

Корнеобразование *in vitro* и адаптация *ex vitro* княженики арктической при клональном микроразмножении

С.С. Макаров, аспирант, Центрально-Европейская ЛОС – филиал ФБУ ВНИИЛМ; **И.Б. Кузнецова**, к.с.-х.н., ФГБОУ ВО Костромская ГСХА

Княженика арктическая (*Rubus arcticus* L.) – многолетнее травянистое растение из семейства розоцветные. По-другому её называют арктическая малина, поленика, мамура. Также существуют и другие местные названия этого ягодного растения. В плодах княженики содержится целый набор

важных в биологическом отношении веществ: сахар (до 7%), органические кислоты, ароматические вещества, дубильные и пектиновые вещества (0,4–0,6%), витамин С (до 200 мг/100 г), полифенолы. Особенно богата княженика эллагитанином, который препятствует развитию вредных кишечных бактерий. На рост полезных бактерий эллагитанин влияния не оказывает. Цвет плодов княженики обусловлен наличием антоцианов, обладающих антиоксидантным действием.

Плоды княженики могут употребляться в пищу в свежем виде или использоваться в приготовлении варенья, морсов, компотов, джемов, наливок и ликёров. Плоды княженики замораживают, сушат и заваривают с ними чай (также ароматным вкусом обладает чай, приготовленный из листьев княженики). Ягода находит применение и в пищевой промышленности, например в Финляндии — в производстве дорогих ликёров [1–4]. В народной медицине настой плодов используется в качестве противочинготного, жаропонижающего средства, а также при почечнокаменной болезни, подагре, гастритах, колитах, анемии, острых респираторных заболеваниях, бронхиальной астме; наружно — при гингивитах и стоматитах. Свежие листья прикладывают к ранам как ранозаживляющее средство. Настойка листьев применяется при ревматизме. Растения княженики обладают высокой декоративностью, красиво цветут и плодоносят, поэтому она используется в интерьерах сада, при высаживании на бордюрах, клумбах, дорожках и рабатках [5].

Постепенное движение рынка к наиболее необычным, полезным и вкусным продуктам питания делает княженику наиболее привлекательной ягодой среди других. В то же время она редко встречается на прилавках магазинов, что объясняется её дороговизной. Постепенно она приходит в сады садоводов-любителей из леса, однако существует сортовая княженика, ягоды которой более крупные и ароматные [5].

Размножают сортовую княженику вегетативно — делением куста, стеблевыми и корневыми черенками, но наиболее эффективен метод клонального микроразмножения. У него есть ряд преимуществ: возможность получения оздоровлённого материала от поражённых вирусными, бактериальными и грибковыми заболеваниями растений; получение в большом количестве вегетативного потомства трудно размножаемых в обычных условиях видов растений; работа в лаборатории в течение круглого года и планирование выпуска растений к определённому сроку; возможность хранения в течение длительного времени пробирочных растений при пониженных температурах, что позволяет создать банк ценных форм растений [6, 7].

Большое значение при клональном микроразмножении имеет применение регуляторов роста, которые, управляя процессом органогенеза, позволяют быстрее получить высококачественный посадочный материал [8].

Цель исследования — изучить влияние росторегулирующих веществ на органогенез растений княженики *in vitro*.

Материал и методы исследования. Исследование проводили в 2017–2018 гг. в лаборатории клонального микроразмножения Центрально-Европейской лесной опытной станции ВНИИЛМ, а также в лаборатории биотехнологии Костромской ГСХА.

Процесс клонального микроразмножения состоит из четырёх этапов: введение в культуру *in vitro* (выбор растения-донора, изолирование эксплантов и получение хорошо растущей стерильной культуры); собственно микроразмножение (получение максимального количества меристематических клонов за счёт добавки цитокининов); укоренение размноженных побегов благодаря добавке ауксинов; адаптация растений *in vivo* в условиях теплицы и подготовка их к реализации или посадке в поле [9 – 11].

