

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ СУБСТРАТОВ И ПОРЫ ГОДА НА АДАПТАЦИЮ *EX VITRO* РАСТЕНИЙ-РЕГЕНЕРАНТОВ ЖИМОЛОСТИ СИНЕЙ (*LONICERA CAERULEA* L. VAR. *KAMTSCHATICA*)

Е. В. КОЛБАНОВА

Республиканское унитарное предприятие «Институт плодоводства»,
ул. Ковалева, 2, аг. Самохваловичи, Минский район, 223013, Беларусь,
e-mail: belhort@it.org.by

АННОТАЦИЯ

В среднем по всем сортам (Волхова, Крупноплодная, Голубое веретено, Павловская) максимальный выход адаптированных растений (100 %) со средней длиной стебля $11,24 \pm 0,21$ см и средней длиной корней у растений $10,48 \pm 0,22$ см отмечен на стерильном торфяном субстрате. Высокий выход адаптированных растений-регенерантов (95,58 %) со средней длиной стебля $8,10 \pm 0,72$ см и средней длиной корней $6,89 \pm 0,16$ см можно получать и на более дешевом субстрате агроперлит. Субстрат БИОНА-311, также обеспечивающий высокий выход адаптированных растений-регенерантов (97,48 %) и высокие морфологические показатели развития растений жимолости (средняя длина стебля – $12,76 \pm 0,56$ см и средняя длина корней – $10,20 \pm 0,49$ см), имеет существенный недостаток – высокую стоимость по сравнению с торфяным субстратом и агроперлитом.

Выход адаптированных растений по сортам в среднем по всем срокам адаптации составил: 95,17 % (Павловская), 95,83 % (Крупноплодная), 96,14 % (Волхова) и 97,51 % (Голубое веретено). По срокам адаптации в среднем по всем сортам получены высокие результаты: не менее 92,78 % в конце осени – начале зимы (ноябрь – декабрь). Максимальное количество адаптированных растений (99,46 % и 98,19 %) получено в конце зимы (февраль – март) – весной (апрель – май).

Ключевые слова: жимолость, Волхова, Крупноплодная, Голубое веретено, Павловская, адаптация *ex vitro*, БИОНА-311, агроперлит, торфяной субстрат (стерильный, нестерильный), Беларусь.

ВВЕДЕНИЕ

Жимолость синяя – ягодный кустарник, который обладает таким достоинством, как раннелетний срок созревания, то есть созревает раньше земляники садовой на 7–16 дней и на месяц до смородины черной. Благодаря этому витамины и минеральные элементы, которыми богаты ягоды жимолости, можно получать намного раньше, нежели от других ягод и плодов [1]. В связи с этим в настоящее время спрос на качественный посадочный материал сортов жимолости синей растет. Одним из способов получения безвирусного посадочного материала в сжатые сроки в запланированном объеме является клональное микроразмножение.

Адаптация *ex vitro* растений-регенерантов является заключительным этапом клонального микроразмножения [2]. До сих пор неудачи на этом этапе у многих видов растений существенно снижают эффективность их размножения *in vitro*. Поэтому необходимо совершенствовать приемы адаптации растений-регенерантов к нестерильным условиям.

Цель исследований: изучить влияние различных субстратов на морфологические показатели развития растений-регенерантов жимолости при адаптации *ex vitro* и определить наиболее оптимальный, установить влияние сроков адаптации на выход адаптированных растений.

МЕТОДИКА И МАТЕРИАЛЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводили в отделе биотехнологии РУП «Институт плодоводства» в 2015–2016 гг.

Объект исследований: сорта жимолости Волхова, Крупноплодная, Голубое веретено, Павловская.

Размноженные *in vitro* растения-регенеранты сортов жимолости Волхова, Крупноплодная, Голубое веретено и Павловская укореняли в течение 6 недель на агаризованной среде: $\frac{1}{2}$ макро- и микросолей, $\frac{1}{2}$ хелата железа по MS, дополненной витаминами B₁, B₆, PP – по 0,5 мг/л, глицином – 2 мг/л, с исключением мезоинозита, с пониженным содержанием сахарозы – 20 г/л и различным содержанием ИМК (pH = 5,6–5,7).

