

УДК 634.11:631.541.11:581.143.6

ВЛИЯНИЕ ДЕПОНИРОВАНИЯ НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ МИКРОПОБЕГОВ ПОДВОЕВ ЯБЛОНИ*

Х. И. БОБОДЖАНОВА¹, К. АШУРЗОДА²

¹Центр биотехнологии Таджикского национального университета,
пр. Рудаки, 17, г. Душанбе, 734025, Таджикистан,
e-mail: bobojankh_7@bk.ru

²Образовательный центр «Интеллект»,
ул. Дж. Расурова, 71/1, г. Душанбе, 734049, Таджикистан,
e-mail: AshurzodaQurbanali5@gmail.com

АННОТАЦИЯ

Представлены результаты исследований, проведенных на базе лабораторий Центра биотехнологии Таджикского национального университета, в рамках темы «Биотехнология производства оздоровленного посадочного материала и создание базовых коллекций оздоровленных растений плодовых и ягодных культур» (№ ГР 0119ТJ00971) в 2019–2023 гг.

Показано влияние хранения подвоев яблони в культуре *in vitro* при низких положительных температурах в течение 75 дней и 12 месяцев. Средние значения коэффициента микроразмножения двух пассажей до депонирования микропобегов подвоев M9, MM106 и P22 составили 3,4, 3,8 и 4,1 соответственно, после депонирования в течение 75 дней – 3,4, 2,0 и 3,9 соответственно.

Ключевые слова: подвой яблони, микроразмножение, микропобеги, депонирование, коэффициент размножения.

ВВЕДЕНИЕ

Разработка технологии депонирования яблони и груши *in vitro* является одним из перспективных направлений биотехнологии. Она позволяет создать банк ценных генотипов и при необходимости включать их в систему производства сертифицированного посадочного материала. В работах О. В. Матушкиной и И. Н. Прониной [1] установлено оптимальное соотношение минерального, гормонального состава питательной среды и углеводов, а также условий беспересадочного культивирования, которые позволяют проводить депонирование в течение 12–46 месяцев на этапе микроразмножения, 2–7 месяцев – на этапе ризогенеза. Авторы указывают, что лучшей средой для беспересадочного культивирования является $\frac{1}{4}$ QL, на которой сохраняется 50–100 % эксплантов. Увеличение содержания сахарозы до 40 г/л также продлевает сохранность эксплантов до 24 месяцев. Наибольшая длительность хранения микрорастений на этапе ризогенеза в исследованиях авторов наблюдается у подвоя яблони 54-118 – 7 месяцев при 100 % сохранности микрорастений [1–3].

Возможность хранения пробирочных растений подвоев яблони до 16 месяцев в условиях бытового холодильника отмечается в работе С. Э. Семенас, А. А. Змушко, Н. В. Кухарчик [4]. Авторы используют хранение (без освещения, при температурном режиме +5...+8 °C) как на среде для размножения, так и на среде для укоренения и отмечают, что после окончания хранения регенеранты имеют, как правило, этиолированные побеги длиной от 1 до 10 см и после кратковременного (5–10 дней) культивирования в условиях стандартного режима приобретают нормальную окраску. Авторы отмечают, что при необходимости длительного поддержания культуры *in vitro* депонирование решает основные задачи – сведение к минимуму число пассажей, снижение темпов роста и старения культуры. Хранящийся материал всегда готов для дальнейшего использования, что позволяет сохранять коллекции в течение длительного времени, значительно сокращает затраты на ежегодное тестирование и оздоровление [4].

На большой выборке клоновых подвоев, находящихся в коллекции *in vitro* (54-118, 57-490, 57-491, 57-545, 62-396, 69-6-217, MM106, M 26, Марк 9), изучена возможность применения жасмоно-

* Авторы выражают благодарность Ш. К. Ясауловой за проведение экспериментальных исследований.