На этапе укоренения размноженных побегов *in vitro* мы изучали влияние различных концентраций ауксинов ИМК (0,5 и 1 мг/л) и ИУК (0,5 и 1 мг/л), а также добавления Экогеля на процесс корнеобразования пробирочных растений княженики (рис. 1).



Рис. 1 – Корнеобразование *in vitro* растений княженики арктической

Результаты исследования. Выявлено, что при добавлении ИМК в концентрации 1,0 мг/л формировалось большее количество корней, чем при ИМК в концентрации 0,5 мг/л или в вариантах с ИУК, оно составляло в среднем 4,8 шт. В зависимости от наличия в питательной среде Экогеля (0,5 мг/л) различия были незначительными — в среднем 4,2 и 4,4 шт.

При взаимодействии факторов наибольшее количество корней княженики образовывалось при добавлении в питательную среду ИМК в концентрации 1,0 мг/л и Экогеля, 0,5 мг/л, оно составляло 5,0 шт. (табл. 1).

Средняя длина корней княженики в вариантах с ИМК (1,1 и 1,2 см) была значительно больше, чем с ИУК (0,9 см). Наличие в питательной среде Экогеля способствовало существенному увеличению средней длины корней. Максимальная длина корней также была в варианте с ИМК, 1,0 мг/л + Экогель, 0,5 мг/л и составляла 1,3 см (табл. 2).

1. Влияние концентрации различных ауксинов и добавки Экогеля на количество корней княженики (2018 г.)

Концентрация ауксина	Количество корней, шт.		
	Экогель 0,5 мг/л	без Экогеля	среднее
ИМК, 0,5 мг/л	4,1	4,0	4,1
ИМК, 1,0 мг/л	5,0	4,5	4,8
ИУК, 0,5 мг/л	4,5	4,1	4,3
ИУК, 1,0 мг/л	4,0	4,4	4,2
Среднее	4,4	4,2	–
НСР ₀₅ ф. А=0,36, ф. В=0,51, общ.=0,72			

2. Влияние концентрации различных ауксинов и добавки Экогеля на среднюю длину корней княженики (2017 г.)

Концентрация ауксина	Средняя длина корней, см		
	Экогель 0,5 мг/л	без Экогеля	среднее
ИМК, 0,5 мг/л	1,2	0,9	1,1
ИМК, 1,0 мг/л	1,3	1,0	1,2
ИУК, 0,5 мг/л	0,9	0,9	0,9
ИУК, 1,0 мг/л	0,9	0,8	0,9
Среднее	1,1	0,9	–
НСР ₀₅ ф.А=0,13, ф. В=0,18, общ.=0,26			

Суммарная длина корней княженики также была значительно больше в вариантах с ИМК: при концентрации 1,0 мг/л она достигала в среднем 5,4 см, при 0,5 мг/л – 4,3 см, а с ИУК – 3,4 и 3,8 см соответственно (табл. 3).

3. Влияние концентрации различных ауксинов и добавки Экогеля на суммарную длину корней княженики (2017 г.)

Концентрация ауксина	Суммарная длина корней, см		
	Экогель 0,5 мг/л	без Экогеля	среднее
ИМК, 0,5 мг/л	4,9	3,6	4,3
ИМК, 1,0 мг/л	6,3	4,4	5,4
ИУК, 0,5 мг/л	4,0	3,5	3,8
ИУК, 1,0 мг/л	3,5	3,3	3,4
Среднее	4,7	3,7	–
НСР ₀₅ ф. А=0,69, ф. В=0,97, общ.=1,37			

При добавлении в питательную среду Экогеля в концентрации 0,5 мг/л суммарная длина корней княженики была значительно больше. Наибольшая суммарная длина корней также была в варианте с ИМК, 1,0 мг/л + Экогель, 0,5 мг/л, и составляла 6,3 см.

Растения, укоренённые *in vitro*, мы адаптировали к условиям *ex vitro* (рис. 2). При этом высчитывали процент приживаемости растений-регенерантов княженики арктической от количества высаженных.

Приживаемость княженики арктической была намного выше в кислом торфе (95%), чем в обычной дёрновой земле и кокосовом субстрате (табл. 4).



