

ИНТРОДУКЦИЯ РАСТЕНИЙ

УДК 581.144:581.6
doi: 10.17581/bbgi1814

РАЗМНОЖЕНИЕ *ARMENIACA MANDSHURICA* (ROSACEAE) В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

© Э.В. Некрасов

Амурский филиал Ботанического сада-института Дальневосточного отделения
Российской академии наук, г. Благовещенск
e-mail: ed_nekrasov@mail.ru

Аннотация: *Armeniaca mandshurica* является редким видом, представляющим интерес для озеленения и селекции. Исследовали размножение *A. mandshurica* в культуре *in vitro*. Установлено, что в качестве эксплантов наиболее подходят распускающиеся почки и зеленые растущие побеги. Для стерилизации зеленых побегов достаточно обработка водным раствором гипохлорита натрия в течение 10 мин. Стерильные экспланты с одревесневших побегов получали после обработки 70% этанолом (2 мин) и 0,2% сулемы (10 мин). Для развития побегов использовали питательную среду Кворина-Лепуавра (QL), содержащую 6-бензиламинопурин (БАП, 0,5–3 мг/л), с повышенной концентрацией хелата железа. Размножение побегов достигали на модифицированной среде QL, содержащей 3% сахарозы, 0,5 мг/л БАП и 0,04 мг/л 3-индолилмасляной кислоты (ИМК). Образование корней в условиях *in vitro* наблюдали в присутствии ИМК (0,6 мг/л), но процесс сопровождался увяданием побегов. Показана возможность укоренения побегов абрикоса *ex vitro* после предварительного выдерживания побегов 1–3 сут. в растворе ИМК (2 мг/л) и/или α -нафтилуксусной кислоты (0,5 мг/л) и посадки в грунт (смесь торф – вермикулит, 2:1).

Ключевые слова: *Armeniaca mandshurica*, размножение *in vitro*, регуляторы роста.

дения зимостойких сортов (Епифанова, 2004). Одним из трех центров формирования сортимента абрикоса на российском Дальнем Востоке является г. Благовещенск, где *A. mandshurica* был впервые интродуцирован садоводом И.А. Ефремовым в начале XX века с использованием семян, полученных из Северной Маньчжурии (Казьмин, 1973). Выращенные из этих семян сеянцы послужили основой для создания зимостойких сортов, выведенных И.В. Мичуриным (Казьмин, 1973). Популяция *A. mandshurica* сохранилась на территории Благовещенского плодпитомника, где этот вид культивировали с конца 60-х годов прошлого века. Эта популяция представляет интерес для поиска хозяйственно ценных форм, однако ей угрожает уничтожение из-за весенних пожаров и планируемой жилой застройки территории. Одним из способов сохранения ценных форм может служить введение растений в культуру *in vitro*.

Размножению сортов абрикоса в условиях *in vitro* уделялось достаточно внимания (Крамаренко, 1999; Balla, Vertesy, 2001; Koubouris, Vasilakakis, 2006; Скворцов, Крамаренко, 2007; Perez-Tornero, Burgos, 2007; Yildirim et al., 2011; Soliman, 2012). Однако не все авторы поддержали этот способ размножения абрикоса. Показано, что культивирование абрикоса *in vitro* приводит к физиологическому дисбалансу растений и их гибели в открытом грунте (Крамаренко, 1999; Скворцов, Крамаренко, 2007). В связи с этим в качестве единственного способа вегетативного размножения абрикоса была рекомендована прививка (Скворцов, Крамаренко, 2007). Другими авторами было установлено, что растения, полученные в условиях *in vitro*, оказались более жизнеспособными и урожайными по сравнению с привитыми растениями (Perez-Tornero, Burgos, 2007). По-видимому, на успех размножения абри-

Введение

Абрикос маньчжурский (*Armeniaca mandshurica* (Maxim.) Skvortsov) – редкий вид, естественный ареал которого включает южную часть Приморского края, Северный Китай, северную часть полуострова Корея (Красная книга, 2008). Этот вид был интродуцирован в Хабаровском крае, Амурской области и в Сибири (Епифанова, 2004). *Armeniaca mandshurica* обладает декоративными качествами и используется как исходный материал для выведе-

коса в условиях *in vitro* влияет генотип растения-донора (Kramarenko, 1999; Perez-Tornero, Burgos, 2007). Литературные данные о размножении *A. mandshurica* в условиях *in vitro* нам не известны. Целью работы было исследование особенностей размножения *A. mandshurica* в культуре *in vitro*.

