

АДАПТАЦИЯ *EX VITRO* РЕМОНТАНТНЫХ СОРТОВ МАЛИНЫ

О. А. ГАШЕНКО, Л. В. ФРОЛОВА, Н. В. КУХАРЧИК

РУП «Институт плодородства»,
ул. Ковалёва, 2, аг. Самохваловичи, Минский район, 223013, Беларусь,
e-mail: gashenkoolga@yandex.by

АННОТАЦИЯ

Исследования проведены в отделе биотехнологии РУП «Институт плодородства» в 2019–2020 гг. Объектами исследований являлись 3 сорта малины ремонтантной – Геракл (контроль), Херитидж (контроль) и Вераснёвая.

Проведенные исследования по адаптации растений-регенерантов сортов малины на изучаемых субстратах показали, что доля адаптированных растений составила от 70 до 100 %, за исключением смеси торфа «Флорабел-5» с агроперлитом (3:1) для сорта Геракл (56,67 %). Использование субстрата агроперлит позволило получить 100%-ную адаптацию растений изучаемых контрольных сортов (Геракл и Херитидж) и сорта Вераснёвая, использование торфа «Двина» как в чистом виде, так и в смеси с агроперлитом (3:1) – не менее 93,33–96,67 %.

По комплексу показателей (длина побегов, количество и длина корней) лучшим субстратом для адаптации растений-регенерантов сорта Вераснёвая является торф «Двина» и «Флорабел-5» в чистом виде и в смеси с агроперлитом (3:1); для сорта Геракл – торф «Флорабел-5» в чистом виде и в смеси с агроперлитом (3:1), а также торф «Двина» в чистом виде; для сорта Херитидж – торф «Флорабел-5» в чистом виде, торф «Двина» в чистом виде и в смеси с агроперлитом (3:1).

Ключевые слова: малина ремонтантная, *Rubus* L., культура *in vitro*, адаптация, субстрат, Беларусь.

ВВЕДЕНИЕ

Важными этапами в технологии клонального микроразмножения плодовых и ягодных культур являются ризогенез и их адаптация к нестерильным условиям [1–3]. Основная задача на этапе ризогенеза ягодных культур заключается в получении наибольшего количества укорененных микропобегов с хорошо развитой корневой системой. Развитие корневой системы в культуре *in vitro* определяется в первую очередь генотипом (способность к образованию корней в культуре *in vitro* коррелирует с укореняемостью черенков традиционными методами) [4]. Решение данной задачи в значительной степени определяется правильным выбором питательной среды. Для образования корней у некоторых растений важен низкий уровень макросолей в питательной среде. На этапе укоренения представителей рода *Rubus* многие исследователи рекомендуют использовать среду Мурасиге – Скуга (МС) с уменьшенным вдвое содержанием макросолей [1, 5, 6]. Разбавление макроэлементов в 5 раз в среде МС обеспечивало укореняемость микропобегов малины до 70–100 % [1]. Наиболее важными компонентами питательной среды на этапе укоренения *in vitro* являются ауксины, которые обладают различной стимулирующей способностью. Применение того или иного ауксина и его концентраций, необходимых для оптимального корнеобразования микропобегов, зависит от многих факторов и в первую очередь от генотипа [5, 7, 8].

Адаптация растений к нестерильным условиям является последним этапом размножения *in vitro* и должна проходить постепенно, чтобы избежать гибели растений вследствие резкого изменения относительной влажности, освещенности, температуры. Относительная влажность воздуха при культивировании растений в сосуде достигает 100 %. Поэтому основной задачей акклиматизации *ex vitro* регенерированных растений является создание относительно высокой влажности воздуха в первые дни после пересадки, с постепенным снижением влажности в течение 2–3 недель [5, 8–13].

Важным моментом для успешной адаптации растений является состав субстрата. Для большинства растений в качестве субстратов используют верховой торф, субстраты, состоящие из смеси торфа, песка или перлита в различных соотношениях [5, 14].

