

УДК 582.688.4:57.085.2

DOI: 10.5281/zenodo.7898485

EDN ESJIQT

Семенова Д. А., Крахмалева И. Л., Мишанова Е. В., Молканова О. И.,  
Митрофанова И. В.**ОСОБЕННОСТИ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕРСПЕКТИВНЫХ СОРТОВ *ACTINIDIA ARGUTA* В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO***

ФГБУН «Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН»

**Реферат.** *Actinidia arguta* (Sieb. et Zucc.) Planch. ex Miq. или мини-киви является ценной плодово-ягодной культурой. В настоящее время для размножения малораспространенных сортов *A. arguta*, успешно интродуцированных в условиях умеренного климата, актуально применять биотехнологические методы. Цель исследования – оптимизация приемов культивирования на этапе собственно микроразмножения перспективных сортов *A. arguta* для разработки эффективного метода клонального микроразмножения этой ценной культуры. Исследования проводили в 2022 г. в лаборатории биотехнологии растений Главного ботанического сада им. Н. В. Цицина Российской академии наук. В качестве объектов выбраны перспективные сорта селекции Федерального научного селекционно-технологического центра садоводства и питомниководства (Солнечный, Золотая Коса и Таежный Дар) и отборная мужская форма *A. arguta*. В процессе изучения установлено влияние генетических особенностей и состава питательной среды на регенерационный потенциал *A. arguta*. В качестве регуляторов роста использовали 6-бензиламинопурин, метатополин и тидиазурон. Установлено, что на питательной среде Quorin and Leroivre (QL) при повышении концентрации 6-бензиламинопурина с 0,5 до 1,0 мг/л высота микропобегов уменьшалась у сортов Солнечный (от  $18,8 \pm 0,7$  до  $12,4 \pm 0,6$  мм) и Таежный Дар (от  $22,8 \pm 1,0$  до  $19,1 \pm 1,1$  мм). При этом использование исследуемых концентраций 6-бензиламинопурина способствовало увеличению коэффициента размножения у большинства сортов, но существенных различий обнаружено не было. Вместе с тем установлена эффективность применения 0,5 мг/л метатополина в среде QL по сравнению с применением 0,5 мг/л 6-бензиламинопурина и 0,5 мг/л тидиазурана. При культивировании на среде с метатопололином у большинства сортов увеличивались высота микропобегов (от  $21,2 \pm 1,1$  до  $31,2 \pm 1,1$  мм в зависимости от сорта) и коэффициент размножения (от  $9,0 \pm 0,7$  до  $14,8 \pm 0,8$ ). Добавление тидиазурана в среду QL вызывало различные морфологические отклонения у эксплантов *A. arguta*.

**Ключевые слова:** мини-киви (*Actinidia arguta* (Sieb. et Zucc.) Planch. ex Miq.), клональное микроразмножение, регуляторы роста, коэффициент размножения.

**Для цитирования:** Семенова Д. А., Крахмалева И. Л., Мишанова Е. В., Молканова О. И., Митрофанова И. В. Особенности регенерации перспективных сортов *Actinidia arguta* в культуре *in vitro* // Таврический вестник аграрной науки. 2023. № 1(32). С. 93–103. DOI: 10.5281/zenodo.7898485. EDN: ESJIQT.

**For citation:** Semenova D. A., Krakhmaleva I. L., Mishanova E. V., Molkanova O. I., Mitrofanova I. V. Features of regeneration *in vitro* in promising *Actinidia arguta* cultivars // Taurida Herald of the Agrarian Sciences. 2023. No. 1(32). P. 93–103. DOI: 10.5281/zenodo.7898485. EDN: ESJIQT.

### Введение

*Actinidia arguta* (Sieb. et Zucc.) Planch. ex Miq. или мини-киви – древесная лиана из рода *Actinidia* Lindl., которая приобретает в настоящее время всё большее значение. Плоды *A. arguta* содержат витамины, полисахариды, фенолы, флавоны, алкалоиды, пектины и значительное количество минералов [1], богаты лютеином (до 0,93 мг/100 г сырой массы), витамином С (до 101 мг/100 г сырой массы), миоинозитолом (до 982 мг/100 г сырой массы) и веществами Р-активности (до 55 мг/100 г) [2, 3]. Кожура съедобна и содержит в 15 раз больше антиоксидантов, чем мякоть плода [4].

Большое количество важных с медицинской точки зрения химических веществ *A. arguta* послужили поводом для исследований его антиоксидантных, противоопухолевых и противовоспалительных свойств. Подтвержден потенциал этого растения в лечении гиперхолестеринемии, некоторых видов онкологии и желудочно-кишечных заболеваний [4]. Содержащийся в плодах актинидин способствует более полному и легкому усвоению белков в организме человека [3].

По результатам исследований регулярное употребление продуктов, содержащих фитохимические вещества (таких как полифенолы, каротиноиды и фитостеролы), оказывает существенное влияние на предупреждение некоторых заболеваний человека [5]. Поэтому особо актуальным становится поиск продуктов растительного происхождения, содержащих большое количество биологически активных компонентов и характеризующихся высокими вкусовыми качествами.

Цветки и плоды *A. arguta* содержат много соединений, представляющих интерес для производителей парфюмерно-косметической промышленности: линалоол и его производные – оксиды линалоола, альдегиды сирени, спирты и эпоксиды. Ароматический профиль является сложным, сочетающим ароматы цветов, банана и дыни с ароматами черной смородины, цитрусовых и тропических фруктов [6, 7].

*A. arguta* вместе с *A. kolomikta* (Rupr. et Maxim) Maxim. и *A. polygama* (Sieb. et Zucc.) Maxim. является одним из трех видов рода *Actinidia*, отличающаяся своей морозостойкостью. *A. arguta* способна выдерживать температуру до –30 °С. Коммерческие плантации в основном расположены в Северной Америке, Новой Зеландии, Европе и Китае [6]. Единичные фермерские хозяйства расположены в России. В 1980–1987 гг. в Юго-Восточной части Московской области в ФГБНУ «Федеральный научный селекционно-технологический центр садоводства и питомниководства» (ФНЦ Садоводства) начали интродуцировать вид *A. arguta*, сейчас коллекция включает более 60 образцов. В последнее время созданы и защищены патентами РФ пять сортов *A. arguta*: Горянка, Дачная, Натэлла, Таежный Дар с цветками функционально женскими и Солнечный с мужским типом цветения, обладающих достаточной зимостойкостью для возделывания в открытом грунте без укрытия и снятия со шпалер в зоне умеренного климата. Растения устойчивы к болезням и вредителям в полевых условиях, их засухоустойчивость и жаростойкость – средней степени [8].

