

ОСОБЕННОСТИ РЕГЕНЕРАЦИИ И УКОРЕНЕНИЯ СОРТОВ КРЫЖОВНИКА ОБЫКНОВЕННОГО *RIBES UVA-CRISPA* L. В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

И.Л. Крахмалева✉, О.В. Королева, О.И. Молканова

ФГБУН «Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина Российской академии наук» (ГБС РАН), 127276, Москва, Ботаническая ул., д. 4

seglory@bk.ru

Статья посвящена оптимизации составов питательных сред на этапах собственно микроразмножения и укоренения перспективных сортов крыжовника обыкновенного (*Ribes uva-crispa* L.). Исследования проводили в 2022 г. в лаборатории биотехнологии растений Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина Российской академии наук. В качестве объектов использовали сорта: ‘Берилл’, ‘Грушенька’, ‘Ксения’ и ‘Черносливовый’. Определено влияние хелатных форм железа (Fe(III)-EDDHA и Fe(III)-EDTA) на морфогенетические показатели и развитие микропобегов крыжовника. Установлено, что на этапе собственно микроразмножения добавление 100 мг/л хелата Fe(III)-EDDHA в питательную среду Quorin and Leroivte увеличивало высоту микропобегов исследуемых сортов. Число микропобегов, пригодных для дальнейшего укоренения (высотой 10 мм и выше), на средах с 100 мг/л Fe(III)-EDDHA составило от 20 до 37 %, по сравнению со средой с 36,7 мг/л Fe(III)-EDTA — от 10 до 16 %. Выявлено, что наибольшим морфогенетическим потенциалом характеризовался сорт ‘Черносливовый’, у которого коэффициент размножения был больше в 1,4–2,1 раза, чем у других сортов. Установлено, что на укореняемость и морфометрические параметры корневой системы влияли сортовые особенности крыжовника, тип и концентрация ауксинов в питательной среде 1/2 Murashige and Skoog. Показано, что использование питательных сред с 0,5...1,5 мг/л индолил-3-масляной кислоты способствовало образованию большего числа корней, а с 0,5...1,5 мг/л индолил-3-уксусной кислоты увеличивало их длину. Установлено, что использование питательной среды с добавлением 0,5 мг/л индолил-3-масляной кислоты было наиболее эффективным для укоренения большинства исследуемых сортов.

Ключевые слова: крыжовник обыкновенный *Ribes uva-crispa* L., клональное микроразмножение, коэффициент размножения, ризогенез

Ссылка для цитирования: Крахмалева И.Л., Королева О.В., Молканова О.И. Особенности регенерации и укоренения сортов крыжовника обыкновенного *Ribes uva-crispa* L. в культуре *in vitro* // Лесной вестник / Forestry Bulletin, 2024. Т. 28. № 5. С. 94–103. DOI: 10.18698/2542-1468-2024-5-94-103

Плодово-ягодные культуры имеют большое сельскохозяйственное и экономическое значение. Включение ягод и фруктов в рацион питания обеспечивает организм человека необходимыми для него антиоксидантами, каротиноидами, фенольными соединениями, сахарами, кислотами и др. [1].

Ценной ягодной культурой, представляющей коммерческий интерес, является крыжовник обыкновенный (*Ribes uva-crispa* L.) семейства Крыжовниковые (Grossulariaceae DC.). Его плоды характеризуются высоким содержанием белков, антоцианов, углеводов, сахаров (преобладают моносахариды), клетчатки, витаминов (А, В₁, В₂, В₃, В₆, В₉, С, Е), Р-активных и пектиновых веществ. Кроме этого, в плодах содержатся такие элементы, как калий, магний, натрий, кальций, фосфор и др. [2, 3]. Плоды крыжовника являются естественным источником органических кислот, в них в равных соотношениях содержатся лимонная и яблочная кислоты [4]. Основными антиоксидантами в ягодах служат р-кумаровая кислота,

кемпферол и гликозиды изораметина, цианидина, кверцетина [5, 6]. Такой ценный химический состав ягод крыжовника очень полезен для употребления в свежем виде. Однако их в различной степени зрелости используют и для переработки, сушки, заморозки, приготовления различных напитков и в виноделии [7]. Благодаря значительному содержанию пектинов крыжовник применяется в кондитерской промышленности [8]. Масло косточек крыжовника, полученное при его переработке, содержит токохроманолы (69,13 мг /100 г), что обеспечивает производство новых продуктов, богатых витамином Е, в частности в фармацевтической и косметической промышленности [9].

Сок крыжовника отличается антибактериальной активностью в отношении штаммов бактерий, вызывающих заболевание под названием акне (*Staphylococcus aureus* и *S. epidermidis*), удаляет до 91 % свободных радикалов [10]. Метанольные экстракты из плодов крыжовника характеризуются противогрибковыми свойствами в отношении штаммов *Candida glabrata* и *C. lipolytica* [11].

Крыжовник — это ягодный кустарник, трудно поддающийся размножению традиционными способами, что обусловило развитие производства качественного посадочного материала перспективных сортов крыжовника, ускорению которого значительно способствует применение биотехнологических методов размножения [12]. Исследования по микроразмножению крыжовника проводятся как российскими, так и зарубежными учеными. Крыжовник с трудом размножается в условиях *in vitro* в связи с высокой гетерогенностью сортов, влияющий на образование и развитие микропобегов. При культивировании образуются конгломераты мелких микропобегов, появляются оводненные экспланты, развиваются некроз и пожелтение листьев [13–15]. Изучению особенностей ризогенеза крыжовника в культуре *in vitro* посвящены лишь единичные работы [16, 17].

Известно, что эффективность клонального микроразмножения растений в значительной степени зависит от состава питательной среды. В частности железо необходимо для нормального роста и развития как важный микроэлемент, участвующий в процессах фотосинтеза и дыхания, в метаболических реакциях, происходящих в клетках растений, особенно в биосинтезе хлорофилла, поэтому при дефиците железа существенно замедляется рост растений и возникает вероятность развития хлороза. Железо используется в виде хелатов $\text{FeSO}_4 + \text{EDTA}$ (этилендиаминтетрауксусная кислота) или ее динатриевой соли Na_2EDTA (трилон Б). При этом в среде $\text{FeSO}_4 + \text{EDTA}$ может выпадать в осадок, что снижает его биодоступность и обеспечивает образование соединений, ингибирующих рост растений [18, 19]. Хелат железа Fe(III)-EDDHA более фотостабилен, чем хелат Fe(III)-EDTA , в широком диапазоне кислотности вследствие его низкого окислительно-восстановительного потенциала [20]. Таким образом, использование стабильных форм железа при культивировании *in vitro* увеличивает его доступность. Замена Fe(III)-EDTA на Fe(III)-EDDHA показала положительное влияние на микроразмножение и укоренение растений различных таксономических групп, в частности сортов *Rubus idaeus* L. [21], *Corylus avellana* L. × *C. americana* M. сорта ‘Geneva’ [22], сортов *Syringa* L. [23] и *Phoenix dactylifera* L. [24].

