

вопросы осеверения и расширения границ садоводства». – Челябинск: Челябинский дом печати, 2011. – С.121-15.

6. Пучкин И.А. Мочалова О.В. Наследование признаков межродовыми гибридами вишня песчаная × афлатуния ильмолистная // Совершенствование сортимента и технологии возделывания косточковых культур. (Тезисы докладов и выступлений). – Орёл: ВНИИСПК, 1998. – С.196-198

Matyunin M.N. Promising clonal stocks for stone crops in Siberia // Works of the State Nikit. Botan. Gard. – 2017. – Vol. 144. – Part II. – P. 81-84.

Estimation results of rooting degree of remote hybrids soft-wood cuttings of stone crops, promising as clonal stocks, are expounded in the paper. Brief description of the variety-specimens is adduced: Pchelka, Zarechnyi 7-26, G 9-23, Gd 8-30, *Cerasus incana* × *Tomentosa*.

Key words: *stock; soft-wood cuttings; rooting; plum.*

УДК 634.1/7:581.143.6

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РАЗМНОЖЕНИЯ ПЛОДОВЫХ И ЯГОДНЫХ КУЛЬТУР

Светлана Александровна Муратова

ФГБОУ ВО «Мичуринский государственный аграрный университет»,
г. Мичуринск, Россия
smuratova@yandex.ru

Приведены результаты повышения эффективности клонального микроразмножения включенных в исследования плодово-ягодных культур за счет оптимизации состава питательных сред и методики культивирования. Для каждой плодово-ягодной культуры выделены лучшие питательные среды, способные обеспечить высокий коэффициент размножения растений.

Ключевые слова: *плодово-ягодные культуры; клональное микроразмножение; питательные среды; регуляторы роста; ризогенез; адаптация.*

Введение

Клональное микроразмножение растений является наиболее хорошо разработанным и широко применяемым в разных странах методом прикладной биотехнологии. Этот способ тиражирования растений позволяет при наличии единичных маточных экземпляров наладить массовое производство высококачественного посадочного материала новых перспективных сортов и видов плодово-ягодных культур, пользующихся повышенным спросом. Для большинства плодовых и ягодных растений метод клонального микроразмножения разработан достаточно эффективно. Однако, в связи с постоянно изменяющимся сортиментом растений, включенных в коммерческое производство, возрастающей конкуренцией в сфере производителей посадочного материала, требующей повышения качества саженцев и снижения их себестоимости, вопросы оптимизации методов размножения садовых культур *in vitro* еще долгое время не утратят своей актуальности.

Цель исследований – повышение эффективности клонального микроразмножения включенных в исследования культур за счет оптимизации состава питательных сред и методики культивирования.

Объекты и методы исследования

В исследования включены: сорта вишни и сливы, отдаленные гибриды

семечковых плодовых культур, клоновые подвои яблони, сорта и формы ежевики и ежемалиновых гибридов, сорта жимолости синей, сорта ремонтантной малины, виды и сорта актинидии, лимонник китайский. Для культивирования растений *in vitro* использовали минеральную основу питательных сред MS (Murashige, Skoog, 1962), QL (Quorin, Lepoivre, 1977) DKW (Driver, Kuniyuki, 1984), Андерсона (Anderson, 1984) с добавлением 10 – 40 г/л углевода (сахарозы, глюкозы, фруктозы или мальтозы), 100 мг/л мезоинозитола, 8 г/л агара. В среду для размножения лимонника китайского дополнительно добавляли 250 мг/л гидролизата казеина. На этапах введения и микроразмножения применяли регуляторы роста растений: 6 – бензиламинопурин (6-БАП), зеатин – 0,25-2,0 мг/л, гибберелловую кислоту (ГК) – 0,25-1,0 мг/л, β-индолил-3-масляную кислоту (ИМК), или β-индолилуксусную кислоту (ИУК) – 0,05 – 0,2 мг/л и комплекс витаминов.

