

УДК 634.2 : 631.541.11 : 581.143.6

UDC 634.2 : 631.541.11 : 581.143.6

06.00.00 Сельскохозяйственные науки

Agricultural sciences

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ВВОДА В КУЛЬТУРУ IN VITRO НОВЫХ КЛОНОВЫХ ПОДВОЕВ ДЛЯ КОСТОЧКОВЫХ КУЛЬТУР**SOME ASPECTS OF INTRODUCING IN VITRO OF NEW CLONAL ROOTSTOCKS FOR STONE FRUIT CROPS**

Сибиряткин Сергей Васильевич

Sibiryatkin Sergey Vasilievich

SPIN-код: 7507-6785

SPIN-code: 7507-6785

Заведующий лабораторией биотехнологии

Head of the laboratory of biotechnology

krhlebe@mail.rukrhlebe@mail.ru NPF "Sady Chechni"

НПФ «Сады Чечни», 366318, ЧР, Курчалоевский р-н, с. Центрой, Россия

366318, ChR, Kurchaloevskiy r-n, s. Centroy, Russia

В статье изложены результаты исследования влияния размера вводимого in vitro экспланта клонных подвоев для косточковых культур селекции филиала Крымская ОСС ВИР ВСЛ-1, ВСЛ-2, ЛЦ-52, РВЛ-1, РВЛ-7, ВВА-1, АП-1 и концентрации витаминов и фитогормонов в питательной среде на эффективность ввода в культуру in vitro данных подвоев. Определен оптимальный размер вводимого in vitro экспланта, а также оптимизирован состав питательной среды на первом этапе микроклонального размножения. Оптимальный размер вычлняемой меристемы, обеспечивающий максимальный процент инициации эксплантов составляет 0,4 мм. На первом этапе культивирования эксплантов клонных подвоев для косточковых плодовых культур оптимальным является модифицированный вариант питательной среды на основе прописи по Мурасиге и Скуга с пониженным содержанием витаминов В₁ – 0,1 мг/л., В₆ – 0,4 мг/л., РР – 0,4 мг/л., и фитогормона 6-БАП – 0,3 мг/л. Приживаемость эксплантов у всех испытуемых образцов клонных подвоев на данной модифицированной питательной среде была в пределах 92,5-97,5 %

The article presents the results of the study of the effect of the size of the explant clonal rootstocks for stone fruit crops of the Krymskaya OSS VIR VSL-1, VSL-2, LC-52, RVL-1, RVL-7, VVA-1, AP-1 injected in vitro and concentration vitamins and phytohormones in a nutrient medium on the efficiency of introducing in vitro of these rootstocks. The optimal size of the injected in vitro explant was determined and nutrient medium in the first stage of micropropagation was optimized. The optimal size of the dissected meristem, which provides the maximum percentage of explant initiation is 0.4 mm. The modified version of the nutrient medium based on the Murashige and Skug prescriptions with a reduced content of vitamins B₁ 0.1 mg / l, B₆ 0.4 mg / l, PP- 0.4 mg / l, and phytohormone 6-BAP - 0.3 mg / l. at the first stage of cultivation of explants of clonal rootstocks for stone fruit crops is optimal. The survival rate of explants in all tested samples of clonal rootstocks on this modified nutrient medium was in the range of 92.5-97.5%

Ключевые слова: IN VITRO, ПОДВОЙ, ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА, КОСТОЧКОВЫЕ КУЛЬТУРЫ, КОНЦЕНТРАЦИЯ, ЭКСПЛАНТ, ВИТАМИНЫ, ФИТОГОРМОНЫ, 6-БАП

Keywords: IN VITRO, ROOTSTOCK, NUTRIENT MEDIUM, STONE CULTURE, CONCENTRATION, EXPLANT, VITAMINS, PHYTOHORMONES, 6-BAP

Doi: 10.21515/1990-4665-131-042

Современное интенсивное садоводство сложно представить без использования клонных подвоев, обеспечивающих высокую плотность посадки на гектар и, соответственно, высокую продуктивность с 1 гектара. Необходимость в получении большого количества посадочного материала клонных подвоев обосновывает актуальность нашего исследования.