Цель работы

Цель работы — оптимизация состава питательных сред на этапах собственно микроразмножения и укоренения сортов крыжовника.

Материалы и методы исследования

Исследования проводились в лаборатории биотехнологии растений ФГБУН «Главный ботани-

ческий сад им. Н.В. Цицина Российской академии наук» (ГБС РАН). В качестве объектов использовали сорта крыжовника ‘Грушенька’, ‘Берилл’, ‘Ксения’ и ‘Черносливовый’.

Методика биотехнологических исследований изолированных тканей и органов растений основывалась на общепринятых классических приемах [25], усовершенствованных в лаборатории биотехнологии растений ГБС РАН [26].

На этапе собственно микроразмножения использовали питательную среду Quorin and Lepointe (QL) [27] с добавлением 0,3 мг/л 6-бензиламинопурина (6-БАП) (Sigma, США) и различных форм хелата железа: 36,7 мг/л Fe(III)-EDTA (контрольный вариант) и 100 мг/л Fe(III)-EDDHA . Через 30 сут. культивирования определяли морфометрические показатели эксплантов (число и высоту микропобегов) и на основе этого рассчитывали коэффициент размножения (как количество микропобегов, полученных за одно субкультивирование с одного экспланта). По высоте образовавшиеся микропобеги были условно разделены на три группы: низкие (от 3 до 5 мм), средние (от 6 до 9 мм) и высокие (от 10 мм и выше).

На этапе укоренения использовали питательную среду 1/2 Murashige and Skoog (1/2 MS, 1962) [28] с добавлением индолил-3-масляной (ИМК) (Sigma, США) и индолил-3-уксусной (ИУК) кислот (Serva, Германия) в концентрациях 0,5, 1,0 и 1,5 мг/л соответственно. В качестве контрольного варианта использовали питательную среду 1/2 MS без добавления ауксинов (Б/Г). Через 14 и 21 сут. культивирования учитывали развитие корневой системы (число корней и их длину), подсчитывали число укоренившихся микропобегов и затем на основе этого рассчитывали процент укоренения.

Условия культивирования эксплантов: освещенность 1500...2000 лк, фотопериод 16 ч, температура 23 ± 2 °С. Опыт проводился в трехкратной повторности, по 10 эксплантов в каждой. Статистическую обработку полученных данных проводили согласно общепринятым методам с использованием программ PAST 2.17c (Paleontological Statistics) и Microsoft Office Excel 2010. В таблицах и графиках представлены средние значения и их стандартные ошибки (\pm).

Результаты и обсуждение

Особенности клонального микроразмножения тесно связаны с биологическими особенностями исходных растений. В культуре *in vitro* регенерация микропобегов зависит от сортовых особенностей, состава питательной среды, размера экспланта и условий культивирования [26, 28].

При культивировании эксплантов крыжовника для большинства сортов свойственно образование

Т а б л и ц а 1

Морфометрические параметры сортов крыжовника на этапе собственно микроразмножения на питательной среде QL с разной формой железа

Morphometric parameters of gooseberry cultivars on QL medium with different iron forms at the multiplication stage

Сорт	Форма хелата железа	Высота микропобегов, мм	Число микропобегов, шт.	Коэффициент размножения
‘Берилл’	Fe(III)-EDTA	6,5 ± 0,3	2,4 ± 0,2	2,9 ± 0,2
	Fe(III)-EDDHA	9,1 ± 0,5	2,2 ± 0,2	3,2 ± 0,2
‘Грушенька’	Fe(III)-EDTA	6,6 ± 0,2	4,1 ± 0,2	4,5 ± 0,2
	Fe(III)-EDDHA	7,1 ± 0,2	3,2 ± 0,2	3,6 ± 0,2
‘Ксения’	Fe(III)-EDTA	7,0 ± 0,3	2,6 ± 0,2	3,1 ± 0,3
	Fe(III)-EDDHA	7,3 ± 0,3	2,7 ± 0,2	3,3 ± 0,2
‘Черносливовый’	Fe(III)-EDTA	7,0 ± 0,1	5,5 ± 0,2	6,1 ± 0,3
	Fe(III)-EDDHA	7,4 ± 0,2	5,2 ± 0,2	6,2 ± 0,3

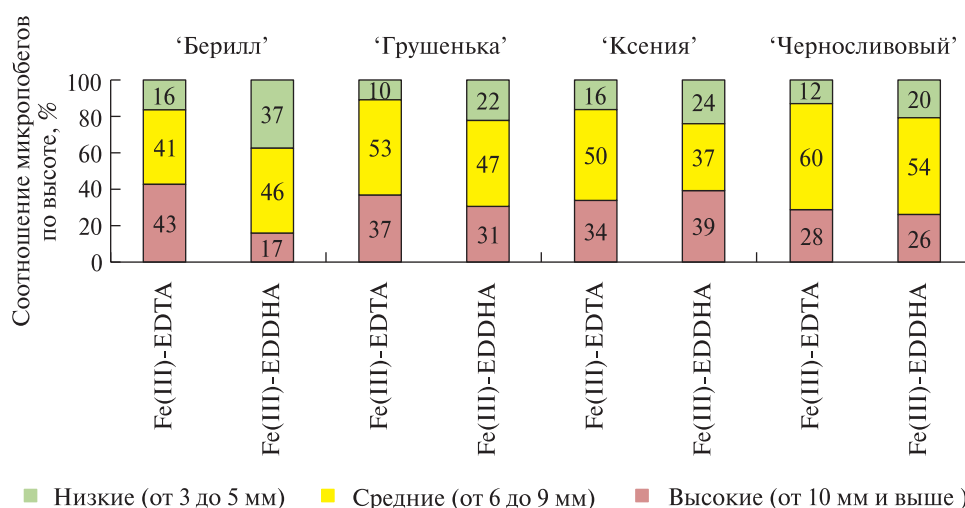


Рис. 1. Влияние формы хелата железа в среде QL на высоту микропобегов сортов крыжовника на этапе собственно микроразмножения

Fig. 1. The effect of chelated form of iron in QL medium on the height of microshoots of gooseberry cultivars at the multiplication stage

конгломератов мелких микропобегов, которые сложно использовать для дальнейшего укоренения. Для повышения высоты микропобегов крыжовника некоторые исследования показали эффективность использования дополнительного этапа элонгации — культивирование на питательной среде с пониженным содержанием макроэлементов (на 20 %), 6-БАП (0,1...0,3 мг/л) и в сочетании с гибберелловой кислотой (0,05...1,0 мг/л), 0,1 мг/л ИМК или витаминно-минеральным комплексом «Компливит» (2,0 г/л) [16, 30, 31].