Существует ряд трудностей при получении генетически однородного посадочного материала *A. arguta*. Данный вид является двудомным с облигатным ксеногамным типом опыления и при генеративном способе размножения характеризуется гетерогенностью. При семенном размножении в количественном соотношении могут преобладать растения как мужского, так и женского пола в зависимости от места произрастания исходных растений [9]. Поэтому поиск методов диагностики пола актинидии и критериев ее оценки на ювенильной стадии развития растений является важным направлением исследования [6]. Вегетативное

размножение мало распространенных сортов осложняется отсутствием большого количества маточных растений, так как некоторые перспективные сортообразцы представлены единичными экземплярами.

Поэтому возникает необходимость использования современных биотехнологических приемов для производства большого количества высококачественного посадочного материала данной культуры. Первый протокол микроразмножения актинидии был разработан Harada (1975) [10] и впоследствии был усовершенствован [11]. Большинство исследований проведено на виде *A. deliciosa* [12–14]. В 2017 г. опубликовано исследование, касающееся введения в культуру *in vitro* и микроразмножения *A. arguta* сорта 'Issai'. В качестве питательной среды на стадии микроразмножения была использована среда Cheng с добавлением 1,0 мг/л 6-бензиламинопурина (ВА) и 0,2 мг/л гибберелловой кислоты (GA<sub>3</sub>). Количество микропобегов при таком размножении не превышало 3 шт./эксплант [15]. В 2020 г. Radhia Nameg и др. проведена большая работа по моделированию и оптимизации питательной среды для культивирования *A. arguta* сорта 'Issai'. Разработанная питательная среда R отличалась от Murashige and Skoog снижением содержания азота на 20 %, повышением почти на 200 % всех остальных макроэлементов (Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> и SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>), увеличением на 50 % концентрации железа и на 100 % концентрации микроэлементов. В состав также входили 1,0 мг/л ВА и 1,0 мг/л GA<sub>3</sub>. Отмечено, что данная среда требует дополнительной модификации с учетом таких факторов, как концентрации витаминов, органических соединений и регуляторов роста [16].

Имеется ряд научных публикаций, указывающих на влияние регуляторов роста на развитие сортов *A. arguta* [17–19]. Сейчас актуальным является вопрос повышения коэффициента размножения у современных сортов *A. arguta*, так как ранее показано, что сортовые особенности оказывают существенное влияние на регенерацию микропобегов *in vitro* [17].

**Цель исследований** – оптимизация приемов культивирования на этапе собственно микроразмножения перспективных сортов *A. arguta* для разработки эффективного метода клонального микроразмножения этой ценной культуры.

#### **Материалы и методы исследований**

Исследования проводили на базе лаборатории биотехнологии растений ФГБУН «Главный ботанический сад им. Н. В. Цицина Российской академии наук» (ГБС РАН) в 2022 г. Объектами исследования были перспективные сорта (Солнечный, Золотая Коса и Таежный Дар) и отборная мужская форма *A. arguta*.

Методика биотехнологических исследований с культурами изолированных тканей и органов растений основана как на общепринятых классических приемах [20], так и разработанных в лаборатории биотехнологии растений ГБС РАН [18].

Для введения в культуру *in vitro* образцы актинидии отобраны из коллекции ФНЦ Садоводства. В качестве первичных эксплантов для инициации роста и развития использовали апикальные и латеральные почки. Оптимальной была последовательная стерилизация эксплантов, состоящая из обработки 2 % раствором фундазола с экспозицией 10 минут, 70 % этанолом в течение 30 секунд и 7 % гипохлоритом кальция с добавлением 1–2 капель Твин-20 в течение 5–7 минут. Некоторые экспланты культивировали в течение 10 суток на питательной среде QL (Quorin and Lepoivre, 1977) [21] с добавлением 0,25 мг/л антибиотика гентамицина.

В опыте использовали питательную среду QL, на которой ранее были получены оптимальные результаты [18]. В процессе исследования оценивали влияние концентраций ВА (0,5; 0,8; 1,0 мг/л) и различных регуляторов роста (ВА, метатополина (mT) и тидиазурона (TDZ) в концентрации 0,5 мг/л) на

морфометрические показатели изучаемых сортов *in vitro*. Контролем служила питательная среда с добавлением 0,5 мг/л ВА.

Регенеранты культивировали при освещении 1500–2000 лк, 16-часовом фотопериоде и температуре 23–25 С. Исследования проводили в трех повторностях, по 10 эксплантов в каждом варианте. Через 30 суток культивирования измеряли высоту микропобегов и учитывали число микропобегов, коэффициент размножения и частоту спонтанного ризогенеза.

Статистическую обработку данных проводили согласно стандартным методам с использованием пакета программ PAST (PAleontological STatistics). Достоверность различий между вариантами рассчитывали по t–критерию Стьюдента при  $p \leq 0,05$ . В таблицах и графиках представлены средние значения и их стандартные ошибки.

### Результаты и их обсуждение

При оптимизации технологии клонального микроразмножения необходимо учитывать особенности биологии и регенерации *in vitro* каждого таксона, которые зависят от множества факторов. Основными из них являются: генотип, эпигенетические характеристики клеток экспланта, физиологическое состояние интактных растений, состав питательной среды и условия культивирования.

При клональном микроразмножении неотъемлемым компонентом питательных сред являются регуляторы роста. Цитокинины влияют на различные ростовые процессы растений: способствуют делению клеток, индуцируют дифференцировку побегов, снимают апикальное доминирование, задерживают старение. Одним из самых наиболее используемых и эффективных регуляторов роста является ВА. Однако его применение часто оказывает негативное влияние на развитие растений, так как в процессе гликозилирования ВА образуются довольно устойчивые соединения – 6-бензиламинопурин-9-гликозиды, которые при накоплении ингибируют развитие тканей [22].

