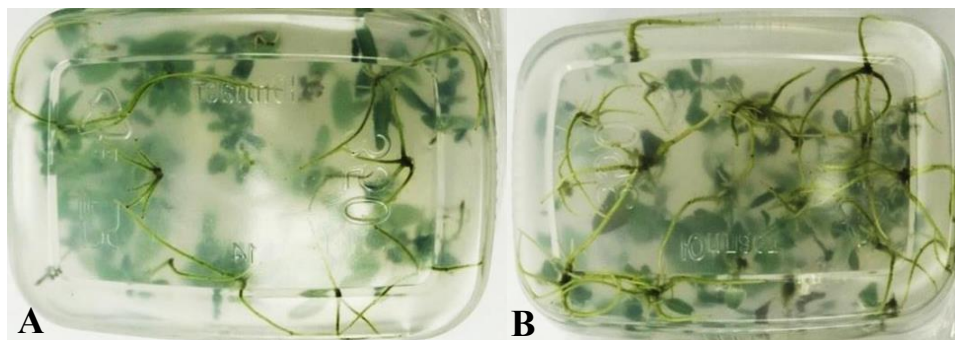


Рис. 2. Ризогенез *in vitro* *L. caerulea* сорта Югана на питательных средах с разными ауксинами

Примечания: А – ИУК 1,0 мг/л; В – ИМК 1,0 мг/л.

Полученные результаты согласуются с работами других исследователей. Karhu S. T. (1997) в своей работе по укоренению *L. caerulea* отмечает, что среди ауксинов применение ИМК более эффективно, чем ИУК [12]. Исследования Sedlák J. и Paprštejn F. (2007), Hui J. X. (2012), Dziedzic E. (2008) по культивированию представителей рода *Lonicera* в условиях *in vitro* также показывают оптимальное влияние ИМК в концентрациях 2–2,5 мг/л на укоренение микропобегов [8, 10, 13].

Для регенерации эксплантов важно содержание в питательной среде различных источников микроэлементов в доступной для растения форме. Одним из таких элементов является железо. Оно принимает непосредственное участие в биосинтезе хлорофиллов, а также в процессах фотосинтеза, дыхания и в ферментативных реакциях [19]. Установлено, что хелаты обладают высокой биологической активностью, вследствие чего их используют для повышения усвояемости растениями других полезных веществ [20-21].

В результате проведенных исследований выявлено, что применение питательной среды с добавлением хелата железа Fe(III)-EDDHA в концентрации 200 мг/л и ИУК 0,5 мг/л оказывало положительное влияние на динамику укоренения большинства сортов жимолости (рис. 3).

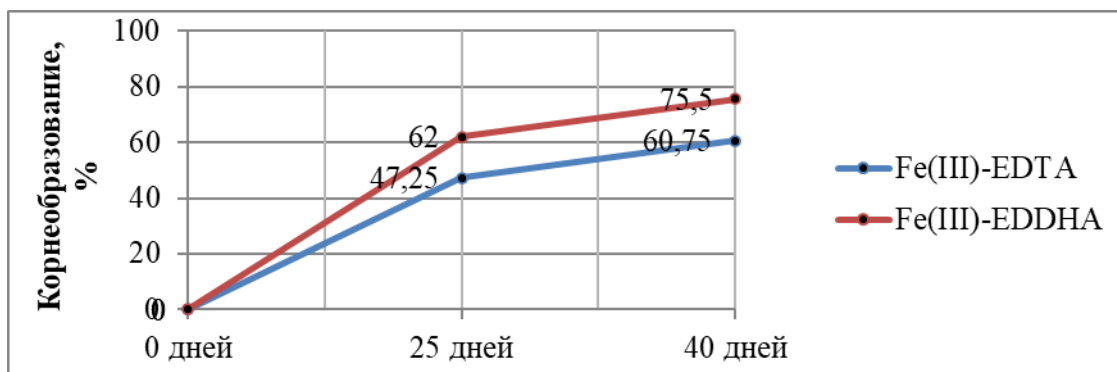


Рис. 3. Динамика укореняемости жимолости на питательных средах с различными источниками железа

Стоит отметить, что укореняемость на питательной среде, содержащей Fe(III)-EDDHA, на 15% выше, чем у регенерантов, культивируемых на питательной среде с 73,4 мг/л хелата железа Fe(III)-EDTA. Через 25 дней после пересадки микропобегов жимолости процент укоренения составил 62%, через 40 дней – 76%.