Для того чтобы обеспечить высокий уровень приживаемости и интенсивный рост микроклонов в нестерильных условиях, субстрат должен характеризоваться хорошей водо- и воздухопро-

нищаемостью, поскольку избыток влаги приводит к появлению корневых гнилей, подопреванию стеблей и гибели растений. В то же время он должен иметь высокую водоудерживающую и поглочительную способность, которые, наряду с оптимальными физическими свойствами, создают благоприятные условия для приживаемости растений. Исследованиями некоторых авторов [8, 13] показана эффективность использования для адаптации ягодных растений к условиям *ex vitro* субстратов, основным компонентом которых является торф. В качестве дополнительных компонентов для обеспечения высокой воздухопроницаемости в состав субстратов включают песок, вермикулит или перлит [8, 13, 14].

Цель исследования – оценить влияние субстратов на морфологическое развитие адаптируемых после культуры *in vitro* растений-регенерантов ремонтантных сортов малины и выделить оптимальный для получения в условиях *ex vitro* растений с закрытой корневой системой.

МЕТОДИКА И МАТЕРИАЛЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводили в отделе биотехнологии РУП «Институт плодоводства» в 2019–2020 гг. в лабораторных условиях. Объектами исследований являлись 3 сорта малины ремонтантной – Геракл (контроль), Херитидж (контроль) и Вераснёвая.

Растения после этапа ризогенеза *in vitro* высаживали в кассеты объемом 50 мл. На первом этапе адаптации растений-регенерантов сортов малины ремонтантной в условиях *ex vitro* использовали 5 типов субстрата: агроперлит; торф «Флорабел-5»; смесь торфа «Флорабел-5» с агроперлитом (3:1); торф «Двина»; смесь торфа «Двина» с агроперлитом (3:1).

Кассеты с растениями накрывали полиэтиленовой пленкой для создания условий повышенной влажности адаптантам до тех пор, пока они не начинали трогаться в рост. Полив производили дистиллированной водой.

Влияние типа субстрата оценивали через 8 нед. после высадки растений в данные субстраты. Морфологическое развитие растений малины оценивали по следующим показателям: доля адаптированных растений-регенерантов (%), длина побега (см), количество корней (шт.), средняя длина корней (см).

2-й этап адаптации (постадаптации) проводили на торфяном субстрате (длительность 35–45 дн.). Адаптированные на 1-м этапе растения малины ремонтантной по мере роста рассаживали в горшки объемом 0,5 л со свежим субстратом (торф «Двина» и агроперлит (3:1)). После пересадки на 2-й этап адаптации растения подкармливали $\frac{1}{2}$ раствора макро- и микросолей по МС.

Условия адаптации: освещение – 2,5–3,0 тыс. лк, температура – +20...+22 °С, фотопериод – 16/8 ч.

Опыты проводили в 3-кратной повторности. Статистическую обработку проводили в программе Statistica 10, используя ANOVA, двухфакторный дисперсионный анализ, критерий Дункана ($p < 0,05$) для сравнения средних значений ($n = 3$). Построение графиков проводили в программе Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные исследования по адаптации растений-регенерантов сортов малины ремонтантной на изучаемых субстратах показали, что доля адаптированных растений (эффективность 1-го этапа адаптации) составила от 70 до 100 %, за исключением смеси торфа «Флорабел-5» с агроперлитом (3:1) для контрольного сорта Геракл (56,67 %). Использование субстрата агроперлит позволило получить 100%-ную адаптацию растений изучаемых контрольных сортов (Геракл и Херитидж) и сорта Вераснёвая, использование торфа «Двина» как в чистом виде, так и в смеси с агроперлитом (3:1) – не менее 93,33–96,67 % (рис. 1).

В результате проведенного двухфакторного дисперсионного анализа установлено влияние с высоким уровнем значимости ($p < 0,001$) как сортовых особенностей, так и субстрата и двух факторов вместе на длину побегов растений-регенерантов сортов малины ремонтантной.