Нами установлено влияние концентрации ВА на морфометрические показатели сортов *A. arguta* (таблица 1).

**Таблица 1 – Морфометрические показатели перспективных сортов *A. arguta* на этапе собственно микроразмножения при культивировании на питательной среде QL с ВА**

Генотип	Концентрация ВА, мг/л	Высота, мм	Число микропобегов, шт.	Коэффициент размножения
Отборная мужская форма	0,5 (контроль)	17,3 ± 0,9	1,9 ± 0,1	8,4 ± 0,4
	0,8	16,2 ± 0,9	2,2 ± 0,1	8,5 ± 0,4
	1,0	14,8 ± 0,7	2,1 ± 0,1	7,6 ± 0,4
Солнечный	0,5 (контроль)	18,8 ± 0,7	2,0 ± 0,1	7,0 ± 0,3
	0,8	12,3 ± 0,6	1,9 ± 0,1	7,0 ± 0,3
	1,0	12,4 ± 0,6	2,3 ± 0,1	8,4 ± 0,4
Золотая Коса	0,5 (контроль)	17,4 ± 1,0	2,1 ± 0,1	9,8 ± 0,5
	0,8	16,9 ± 1,0	2,2 ± 0,2	10,0 ± 0,5
	1,0	17,6 ± 1,1	2,5 ± 0,1	10,9 ± 0,5
Таежный Дар	0,5 (контроль)	22,8 ± 1,0	1,9 ± 0,1	6,0 ± 0,4
	0,8	19,4 ± 1,2	2,1 ± 0,1	8,4 ± 0,4
	1,0	19,1 ± 1,1	2,1 ± 0,1	7,9 ± 0,3

Выявлено, что наибольшей высотой микропобегов отличались сорта Солнечный (18,8 ± 0,7 мм) и Таежный Дар (22,8 ± 1,0 мм) на среде QL с ВА в концентрации 0,5 мг/л. У отборной мужской формы и сорта Золотая Коса в вариантах с разной концентрацией ВА существенных различий не обнаружено.

Число микропобегов у всех исследуемых сортов в среднем составило 2 шт./эксплант. При этом сорт Золотая Коса характеризовался наибольшим числом микропобегов ( $2,5 \pm 0,1$  шт.) на среде с 1,0 мг/л ВА. Установлено, что с повышением концентрации ВА, вне зависимости от сорта, коэффициент размножения увеличивался. Однако у отборной мужской формы и сорта Таежный Дар при увеличении концентрации ВА до 1,0 мг/л наблюдали снижение коэффициента размножения. Отмечено, что наибольшим значением данного показателя характеризовался сорт Золотая Коса (от 9,8 до 10,9). В целом, коэффициент размножения существенно не отличался при использовании различных концентраций ВА, что позволяет использовать более низкие концентрации данного цитокинина на этапе собственно размножения.

В настоящее время из экстракта листьев тополя (*Populus × canadensis* Moench, cv. *robusta*) получен новый ароматический цитокинин – метатополин, который индуцирует образование микропобегов *in vitro* без морфологических деформаций (некроза кончиков побегов, гипергидратации и проч.) [23, 24]. При применении мТ на *Actinidia chinensis* var. *Chinensis* установлено, что показатели количества микропобегов и их массы, количества и площади листьев становятся значительно выше по сравнению с ВА или зеатином [25].

Нами установлено влияние различных типов цитокининов на рост и развитие сортов *A. arguta* (таблица 2).

**Таблица 2 – Морфометрические показатели перспективных сортов *A. arguta* на этапе собственно микроразмножения при применении разных регуляторов роста**

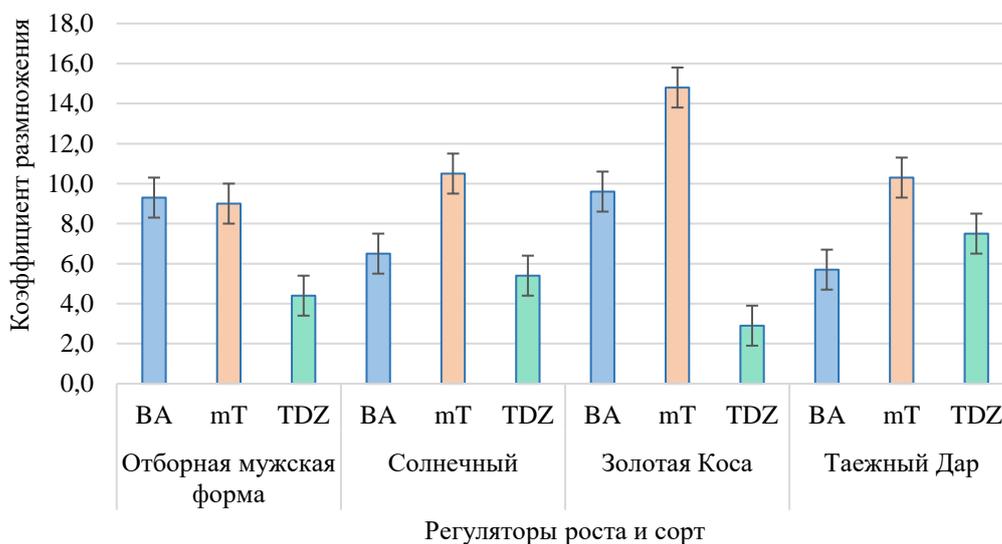
Генотип	Тип регулятора роста	Высота микропобегов, мм	Число микропобегов, шт.
Отборная мужская форма	ВА (контроль)	$18,6 \pm 1,3$	$1,9 \pm 0,1$
	мТ	$21,2 \pm 1,1$	$1,9 \pm 0,2$
	TDZ	$13,0 \pm 1,2$	$1,2 \pm 0,1$
Солнечный	ВА (контроль)	$20,5 \pm 1,3$	$1,9 \pm 0,1$
	мТ	$28,4 \pm 1,4$	$2,3 \pm 0,2$
	TDZ	$15,7 \pm 1,1$	$1,4 \pm 0,1$
Золотая Коса	ВА (контроль)	$14,8 \pm 1,0$	$2,1 \pm 0,2$
	мТ	$25,2 \pm 1,3$	$2,8 \pm 0,1$
	TDZ	$9,8 \pm 0,2$	$1,0 \pm 0,0$
Таежный Дар	ВА (контроль)	$24,3 \pm 1,3$	$1,8 \pm 0,1$
	мТ	$31,2 \pm 1,1$	$2,1 \pm 0,1$
	TDZ	$25,6 \pm 1,2$	$1,8 \pm 0,2$