Полученные результаты согласуются с исследованиями других учёных. Fira AI. (2014) были получены положительные результаты при использовании Fe(III)-EDDHA в качестве источника железа на стадии микроразмножения *L. kamtschatica* [9]. В исследованиях Королевой О.В. и других (2019) было изучено влияние разных хелатных соединений (Fe(III)-EDTA и Fe(III)-EDDHA) в составе питательной среды на реализацию морфогенетического потенциала и корнеобразование представителей рода *Syringa* L. Отмечено лучшее корнеобразование на питательной среде, имеющей в своем составе

Fe(III)-EDDHA (процент корнеобразования – 92%), по сравнению со средой с Fe(III)-EDTA (70%) [22].

В ходе исследования выявлена сортоспецифичность представителей рода *L. caerulea* при укоренении на питательных средах с различными источниками железа (рис. 4).

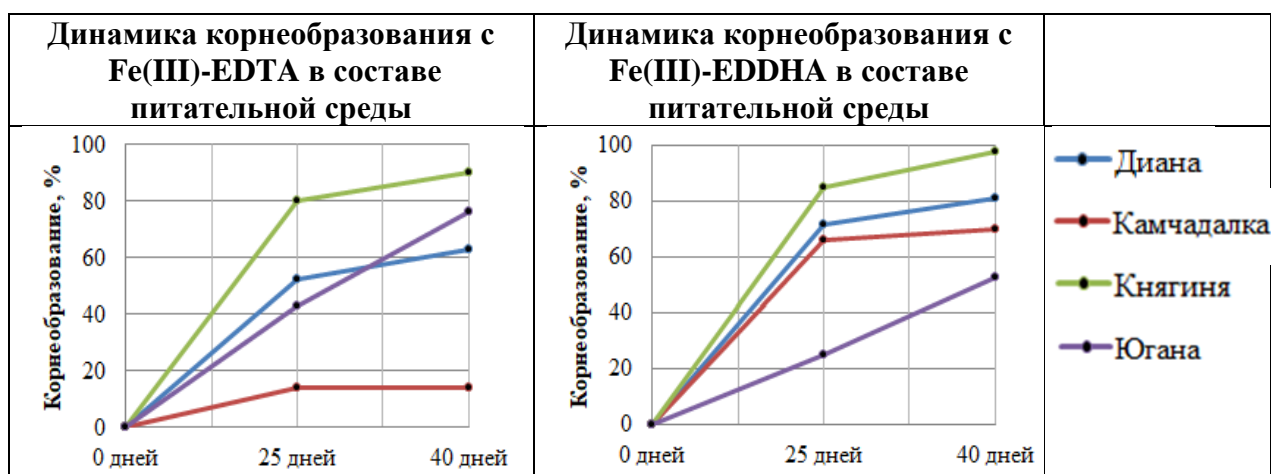


Рис. 4. Влияние источника железа в составе питательной среды на динамику корнеобразования сортов *L. caerulea*

Fe(III)-EDDHA эффективен для сортов Диана (через 25 дней культивирования процент корнеобразования 72%, 40 дней – 81%), Камчадалка (66-70 %) и Княгиня (85-98 %). Для сорта Югана предпочтительнее использовать на этапе укоренения питательную среду с добавлением хелата железа Fe(III)-EDTA.

Выводы

В ходе данных исследований нами проведена оптимизация методики клонального микроразмножения на этапе ризогенеза перспективных сортов *Lonicera caerulea* L.

При изучении влияния разных типов ауксинов на этапе ризогенеза наибольший процент укоренения наблюдается у сортов Гжелка (ИУК 96%, ИМК 91%) и Югана (ИУК 66%, ИМК 99%), наименьший – у сорта Соловей (ИУК 22%, ИМК 60%). Для сортов Соловей и Югана наиболее эффективно использование ИМК в концентрации 1,0 мг/л.

Применение питательной среды с добавлением хелата железа Fe(III)-EDDHA в концентрации 200 мг/л и ИУК 0,5 мг/л оказывало положительное влияние на процент и

динамику укоренения следующих сортов жимолости: Диана (81%), Камчадалка (70%) и Княгиня (98%). Для сорта Югана (76%) предпочтительно использовать питательную среду с добавлением хелата железа Fe(III)-EDTA в концентрации 73,4 мг/л.

