

УДК 634.11+634.13:581.13:631.531

ТЕХНОЛОГИЯ КЛОНАЛЬНОГО МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ ЯБЛОНИ И ГРУШИ НА ОСНОВЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ НОВЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД

Ольга Васильевна Матушкина, Ирина Николаевна Пронина

ФГБНУ «ФНЦ им. И.В. Мичурина», г. Мичуринск, Россия
invitro82@yandex.ru

При клональном микроразмножении яблони и груши на этапах пролиферации и укоренения наряду с общепринятой питательной средой Кворина-Лепуавра возможно использование комплексных минеральных веществ, позволяющих улучшить качество микропобегов, повысить их укореняемость и адаптивность растений *ex vitro*, а также снизить ресурсо- и энергозатраты на производство M_0 и значительно упростить технологический процесс размножения.

Ключевые слова: питательная среда; комплексное водорастворимое вещество; яблоня; груша; *in vitro*.

Введение

Ускоренное получение конкурентоспособного посадочного материала плодовых культур высших категорий качества, соответствующего требованиям мировых стандартов, невозможно без использования метода клонального микроразмножения и надлежащего вирусологического контроля в системе производства сертифицированного посадочного материала. Решающая роль при размножении *in vitro* отводится правильному выбору питательной среды, который зависит от генотипических особенностей растений и этапа культивирования. Наиболее часто для плодовых культур применяются среды Мурасиге-Скуга (МС) и Кворина-Лепуавра (QL) [2, 3, 5, 6]. Процесс приготовления питательных сред трудоемок и требует значительных затрат времени, т.к. среды содержат большое количество, необходимых для роста и развития растений макро- и микроэлементов, которые группируются, в зависимости от химических свойств, в отдельные маточные растворы и используются, по мере надобности. При хранении маточных растворов возможно их инфицирование, что требует приготовления новых. Все это увеличивает ресурсо- и энергозатраты на выращивание растений-регенерантов.

Цель исследований – усовершенствовать технологию клонального микроразмножения перспективных клоновых подвоев яблони и груши за счет использования комплексных водорастворимых веществ, как основных компонентов новой питательной среды.

Объекты и методы исследования

Объекты исследований: клоновые подвои яблони – 54-118, 62-396, 57-491, 57-545, 76-6-6, 76-8-13, ПБ 9, клоновые подвои груши – ПГ 12, ПГ 2, ПГ 17-16. Культивирование эксплантов проводили на средах Кворина-Лепуавра и с комплексными минеральными веществами [4, 7, 8] с добавлением БАП в концентрации 0,3 – 1,0 мг/л. Для индукции ризогенеза использовали ИМК 1,0 мг/л. Условия культивирования: освещенность 2 – 3 тыс. люксов, температура воздуха $+24\pm 2^{\circ}\text{C}$, длительность фотопериода 16 часов, относительная влажность воздуха 30 – 40%.

Результаты и обсуждение

Для регенерации меристематических верхушек яблони и груши применяют питательные среды Мурасиге-Скуга и Кворина-Лепуавра с концентрацией 6-

бензиламинопурина (БАП) 0,3 мг/л. В дальнейшем, через каждые 3-4 недели, проводят субкультивирование эксплантов на свежую питательную среду, постепенно увеличивая концентрацию БАП до 1,0 мг/л.

Основная цель этапа собственно микроразмножения – получение максимального количества микропобегов от каждого экспланта путем последовательного культивирования (через 5 – 6 недель) уже имеющихся микропобегов на свежую питательную среду. Скорость размножения и степень пролиферации в значительной степени зависят от типа цитокинина и его концентрации. Для яблони и груши обычно используют БАП в концентрации 1,0 – 2,0 мг/л. Введение более высоких концентраций приводит к разрастанию эксплантов с образованием очень коротких микропобегов, не пригодных для укоренения. Рекомендуется чередовать высокие и низкие концентрации БАП.