Материал и методы

Объектом исследования был абрикос маньчжурский (*Armeniaca mandshurica* (Maxim.) Skvortsov), произрастающий на территории ООО «Благовещенский плодпитомник» (пос. Плодпитомник, г. Благовещенск, Амурская область). В работе использовали растения, находящиеся в генеративном возрастном состоянии (2013–2015 гг.). Использовали зеленые растущие побеги в весенне-летний период и однолетние одревесневшие побеги в осенне-зимний период и ранней весной. Введение абрикоса в культуру *in vitro* проводили в день сбора побегов.

Части побегов с почками промывали в 0,5%-ном растворе универсального синтетического моющего средства на магнитной мешалке в течение 30 мин. с последующей отмыжкой водопроводной водой не менее 5 раз (Муратова и др., 2008). В зависимости от возраста побегов использовали различные стерилизующие агенты: 1) 0,2 %-ный раствор сулемы с добавлением детергента Тритон X-100 (1 капля на 50 мл раствора) в течение 1, 5 или 10 мин (Муратова и др., 2008); 2) водный раствор гипохлорита натрия (бытовой отбеливатель «Белизна»: стерильная вода – 1:3, по объему) в течение 10 мин (Муратова и др., 2008); 3) 70 %-ный этанол в течение 2 или 5 мин. (Perez-Tornero, Burgos, 2007); 4) 70 %-ный 2-пропанол в течение 5 мин.; 5) 0,2 %-ный перманганат калия в течение 15 мин. После стерилизации побеги промывали стерильной дистиллированной водой 4 раза по 2–3 мин.

В качестве эксплантов использовали фрагменты одревесневших побегов с почками длиной 1–1,5 см, покоящиеся почки без кроющих чешуй, распускающиеся почки без кроющих чешуй отдельно или с фрагментом годичного стебля, верхушечные части и фрагменты с узлами растущих и прекративших рост зеленых побегов (табл. 1). Экспланты высаживали на агаризованные питательные среды MS (Murashige, Skoog, 1962) и QL (Quoirin, Lepoivre, 1977) в модификациях согласно (Perez-Tornero, Burgos, 2007). Углеводы, макро- и микроэлементы, витамины добавляли в среду в зависимости от этапа размножения (табл. 2). На этапе введения в культуру использовали регуляторы роста: 6-бензиламинопурин (БАП),

зеатин или кинетин; на этапе размножения побегов: БАП – 0,5 мг/л и 3-индолилмасляную кислоту (ИМК) – 0,04 мг/л. Растения выращивали при комнатной температуре и 16-часовом фотопериоде.

Укоренение побегов *in vitro* проводили на питательной среде с половинной концентрацией макроэлементов среды QL и уменьшенным в 1,5 раза содержанием сахарозы (табл. 2); в качестве регуляторов роста использовали ИМК, α -нафтилуксусную кислоту (НУК), флороглюцин и БАП. Верхушки молодых побегов перед укоренением окунали в раствор БАП (5,0–7,5 мг/л) согласно рекомендациям (Perez-Tornero, Burgos, 2007). Укоренение побегов проводили при 16 часовом фотопериоде, либо выдерживали в течение 1–7 сут. в темноте. Укорененные растения высаживали в субстрат (смесь торфа и вермикулита – 2:1, по объему) и помещали в полиэтиленовые пакеты или закрытые контейнеры с относительной влажностью воздуха около 100 %. Пакеты постепенно открывали, достигая комнатных условий. Для укоренения *ex vitro* основания побегов погружали в раствор регуляторов роста (2 мг/л ИМК и/или 0,5 мг/л НУК) на 1–3 сут., после чего высаживали в смесь торфа и вермикулита (2:1). Контейнеры с растениями помещали в полиэтиленовые пакеты, как описано выше.

Математическую обработку результатов выполняли с использованием программы Microsoft Office Excel 2003. В таблицах представлены средние арифметические значения и их стандартные ошибки. Для определения уровня статистической значимости различий использовали непарный критерий *t* Стьюдента. Принимали во внимание уровни значимости (*P*) 0,05; 0,01; 0,001.

Результаты и обсуждение

Условия стерилизации эксплантов

Ткани однолетних побегов *A. mandshurica* содержат микромицеты (Шумилова, Некрасов, 2016). Для стерилизации побегов использовали растворы сулемы или гипохлорита натрия согласно рекомендациям (Муратова и др., 2008), а также другие стерилизующие агенты (табл. 1).