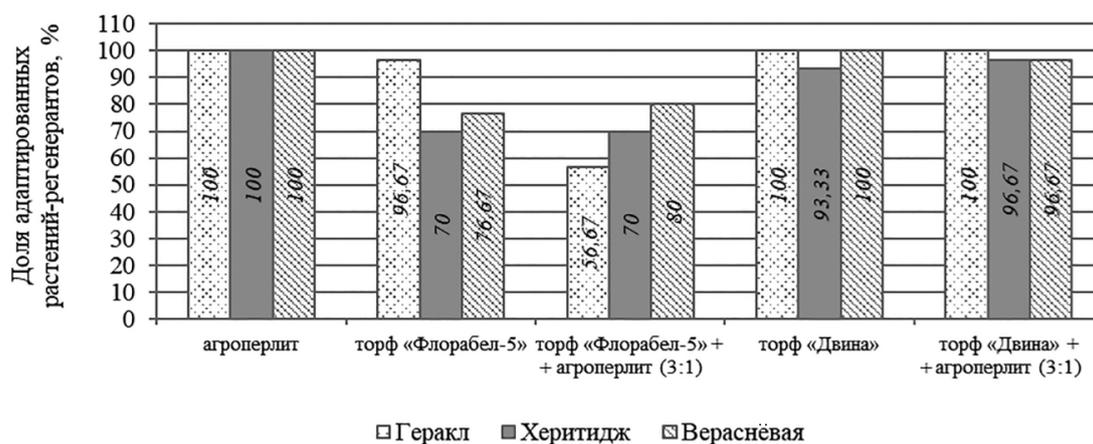


Рис. 1. Доля адаптированных растений-регенерантов сортов малины ремонтантной в зависимости от субстрата

По длине побегов регенерантов малины сорта Вераснёвая лучший результат ($10,93 \pm 0,62$ см) был получен на смеси торфа «Двина» с агроперлитом (3:1). Данное значение достоверно отличалось от длины побегов всех растений, адаптированных на других типах субстратов, за исключением субстрата агроперлит. Длина побегов для изучаемых сортов на агроперлите составила от $2,53 \pm 0,20$ до $3,60 \pm 0,20$ см. Однако результаты по длине побегов на субстратах торф «Флорабел-5», торф «Флорабел-5» с агроперлитом (3:1) и торф «Двина» для сорта Вераснёвая и контрольного сорта Херитидж статистически значимо не отличались между собой. Для контрольного сорта Херитидж самые высокие показатели по длине побегов были получены на торфе «Двина» с агроперлитом (3:1) – $7,60 \pm 0,61$ см. Растения-регенеранты контрольного сорта Геракл, адаптируемые на субстратах торф «Флорабел-5» и «Двина» как в чистом виде, так и в сочетании с агроперлитом (3:1), имели длину побегов от $7,90 \pm 0,15$ до $9,43 \pm 0,52$ см (см. таблицу).

Морфометрические показатели развития растений-регенерантов сортов малины ремонтантной на различных адаптационных субстратах (среднее значение \pm стандартная ошибка)