Растения-регенеранты после этапа ризогенеза *in vitro* высаживали в кассеты объемом 50 мл. Изучали 4 типа субстрата (время адаптации июнь – июль):

1) торфяной субстрат (нестерильный) – смесь торфа «Двина» и агроперлита в соотношении 3:1. По данным производителя торфяной питательный грунт «Двина» представляет собой верховой торф, насыщенный следующими элементами: азот (N) – 170–270 мг/100 г, фосфор (P_2O_5) – 110–190, калий (K_2O) – 200–340 мг/100 г, (рН = 5,5–6,5);

2) торфяной субстрат (стерильный) – смесь торфа «Двина» и агроперлита в соотношении 3:1. Стерильность субстрата достигалась путем прокалывания субстрата в сухожаровом шкафу при 160 °С в течение 2,5 часов;

3) агроперлит;

4) ионообменный субстрат БИОНА-311. Этот субстрат представляет собой смесь ионообменного субстрата БИОНА-111 (56 вес. %) с клиноптилолитом (44 вес. %). Субстрат содержит макроэлементы в концентрациях, указанных в таблице 1, и следующие микроэлементы (г/кг субстрата): Mn – 0,220, Cu – 0,064, Zn – 0,057, Co – 0,015, Mo – 0,044, B – 0,110. Значение рН водной вытяжки из субстрата БИОНА-311 – 6,5–6,7. Субстрат был разработан и получен в Институте физико-органической химии НАН Беларуси.

Таблица 1 – Состав ионообменного субстрата БИОНА-311

Концентрация иона, мг-экв./г субстрата									
K^+	Na^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	Fe^{3+}	NH_4^+	NO_3^-	$H_2PO_4^-$	SO_4^{2-}	Cl^-
0,43	0,06	1,01	0,40	0,15	0,09	0,61	0,11	0,43	0,14

Кассеты с растениями накрывали полиэтиленовой пленкой, создавая условия повышенной влажности до тех пор, пока они не начинали трогаться в рост. Полив производили дистиллированной водой. Через 8 недель прижившиеся растения пересаживали в горшки размером 9 × 9 × 10 см в нестерильный торфяной субстрат (смесь торфа «Двина» и агроперлита в соотношении 3:1).

Условия адаптации: освещение (лампы NARVALT, 36 W) 2,5–3 тыс. люкс, температура +22...+24 °С, фотопериод 16/8 часов.

Влияние типов субстратов оценивали через 8 недель после высадки растений. Были проведены биометрические измерения следующих морфологических показателей растений:

- 1) количество адаптированных растений-регенерантов (%);
- 2) длина стебля (см);
- 3) длина корней (см).

Влияние сроков адаптации (ноябрь – декабрь, январь – февраль, февраль – март, апрель – май, июнь – июль) на выход адаптированных растений оценивали при использовании субстрата агроперлит.

Опыты проводили в 3-кратной повторности. Статистическую обработку проводили, используя ANOVA, двухфакторный дисперсионный анализ, критерий Дункана при $p < 0,05$ для сравнения средних величин ($n = 3$) в программе Statistica 10.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние субстрата на адаптацию *ex vitro* сортов жимолости. В результате проведения двухфакторного дисперсионного анализа установлено влияние с высоким уровнем значимости ($p < 0,001$) как сортовых особенностей, так и субстрата и двух факторов вместе на выход адаптированных растений-регенерантов жимолости и на такие морфологические показатели растений-регенерантов, как средняя длина стебля и средняя длина корней.

Надо отметить, что в ходе исследований у всех сортов жимолости (Волхова, Крупноплодная, Голубое веретено, Павловская) было получено максимальное количество (100 %) адаптированных растений-регенерантов на стерильном торфяном субстрате. У сортов Крупноплодная и Голубое веретено 100%-ная адаптация растений наблюдалась и на субстратах БИОНА-311, агроперлит

и БИОНА-311 соответственно. Минимальный выход адаптированных растений-регенерантов у всех сортов наблюдали на нестерильном торфяном субстрате: 41,67 % у сорта Павловская, 63,89 % у сорта Голубое веретено, 65,76 % у сорта Крупноплодная и 80,41 % у сорта Волхова (таблица 2).