В процессе исследования установлено влияние разных форм железа в питательной среде QL на морфометрические параметры микропобегов крыжовника. При использовании среды с Fe(III)-EDDHA отмечено увеличение высоты микропобегов сортов ‘Берилл’ и ‘Грушенька’ в 1,1–1,4 раза. Существенных различий в высоте микропобегов у сортов ‘Ксения’ и ‘Черносливовый’ на исследуемых средах не выявлены. При

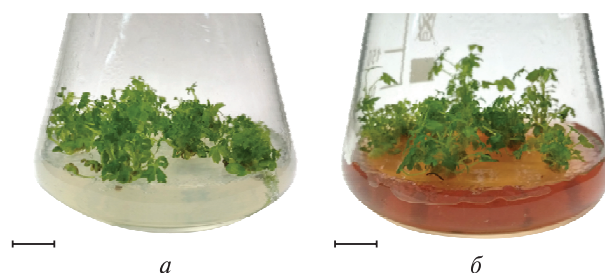


Рис. 2. Развитие микропобегов сорта ‘Черносливовый’ на питательной среде QL с 0,5 мг/л 6-БАП и разными формами железа: а — Fe(III)-EDTA; б — Fe(III)-EDDHA (масштаб 1:1,0 см)

Fig. 2. Development of ‘Chernoslivovyy’ microshoots on QL media with 0,5 mg/L 6-BAP and different iron chelates: а — Fe(III)-EDTA; б — Fe(III)-EDDHA (Bar = 1:1,0 cm)

этом у сортов ‘Берилл’, ‘Ксения’ и ‘Черносливовый’ по числу микропобегов и коэффициенту размножения на средах с разной формой железа различий не обнаружено (табл. 1).

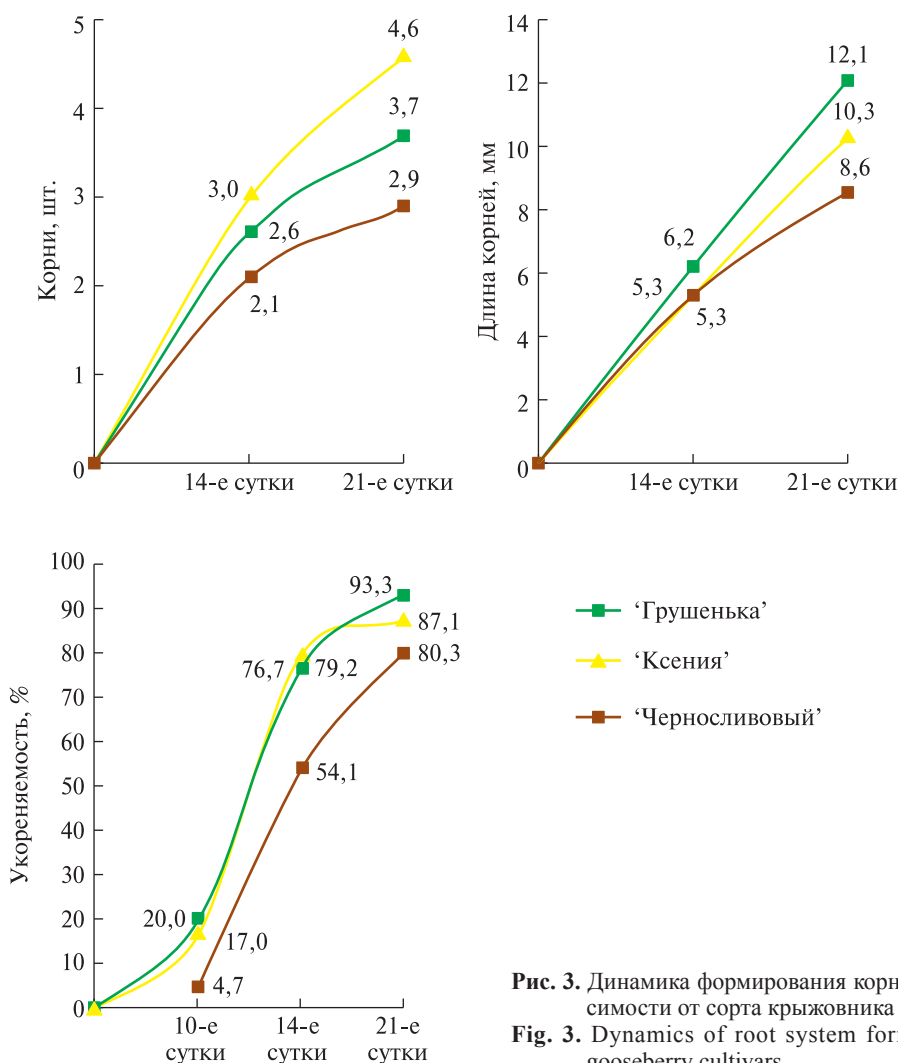


Рис. 3. Динамика формирования корневой системы в зависимости от сорта крыжовника
 Fig. 3. Dynamics of root system formation depending on gooseberry cultivars

В процессе исследования отмечали влияние сортовых особенностей на регенерацию микропобегов крыжовника. Наибольшим морфогенетическим потенциалом характеризуется сорт 'Черносливовый' (коэффициент размножения $6,1 \pm 0,3$ и $6,2 \pm 0,3$ соответственно формам железа Fe(III)-EDTA и Fe(III)-EDDHA). У сорта 'Берилл' при использовании среды с хелатом Fe(III)-EDDHA наблюдали наибольшее увеличение высоты микропобегов (в 1,4 раза), тогда как у сорта 'Грушенька' на данной среде увеличилась высота микропобегов в 1,1 раза, однако уменьшились их число (с $4,1 \pm 0,2$ до $3,2 \pm 0,2$ шт.) и коэффициент размножения (с $4,5 \pm 0,2$ до $3,6 \pm 0,2$). Существенных различий в высоте микропобегов на исследуемых средах у сортов 'Ксения' и 'Черносливовый' не установлено.

У сортов 'Берилл', 'Грушенька' и 'Черносливовый' при культивировании на питательных средах с добавлением Fe(III)-EDDHA выявлено уменьшение (соответственно 17, 31 и 26 %) процента низких микропобегов по сравнению со средой, содержащей хелат Fe(III)-EDTA (со-

ответственно 43, 37 и 28 %). У сорта 'Ксения' больший процент низких микропобегов наблюдали на среде с хелатом Fe(III)-EDDHA (39 %). При этом процент микропобегов, пригодных для дальнейшего укоренения (высотой 10 мм и выше), на среде с хелатом Fe(III)-EDDHA увеличивался у всех исследуемых сортов до 20...37 % (рис. 1, 2).

Установлено, что форма источника железа (Fe^{2+}), валентность иона железа, типы лигандов и их концентрации в составе питательной среды QL являются важными факторами при размножении и укоренении *R. uva-crispa* сорта 'Розовый-2' [32, 33]. Однако в данных работах указана меньшая эффективность хелата Fe(III)-EDDHA при его введении в состав питательной среды по сравнению с хелатом Fe(III)-EDTA, в отличие от полученных нами результатов.