Субстрат	Сорт	Длина побега, см	Количество корней, шт.	Длина корней, см
Агроперлит	Геракл	$3,60 \pm 0,20^{ab}$	$5,87 \pm 0,59^{ab}$	$5,10 \pm 0,25^{ab}$
	Херитидж	$3,37 \pm 0,12^{ab}$	$9,37 \pm 0,76^{defg}$	$5,03 \pm 0,09^{ab}$
	Вераснёвая	$2,53 \pm 0,20^a$	$9,57 \pm 0,38^{efg}$	$5,90 \pm 0,15^{bc}$
Торф «Флорабел-5»	Геракл	$8,63 \pm 0,35^{fg}$	$6,27 \pm 0,22^{abc}$	$4,77 \pm 0,24^{ab}$
	Херитидж	$6,43 \pm 0,33^{cde}$	$8,03 \pm 0,49^{bcde}$	$4,60 \pm 0,32^{ab}$
	Вераснёвая	$6,70 \pm 1,62^{cde}$	$8,83 \pm 0,48^{def}$	$4,47 \pm 1,23^{ab}$
Смесь торфа «Флорабел-5» с агроперлитом 3:1	Геракл	$7,90 \pm 0,55^{efg}$	$6,07 \pm 0,66^{abc}$	$5,60 \pm 0,50^{abc}$
	Херитидж	$5,07 \pm 0,52^{bc}$	$4,93 \pm 0,68^a$	$7,10 \pm 0,40^c$
	Вераснёвая	$5,87 \pm 0,29^{cd}$	$8,47 \pm 0,75^{cdef}$	$4,13 \pm 0,28^a$
Торф «Двина»	Геракл	$9,43 \pm 0,52^{gh}$	$6,93 \pm 0,26^{abcd}$	$4,97 \pm 0,22^{ab}$
	Херитидж	$5,93 \pm 0,22^{cd}$	$6,87 \pm 1,23^{abcd}$	$4,33 \pm 0,67^{ab}$
	Вераснёвая	$5,97 \pm 0,34^{cd}$	$10,70 \pm 1,45^{fg}$	$6,97 \pm 0,38^c$
Смесь торфа «Двина» с агроперлитом 3:1	Геракл	$7,90 \pm 0,15^{efg}$	$5,07 \pm 0,43^a$	$4,87 \pm 0,52^{ab}$
	Херитидж	$7,60 \pm 0,61^{def}$	$7,23 \pm 0,50^{abcde}$	$4,90 \pm 0,50^{ab}$
	Вераснёвая	$10,93 \pm 0,62^h$	$11,57 \pm 1,28^g$	$5,60 \pm 0,21^{abc}$

Примечание. Данные с одинаковыми буквами по столбцам статистически не различаются при $p < 0,05$ (критерий Дункана).

В результате исследований отмечена также зависимость количества корней сортов малины от сорта ($p < 0,001$), субстрата ($p < 0,05$), а также совместного действия этих двух факторов ($p < 0,05$), а на длину корней оказало влияние только совместное действие сорта и субстрата ($p < 0,001$).

Высокие показатели по количеству корней растения-регенеранты сорта Вераснёвая имели на всех типах субстратов (см. таблицу). При этом использование для адаптации торфа «Двина» в чистом виде и с агроперлитом (3:1) позволило получить самые высокие показатели 10,70±1,45 и 11,57±1,28 шт. соответственно, что значимо отличалось от всех показателей растений в остальных вариантах опытов.

У сорта Херитидж лучший результат по количеству корней отмечен на субстратах агроперлит (9,37±0,76 шт.), торф «Флорабел-5» (8,03±0,49 шт.), торф «Двина» с агроперлитом (3:1) (7,23±0,50 шт.). Самый низкий – торф «Флорабел-5» с агроперлитом (3:1) (4,93±0,68 шт.) и торф «Двина» (6,87±1,23 шт.). Для контрольного сорта Геракл количество корней не превышало 6,93±0,26 шт. (см. таблицу).

Максимальная длина корней отмечена у контрольного сорта Херитидж (7,10±0,40 см) на смеси торфа «Флорабел-5» с агроперлитом (3:1) и у сорта Вераснёвая (6,97±0,38 см) на торфе «Двина». Остальные значения по длине корней для всех сортов малины значимо не отличались друг от друга (см. таблицу).

Таким образом, по комплексу показателей лучшими субстратами для адаптации растений-регенерантов сорта Вераснёвая являются торф «Двина» и «Флорабел-5» в чистом виде и в смеси с агроперлитом (3:1); для контрольного сорта Геракл – торф «Флорабел-5» в чистом виде и в смеси с агроперлитом (3:1), а также торф «Двина» в чистом виде; для контрольного сорта Херитидж – торф «Флорабел-5» в чистом виде, торф «Двина» в чистом виде и в смеси с агроперлитом (3:1).

На 2-м этапе адаптации растения сортов малины ремонтантной пересаживали в горшки объемом 0,5 л с торфяным субстратом (торф «Двина» и агроперлит (3:1)), для получения посадочного материала с закрытой корневой системой. В течение 1-й нед. отмечали 100%-ную приживаемость и активный рост побегов (рис. 2).



