

ISSN 1029-8940 (Print)

ISSN 2524-230X (Online)

УДК 634.74:582.971.1]:631.53:581.143.6:631.811.98

<https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-88-97>

Поступила в редакцию 17.09.2019

Received 17.09.2019

Е. В. Колбанова*Институт плодоводства, аг. Самохваловичи, Минский район, Республика Беларусь***ВЛИЯНИЕ ФИТОГОРМОНОВ В СОСТАВЕ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ
НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ У РАСТЕНИЙ-РЕГЕНЕРАНТОВ СОРТОВ
ЖИМОЛОСТИ СИНЕЙ (*LONICERA CAERULEA* L. VAR. *KAMTSCHATICA*)**

Аннотация. Проллиферационная активность растений-регенерантов жимолости синей сортов Крупноплодная, Голубое веретено, Павловская, Волхова на этапе собственно микроразмножения определяется гормональным составом питательной среды и генотипом. Повышение концентрации 6-БА в питательной среде MS от 0,2 до 1,5–2,0 мг/л приводит к увеличению коэффициента размножения от 1,91 до 3,26–3,57 (без учета сортовых особенностей). Максимальный коэффициент размножения растений-регенерантов сортов Крупноплодная (3,43–3,47) и Голубое веретено (4,11–4,23) получен на среде MS с добавлением 1,5 и 2,0 мг/л 6-БА, Павловская и Волхова (2,80 и 3,90 соответственно) – на среде с добавлением 1,5 мг/л 6-БА. Увеличить коэффициент размножения можно за счет совместного использования двух регуляторов роста – 6-БА (1,5–2 мг/л) и GA₃ (1,0 мг/л). Использование гибберелловой кислоты приводит к образованию пазушных побегов, интенсификации их роста за счет увеличения длины междоузлий, что позволяет дополнительно делить длинные микропобеги на микрочеренки с двумя-тремя узлами.

Установлено, что при использовании более низких концентраций (0,3–0,6 мг/л) тидиазурона (TDZ) активно стимулируется пролиферация побегов жимолости синей, что позволяет получить высокий коэффициент размножения (до 12), чем при использовании высоких концентраций 6-БА – 1,5 и 2,0 мг/л (коэффициент размножения 2,80–4,23 в зависимости от сорта). Однако поскольку TDZ ингибирует рост микропобегов в длину, а образующийся конгломерат представляет собой скопление мелких побегов, которые не пригодны для этапа ризогенеза, необходима их последующая элонгация на безгормональной питательной среде. Применение TDZ в двух последовательных пассажах при культивировании жимолости синей нежелательно, так как это приводит к еще большему измельчанию побегов.

Ключевые слова: жимолость синяя, Крупноплодная, Голубое веретено, Павловская, Волхова, микроразмножение, 6-БА, GA₃, TDZ, Беларусь

Для цитирования: Колбанова, Е. В. Влияние фитогормонов в составе питательной среды на пролиферацию у растений-регенерантов сортов жимолости синей (*Lonicera caerulea* L. var. *kamtschatica*) / Е. В. Колбанова // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биял. наук. – 2020. – Т. 65, № 1. – С. 88–97. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-88-97>

Elena V. Kolbanova*Institute for Fruit Growing, ag. Samokhvalovichy, Minsk Region, Republic of Belarus***INFLUENCE OF FITOHORMONES IN THE NUTRIENT MEDIUM ON THE PROLIFERATION
AT THE MICROPLANTS OF BLUE HONEYSUCKLE CULTIVARS
(*LONICERA CAERULEA* L. VAR. *KAMTSCHATICA*)**

Abstract. The proliferation activity of blue honeysuckle microplants of cultivars ‘Krupnoplodnaya’, ‘Goluboye vereteno’, ‘Pavlovskaya’, ‘Volkhova’ at micropropagation stage is determined by hormonal composition of nutrient medium and genotype. An increase in concentration of 6-BA in MS medium from 0.2 to 1.5–2.0 mg/l leads to an increase in micropropagation rate from 1.91 to 3.26–3.57. The maximum micropropagation rate for cultivars ‘Krupnoplodnaya’ (3.43–3.47) and ‘Goluboye vereteno’ (4.11–4.23) was given at MS medium with addition of 1.5 and 2.0 mg/l 6-BA, for cultivars ‘Pavlovskaya’ and ‘Volkhova’ (2.80 and 3.90 respectively) – at medium with addition of 1.5 mg/l 6-BA. It is possible to increase micropropagation rate due to the joint use of two growth regulators: 6-BA (1.5–2 mg/l) and GA₃ (1.0 mg/l). The use of gibberellic acid leads to formation of axillary branch, intensification of growth by increasing the length of internodes of shoots, which makes it possible to further divide long microshoots into microcuttings with two to three nodes.

It was found that use of TDZ actively stimulates proliferation of blue honeysuckle shoots and allows to obtain a high micropropagation rate (up to 12) at lower concentrations (0.3–0.6 mg/l) than use of 6-BA in high concentration – 1.5 and 2.0 mg/l (micropropagation rate was 2.80–4.23 depending on cultivar). However, TDZ inhibits growth of microshoots in length, forming a conglomerate, which is an accumulation of small shoots that are not suitable for rhyzogenesis stage, and therefore their subsequent

elongation on a hormone-free medium is necessary. The use of TDZ in two consecutive subcultures for cultivating of blue honeysuckle is not desirable, as it leads even more to formation of small shoots.