На этапе укоренения микрочеренков концентрацию макросолей снижали вдвое, углеводы добавляли в концентрации 0,05 или 0,1 моль/л, в среду добавляли ИМК, ИУК или α-нафтилуксусную кислоту (НУК) в концентрации 0,125 – 1,0 мг/л. При другом способе укоренения основания черенков замачивали в течение 20 часов в растворе ауксина (50 мг/л ИМК), после чего высаживали их на безгормональную среду.

Растения культивировали при $t=24\pm 2^{\circ}\text{C}$ и 16-часовом световом дне с освещенностью 2000-2500 люкс (люминисцентные лампы Osram L36W Cool Dailight, Osram L36W Fluora).

Укоренённые растения в апреле – мае с искусственной питательной среды высаживали в субстрат на основе торфа Агробалт – С (нейтрализованный с комплексом минеральных удобрений) в кассеты (Евростандарт, 54 ячейки) и помещали в плёночные теплицы. Под плёночным покрытием растения находились 3 – 4 недели, затем плёнку постепенно приоткрывали и через 5-6 недель полностью снимали.

Результаты и обсуждение

По нашим данным, наиболее универсальной, подходящей для культивирования большинства плодово-ягодных и декоративных древесно-кустарниковых культур и лиан является питательная среда MS (Murashige, Skoog, 1962). Хорошие результаты по размножению сливы, вишни, клоновых подвоев яблони, сортов актинидии коломикта и сортов ежевики получены на среде QL (Quorin, Lepoivre, 1977), лучшему приросту побегов в длину способствовало культивирование микрочеренков на минеральной основе среды DKW (Driver, Kuniyuki, 1984).

В зависимости от видовой специфики растений полезны некоторые модификации минеральной основы используемых сред. Для размножения малины и ежемалиновых гибридов эффективней всего использовать модифицированную среду Мурасиге-Скуга (Murashige, Skoog, 1962) в которой хлорид кальция заменен на нитрат, увеличено в 1,5 – 2 раза содержание железа и сахароза заменена на глюкозу. Дальнейшее повышение концентрации хелата железа в среде не эффективно, т.к. на средах с тройным содержанием железа побеги снижают коэффициент размножения и отстают в росте по сравнению с контролем.

Для лимонника китайского повышение коэффициента размножения на среде QL с заменой сахарозы на глюкозу и добавлением 250 мг/л гидролизата казеина [3]. На средах с глюкозой прослеживается как тенденция к увеличению коэффициента размножения побегов, так и их длины. При этом для оптимального роста побегов концентрация углевода не должна превышать 20 – 30 г/л. Применение гидролизата казеина в составе сред размножения стимулирует не только развитие побегов, но и образование каллуса на срезах микрочеренков, поэтому рекомендуемое его содержание

– 100 – 250 мг/л.

Проведена работа по оптимизации гормонального состава питательных сред размножения и укоренения. По нашим данным на этапе размножения эффективно использовать цитокинин в сочетании с ауксином в соотношении 10 : 1. Применение 6-бензиламинопурина в концентрации 0,5 – 1,0 мг/л в сочетании с 0,05 – 0,1 мг/л ИМК или ИУК способно обеспечить высокие коэффициенты размножения растений род *Rubus*, жимолости, лимонника китайского, сливы, вишни, подвоев яблони, отдаленных гибридов семечковых культур (коэффициент размножения от 4 до 12 побегов/эксплант за пассаж в зависимости от вида и сорта). Повышение концентрации 6-БАП в питательной среде хотя и ведет к повышению коэффициента размножения в 1,3 – 1,6 раза, но в большинстве случаев снижает долю побегов больше 1,5 см, пригодных для укоренения. Хорошее развитие побегов достигается на средах с зеатином, но вследствие высокой стоимости этого препарата его можно рекомендовать к применению в тех случаях, когда не удастся получить требуемый результат на средах с 6-БАП, например, для размножения актинидии коломикта [1].