Объектами исследования являются новые клоновые подвои для косточковых плодовых культур селекции филиала Крымская ОСС ВИР ВСЛ-1, ВСЛ-2, ЛЦ-52, РВЛ-1, РВЛ-7, ВВА-1, АП-1. Задача исследования: определить оптимальный размер экспланта (апикальной меристемы) и оптимизировать питательную среду для ввода в культуру *in vitro* новых клоновых подвоев для косточковых плодовых культур.

Производство посадочного материала на современном этапе в мире связано с использованием биотехнологических методов. [3] Способ микроклонального размножения столь эффективен, что в ряде зарубежных стран созданы мощные лаборатории по промышленному производству клоновых подвоев косточковых культур. Биотехнологические лаборатории для производства посадочного материала имеются также в ряде крупных питомников и научных учреждениях России. Исследователями разработана система получения посадочного материала клоновых подвоев для косточковых плодовых культур, проведено детальное изучение влияния биологически активных веществ (витаминов, фитогормонов, аминокислот) на рост и развитие регенерантов культивируемых *in vitro* сортообразцов. [2] Однако, несмотря на серьезные достижения в получении посадочного материала с использованием метода клонального микроразмножения в процессе работы возникает ряд проблем, которые, прежде всего, связаны с индивидуальными особенностями размножаемых генотипов. [4] Определяющую роль здесь могут играть такие факторы, как сортовые и видовые особенности, происхождение и размер экспланта, состав питательной среды.

Эти два последних фактора требуют особого внимания, так как процесс ввода в культуру *in vitro* зачастую является определяющим эффективностью микроклонального размножения и непосредственно влияет на себестоимость производимого материала и на рентабельность всего процесса размножения [1, 2, 4].

Минимальный размер вводимого в культуру *in vitro* экспланта обеспечивает большой процент получения оздоровленного, свободного от вирусов посадочного материала. Для практических целей получения оздоровленного посадочного материала изучаемых нами подвоев определены оптимальные параметры вводимого в культуру апекса (от 0,3 до 0,4 мм), обеспечивающие высокий (до 100 %) процент инициации эксплантов (таблица 1).

Таблица 1 – Процент инициации эксплантов в зависимости от размера вычленяемой меристемы на среде Мурасиге и Скуга (1962)

Образец	Размер вычленяемой меристемы, мм								
	0,2			0,3			0,4		
	Высаже- но, шт	прижилось		Высаже- но, шт	прижилось		Высаже- но, шт	прижилось	
шт		%	шт		%	шт		%	
ВСЛ-1	40	1	2,5	40	3	7,5	40	39	97,5
ВСЛ-2	40	2	5	40	5	12,5	40	40	100,0
ЛЦ-52	40	0	-	40	2	5,0	40	31	77,5
РВЛ-1	40	1	2,5	40	4	10,0	40	36	90,0
РВЛ-7	40	0	-	40	5	12,5	40	33	82,5
ВВА-1	40	0	-	40	1	2,5	40	19	47,5
АП-1	40	0	-	40	3	7,5	40	22	55,0
Итого	280	4	-	280	23	-	280	220	-
В среднем			1,43			8,21			78,57
НСР ₀₅	2,81								

Данные таблица показывают, что оптимальный размер вычленяемой меристемы, обеспечивающий максимальный процент инициации эксплантов составляет 0,4 мм. При необходимости вычленения меристемы меньшего размера следует учесть, что процент инициации эксплантов становится очень низок – в среднем по группе при размере вычленяемого экспланта 0,3 мм. – 8,21%, при размере 0,2 мм. – 1,43%.

По мнению ряда авторов [3, 4, 5, 6] минеральный состав питательной среды влияет на эффективность клонального микроразмножения. Для проверки данной гипотезы был заложен ряд опытов с использованием сред Мурасиге и Скуга, Драйвера-Кунжуки, Кворина-Лепуавра и WPM. Анализ приживаемости инициальных эксплантов после испытания различных

питательных сред показал, что на начальном этапе оптимальна среда Мурасиге и Скуга, однако экспланты подвоя ЛЦ-52 на питательной среде Драйвера-Кунжуки развивались более интенсивно (рисунок 1).

