

МИКРОКЛОНАЛЬНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ ПЕРСПЕКТИВНЫХ КЛОНОВЫХ ПОДВОЕВ ГРУШИ

Т.П. КОБРИНЕЦ

РУП «Брестская областная сельскохозяйственная опытная станция НАН Беларуси»,
г. Пружаны, Брестская область, 225133, Беларусь,
e-mail: kobrinets_t@mail.ru

АННОТАЦИЯ

В статье приведены результаты микроразмножения и укоренения *in vitro* перспективных клоновых подвоев груши: S₁, ВА-29, 2.31.

При изучении влияния разных концентраций 6-БА при содержании ГК 0,5 мг/л на коэффициент размножения подвоев груши установлено, что лучшей является концентрация 6-БА 1,0 мг/л, при которой наблюдаются оптимальные значения показателей длины побегов и количества листьев на 1 регенерант. При содержании 6-БА 2,0 мг/л отмечено явление витрификации у 12,5 % микрорастений подвоя 2.31 и у 5 % подвоя S₁.

При изучении влияния различных концентраций ГК при содержании 6-БА 0,5 мг/л на основные показатели роста и развития растений-регенерантов груши на этапе собственно микроразмножения установлено, что оптимальной является концентрация 0,5 мг/л. Увеличение концентрации гибберелловой кислоты стимулирует рост микропобегов груши в длину, но несколько снижает коэффициент размножения у всех форм подвоев.

При культивировании микрорастений на безгормональной среде длина побегов всех форм подвоев составила около 2 см, а среднее количество листьев на микропобег составило 5,8 штук. Наибольший коэффициент размножения отмечен на подвое S₁ (2,8). Также наблюдалось 15%-ное укоренение подвоя S₁.

Наибольшей способностью к укоренению (45,0 %) и длиной корней (4,1 см) обладает подвой S₁. Наименьшей эффективностью укоренения – подвой ВА-29 (3,7).

Ключевые слова: груша, подвой, культура *in vitro*, микроразмножение, укоренение, регенерант, Беларусь.

ВВЕДЕНИЕ

Груша является одной из ведущих плодовых культур умеренного пояса, занимает второе место в мировом производстве плодов листопадных плодовых культур. В отличие от яблони у нее не наблюдается резко выраженной периодичности плодоношения и она, как правило, плодоносит ежегодно.

Груша не получила широкого распространения вследствие больших габаритов деревьев, выращиваемых на семенных подвоях, что значительно затрудняет проведение обрезки деревьев и уборки урожая, на проведение которых приходится до 70 % затрат в семечковых садах. Поэтому промышленных насаждений груши в нашей республике очень мало, а основные насаждения груши сосредоточены в частном секторе [3].

Важным фактором для увеличения производства плодов груши является переход на выращивание слаборослых садов путем применения клоновых подвоев. Это позволит сократить непродуктивный период до вступления деревьев в плодоношение, повысить производительность труда при проведении агротехнических мероприятий в саду и, следовательно, снизить себестоимость полученной продукции [1].

При этом подвой, в том числе и клоновые, должны быть приспособленными к природно-климатическим условиям конкретного региона, иметь хорошую совместимость с привитыми сортами, быть устойчивыми к вирусным и грибным болезням, обеспечивать раннее вступление в плодоношение [1].

В настоящее время в странах с развитым плодоводством в качестве подвоя для груши используется средне- и слаборослые формы айвы. На айвовых подвоях в интенсивных насаждениях получают деревья со сдержанным ростом, скороплодные, высокопродуктивные, с плодами высокого качества [3].

В Республике Беларусь подвой груши изучены значительно слабее, чем подвой яблони. В Государственный реестр сортов из семенных подвоев внесены груша дикая лесная, сеянец Виневки и АИ-1. Клоновый подвой ВА-29 передан в сеть государственного испытания в 2011 г. Ограниченность сортимента подвоев груши выявляет необходимость изучения перспективных интродуцированных типов, в том числе и в условиях *in vitro*.