Keywords: blue honeysuckle, 'Krupnoplodnaya', 'Goluboye vereteno', 'Pavlovskaya', 'Volkhova', micropropagation, 6-BA, GA₃, TDZ, Belarus

For citation: Kolbanova E. V. Influence of fitohormones in the nutrient medium on the proliferation at the microplants of blue honeysuckle cultivars (*Lonicera caerulea* L. var. *kamtschatica*). *Vesti Natsyonal'nai akademii nauk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2020, vol. 65, no. 1, pp. 88–97 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2020-65-1-88-97>

Введение. На этапе собственно микроразмножения растений ключевым моментом является правильно подобранная питательная среда и фитогормональный комплекс, обеспечивающие высокий коэффициент размножения. Для жимолости синей (*Lonicera caerulea* L.) чаще используется среда MS [1–10]. Высокий коэффициент размножения у *Lonicera caerulea* var. *kamtschatica* был получен на среде 3/4 макро- и микросолей MS (с увеличением концентрации FeNa-EDTA вдвое), дополненной 1,0 мг/л 6-БА у сорта Czelabinka и 2,0 мг/л 6-БА у сорта Duet. Повышение концентрации солей до 100 % или уменьшение до 50 % приводило к уменьшению коэффициента размножения [3]. Интенсивная пролиферация пазушных побегов у *Lonicera caerulea* var. *kamtschatica* сорта Atut происходила на модифицированной среде MS с добавлением в качестве источника железа – FeNaEDDHA (Sequestrene 138), 50 г/л пшеничного крахмала в качестве гелеобразующего агента и 0,7 мг/л CPPU в качестве цитокинина [4]. О. А. Панькова [7] на этапе пролиферации жимолости синей сорта Нимфа рекомендует использовать среду MS с нарастающей концентрацией 6-БА – от 0,3 до 2,0 мг/л на протяжении 4 пассажей и совместное использование БАП (1,0 мг/л) и кинетина (0,5 мг/л) в 5-м пассаже (коэффициент размножения 27,8 по сравнению с контролем 8,2). Установлено положительное влияние на активизацию ризогенеза смеси цитокининов на пассаже, предшествующем этапу укоренения [7]. М. Т. Упадышев [11] отмечает высокую пролиферативную активность растений-регенерантов сорта Нимфа на среде Андерсона с 1,0 мг/л 6-БА и при чередовании этой среды с разработанной средой во Всероссийском селекционно-технологическом институте садоводства и питомниководства. В. А. Высоцкий, В. А. Валиков [12] максимальный коэффициент размножения для подавляющего числа изученных ими сортов жимолости синей (один из них Нимфа) получили на минеральной основе питательной среды Ли и де Фоссарда, однако показатель средней длины побегов был выше на питательной среде MS. С. С. Макаров и И. Б. Кузнецов [10] установили, что цитокинины Дропп и Цитодеф при микроразмножении жимолости синей сортов Андерма и Морена более эффективны, чем 6-БА.

S. T. Karhu рекомендует использовать для *Lonicera caerulea* var. *caerulea* полную по минеральному составу среду MS с увеличением FeNa-EDTA вдвое и с добавлением 2 мг/л 6-БА. Установлено, что использование 6-БА на стадии собственно микроразмножения более эффективно, чем кинетин. Повышение концентрации 6-БА от 1,1 до 17,8 μ M приводит к увеличению количества пазушных побегов от 3 до 13. Для *Lonicera caerulea* var. *edulis* пролиферация пазушных побегов увеличивается при разбавлении минеральной основы среды MS до 75 % [9].

По данным O. Ninjmaa с соавт. [13], для *Lonicera caerulea* var. *edulis* трех сортов (9-15, Sendrella, Zolushca) лучшей для микроразмножения являлась среда Gamborg's B5 с добавлением тидиазурона (TDZ) в концентрации 0,2 мг/л: коэффициент размножения 4,4–8,5 побега на эксплант в зависимости от генотипа.

L. D. Osburn с соавт. отмечают влияние регуляторов роста и питательной среды на коэффициент размножения жимолости японской (*Lonicera japonica* Thunb.) и жимолости амурской (*Lonicera taackii* (Rupr.) Maxim). Самый высокий коэффициент размножения у жимолости японской (14) был на питательной среде Драйвера-Куньюки (DKW) с 5 μ M 6-БА, а у жимолости амурской (38) – на питательной среде MS, дополненной 2,5 μ M 6-БА с или без 1,25 μ M индолил-3-масляной кислоты (ИМК) [14].

Таким образом, успешность этапа собственно микроразмножения жимолости синей во многом определяется правильно подобранным гормональным составом питательной среды.

Цель данной работы – изучить влияние фитогормонов в составе питательной среды на процесс пролиферации сортов жимолости синей.

Материалы и методы исследования. Исследования проводили на базе отдела биотехнологии РУП «Институт плодоводства» в 2015–2016 гг. Объекты исследований: сорта жимолости Крупноплодная, Голубое веретено, Павловская, Волхова.