При использовании мТ отмечено увеличение высоты микропобегов у всех исследуемых сортов. При этом в случае сортов Золотая Коса и Таежный Дар этот показатель достигал максимума ( $25,2 \pm 1,3$  мм и  $31,2 \pm 1,1$  мм соответственно) и достоверно отличался от других вариантов. Высота регенерантов отборной мужской формы не отличалась существенно в вариантах с ВА и мТ. При применении TDZ наблюдали наименьшие значения, только у сорта Таежный Дар данный регулятор способствовал увеличению высоты микропобегов.

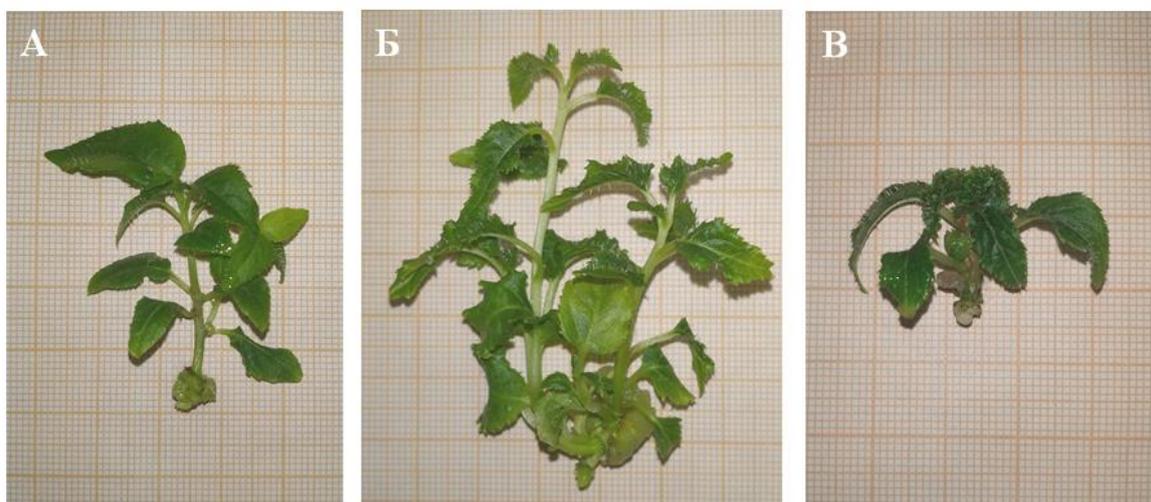
Число микропобегов варьировало от  $1,0 \pm 0,0$  до  $2,8 \pm 0,1$  шт. Своего максимума этот показатель достигал при культивировании сорта Золотая Коса на варианте с мТ ( $2,8 \pm 0,1$  шт.). Число микропобегов отборной мужской формы и сорта Солнечный не отличались существенно друг от друга на питательных средах с добавлением ВА и мТ. У сорта Таежный Дар во всех вариантах исследуемых сред установлено увеличение числа микропобегов и различий между ними не обнаружено. Вместе с тем отмечено, что добавление в питательную среду TDZ не

стимулировало образование новых микропобегов у большинства исследуемых сортов.

Изучение влияния типа регулятора роста на коэффициент размножения на этапе собственно микроразмножения показало, что данный параметр имел тенденцию к существенному увеличению на питательных средах с мТ, за исключением варианта с отборной мужской формой. При этом наибольшего значения данный показатель достигал у сорта Золотая Коса –  $14,8 \pm 0,8$  (рисунки 1, 2).



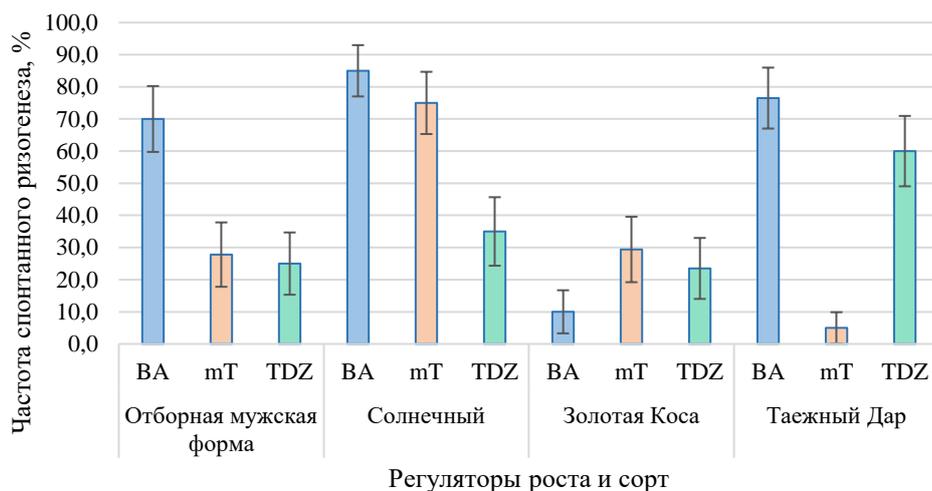
**Рисунок 1 – Варьирование коэффициента размножения перспективных сортов *A. arguta* in vitro на средах с различными регуляторами роста**