Груша, как и другие плодовые, поражается вирусными и вирусоподобными заболеваниями. Вирусные заболевания являются системными и не позволяют плодовым и ягодным растениям полностью реализовать потенциал сорта, уменьшают устойчивость растений к неблагоприятным условиям среды, увеличивают восприимчивость к другим патогенам, снижают качество подвоев и саженцев, урожайность и качество урожая, а также его способность к хранению [2].

В системе защиты плодовых культур от болезней вирусные патогены занимают особое место: невозможно освободить от них растения в существующих посадках с помощью химических или биологических средств защиты. Одним из основных методов освобождения от патогенных вирусов является культура тканей [4]. Метод микроклонального размножения имеет ряд преимуществ по сравнению с традиционными способами вегетативного размножения. Он обеспечивает высокий коэффициент размножения, позволяет освободить растения от патогенных микроорганизмов и вирусов, дает возможность работать круглый год в оптимальных условиях, сокращает площади под маточными насаждениями, позволяет размножать трудноукореняющиеся виды, а также хранить растительный материал длительное время [9].

В связи с развитием интенсивного садоводства все большее значение приобретает производство высококачественного безвирусного посадочного материала, где значительное место занимает метод культуры тканей [5].

МЕТОДИКА И МАТЕРИАЛЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводили в лаборатории биотехнологии отдела плодоводства РУП «Брестская ОСХОС НАН Беларуси» в 2011–2012 гг. Исходный материал (пробирочные растения) был приобретен в РУП «Институт плодоводства».

В качестве объектов исследований использовали перспективные клоновые подвой груши: S₁, ВА-29, 2.31.

S₁ – сеянец айвы Анжерской. Выведен в Институте древесных культур г. Пизы (Италия). Подвой по силе роста превосходит исходную форму, хорошо укореняется, лучше совместим с промышленными сортами [1]. Зимостойкость высокая. Способствует раннему плодоношению деревьев [7].

ВА-29 (QBA-29) – полукарликовый вегетативный подвой груши, отобран из айвы Прованской на Анжерской опытной станции (Франция) [1, 7]. Для подвоя характерны быстрые темпы роста отводков в первом поле питомника в сочетании с низкой степенью поражения бурой пятнистостью. Подвой ВА-29 морозостойкий, совместим с большим количеством сортов, менее требователен к плодородию почвы; деревья груши на этом подвое более устойчивы к хлорозу. В саду деревья груши на ВА-29 начинают плодоносить на 3–4-й год после посадки [1].

2.31 – карликовый клоновый подвой, выделенный в РУП «Институт плодоводства» в результате оценки местных форм айвы по комплексу хозяйственно-биологических показателей. Отличается повышенной укореняемостью отводков, имеет хорошо развитую мочковатую систему, высокий выход стандартных отводков (61,5 %) и низкий балл ветвления [8].

На этапе пролиферации для стабилизации культуры в условиях *in vitro* и получения достаточного для проведения опытов количества регенерантов использовали среду Мурасиге-Скуга с уменьшенным количеством нитрата аммония в 4 раза, с содержанием 6-бензиладенина (6-БА)

и гибберелловой кислоты (ГК) по 0,5 мг/л, дополненную витаминами и хелатом железа; с добавлением сахарозы – 30 г/л и агара – 4 г/л. Кислотность среды доводилась до 5,6–5,7.

В опыте по изучению влияния концентрации 6-БА на развитие растений-регенерантов клоновых подвоев груши определяли оптимальные концентрации цитокинина для эффективного клонального микроразмножения.

В опыте по изучению влияния концентрации ГК определяли его оптимальное содержание в среде для получения микропобегов наибольшей длины, пригодных к укоренению, при оптимальном коэффициенте размножения.

В опыте по культивированию регенерантов на безгормональной среде определяли показатели развития растений при отсутствии влияния на них фитогормонов.