Эффективность стерилизации зависела от типа экспланта, присутствия кроющих чешуй и фрагментов стебля (табл. 1). Для одревесневших побегов обработка раствором сулемы в течение 5 мин. оказалась недостаточной (табл. 1, сбор 04.10.13). Поэтому в последующем такие побеги дополнительно обрабатывали 70 %-ным этанолом (2 мин), а выдерживание в растворе сулемы увеличили до 10 мин. Кратковременная обработка эксплантов 70 % этанолом позволяет удалить

Таблица 1. Инфицированность эксплантов *A. mandshurica* и рост побегов *in vitro* в зависимости от фенофазы, типа экспланта и способа стерилизации

Фенофаза ¹	Дата сбора	Способ стерилизации ² (время, мин.)	Тип экспланта	Число эксплантов, шт.	Инфицированные экспланты, %	Рост побегов, %
Бутилизация (набухание вегетативных почек)	30.04.15	Эт (2) + СТ (10)	Почки без кроющих чешуй	40	20	50
	25.04.14	СТ (10)		40	18	53
Рост побегов	23.05.14	СТ (5)	Фрагменты зеленых побегов с узлами	45	40	27
		СТ (1)		10	30	40
		М (15)		10	100	40
	30.05.14	Эт (5)		10	60	50
		Пр (5)		10	70	30
		БВ (10)		10	40	80
Окончание роста побегов в длину	28.05.13	СТ (1)		12	17	0
	08.06.15	БВ (10)	Верхушки зеленых побегов	25	4	0
Опробковение побегов у основания	28.08.15	БВ (10)	Почки с фрагментами стебля	26	96	+ ³
	Листопад (одревесневшие побеги)	04.10.13	СТ (5)	Фрагменты побегов с почками	160	100
Покой		08.11.13	Эт (2) + СТ (10)	Почки без кроющих чешуй	21	0
	10.01.14	55			9	78
	24.02.15	21		71	33	
	25.03.14	Почки без кроющих чешуй		20	15	50

Примечания: ¹Фенофазы согласно (Бульгин, 1991). ²БВ – отбеливатель «Белизна» – вода (1:3, по объему); М – 0,2% перманганат калия; Пр – 70% 2-пропанол; СТ – 0,2% сулема + Тритон X-100; Эт – 70% этанол. ³Наблюдали рост побегов, подсчет был невозможен из-за инфекции.

пузырьки воздуха и растворить эпикутикулярный слой (Pierik, 1997). Удаление кроющих чешуй уменьшало инфицированность покоящихся и набухших почек; выход жизнеспособных эксплантов достигал 78% (табл. 1). Использование в качестве эксплантов почек с фрагментом стебля снижало выход стерильного материала (табл. 1, сбор 24.02.15). При обработке раствором сулемы растущих побегов выход жизнеспособных эксплантов снижался до 27 и 40 % при 5 и 1 мин., соответственно (табл. 1, сборы 23.05.14 и 30.05.14). Зеленые побеги достаточно было обработать раствором «Белизны» в течение 10 мин. для получения большого числа стерильных эксплантов (60 % в случае растущих побегов и 96 % у побегов, прекративших рост). Такой способ стерилизации обеспечивал 80 % жизнеспособности эксплантов (табл. 1, сбор 30.05.14). Раствор «Белизны» был неэффективным при работе с одревесневшими побегами (табл. 1, сбор 28.08.15). Другие стерилизующие агенты оказались менее эффективными (спирты) или неэффективными (перманганат калия).

Введение в культуру *in vitro* и инициация роста побегов

Эффективность этого этапа зависела от стадии развития нативных побегов, от которых были получены экспланты. Почки в состоянии зимнего покоя, накануне и в начале весеннего роста, а также формирующиеся почки растущих в длину побегов были способны к росту при культивировании *in vitro* (табл. 1). Однако как только нативные побеги прекращали рост, нам не удалось иницировать развитие побегов из почек (табл. 1, 28.05.13 и 08.06.15). Почки, взятые с одревесневающих побегов, приобретали способность к росту в конце августа

Таблица 2. Состав сред, использованных для размножения *A. mandshurica* в культуре *in vitro*¹

Компоненты	Вещество	Введение в культуру <i>in vitro</i>	Размножение побегов	Укоренение побегов
Макроэлементы, мг/л	NH ₄ NO ₃	400	400	200
	KNO ₃	1800	1800	900
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	360	360	180
	KH ₂ PO ₄	270	270	135
	Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	1200	1200	600
Микроэлементы, мг/л	MnSO ₄ ·H ₂ O	0,76	33,5	33,5
	H ₃ BO ₃	6,2	4,8	4,8
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8,6	17,0	17,0
	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,25	0,39	0,39
	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,025	0,25	0,25
	CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,025	–	–
	KI	0,08	–	–
Хелат железа, мг/л	FeSO ₄ ·7H ₂ O	41,7 ²	33,8	33,8
	Na ₂ ЭДТА·2H ₂ O	56,0 ²	45,4	45,4
Углеводы, г/л	Сахароза	–	30	20
	Сорбитол	20	–	–
	Агар	6	6	6
Витамины и аминокислоты, мг/л	Мезо-инозит	50	100	100
	Глицин	–	2	2
	Тиамин	1	2	2
	Никотиновая кислота	1	1	1
	Биотин	0,1	–	–
	Фолиевая кислота	0,01	–	–
	<i>p</i> -Аминобензойная кислота	1	–	–
	Рибофлавин	0,1	–	–
	Пантотенат кальция	0,5	–	–
Регуляторы роста, мг/л	6-бензиламинопури́н (БАП)	3	0,5	–
	3-индолилмасляная кислота (ИМК)	–	0,04	0,61

Примечания: ¹Варианты питательной среды QL согласно (Perez-Tornero, Burgos, 2007). ²Концентрация хелата железа увеличена в 1,5 раза. Прочерк означает отсутствие вещества в среде.