Для усиления элонгации побегов древесных плодовых культур и представителей рода *Rubus* положительный эффект дает применение гибберелловой кислоты в концентрации 0,25 – 0,5 мг/л [2]. Лианы (актинидии и лимонник) и жимолость не нуждаются в использовании экзогенной ГК. У жимолости наличие в среде ГК в концентрации 0,25 – 0,5 мг/л приводит к формированию конгломератов истонченных побегов или побегов с измененной морфологией, непригодных для укоренения.

Оптимальная длительность пассажа на этапе размножения побегов для разных культур будет существенно отличаться. Из включенных в работу культур наиболее частых пересадок, через 4 – 5 недель, требовали сорта ремонтантной малины и жимолости. Для медленно растущей культуры лимонника китайского полезно увеличение длительности беспересадочного периода до 8 – 9 недель.

Эффективность укоренения *in vitro* во многом определяется биологической предрасположенностью изучаемых генотипов к вегетативному размножению. С высокой частотой в культуре *in vitro* укореняются ежевика, ежемалиновые гибриды, актинидии и жимолости. Эти культуры способны укореняться и на безгормональных средах, но для оптимального развития корневой системы требуется применение ауксина. В зависимости от типа и концентрации ауксина в среде качество корневой системы укорененных побегов будет разным. Так, на средах с ИУК обычно формируется более слабая корневая система с тонкими темными корешками, при этом частота ризогенеза высокая. Исключение – малина ремонтантная. Микрочеренки ремонтантной малины эффективно укореняются как при использовании ИМК, так и при использовании ИУК в разных концентрациях. Например, частота ризогенеза сорта Бриллиантовая была 57,1 – 75,0% на средах с ИМК и 60,5 – 69,2 % на средах с ИУК. Сорта малины ремонтантной Брянское диво, Оранжевое чудо, Желтый гигант укоренялись с высокой частотой (88,9 – 96,6%) при концентрации ИМК в питательной среде 0,25 мг/л (рис. 1). У сорта Геракл максимальная эффективность ризогенеза достигнута на среде с 1,0 мг/л ИМК (90,9%). Среднее число корней на укорененный микрочеренок у изучаемых сортов малины ремонтантной составляет от 1,4 до 2,4 шт. на безгормональных средах и от 2,6 до 4,5 шт. на среде с ауксином.

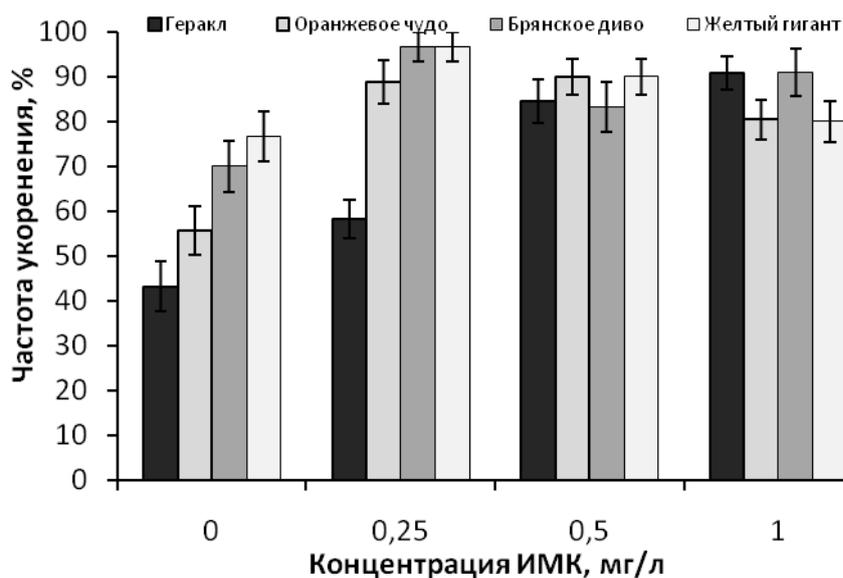


Рис. 1 Эффективность укоренения микрочеренков малины ремонтантной на среде MS_{ук} при разной концентрации ИМК

Для укоренения разных видов актинидии достаточно добавления в среду ИМК в концентрации 0,25 мг/л. Для ежевики лучшие показатели ризогенеза достигнуты на средах с 0,25 – 0,5 мг/л ИМК. Для древесных культур и жимолости требуются более высокие концентрации ИМК – 0,8-1,0 мг/л.

