

Введение в культуру *in vitro*  
абрикоса маньчжурского  
(*Armeniaca mandshurica*  
(Maxim.) B. Skvortz.)

Э.В. Некрасов<sup>1</sup>, Л.П. Шумилова<sup>1</sup>,  
А.В. Бабикова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Амурский филиал Ботанического сада-института ДВО РАН, Благовещенск

<sup>2</sup>Биолого-почвенный институт ДВО РАН, Владивосток

8 октября 2014 г.

# Абрикос маньчжурский – *Armeniaca mandshurica* (Maxim.) B. Skvorts. (сем. Rosaceae)

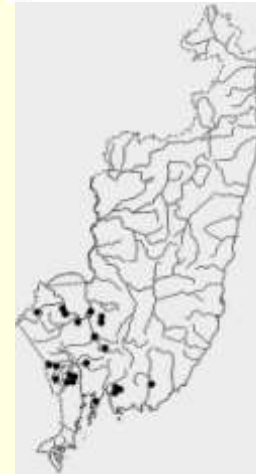
## Красная книга РФ, 2008

Категория и статус: редкий вид (3 г).

В России находится на северо-восточной границе ареала

Лимитирующие факторы: выпас скота, хозяйственное освоение территории, лесные пожары, поедание плодов грызунами, стволовой вредитель златка.

Ареал распространения: юг Приморского края, Северо-Восточный Китай (Heilongjiang, Jilin, Liaoning), север п-ова Корея (Епифанова, 2004; Flora of China)



# Плантация абрикоса маньчжурского в пригороде Благовещенска

- Возраст плантации – около 40 лет
- Отсутствиие ухода – около 15 лет
- Деревья обильно цветут и плодоносят
- Естественный подрост, молодые деревья переходят в стадию плодоношения



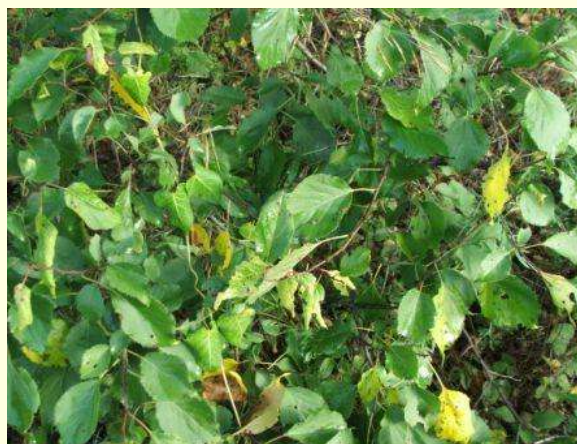
# Плантация абрикоса маньчжурского в пригороде Благовещенска

## Угрозы

Фитосанитарное состояние насаждений:

- Сильно поврежденные ( $I_n=0,39$ ), переходящие в категорию неустойчивого состояния (Бссп=3,12)
- В хорошем состоянии ~ 7% (за счет молодых)
- В удовлетворительном состоянии ~ 65%
- В неудовлетворительном состоянии ~ 28%

Весенние пожары  
Застройка территории



# Микроклональное размножение абрикоса: за и против

Л.А. Крамаренко (ГБС РАН, г. Москва)

- **За:** Успешное прохождение всех этапов размножения абрикоса *in vitro*: стерилизация конуса нарастания с несколькими зачаточными листочками, размножение микропобегов, укоренение и адаптация к нестерильным условиям.
- **Против:** Низкая выживаемость в открытом грунте (через 2 года число растений сократилось в 10 раз. Через 8 лет из 120 высаженных сеянцев осталось 2 растения). Задержка развития (цветение и плодоношение на 8 и 13 год вместо нормальных 5-7 лет). Плоды мелкие. Подвержены заболеваниям (дырчатая пятнистость).

Обычное черенкование также сопряжено с низкой жизнеспособностью растений.

- **Вывод:** Прививка является единственным эффективным способом вегетативного размножения абрикоса.