(табл. 1, 28.08.15). Почки в состоянии покоя имели высокую способность к росту (50–78 %, табл. 1). Распускающиеся почки и растущие побеги *A. mandshurica* оказались более предпочтительными для введения в культуру *in vitro*. Показано (Скворцов, Крамаренко, 2007), что фенологическое состояние растений необходимо учитывать при получении эксплантов у сортового абрикоса. Для этой цели использовали молодые побеги длиной до 3 см, а введение в культуру *in vitro* верхушек с более длинных побегов было безуспешным. Наши наблюдения показали, что решающее значение имеет использование растущих побегов независимо от их длины. При этом верхушечные почки имели небольшое преимущество над боковыми почками. При использовании набухающих почек, взятых с однолетних одревесневших побегов, проросло 55–75 % верхушечных почек и 42–45 % боковых почек (табл. 3). В случае растущих в длину

зеленых побегов верхушечные почки начинали рост в культуре *in vitro* чаще, чем боковые почки (52–53 % против 28–44 %).

Состав питательной среды также имеет большое значение при введении *A. mandshurica* в культуру *in vitro*. Среда MS рассматривается как универсальная для большинства видов плодовых и ягодных растений (Муратова и др., 2008), в том числе абрикоса (Kramarenko, 1999; Yildirim et al., 2011). В нашем эксперименте на среде MS наблюдали прорастание почек, однако развитие побегов не происходило. Аналогичные наблюдения приведены в работе (Soliman, 2012). Более подходящей для введения в культуру *in vitro* и инициации роста побегов оказалась среда QL (табл. 2), как показано в работе (Perez-Tornero, Burgos, 2007). Для выживания почек и развития побегов подходили среда QL и ее модифицированный вариант (табл. 3).

Согласно литературным данным для инициа-

Таблица 3. Введение в культуру *in vitro* набухших почек *A. mandshurica* на двух вариантах питательных сред QL

Питательные среды	QL для введения в культуру <i>in vitro</i> и инициации роста меристем ¹		QL для размножения побегов ¹	
	Верхушечные почки	Боковые почки	Верхушечные почки	Боковые почки
Регуляторы роста	БАП, 3 мг/л		БАП, 0,5 мг/л + ИМК, 0,04 мг/л	
Тип эксплантов	Верхушечные почки	Боковые почки	Верхушечные почки	Боковые почки
Количество эксплантов	9	11	8	12
Инициация роста, %	55	45	75	42
Развитие конгломератов побегов, %	33	18	25	25

Примечание: ¹ Варианты питательной среды QL и сокращения для регуляторов роста показаны в табл. 2.

ции роста побегов сортов абрикоса используют БАП (Kramarenko, 1999; Perez-Tornero, Burgos, 2007; Yildirim et al., 2011) или зеатин (Soliman, 2012), иногда в сочетании с 3-индолилуксусной кислотой (ИУК) (Kramarenko, 1999; Soliman, 2012). В вариантах с питательной средой QL для инициации роста почек в качестве регулятора роста использовали БАП в концентрации 3 мг/л (табл. 3). В результате из верхушечных почек были инициированы укороченные побеги. Пониженное содержание БАП (0,5 мг/л) в сочетании с ИМК (0,04 мг/л) также способствовало успешному росту побегов *A. mandshurica*.

Повышенное содержание железа в питательной среде может иметь положительный эффект на развитие побегов *in vitro* (Муратова и др., 2008). Увеличение концентрации хелата железа не оказывало существенного влияния на инициацию роста побегов при использовании в качестве эксплантов набухших почек, однако его положительное влияние было отмечено при введении в культуру *in vitro* эксплантов, полученных с растущих побегов (рис. 1). В последующих экспериментах мы использовали концентрацию хелата железа в 1,5 раза выше, чем рекомендовано в работе (Perez-Tornero, Burgos, 2007).