Применение НУК было удачным только при концентрации ауксина 0,125 мг/л. Избыточное содержание этого ауксина в среде приводит к калусному разрыхлению корней, частичному оводнению побегов и некрозу нижних листьев, что значительно снижает качество полученных микрорастений. Для генотипов с низкой способностью к ризогенезу *in vitro*, таких как ряд форм отдаленных гибридов семечковых культур, положительный эффект дало замачивание оснований микрочеренков в растворе ауксина с последующей высадкой на безгормональные среды.

Для достижения максимальной эффективности ризогенеза использование базовой среды укоренения, содержащей 15 – 20 г/л сахарозы, не всегда оправдано, так как для ряда садовых культур максимальная эффективность ризогенеза достигается на средах с повышенной концентрацией углевода в среде и при использовании альтернативных источников углевода. Повышенная концентрация сахара в питательной среде (0,1 моль/л) на 10 – 15% повышает частоту ризогенеза микрочеренков малины. Максимальная частота ризогенеза ежевики получена на средах с 30 г/л глюкозы, фруктозы и мальтозы. Изменение углеводного состава среды существенно влияет на развитие корневой системы. Например, для жимолости сорта Волхова максимальные показатели среднего числа корней на укорененный микрочеренок достигнуты на среде укоренения, содержащей 0,1 моль/л мальтозы (34,2 г/л). Углеводы стимулируют рост корней и побегов жимолости. Более развитые побеги с большим диаметром листовых пластинок формируются при концентрации сахарозы, глюкозы и фруктозы 0,1 моль/л.

При правильно проведенном этапе ризогенеза и соблюдении условий адаптации ягодные культуры приживаются в нестерильных условиях с частотой 80-100%, древесные – 75 – 85%. С минимальными потерями (не более 1 – 5%) на этапе адаптации размножены сорта актинидии аргуны, максимальные выпадения отмечены для сортов вишни и отдаленных гибридов семечковых культур (до 40 – 45%). При высадке микрорастений на адаптацию в конце февраля – марте к маю они готовы к реализации в виде кассетных растений (рис. 2) или пересадке их в контейнеры или открытый грунт.

При высадке в контейнеры за 2 – 2,5 летних месяца они сформируют хорошо развитые растения, выпады на этом этапе минимальные (рис. 3).

Метод клонального микроразмножения считается дорогостоящим и трудоемким. Для проведения биотехнологических работ требуются специализированные лаборатории с соответствующим оборудованием и высококвалифицированным штатом сотрудников. Основные затраты при производстве микрорастений приходятся на заработную плату сотрудникам и электроэнергию. В основе практически всех манипуляций по клональному микроразмножению растений лежит ручной труд высококвалифицированного персонала, что значительно повышает стоимость полученных таким образом растений.

Отечественный посадочный материал, полученный на основе микрорастений, размноженных *in vitro*, представлен на рынке в основном растениями с закрытой корневой системой (ЗКС). Растения с ЗКС поставляются в кассетах с различным объемом ячейки и их количеством (типы кассет от 54 до 160 ячеек) и контейнерах (от 0,5 до 5 л), после доращивания в теплице.



Рис. 2 Кассетные растения ежевики Эвергрин Торнлесс, полученные *in vitro*

Рис. 3 Растения ежемалинового гибрида Тайберри после адаптации и доращивания

Средняя цена оздоровленного адаптированного растения в кассетах 35 – 45 руб. за 1 растение, себестоимость такого растения 15 – 20 руб. в зависимости от эффективности размножения и адаптации культуры, цены расходных материалов, объема производства. Цена реализации растения в контейнере в зависимости от возраста, размера, вида растения и ценовой политики фирмы колеблется от 80 до 450 рублей, при себестоимости растения от 30 до 60 руб. Себестоимость и рентабельность производства различных культур будет отличаться, поэтому при организации биотехнологического производства посадочного материала требуется как тщательный анализ конъюнктуры рынка, так и возможностей эффективного размножения того или иного вида в условиях *in vitro*.