Этап укоренения является важной стадией клонального микроразмножения, когда основной задачей является формирование развитой корневой системы у регенерантов для последующей адаптации в условиях *ex vitro*. Для укоренения сортов крыжовника используют в основном

Т а б л и ц а 2

Морфометрические параметры корневой системы и укореняемость сортов крыжовника при применении разных типа и концентрации ауксинов

Morphometric parameters of the root system and rootability of gooseberry cultivars when using different types and concentrations of auxins

Сорт	Тип ауксина	Концентрация, мг/л	Число корней, шт.	Длина корней, мм	Укореняемость, %	
'Грушенька'	Б/Г (контрольный вариант)	0,0	1,5 ± 0,1	13,5 ± 1,9	73,3	
		ИМК	0,5	4,3 ± 0,3	12,3 ± 0,7	98,3
			1,0	4,5 ± 0,4	9,3 ± 0,6	94,6
	ИУК	1,5	3,7 ± 0,3	8,0 ± 0,5	96,7	
		0,5	3,6 ± 0,3	16,7 ± 0,9	95,0	
		1,0	4,0 ± 0,3	13,9 ± 0,9	96,7	
'Ксения'	Б/Г (контрольный вариант)	0,0	2,0 ± 0,3	10,5 ± 1,1	35,1	
		ИМК	0,5	5,8 ± 0,5	9,1 ± 0,6	100,0
			1,0	6,0 ± 0,5	8,5 ± 0,5	96,7
	ИУК	1,5	4,5 ± 0,4	7,3 ± 0,5	91,1	
		0,5	3,9 ± 0,3	13,7 ± 0,8	100,0	
		1,0	4,9 ± 0,4	11,2 ± 0,8	95,6	
'Черносливовый'	Б/Г (контрольный вариант)	0,0	2,0 ± 0,2	10,4 ± 1,2	46,7	
		ИМК	0,5	4,0 ± 0,3	8,4 ± 0,5	93,3
			1,0	3,4 ± 0,2	6,6 ± 0,4	96,7
	ИУК	1,5	3,5 ± 0,2	5,7 ± 0,4	97,8	
		0,5	2,6 ± 0,3	10,6 ± 0,9	81,2	
		1,0	2,3 ± 0,3	8,4 ± 1,1	73,3	
		1,5	2,5 ± 0,3	10,0 ± 1,2	73,3	

питательную среду с добавлением ИМК [16, 17]. Кроме того, было показано, что некоторые сорта крыжовника укореняются до 50 % при культивировании на безгормональной среде QL [34].

Начало корнеобразования у эксплантов крыжовника наблюдали уже после 10 сут. культивирования. Установлено влияние сортовых особенностей на развитие корневой системы крыжовника (рис. 3).

Наибольшей частотой ризогенеза на 10-е сутки характеризуются сорта 'Грушенька' (20,0 %) и 'Ксения' (17,0 %). У сорта 'Черносливовый' — 4,7 % укорененных эксплантов. Через 14 и 21 сут. у данных сортов сохранялась подобная тенденция: 'Грушенька' (76,7 и 93,3 % соответственно) > 'Ксения' (79,2 и 87,1 %) > 'Черносливовый' (54,1 % и 80,3 %). Определены различия в морфометрических параметрах корневой системы. Сорт 'Ксения' отличается наибольшим числом корней (3,0 на 14-е и 4,6 шт. на 21-е сутки), сорт 'Грушенька' — наибольшей их длиной (соответственно 6,2 и 12,1 мм). Наименее развита корневая система у сорта 'Черносливовый': число корней 2,1 и 2,9 шт. и длина корней 5,3 и 8,6 мм соответственно.

На развитие корневой системы исследуемых сортов крыжовника оказывают влияние тип и концентрация ауксина в составе питательной среды (табл. 2, рис. 4).

Исследуемые сорта крыжовника отличаются и укоренением. Наибольший процент укорененных микропобегов зафиксирован у сорта 'Черносливовый' на средах с добавлением ИМК (93,3...97,8 %) по сравнению со средами с ИУК (73,3...81,2 %). У других сортов различий в частоте ризогенеза на средах с ИМК и ИУК не выявлено.

Добавление в состав питательной среды ауксинов ИМК и ИУК способствовало достоверному увеличению числа корней по сравнению с контрольной средой без них. При культивировании микропобегов на питательной среде с ИМК наблюдали образование большого числа корней. Добавление в питательную среду ИУК приводило к формированию более длинных корней.

У микропобегов крыжовника на питательных средах с большей концентрацией ауксинов (1,0 и 1,5 мг/л) уменьшались количество корней и их длина, снижался процент укорененных микропобегов, за исключением сорта 'Грушенька', у которого при культивировании на данных средах

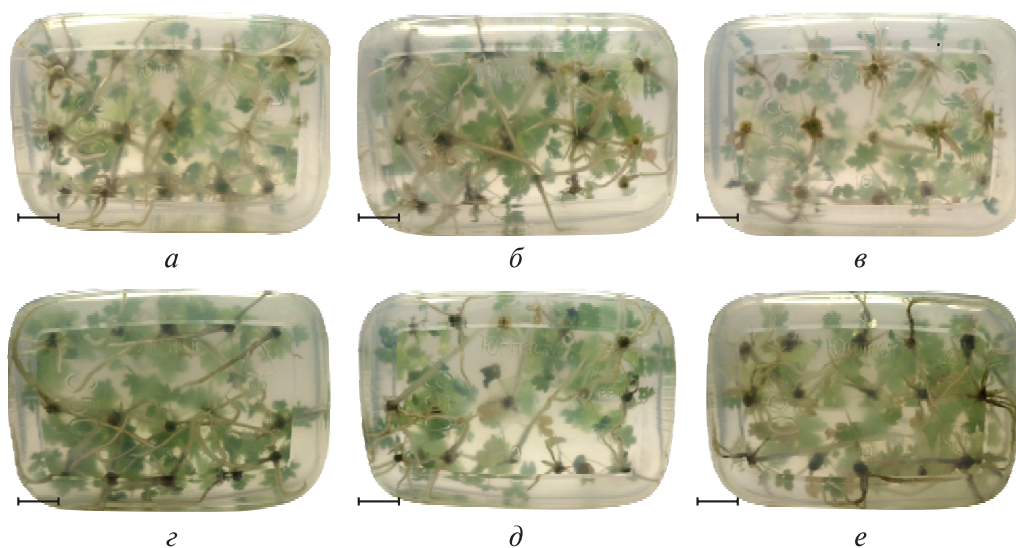


Рис. 4. Развитие корневой системы сорта 'Ксения' на средах с добавлением индолил-3-масляной кислоты в концентрации 0,5...1,5 мг/л (а-в) и индолил-3-уксусной кислоты в концентрации 0,5...1,5 мг/л (г-е) (масштаб 1:1,0 см)

Fig. 4. Development of the root system of the cultivar 'Kseniya' on media with 0,5...1,5 mg/L IBA (a-e) and 0,5...1,5 mg/L IAA (z-e) (Bar = 1:1,0 cm)

не выявлены существенные различия по числу корней ($3,6 \pm 0,3 \dots 4,5 \pm 0,4$ шт.), и сорта 'Ксения' — на средах с повышением концентрации ИУК число корней увеличивалось (от $3,9 \pm 0,3$ до $5,4 \pm 0,4$ шт.).