Для укоренения *in vitro* клоновых подвоев груши использовали питательную среду $\frac{1}{2}$ МС, с полным количеством микросолей, витаминов и хелата железа, и уменьшенным количеством сахарозы (20 мг/л) с содержанием индолилмасляной кислоты (ИМК) 0,5 мг/л. На укоренение высаживали регенеранты груши длиной не менее 2 см.

Эффективность укоренения рассчитывали по формуле:

$$\frac{N_{\text{корней}} \times L_{\text{корней}}}{10},$$

где $N_{\text{корней}}$ – количество корней на эксплант; $L_{\text{корней}}$ – средняя длина корней (мм) [6].

Условия культивирования *in vitro*: освещение 2,5–3 тыс. люкс, температура 20–22 °С, фотопериод 16/8 часов.

Все опыты проводили в четырехкратной повторности. Количество микрорастений в повторности – 10 шт.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении влияния разных концентраций 6-БА при содержании ГК 0,5 мг/л на коэффициент размножения подвоев груши установлено, что лучшей является концентрация 6-БА 1,0 мг/л, при которой наблюдаются оптимальные значения показателей длины побегов и количества листьев на 1 регенерант (таблица 1).

Таблица 1 – Влияние содержания 6-БА на основные показатели роста микрорастений клоновых подвоев груши на 7-м пассаже

Содержание 6-БА, мг/л	Длина побега, см			Коэффициент размножения			Количество листьев, шт.		
	2.31	S ₁	BA-29	2.31	S ₁	BA-29	2.31	S ₁	BA-29
0	1,3	2,0	1,9	2,0	2,8	1,7	5,7	6,0	6,0
0,5	1,4	1,8	1,7	5,0	3,2	2,0	5,5	6,2	5,6
1,0	1,4	1,8	2,5	9,0	11,5	2,0	5,3	5,6	8,0
1,5	0,9	1,3	1,5	9,1	7,8	1,7	5,5	6,5	5,2
2,0	1,0	0,9	1,1	6,8	6,0	2,0	5,3	5,4	5,0
НСР _{0,05}	0,25	0,32	0,11	1,17	0,86	0,34	0,70	0,86	0,47

При содержании 6-БА 2,0 мг/л отмечено явление витрификации у 12,5 % микрорастений подвоя 2.31 и у 5 % подвоя S₁.

При изучении влияния различных концентраций ГК при содержании 6-БА 0,5 мг/л на основные показатели роста и развития растений-регенерантов груши на этапе собственно микроразмножения установлено, что оптимальной является концентрация 0,5 мг/л. Увеличение концентрации гибберелловой кислоты стимулирует рост микропобегов груши в длину, но несколько снижает коэффициент размножения у всех форм подвоев (таблица 2).

Таблица 2 – Влияние содержания ГК на основные показатели роста микрорастений клоновых подвоев груши на 7-м пассаже при концентрации 6-БА 0,5 мг/л

Содержание ГК, мг/л	Длина побега, см			Коэффициент размножения			Количество листьев, шт.		
	2.31	S ₁	BA-29	2.31	S ₁	BA-29	2.31	S ₁	BA-29
0,5	1,8	1,8	2,2	4,3	5,2	2,1	5,8	6,3	5,1
1	2,2	1,9	2,3	4,4	4,2	1,9	6,0	6,3	4,9
1,5	2,2	2,3	2,5	3,3	3,0	1,8	5,2	5,8	4,7
НСР _{0,05}	0,24	0,39	0,07	0,47	0,48	0,05	0,61	0,56	0,29

Перед посадкой на укоренение рекомендуется посадка микрорастений на среду без содержания 6-БА с повышенным содержанием ГК (проведение дополнительного этапа элонгации) для увеличения длины регенерантов, так как отмечено, что лучшей способностью к укоренению обладают регенеранты большей длины.

При культивировании микрорастений на безгормональной среде длина побегов всех форм подвоев составила около 2 см, а среднее количество листьев на микропобег составило 5,8 штук. Наибольший коэффициент размножения отмечен на подвое 2.31 (2,8) (таблица 3).