# Микроклональное размножения абрикоса: за и против

---

**O. Perez-Tornero and L. Burgos, Apricot micropropagation. In: S.M. Jain and H. Haggman (eds.) Protocols for Micropropagation of Woody Trees and Fruits. Springer, 2007. 267-278.**

**За:** Растения, выращенные *in vitro* и затем акклиматизированные на своих собственных корнях, были более жизнеспособные и давали больший урожай по сравнению с привитыми растениями.

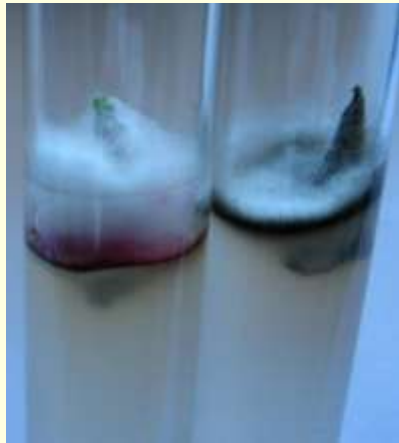
Это связывают с отсутствием контакта в месте прививки и мочковатой корневой системой по сравнению со стержневым корнем у обычных саженцев.

Различия более или менее существенны в зависимости от генотипа.

**Цель исследования:** разработать технологию и проверить эффективность размножения абрикоса маньчжурского в условиях *in vitro*

# Проблема 1: Инфицированность материала

---



Стерилизация:

- мыло + диацид
- мыло + фунгицид + диацид

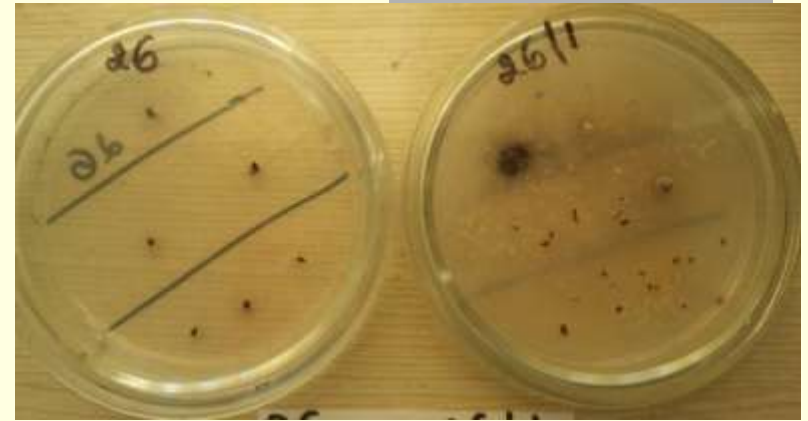
Инфицированность - 100%

# Эндофитные микромицеты побегов абрикоса



На нестерильных побегах преобладают представители родов *Alternaria*, *Fusarium* и *Epicoccum*.

На фото *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. и *Epicoccum nigrum* Link



Почки и покровные чешуйки. В большинстве случаев почки без покровных чешуй были чистыми, тогда как на покровных чешуях чаще всего выростали представители родов *Alternaria*, *Phoma* и повсеместно встречающийся стерильным мицелием со склероциями (штамм 3А).

На фото стерильный мицелий со склероциями, штамм 3А



Фрагменты побегов после стерилизации (70% EtOH, 2 мин, 0,2% HgCl<sub>2</sub> + Тритон X-100, 10 мин). Преобладают грибы рода *Alternaria* и стерильный мицелий со склероциями (штамм 3А), встречаются *Phoma* sp., *Fusarium oxysporum*, *Cladosporium cladosporioides*.

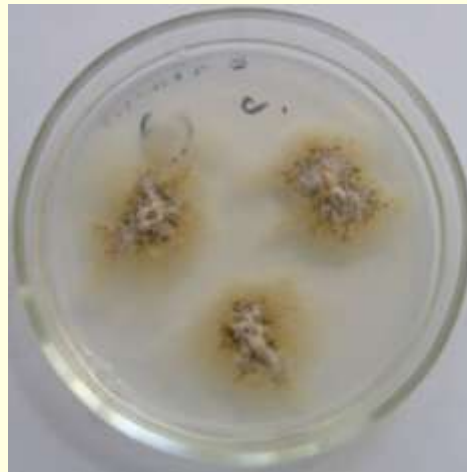
На фото *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum* и неидентифицированный штамм (3А).



