

УДК 634.7:634.74:581.08:573.6

**ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ *INVITRO* *CHAENOMELES JAPONICA*  
СОРТА ВОСХОД**

**Алексей Сергеевич Ильичев**

аспирант

ilichev.aleksey@rambler.ru

**Светлана Александровна Муратова**

кандидат биологических наук, профессор

smuratova@yandex.ru

Мичуринский государственный аграрный университет

г. Мичуринск, Россия

**Аннотация.** В статье представлены результаты введения в культуру *in vitro* эксплантов айвы японской. Лучшие результаты получены при предварительной обработке эксплантов раствором препарата Pen-Strep (Gibco) (500 мкг/л) в течение 30 минут и стерилизации 0,2% нитратом ртути в течении 45 секунд.

**Ключевые слова:** хеномелес японский, экспланты, стерилизация, *in vitro*.

*Chaenomeles japonica*(Thunb.) Lindl. ex Spach(айва японская) – малораспространенная декоративная и плодовая культура, ароматные плоды которой содержат большое количество полезных веществ. Хеномелес обладает широким диапазоном выносливости и приспособленности к неблагоприятным условиям окружающей среды. Данная культура принадлежит к роду *Chaenomeles*Lindl., семейству *Rosaceae*.

В странах Европы, из-за более мягких климатических условий, наибольшее распространение получили такие виды, как хеномелес прекрасный (*Chaenomeles speciosa*) и хеномелес катаянский (*Chaenomeles cathayensis*), отличающиеся высокой декоративностью и низкой устойчивостью к низким минусовым температурам.

В условиях Тамбовской области наиболее перспективно изучение и культивирование форм, относящихся к виду хеномелеса японского (*Chaenomeles japonica*). Учеными Мичуринского ГАУ доказана целесообразность выращивания данной культуры не только как источника плодов с высокой концентрацией аскорбиновой кислоты, антиоксидантов и других нужных организму веществ, что особенно важно в условиях пандемии для поддержания естественного иммунитета, но и для использования кустарника для озеленения территорий, вследствие длительного и обильного цветения, обеспечивающего высокую декоративность [3, 5, 6, 11, 12].

Хеномелес японский относят к группе среднеукореняемых растений. Наиболее распространенным методом размножения данной культуры является зеленое черенкование, при котором выход готового посадочного материала варьируется от 65 до 80% [10]. Однако данный способ тиражирования растений предполагает наличие соответствующих площадей для питомников и регулярного обновления их маточными растениями, что не совсем удобно для быстрого насыщения рынков саженцами новых сортов, на которые имеется устойчивый спрос. Поэтому перспективным способом размножения этой культуры является метод клонального микроразмножения в условиях *in vitro*. Его можно применять для ускоренного размножения ценных генотипов, в том

числе, нетрадиционных садовых культур, новых перспективных сортов, гибридов на базе даже единичных исходных экземпляров [2, 7, 8].

Введение в стерильную культуру *invitro* является важным и ответственным этапом биотехнологических исследований. На его успешность влияют многочисленные факторы: размер экспланта, местонахождение их на растении, состав питательной среды, химический состав стерилизатора и препаратов предварительной обработки, а также схема стерилизации. В конечном итоге, необходимо максимально освободить эксплант от грибной и бактериальной инфекции и сохранить его жизнеспособность, что является залогом дальнейшего успешного культивирования [1, 4, 9].

Для стерилизации применяют различные химические вещества, токсичные для возбудителей инфекции: хлорид и нитрат ртути, гипохлорит натрия, пероксид водорода, этиловый спирт. Также для предварительной обработки можно использовать антибиотики и антимикотики. Подбор препаратов и время стерилизации проводят по принципу наилучшего соотношения процента освобожденных от инфекции эксплантов к числу жизнеспособных [8].

Цель наших исследований: разработка эффективного протокола введения в стерильную культуру эксплантов *Chaenoméles japonica*.