Рис. 2. Второй этап адаптации *ex vitro* растений сортов малины ремонтантной в горшках с торфяным субстратом

ВЫВОДЫ

Проведенные исследования по адаптации растений-регенерантов сортов малины на изучаемых субстратах показали, что доля адаптированных растений составила от 70 до 100 %, за исключением вариантов использования смеси торфа «Флорабел-5» с агроперлитом (3:1) для контрольного сорта Геракл (56,67 %). Использование субстрата агроперлит позволило получить 100%-ную адаптацию растений изучаемых контрольных сортов (Геракл и Херитидж) и сорта Вераснёвая, использование торфа «Двина» как в чистом виде, так и в смеси с агроперлитом (3:1) – не менее 93,33–96,67 %. Применение торфяного субстрата (торф «Двина» и агроперлит (3:1)) на 2-м этапе адаптации, при получении посадочного материала с закрытой корневой системой, обеспечило 100%-ную приживаемость растений.

По комплексу показателей **лучшими субстратами для адаптации растений-регенерантов сорта Вераснёвая** (длина побегов, количество корней и длина корней) **являются** торф «Двина» и «Флорабел-5» в чистом виде и в смеси с агроперлитом (3:1); для контрольного сорта Геракл – торф «Флорабел-5» в чистом виде и в смеси с агроперлитом (3:1), а также торф «Двина» в чистом виде; для контрольного сорта Херитидж – торф «Флорабел-5» в чистом виде, торф «Двина» в чистом виде и в смеси с агроперлитом (3:1).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Матушкин, С. А. Влияние минерального состава питательной среды на ризогенез ягодных культур *in vitro* / С. А. Матушкин, Л. В. Ярмоленко // Сб. науч. тр. Гос. Никит. ботан. сада / Никит. ботан. сад – Нац. науч. центр РАН (Ялта) ; редкол.: Ю. В. Плугатарь (гл. ред.) [и др.]. – Ялта, 2017. – Т. 144, ч. II. – С. 73–76.