Список использованных источников

1. Сорокопудов В.Н., Куклина А.Г., Упадышев М.Т. Сорты съедобной жимолости: биология и основы культивирования: монография. – М.: ФГБНУ ВСТИСП, 2018. – 160 с.
2. Svarcova I., Heinrich J., Valentova K. Berry fruits as a source of biologically active compounds: the case of *Lonicera caerulea* // Biomedical Papers of the Medical Faculty of Palacky University in Olomouc. – 2007. – Т. 151. – №. 2. – С. 163-174.
3. Becker R., Szakiel A. Phytochemical characteristics and potential therapeutic properties of blue honeysuckle *Lonicera caerulea* L.(Caprifoliaceae) // Journal of Herbal Medicine. – 2019. – Т. 16. – С. 100237.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2210803318300472>.
4. Jurikova, T., Rop, O., Mlcek, J., Sochor, J., Balla, S., Szekeres, L., Hegedusova, A., Hubalek, J., Adam, V., Kizek R. Phenolic profile of edible honeysuckle berries (genus *Lonicera*) and their biological effects // Molecules. – 2012. – Т. 17. – №. 1. – С. 61-79.
5. Grobelna A., Kalisz S., Kieliszek M. Effect of processing methods and storage time on the content of bioactive compounds in blue honeysuckle berry purees // Agronomy. – 2019. – Т. 9. – №. 12. – С. 860.
6. Rupasinghe, H.V., Arumuggam, N., Amararathna, M., De Silva, A.B.K.H. The potential health benefits of haskap (*Lonicera caerulea* L.): Role of cyanidin-3-O-glucoside. // Journal of Functional Foods. – 2018. – Т. 44. – С. 24-39.
7. Прищепина Г.А. Особенности биологии плодоношения и урожайности жимолости алтайской // Вестник АГАУ. – Барнаул. – 2003. – № 2 (10). – С. 221-225.
8. Sedlák J., Paprštejn F. In vitro propagation of blue honeysuckle // Horticultural Science. – 2007. – Т. 34. – №. 4. – С. 129.
9. Fira AI., Clapa D., Cristea V., Plopa C. In vitro propagation of *Lonicera kamtschatica* // Agriculture-Science and Practice. – 2014. – №. 1-2. – С. 89-90.
10. Dziedzic E. Propagation of blue honeysuckle (*Lonicera caerulea* var. *kamtschatica* Pojark.) in *in vitro* culture // Journal of fruit and ornamental plant research. – 2008. – Т. 16. – С. 93-100.
11. Krupa-Malkiewicz M., Ochmian I. Propagation of blue honeysuckle (*Lonicera caerulea* L.) in *in vitro* culture // Journal of Basic and Applied Sciences. – 2014. – Т. 10. – С. 164-169.
12. Karhu S. T. Rooting of blue honeysuckle microshoots // Plant cell, tissue and organ culture. – 1997. – Т. 48. – №. 3. – С. 153-159.

13. Hui J. X. et al. Comparative study on different methods for *Lonicera japonica* Thunb. micropropagation and acclimatization // Journal of Medicinal Plants Research. – 2012. – Т. 6. – №. 27. – С. 4389-4393.

14. Debnath S. C. Strategies to propagate *Vaccinium* nuclear stocks for the Canadian berry industry // Canadian Journal of Plant Science. – 2007. – Т. 87. – №. 4. – С. 911-922.

15. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнология на их основе. – М.: ФБК-ПРЕСС, 1999. – 160 с.

16. Молканова О.И., Королева О.В., Стахеева Т.С., Крахмалева И.Л., Мелещук Е.А. Совершенствование технологии клонального микроразмножения ценных плодовых и ягодных культур для производственных условий // Достижения науки и техники АПК. – 2018. – Т. 32. – № 9.

17. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures // Physiologia plantarum. – 1962. – Т. 15. – №. 3. – С. 473-497.

18. Лакин Г. Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1980. – 352 с.

19. Черевченко Т.М., Лаврентьева А.Н., Иванников А.Н. Биотехнология тропических и субтропических растений *in vitro*. – Киев: Наукова думка, 2008. – 560 с.

20. Álvarez-Fernández A., García-Marco S., Lucena J. J. Evaluation of synthetic iron (III)-chelates (EDDHA/Fe³⁺, EDDHMA/Fe³⁺ and the novel EDDHSA/Fe³⁺) to correct iron chlorosis // European Journal of Agronomy. – 2005. – Т. 22. – №. 2. – С. 119-130.

21. Zhang Y. et al. Plant nutrition status, yield and quality of satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) under soil application of Fe-EDDHA and combination with zinc and manganese in calcareous soil // Scientia Horticulturae. – 2014. – Т. 174. – С. 46-53.

22. Королева О.В., Егорова Д.А., Молканова О.И. Влияние источника железа в составе питательной среды на морфогенетический потенциал и укореняемость представителей рода *Syringa* L. // Плодоводство и ягодоводство России. – 2020. – Т. 59. – С. 33-38. <https://doi.org/10.31676/2073-4948-2019-59-33-38>.

Цитирование:

Орлова Н.Д., Раева-Богословская Е.Н., Стахеева Т.С., Молканова О.И. Особенности укоренения перспективных сортов *Lonicera caeruleae* L. в культуре *in vitro* [Электрон. ресурс] // АгроЭкоИнфо: Электронный научно-производственный журнал. – 2021. – №4. – Режим доступа: http://agroecoinfo.ru/STATYI/2021/4/st_420.pdf. DOI: <https://doi.org/10.51419/20214420>.