Таблица 2 – Влияние субстратов для адаптации на морфологические показатели развития растений-регенерантов сортов жимолости на этапе адаптации *ex vitro* (сред. знач.±станд. ошибка)

Сорт	Субстрат	Количество адаптированных растений-регенерантов, %	Средняя длина стебля растения-регенеранта, см	Средняя длина корней растения-регенеранта, см
Волхова	Торфяной субстрат (нестерильный)	80,41±1,46 ^c	7,68±0,24 ^{cd}	5,83±0,07 ^{ab}
Волхова	Трфяной субстрат (стерильный)	100±0 ^d	10,94±0,17 ^{ef}	11,12±0,45 ^b
Волхова	БИОНА-311	98,25±1,75 ^d	13,97±0,14 ^h	9,20±0,21 ^{ef}
Волхова	Агроперлит	92,59±3,70 ^{cd}	8,44±0,25 ^d	7,0±0,19 ^{bc}
Крупноплодная	Торфяной субстрат (нестерильный)	65,76±2,12 ^b	6,93±0,31 ^{bc}	5,95±0,29 ^{abc}
Крупноплодная	Торфяной субстрат (стерильный)	100±0 ^d	10,40±0,12 ^e	10,71±0,35 ^{gh}
Крупноплодная	БИОНА-311	100±0 ^d	10,78±0,23 ^{ef}	10,37±0,41 ^{figh}
Крупноплодная	Агроперлит	100±0 ^d	6,41±0,20 ^{ab}	7,06±0,17 ^{bc}
Голубое веретено	Торфяной субстрат (нестерильный)	63,89±7,35 ^b	6,92±0,36 ^{bc}	5,44±0,06 ^a
Голубое веретено	Торфяной субстрат (стерильный)	100±0 ^d	11,92±0,44 ^g	10,50±0,29 ^{figh}
Голубое веретено	БИОНА-311	100±0 ^d	11,22±0,29 ^{efg}	8,56±0,11 ^{de}
Голубое веретено	Агроперлит	91,67±8,33 ^{cd}	5,72±0,24 ^a	6,22±0,29 ^{abc}
Павловская	Торфяной субстрат (нестерильный)	41,67±8,33 ^a	6,42±0,30 ^{ab}	5,92±0,08 ^{abc}
Павловская	Торфяной субстрат (стерильный)	100±0 ^d	11,70±0,03 ^{fg}	9,61±0,20 ^{efg}
Павловская	БИОНА-311	91,67±8,33 ^{cd}	15,08±0,36 ⁱ	12,69±0,19 ⁱ
Павловская	Агроперлит	98,04±1,96 ^d	11,82±0,36 ^g	7,26±0,33 ^{cd}

П р и м е ч а н и е. Данные с одинаковыми буквами по столбцам статистически не различаются при $p < 0,05$ (критерий Дункана).

У растений-регенерантов сорта Волхова максимальный прирост в высоту наблюдали на субстрате БИОНА-311 (13,97±0,14 см), что достоверно отличалось от остальных вариантов опыта. Средняя высота растений-регенерантов на стерильном торфяном субстрате была несколько ниже (10,94±0,17 см), но средняя длина корней (11,12±0,45 см) была достоверно выше, чем у растений при адаптации на других субстратах. Средняя длина стебля и средняя длина корней у растений на нестерильном торфяном субстрате и агроперлите составляла от 7,68–8,44 см и 5,83–7,0 см соответственно (таблица 2).

Растения-регенеранты сорта Крупноплодная хорошо развивались как на субстрате БИОНА-311, так и на стерильном торфяном субстрате, достоверных различий по средней длине стебля и средней длине корней у растений на данных субстратах не наблюдалось (данные показатели превышали значение 10 см). При адаптации на нестерильном торфяном субстрате и агроперлите средняя длина стебля и средняя длина корней у растений были достоверно ниже (приблизительно в 1,5 раза), чем на двух других субстратах (таблица 2).