**Объекты и методы исследований.** Работа проводилась в учебно-исследовательской лаборатории биотехнологии Мичуринского ГАУ. Биологическим объектом исследования являлся перспективный сорт хеномелеса японского Восход.

На этапе введения в стерильную культуру *invitro* использовали питательную среду по прописи Мурасиге-Скуга [13] с концентрацией 6-БАП 0,5 мг/л и ИУК 0,1 мг/л.

В качестве эксплантов были использованы однопочечные участки зеленых черенков с пазушными и верхушечными почками. На первом этапе в нестерильных условиях черенки вымыли с мыльным раствором, затем промывали 5 минут в проточной воде. После этого их нарезали стерильным

скальпелем на участки 4-5 мм с одной почкой и поместили в чашки Петри в раствор препарата Pen-Strep(Gibco) (500 мкг/л). Использовали три варианта предварительного замачивания: 15 минут, 30 минут, 60 минут. Контролем было замачивание в дистиллированной воде.

На втором этапе в условиях ламинар-бокса по истечении времени замачивания экспланты промыли дистиллированной водой и поместили на 45 секунд в 0,2% раствор нитрата ртути ( $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ ). После этого растительный материал трижды промыли дистиллированной автоклавированной водой и поместили в пробирки с питательной средой.

Оценили эффективность стерилизации: на 5–10-е сутки определяли процент стерильных эксплантов, а на 10–14-е сутки – процент жизнеспособных.

Пробирки с эксплантами поместили в культуральную комнату с условиями освещения 2,5-3 тысячи люкс, температурой 22-24°C и фотопериодом 16 часов день, 8 часов ночь.

### **Результаты и их обсуждение.**

Как показали результаты наших исследований, предварительное замачивание в препарате Pen-Strep (Gibco) (500 мкг/л) повышает эффективность стерилизации эксплантов айвы японской по сравнению с контролем. Количество стерильных эксплантов находилось в прямой зависимости от времени предварительного замачивания, чем длительнее время замачивания, тем выше был процент стерильных эксплантов (таблица 1).

Однако длительное замачивание приводит к сильным повреждениям стерилизуемых участков растения, так в третьем варианте было 81,8% стерильных и только 18,2% стерильных жизнеспособных эксплантов.

Наилучшее соотношение стерильных и стерильных жизнеспособных эксплантов получено при предварительном замачивании в препарате Pen-Strep (Gibco) (500 мкг/л) в течении 30 минут, 72,7% и 63,6% соответственно.

Также было установлено, что при использовании эксплантов с верхушечными почками они на 7-10 дней раньше трогаются в рост, по сравнению с эксплантами с пазушными почками.

Введение в культуру *invitroChaenomélesjaponica* сорта Восход предварительным замачиванием

Вариант	1 этап	2 этап	3 этап	Экспланты, %	
	Предварительное замачивание эксплантов в препарате Pen-Strep(Gibco) (500 мкг/л)	Промывание дистиллированной водой	Стерилизация, 45 секунд	стерильные	стерильные жизнеспособные
Контроль	-	H <sub>2</sub> O	Hg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (0,2%)	45,4	28,6
1 вариант	15 минут	H <sub>2</sub> O	Hg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (0,2%)	54,5	36,4
2 вариант	30 минут	H <sub>2</sub> O	Hg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (0,2%)	72,7	63,6
3 вариант	60 минут	H <sub>2</sub> O	Hg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (0,2%)	81,8	18,2

### Выводы

Для введения в культуру *in vitro* лучше использовать экспланты с верхушечной почкой.

Наилучшее соотношение стерильных и стерильных жизнеспособных эксплантов айвы японской сорта Восход (72,7 и 63,6% соответственно) получено при предварительном замачивании их в препарате Pen-Strep (Gibco) в течении 30 минут

Максимальный выход стерильных эксплантов айвы японской сорта Восход (81,1%) получен в результате предобработки эксплантов в течении 1 часа препаратом Pen-Strep (Gibco). Но данный способ обработки оказывает сильный негативный эффект на растительные ткани. Жизнеспособность эксплантов в этом варианте не превышала 18,2%.