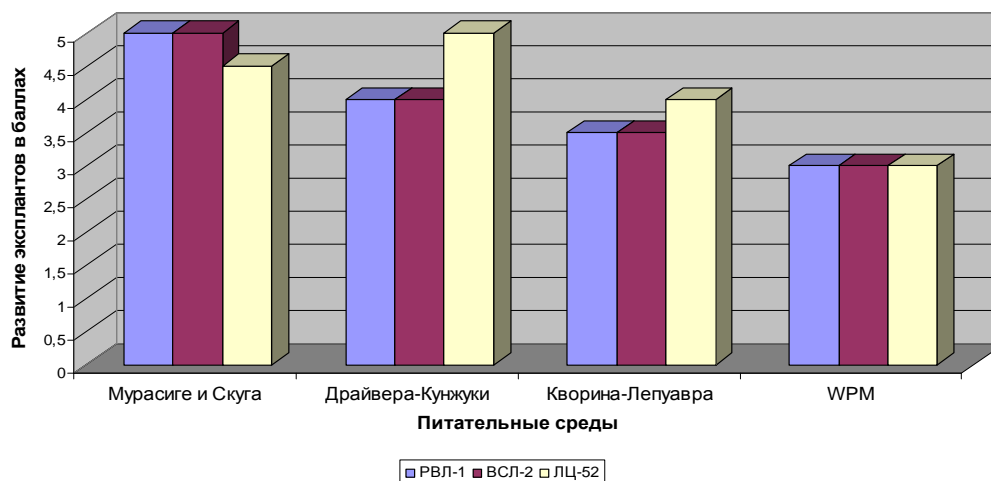


Рисунок 1 – Степень развития начальных эксплантов на различных питательных средах.

Примечание: итоговый балл состоит и балла развития (от 1 до 3) и балла за интенсивность окраски (от 1 до 2).

Концентрация фитогормонов и витаминов на начальном этапе клонального микроразмножения играет огромную роль. И, если на этапе пролиферации необходимы высокие концентрации 6-БАП, то на этапе ввода в культуру высокие концентрации фитогормонов действуют угнетающе (таблица 2).

Как видно из данных таблицы, наиболее оптимальна для всех сортов является среда с концентрацией 6-БАП 0,3 мг/л. Следует отметить, что подвои ВВА-1 и АП-1 имеют слабую приживаемость на средах при всех изучаемых концентрациях данного фитогормона – в процессе ввода в культуру у этих подвоев часто наблюдается сухой некроз эксплантов.

Кроме фитогормонов значительное влияние на приживаемость эксплантов оказывает состав и концентрация витаминов и аминокислот в питательной среде.

Таблица 2 – Влияние концентрации 6-БАП на приживаемость эксплантов клоновых подвоев для косточковых культур

Образец	Концентрация 6-БАП, мг/л											
	без гормона			0,3			0,5			1,0		
	высажено	прижил.		высажено	прижил.		высажено	прижил.		высажено	прижил.	
шт		%	шт		%	шт		%	шт		%	
ВСЛ-1	40	28	70,0	40	39	97,5	40	34	85,0	40	26	65,0
ВСЛ-2	40	21	52,5	40	40	100,0	40	32	80,0	40	22	55,0
ЛЦ-52	40	17	42,5	40	31	77,5	40	29	72,5	40	23	57,5
РВЛ-1	40	13	32,5	40	36	90,0	40	31	77,5	40	26	65,0
РВЛ-7	40	16	40,0	40	33	82,5	40	30	75,0	40	24	60,0
ВВА-1	40	2	5,0	40	19	47,5	40	14	35,0	40	9	22,5
АП-1	40	3	7,5	40	22	55,0	40	11	27,5	40	6	15,0
Итого	280	100	-	280	220	-	280	181	-	280	136	-
В среднем			35,71			78,57			64,64			48,57
НСР ₀₅	6,82											

Методом ступенчатого подбора концентрации витаминов в питательной среде удалось выделить питательную среду на основе прописи Мурасиге и Скуга с пониженной концентрацией витаминов, а именно: В₁ – 0,1 мг/л., В₆ – 0,4 мг/л., РР – 0,4 мг/л., С – 1,0 мг/л. и мезоинозит – 100,0 мг/л. Выделившаяся питательная среда позволила получить высокий процент прижившихся эксплантов (таблица 4).