# Эндофитные микромицеты побегов абрикоса



Стерильный белый мицелий с черными твердыми склероциями до 2-3 мм (штамм 3А).

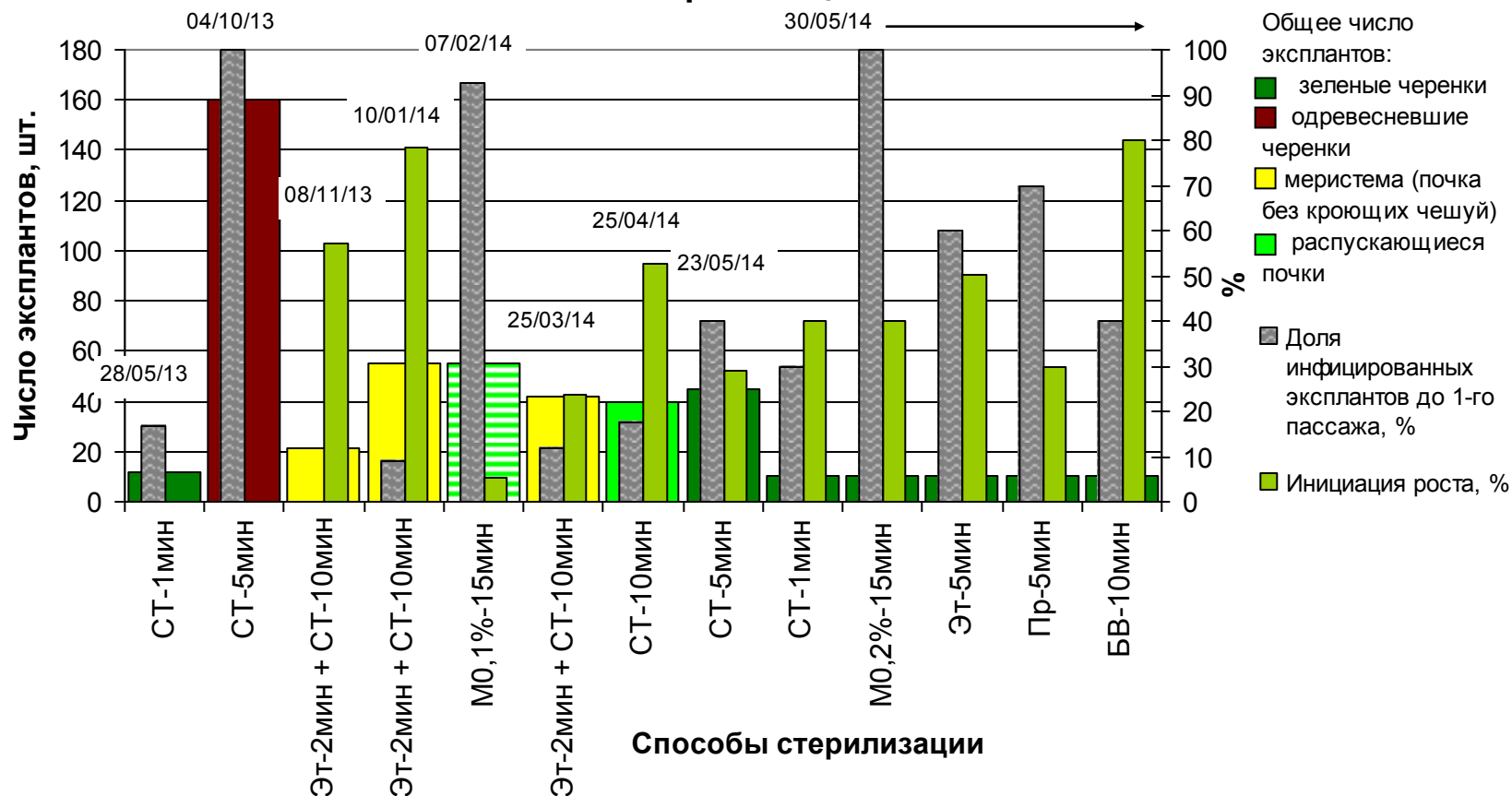


Сферопсидальные грибы разных видов, возможно представители рода *Phoma*.