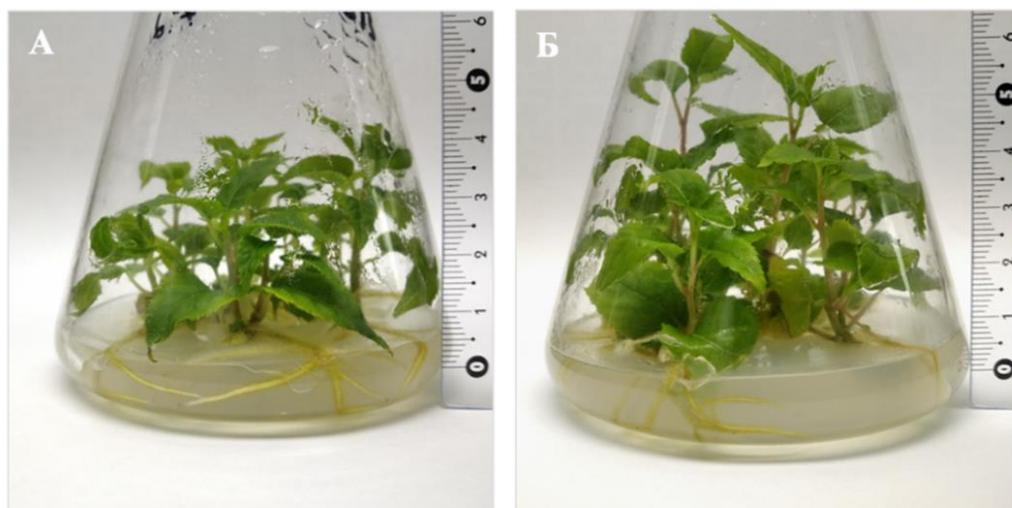
**Рисунок 2 – Развитие микропобегов сорта Золотая Коса на этапе собственно микроразмножения: А – 6–BA 0,5 мг/л (контроль), Б – mT 0,5 мг/л, В – TDZ 0,5 мг/л**

Применение TDZ для индукции побегообразования приводило в большинстве случаев к появлению оводненных микропобегов, что, в свою очередь, значительно снижало количество регенерантов, которые можно использовать для дальнейшего микроразмножения и укоренения.

В процессе культивирования у сортов *A. arguta* через 30 суток отмечен спонтанный ризогенез с различной частотой корнеобразования (рисунки 3, 4).



**Рисунок 3 – Частота спонтанного ризогенеза перспективных сортов *A. arguta* *in vitro* при использовании разных регуляторов роста**



**Рисунок 4 – Спонтанный ризогенез сортов *A. arguta* на питательной среде QL с 0,5 мг/л BA: А – Солнечный, Б – Таежный Дар**

На этапе собственно микроразножения из трех используемых цитокининов наибольшая частота корнеобразования была получена на среде с добавлением BA, за исключением сорта Золотая Коса – наибольший процент укорененных регенерантов в этом случае наблюдали на средах с mT и TDZ ( $29,4 \pm 10,2$  % и  $23,5 \pm 9,5$  % соответственно). Следует отметить, что применение mT в большинстве случаев ингибировало спонтанный ризогенез. Исследования особенностей ризогенеза у сортов и форм *A. arguta* будут продолжены.

#### Выводы

В процессе исследования выявлено, что на морфогенетический потенциал сортов *A. arguta* на этапе собственно микроразмножения оказывали влияние генетические особенности, тип и концентрация регулятора роста.

Оптимальным для культивирования сортов *A. arguta* является среда QL с меньшей концентрацией BA – 0,5 мг/л, так как число микропобегов и коэффициент размножения при сравнении с другими концентрациями BA (0,8 и 1,0 мг/л) существенно не отличались.

Установлена эффективность применения мТ в концентрации 0,5 мг/л в питательной среде QL для большинства исследуемых сортов. Использование мТ индуцировало образование новых микропобегов (от  $1,9 \pm 0,2$  до  $2,8 \pm 0,1$  в зависимости от сорта), увеличивало их высоту (от  $21,2 \pm 1,1$  до  $31,2 \pm 1,1$  мм) и коэффициент размножения (от  $9,0 \pm 0,7$  до  $14,8 \pm 0,8$ ).

Выявлено, что применение 0,5 мг/л TDZ для микроразмножения большинства исследуемых сортов *A. arguta* не эффективно. Вместе с тем, при культивировании на среде QL с 0,5 мг/л TDZ у эксплантов наблюдали различные морфологические изменения, что отрицательно влияло на их дальнейшее микроразмножение и укоренение.

При длительном культивировании (более 30 суток) у исследуемых сортов *A. arguta* отмечен спонтанный ризогенез с различной частотой корнеобразования.

**Скрининг коллекционных образцов дальневосточных видов рода *Actinidia* ФНЦ Садоводства, оптимизация приемов культивирования и оценка морфогенетического потенциала выполнены при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 22-16-00074.**

