

УДК 634.17

**СОЗДАНИЕ КОЛЛЕКЦИОННОГО ФОНДА КЛОНОВ ВИДОВ РОДА *CRATAEGUS* L.****Ю.В. Александрова, О.П. Лебедева, Н.А. Бабич***Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова,  
Наб. Северной Двины, д.17, г. Архангельск, Россия, 163002*

В статье представлены результаты опытов по подбору дезинфицирующих стерилизующих растворов при введении в культуру *in vitro* представителей рода *Crataegus* L. В результате проведенных исследований создана коллекция регенерантов. Созданная коллекция *Crataegus* L. *in vitro* будет использована для решения вопросов в размножении и селекции клонов.

**Ключевые слова:** *Crataegus* L., асептическая культура, стерилизация, экспланты, коллекция

**Введение.** Одним из целенаправленных путей обогащения биологического разнообразия насаждений северных регионов является интродукция ценных с точки зрения хозяйственной деятельности растений. Активные исследования данного вопроса проводятся на базе дендрологических и ботанических садов, поскольку расширение и сохранение биологического разнообразия – актуальная проблема современности [1, 3, 4].

На территории Европейского Севера базой для интродукционных испытаний является дендрологический сад имени И.М. Стратоновича. В результате многолетней работы сотрудников сада отобран ряд плодовых растений, ценных в области нутрициологии и фармакологии, адаптированных к суровым климатическим и эдафическим условиям приарктического региона.

На основе проведенных научных изысканий определены перспективные виды интродуцированных культурных плодовых растений к которым относятся представители рода *Crataegus* L. Коллекция боярышников дендрологического сада насчитывает 14 таксонов, которые могут стать базой для селекции районированного посадочного материала альтернативного импортному, что соответствует доктрине продовольственной безопасности согласно Федеральным научно-техническим программам развития сельского хозяйства на 2017-2025 годы.

Однако коллекции растений *ex situ* и *in situ* подвержены различным воздействиям среди которых влияние климатических факторов, болезни, вредители. Таким образом, недостатки традиционных методов сохранения генофонда обуславливают необходимость разработки биотехнологических методов сохранения генетических ресурсов – культивирования изолированных тканей и органов [2].

**Целью данной работы** является создание коллекционного фонда регенерантов *in vitro* отобранных гибридов представителей рода *Crataegus* L.

**Методы и объекты исследования.** Исследования проводились на одном из перспективных для выращивания на территории Европейского Севера представителей рода *Crataegus* L. – *C. Russanowii* Cin. В качестве первичных эксплантов использовали отобранные в период активного роста сегменты побегов текущего года длиной 1,0-2,0 см с 2-3 междоузлиями, срезанные с верхней части ветвей. На процесс введения эксплантов в стерильную культуру оказывает влияние ряд факторов: срок введения, тип экспланта, стерилизующий агент, состав питательной среды. Особая роль отводится схеме стерилизации. При неправильно подобранном режиме стерилизации происходит контаминация питательной среды и эксплантов грибной и бактериальной микрофлорой (рис. 1). Наиболее часто в качестве стерилизующих агентов

используют ртутьсодержащие и хлорсодержащие вещества. Из препаратов, содержащих ртуть, применяется раствор сулемы ( $\text{HgCl}_2$ ) с экспозицией от 1 до 10 минут. В качестве хлорсодержащих веществ используют раствор «Белизны» («Homestar») при экспозиции от 10 до 25 минут в зависимости от культуры и типа экспланта [5, 6].



Рисунок 1. Контаминация питательной среды и эксплантов

Режим стерилизации для эксплантов *C. Russanowii* Cín. подбирали экспериментально. Перед введением эксплантов в культуру *in vitro* исходные фрагменты растений предварительно промывали в мыльном растворе и под проточной водой в течение 15-20 минут. Дальнейшие манипуляции проводились в ламинарном боксе. В качестве стерилизующих растворов использовали раствор сулемы ( $\text{HgCl}_2$ ), раствор гипохлорита натрия и спирт. После стерилизации экспланты промывали стерильной дистиллированной водой. Побеги разрезали на фрагменты по 10-15 мм по 2-3 междоузлия и помещали на питательную среду Murashige and Skoog, содержащей гиббереллин 0,4 г/л.

**Результаты и обсуждение.** Оценку заражения эксплантов патогенами оценивали визуально. Результаты стерилизации эксплантов *C. Russanowii* Cín представлены в таблице 1.