вой кислоты при длительном хранении и различных температурных режимах. Культивирование клоновых подвоев яблони при температуре +20...+22 °C и использование питательных сред с добавлением жасмоновой кислоты в концентрации 0,25–1,00 мг/л позволило авторам поддерживать жизнеспособность микрорастений на уровне 4,8–23,8 % через 48 месяцев беспересадочного выращивания, снижение температур (+3...+6 °C) позволяет сохранять 5,3–52,4 % регенерантов. Максимальная сохранность отмечена в процессе культивирования при температуре +3...+6 °C в варианте с добавлением жасмоновой кислоты в концентрации 1,0 мг/л – на уровне 21,1–52,4 % (в зависимости от формы клонового подвоя яблони) [5]. Автор отмечает существенное увеличение длины микропобегов (в 1,4–1,6 раза) и среднего числа листьев на один микропобег (в 1,2–1,6 раза) у форм клоновых подвоев яблони на питательной среде с жасмоновой кислотой в концентрации 1,0 мг/л. В последующем экспланты не отставали в вегетативном развитии *in vitro* по сравнению с эксплантами, не проходившими депонирование. Добавление в питательную среду жасмоновой кислоты можно рекомендовать в качестве приема, повышающего сохранность эксплантов при длительном хранении коллекций клоновых подвоев яблони в культуре *in vitro* [6].

Цель исследований – определить влияние депонирования на регенерационную способность микропобегов подвоев яблони M9, MM106 и P22.

ОБЪЕКТЫ, УСЛОВИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводили в Центре биотехнологии Таджикского национального университета в 2019–2023 гг.

Объектами исследования были выбраны подвои яблони M9, MM106 и P22 из коллекционного участка филиала Института садоводства и овощеводства им. И. В. Мичурина Таджикской академии сельскохозяйственных наук. Выбор объекта объясняется востребованностью указанных подвоев в хозяйствах страны благодаря хозяйственно полезным признакам.

M9 – карликовый подвой, отобран в Англии на Ист-Моллингской опытной станции садоводства (Кент). Маточный куст среднерослый, раскидистой формы. Побеги темно-красно-коричневого цвета. Выход стандартных отводков – 20–60 тыс. шт/га. Укоренение отводков удовлетворительное. Корневая система развита слабо, корневые отводки плохо приживаются, слабо закрепляются в почве. Для деревьев требуется шпалера с однорядной опорной проволокой. Плодоносят на 4–5-й год, урожайность – 100–250 ц/га и более в зависимости от сорта и типа сада [7].

MM106 – среднерослый подвой, получен в Англии на Ист-Моллингской опытной станции садоводства совместно с НИИ плодоводства им. Джона Иннеса в Мертоне. Маточный куст высокий, кустовидно-пирамидальной формы. Побеги темно-красно-каштановые, характеризуются довольно хорошим укоренением в маточнике, хорошо приживаются. Вступают в плодоношение на 5–7-й год. Средняя урожайность в зависимости от сорта – 100–110 ц/га [7].

P22 – один из самых слаборослых вегетативно размножаемых подвоев, выведенных в Институте садоводства и цветоводства в Скерневице (Польша). Получен от скрещивания подвоя M9 и Антоновки обыкновенной. Характеризуется высокой степенью влияния на привитые сорта по усилению скороплодности. Проходит испытание во ВНИИС (г. Мичуринск) как перспективный подвой [8].

Для введения в культуру *in vitro* использовали почки одревесневших черенков в период выхода из покоя. Для соблюдения стерильности все процедуры проводили в условиях ламинар-бокса «Ламинар-С»-1,2 (Россия). Выделение меристем проводили при увеличении 8 × 23 (бинокулярный микроскоп МБС-10 (Россия)) и с использованием специального набора инструментов (игла, скальпель, пинцет). Срезанные скальпелем почки помещали в емкости с крышкой и проводили поэтапную стерилизацию с использованием 70%-ного этилового спирта и 30%-ной перекиси водорода [9].