Размножение побегов

Через месяц после переноса конгломератов побегов на среду QL для размножения (табл. 2) получали от 1 до 10 удлиненных побегов, пригодных для укоренения. В течение двух пассажей (84 сут.) с 11 почек было получено 72 побега ($6,5 \pm 1,7$ шт. на эксплант) для дальнейшего укоренения. Культура *in vitro* побегов, полученная от одного из эксплантов, поддерживается более 3 лет. В летние месяцы при повышенной температуре окружающей среды побеги подвержены витрификации и некрозу. Для предотвращения витрификации побегов абрикоса было рекомендовано охлаждать колбы с растениями (Perez-Tornero, Burgos, 2007), а также уменьшать содержание БАП в среде (Скворцов,

Крамаренко, 2007). В нашем эксперименте при понижении температуры формировались побеги с нормальными листьями (рис. 2).

Укоренение побегов и адаптация к почвенным условиям

Для укоренения *in vitro* плодовых культур используют обедненную по минеральному составу и углеводам питательную среду аналогичную той, которая была использована для размножения побегов, а также ауксины (ИМК, ИУК, НУК) и фенольные соединения (флороглюцин, фенолкарбоновые кислоты); растения инкубируют в темноте в течение нескольких суток (Муратова и др., 2008).

Для укоренения *A. mandshurica* использовали питательную среду QL для размножения побегов с уменьшенным содержанием макроэлементов и сахарозы (табл. 2). Ауксин ИМК в концентрации 0,61 мг/л стимулировал образование корней у 65–100 % побегов (табл. 4). При этом наблюдали образование каллуса у 48–90 % укореняемых побегов. Однако основной проблемой на этом этапе размножения *in*

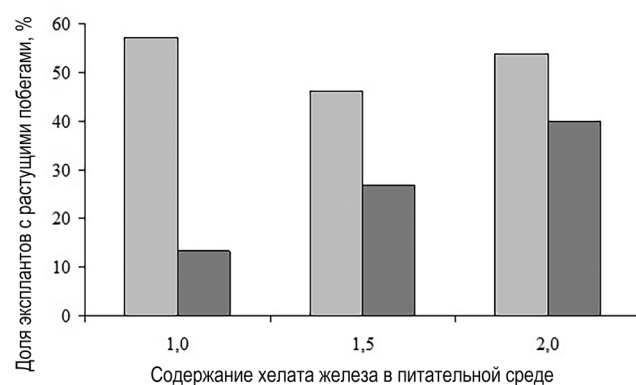


Рис. 1. Влияние концентрации хелата железа на развитие побегов *A. mandshurica* при введении в культуру *in vitro* набухших почек (светло-серые столбцы, $n=13-14$ для каждого варианта) и растущих побегов (темно-серые столбцы, $n=15$ для каждого варианта). Ось абсцисс – содержание хелата железа в питательной среде: 1,0 – 100 мкМ согласно (Perez-Tornero, Burgos, 2007), 1,5 Fe и 2,0 Fe – в 1,5 и 2 раза выше, соответственно. Ось ординат – доля эксплантов с растущими побегами, %.

Таблица 4. Влияние регуляторов роста (в мг/л), флороглюцина и темновой фазы на укоренение побегов *A. mandshurica*