На этапе микроразмножения жимолости (4–6 пассажей) использовали модифицированные питательные среды:

1) макро- и микросоли по MS, FeNa-EDTA по MS увеличен в 2 раза, витамины B₁, B₆, PP – по 0,5 мг/л, витамин С – 1 мг/л, глицин – 2 мг/л, мезоинозит – 100 мг/л, с добавлением 6-бензиладенина (6-БА) в концентрациях 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,5 и 2,0 мг/л, сахара – 30 г/л, агар – 5,8 г/л (рН 5,6–5,7);

2) макро- и микросоли по MS, FeNa-EDTA по MS увеличен в 2 раза, витамины B₁, B₆, PP – по 0,5 мг/л, витамин С – 1 мг/л, глицин – 2 мг/л, мезоинозит – 100 мг/л, с добавлением 6-БА и гибберелловой кислоты (GA₃) в концентрациях 1,5/0; 1,5/0,5; 1,5/1,0; 2,0/0; 2,0/0,5; 2,0/1,0 мг/л соответственно, сахара – 30 г/л, агар – 5,8 г/л (рН 5,6–5,7);

3) макро- и микросоли по MS, FeNa-EDTA по MS увеличен в 2 раза, витамины B₁, B₆, PP – по 0,5 мг/л, витамин С – 1 мг/л, глицин – 2 мг/л, мезоинозит – 100 мг/л, с добавлением TDZ в концентрациях 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6 мг/л, сахара – 30 г/л, агар – 5,8 г/л (рН 5,6–5,7).

Автоклавирование среды проводили в течение 15 мин после добавления регуляторов роста при 0,9–1 атм. Условия культивирования растений-регенерантов *in vitro*: освещение (лампы NARVA LT, 36 W) – 2,5–3 тыс. лк, температура – 20–22 °С и фотопериод – 16/8 ч. Растения-регенеранты культивировали в пробирках размером 220×22 мм с объемом питательной среды 10 мл. Длительность субкультивирования – 6 недель.

Статистическую обработку проводили с помощью программы Statistica 10.0, используя ANOVA, двухфакторный анализ, критерий Дункана при $p < 0,05$ для сравнения средних величин ($n = 3$).

Результаты и их обсуждение. Влияние концентрации 6-бензиладенина на микроразмножение. Установлено влияние сортовых особенностей, концентрации 6-БА и совместное влияние этих двух факторов ($p < 0,001$) на коэффициент размножения жимолости синей. Повышение концентрации 6-бензиладенина в питательной среде от 0,2 до 1,5–2,0 мг/л приводило к увеличению коэффициента размножения у растений-регенерантов сорта Крупноплодная в 1,4 раза, у сорта Голубое веретено – в 1,9–2,0 раза, причем значимых различий между высокими концентрациями (1,5 и 2,0 мг/л) у обоих сортов не наблюдалось. У сортов Павловская и Волхова наибольший коэффициент размножения получен на питательной среде с добавлением 6-БА в концентрации 1,5 мг/л: 2,80 и 3,90 соответственно, что превышает данный показатель на питательной среде с добавлением 6-БА в минимальной концентрации (0,2 мг/л) в 2,1–2,2 раза. Однако при использовании концентрации 6-БА в диапазоне от 0,6 до 2,0 мг/л у сорта Павловская и 0,6–1,5 мг/л у сорта Волхова значимых различий не выявлено (табл. 1).

Таблица 1. Влияние концентрации 6-БА на коэффициент размножения жимолости синей

Table 1. Effect of 6-BA concentration on micropropagation rate of blue honeysuckle

Сорт (фактор А)	Концентрация 6-БА, мг/л (фактор В)	Коэффициент размножения
Крупноплодная	0,2	2,42 ± 0,21 ghi
	0,4	2,47 ± 0,27 ghi
	0,6	2,73 ± 0,18 efg
	0,8	2,87 ± 0,12 efg
	1,0	3,07 ± 0,18 de
	1,5	3,47 ± 0,05 cd
Голубое веретено	0,2	2,13 ± 0,21 hij
	0,4	2,05 ± 0,11 ij
	0,6	2,41 ± 0,11 ghi
	0,8	2,81 ± 0,15 efg
	1,0	3,40 ± 0,13 cd
	1,5	4,11 ± 0,11 a
	2,0	4,23 ± 0,15 a

Окончание табл. 1

Сорт (фактор А)	Концентрация 6-БА, мг/л (фактор В)	Коэффициент размножения
Павловская	0,2	1,25 ± 0,10 l
	0,4	1,59 ± 0,17 kl
	0,6	2,41 ± 0,30 ghi
	0,8	2,55 ± 0,05 fgh
	1,0	2,61 ± 0,07 fg
	1,5	2,80 ± 0,14 efg
	2,0	2,47 ± 0,01 fghi
Волхова	0,2	1,85 ± 0,05 jk
	0,4	2,59 ± 0,09 fg
	0,6	3,80 ± 0,03 abc
	0,8	3,46 ± 0,05 cd
	1,0	3,61 ± 0,02 bc
	1,5	3,90 ± 0,04 ab
	2,0	2,93 ± 0,18 ef
<i>Среднее по фактору А (сорт)</i>		
Крупноплодная		2,92 ± 0,10 G
Голубое веретено		3,02 ± 0,19 FG
Павловская		2,24 ± 0,13 H
Волхова		3,16 ± 0,16 F
<i>Среднее по фактору В (концентрация 6-БА)</i>		
0,2 мг/л 6-БА		1,91 ± 0,15 E
0,4 мг/л 6-БА		2,17 ± 0,14 D
0,6 мг/л 6-БА		2,84 ± 0,19 C
0,8 мг/л 6-БА		2,92 ± 0,11 C
1,0 мг/л 6-БА		3,17 ± 0,12 B
1,5 мг/л 6-БА		3,57 ± 0,16 A
2,0 мг/л 6-БА		3,26 ± 0,20 B

Примечание. Данные с одинаковыми буквами статистически не различаются при $p < 0,05$ (критерий Дункана). Данные представлены в виде среднего значения ± стандартная ошибка. То же в табл. 2, 3.