Применение той или иной питательной среды определяется генотипическими особенностями растения. Наиболее употребляемой средой для большинства растений является среда Мурасиге-Скуга, содержащей две формы азота – KNO_3 (1900 мг/л) и NH_4NO_3 (1650 мг/л), концентрация и соотношение которых вызывают неодинаковую реакцию у различных растений, в т.ч. у яблони и груши. Уменьшение аммонийной формы азота в 2 – 4 раза, либо культивирование на среде Кворина-Лепуавра, в которой содержание NH_4NO_3 в 4 раза ниже, чем в среде Мурасиге-Скуга, обеспечивают получение наибольшего количества оптимально развитых микропобегов, пригодных для укоренения.

В настоящее время известны комплексные водорастворимые минеральные вещества (Мастер и Акварин), применяемые в садоводстве, которые могли бы служить минеральной основой для питательных сред. При их использовании в качестве базовой среды нет необходимости в приготовлении маточных растворов, т.к. они уже содержат N, P, K, а также микроэлементы, входящие в состав общепринятых питательных сред, что позволяет значительно упростить и удешевить технологию клонального микроразмножения.

Использование той или иной концентрации комплексного минерального вещества зависит от генотипических особенностей. Культивирование эксплантов яблони и груши на этапе пролиферации на средах с Мастером в концентрациях 4,0 и 6,0 г/л (М 4, М 6) не оказывает существенного влияния на коэффициент размножения, но увеличивает количество микропобегов, пригодных для укоренения на 13,4 (57 – 545) – 43,6% (ПГ 2) (табл. 1).

Таблица 1

Влияние комплексных минеральных веществ на пролиферацию клоновых подвоев яблони и груши

Подвой	Питательная среда	Коэффициент размножения, шт./эксплант	Количество микропобегов длиной более 1,5 см, %
76-8-13	QL	7,4	39,0 б *
	М 4	7,5	58,6 а
НСР ₀₅		F _{факт} < F _{теор}	
57-545	QL	6,7	31,1 а
	М 6	6,8	44,5 а
НСР ₀₅		F _{факт} < F _{теор}	
ПГ 2	QL	6,3	39,1 б
	М 6	6,3	82,7 а
НСР ₀₅		F _{факт} < F _{теор}	
ПГ 12	QL	10,2	55,1 б

ISSN 0201-7997. Сборник научных трудов ГНБС. 2017. Том 144. Часть II

	М 4	8,4	77,6 а
НСР ₀₅		Fфакт < Fтеор	

Примечание: * – существенность различий оценивается с помощью t-критерия Дункана.

Для корнеобразования клоновых подвоев яблони и груши обычно используют питательные среды (МС или QL), разбавленные в 2 раза по минеральному составу с добавлением ауксинов: ИУК в концентрациях 3,0 – 5,0 мг/л или ИМК – 0,5 – 2,0 мг/л.

На этапе ризогенеза, в зависимости от генотипической реакции растений, возможно применение как Мастера, так и Акварина в концентрациях 2,0-3,0 г/л. Культивирование микропобегов клоновых подвоев яблони и груши на предложенных средах ускоряет процесс корнеобразования на 1-2 недели и повышает укореняемость на 20,0 – 93,3%, а также увеличивает количество корней в 2,5 – 11,1 раз и их длину в 3,4 – 6,0 раз (табл. 2).

Таблица 2

Влияние минерального состава питательной среды на ризогенезклоновых подвоев яблони и груши

Подвой	Питательная среда	Укореняемость через ... недель, %				Количество корней, шт./раст.	Длина корней, см
		1	2	3	4		
62-396	1/2QL	0,0	26,7	46,7	53,3b	4,4	1,8
	М 2	0,0	20,0	60,0	80,0 а	5,3	2,3
НСР ₀₅						Fф < Fт	Fф < Fт
ПБ 9	1/2QL	0,0	0,0	0,0	10,0 b	1,0	2,5
	М 2	0,0	100	100	100 а	11,1	4,0
НСР ₀₅						3,0	1,4
76-8-13	1/2QL	0,0	0,0	0,0	6,7 b	1,0	0,6
	М 3	0,0	46,7	100	100 а	7,6	3,2
НСР ₀₅						2,3	1,7
ПГ 12	1/2QL	0,0	6,7	53,3	66,7 b	2,5	0,9
	М 3	0,0	80,0	100	100 а	6,3	3,1
НСР ₀₅						3,3	1,0
ПГ 2	1/2QL	0,0	26,7	60,0	60,0 b	2,3	2,0
	А 3	6,7	53,3	73,3	80,0 а	2,0	1,2
НСР ₀₅						Fф < Fт	Fф < Fт