# Стерилизация эксплантов

Инфицированность эксплантов при различных способах стерилизации

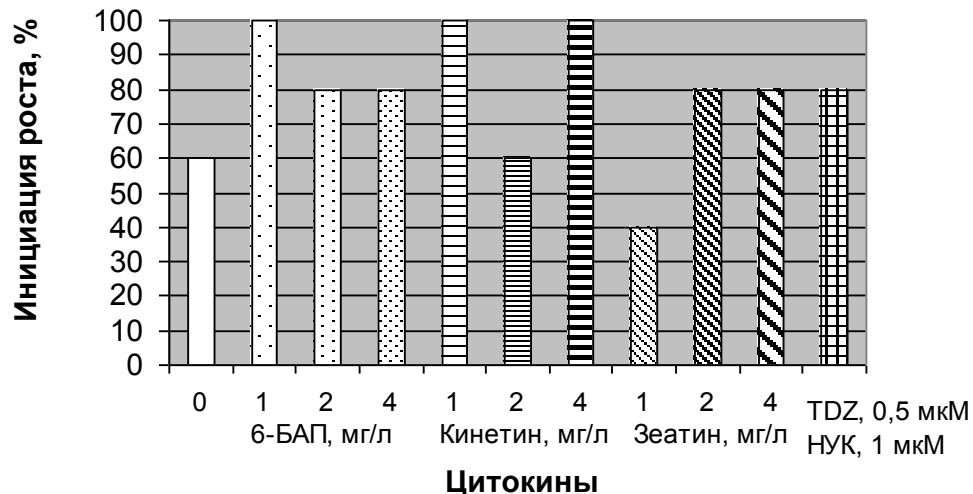


Стерилизующие агенты: СТ – 0,2%  $HgCl_2$  + Тритон X-100; ЭТ – 70% этанол; М –  $KMnO_4$ ; Пр – 70% 1-пропанол; БВ – "Белизна"-вода (1:3)

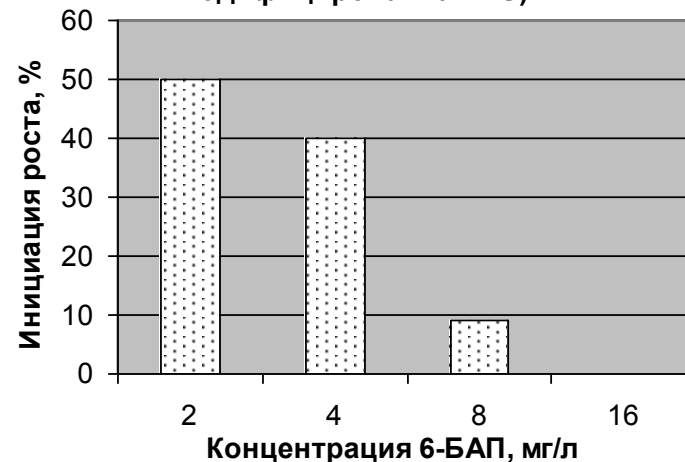
# Инициация роста меристем

## Среда Мурасиге-Скуга (MS)

Эффект различных цитокинов на инициацию роста меристем (среда - MS)



Влияние концентрации 6-БАП на инициацию роста меристем (среда - модифицированная MS)