Вариант обработки	Число побегов		Длина побегов		Побеги с корнями		Появление корней		Число побегов		Длина побегов		Начало увядания побегов		Высажено в субстрат, шт.
	шт.	шт.	см.	шт.	шт.	шт.	сут.	шт.	шт.	шт.	шт.	см.	шт.	сут.	
Обработка верхушек побегов раствором БАП, 5															
ИМК, 0,2	18	3,3 ± 1,3	2 (11)	34 ± 11	1,5 ± 0,5	2,2 ± 2,1	7 (39)	42 ± 9	1						
ИМК, 0,4	19	3,5 ± 0,9	3 (16)	30 ± 7	1,3 ± 0,3	3,0 ± 1,0	10 (53)	27 ± 7	3						
Без обработки верхушек побегов раствором БАП															
ИМК, 0,61	10	3,4 ± 0,4	10 (100)	12 ± 2	2,5 ± 0,4	1,9 ± 0,3	9 (90)	20 ± 6	3						
ИМК, 0,61 + БАП 0,068	10	2,8 ± 0,4	4 (40)	17 ± 3	1,8 ± 0,8	2,8 ± 0,4	10 (100)	25 ± 8	1						
ИМК, 0,61 + БАП 0,23	10	3,5 ± 0,3	0	0	0	0	10 (100)	14 ± 3	0						
ИМК, 0,61 + БАП 0,68	11	2,8 ± 0,3	0	0	0	0	11 (100)	23 ± 6	0						
ИМК, 0,04	9	3,4 ± 0,5	3 (33)	13 ± 1	1,3 ± 0,3	2,8 ± 1,3	2 (22)	22 ± 7	0						
ИМК, 0,04 + БАП 0,005	10	3,4 ± 0,4	2 (20)	40 ± 26	2,0 ± 1,0	2,0 ± 1,1	1 (10)	26 ± 9	0						
ИМК, 0,04 + БАП 0,023	9	4,0 ± 0,5	1 (11)	28	1	2,5	1 (11)	19 ± 3	1						
ИМК, 0,04 + БАП 0,045	10	3,3 ± 0,6	0	0	0	0	5 (50)	24 ± 4	0						
ИМК 0,61	8	3,0 ± 0,5	7 (88)	22 ± 4	1,8 ± 0,5	1,4 ± 0,4	7 (88)	19 ± 3	0						
ИМК 0,28	7	3,5 ± 0,4	2 (29)	23 ± 2	1,5 ± 0,5	1,9 ± 1,3	4 (57)	18 ± 3	0						
ИМК 0,61 + ИМК 0,28	9	3,2 ± 0,4	8 (89)	15 ± 2	2,0 ± 0,5	1,9 ± 0,4	9 (100)	16 ± 3	2						
ИМК 0,61 + флороглюцин:															
0	23	3,2 ± 0,2	15 (65)	20 ± 2	2,2 ± 0,2	1,7 ± 0,4	11 (48)	17 ± 2	4						
20	20	3,0 ± 0,3	16 (80)	30 ± 4 ^{P<0,05}	2,3 ± 0,4	1,2 ± 0,2	6 (30)	15 ± 1	2						
40	22	2,9 ± 0,2	13 (59)	33 ± 5 ^{P<0,05}	1,8 ± 0,3	1,1 ± 0,1	0	15 ± 1	2						
80	22	2,7 ± 0,2	17 (77)	29 ± 3 ^{P<0,05}	2,2 ± 0,2	1,4 ± 0,1	5 (23)	15 ± 1	3						
160	23	2,6 ± 0,2	14 (61)	23 ± 2	2,6 ± 0,3	1,1 ± 0,1	7 (30)	15 ± 1	2						
ИМК 0,61 ± флороглюцин:															
Без выдерживания в темноте	8	2,5 ± 0,3	6 (75)	26 ± 5	2,5 ± 0,3	1,7 ± 0,3	2 (25)	16 ± 2	2						
Темнота 1 сут.	7	2,5 ± 0,3	3 (43)	30 ± 2	1,7 ± 0,3	1,2 ± 0,2	1 (14)	15 ± 2	0						
Темнота 2 сут.	6	2,9 ± 0,4	2 (33)	21 ± 7	2,5 ± 0,5	2,0 ± 0,6	1 (17)	13 ± 2	0						
Темнота 3 сут.	7	2,8 ± 0,2	6 (86)	26 ± 4	1,8 ± 0,4	1,0 ± 0,2	2 (29)	10 ± 1 ^{P<0,01}	1						

Примечания: Число в верхнем индексе при различных вариантах обработки показывает время выдерживания укореняемых побегов в темноте, сут. "P" – уровень значимости по сравнению с нулевым содержанием флороглюцина или без выдерживания в темноте. *Субстрат для адаптации укореняемых растений: торф – вермикулит (2:1). БАП – 6-бензиламинопуридин, ИМК – 3-индолилмасляная кислота, ИМК – 3-индолилмасляная кислота, ИМК – 3-индолилмасляная кислота.