Использование комплексных минеральных веществ позволило довести укореняемость микропобегов у подвоев яблони 76-8-13 и ПБ 9 до 100 %, которые на общепринятых питательных средах практически не образуют корней.

Культивирование микропобегов на средах с данными веществами оказывает положительное последствие и на адаптацию растений-регенерантов яблони и груши в нестерильных условиях. Приживаемость *ex vitro* укорененных микрорастений подвоев яблони культивируемых на средах с А 2, А 3, М 2, М 3 на 4,7 (54-118) – 16,2% (76-6-6) выше, чем с 1/2 QL, за исключением подвоя ПБ 9, а у груши на 7,1 (ПГ 17-16) – 33,3% (ПГ 12) (табл. 3).

Анализируя результаты исследований можно предположить, что лучшая регенерационная способность эксплантов на этапах пролиферации и ризогенеза обусловлена более сбалансированным сочетанием макро- и микроэлементов в исследуемых комплексных минеральных веществах.

Использование комплексных минеральных веществ позволяет усовершенствовать технологический процесс клонового микроразмножения и снизить затраты труда на производство М₀ клоновых подвоев яблони и груши на 16,7% (44,5 чел./дн.) и себестоимость адаптированного растения *ex vitro* на 40,0 руб. (табл. 4).

Таблица 3

Последствие минерального состава питательной среды на адаптацию клоновых подвоев яблони и груши *ex vitro*

Питательная среда	Подвой				
	54-118	76-6-6	ПБ 9	ПГ 12	ПГ 17-16
1/2QL (к)	66,7 ab	57,1 b	85,7 a	50,0 b	64,3 ab
A 2	66,7 ab	50,0 b	60,0 c	7,1 d	66,7 ab
A 3	60,0 b	54,5 b	66,7 c	46,7 bc	33,3 d
M 2	71,1 a	60,0 b	61 5 c	83,3 a	71,4 a
M 3	58,3 b	73,3 a	77,8 ab	46,1 bc	45,4 c

Таблица 4

Затраты на производство M_0 яблони и груши (1000 шт.) при использовании разных технологий

Показатели	Технологии	
	традиционная	оптимизированная
Затраты труда, чел./дн.	268,0	223,5
Заработная плата, руб.	118986,64	99229,53
Начисления на заработную плату (30,2%), руб.	35933,96	29967,31
Материалы, руб.	8819,21	5448,73
Тестирование, руб.	12000	12000
Коммунальные услуги, руб.	36770,4	36770,4
Амортизация, руб.	15410,0	15410,0
Прочие затраты (10%), руб.	22792,02	19882,6
Итого прямых затрат, руб.	250712,23	218708,57
Накладные затраты (25%), руб.	62678,06	54677,14
Всего затрат, руб.	313390,28	273385,71
Себестоимость 1 растения M_0 , руб.	313,39	273,39

Выводы

При клональном размножении клоновых подвоев яблони и груши, наряду с общепринятыми питательными средами, возможно использование комплексных водорастворимых веществ, что позволяет:

- упростить технологический процесс приготовления питательных сред за счет исключения использования маточных растворов;
- улучшить качество и увеличить количество микропобегов длиной более 1,5 см на 13,4-43,6%;
- ускорить процесс корнеобразования на 1-2 недели, увеличить укореняемость микропобегов на 20,0-93,3 % и улучшить качество корневой системы;
- повысить адаптивность растений *ex vitro* на 4,7-33,3%;
- снизить затраты труда на 16,7% и себестоимость M_0 на 40,0 руб.