У всех исследуемых сортов отмечено спонтанное укоренение на безгормональной среде. Наибольшей частотой ризогенеза на данной среде характеризуется сорт 'Грушенька' (73,3 %). У сортов 'Ксения' и 'Черносливовый' — меньшие значения (35,1 и 46,7 %), однако на данной среде корни тонкие и их число на микропобегах не выше 2,0 шт.

Выводы

На этапе собственно микроразмножения для элонгации микропобегов крыжовника наиболее эффективно использование хелата Fe(III)-EDDHA в составе питательной среды QL по сравнению с Fe(III)-EDTA. При культивировании на средах с хелатом Fe(III)-EDDHA наблюдается увеличение высоты микропобегов в 1,1–1,4 раза. Процент микропобегов, пригодных для дальнейшего укоренения (высотой 10 мм и выше), на средах с Fe(III)-EDDHA составил от 20 до 37 % в зависимости от сорта.

На этапе укоренения наиболее эффективно использование преимущественно питательной среды 1/2 MS с добавлением 0,5 мг/л ИМК. На частоту ризогенеза и формирование корневой системы оказывают влияние сортовые особенности крыжовника, тип и концентрация ауксинов.


Работа выполнена в рамках государственного задания ГБС РАН (№ 122042700002-6).

Список литературы

- [1] Wang H., Cao G., Prior R.L. Total antioxidant capacity of fruits // J. of agricultural and food chemistry, 1996, v. 44(3), pp. 701–705. DOI: 10.1021/jf950579y
- [2] Голуб О.В., Ковалевская И.Н., Габерман Т.С. Товароведная характеристика ягод крыжовника // Техника и технология пищевых производств, 2010. Т. 17. № 2. С. 73–77. URL: https://fptt.ru/upload/journals/fptt/2010_17_2/№%2017.pdf (дата обращения 27.02.2023).
- [3] Толстогузова В.Г. Земляника садовая и крыжовник в Нечерноземье. М.: Изд-во ВСТИСП, 2017. 180 с.
- [4] Viljakainen S., Visti A., Laakso S. Concentrations of organic acids and soluble sugars in juices from Nordic berries // Acta Agriculturae Scandinavica, Section B-Plant Soil Science, 2002, v. 52(2), pp. 101–109. DOI: 10.1080/090647102321089846
- [5] Häkkinen S.H., Kärenlampi S.O., Heinone, I.M., Mykkänen H.M., Törrönen A.R. Content of the flavonols quercetin, myricetin, and kaempferol in 25 edible berries // J. of Agricultural and Food Chemistry, 1999, v. 47(6), pp. 2274–2279. DOI: 10.1021/jf9811065
- [6] Määttä-Riihinen K.R., Kamal-Eldin A., Mattila P.H., González-Paramás A.M., Törrönen A.R. Distribution and contents of phenolic compounds in eighteen Scandinavian berry species // J. of Agricultural and Food Chemistry, 2004, v. 52(14), pp. 4477–4486. DOI: 10.1021/jf049595y
- [7] Ковешникова Е.Ю. Перспективы промышленного производства плодов крыжовника // Садоводство и виноградарство, 2001, № 3. С. 24–27.
- [8] Типсина Н.Н., Демиденко Г.А., Гречишниковна Н.А. Использование крыжовника в мучных кондитерских изделиях // Вестник Красноярского государственного аграрного университета, 2015, № 4. С. 41–44. URL: <http://www.kgau.ru/vestnik/content/2015/4.pdf> (дата обращения 27.02.2023).
- [9] Gónas P., Soliven A., Segliņa D. Seed oils recovered from industrial fruit by products are a rich source of tocopherols and tocotrienols: Rapid separation of $\alpha/\beta/\gamma/\delta$ homologues