Так как у всех сортов жимолости синей на средах MS с добавлением 6-БА формировался конгломерат побегов с неудлиненными междоузлиями, коэффициент размножения рассчитывали в соответствии с количеством микропобегов у одного растения-регенеранта за один пассаж (рис. 1).

Зависимость коэффициента размножения жимолости синей от концентрации 6-БА и генотипа отмечена и другими исследователями [1, 2, 15]. Высокий коэффициент размножения (10,5) у генотипа 20/1 наблюдался на среде MS с добавлением 2,0 мг/л 6-БА, в то время как у сорта Altaj на такой среде максимальное число побегов составило 4,5, а с увеличением концентрации 6-БА до 4 мг/л коэффициент размножения у генотипа 20/1 уменьшался до 7,3, у сорта Altaj – до 1,6 [1]. Максимальный коэффициент размножения у сорта Brazowa (3,67) был получен на среде MS, дополненной 6-БА в концентрации 1,0 мг/л, у Clone 44 и 46 (коэффициент размножения 5,5 и 3,68 соответственно) – при использовании 6-БА в концентрации 2,0 мг/л [2]. Самый высокий коэффициент размножения при концентрации 6-БА 1,0 мг/л имели экспланты сорта Синяя птица, а самый низкий – сорта Морена [15]. По данным S. T. Karhu [9], повышение концентрации 6-БА от 0,25 до 4,0 мг/л в питательной среде MS при культивировании *Lonicera caerulea* var. *caerulea* приводит к увеличению коэффициента размножения от 3 до 13. У жимолости амурской (*Lonicera taackii* (Rupr.) Maxim) при добавлении в питательную среду MS 6-БА уже в концентрации 0,5 мг/л получен коэффициент размножения 38 [14].

Совместное влияние 6-бензиладенина и гибберелловой кислоты на микроразмножение. Поскольку высокий коэффициент размножения у всех сортов был получен при использовании 6-БА



Рис. 1. Конгломерат микропобегов на среде MS с добавлением 1,5 мг/л 6-БА (а) и микропобеги после черенкования конгломерата (b) у сорта Крупноплодная

Fig. 1. Conglomerate of microshoots on MS medium with addition of 1.5 mg/l 6-BA (a) and microshoots after cutting of conglomerate (b) In cultivar 'Krupnoplodnaya'

в концентрациях 1,5 и 2,0 мг/л, именно эти концентрации были применены в ходе дальнейших исследований, чтобы повысить коэффициент размножения сортов жимолости синей путем совместного использования 6-БА и GA_3 на этапе микроразмножения. Установлен достоверно высокий уровень значимости ($p < 0,001$) при совместном применении 6-БА и GA_3 и сортовых особенностей, а также этих двух факторов вместе ($p < 0,01$) на коэффициент размножения.

Для сорта Крупноплодная эффективными были следующие сочетания 6-БА и GA_3 : 1,5 мг/л 6-БА/0,5 мг/л GA_3 ; 1,5 мг/л 6-БА/1,0 мг/л GA_3 и 2,0 мг/л 6-БА/1,0 мг/л GA_3 , что позволило увеличить коэффициент размножения в 1,6–1,8 раза по сравнению с использованием только 6-БА в концентрациях 1,5 и 2,0 мг/л. Для сорта Голубое веретено эффективным было сочетание 6-БА в концентрации 2,0 мг/л и GA_3 в концентрации 1,0 мг/л (коэффициент размножения составил 6,39). Для сорта Павловская эффективным было сочетание 6-БА в концентрации 1,5 мг/л и GA_3 в концентрациях 0,5 и 1,0 мг/л, что позволило увеличить коэффициент размножения в 1,7 раза по сравнению с использованием только 6-БА. У сорта Волхова достоверных различий по вариантам опыта без добавления и с добавлением GA_3 не наблюдалось (табл. 2).

Т а б л и ц а 2. Влияние концентрации 6-БА и GA_3 на коэффициент размножения жимолости синей

Table 2. Effect of concentration of 6-BA and GA_3 on micropropagation rate of blue honeysuckle

Сорт (фактор А)	Концентрации 6-БА и GA_3 , мг/л (фактор В)	Коэффициент размножения
Крупноплодная	1,5 6-БА	3,45 ± 0,33 fghij
	1,5 6-БА/0,5 GA_3	5,63 ± 0,23 abcd
	1,5 6-БА/1,0 GA_3	6,07 ± 0,18 ab
	2,0 6-БА	3,47 ± 0,46 fghij
	2,0 6-БА/0,5 GA_3	3,75 ± 0,09 efg hij
	2,0 6-БА/1,0 GA_3	5,86 ± 0,35 abc
Голубое веретено	1,5 6-БА	4,07 ± 0,52 efg
	1,5 6-БА/0,5 GA_3	4,43 ± 0,52 def
	1,5 6-БА/1,0 GA_3	5,0 ± 0,58 bcde
	2,0 6-БА	4,21 ± 0,23 efg
	2,0 6-БА/0,5 GA_3	4,77 ± 0,72 cdef
	2,0 6-БА/1,0 GA_3	6,39 ± 0,33 a
Павловская	1,5 6-БА	2,73 ± 0,43 hij
	1,5 6-БА/0,5 GA_3	4,44 ± 0,76 def
	1,5 6-БА/1,0 GA_3	4,64 ± 0,43 cdef
	2,0 6-БА	2,47 ± 0,20 j
	2,0 6-БА/0,5 GA_3	2,69 ± 0,32 ij
	2,0 6-БА/1,0 GA_3	2,65 ± 0,30 ij