Растения-регенеранты сорта Голубое веретено дали хороший прирост как на субстрате БИОНА-311, так и на стерильном торфяном субстрате: средняя длина стебля у растений (более 11 см) на этих субстратах достоверно отличалась от данного показателя на агроперлите и нестерильном торфяном субстрате. Однако средняя длина корней у растений была достоверно выше на стерильном торфяном субстрате и превышала на 1,94 см данный показатель на БИОНА-311, на 4,28 см – на агроперлите и на 5,06 см – на нестерильном торфяном субстрате (таблица 2).

У сорта Павловская максимальная средняя длина стебля у растений наблюдалась на субстрате БИОНА-311 (15,08±0,36 см). Надо отметить, что хотя и достоверно ниже, но высокие результаты были получены и при адаптации на стерильном торфяном субстрате (11,70±0,03 см) и на агроперлите (11,82±0,36 см). Средняя длина корней у растений также достоверно была выше при адаптации на БИОНА-311 (таблица 2).

Однако надо отметить, что растения-регенеранты всех сортов жимолости на субстрате БИОНА-311 визуально выглядели хуже, чем растения на трех других субстратах, так как имели признаки хлороза.

Таким образом, у сортов Волхова, Крупноплодная, Голубое веретено, Павловская доля адаптированных растений-регенерантов в среднем на всех субстратах была высокая, превышала 82 %. Средняя длина стебля по сортам варьировала от $8,63 \pm 0,60$ и $8,94 \pm 0,82$ см у сортов Крупноплодная и Голубое веретено до $10,25 \pm 0,75$ и $11,25 \pm 0,94$ см у сортов Волхова и Павловская. Средняя длина корней у растений по сортам составляла от $7,68 \pm 0,61$ см (сорт Голубое веретено) до $8,87 \pm 0,78$ см (сорт Павловская) (таблица 3).

Таблица 3 – Морфологические показатели развития растений-регенерантов сортов жимолости на этапе адаптации *ex vitro* в среднем по всем субстратам (сред. знач. $\pm$ станд. ошибка)

Сорт	Количество адаптированных растений-регенерантов, %	Средняя длина стебля растения-регенеранта, см	Средняя длина корней растения-регенеранта, см
Волхова	$92,81 \pm 2,49^a$	$10,25 \pm 0,75^b$	$8,29 \pm 0,62^a$
Крупноплодная	$91,44 \pm 4,49^a$	$8,63 \pm 0,60^a$	$8,52 \pm 0,63^{ab}$
Голубое веретено	$88,89 \pm 5,06^{ab}$	$8,94 \pm 0,82^a$	$7,68 \pm 0,61^c$
Павловская	$82,84 \pm 7,66^b$	$11,25 \pm 0,94^c$	$8,87 \pm 0,78^b$

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

В среднем по всем сортам жимолости достоверных различий по основному показателю адаптации (выходу адаптированных растений-регенерантов) на стерильном торфяном субстрате, ионообменном субстрате БИОНА-311 и агроперлите не было (95,58–100 %). Однако растения на ионообменном субстрате имели признаки хлороза. Достоверно хуже показал себя нестерильный торфяной субстрат, количество адаптированных растений-регенерантов составило 62,93 %. Средняя длина стебля у растений-регенерантов на ионообменном субстрате БИОНА-311 была достоверно выше, чем на других субстратах, однако по средней длине корней на растение стерильный торфяной субстрат не уступает субстрату БИОНА-311. Достоверно ниже показатели средней длины стебля и средней длины корней у растений на агроперлите, что можно объяснить бедностью данного субстрата и отсутствием дополнительных подкормок (таблица 4).