Выделенные экспланты переносили на стандартную агаризованную питательную среду Мурасиге – Скуга [10], дополненную витаминами и биологически активными веществами [11]. Для микроразмножения использовали питательную среду с витаминами и цитокинином 6-БА –

1,0 мг/л [11]. Культивирование изолированных тканей растений *in vitro* осуществляли в биологических пробирках 22 × 220 мм в светокультуральной комнате при температуре +22...+24 °C, влажности воздуха 70–80 %, фотопериоде 16/8 ч, освещенности 2,5–3,0 тыс. лк. Длительность субкультивирования составляла 4–5 недель. Депонирование (температуруный режим составил +3...+5 °C, без освещения, без пассажирования) проводили в течение 75 дней (1-й вариант) и в течение 12 месяцев (2-й вариант). Питательная среда для депонирования содержала 1/2 макросолей, остальные компоненты – по прописи Мурасиге – Скуга [11].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведено изучение влияния депонирования при температуре +3...+5 °C и полном отсутствии освещения на регенерационную способность микропобегов подвоев яблони M9, MM106 и P22.

Эффективность инициации культуры *in vitro* эксплантов подвоев яблони M9, MM106 и P22 для дальнейшего проведения опытов составила 97,0, 72,4 и 61,3 % соответственно. Конгломераты микропобегов подвоев яблони M9, MM106 и P22 перед депонированием размножали в течение двух пассажей для получения необходимого для депонирования количества эксплантов и для сравнительного изучения коэффициентов размножения подвоев до и после депонирования.

Среднее значение коэффициента микроразмножения до депонирования по двум пассажам равно 3,4 для подвоя M9, 3,8 – для MM106 и 4,1 – для P22 (табл. 1).

Таблица 1. Средние значения коэффициента размножения подвоев на двух пассажах (до депонирования)

Форма подвоя	Коэффициент размножения		Среднее по пассажам
	Первый пассаж	Второй пассаж	
M9	2,4	4,4	3,4
MM106	2,1	5,5	3,8
P22	1,6	6,5	4,1

Далее микропобеги трех типов подвоев депонировали в течение 75 дней при температуре от +3...+5 °C и полном отсутствии освещения без пересадок на той же питательной среде с концентрацией 6-БАП 1,0 мг/л.

Выявлено, что при депонировании микропобегов наблюдаются единичные случаи инфицирования и некроза микропобегов подвоев M9, MM106 и P22. По истечении периода депонирования сроком 75 дней жизнеспособность растений-регенерантов составила 98,2, 100,0 и 98,8 % для подвоев M9, MM106 и P22 соответственно (табл. 2).

Таблица 2. Результативность депонирования подвоев яблони

Тип подвоя	помещено на депонирование	Количество пробирок							
		после депонирования в течение 75 дней							
		непосредственно после депонирования				после культивирования при нормальной вегетации			
		инфицированных	жизнеспособных	жизнеспособных	жизнеспособных	шт.	%	шт.	%
шт.	шт.	шт.	%	шт.	шт.	шт.	%	шт.	%
M9	228	4	1,8	224	98,2	218	95,6	216	95,0
MM106	22	0	0	22	100,0	22	100,0	22	100,0
P22	84	1	1,2	83	98,8	83	98,8	82	97,6

После депонирования растения-регенеранты содержали в условиях светокультуральной комнаты при установленном режиме в течение 7 и 14 дней, затем пересаживали на свежую питательную среду. Показано, что по истечении 14 дней культивирования микропобегов в обычных условиях светокультуральной комнаты растения-регенеранты подвоев сохраняют высокую жизнеспособность: 95,0, 100,0 и 97,6 % для подвоев M9, MM106 и P22 соответственно (табл. 2), быстро восстанавливают нормальную окраску и начинают рост (рис. 1, 2).