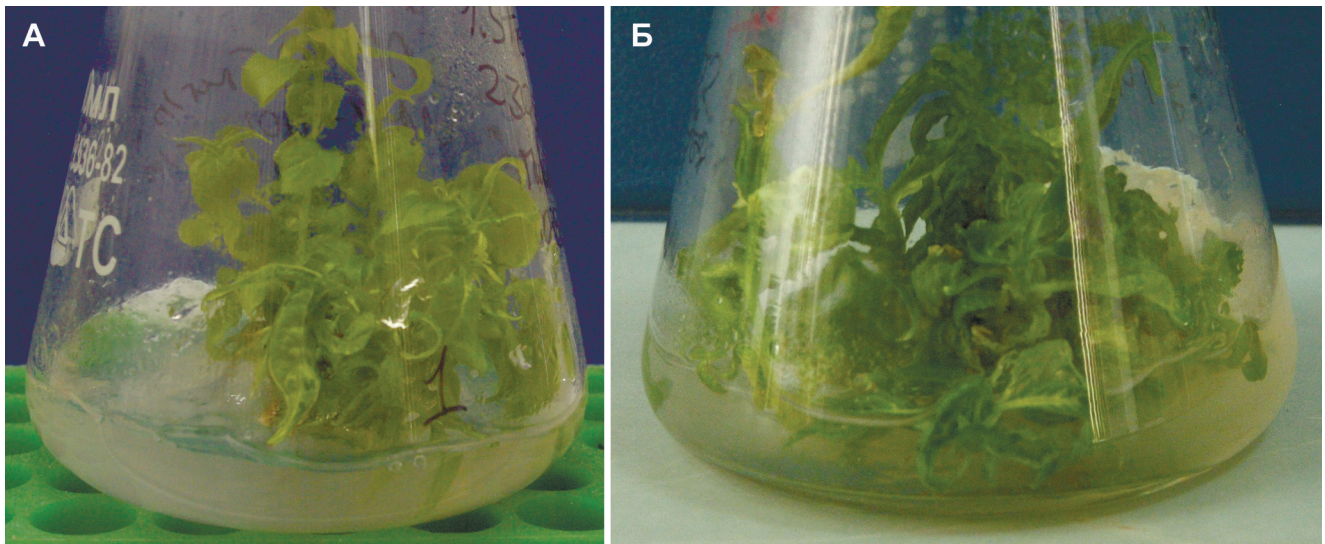


Рис. 2. Размножение побегов *A. mandshurica* в культуре *in vitro*: (А) нормальные побеги; (Б) витрифицированные побеги.

in vitro было раннее увядание листьев и некроз апикальной части побегов. Возможно, это связано с низкой концентрацией эндогенных цитокининов в апексе побега (Perez-Tornero, Burgos, 2007). Для предотвращения некроза было рекомендовано погружать верхушки побегов в раствор БАП (5–10 мг/л) перед переносом на среду для укоренения (Perez-Tornero, Burgos, 2007). Наши наблюдения показали, что обработка верхушек побегов БАП (5 мг/л) сдвигала сроки увядания листьев и стимулировала рост побегов, при этом корни развивались слабо (табл. 4). Обработка верхушек побегов БАП способствовала развитию каллуса. Добавление БАП в питательную среду на этапе укоренения вместе с ИМК (табл. 4) также ингибировало рост корней и стимулировало каллусообразование; при повышенных концентрациях БАП развивались новые побеги. Снижение концентрации ИМК до 0,04 мг/л приводило к уменьшению числа побегов с корнями и влияло на жизнеспособность растений – побеги увядали в те же сроки, что и при более высоком содержании ИМК (табл. 4). Таким образом, обработка верхушек побегов *A. mandshurica* раствором БАП или добавление этого цитокинина в питательную среду нецелесообразно на этапе укоренения.

Сочетание 2 мг/л ИМК и 0,5 мг/л НУК давало наилучший результат при укоренении *in vitro* египетского сорта абрикоса (Soliman, 2012). В случае *A. mandshurica* присутствие ИМК способствовало массовому развитию корней (табл. 4). Одновременное содержание в питательной среде ИМК и НУК оказывало аналогичный эффект.

Добавление флороглюцина в среду для укоренения в концентрации 20–160 мг/л не оказывало существенного влияния на корнеобразование и выжи-

ваемость растений, снижало образование каллуса и достоверно задерживало начало появления корней, что не подтвердилось при максимальной концентрации флороглюцина (табл. 4). Также не наблюдали улучшения корнеобразования при инкубировании побегов в темноте в течение 1–3 сут. При увеличении темного периода сокращались сроки начала увядания побегов. Рост растений, высаженных в субстрат после укоренения *in vitro*, был слабым, и на этапе адаптации к почвенным условиям растения погибали. В предварительных опытах нами установлена возможность укоренения *A. mandshurica* в условиях *ex vitro*. После обработки побегов ауксинами (ИМК и/или НУК) и высадки в субстрат выход адаптированных растений составил не более 50 %. Полученные растения были способны к росту в условиях открытого грунта, однако их жизнеспособность оказалась низкой: из 25 растений, высаженных в открытый грунт, перезимовало 2 растения. В следующий вегетационный период растения хорошо развивались (прирост 80–90 см). Этап укоренения и адаптации растений *A. mandshurica*, полученных в культуре *in vitro*, требует оптимизации.

Заключение

В ходе исследования определены стадии развития побегов *A. mandshurica*, оптимальные для получения эксплантов, условия для их введения в культуру *in vitro*, инициации роста и размножения побегов. Фенофаза, тип экспланта и состав питательной среды имели решающее значение для успешного введения *A. mandshurica* в культуру *in vitro*. Наилучшие результаты получены при использовании распу- скающихся почек и растущих побегов. Для развития побегов *in vitro* эффективной была среда QL с уве-

личным содержанием хелата железа и 6-бензиламинопурином в концентрации 0,5–3 мг/л. Получена пробирочная культура абрикоса, способная в течение 1 месяца мультиплицировать побеги. Рекомендованный в литературе ауксин 3-индолилмасляная кислота вызывал образование корней, но укоренение побегов в условиях *in vitro* негативно сказывалось на дальнейшем развитии растений. Установлено, что более приемлемым является укоренение *ex vitro* после обработки побегов 3-индолилмасляной кислотой или нафтилуксусной кислотой. Этап укоренения требует дополнительного исследования, что позволит в дальнейшем массово размножить ценные формы *A. mandshurica*.