Рис. 2 – Растения княженики арктической, адаптированные к условиям *ex vitro*

4. Приживаемость адаптируемых растений-регенерантов княженики арктической в зависимости от состава субстрата

Состав субстрата	Приживаемость, %
Кислый торф (верховой)	95
Дерновая земля	70
Кокосовый субстрат	76

Растения, адаптированные к нестерильным условиям, были высажены на опытном поле Центрально-Европейской лесной опытной станции ВНИИЛМ (рис. 3). Приживаемость при пересадке в открытый грунт составляла 95%.



Рис. 3 – Адаптированные к нестерильным условиям растения-регенеранты княженики арктической в условиях опытного поля Центрально-Европейской ЛОС ВНИИЛМ

Выводы.

1. При одинаковых концентрациях ауксин ИМК более эффективно стимулировал корнеобразование княженики арктической в условиях *in vitro*, чем ауксин ИУК.

2. Экогель в концентрации 0,5 мг/л способствовал увеличению длины корней княженики на этапе укоренения растений *in vitro*.

3. На этапе адаптации клонируемых растений княженики арктической к нестерильным условиям приживаемость была наибольшей на кислом торфе и составляла 95%.

Литература

1. Karp K., Starast M., Varnik R. The Arctic Bramble (*Rubus arcticus* L.) the Most Profitable Wild Berry in Estonia // Baltic Forestry. 1997. Т. 3. No 2. Pp. 47–52.
2. Ragnar M., Rytkonen P., Hedh J. Åkerbär // Black Island Books. 2017. 169 p.
3. Курлович Л.Е. Перспективы использования пищевых и лекарственных лесных ресурсов Российской Федерации // Состояние лесов Дальнего Востока и актуальные проблемы лесоуправления: матер. Всерос. конф. с междунар. участ. (г. Хабаровск, 6–8 октября 2009 г.). Хабаровск: ДальНИИЛХ, 2009. С. 138–140.
4. Тяк Г.В., Алтухова С.А. Выращивание княженики арктической на выработанном тофрянике // Интродукция нетрадиционных и редких растений: матер. IX Междунар. науч.-методич. конф. (г. Мичуринск, 21–25 июня 2010 г.). 2010. Т. 1. С. 326–332.
5. Тяк Г.В. Влияние минеральных удобрений на рост и плодоношение княженики арктической // Современные сорта и технологии для интенсивных садов: матер. Междунар. науч.-практич. конф., посвящ. 275-летию А.Т. Болотова (г. Орёл, 15–18 июля 2013 г.). Орёл: ВНИИСПК, 2013. С. 251–253.
6. Макаров С.С. Вегетативное размножение княженики арктической (*Rubus arcticus* L.) *in vitro* // Актуальные проблемы ботаники и охраны природы: сб. науч. ст. Междунар. науч.-практич. конф., посвящ. 150-летию со дня рождения проф. Г.Ф. Морозова (г. Симферополь, 28–30 ноября 2017 г.). Симферополь: ИТ «АРИАЛ», 2017. С. 72–76.
7. Тяк Г.В. Размножение и культивирование княженики арктической (*Rubus arcticus* L.) / Тяк Г.В., Макаров С.С., Калашникова Е.А. [и др.] // Плодоводство и ягодоводство России. 2018. Т. 52. С. 95–99.
8. Макаров С.С., Кузнецова И.Б., Смирнов В.С. Влияние регуляторов роста на органогенез растений при клональном микроразмножении княженики арктической (*Rubus arcticus* L.) // Лесохозяйственная информация. 2017. № 2 (4). С. 103–108. [Электронный ресурс]. URL://: <http://lhi.vniilm.ru/>
9. Катаева Н.В., Бутенко Р.Г. Клональное микроразмножение растений. М.: Наука, 1983. 96 с.
10. Сельскохозяйственная биотехнология: учебник / В.С. Шевелуха [и др.]. М.: Высшая школа, 1998. 416 с.
11. Соловых Н.В. Использование биотехнологических методов в работе с ягодными культурами: методич. рекомендации. Мичуринск: Изд-во Мичуринского ГАУ, 2009. 47 с.