2. Ярмоленко, Л. В. Особенности ризогенеза сортов малины *ex vitro* / Л. В. Ярмоленко, О. В. Матушкина, И. Н. Пронина // Плодоводство и ягодоводство России : сб. науч. работ / ВСТИСП ; редкол.: И. М. Куликов (гл. ред.) [и др.]. – М., 2017. – Т. XXXXVIII, ч. 1. – С. 308–311.
3. Маркова, М. Г. Совершенствование этапа укоренения в клональном микроразмножении малины / М. Г. Маркова, Е. Н. Сомова // Вестн. МГУ. – 2016. – Т. 2, № 2 (6). – С. 37–40.
4. Размножение в культуре *in vitro* смородины, малины и земляники садовой / Н. В. Кухарчик [и др.]. // Современные тенденции развития промышленного садоводства : материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 75-летию образования НИИ садоводства Сибири им. М. А. Лисавенко, Барнаул, 18–23 авг. 2008 г. / НИИСС им. М. А. Лисавенко ; редкол.: В. И. Усенко (гл. ред.) [и др.]. – Барнаул, 2008. – С. 361–366.
5. Клональное микроразмножение растений : учеб.-метод. пособие / Казан. (Приволж.) федер. ун-т, Ин-т фундам. медицины и биологии ; сост.: О. А. Тимофеева, Ю. Ю. Невмержицкая. – Казань : Казан. ун-т, 2012. – 56 с.
6. Калинин, Ф. Л. Технология микроклонального размножения растений / Ф. Л. Калинин, Г. П. Кушнир, В. В. Сарнацкая ; под ред. В. П. Лобова. – Киев : Ин-т физиологии растений и генетики, 1992. – С. 149–150.
7. Ярмоленко, Л. В. Влияние салициловой кислоты на ризогенез сортов малины *in vitro* / Л. В. Ярмоленко // Современное состояние питомниководства и инновац. основы его развития : материалы Междунар. науч.-практ. конф., 21–23 апр. 2015 г. / Всерос. науч.-исслед. ин-т садоводства им. И. В. Мичурина ; редкол.: Ю. В. Трунов (предс.) [и др.]. – Мичуринск ; Воронеж, 2015. – С. 253–256.
8. Деменко, В. И. Адаптация растений, полученных *in vitro*, к нестерильным условиям / В. И. Деменко, В. А. Лебедев // Изв. ТСХА. – 2011. – Вып. 1. – С. 60–70.
9. Сковородников, Д. Н. Адаптация полученных *in vitro* растений малины к нестерильным условиям / Д. Н. Сковородников, И. А. Райков, Д. Н. Челябин // Вестн. ОрелГАУ. – 2012. – № 2 (35). – С. 70–72.
10. Иванова-Ханина, Л. В. Адаптация растений-регенерантов ежевики к условиям *ex vitro* / Л. В. Иванова-Ханина // Ученые записки Крым. федер. ун-та им. В. И. Вернадского. Биология. Химия. – 2019. – Т. 5 (71), № 1. – С. 30–39.
11. Влияние хитозансодержащих препаратов на рост и развитие *ex vitro* растений рода *Rubus* L. на этапах адаптации и доращивания / С. В. Акимова [и др.] // Плодоводство и ягодоводство России : сб. науч. работ / ВСТИСП ; редкол.: И. М. Куликов (гл. ред.) [и др.]. – М., 2016. – Т. XXXXVI. – С. 183–189.
12. Трунов, И. А. Оптимизация условий роста микрорастений садовых культур на этапе адаптации / И. А. Трунов, Ю. В. Хорошкова // Вестн. Мичур. ГАУ, 2020. – № 1 (60). – С. 90–97.
13. Рундя, А. П. Особенности адаптации ремонтантной малины в условиях *ex vitro* / А. П. Рундя // Почвоведение и агрохимия. – 2015. – № 1 (54). – С. 223–230.
14. Волосевич, Н. Н. Морфологические и экономические показатели ризогенеза и адаптации *ex vitro* сортов малины летнего срока созревания / Н. Н. Волосевич // Плодоводство : сб. науч. тр. / РУП «Ин-т плододства» ; редкол.: В. А. Самусь (гл. ред.) [и др.]. – Самохваловичи, 2009. – Т. 21. – С. 278–285.

EX VITRO ADAPTATION OF REMONTANT RASPBERRY VARIETIES

O. A. GASHENKO, L. V. FROLOVA, N. V. KUKHARCHIK

Summary

The studies were carried out in the Biotechnology department of the RUE “Institute of Fruit Growing” in 2019–2020. Three samples of remontant raspberry – the Heracles (control), Heritage (control) and Verasnevaya varieties are the key-focus of the research.

Studies on the adaptation of regenerated plants of raspberry varieties on the studied substrates have showed that the proportion of adapted plants ranged from 70 to 100 %, with the exception of a mixture of peat “Florabel-5” with agroperlite 3:1 for the Heracles variety – 56.67 %. The use of the agroperlite substrate made it possible to obtain 100 % adaptation of the plants of the studied control varieties (Heracles and Heritage) and the Verasnevaya variety. The use of Dvina peat, both in pure form and in a mixture with agroperlite 3:1 made it possible to obtain not less than 93.33–96.67 %.

According to a set of indicators (shoot length, number and length of roots), the best substrate for the adaptation of regenerated plants of the Verasnevaya variety was the use of peat “Dvina” and “Florabel-5” in its pure form and mixed with agroperlite 3:1. The best substrates for adaptation for the Heracles variety was the use of peat “Florabel-5” in its pure form and mixed with agroperlite 3:1, as well as peat “Dvina” in its pure form. As for the Heritage variety the best substrates for adaptation was the use of peat “Florabel-5” in its pure form, peat “Dvina” in its pure form and mixed with agroperlite 3:1.

Keywords: remontant raspberry, *Rubus* L., *in vitro* culture, adaptation, substrate, Belarus.

Поступила в редакцию 22.04.2022