### Список литературы:

1. Григорьева Л. В., Гиченкова О. Г., Куликова Н. А. Современные способы размножения ягодных культур // Приоритетные векторы развития

промышленности и сельского хозяйства: материалы I международной научно-практической конференции. Макеевка: Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Донбасская аграрная академия». 2018. С. 40-43.

2. Григорьева Л. В., Куликова Н. А., Гиченкова О. Г. Влияние регуляторов роста при микроклональном размножении смородины черной // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: Наука и высшее профессиональное образование. 2018. № 3(51). С. 50-55.

3. Иванова И. А., Кирина И. Б. Генетические ресурсы флоры Тамбовской области // Плодоводство и ягодоводство России. 2012. Т. 34. № 1. – С. 300-321.

4. Кирина И.Б., Акимова К.С. Технология получения оздоровленного посадочного материала садовых культур // Наука и Образование. 2020. Т. 3. № 2. С. 62.

5. Куклина А.Г., Федулова Ю.А. Лечебно-профилактическое значение продуктов питания с плодами хеномелеса (*Chaenomeles lindl.*) // Сборник научных трудов Государственного Никитского ботанического сада. 2017. Т. 144-2. С. 140-144.

6. Куклина А.Г., Федулова Ю.А. Селекция новых сортов хеномелеса // Плодоводство и ягодоводство России. 2015. Т. 41. С. 200-202.

7. Мацнева О.В., Ташматова Л.В. Клональное микроразмножение земляники – перспективный метод современного питомниководства // Современное садоводство. 2019. № 4. С. 115–116.

8. Особенности введения в культуру *in vitro* плодовых и ягодных растений / С.А. Муратова [и др.] // Плодоводство: материалы международной научной конференции «Современное плодоводство: состояние и перспективы развития», посвященной 80-летию основания Института плодоводства НАН Беларуси. Самохваловичи. 2005. Т.17. Часть 2. С. 298-301.

9. Способы получения безвирусных садовых культур / Р. В. Папихин, С. А. Муратова, М. Л. Дубровский [и др.] // Наука и Образование. 2020. Т. 3. № 1. С. 87.

10. Федулова Ю.А, Бутенко А.И. Вегетативное размножение сортов и форм хеномелеса // Вестник Мичуринского государственного аграрного университета. 2018. № 4. С. 69-71.

11. Федулова Ю.А, Шиковец Т.А. Японская айва – новая плодовая культура в садах России // Современное садоводство. 2016. № 4. С. 27-28.

12. Федулова Ю.А. Хозяйственно-биологическая оценка сортов и форм хеномелеса в условиях центрально-черноземного региона России: диссертация на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук. Мичуринск - наукоград, 2009. 265 с.

13. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plantar.* 1962. Vol. 15. P. 473–497.

**UDC 634.7: 634.74: 581.08: 573.6**

**INTRODUCTION TO THE *IN VITRO* CULTURE OF *CHAENOMÉLES*  
*JAPONICA* VARIETY SUNRISE**

**Alexey S. Ilyichev**

postgraduate student

ilichev.alekseyy@rambler.ru

**Svetlana A. Muratova**

Candidate of Biological Sciences, Professor

smuratova@yandex

Michurinsky State Agrarian University

Michurinsk, Russia

**Annotation.** The article presents the results of introducing explants *Chaenoméles japonica* into in vitro culture. The best results were obtained with preliminary treatment of explants with a solution of Pen-Strep (Gibco) (500 µg/L) for 30 minutes and sterilization with 0.2% mercury nitrate for 45 seconds.

**Key words:** *Chaenoméles japonica*, explants, sterilization, *in vitro*.

Статья поступила в редакцию 19.11.2021; одобрена после рецензирования 02.12.2021; принята к публикации 21.12.2021.

The article was submitted 19.11.2021; approved after reviewing 02.12.2021; accepted for publication 21.12.2021.