Таблица 4 – Морфологические показатели развития растений-регенерантов жимолости на различных субстратах на этапе адаптации *ex vitro* в среднем по всем сортам (сред. знач. $\pm$ станд. ошибка)

Субстрат	Количество адаптированных растений-регенерантов, %	Средняя длина стебля растения-регенеранта, см	Средняя длина корней растения-регенеранта, см
Торфяной субстрат (нестерильный)	$62,93 \pm 4,83^b$	$6,98 \pm 0,19^a$	$5,79 \pm 0,09^b$
Торфяной субстрат (стерильный)	100 ± 0^a	$11,24 \pm 0,21^c$	$10,48 \pm 0,22^a$
БИОНА-311	$97,48 \pm 2,09^a$	$12,76 \pm 0,56^d$	$10,20 \pm 0,49^a$
Агроперлит	$95,58 \pm 2,25^a$	$8,10 \pm 0,72^b$	$6,89 \pm 0,16^c$

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

Влияние поры года на адаптацию *ex vitro* сортов жимолости. Двухфакторный дисперсионный анализ не показал влияние сорта, но выявил достоверное влияние времени года ($p < 0,01$) и совместное влияние двух факторов (сорт и пора года) ($p < 0,01$) на выход адаптированных растений-регенерантов жимолости.

Количество адаптированных растений-регенерантов сортов Волхова и Голубое веретено в зависимости от срока адаптации колебалось от 91,67 до 100 %, но достоверных различий по срокам адаптации не наблюдалось. Для сортов Крупноплодная и Павловская достоверно ниже показатели адаптации были в январе – феврале (84,62 %) и в ноябре – декабре (85,35 %) соответственно, по сравнению с другими сроками, когда выход адаптированных растений у этих сортов был не менее 96–97 % (таблица 5).

Таблица 5 – Влияние срока адаптации на укоренение *ex vitro* растений-регенерантов сортов жимолости (сред. знач.± станд. ошибка)

Сорт (фактор А)	Количество адаптированных растений-регенерантов, % (фактор В – месяц адаптации)					Среднее по фактору А
	ноябрь – декабрь	январь – февраль	февраль – март	апрель – май	июнь – июль	
Волхова	91,67±4,17 ^{ab}	98,55±1,45 ^b	100,0±0 ^b	97,92±2,08 ^b	92,59±3,70 ^{ab}	96,14±1,37 ^a
Крупноплодная	97,44±2,56 ^b	84,62±0 ^a	98,61±1,39 ^b	98,47±0,77 ^b	100,0±0 ^b	95,83±1,60 ^a
Голубое веретено	96,67±3,33 ^b	100,0±0 ^b	99,22±1,34 ^b	100,0±0 ^b	91,67±8,33 ^{ab}	97,51±1,74 ^a
Павловская	85,35±2,81 ^a	96,08±1,96 ^b	100,0±0 ^b	96,39±1,80 ^b	98,04±1,96 ^b	95,17±1,55 ^a
Среднее по фактору В	92,78±2,02 ^a	94,81±1,90 ^{ab}	99,46±0,38 ^c	98,19±0,72 ^{bc}	95,57±2,25 ^{abc}	

П р и м е ч а н и е. Данные по количеству адаптированных растений-регенерантов с одинаковыми буквами по столбцам и строкам, данные с одинаковыми буквами в столбце (по фактору А) и в строке (по фактору В) статистически не различаются при $p < 0,05$ (критерий Дункана).

Таким образом, выход адаптированных растений по сортам в среднем по всем срокам адаптации составил: 95,17 % (Павловская), 95,83 % (Крупноплодная), 96,14 % (Волхова) и 97,51 % (Голубое веретено), достоверных различий не наблюдали. По срокам адаптации в среднем по всем сортам также получены высокие результаты: не менее 92,78 % в конце осени – начале зимы (ноябрь – декабрь). Максимальное количество адаптированных растений (99,46 % и 98,19 %) получено в конце зимы (февраль – март) – весной (апрель – май). Это дает основание сделать заключение, что процесс адаптации *ex vitro* растений-регенерантов жимолости изученных сортов можно проводить круглогодично с высоким выходом адаптированных растений (не менее 85 %).