Сорт (фактор А)	Концентрации 6-БА и GA ₃ , мг/л (фактор В)	Коэффициент размножения
Волхова	1,5 6-БА	3,88 ± 0,20 efghi
	1,5 6-БА/0,5 GA ₃	4,07 ± 0,26 efgh
	1,5 6-БА/1,0 GA ₃	4,33 ± 0,31 ef
	2,0 6-БА	2,88 ± 0,31 ghij
	2,0 6-БА/0,5 GA ₃	3,85 ± 0,38 efghi
	2,0 6-БА/1,0 GA ₃	4,04 ± 0,29 efgh
<i>Среднее по фактору А (сорт)</i>		
Крупноплодная	4,70 ± 0,30 С	
Голубое веретено	4,81 ± 0,26 С	
Павловская	3,27 ± 0,27 Е	
Волхова	3,84 ± 0,15 D	
<i>Среднее по фактору В (концентрации 6-БА и GA₃)</i>		
1,5 6-БА	3,53 ± 0,23 В	
1,5 6-БА/0,5 GA ₃	4,64 ± 0,28 А	
1,5 6-БА/1,0 GA ₃	5,01 ± 0,26 А	
2,0 6-БА	3,26 ± 0,24 В	
2,0 6-БА/0,5 GA ₃	3,76 ± 0,29 В	
2,0 6-БА/1,0 GA ₃	4,74 ± 0,47 А	

Таким образом, добавление GA₃ ведет к появлению пазушных побегов, интенсификации роста за счет увеличения длины междоузлий у растений-регенерантов жимолости, что позволяет делить длинные микропобеги на микрочеренки с 2–3 узлами, за счет чего и увеличивается коэффициент размножения (рис. 2).

В. Н. Сорокопудов с соавт. [15] для увеличения коэффициента размножения жимолости синей также проводили микрочеренкование растений-регенерантов, высаживая на питательную среду сегменты побега с 1–2 междоузлиями. Н. А. Семенова [5] для увеличения коэффициента размножения сортов жимолости съедобной (Гжелка, Люлия, Московская 23) использовала этио-

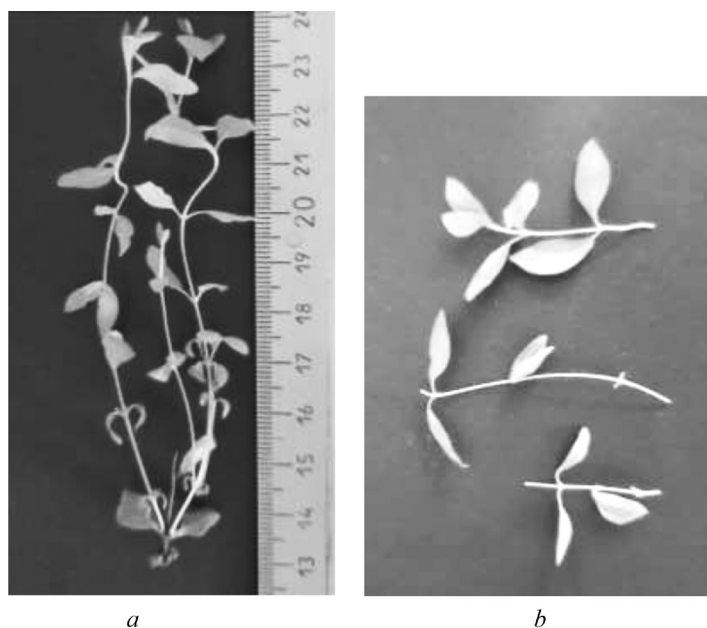


Рис. 2. Конгломерат микропобегов на среде MS с добавлением 1,5 мг/л 6-БА и 1,0 мг/л GA₃ (a); 3-узловые и верхушечный микрочеренки после черенкования конгломерата (b) у сорта Крупноплодная

Fig. 2. Conglomerate of microshoots on MS medium with addition of 1.5 mg/l 6-BA and 1.0 mg/l GA₃(a); b – three-nodal and apical microcuttings after cutting of conglomerate (b) in cultivar ‘Krupnoplodnaya’

ляцию посаженных 2–3 узловых микрочеренков, что увеличивало длину побегов и, следовательно, коэффициент размножения.

Влияние концентрации тидиазурона на микроразмножение. Установлен достоверно высокий уровень значимости ($p < 0,001$) влияния TDZ, сортовых особенностей и этих двух факторов вместе на коэффициент размножения. Использование TDZ активно стимулировало пролиферацию побегов у сортов жимолости синей. Добавление TDZ в питательную среду уже в низкой концентрации (0,1 мг/л) дало высокий коэффициент размножения – от 5,77 (Павловская) до 6,07–6,23 (Волхова, Крупноплодная). Повышение концентрации TDZ в питательной среде от 0,1 до 0,6 мг/л увеличивало коэффициент размножения в 1,9 раза у сорта Волхова (11,37), в 2 раза у сорта Крупноплодная (12,33), в 2,2 раза у сорта Павловская (12,80). У сорта Павловская достоверных различий по коэффициенту размножения на средах, содержащих 0,5 и 0,6 мг/л TDZ, не наблюдали, у сорта Волхова достоверных различий не было на средах с 0,3 и 0,6 мг/л TDZ (табл. 3). J. Sedlák, F. Paprštejn [16] максимальный коэффициент размножения (12,8) у *Lonicera kamtschatica* получили на среде MS с добавлением TDZ (1 мг/л), в то время как при использовании 6-БА в концентрации 2 мг/л максимальный коэффициент размножения составил 2,4.