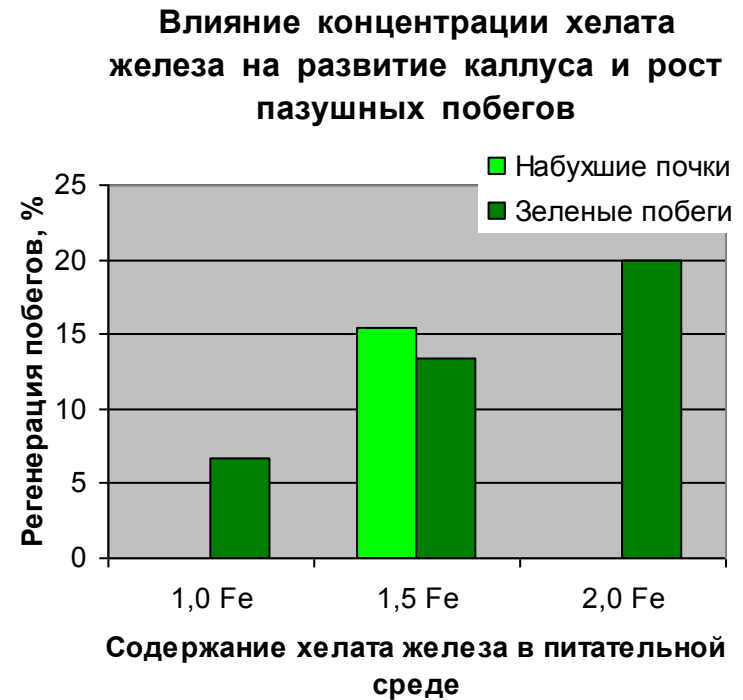
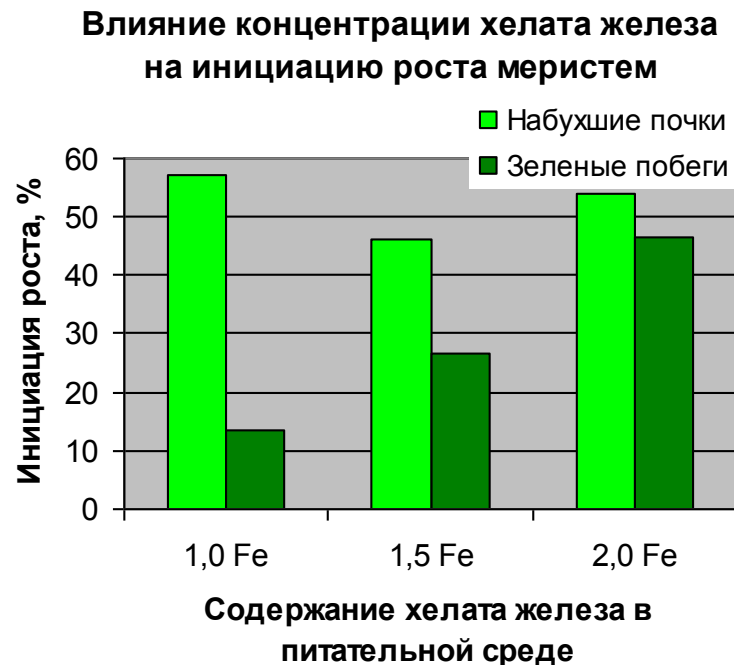
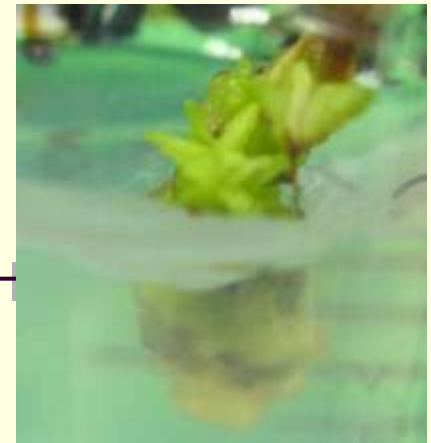


Сокращения: 6-БАП – 6-бензиламинопурин, TDZ – тидиазурон, НУК – нафтилуксусная кислота