ВЫВОДЫ

1. В среднем по всем сортам максимальный выход адаптированных растений (100 %), не имеющих признаков хлороза, со средней длиной стебля 11,24±0,21 см и средней длиной корней 10,48±0,22 см отмечен на стерильном торфяном субстрате. Высокий выход адаптированных растений-регенерантов (95,58 %), не имеющих признаков хлороза, со средней длиной стебля 8,10±0,72 см и средней длиной корней 6,89±0,16 см можно получать и на более дешевом субстрате агроперлит. Субстрат БИОНА-311, также обеспечивающий высокий выход адаптированных растений-регенерантов (97,48 %) и высокие морфологические показатели развития растений жимолости (средняя длина стебля – 12,76±0,56 см и средняя длина корней – 10,20±0,49 см), имеет существенный недостаток – высокую стоимость по сравнению с торфяным субстратом и агроперлитом. Минимальный выход адаптированных растений-регенерантов наблюдали на нестерильном торфяном субстрате: 41,67 % у сорта Павловская, 63,89 % у сорта Голубое веретено, 65,76 % у сорта Крупноплодная и 80,41 % у сорта Волхова (в среднем по всем сортам 62,93 %).

2. Количество адаптированных растений в среднем на всех субстратах составило у сортов Волхова – 92,81 %, Крупноплодная – 91,44 %, Голубое веретено – 88,89 % и Павловская – 82,84 %.

3. Выход адаптированных растений по сортам в среднем по всем срокам адаптации составил: 95,17 % (Павловская), 95,83 % (Крупноплодная), 96,14 % (Волхова) и 97,51 % (Голубое веретено), достоверных различий не наблюдали. По срокам адаптации в среднем по всем сортам получены высокие результаты: не менее 92,78 % в конце осени – начале зимы (ноябрь – декабрь). Максимальное количество адаптированных растений (99,46 % и 98,19 %) получено в конце зимы (февраль – март) – весной (апрель-май). Процесс адаптации *ex vitro* растений-регенерантов жимолости изученных сортов можно проводить круглогодично с высоким выходом адаптированных растений (не менее 85 %).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Скворцов, А. К. Голубые жимолости: Ботаническое изучение и перспективы культуры в средней полосе России / А. К. Скворцов, А. Г. Куклина. – М.: Наука, 2002. – 160 с.
2. Адаптация растений-регенерантов с использованием гидропоники / Н. А. Вечернина [и др.] // Изв. АГУ. – 2008. – № 3. – С. 7–10.

VARIOUS SUBSTRATES AND SEASON OF THE YEAR EFFECT ON HONEYSUCKLE
(*LONICERA CAERULEA* L. VAR. *KAMTSCHATICA*) PLANT REGENERANTS *EX VITRO* ADAPTATION

E. V. KOLBANOVA

Summary

The maximum output of the adapted plants (100 %) with the average shoot length 11.24 ± 0.21 cm and the average root length 10.48 ± 0.22 cm for plants was observed on a sterile peat substrate at the average through all cultivars ('Volhova', 'Krupnoplodnaya', 'Goluboye vereteno', 'Pavlovskaya'). The high output of the adapted plant regenerants (95.58 %) with the average shoot length 8.10 ± 0.72 cm and the average root length 6.89 ± 0.16 cm could be produced on the cheaper agroperlite substrate. BIONA-311 substrate that provided the high output of the adapted plant regenerants (97.48 %) and the high morphological honeysuckle growth parameters (the average shoot length 12.76 ± 0.56 cm and the average root length 10.20 ± 0.49) as well had the substantial disadvantage of high cost in comparison with a peat substrate and agroperlite.

At the average the output of the adapted plants through the all cultivars was 95.17 % ('Pavlovskaya'), 95.83 % ('Krupnoplodnaya'), 96.14 % ('Volhova') and 97.51 % ('Goluboye vereteno'). For the periods of adaptation, at the average the high results not less 92.78 % at the end of autumn to the beginning of winter (November–December) were obtained through the all cultivars. The maximum amount of the adapted plants (99.46 % and 98.19 %) was produced at the end of winter (February–March) to summer (April–May).

Keywords: honeysuckle, 'Volhova', 'Krupnoplodnaya', 'Goluboye vereteno', 'Pavlovskaya', *ex vitro* adaptation, BIONA-311, agroperlite, peat substrate (sterile, no-sterile), Belarus.

Дата поступления статьи в редакцию 28.03.2018