Таблица 3 – Показатели культивирования регенерантов на безгормональной среде на 7-м пассаже

Подвой	Длина побега, см	Коэффициент размножения	Количество листьев, шт.
2.31	1,8	2,8	4,9
S ₁	2,0	1,5	7,4
BA-29	2,4	1,6	5,2
НСР _{0,05}	0,22	0,19	0,55

На безгормональной среде отмечено 15%-ное укоренение подвоя S₁.

При укоренении растений-регенерантов груши выявлено, что наибольшей способностью к ризогенезу (45,0 %) и длиной корней (4,1 см) обладает подвой S₁. Наименьшей эффективностью укоренения обладает подвой BA-29 (3,4) (таблица 4).

Таблица 4 – Результаты укоренения в культуре *in vitro* клоновых подвоев груши на среде с содержанием ауксина ИМК 0,5 мг/л

Подвой	Посажено, всего шт.	Укоренилось		Среднее количество корней, шт.	Средняя длина корней, см	Эффективность укоренения
		шт.	%			
S ₁	40	18	45,0	1,8	4,1	7,4
2.31	40	11	27,5	1,5	2,5	3,8
BA-29	40	5	12,5	1,1	3,1	3,4
НСР _{0,05}	—	—	—	0,35	0,29	—

При проведении опыта наблюдалось образование каллуса на всех подвоях, что и привело к получению низкого процента укоренения регенерантов.

ВЫВОДЫ

1. В результате исследований по изучению влияния разных концентраций 6-БА на коэффициент размножения клоновых подвоев груши установлено, что оптимальной является концентрация 6-БА 1,0 мг/л при значении показателей длины побега – 1,4–2,5 см и количестве листьев на 1 регенерант – 5,3–8,0 шт.

2. Оптимальной является концентрация ГК 0,5 мг/л. Увеличение концентрации гибберелловой кислоты стимулирует рост микропобегов груши в длину, но несколько снижает коэффициент размножения у всех форм подвоев.