Таким образом, использование тидиазурона на стадии микроразмножения позволяет получить высокий коэффициент размножения (до 12) при более низких концентрациях (0,3–0,6 мг/л), чем использование 6-БА в высоких концентрациях – 1,5 и 2,0 мг/л (коэффициент размножения 2,80–4,23 в зависимости от сорта). Однако наряду с очевидным преимуществом наблюдали и негативный эффект TDZ. Так, он ингибировал рост микропобегов в длину, а образующийся

Таблица 3. Влияние концентрации TDZ на коэффициент размножения жимолости синей

Table 3. Effect of TDZ concentration on blue honeysuckle micropropagation rate

Сорт (фактор А)	Концентрация TDZ, мг/л (фактор В)	Коэффициент размножения
Крупноплодная	0,1	6,23 ± 0,32 j
	0,2	7,03 ± 0,09 i
	0,3	7,87 ± 0,22 gh
	0,4	8,20 ± 0,10 g
	0,5	9,40 ± 0,2 e
	0,6	12,33 ± 0,07 b
Павловская	0,1	5,77 ± 0,18 j
	0,2	6,23 ± 0,03 j
	0,3	12,17 ± 0,18 b
	0,4	10,40 ± 0,11 d
	0,5	12,83 ± 0,17 a
	0,6	12,80 ± 0,11 a
Волхова	0,1	6,07 ± 0,13 j
	0,2	7,43 ± 0,09 hi
	0,3	11,23 ± 0,13 c
	0,4	8,77 ± 0,17 f
	0,5	9,70 ± 0,10 e
	0,6	11,37 ± 0,14 c
<i>Среднее по фактору А (сорт)</i>		
Крупноплодная	8,51 ± 0,48 H	
Павловская	10,03 ± 0,72 F	
Волхова	9,09 ± 0,47 G	
<i>Среднее по фактору В (концентрация TDZ)</i>		
0,1 мг/л TDZ	6,02 ± 0,13 E	
0,2 мг/л TDZ	6,90 ± 0,18 D	
0,3 мг/л TDZ	10,42 ± 0,66 B	
0,4 мг/л TDZ	9,12 ± 0,34 C	
0,5 мг/л TDZ	10,64 ± 0,55 B	
0,6 мг/л TDZ	12,17 ± 0,22 A	

Рис. 3. Конгломерат микропобегов жимолости синей сорта Крупноплодная на среде MS с добавлением 0,3 мг/л TDZ

Fig. 3. Conglomerate of blue honeysuckle microshoots (cultivar 'Krupnoplodnaya') on MS medium with addition of 0.3 mg/l TDZ

конгломерат представлял собой скопление мелких побегов, которые не пригодны для этапа ризогенеза (рис. 3). Возникла необходимость в их последующей элонгации на безгормональной питательной среде. Применение TDZ в двух последовательных пассажах при культивировании жимолости синей нежелательно, так как приводит к еще большему измельчанию побегов. По данным J. P. Nieuwkerk [17], использование TDZ при микро-размножении яблони сорта Gala не только стимулировало пролиферацию укороченных побегов, но и приводило к изменению морфологии листовой пластинки у побегов. Последующее культивирование в течение 1–2 пассажей на средах, не содержащих цитокинины, позволило преодолеть эти негативные эффекты и укоренить полученные растения. Кроме того, при культивировании на средах с TDZ возможна витрификация и фасциация побегов [18].

Таким образом, учитывая ингибирующее влияние TDZ на рост микропобегов жимолости синей, из диапазона концентраций 0,3–0,6 мг/л, дающих высокий коэффициент размножения, предпочтение следует отдать более низкой концентрации.

Заключение. Пролиферационная активность растений-регенерантов жимолости синей сортов Крупноплодная, Голубое веретено, Павловская, Волхова на этапе собственно микро-размножения определяется гормональным составом питательной среды и генотипом.

Повышение концентрации 6-БА в питательной среде MS от 0,2 до 1,5–2,0 мг/л приводит к увеличению коэффициента размножения от 1,91 до 3,26–3,57 (без учета сортовых особенностей). Максимальный коэффициент размножения растений-регенерантов сортов Крупноплодная (3,43–3,47) и Голубое веретено (4,11–4,23) получен на среде MS с добавлением 1,5 и 2,0 мг/л 6-БА, Павловская и Волхова (2,80 и 3,90 соответственно) – на среде с добавлением 1,5 мг/л 6-БА.

Установлено увеличение коэффициента размножения при совместном применении двух регуляторов роста – 6-БА (1,5–2 мг/л) и GA_3 (1,0 мг/л). Использование GA_3 приводит к образованию пазушных побегов, интенсификации их роста за счет увеличения длины междоузлий, что позволяет дополнительно делить длинные микропобеги на микрочеренки с 2–3 узлами. Для сорта Крупноплодная эффективными были сочетания 1,5 мг/л 6-БА/0,5 мг/л GA_3 (коэффициент размножения 5,63); 1,5 мг/л 6-БА/1,0 мг/л GA_3 (коэффициент размножения 6,07) и 2,0 мг/л 6-БА/1,0 мг/л GA_3 (коэффициент размножения 5,86); для сорта Голубое веретено – сочетание 2,0 мг/л 6-БА/1,0 мг/л GA_3 (коэффициент размножения 6,39); для сорта Павловская – 1,5 мг/л 6-БА/0,5 мг/л GA_3 (коэффициент размножения 4,44) и 1,5 мг/л 6-БА/1,0 мг/л GA_3 (коэффициент размножения 4,64).