- by RP HPLC/FLD // European J. of Lipid Science and Technology, 2015, v. 117(6), pp. 773–777.
DOI: 10.1002/EJLT.201400566
- [10] Ördögh, L., Galgóczy L., Krisch J., Papp T., Vágvölgyi C. Antioxidant and antimicrobial activities of fruit juices and pomace extracts against acne-inducing bacteria // Acta Biologica Szegediensis, 2010, v. 54(1), pp. 45–49. URL: <https://abs.bibl.u-szeged.hu/index.php/abs/article/view/2685> (дата обращения 27.02.2023).
- [11] Krisch J., Ördögh L., Galgóczy L., Papp T., Vágvölgyi C. Anticandidal effect of berry juices and extracts from *Ribes* species // Open Life Sciences, 2009, v. 4(1), pp. 86–89. DOI: 10.2478/s11535-008-0056-z
- [12] Титова Ю.Г., Курашев О.В. Основополагающие модели размножения посадочного материала крыжовника (обзор литературы) // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии, 2021. № 5. С. 60–68.
- [13] Dziejczak E., Jagła J. Micropropagation of *Rubus* and *Ribes* spp // Protocols for Micropropagation of Selected Economically-Important Horticultural Plants. Totowa, NJ: Humana Press, 2012, pp. 149–160. DOI: 10.1007/978-1-62703-074-8_11
- [14] Оверченко О.В., Ключаденко А.А., Ліханов А.Ф., Костенко С.М., Мельничук М.Д. Розмноження перспективних сортів агрусу (*Grossularia reclinata* L.) в культурі *in vitro* // Науковий вісник НЛТУ України, 2014. Вып. 24(8). С. 87–93.
- [15] Kucharska D., Orlikowska T., Maciorowski R., Kunka M., Wójcik D., Pluta S. Application of meta-Topolin for improving micropropagation of gooseberry (*Ribes grossularia*) // Scientia Horticulturae, 2020, v. 272, p. 109529. DOI: 10.1016/j.scienta.2020.109529
- [16] Размножение плодовых растений в культуре *in vitro* / под ред. Н.В. Кухарчик. Минск: Беларуская навука, 2016. 236 с.
- [17] Кузнецова И.Б., Макаров С.С. Влияние росторегулирующих веществ на процесс корнеобразования крыжовника на этапе «укоренение *in vitro*» // Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии им. В.Р. Филиппова, 2020. № 1(58). С. 114–117. DOI: 10.34655/bgsha.2020.58.1.017
- [18] Dalton C.C., Iqbal K., Turner D. A. Iron phosphate precipitation in Murashige and Skoog media // Physiologia Plantarum, 1983, v. 57, pp. 472–476. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1983.tb02771.x
- [19] Hangarter R.P., Stasinopoulos T.C. Effect of Fe-catalyzed photooxidation of EDTA on root growth in plant culture media // Plant physiology, 1991, v. 96(3), pp. 843–847. DOI: 10.1104/pp.96.3.843
- [20] Gómez Gallego M., Pellico D., Ramírez López P., Mancheño M. J., Romano S., Torre M.C., Sierra M.A. Understanding of the mode of action of FeIII–EDDHA as iron chlorosis corrector based on its photochemical and redox behavior // Chemistry: A European J., 2005, v. 11(20), pp. 5997–6005. DOI: 10.1002/chem.200500286
- [21] Zawadzka M., Orlikowska T. The influence of FeEDDHA in red raspberry cultures during shoot multiplication and adventitious regeneration from leaf explants // Plant cell, tissue and organ culture, 2006, v. 85(2), pp. 145–149. DOI: 10.1007/s11240-005-9063-1
- [22] Garrison W., Dale A., Saxena P.K. Improved shoot multiplication and development in hybrid hazelnut nodal cultures by ethylenediamine di-2-hydroxy-phenylacetic acid (Fe-EDDHA) // Canadian J. of Plant Science, 2013, v. 93(3), pp. 511–521. DOI: 10.4141/cjps2012-218
- [23] Королева О.В., Егорова Д.А., Молканова О.И. Влияние источника железа в составе питательной среды на морфогенетический потенциал и укореняемость представителей рода *Syringa* L. // Плодоводство и ягодоводство России, 2020. Т. 59. С. 33–38. DOI: 10.31676/2073-4948-2019-59-33-38
- [24] Al-Mayahi A.M.W. In vitro plant regeneration system for date palm (*Phoenix dactylifera* L.): effect of chelated iron sources // J. of Genetic Engineering and Biotechnology, 2021, v. 19(1), pp. 1–9. DOI: 10.1186/s43141-021-00177-4
- [25] Бутенко Р.Г. Биология культивируемых клеток и биотехнология растений. М.: Наука, 1991. 279 с.
- [26] Молканова О.И., Королева О.В., Стахеева Т.С., Крахмалева И.Л., Мелешук Е.А. Совершенствование технологии клонального микроразмножения ценных плодовых и ягодных культур для производственных условий // Достижения науки и техники АПК, 2018, Т. 32. № 9. С. 66–69. DOI: 10.24411/0235-2451-2018-10915
- [27] Quoirin M., Lepoivre P. Improved medium for *in vitro* culture of *Prunus* sp. // Acta Horticulturae, 1977, v. 78, pp. 437–442. DOI: 10.17660/ActaHortic.1977.78.54
- [28] Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiologia Plantarum, 1962, v. 15(3), pp. 473–497. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
- [29] Основы создания генобанка *in vitro* видов, сортов и отборных форм декоративных, ароматических и плодовых культур / под ред. И.В. Митрофановой. Симферополь: Ариал, 2018. 260 с.
- [30] Матушкина О.В., Пронина И.Н. Клональное микроразмножение плодовых и ягодных культур в системе производства высококачественного посадочного материала // Научные основы эффективного садоводства: Труды Всероссийского научно-исследовательского института садоводства имени И.В. Мичурина: 75 лет со дня основания: город Мичуринск — наукоград Российской Федерации. Воронеж: Кварта, 2006, С. 327–342.
- [31] Сковородников Д.Н. Совершенствование клонального микроразмножения крыжовника // Вестник ОрелГАУ, 2012. № 6(39). С. 24–26.
- [32] Nikulina E., Akimova S., Tsiurlnikova N., Kirkach V. Different Fe (III) and Fe (II) complexes in clonal micropropagation of Gooseberry // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2020, v. 578. p. 012015. DOI: 10.1088/1755-1315/578/1/012015
- [33] Nikulina E. A., Akimova S.V., Tsiurlnikova N.V., Glinushkin A.P., Dolgoborodov I.O., Kirkach V.V. Screening of different Fe (II) and Fe (III) complexes at the stage of rhizogenesis *in vitro* of gooseberry plants // J. of Physics: Conference Series, 2021, v. 1942, pp. 012075. DOI: 10.1088/1742-6596/1942/1/012075
- [34] Welander M. Micropropagation of gooseberry, *Ribes grossularia* // Scientia Horticulturae, 1985, v. 26(3), pp. 267–272. DOI: 10.1016/0304-4238(85)90114-1

Сведения об авторах

Крахмалева Ирина Леонидовна  — мл. науч. сотр. лаборатории биотехнологии растений, ФГБУН «Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина Российской академии наук» (ГБС РАН), seglory@bk.ru

Королева Ольга Васильевна — науч. сотр. лаборатории биотехнологии растений, ФГБУН «Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина Российской академии наук» (ГБС РАН), elaem@yandex.ru

Молканова Ольга Ивановна — канд. с.-х. наук, вед. науч. сотр., заведующий лабораторией биотехнологии растений, ФГБУН «Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина Российской академии наук» (ГБС РАН), molkanova@mail.ru.

Поступила в редакцию 03.04.2023.

Одобрено после рецензирования 06.10.2023.

Принята к публикации 28.11.2023.

REGENERATION AND ROOTING FEATURES OF *RIBES UVA-CRISPA* L. CULTIVARS *IN VITRO*

I.L. Krakhmaleva , O.V. Koroleva, O.I. Molkanova

Tsitsin Main Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences, 4, Botanicheskaya st., 127276, Moscow, Russia

seglory@bk.ru

The article focuses on optimizing medium composition for promising gooseberry (*Ribes uva-crispa* L.) cultivars at the multiplication and rooting stages. The research was carried out in the Laboratory of Plant Biotechnology of Tsitsin Main Botanical Garden of Russian Academy of Sciences in 2022. Cultivars ‘Berill’, ‘Grushen’ka’, ‘Kseniya’ and ‘Chernoslivovy’ were used in the experiments. The effect of iron chelate forms (Fe(III)-EDDHA and Fe(III)-EDTA) on morphogenetic parameters and development of gooseberry microshoots was determined. At the micropropagation stage addition of 100 mg/L Fe(III)-EDDHA to Quorin and Lepoivre medium increased the height of microshoots of the studied cultivars. The number of microshoots available for further rooting (10 mm height and above) ranged from 20 to 37 % on the media containing 100,0 mg/L Fe(III)-EDDHA compared to the media with 36,7 mg/L Fe(III)-EDTA (10...16 %). The highest morphogenetic potential was found in ‘Chernoslivovy’, which had 1,4...2,1 times higher multiplication rate than other cultivars. Rooting ability and morphometric parameters of root system were found influenced by genetic characteristics of gooseberry cultivars, type and concentration of auxins in half-strength Murashige and Skoog medium. Using of the media with 0,5...1,5 mg/L of Indolyl-3-butyric acid encouraged the formation of higher number of roots, whereas the media with 0,5...1,5 mg/L of Indolyl-3-acetic acid increased their length. Usage of medium with 0,5 mg/L Indole-3-butyric acid was found to be the most effective for rooting of most studied cultivars.