### Литература

1. Figiel-Kroczyńska M., Ochmian I., Lachowicz S., Krupa-Małkiewicz M., Wróbel J., Gamrat R. *Actinidia* (mini kiwi) fruit quality in relation to summer cutting // *Agronomy*. 2022. Vol. 11(5). Art. No. 964. DOI: 10.3390/agronomy11050964.
2. Wang H., Quan H., Sun T., Wang Z., Yang Y. Chemical composition, antimicrobial, and antioxidant cytotoxic activities of essential oil from *Actinidia arguta* // *Archives of Microbiology*. 2022. Vol. 204(5). Art. No. 239. DOI: 10.1007/s00203-022-02775-3.
3. Козак Н. В., Имамкулова З. А. Интродукция и селекция актинидии аргута в Подмоскowie // *Плодоводство, семеноводство, интродукция древесных растений*. 2018. Т. 21. С. 95–98.
4. Latocha P. The nutritional and health benefits of kiwiberry (*Actinidia arguta*) – a review // *Plant Foods for Human Nutrition*. 2017. Vol. 72(4). P. 325–334. DOI: 10.1007/s11130-017-0637-y.
5. Almeida D., Pinto D., Santos J., Vinha A. F., Palmeira J., Ferreira H. N., Rodrigues F., Oliveira M. B. P. P. Hardy kiwifruit leaves (*Actinidia arguta*): an extraordinary source of value-added compounds for food industry // *Food Chemistry*. 2018. Vol. 259. P. 113–121. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.03.113.
6. Hastings W. Growing kiwiberries in New England: a guide for regional producers. Master's Theses and Capstones. Durham: University of New Hampshire, 2018. 144 p.
7. Chen X., Yauk Y. K., Nieuwenhuizen N. J., Matich A. J., Wang M. Y., Perez R. L., Beuning L. L. Characterisation of an (S)-linalool synthase from kiwifruit (*Actinidia arguta*) that catalyses the first committed step in the production of floral lilac compounds // *Functional Plant Biology*. 2010. Vol. 37(3). P. 232–243. DOI: 10.1071/FP09179.
8. Козак Н. В., Имамкулова З. А., Медведев С. М. *Actinidia arguta* в коллекции редких ягодных культур ФГБНУ ВСТИСП // *Биология растений и садоводство: теория, инновации*. № 144–1. 2017. P. 24–28.
9. Колбасина Э. И., Соловьева Л. В., Тульнова Н. Н., Козак Н. В., Скрипченко Н. В., Мороз П. А., Корчемная Н. А., Гвоздецкая А. И. Культурная флора России: Актинидия. Лимонник. М.: Россельхозакадемия, 2007. 327 с.
10. Harada H. *In vitro* organ culture of *Actinidia chinensis* PL as a technique for vegetative multiplication // *Journal of Horticultural Science*. 1975. Vol. 50. P. 81–83. DOI: 10.1080/00221589.1975.11514606.
11. Standardi A. Micropropagazione dell' *Actinidia chinensis* Planch. mediante coltura *in vitro* di apici meristemati // *Frutticoltura*. 1981. Vol. 43. P. 23–27.
12. Mitrofanova I. V., Mitrofanova O. V. Using broad genetic diversity and *in vitro* culture to enhance breeding of some subtropical fruit plants // *Acta Horticulturae*. 2000. Vol. 538. P. 169–172. DOI: 10.17660/ActaHortic.2000.538.27.
13. Akbas F. A., Isikalan C., Namli S., Basaran D. Micropropagation of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) // *International Journal of Agriculture and Biology*. 2007. Vol. 52. P. 146–148.
14. Nasib A., Ali K., Khan S. An optimized and improved method for the *in vitro* propagation of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) using coconut water // *Pakistan Journal of Botany*. 2008. Vol. 40(6). P. 2355–2360.

15. Hameg R., Gallego P., Barreal M. E. *In vitro* establishment and multiplication of hardy kiwi (*Actinidia arguta* 'Issai') // Acta Horticulturae. 2017. P. 51–58. DOI:10.17660/ActaHortic.2017.1187.6.
16. Hameg R., Arteta T. A., Landin M., Gallego P. P., Barreal M. E. Modeling and optimizing culture medium mineral composition for *in vitro* propagation of *Actinidia arguta* // Frontiers in Plant Science. 2020. Vol. 11. P. 1–19. DOI: 10.3389/fpls.2020.554905.
17. Malaeva E. V., Molkanova O. I. Regeneration peculiarities of *in vitro* berry cultures // Acta Horticulturae. 2021. Vol. 1324. P. 89–94. DOI: 10.17660/ActaHortic.2021.1324.13.
18. Molkanova O., Krakhmaleva I., Kozak N. Genetic resources and features of clonal micropropagation of Far Eastern species of *Actinidia* // BIO Web of Conferences. International Scientific and Practical Conference “VAVILOV READINGS-2021” (VVRD 2021) dedicated to the 101<sup>st</sup> anniversary of the discovery of the law of homological series and the 134<sup>th</sup> anniversary of the birth of N. I. Vavilov. 2022. Vol. 43. Art. No. 03021. DOI: 10.1051/bioconf/20224303021.
19. Тутъ Е. А., Упадышев М. Т. Особенности микроразмножения актинидии и лимонника китайского // Сельскохозяйственная биология. 2008. Т. 43. № 3. С. 96–101.
20. Бутенко Р. Г. Биология культивируемых клеток и биотехнология растений. М.: Наука, 1991. 279 с.
21. Quoirin M., Lepoivre P. Improved media for *in vitro* culture of *Prunus* sp. // Acta Horticulturae. 1977. Vol. 78. P. 437–442. DOI: 10.17660/ActaHortic.1977.78.54.
22. Яблонская М. И., Книшкайте А. В., Романова Е. В. Мета-тополин как альтернатива бензиладенину при размножении растений *in vitro* // Сборник материалов VI Международной научно-практической конференции преподавателей, молодых ученых, аспирантов и студентов «Инновационные процессы в АПК». М.: РУДН, 2014. С. 88–89.
23. Strnad M., Hanuš J., Vaněk T., Kamínek M., Ballantine J. A., Fussell B., Hanke D. E. Meta-topolin, a highly active aromatic cytokinin from poplar leaves (*Populus × canadensis* Moench., cv. *robusta*) // Phytochemistry. 1997. Vol. 45(2). P. 213–218.
24. Verma V., Kumar A., Chaudhary P., Chauhan S., Thakur M., Bhargava B. Meta-topolin mediated *in vitro* propagation in an ornamentally important crop *Iris × hollandica* Tub. cv. *Professor Blaauw* and genetic fidelity studies using SCOT markers // Research Square. 2022. P. 1–28. DOI: 10.21203/rs.3.rs-1583057/v1.
25. Saeiahagh H., Wiedow C., Bassett H., Pathirana R. Effect of cytokinins and sucrose concentration on the efficiency of micropropagation of ‘Zes006’ *Actinidia chinensis* var. *chinensis*, a red-fleshed kiwifruit cultivar // Plant Cell Tissue and Organ Culture. 2019. Vol. 138. P. 1–10. DOI: 10.1007/s11240-019-01597-4.