Выводы

Наиболее универсальной, подходящей для культивирования большинства плодово-ягодных и декоративных древесно-кустарниковых культур и лиан является питательная среда MS (Murashige, Skoog, 1962). Для размножения малины и ежемалиновых гибридов эффективней всего использовать модифицированную среду Мурасиге-Скуга (Murashige, Skoog, 1962) в которой хлорид кальция заменен на нитрат, что увеличено в 1,5 – 2 раза содержание железа и сахароза заменена на глюкозу.

На этапе размножения эффективно использовать цитокинин в сочетании с ауксином в соотношении 10 : 1. Применение 6-бензиламинопурина в концентрации 0,5 – 1,0 мг/л в сочетании с 0,05 – 0,1 мг/л ИМК или ИУК способно обеспечить высокие коэффициенты размножения садовых растений.

Для укоренения разных видов актинидии достаточно добавления в среду ИМК в концентрации 0,25 мг/л. Для ежевики лучшие показатели ризогенеза достигнуты на средах с 0,25 – 0,5 мг/л ИМК. Для древесных культур и жимолости требуются более высокие концентрации ИМК – 0,8 – 1,0 мг/л. Микрочеренки ремонтантной малины эффективно укореняются как при использовании ИМК, так и при использовании ИУК в разных концентрациях. Рекомендуемая концентрация ИУК в среде ризогенеза – 0,125 мг/л.

Список литературы

1. Муратова С.А., Шорников Д.Г., Янковская М.Б., Папихин Р.В. Совершенствование метода клонального микроразмножения актинидии и лимонника китайского // Современное садоводство. – 2010. – № 1. – С. 96 – 100.
4. Соловых Н.В., Муратова С.А. Размножение *in vitro* растений рода *Rubus* // Сибирский вестник с. - х. науки. – 2011. – №1. – С.32-39.
5. Шорников Д.Г. Разработка метода клонального размножения лимонника и актинидии / Плодоводство и ягодоводство России. – М.: ВСТИСП, 2008. – Т.18. – С. 428–434.

Muratova S.A. Biotechnological aspects of propagation fruit and berry crops // Works of the State Nikit. Botan. Gard. – 2017. – Vol. 144. – Part II. – P. 84-89.

Methods of clonal micropropagation *in vitro* fruit crops, non-traditional small fruit were optimized. Optimal types, concentrations and combinations of growth regulators, mineral substances and carbohydrate promoting intensive propagation of microshoots and rhizogenesis were confirmed.

Key words: *clonal micropropagation, large-and-small fruit crops, medium composition, growth regulators, rhizogenesis, adaptation.*

УДК 635.9:631.535

РАЗМНОЖЕНИЕ ДЕКОРАТИВНЫХ КУЛЬТУР ЗЕЛЕНЫМИ ЧЕРЕНКАМИ В ОГРАНИЧЕННОМ ОБЪЕМЕ СУБСТРАТА

**Анна Юрьевна Павлова, Наталья Юрьевна Джура,
Евгения Александровна Туть**

ФГБНУ «Всероссийский селекционно-технологический институт садоводства и питомниководства», г. Москва, Россия
dzhura-n-yu@yandex.ru

Размножение декоративных культур зелеными черенками в ограниченном объеме субстрата, без дополнительного стимулирования корнеобразования регуляторами роста, не снижало укореняемости и качества посадочного материала. Сохранность укорененных черенков в зимней период на месте укоренения замульчированными опилками под снегом, зависела от биологических особенностей культуры. Выход саженцев легкоукореняемых декоративных кустарников с закрытой корневой системой составил не менее 90 %.

Ключевые слова: *декоративные культуры, зеленые черенки, контейнер, укореняемость*