Таблица 1

Результаты стерилизации эксплантов *C. Russanowii* Cín

Вид	Режим стерилизации	Инфицированные, %	Стерильные, %	Некроз, %	Здоровые, %
<i>C. Russanowii</i> Cín	Гипохлорит натрия 5% (10 мин.) + Сулема 1% (5 мин.)	0	100	100	0
	Гипохлорит натрия 5% (10 мин.) + Сулема 1% (1 мин.)	90	10	100	0
	Гипохлорит натрия 5% (5 мин.) + Сулема 1% (1 мин.) + Спирт 96% (0,5 мин.)	80	20	100	0
	Гипохлорит натрия 2% (20 мин.) + Сулема 1% (1 мин.) + Спирт 96% (0,5 мин.)	70	30	90	10

Оценку результатов стерилизации проводили визуально. Анализ полученных данных показал, что растворы хлор- и ртутьсодержащих веществ эффективны при ликвидации поверхностной патогенной флоры, однако также токсичны и для самих эксплантов. При снижении времени экспозиции в стерилизующих растворах наблюдается большое количество инфицированных эксплантов (рис. 1). В результате снижения концентрации раствора гипохлорита натрия до 2% и увеличение времени экспозиции до 20 минут с последующим перемещением эксплантов в 1% раствор сулемы на 1 минуту и 96% спирт на 0,5 минуты получен здоровый жизнеспособный материал (рис. 2).



Рисунок 2. Здоровый эксплант *C. Russanowii* Cin.

Стерилизацию перспективных для выращивания на Европейском Севере таксонов рода *Crataegus* L. из коллекции дендрологического сада имени И.М. Стратоновича проводили по последней схеме опыта. В результате получены жизнеспособные асептические материалы 6 таксонов: *C. Schroederi* Regel, *C. Russanowii* Cin, *C. chlorosarca* Maxim., *C. chlorosarca* var. *atrocarpa* E. Wolf, *C. dahurica* Koehne ex Schneid, *C. douglasii* Lindl. Дальнейшее культивирование эксплантов производили в световой комнате на фитостеллажах с оптимальным светодиодным освещением с досветкой красного спектра при 16-часовом фотопериоде, с поддержанием температуры воздуха +18...+22 С.

#### **Заключение.**

По результатам проведенных исследований по введению видов рода *Crataegus* L. в культуру *in vitro* выявлено, что наиболее оптимальным является применение 2%-ного раствора гипохлорита натрия при экспозиции 20 минут с помещением эксплантов на 1 минуту в 1 %-ный раствор сулемы и на 0,5 минуты в 96 %-ный спирт. Жизнеспособность эксплантов составила около 10%.

Опыт стерилизации эксплантов *Crataegus* L. показал, что на этапе стерилизации для получения жизнеспособного асептического материала необходимо подбирать нетоксичные стерилизующие препараты, устанавливать степень их концентрации и экспозиции, при которых достигается высокий уровень стерильности культуры и низкий уровень угнетения эксплантов.

**Благодарности.** Исследование выполнено за счет средств Программы развития САФУ на 2021-2035 гг., договор Д-384.2024

### Библиографический список

1. Андропова, М. М. Ступенчатая интродукция древесных растений на севере Русской равнины / М. М. Андропова, Н. А. Бабич, Р. С. Хамитов. – Архангельск: Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова, 2021. – 412 с.
2. Жарасов Д.Н. Особенности введения в культуру *in vitro* барбариса илийского (*Berberis iliensis* M. Pop.) / Д.Н. Жарасов, Н.А. Толеп // Вестник Карагандинского университета. Серия биология. медицина. география. – 2022. – Vol.16. – № 4(108). – С. 29-33.
3. Карбасникова, Е. Б. Натурализация видов дендрофлоры в условиях интродукционного стресса: специальность 06.03.01 "Лесные культуры, селекция, семеноводство": автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора сельскохозяйственных наук / Карбасникова Елена Борисовна. – Архангельск, 2022. – 40 с. – EDN CLAEJF.
4. Конвенция о биологическом разнообразии, Рио-де-Жанейро / Гарант. Информационно-правовое обеспечение. – 1992. - [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <https://base.garant.ru/2107744/>
5. Маркова М.Г., Сомова Е.Н. Оптимизация приемов введения садовых растений в стерильную культуру *in vitro*. Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. 2022;(4):71-81. <https://doi.org/10.26897/0021-342X-2022-4-71-81>
6. Маркова М. Г., Сомова Е. Н. Регенерационная способность *Cerasus fruticosa* и *Prunus domestica* в культуре *in vitro* // Аграрный вестник Урала. 2021. № 06 (209). С. 43–52.