3. На безгормональной среде отмечено 15%-ное укоренение подвоя S_1 .
4. Наибольшей способностью к укоренению (45,0 %) и длиной корней (4,1 см) обладает подвой S_1 . Наименьшей эффективностью укоренения обладает подвой ВА-29 (3,4).
5. Наблюдалось образование каллуса на всех подвоях, что привело к получению низкого процента укоренения регенерантов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Гаджиев, С.Г. Перспективные клоновые подвои груши для условий Беларуси / С.Г. Гаджиев // Плодоводство: науч. тр. / Ин-т плодоводства НАН Беларуси; редкол.: В.А. Матвеев (гл. ред.) [и др.]. – Самохваловичи, 2008. – Т. 20. – С. 287–302.
2. Змушко, А.А. Влияние инфицированности клоновых подвоев яблони на морфологические параметры культуры *in vitro* / А.А. Змушко, С.Э. Семенас // Плодоводство: науч. тр. / Ин-т плодоводства НАН Беларуси; редкол.: В.А. Матвеев (гл. ред.) [и др.]. – Самохваловичи, 2008. – Т. 20. – С. 40–48.
3. Капичникова, Н.Г. Влияние слаборослых подвоев груши на продуктивность деревьев при различных схемах посадки / Н.Г. Капичникова, В.А. Хаткевич // Роль отрасли плодоводства в обеспечении продовольственной безопасности и устойчивого экономического роста: материалы Междунар. науч.-практ. конф., пос. Самохваловичи, 23–25 авг. 2011 г. / РУП «Институт плодоводства»; редкол.: В.А. Самусь (гл. ред.) [и др.]. – Самохваловичи, 2011. – С. 133–137.
4. Кухарчик, Н.В. Научные и практические основы оздоровления от вирусов и размножения плодовых и ягодных культур *in vitro*: автореф. дис. ... на соискание ученой степени доктора с.-х. наук: 06.01.05 / Н.В. Кухарчик; РНИУП «Ин-т земледелия и селекции НАН Беларуси». – Жодино, 2006. – 40 с.
5. Матушкина, О.В. Особенности микроклонального размножения перспективных клоновых подвоев яблони на этапе пролиферации / О.В. Матушкина // Новые сорта и технологии возделывания плодовых и ягодных культур для садов интенсивного типа: тез. докл. на междунар. науч.-метод. конф., Орел, 18–21 июля 2000 г. / ВНИИСПК; редкол.: Е.Н. Седов [и др.]. – Орел: ВНИИСПК, 2000. – С. 141–142.
6. Методика микроразмножения подвоев яблони *in vitro* / В.А. Самусь [и др.] // Методическое обеспечение устойчивого развития современного плодоводства: материалы Междунар. науч. конф., Самохваловичи Минской обл., 6–8 сент. 2006 г. / Ин-т плодоводства НАН Беларуси; редкол.: В.А. Матвеев (гл. ред.) [и др.]. – Самохваловичи, 2006. – Т. 18, ч. 2. – С. 147–157.
7. Скок, Н.А. Подвои груши / Н.А. Скок // Плодоводство: науч. тр. / Ин-т плодоводства НАН Беларуси; редкол.: В.А. Матвеев (гл. ред.) [и др.]. – Самохваловичи, 2004. – Т. 16. – С. 285–288.
8. Скок, Н.А. Изучение местных форм айвы (*Cydonia oblonga*) в качестве клоновых подвоев груши в маточнике / Н.А. Скок // Плодоводство: науч. тр. / Ин-т плодоводства НАН Беларуси; редкол.: В.А. Самусь (гл. ред.) [и др.]. – Самохваловичи, 2009. – Т. 21. – С. 156–165.
9. Туровская, Н.И. Особенности регенерации апикальной меристемы клоновых подвоев яблони / Н.И. Туровская // Микроразмножение и оздоровление растений в промышленном плодоводстве и цветоводстве: сб. науч. тр. / ВНИИ садоводства им. Мичурина; редкол.: Е.П. Куминов (гл. ред.) [и др.]. – Мичуринск, 1989. – С. 13–17.

MICROPROPAGATION OF PROMISING PEAR CLONAL ROOTSTOCKS

T. P. KOBRINET S

Summary

The article presents the results of micropropagation and *in vitro* rooting of promising clonal pear rootstocks: S_1 , BA-29, 2.31. When studying the effect of different concentrations of 6-BA at 0.5 mg/l GA on the multiplication coefficient of pear rootstocks, it was found that the best is the concentration of 6-BA 1.0 mg/l, at which the optimum values of length parameters of shoots and the number of leaves per one plant regenerant were watched. With the content of 6-BA 2.0 mg/l, the phenomenon of vitrification was observed in 12.5 % of micro-plants of rootstock 2.31 and in 5 % of rootstock S_1 . When studying the effect of different concentrations of GA with the content of 6-BA 0.5 mg/l on the main indices of growth and development of pear regenerating plants on the stage of propagation, it was established that the concentration 0.5 mg/l was optimal. Increase in the concentration of gibberellic acid stimulated growth of pear micro-plants in length but somewhat reduced the multiplication coefficient for all forms of rootstocks. When micro-plants were cultivated in a hormone-free medium, the length of shoots of all forms of rootstocks was about 2 cm, and the average number of leaves per shoot was 5.8. The greatest multiplication coefficient was marked on S_1 (2.8). Also 15 % of S_1 micro-plants rooted. The rootstock S_1 had the highest rooting efficiency (45.0 %) and root length (4.1 cm). The rootstock BA-29 had the lowest rooting efficiency (3.7).

Keywords: pear, rootstock, *in vitro* culture, micropropagation, rooting, regenerant, Belarus.

Дата поступления статьи в редакцию 02.03.2017