Рис. 1. Микропобеги подвоев яблони: *а* – до депонирования; *б* – после депонирования в течение 75 дней при температуре +3...+5 °С; *в* – после депонирования в течение 75 дней и 7-дневной выдержки в условиях светокультуральной комнаты

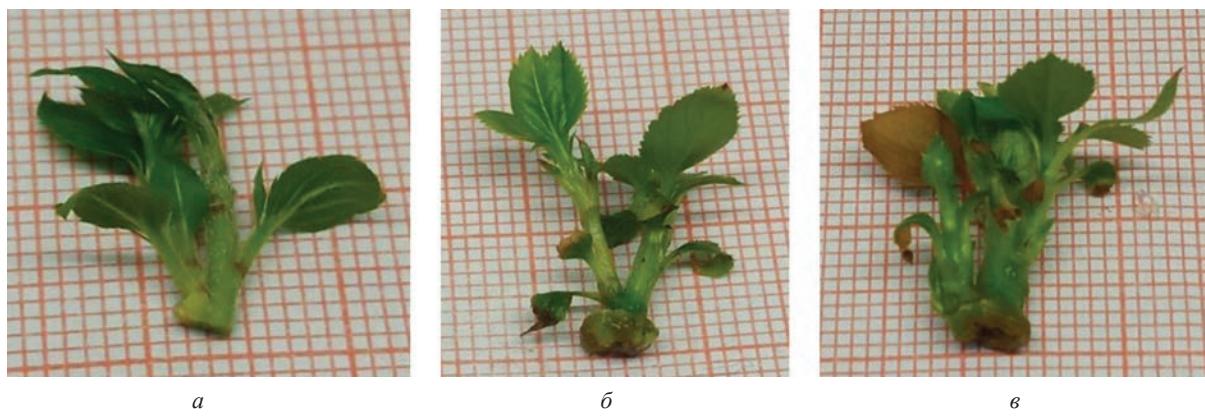


Рис. 2. Конгломераты микропобегов подвоев после депонирования в течение 75 дней и 14-дневной выдержки в условиях светокультуральной комнаты: *а* – M9; *б* – MM106; *в* – P22

Коэффициенты микроразмножения на первом и втором пассажах после депонирования для подвоев M9 и MM106 отличаются незначительно, в то время как для подвоя P22 коэффициент микроразмножения во втором пассаже значительно превышает значение в первом и составляет 5,6 и 2,1 соответственно. Коэффициенты размножения (2,0–5,6) данных подвоев после депонирования при низких температурах позволяют в дальнейшем получать посадочный материал.

Средние значения коэффициентов размножения микропобегов подвоев M9, MM106 и P22 составили 3,4, 2,0 и 3,9 соответственно (табл. 3).

Таблица 3. Коэффициенты размножения подвоев яблони после депонирования в течение 75 дней

Тип подвоя	Коэффициент размножения		Среднее по пассажам
	первый пассаж	второй пассаж	
M9	3,0	3,7	3,4
MM106	2,0	2,0	2,0
P22	2,1	5,6	3,9

Сравнительный анализ коэффициентов размножения до и после депонирования в течение 75 дней показал, что для подвоев M9 и P22 существенных изменений не отмечено. Для подвоя MM106 отмечено значительное снижение (с 3,8 до 2,0) коэффициента размножения после депонирования.

После депонирования в течение 12 месяцев (температурный режим составил +3...+5 °C, без освещения, без пассажирования) микропобеги исследованных типов подвоя M9 и P22 некротизировались и теряли способность к микроразмножению (рис. 3).