Keywords: *Ribes uva-crispa* L., clonal micropropagation, multiplication rate, rhizogenesis

Suggested citation: Krakhmaleva I.L., Koroleva O.V., Molkanova O.I. *Osobennosti regeneratsii i ukoreneniya sortov kryzhovnika obyknovennogo Ribes uva-crispa* L. v kul'ture in vitro [Regeneration and rooting features of *Ribes uva-crispa* L. cultivars in vitro]. Lesnoy vestnik / Forestry Bulletin, 2024, vol. 28, no. 5, pp. 94–103. DOI: 10.18698/2542-1468-2024-5-94-103

References

- [1] Wang H., Cao G., Prior R.L. Total antioxidant capacity of fruits // J. of agricultural and food chemistry, 1996, v. 44(3), pp. 701–705. DOI: 10.1021/jf950579y
- [2] Golub O.V., Kovalevskaya I.N., Gaberman T.S. *Tovarovednaya kharakteristika yagod kryzhovnika* [The commodity characteristic of gooseberries]. Tekhnika i tekhnologiya pishchevykh proizvodstv [Food Processing: Techniques and Technology], 2010, no. 2(17), pp. 73–77. Available at: https://fptt.ru/upload/journals/fptt/2010_17_2/№%2017.pdf (accessed 27.02.2023).
- [3] Tolstoguzova V.G. *Zemlyanika sadovaya i kryzhovnik v Nechernozeme* [Strawberries and gooseberries in the Non-Black-Earth Region]. Moscow: ARHC BAN, 2017, 180 p.
- [4] Viljakainen S., Visti A., Laakso S. Concentrations of organic acids and soluble sugars in juices from Nordic berries. Acta Agriculturae Scandinavica, Section B-Plant Soil Science, 2002, v. 52(2), pp. 101–109. DOI: 10.1080/090647102321089846
- [5] Häkkinen S.H., Kärenlampi S.O., Heinone, I.M., Mykkänen H.M., Törrönen A.R. Content of the flavonols quercetin, myricetin, and kaempferol in 25 edible berries. J. of Agricultural and Food Chemistry, 1999, v. 47(6), pp. 2274–2279. DOI: 10.1021/jf9811065
- [6] Määttä-Riihinen K.R., Kamal-Eldin A., Mattila P.H., González-Paramás A.M., Törrönen A.R. Distribution and contents of phenolic compounds in eighteen Scandinavian berry species. J. of Agricultural and Food Chemistry, 2004, v. 52(14), pp. 4477–4486. DOI: 10.1021/jf049595y
- [7] Koveshnikova E.Yu. *Perspektivy promyshlennogo proizvodstva plodov kryzhovnika* [Prospects for industrial production of gooseberry fruits]. Sadovodstvo i vinogradarstvo [Horticulture and viticulture], 2001, no. 3, pp. 24–27.