Список литературы

1. Матушкина О.В., Пронина И.Н. Технология клонального микроразмножения яблони и груши (методические рекомендации). – Липецк: Ориус, 2008. – 32 с.
2. Матушкина О.В., Пронина И.Н. Размножение яблони и груши *invitro* // Достижения науки и техники АПК. – 2009. – №2. – С. 15-17.
3. Матушкина О.В., Пронина И.Н. Оптимизация приемов культивирования плодовых культур *invitro* // АГРО XXI. – 2010. – №10-12. – С. 11-13.

ISSN 0201–7997. Сборник научных трудов ГНБС. 2017. Том 144. Часть II

4. Матушкина О.В., Пронина И.Н. Питательная среда для размножения яблони и груши *in vitro*. – Патент № 2486237. – Бюл. № 18. – 27.06.2013.
5. Минаев В.А., Верзилин А.В., Высоцкий В.А. Клональное микроразмножение слаборослых клоновых подвоев яблони селекции Мич. ГАУ // Садоводство и виноградарство. – 2003. – №5. – С. 12-13.
6. Муратова С.А. Индукция морфогенеза в культуре соматических тканей сливы домашней (*Prunus domestica* L.): Автореф. дис....биол. наук. – М., 2002. – 23 с.
7. Пронина И.Н., Матушкина О.В. Питательная среда для ризогенеза яблони и груши *in vitro*. – Патент № 2485768. – Бюл. № 18. - 27.06.2013.
8. Пронина И.Н., Матушкина О.В. Питательная среда для укоренения побегов яблони и груши *in vitro*. – Патент № 2485766. – Бюл. № 18. – 27.06.2013.

Matushkina O.V., Pronina I.N. The technology of clonal micropropagation of apple and pear based on the use of new culture media // Works of the State Nikit. Botan. Gard. – 2017. – Vol. 144. – Part II. – P. 77-81.

When the clonal micropropagation of apple and pear on the stages of proliferation and rooting in addition to the conventional nutrient medium Quoirin-Lepoivreit is possible to use a complex of mineral substances that can improve the quality of micropolygon, to increase their rooting and adaptability of plants *ex vitro*, and reduce resource and energy consumption for the production of M_0 and greatly simplify the process of reproduction.

Key words: *nutrient medium, a complex water soluble substance, apple, pear, in vitro.*

УДК 631.527: 634

ПЕРСПЕКТИВНЫЕ КЛОНОВЫЕ ПОДВОИ ДЛЯ КОСТОЧКОВЫХ КУЛЬТУР В СИБИРИ

Михаил Николаевич Матюнин

ФГУП «Горно-Алтайское», г. Горно-Алтайск, Россия
sirius0775@mail.ru

Приведены результаты оценки степени окоренения зеленых черенков отдаленных гибридов косточковых пород перспективных в качестве клоновых подвоев. Дана краткая характеристика сортообразцов: Пчелка, Заречный 7-26, Г 9-23, Гд 8-30, вишня седая × вишня войлочная.

Ключевые слова: *подвой; зеленое черенкование; окоренение; слива.*

Введение

Использование клоновых подвоев при размножении и выращивании косточковых культур являются наиболее эффективным приёмом. Семенные подвои не обеспечивают однородности подвойного материала. Периодичность плодоношения семенных подвойных форм, связанная с особенностями биологии, часто обусловлена влиянием погодных условий. В большинстве лет необходимо иметь резервный запас семян, которые требуют специфических условий хранения и подготовки их к прорастанию. Посев семян в большинстве лет не гарантирует надёжного получения необходимого количества сеянцев – подвоев [2].

Этих недостатков лишены клоновые подвои и их размножение в необходимом количестве не зависит от капризов природы и определяется технологией размножения и зависит от воли человека [2].

В Западной Сибири для сливы районирован и используется в производстве клоновый подвой СВГ 11-19 (вишня песчаная × слива уссурийская), $2n=3x=24$. Этот