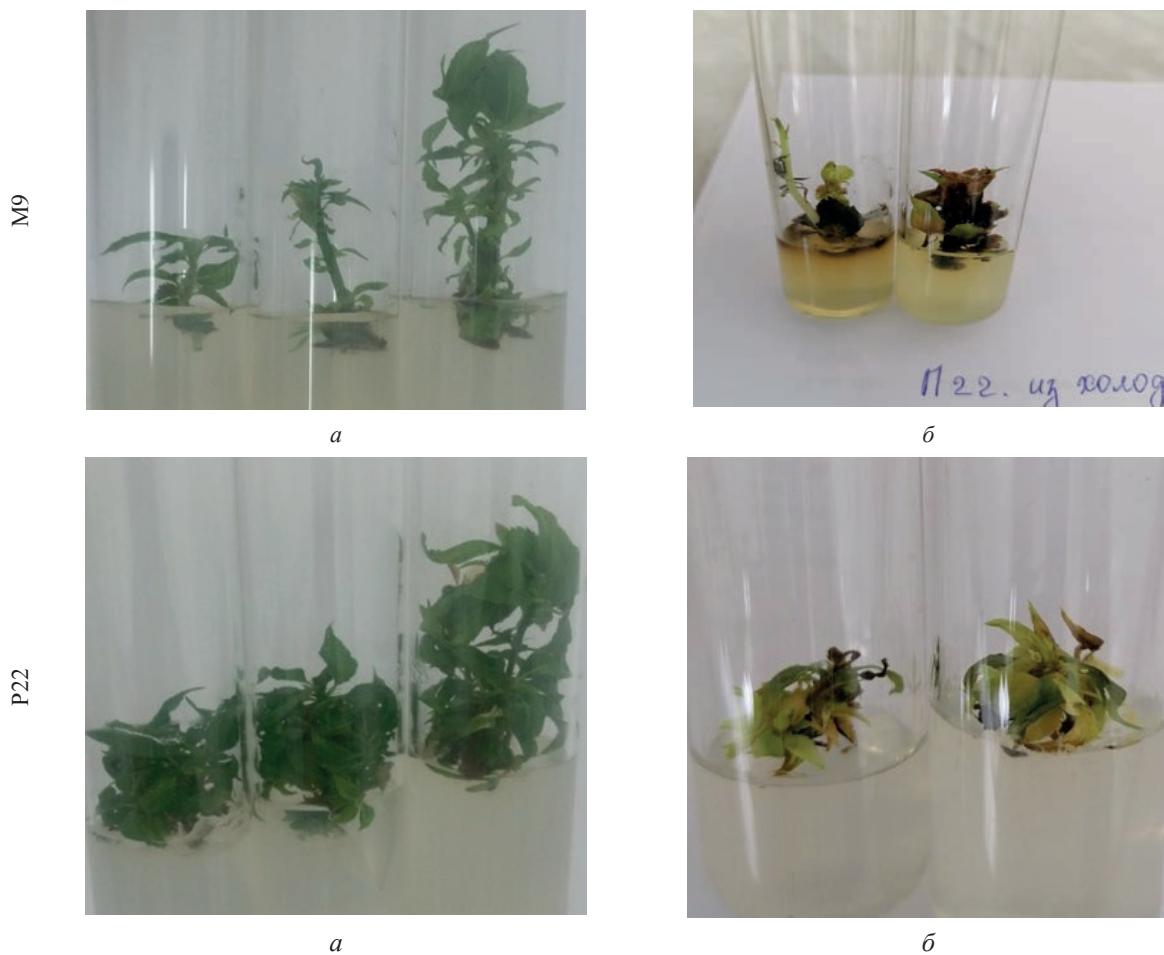


Рис. 3. Микропобеги подвоя: а – до депонирования; б – после депонирования в течение 12 месяцев

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Жизнеспособность микропобегов подвоев яблони в течение депонирования при полном отсутствии света и температуре +3...+5 °C сохраняется в течение 75 дней и составляет 98,2, 100,0 и 98,8 % для подвоев M9, MM106 и P22 соответственно.

Коэффициенты размножения до и после депонирования в течение 75 дней для подвоев M9 и P22 существенно не изменились. Для подвоя MM106 отмечено значительное снижение коэффициента размножения после депонирования (с 3,8 до 2,0).