Установлено, что использование TDZ активно стимулирует пролиферацию побегов жимолости синей и позволяет получить высокий коэффициент размножения (до 12) при более низких концентрациях (0,3–0,6 мг/л), чем использование 6-БА в высоких концентрациях – 1,5 и 2,0 мг/л (коэффициент размножения 2,80–4,23 в зависимости от сорта). Однако TDZ ингибирует рост микропобегов в длину, делая их непригодными для этапа ризогенеза, поэтому необходим дополнительный этап элонгации на безгормональной среде. Применение TDZ в двух последовательных пассажах при культивировании жимолости синей нежелательно, так как это приведет к еще большему измельчанию побегов. Из диапазона концентраций TDZ от 0,3 до 0,6 мг/л, дающих высокий коэффициент размножения, целесообразнее использовать более низкую, учитывая наличие негативных эффектов.



СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Sedlák, J. *In vitro* propagation of blue honeysuckle / J. Sedlák, F. Paprštein // *Horticult. Sci.* – 2007. – Vol. 34, N 4. – P. 129–131. <https://doi.org/10.17221/1871-hortsci>
2. Marcelina, K.-M. Propagation of blue honeysuckles (*Lonicera caerulea* L.) in *in vitro* culture / K.-M. Marcelina, O. Ireneusz // *J. Basic Appl. Sci.* – 2014. – Vol. 10. – P. 164–169. <https://doi.org/10.6000/1927-5129.2014.10.22>
3. Dziedzic, E. Propagation of blue honeysuckle (*Lonicera caerulea* var. *kamtschatica* Pojark.) in *in vitro* culture / E. Dziedzic // *J. Fruit Ornament. Plant Res.* – 2008. – Vol. 16. – P. 93–100.
4. *In vitro* propagation of *Lonicera kamtschatica* / A. Fira [et al.] // *Agricult.-Sci. Practice.* – 2014. – N 1–2. – P. 90–99. <http://dx.doi.org/10.15835/arspa.v89i1-2.10239>
5. Семенова, Н. А. Совершенствование технологии размножения *in vitro*, условий адаптации и доращивания жимолости съедобной : автореф. дис. ... канд. с.-х. наук : 06.01.08 / Н. А. Семенова ; Рос. гос. аграр. ун-т. – М., 2016. – 26 с.
6. Получение *in vitro* культур жимолости синей сортов 'Лазурная', 'Аврора', 'Камчадалка', 'Ленинградский великан' / О. И. Махонина [и др.] // *Биология клеток растений in vitro и биотехнология : тез. докл. XI Междунар. конф., Минск, 23–27 сентября 2018 г. / НАН Беларуси [и др.] ; редкол. : В. Н. Решетников [и др.]*. – Минск, 2018. – С. 146.
7. Панькова, О. А. Перспективы использования биотехнологических методов в системе производства оздоровленного посадочного материала жимолости синей в Удмуртии / О. А. Панькова // *Аграр. наука Евро-Северо-Востока.* – 2009. – № 1 (12). – С. 43–47.
8. Макаров, С. С. Влияние состава питательной среды на клональное микроразмножение жимолости съедобной / С. С. Макаров, Е. А. Калашникова // *Плодоводство и ягодоводство России.* – 2017. – Т. 49. – С. 217–222.
9. Karhu, S. T. Axillary shoot proliferation of blue honeysuckle / S. T. Karhu // *Plant Cell, Tissue Organ Culture.* – 1997. – Vol. 48. – P. 195–201. <https://doi.org/10.1023/A:1005842022064>
10. Макаров, С. С. Влияние регуляторов роста на органогенез жимолости при клональном микроразмножении / С. С. Макаров, И. Б. Кузнецова // *Вестн. НГАУ.* – 2018. – № 4 (49). – С. 36–42.
11. Упадышев, М. Т. Повышение эффективности микроразмножения плодовых и ягодных культур путем чередования сред с разным минеральным составом / М. Т. Упадышев // *Садоводство и виноградарство.* – 2012. – № 3. – С. 29–31.
12. Высоцкий, В. А. Клональное микроразмножение жимолости в производственных условиях / В. А. Высоцкий, В. А. Валиков // *Садоводство и виноградарство.* – 2014. – № 6. – С. 18–23.
13. *In vitro* propagation of blue honeysuckle (*Lonicera edulis*) / O. Ninjmaa [et al.] // *Int. J. Res. Studies Sci., Engineering Technol.* – 2015. – Vol. 2, N 10. – P. 57–61.
14. Micropropagation of japanese honeysuckle (*Lonicera japonica*) and amur honeysuckle (*L. maackii*) by shoot tip culture / L. D. Osburn [et al.] // *J. Environmental Horticulture.* – 2009. – Vol. 27, N 4. – P. 195–199.
15. Сорокопудов, В. Н. Сорта съедобной жимолости: биология и основы культивирования / В. Н. Сорокопудов, А. Г. Кукина, М. Т. Упадышев. – М. : ФГБНУ ВСТИСП, 2018. – 160 с.
16. Sedlák, J. Micropropagation of edible honeysuckle / J. Sedlák, F. Paprštein // *Védecké práce ovocnářské.* – 2013. – Vol. 23. – P. 157–163.
17. Nieuwkerk, J. P. Thidiazuron stimulation of apple shoot proliferation *in vitro* / J. P. Nieuwkerk, R. H. Zimmerman, I. Fordham // *HortSci.* – 1986. – Vol. 21. – P. 516–518.
18. Huettelman, C. A. Thidiazuron: a potent cytokinin for woody plant tissue culture / C. A. Huettelman, J. E. Preece // *Plant Cell, Tissue Organ Culture.* – 1993. – Vol. 33, N 2. – P. 105–119. <https://doi.org/10.1007/bf01983223>