Благодарности

Автор признателен Л.П. Шумиловой и Л.А. Шелихан (АФ БСИ ДВО РАН, г. Благовещенск) за техническую помощь в ходе выполнения работы.

Литература

- Булугин Н.Е. Дендрология. – 2-е изд. – Л.: Агропромиздат. Ленингр. отд-ние, 1991. – 352 с.
- Епифанова Т.Ю. Абрикос маньчжурский в лесах Приморского края (Лесоводственное значение и хозяйственное использование): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Уссурийск, 2004. – 26 с.
- Казьмин Г.Т. Абрикос на Дальнем Востоке. – Хабаровск, 1973. – 264 с.
- Красная книга Российской Федерации (растения и грибы). – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2008. – 855 с.
- Муратова С.А., Шорников Д.Г., Янковская М.Б. Размножение садовых культур *in vitro* (методические рекомендации). – Мичуринск-наукоград, 2008. – 69 с.
- Сворцов А.К., Крамаренко Л.А. Абрикос в Москве и Подмоскowie. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2007. – 188 с.
- Шумилова Л.П., Некрасов Э.В. Фитопатогенные микромитцы однолетних побегов абрикоса маньчжурского в условиях юга Амурской области // Мониторинг и биологические методы контроля вредителей и патогенов древесных растений: от теории к практике: Матер. Всерос. конф. – Красноярск, 2016. – С. 264–265.
- Balla I., Vertesy J. *In vitro* culture of hungarian apricot (*Prunus armeniaca* L.) varieties // Acta Hort. 2001. – Vol. 560. – P. 395–398.
- Koubouris G.C., Vasilakakis M. Improvement of *in vitro* propagation of apricot cultivar 'Bebecou' // Plant Cell Tiss. Org. Cult. 2006. – Vol. 85. – P. 173–180.
- Kramarenko L.A. Micropropagation of apricot and field performance of *in vitro* propagated plants // Acta Hort. 1999. – Vol. 488. – P. 417–420.
- Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. 1962. – Vol. 15. – P. 473–497.
- Perez-Tornero O., Burgos L. Apricot micropropagation //

Protocols for Micropropagation of Woody Trees and Fruits / Ed. by S. Mohan Jain, H. Häggman. – Dordrecht, Netherlands: Springer, 2007. – P. 267–278.

- Pierik R.L.H. *In vitro* culture of higher plants. – Dordrecht, Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1997. – 348 p.
- Quoirin M., Lepoivre P. Etude de milieux adaptes aux cultures *in vitro* de *Prunus* // Acta Hort. 1977. – Vol. 78. – P. 437–442.
- Soliman H.I.A. *In vitro* propagation of apricot (*Prunus armeniaca* L.) and assessment of genetic stability of micropropagated plants using RAPD analysis // World Applied Sciences J. 2012. – Vol. 19. – P. 674–687.
- Yildirim H., Onay A., Tilkat E., Akturk Z. Micropropagation of the apricot (*Prunus armeniaca* L.) cv. Hacıhaliloğlu by means of single node culture // Turk. J. Agric. For. 2011. – Vol. 35. – P. 55–64.

IN VITRO PROPAGATION OF ARMENIACA MANDSHURICA (ROSACEAE)

E.V. Nekrasov

Amur Branch of Botanical Garden-Institute of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Blagoveshchensk, Russia

Armeniaca mandshurica is a rare species for the flora of the Russian Far East. The plant is promising for urban planting and breeding purposes. *In vitro* propagation of *A. mandshurica* was investigated in this study. Breaking leaf buds and green growing shoots were preferred as explants. For sterilization of the green growing shoots, it was enough to treat with diluted bleach with sodium hypochlorite for 10 min. Sterilized explants from lignified shoots were obtained by the treatment in sequence with 70 % ethanol (2 min.) and 0.2 % mercury (II) chloride (10 min.), and the isolation of buds with outer scales removed. Establishment of explants and development of new shoots were effective with the Quoirin-Lepoivre (QL) culture medium supplemented with 6-benzylaminopurine (BAP, 0.5–3 mg/L) and an increased content of iron chelate. Shoot multiplication was achieved in a QL culture medium modified in micronutrients and supplemented with 3% sucrose, 0.5 mg/L BAP, and 0.04 mg/L indole-3-butyric acid (IBA). IBA (0.6 mg/L) induced root formation *in vitro*, however, the process was often accompanied by withering of the plantlets. *Ex vitro* rooting was possible after the shoot treatment with IBA (2 mg/L) and/or 1-naphthaleneacetic acid (0.5 mg/L) for 1–3 days and their planting in peat-vermiculite (2:1).

Key words: *Armeniaca mandshurica*, *in vitro* culture, micropropagation, phytohormones.

Tabl. Bibl. 16.