Депонирование при температуре +3...+5 °C в течение 12 месяцев привело к некрозу микропобегов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Матушкина, О. В. Технология беспересадочного культивирования яблони и груши *in vitro* / О. В. Матушкина, И. Н. Пронина // Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК – продукты здорового питания. – 2016. – № 5. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/tehnologiya-besperesadchnogo-kultivirovaniya-yabloni-i-grushi-in-vitro> (дата обращения: 20.02.2025).
2. Матушкина, О. В. Оптимизация процессов регенерации при размножении клоновых подвоев и сортов яблони и груши *in vitro* : автореф. дис. ... канд. с.-х. наук : 06.01.07 / Матушкина Ольга Васильевна ; Мичур. гос. аграр. ун-т. – Мицуринск, 2008. – 23 с.
3. Пронина, И. Н. Длительное хранение эксплантов яблони и груши на этапе ризогенеза *in vitro* и его влияние на адаптацию *ex vitro* / И. Н. Пронина // Биотехнология в плодоводстве : материалы междунар. науч. конф., аг. Самохваловичи, 13–17 июня 2016 г. / НАН Беларусь, Ин-т плодоводства ; редкол.: В. А. Самусь (глав. ред.) [и др.]. – Минск, 2016. – С. 47–50.
4. Семенас, С. Э. Технология производства оздоровленных клоновых подвоев яблони / С. Э. Семенас, А. А. Змушко, Н. В. Кухарчик // Плодоводство : сб. науч. тр. / НАН Беларусь, Ин-т плодоводства ; редкол.: В. А. Самусь (глав. ред.) [и др.]. – 2014. – Т. 26. – С. 64–78.
5. Бядовский, И. А. Влияние жасмоновой кислоты и пониженной температуры на возможность длительного хранения клоновых подвоев яблони в культуре *in vitro* / И. А. Бядовский // Садоводство и виноградарство. – 2018. – № 5. – С. 30–37.
6. Бядовский, И. А. Влияние длительного депонирования клоновых подвоев яблони на питательных средах с добавлением жасмоновой кислоты и их последующее развитие в культуре *in vitro* / И. А. Бядовский // Садоводство и виноградарство. – 2023. – № 5. – С. 35–41. – DOI: 10.31676/0235-2591-2023-5-35-41.
7. Ромаданова, Н. В. Биотехнология получения оздоровленных саженцев яблони / Н. В. Ромаданова ; М-во образования и науки Респ. Казахстан, Ин-т биологии и биотехнологии растений. – Алматы : Данабаев С.Б., 2020. – 126 с.
8. Котов, Л. А. Яблоня на слаборослых подвоях в условиях Урала : учеб.-науч. пособие / Л. А. Котов, Е. З. Савин ; М-во сел. хоз-ва Рос. Федерации, Свердл. селекц. ст. садоводства ВСТИСП Россельхозакадемии, Федер. гос. бюджет. учреждение науки [и др.]. – Челябинск : Б-ка А. Миллера, 2021. – 96 с.
9. Шокирова, М. Ш. Эффективность стерилизации эксплантов клоновых подвоев яблони / М. Ш. Шокирова, Х. И. Бободжанова, Н. В. Кухарчик // Наука и инновация (Илм ва фановари). – 2021. – № 3. – С. 145–153.
10. Murashige, T. A revised medium for rapid growth and bio assay with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // Physiologia Plantarum. – 1962. – Vol. 15, iss. 3. – P. 473–497.
11. Размножение плодовых, ягодных растений, винограда и хмеля в культуре *in vitro* / Н. В. Кухарчик, М. С. Кастринская, Е. В. Колбанова [и др.] ; под общ. ред. Н. В. Кухарчик. – Минск : Колосград, 2021. – 400 с.

EFFECT OF STORAGE ON THE PROLIFERATION OF APPLE ROOTSTOCK MICROSHOOTS

Kh. I. BOBODZHANOVA, K. ASHURZODA

Abstract

The paper presents the results of research conducted at the laboratories of the Biotechnology Center of Tajik National University within the framework of the project ‘Biotechnology for the production of pathogen-free planting material and the creation of basic collections of sanitized fruit and berry crops’ (State Registration No. 0119TJ00971) during 2019–2023.

The study examined the effect of *in vitro* storage of apple rootstocks at low positive temperatures for 75 days and 12 months. The average micropropagation coefficients of two passages before storage of microshoots of rootstocks M9, MM106, and P22 were 3.4, 3.8, and 4.1 respectively, while after 75 days of storage, they were 3.4, 2.0, and 3.9 respectively.

Keywords: apple rootstocks, micropropagation, microshoots, storage, multiplication coefficient.

Поступила в редакцию 27.02.2025