References

1. Sedlák J., Paprštein F. *In vitro* propagation of blue honeysuckle. *Horticultural Science*, 2007, vol. 34, no. 4, pp. 129–131. <https://doi.org/10.17221/1871-hortsci>
2. Marcelina K.-M., Ireneusz O. Propagation of blue honeysuckles (*Lonicera caerulea* L.) in *in vitro* culture. *Journal of Basic & Applied Sciences*, 2014, vol. 10, pp. 164–169. <https://doi.org/10.6000/1927-5129.2014.10.22>
3. Dziedzic E. Propagation of blue honeysuckle (*Lonicera caerulea* var. *kamtschatica* Pojark.) in *in vitro* culture. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 2008, vol. 16, pp. 93–100.
4. Fira A., Clapa D., Cristea V., Catita P. *In vitro* propagation of *Lonicera kamtschatica*. *Agriculture-Science and Practice*, 2014, no. 1–2, pp. 90–99. <http://dx.doi.org/10.15835/arspa.v89i1-2.10239>
5. Semenova N. A. *Improving of in vitro propagation technology, conditions of adaptation and growing of edible honeysuckle*. Abstract of Ph. D. diss. Moscow, 2016. 26 p. (in Russian).
6. Makhonina O. I., Lastenko I. I., Chernousova I. A., Balkovskaya A. V., Filipenya V. L. Obtaining of *in vitro* culture of blue honeysuckle cultivars 'Lazurnaya', 'Aurora', 'Kamchadalka', 'Leningradskiy velikan'. *Biologiya kletok rastenii in vitro i biotekhnologiya: tezisy dokladov XI Mezhdunarodnoi konferentsii (Minsk, 23–27 sentyabrya 2018 goda)* [The biology of plant cells *in vitro* and biotechnology: abstracts of the XI International conference (Minsk, September 23–27, 2018)]. Minsk, 2018, p. 146 (in Russian).
7. Pan'kova O. A. Prospects for the use of biotechnological methods in system of production of healthy planting material of blue honeysuckle in Udmurtia. *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka* [Agricultural science Euro-North-East], 2009, no. 1 (12), pp. 43–47 (in Russian).
8. Makarov S. S., Kalashnikova E. A. The influence of nutrient medium composition on micropropagation of edible honeysuckle. *Plodovodstvo i yagodovodstvo Rossii* [Pomiculture and small fruits culture in Russia], 2017, vol. 49, pp. 217–222 (in Russian).

9. Karhu S. T. Axillary shoot proliferation of blue honeysuckle. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 1997, vol. 48, pp. 195–201. <https://doi.org/10.1023/A:1005842022064>
10. Makarov S. S., Kuznetsova I. B. The influence of growth regulators on organogenesis of honeysuckle during micropropagation. *Vestnik Novosibirskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta* [Bulletin of the Novosibirsk State Agrarian University], 2018, no. 4 (49), pp. 36–42 (in Russian).
11. Upadyshev M. T. Improving of efficiency of micropropagation of fruit and berry crops by alternating media with different mineral composition. *Sadovodstvo i vinogradarstvo* [Horticulture and viticulture], 2012, no. 3, pp. 29–31 (in Russian).
12. Vysotskii V. A., Valikov V. A. Micropropagation of honeysuckle in working conditions. *Sadovodstvo i vinogradarstvo* [Horticulture and viticulture], 2014, no. 6, pp. 18–23 (in Russian).
13. Ninjmaa O., Gereltuya P., Saranchimeg B., Narangoo A. *In vitro* propagation of blue honeysuckle (*Lonicera edulis*). *International Journal of Research Studies in Science, Engineering and Technology*, 2015, vol. 2, no. 10, pp. 57–61.
14. Osburn L. D., Yang X., Li Y., Cheng Z.-M. Micropropagation of japanese honeysuckle (*Lonicera japonica*) and amur honeysuckle (*L. maackii*) by shoot tip culture. *Journal of Environmental Horticulture*, 2009, vol. 27, no. 4, pp. 195–199.
15. Sorokopudov V. N., Kuklina A. G., Upadyshev M. T. *Cultivars of edible honeysuckle: biology and the basis of cultivation*. Moscow, Federal State Budget Scientific Institution “All-Russian Institute of Horticulture and Nursery”, 2018. 160 p. (in Russian).
16. Sedlák J., Paprštejn F. Micropropagation of edible honeysuckle. *Vědecké práce ovocnářské*, 2013, vol. 23, pp. 157–163.
17. Nieuwkerk J. P., Zimmerman R. H., Fordham I. Thidiazuron stimulation of apple shoot proliferation *in vitro*. *HortScience*, 1986, vol. 21, pp. 516–518.
18. Huetteman C. A., Preece J. E. Thidiazuron: a potent cytokinin for woody plant tissue culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 1993, vol. 33, no. 2, pp. 105–119. <https://doi.org/10.1007/bf01983223>

Информация об авторе

Колбанова Елена Вячеславовна – канд. биол. наук, доцент, заведующий лабораторией. Институт плодородства (ул. Ковалева, 2, 223013, аг. Самохваловичи, Минский район, Республика Беларусь). E-mail: kolbanova@tut.by

Information about the author

Elena V. Kolbanova – Ph. D. (Biol.), Assistant professor, Head of the Laboratory. Institute for Fruit Growing (2, Kovalev Str., 223013, ag. Samokhvalovichy, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: kolbanova@tut.by