## References

1. Figiel-Kroczyńska M., Ochmian, I., Lachowicz S., Krupa-Małkiewicz M., Wróbel J., Gamrat R. *Actinidia* (mini kiwi) fruit quality in relation to summer cutting // Agronomy. 2022. Vol. 11(5). Art. No. 964. DOI: 10.3390/agronomy11050964.
2. Wang H., Quan H., Sun T., Wang Z., Yang Y. Chemical composition, antimicrobial, and antioxidant cytotoxic activities of essential oil from *Actinidia arguta* // Archives of Microbiology. 2022. Vol. 204(5). Art. No. 239. DOI: 10.1007/s00203-022-02775-3.
3. Kozak N. V., Imamkulova Z. A. Introduction and selection of *Actinidia arguta* in Moscow region // Gardening, seed growing, introduction of woody plants. 2018. Vol. 21. P. 95–98.
4. Latocha P. The nutritional and health benefits of kiwiberry (*Actinidia arguta*) – a review // Plant Foods for Human Nutrition. 2017. Vol. 72(4). P. 325–334. DOI: 10.1007/s11130-017-0637-y.
5. Almeida D., Pinto D., Santos J., Vinha A. F., Palmeira J., Ferreira H. N., Rodrigues F., Oliveira M. B. P. P. Hardy kiwifruit leaves (*Actinidia arguta*): an extraordinary source of value-added compounds for food industry // Food Chemistry. 2018. Vol. 259. P. 113–121. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.03.113.
6. Hastings W. Growing kiwiberries in New England: a guide for regional producers. Master’s Theses and Capstones. Durham: University of New Hampshire, 2018. 144 p.
7. Chen X., Yauk Y. K., Nieuwenhuizen N. J., Matich A. J., Wang M. Y., Perez R. L., Beuning L. L. Characterisation of an (S)-linalool synthase from kiwifruit (*Actinidia arguta*) that catalyses the first committed step in the production of floral lilac compounds // Functional Plant Biology. 2010. Vol. 37(3). P. 232–243. DOI: 10.1071/FP09179.
8. Kozak N. V., Imamkulova Z. A., Medvedev S. M. *Actinidia arguta* in collections of rare berry crops ARHIBAN // Plant Biology and Horticulture: theory, innovation. 2017. No. 144–1. P. 24–28.
9. Kolbasina E. I., Solovyova L. V., Tulnova N. N., Kozak N. V., Skripchenko N. V., Moroz P. A., Korchemnaya N. A., Gvozdetskaya A. I. Cultured Flora of Russia: Volume Actinidia. Schisandra. Moscow: Russian Academy of Agricultural Sciences, 2007. 327 p.
10. Harada H. *In vitro* organ culture of *Actinidia chinensis* PL as a technique for vegetative multiplication // Journal of Horticultural Science. 1975. Vol. 50. P. 81–83. DOI: 10.1080/00221589.1975.11514606.

11. Standardi A. Micropropagazione dell' *Actinidia chinensis* Planch. mediante coltura *in vitro* di apici meristematici // Frutticoltura. 1981. Vol. 43. P. 23–27.
12. Mitrofanova I. V., Mitrofanova O. V. Using broad genetic diversity and *in vitro* culture to enhance breeding of some subtropical fruit plants // Acta Horticulturae. 2000. Vol. 538. P. 169–172. DOI: 10.17660/ActaHortic.2000.538.27.
13. Akbas F. A., Isikalan C., Namli S., Basaran D. Micropropagation of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) // International Journal of Agriculture and Biology. 2007. Vol. 52. P. 146–148.
14. Nasib A., Ali K., Khan S. An optimized and improved method for the *in vitro* propagation of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) using coconut water // Pakistan Journal of Botany. 2008. Vol. 40(6). P. 2355–2360.
15. Hameg R., Gallego P., Barreal M. E. *In vitro* establishment and multiplication of hardy kiwi (*Actinidia arguta* 'Issai') // Acta Horticulturae. 2017. P. 51–58. DOI:10.17660/ActaHortic.2017.1187.6.
16. Hameg R., Arteta T. A., Landin M., Gallego P. P., Barreal M. E. Modeling and optimizing culture medium mineral composition for *in vitro* propagation of *Actinidia arguta* // Frontiers in Plant Science. 2020. Vol. 11. P. 1–19. DOI: 10.3389/fpls.2020.554905.
17. Malaeva E. V., Molkanova O. I. Regeneration peculiarities of *in vitro* berry cultures // Acta Horticulturae. 2021. Vol. 1324. P. 89–94. DOI: 10.17660/ActaHortic.2021.1324.13.
18. Molkanova O., Krakhmaleva I., Kozak N. Genetic resources and features of clonal micropropagation of Far Eastern species of *Actinidia* // BIO Web of Conferences. International Scientific and Practical Conference “VAVILOV READINGS-2021” (VVRD 2021) dedicated to the 101<sup>st</sup> anniversary of the discovery of the law of homological series and the 134<sup>th</sup> anniversary of the birth of N. I. Vavilov. 2022. Vol. 43. Art. No. 03021. DOI: 10.1051/bioconf/20224303021.
19. Tut' E. A., Upadyshev M. T. Features of micropropagation of actinidia and *Schisandra chinensis* (Turcz) Baill. // Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]. 2008. Vol. 43. No. 3. P. 96–101.
20. Butenko R. G. Biology of cultivated cells and plant biotechnology. Moscow: Nauka, 1991. 279 p.
21. Quoirin M., Lepoivre P. Improved media for *in vitro* culture of *Prunus* sp. // Acta Horticulturae. 1977. Vol. 78. P. 437–442. DOI: 10.17660/ActaHortic.1977.78.54.
22. Yablonskaya M. I., Knishkaite A. V., Romanova E. V. Meta-topolin as alternative to benzyladenine in tissue culture // Collection of materials of the VI International scientific and practical conference of teachers, young scientists, graduate students and students “Innovative processes in the agro-industrial complex”. Moscow: RUDN University, 2014. P. 88–89.
23. Strnad M., Hanuš J., Vaněk T., Kamínek M., Ballantine J. A., Fussell B., Hanke D. E. Meta-topolin, a highly active aromatic cytokinin from poplar leaves (*Populus×canadensis* Moench., cv. Robusta) // Phytochemistry. 1997. Vol. 45(2). P. 213–218.
24. Verma V., Kumar A., Chaudhary P., Chauhan S., Thakur M., Bhargava B. Meta-topolin mediated *in vitro* propagation in an ornamentally important crop *Iris × hollandica* Tub. cv. Professor Blaauw and genetic fidelity studies using SCOT markers // Research Square. 2022. P. 1–28. DOI: 10.21203/rs.3.rs-1583057/v1.
25. Saeiahagh H., Wiedow C., Bassett H., Pathirana R. Effect of cytokinins and sucrose concentration on the efficiency of micropropagation of 'Zes006' *Actinidia chinensis* var. *chinensis*, a red-fleshed kiwifruit cultivar // Plant Cell Tissue and Organ Culture. 2019. Vol. 138. P. 1–10. DOI: 10.1007/s11240-019-01597-4.