Таблица 4 – Приживаемость эксплантов клоновых подвоев косточковых культур в зависимости от витаминного состава среды

Образец	Стандартная среда			Модифицированная среда		
	Высажено, шт.	Прижилось		Высажено, шт.	Прижилось	
		шт.	%		шт.	%
ВСЛ-2	40	37	92,5	40	39	97,5
ЛЦ-52	40	31	77,5	40	35	87,5
ВСЛ-1	40	33	82,5	40	37	92,5
РВЛ-1	40	31	77,5	40	37	92,5
РВЛ-7	40	30	75,0	40	38	95,0
Итого	200	162	-	200	186	-
В среднем			81,0			93,0
НСР ₀₅	7,04					

Приживаемость эксплантов у всех испытуемых образцов клоновых подвоев была в пределах 92,5-97,5 %, а на стандартном варианте

питательной среды этот показатель не превышал 92,5 % у наиболее адаптивного подвоя ВСЛ-2.

Заключение

1. Оптимальный размер вычленяемой меристемы, обеспечивающий максимальный процент инициации эксплантов составляет 0,4 мм.
2. На первом этапе культивирования эксплантов клоновых подвоев для косточковых плодовых культур оптимальным является модифицированный вариант питательной среды на основе прописи по Мурасиге и Скугу с пониженным содержанием витаминов В₁ – 0,1 мг/л., В₆ – 0,4 мг/л., РР – 0,4 мг/л., и фитогормона 6-БАП – 0,3 мг/л.

Список литературы

1. Бутенко, Р.Г. Использование культуры тканей растений в сельскохозяйственной науке и практике / Р.Г. Бутенко // С-х. биология. –1979. – №3. – С.306-315.
2. Высоцкий В.А. Биотехнологические приемы в современном садоводстве / В.А. Высоцкий // Садоводство и виноградарство. – 2006. - №2. – С. 2-3.
3. Джигадло, Е.Н. Методические рекомендации по использованию биотехнологических методов в работе с плодовыми, ягодными и декоративными культурами. – Орел: ГНУ ВНИИСПК, 2005. С.- 51.
4. Муратова С.А. Особенности введения в культуру *in vitro* плодовых и ягодных растений // Плодоводство / ИП НАН Беларуси. – Самохваловичи, 2005. – Т.17, ч.2. – С. 182-183.
5. Сибиряткин С.В. Влияние витаминного состава питательной среды на приживаемость эксплантов вишни на этапе ввода в культуру *in vitro*/ С.В. сибиряткин // Наука и образование / Materials of the X international research and practice conference. - Мюнхен, Германия, 2015. – С. 131-134.
6. McCown В.Н., Lloyd G.Woody Plant Medium (WPM) – mineral nutrient formulaiton for microculture of woody plant species // Hort. Sci. – 1981. – Vol.16. – 453 p.

References

1. Butenko, R.G. Ispol'zovanie kul'tury tkanej rastenij v sel'skohozjajstvennoj nauke i praktike / R.G. Butenko // S-h. biologija. –1979. – №3. – S.306-315.
2. Vysockij V.A. Biotehnologicheskie priemny v sovremennom sadovodstve / V.A. Vysockij // Sadovodstvo i vinogradarstvo. – 2006. - №2. – S. 2-3.
3. Dzhigadlo, E.N. Metodicheskie rekomendacii po ispol'zovaniju biotehnologicheskikh metodov v rabote s plodovymi, jagodnymi i dekorativnymi kul'turami. – Орел: GNU VNIISPK, 2005. S.- 51.

4. Muratova S.A. Osobennosti vvedenija v kul'turu in vitro plodovyh i jagodnyh rastenij // Plodovodstvo / IP NAN Belarusi. – Samohvalovichi, 2005. – T.17, ch.2. – S. 182-183.
5. Sibirjatkin S.V. Vlijanie vitaminnogo sostava pitatel'noj sredy na prizhivaemost' jeksplantov vishni na jetape vvoda v kul'turu in vitro/ S.V. sibirjatkin // Nauka i obrazovanie / Materials of the X international research and practice conference. - Mjunih, Germanija, 2015. – S. 131-134.
6. McCown B.H., Lloyd G.Woody Plant Medium (WPM) – mineral nutrient formulaiton for microculture of woody plant species // Hort. Sci. – 1981. – Vol.16. – 453 r.