- [8] Tipsina N.N., Demidenko G.A., Grechishnikova N.A. *Ispolzovanie kryzhovnika v muchnykh konditerskikh izdeliyakh* [The use of gooseberries in flour confectionery]. Vestnik Krasnoyarskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta [Bulletin of the Krasnoyarsk State Agrarian University], 2015, no. 4, pp. 41–44. Available at: <http://www.kgau.ru/vestnik/content/2015/4.pdf> (accessed 27.02.2023).
- [9] Górnas P., Soliven A., Segliņa D. Seed oils recovered from industrial fruit by products are a rich source of tocopherols and tocotrienols: Rapid separation of $\alpha/\beta/\gamma/\delta$ homologues by RP HPLC/FLD. *European J. of Lipid Science and Technology*, 2015, v. 117(6), pp. 773–777. DOI: 10.1002/EJLT.201400566
- [10] Ördög, L., Galgóczy L., Krisch J., Papp T., Vágvölgyi C. Antioxidant and antimicrobial activities of fruit juices and pomace extracts against acne-inducing bacteria. *Acta Biologica Szegediensis*, 2010, v. 54(1), pp. 45–49. URL: <https://abs.bibl.u-szeged.hu/index.php/abs/article/view/2685> (дата обращения 27.02.2023).
- [11] Krisch J., Ördög L., Galgóczy L., Papp T., Vágvölgyi C. Anticandidal effect of berry juices and extracts from *Ribes* species. *Open Life Sciences*, 2009, v. 4(1), pp. 86–89. DOI: 10.2478/s11535-008-0056-z
- [12] Titova Yu.G., Kurashev O.V. *Osnovopolagayushchie modeli razmnzheniya posadochnogo materiala kryzhovnika (obzor literatury)* [Basic methods of gooseberry plant material propagation (literature review)]. Vestnik Kurskoy gosudarstvennoy sel'skokhozyaystvennoy akademii [Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy], 2021, no. 5, pp. 60–68.
- [13] Dziejic E., Jagla J. Micropropagation of *Rubus* and *Ribes* spp. Protocols for Micropropagation of Selected Economically-Important Horticultural Plants. Totowa, NJ: Humana Press, 2012, pp. 149–160. DOI: 10.1007/978-1-62703-074-8_11
- [14] Overchenko O.V., Kliuvadenko A.A., Likhanov A.F., Kostenko S.M., Melnychuk M.D. *Rozmnzheniya perspektivnykh sortiv arrusu (Grossularia reclinata L.) v kulturi in vitro* [The reproduction of gooseberries varieties (*Grossularia reclinata* L.) in vitro culture]. Naukoviy visnik NLTU Ukraïni [Scientific Bulletin of UNFU], 2014, v. 24(8), pp. 87–93.
- [15] Kucharska D., Orlikowska T., Maciorowski R., Kunka M., Wójcik D., Pluta S. Application of meta-Topolin for improving micropropagation of gooseberry (*Ribes grossularia*). *Scientia Horticulturae*, 2020, v. 272, p. 109529. DOI: 10.1016/j.scienta.2020.109529
- [16] *Razmnzhenie plodovykh rasteniy v kulture in vitro* [Reproduction of fruit plants in culture in vitro]. Ed. N.V. Kukharchik. Minsk: Belorusskaya nauka, 2016, 236 p.
- [17] Kuznetsova I., Makarov S. *Vliyanie rostoreguliruyushchikh veshchestv na protsess korneobrazovaniya kryzhovnika na etape «ukorenenie in vitro»* [Influence of growth-regulating substances on the process of root formation of gooseberries at the «rooting in vitro» stage]. Vestnik Buryatskoy gosudarstvennoy sel'skokhozyaystvennoy akademii im. V.R. Filippova [Bulletin of the Buryat State Agricultural Academy named after V. R. Filippov], 2020, no. 1(58), pp. 114–117. DOI: 10.34655/bgsha.2020.58.1.017
- [18] Dalton C.C., Iqbal K., Turner D. A. Iron phosphate precipitation in Murashige and Skoog media. *Physiologia Plantarum*, 1983, v. 57, pp. 472–476. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1983.tb02771.x
- [19] Hangarter R.P., Stasinopoulos T.C. Effect of Fe-catalyzed photooxidation of EDTA on root growth in plant culture media. *Plant physiology*, 1991, v. 96(3), pp. 843–847. DOI: 10.1104/pp.96.3.843
- [20] Gómez Gallego M., Pellico D., Ramírez López P., Mancheño M. J., Romano S., Torre M.C., Sierra M.A. Understanding of the mode of action of FeIII–EDDHA as iron chlorosis corrector based on its photochemical and redox behavior. *Chemistry: A European J.*, 2005, v. 11(20), pp. 5997–6005. DOI: 10.1002/chem.200500286
- [21] Zawadzka M., Orlikowska T. The influence of FeEDDHA in red raspberry cultures during shoot multiplication and adventitious regeneration from leaf explants. *Plant cell, tissue and organ culture*, 2006, v. 85(2), pp. 145–149. DOI: 10.1007/s11240-005-9063-1
- [22] Garrison W., Dale A., Saxena P.K. Improved shoot multiplication and development in hybrid hazelnut nodal cultures by ethylenediamine di-2-hydroxy-phenylacetic acid (Fe-EDDHA). *Canadian J. of Plant Science*, 2013, v. 93(3), pp. 511–521. DOI: 10.4141/cjps2012-218
- [23] Koroleva O.V., Egorova D.A., Molkanova O.I. *Vliyanie istochnika zheleza v sostave pitatelnoy sredy na morfogeneticheskiy potentsial i ukorenyaemost predstaviteley roda Syringa L.* [The influence of ferrum source in culture medium composition on morphogenetic potential and rooting ability of genus *Syringa* L. representatives]. *Plodovodstvo i yagodovodstvo Rossii* [Pomiculture and small fruits culture in Russia], 2019, v. 59, pp. 33–38. DOI: 10.31676/2073-4948-2019-59-33-38
- [24] Al-Mayahi A.M.W. In vitro plant regeneration system for date palm (*Phoenix dactylifera* L.): effect of chelated iron sources. *J. of Genetic Engineering and Biotechnology*, 2021, v. 19(1), pp. 1–9. DOI: 10.1186/s43141-021-00177-4
- [25] Butenko R.G. *Biologiya kultiviruemykh kletok i biotekhnologiya rasteniy* [Biology of cultivated cells and plant biotechnology]. Moscow: Science, 1991, 279 p.
- [26] Molkanova O.I., Koroleva O.V., Stacheeva T.S., Krakhmaleva I.L., Meleshchuk E.A. *Sovershenstvovanie tekhnologii klonalnogo mikrorazmnzheniya tsennykh plodovykh i yagodnykh kultur dlya proizvodstvennykh usloviy* [Improvement of clonal micropropagation technology of valuable fruit and berry crops varieties for commercial conditions]. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK* [Achievements of Science and Technology of AIC], 2018, v. 32(9), pp. 66–69. DOI: 10.24411/0235-2451-2018-10915
- [27] Quoirin M., Lepoivre P. Improved medium for *in vitro* culture of *Prunus* sp. *Acta Horticulturae*, 1977, v. 78, pp. 437–442. DOI: 10.17660/ActaHortic.1977.78.54
- [28] Murashige T., Skoog F.A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 1962, v. 15(3), pp. 473–497. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
- [29] *Osnovy sozdaniya genobanka in vitro vidov, sortov i otbornykh form dekorativnykh, aromatischeskikh i plodovykh kultur* [Fundamentals of in vitro genobank of species, cultivars and forms in ornamental, aromatic and fruit crops]. Ed. I.V. Mitrofanov. Simferopol: PH «ARIAL», 2018, 260 p.
- [30] Matushkina O.V., Pronina I.N. *Klonalnoe mikrorazmnzhenie plodovykh i yagodnykh kultur v sisteme proizvodstva vysokokachestvennogo materiala* [Clonal micropropagation of fruit and berry crops in the production system of high-quality material]. *Nauchnye osnovy effektivnogo sadovodstva: trudy Vserossiyskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta sadovodstva im. I.V. Michurina: 75 let so dnya osnovaniya: Michurinsk — Naukograd Rossiyskoy Federatsii* [Scientific foundations of effective gardening: proceedings of the All-Russian Scientific Research Institute of Horticulture named after I.V. Michurin: 75 years since its foundation: Michurinsk — Science City of the Russian Federation], Voronezh: Kvarta, 2006, pp. 327–342.

- [31] Skovorodnikov D.N. *Sovershenstvovanie klonalnogo mikrorazmnozheniya kryzhovnika* [Improvement of clonal micropropagation of gooseberries]. Vestnik OrelGAU [Bulletin of OrelSAU], 2012, no. 6(39), pp. 24–26.
- [32] Nikulina E., Akimova S., Tsiurlikova N., Kirkach V. Different Fe (III) and Fe (II) complexes in clonal micropropagation of Gooseberry. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2020, v. 578. p. 012015. DOI: 10.1088/1755-1315/578/1/012015
- [33] Nikulina E.A., Akimova S.V., Tsiurlikova N.V., Glinushkin A.P., Dolgoborodov I.O., Kirkach V.V. Screening of different Fe (II) and Fe (III) complexes at the stage of rhizogenesis in vitro of gooseberry plants. J. of Physics: Conference Series, 2021, v. 1942, pp. 012075. DOI: 10.1088/1742-6596/1942/1/012075
- [34] Welander M. Micropropagation of gooseberry, *Ribes grossularia*. Scientia Horticulturae, 1985, v. 26(3), pp. 267–272. DOI: 10.1016/0304-4238(85)90114-1

The work was carried out under the state assignment of MBG RAS (No. 122042700002-6).

Authors' information

Krakhmaleva Irina Leonidovna✉ — Junior researcher of Plant Biotechnology Laboratory, Tsitsin Main Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences, seglory@bk.ru

Koroleva Ol'ga Vasil'evna — Researcher of Plant Biotechnology Laboratory, Tsitsin Main Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences, elaem@yandex.ru

Molkanova Ol'ga Ivanovna — Cand. Sc. (Agr.), Leading researcher, Head of Plant Biotechnology Laboratory, Tsitsin Main Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences, molkanova@mail.ru

Received 03.04.2023.

Approved after review 06.10.2023.

Accepted for publication 28.11.2023.

Вклад авторов: все авторы в равной доле участвовали в написании статьи

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Authors' Contribution: All authors contributed equally to the writing of the article

The authors declare that there is no conflict of interest