UDC 582.688.4:57.085.2

Semenova D. A., Krakhmaleva I. L., Mishanova E. V., Molkanova O. I., Mitrofanova I. V.

### FEATURES OF REGENERATION *IN VITRO* IN PROMISING *ACTINIDIA ARGUTA* CULTIVARS

**Summary.** *Actinidia arguta* (Sieb. et Zucc.) Planch. ex Miq. or mini kiwi is a valuable fruit and berry crop. Nowadays, it is important to use biotechnological methods to propagate rare cultivars of *A. arguta* successfully introduced in temperate climate. The purpose of the study was to optimize the techniques for cultivating promising cultivars of *A. arguta* at the micropropagation stage to develop an effective method for its clonal micropropagation. The studies were carried out in 2022 at the Plant Biotechnology Laboratory of the Tsitsin Main Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences. Promising cultivars ('Solnechny', 'Zolotaya Kosa' and 'Taezhny Dar') bred at the Federal Horticultural Center for Breeding, Agrotechnology and Nursery, as well as selective male form of *A. arguta* were the objects of the current study. During the research process, the influence of genetic features and the composition of the culture medium on the regeneration capacity of *A. arguta* was established. 6-benzylaminopurine, meta-topolin and thidiazuron were used as a plant growth regulator. It was found that on the Quorin

and Lepoivre (QL) culture medium, in the case of an increase in the concentration of 6-benzylaminopurine from 0.5 to 1.0 mg/l, the length of microshoots decreased in 'Solnechny' (from  $18.8 \pm 0.7$  to  $12.4 \pm 0.6$  mm) and 'Taezhny Dar' (from  $22.8 \pm 1.0$  to  $19.1 \pm 1.1$  mm). At the same time, the use of the studied 6-benzylaminopurine concentrations contributed to an increase in the multiplication rate in most cultivars, but no significant differences were found. Simultaneously, the effectiveness of 0.5 mg/l meta-topolin in QL medium, compared with 0.5 mg/l 6-benzylaminopurine and 0.5 mg/l thidiazuron, was established. During culturing on a medium with meta-topolin, in most cultivars, both the length of microshoots (from  $21.2 \pm 1.1$  to  $31.2 \pm 1.1$  mm, depending on the cultivar) and the multiplication rate (from  $9.0 \pm 0.7$  to  $14, 8 \pm 0.8$ ) increased. The addition of thidiazuron to QL medium caused various morphological abnormalities in *A. arguta* explants.

**Keywords:** mini kiwi (*Actinidia arguta* (Sieb. et Zucc.) Planch. ex Miq.), clonal micropropagation, plant growth regulators, multiplication rate.

Семенова Дарья Александровна, младший научный сотрудник лаборатории биотехнологии растений, ФГБУН «Главный ботанический сад им. Н. В. Цицина РАН»; 127276, Россия, г. Москва, ул. Ботаническая, 4; e-mail: dariaegor11@gmail.com.

Крахмалева Ирина Леонидовна, младший научный сотрудник лаборатории биотехнологии растений, ФГБУН «Главный ботанический сад им. Н. В. Цицина РАН»; 127276, Россия, г. Москва, ул. Ботаническая, 4; e-mail: seglogy@bk.ru.

Мишанова Екатерина Викторовна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории биотехнологии растений, ФГБУН «Главный ботанический сад им. Н. В. Цицина РАН»; 127276, Россия, г. Москва, ул. Ботаническая, 4; e-mail: mishanova@gbsad.ru.

Молканова Ольга Ивановна, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией биотехнологии растений, ФГБУН «Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН»; 127276, Россия, г. Москва, ул. Ботаническая, 4; e-mail: molkanova@mail.ru.

Митрофанова Ирина Вячеславовна, член-корреспондент РАН, доктор биологических наук, начальник отдела научно-инновационной и международной деятельности, ФГБУН «Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН»; 127276, Россия, г. Москва, ул. Ботаническая, 4; e-mail: irimitrofanova@yandex.ru.

Semenova Darya Aleksandrovna, junior researcher of Plant Biotechnology Laboratory, Tsitsin Main Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences; 4, Botanicheskaya str., Moscow, 127276, Russia; e-mail: dariaegor11@gmail.com.

Krakhmaleva Irina Leonidovna, junior researcher of Plant Biotechnology Laboratory, Tsitsin Main Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences; 4, Botanicheskaya str., Moscow, 127276, Russia; e-mail: seglogy@bk.ru.

Mishanova Ekaterina Viktorovna, Cand. Sc. (Biol.), researcher of Plant Biotechnology Laboratory, Tsitsin Main Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences; 4, Botanicheskaya str., Moscow, 127276; e-mail: mishanova@gbsad.ru.

Molkanova Olga Ivanovna, Cand. Sc. (Agr.), leading researcher, head of Plant Biotechnology Laboratory, Tsitsin Main Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences; 4, Botanicheskaya str., Moscow, 127276, Russia; e-mail: molkanova@mail.ru.

Mitrofanova Irina Vyacheslavovna, corresponded member of the Russian Academy of Science, Dr. Sc. (Biol.), head of Scientific, Innovative and International Activities Department, Tsitsin Main Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences; 4, Botanicheskaya str., Moscow, 127276, Russia; e-mail: irimitrofanova@yandex.ru.

Дата поступления в редакцию – 10.12.2022.

Дата принятия к печати – 30.12.2022.