**Не наблюдали развития каллуса в основании экспланта и роста пазушных побегов**

# Инициация роста меристем

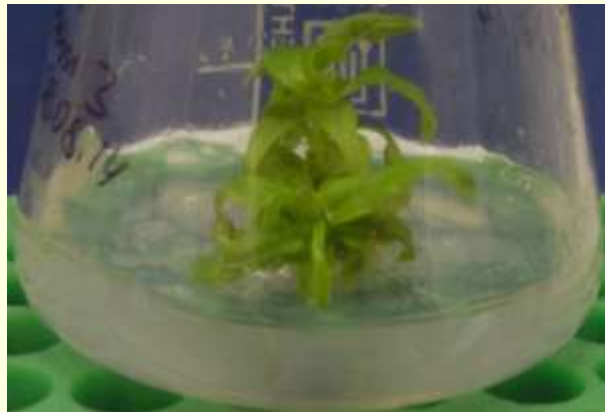
Среда Кворина-Лепуавра (QL) + 6-БАП, 3 мг/л (O. Perez-Tornero & L. Burgos, 2007)



1,0 Fe - нормальное содержание хелата железа (100 мкМ) в питательной среде

# Размножение побегов

Протокол O. Perez-Tornero and L. Burgos (2007):  
макросоли QL, микросоли Driver & Kuniyuki (DKW)  
(1984), тиамин – 2 мг/л, никотиновая кислота – 1  
мг/л, 3% сахарозы, 0,6% агар, 0,2 мкМ ИМК, 6-  
БАП – 0,5 мг/л.



# Размножение побегов

- Только экспланты с растущих верхушек зеленых побегов давали массовую регенерацию пазушных побегов
- Ограниченное количество таких эксплантов для каждого варианта (1-2) не дает возможность сравнительного анализа по вариантам
- С одного экспланта удавалось получить до 11 побегов на укоренение (в среднем 4 побега с экспланта)
- Всего за неполных три месяца с 10 эксплантов было получено 72 побега.

## Проблема 2:

- На этой стадии регенеранты подвержены гипергидратации и некрозу верхушек побегов



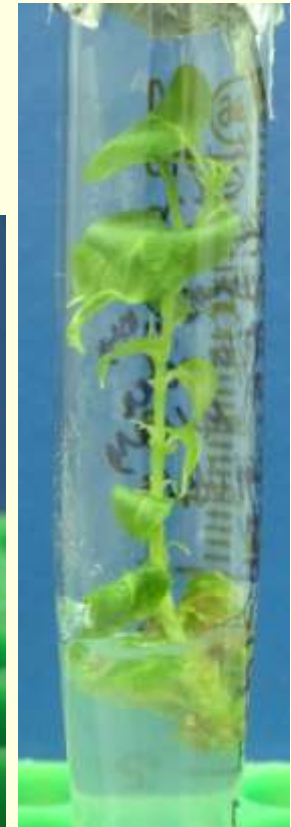
# Что дальше?

## Укоренение (Проблема 3?)

Среда: макросоли 1/2 QL,  
микросоли (DKW), 1,5 хелата  
железа, тиамин – 2 мг/л,  
никотиновая кислота – 1 мг/л, 2%  
сахарозы, 0,6% агара, 2 мкМ  
ИМК (O. Perez-Tornero & L.  
Burgos, 2007)

Для предотвращения некротизации  
верхушки побегов опускали в  
раствор 6-БАП (33,3 мкМ)

Из 31 побега корни дали только 2  
побега. У большей части побегов  
формировалась обильная  
каллусная ткань в основании



# Выводы

---

- Экспланты: для одревесневших черенков – почки без кроющих чешуй, для зеленых черенков - растущие верхушечные части
- Поверхностная стерилизация: одревесневшие черенки – жесткая (70% этанол + 0,2% сулема), верхушечные части зеленых черенков – разбавленный раствор бытового отбеливателя «Белиза» (гипохлорит натрия)
- Инициация меристемы: среда QL, увеличение концентрации хелата железа в 1,5 раза, 2-4 мг/л 6-БАП.
- Размножение побегов: среда на основе QL, 0,5 мг/л 6-БАП, 0,2 мкМ ИМК.



# Благодарности

---

- А.А. Сорокину, д.г.-м.н., директор ИГиП
- Л.М. Павловой, к.б.н., зав. лабораторией биогеохимии ИГиП

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ

