

КЛОНАЛЬНОЕ МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ ЯБЛОНИ И ГРУШИ В СИСТЕМЕ ПРОИЗВОДСТВА ВЫСОКОКАЧЕСТВЕННОГО ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА

О.В. Матушкина, И.Н. Пронина, Всероссийский НИИ садоводства им. И.В. Мичурина

Ведущие промышленные семечковые породы в нашей стране — яблоня и груша. К настоящему времени получены положительные результаты по их клональному микро-размножению. Однако воспроизводимость результатов *in vitro* низкая, и они не могут быть перенесены с одних объектов на другие, поскольку большинство подвоев и сортов имеют ярко выраженный индивидуальный характер при культивировании. Кроме того, в последние годы в России получены новые подвои и сорта, размножение которых культурой изолированных меристем мало изучено или не изучено вовсе.

Начальный этап микроразмножения (введение в культуру) очень важен, т.к. от получения первичной культуры зависит весь дальнейший процесс. Культивирование эксплантов на средах Кворина-Лепуавра и Мурасиге-Скуга с добавлением БАП 0,5 мг/л показало явное превосходство среды Кворина-Лепуавра.

У яблони и груши, в связи с возможностью ингибирования ростовых процессов эксплантов токсичными веществами (фенольными соединениями), выделяемыми в среду, некоторые исследователи при введении в культуру *in vitro* рекомендуют использовать антиоксиданты. В наших исследованиях добавление аскорбиновой кислоты на этапе введения в культуру *in vitro* подвоев яблони 57-195, 54-118, P59, P60 и сортов Синап Орловский и Лобо, а также подвоев груши — груша 10, груша 12, 218-2-2, 17-16 и сорта Елена оказалось неэффективным. Однако у отдельных форм, таких как Елена, 54-118, P59, Синап Орловский, скорость роста и формирование конгломерата при введении в состав среды аскорбиновой кислоты была выше, чем без нее.

Скорость размножения и степень пролиферации контролируются типом цитокинина и его концентрацией. Для клонных подвоев и сортов яблони и груши лучше использовать БАП, оптимальная концентрация которого в среде для большинства форм соответствует 2 мг/л. Использование более высоких концентраций приводит к разрастанию эксплантов с образованием очень коротких побегов красноватого оттенка, которые непригодны для укоренения. Поэтому рекомендуется чередовать высокие и низкие концентрации БАП, особенно перед этапом ризогенеза. Кроме того, постоянное присутствие в составе среды высоких концентраций БАП вызывает витрификацию побегов, которая также устраняется снижением содержания БАП до 1 мг/л и позволяет увеличить количество побегов, пригодных для укоренения на 20—30%.

Ориентация побегов на среде также оказывает влияние на пролиферацию. Исследования показали, что предпочтительнее использовать горизонтальный побег без верхушки, вне зависимости от формы. При этом происходит увеличение коэффициента размножения в 1,2—1,6 раза по сравнению с вертикальным побегом. Кроме того, у горизонтального побега без верхушки происходит формирование максимального количества побегов, пригодных для укоренения.

Положительное влияние на процесс пролиферации оказывает добавление к БАП аденин-сульфата в концентрации 50—100 мг/л. При этом регенерация протекает в 1,5—2 раза быстрее и степень ее выше на 15—47%. За счет лучшего развития побегов происходит увеличение укореняемости на 19—28%.

Количество субкультивирований (пассажей) клонных подвоев и сортов яблони и груши рекомендуется доводить до 9—11, а начиная с четвертого пассажа можно начинать укоренение побегов.

Укоренение микропобегов — важный этап процесса микроразмножения. Для этого используются побеги длиной 1,5—3,0 см (более мелкие побеги укореняются хуже, имеют слабый рост и плохо переносят пересадку в нестерильные условия).

Основным индуктором ризогенеза в условиях *in vitro* является ауксин, обычно это индолилмасляная (ИМК) и индолилуксусная (ИУК) кислоты. Применение нафтилуксусной кислоты (НУК) для укоренения плодовых культур менее эффективно, т.к. вызывает обильный рост каллуса, который ингибирует процессы корнеобразования.

Для стимуляции ризогенеза трудноукореняемых форм, таких как 54-118, 3-5-44, P 60, желательнее использовать ИМК (1,0—2,0 мг/л), а легкоукореняемых — ИУК (3,0—5,0 мг/л). Однако установлено, что постоянное присутствие ауксина в питательной среде оказывает положительное действие только на первой стадии ризогенеза (заложения корневых зачатков), а на рост корней — ингибирующее действие и вызывает каллусообразование. Поэтому целесообразно проводить замачивание микрочеренков в водном растворе ИМК в концентрации 30 мг/л в течение 18—24 ч или в концентрации 50—100 мг/л в течение 20—30 мин. Данный способ обработки побегов способствует более раннему (на 7—10 дн.) началу корнеобразования, увеличению укореняемости на 5,5% (груша 12) — 34,3% (3-5-44), лучшему развитию корневой системы и не вызывает образование раневого каллуса.

Укоренение микрочеренков проводят как на агаризованной питательной среде, так и на жидкой. При использовании жидкой среды для удержания микрочеренка в вертикальном положении требуется подложка, в качестве которой часто используют фильтровальные мостики. Такая питательная среда имеет лучшую аэрацию, чем агаризованная, вследствие чего ускоряется процесс ризогенеза, повышается укореняемость, образуется больше корней, но они, как правило, хрупкие, и это затрудняет пересадку в нестерильные условия (табл. 1). Поэтому большинство исследователей отдают предпочтение агаризованной питательной среде с концентрацией агара 0,7—0,9%.

Растения из меристемы обладают высокой энергией роста, повышенными регенерационными свойствами, высокой продуктивностью. Так, число побегов у маточных растений 62-396 меристемного происхождения составляло 28 шт./растение, обычного — 15, а груша 10 — 25 и 13 шт./растение соответственно.

Существенные различия наблюдались и по способности зеленых черенков подвоев яблони и груши к корнеобразованию. Укореняемость зеленых черенков от растений меристемного происхождения в 1,2 (P 59), 1,4 (62-396), 1,8 (груша 10) и 5,5 (3-5-44) раза больше, чем обычного. Также наблюдались различия по качеству надземной и корневой систем укорененных зеленых черенков (табл. 2).

Фенотипических отклонений от сорто-типов во всем культурном за годы исследований не наблюдалось.

Таблица 1. Влияние консистенции среды на укореняемость подвоев яблони


Подвой	Консистенция среды	Укореняемость, %			Количество корней, шт.	Длина корней, см	Индикатор укореняемости*
		Через 2 нед.	Через 3 нед.	Через 6 нед.			
54-118	Агаризованная	4,3	47,8	65,2 ^d	7,2	3,4	2,0
	Жидкая	31,2	81,2	81,2 ^{bcd}	19,5	5,8	3,1
3-5-44	Агаризованная	0,0	25,0	83,3 ^b	5,7	5,7	2,3
	Жидкая	88,3	100,0	100,0 ^a	18,8	6,4	3,8
НСР05					6,7	0,7	

* Совокупный показатель количества укорененных микрочеренков и корней

Таким образом, полученные результаты по изучению размножения плодовых и ягодных культур в условиях *in vitro* позволяют сделать вывод о целесообразности использования этого метода с высокой результативностью для выращивания исходного материала клоновых подвоев яблони и груши. Для плодовых культур пригодна среда Кворина-Лепуавра с оптимальным содержанием БАП на этапе введения в культуру 0,3—0,5 мг/л, а на этапе собственно микроразмножения — 1,0—2,0 мг/л. Постоянное присутствие ИМК в среде для ризогенеза оказывает инги-

Таблица 2. Укореняемость зеленых черенков подвоев яблони и груши различного происхождения

Подвой	Происхождение	Укореняемость, %	Выход по сортам, %			Количество корней, шт/черенок	Длина корней, см
			I	II	III		
3-5-44	Обычное	16,6 ^h	0	33,3	66,7	3	13,6
	<i>In vitro</i>	92,2 ^a	54,2	25,0	20,8	9	17,6
62-396	Обычное	48,8 ^f	0	28,6	71,4	15	10,2
	<i>In vitro</i>	68,6 ^{cd}	11,2	38,8	50,0	28	10,7
P59	Обычное	65,0 ^{cde}	7,7	61,5	30,8	15	11,8
	<i>In vitro</i>	80,0 ^b	18,7	62,5	18,8	18	14,0
Груша 10	Обычное	38,2 ^g	3,0	24,3	72,7	3	11,0
	<i>In vitro</i>	69,1 ^c	7,9	34,1	58,0	8	10,8
НСР05						4	1,2

бирующее действие на рост корней, поэтому целесообразно кратковременное воздействие этим ауксином на микрочеренки. Данный способ ускоряет процесс корнеобразования и улучшает качество корневой системы. Включение клонового микроразмножения в систему производства высококачественного посадочного материала плодовых культур позволяет значительно повысить продуктивность маточных насаждений. 

КЛОНАЛЬНОЕ МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ ЯБЛОНИ И ГРУШИ В СИСТЕМЕ ПРОИЗВОДСТВА ВЫСОКОКАЧЕСТВЕННОГО ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА CLONAL MICROPROPAGATION OF APPLE AND PEAR CROPS FOR PRODUCTION OF HIGH QUALITATIVE PLANTING MATERIAL

Авторы

О.В. Матушкина, И.Н. Пронина,
O.V. Matushkina, I.N. Pronina,

Резюме

Представлены особенности клонового микроразмножения перспективных клоновых подвоев и сортов яблони и груши. Рассмотрены основные факторы, влияющие на морфогенез в культуре изолированной ткани. Изучена регенерационная способность меристемных растений *in vivo*.

Peculiarities of clonal micropropagation of promising clonal rootstocks, apple and pear cultivars have been presented. Main factors effecting morphogenesis in isolated tissue culture are under consideration. Regeneration ability of meristem plants *in vivo* has been studied.

Ключевые слова

пролиферация, ризогенез, витрификация, ауксин, цитокинин, антиоксидант, клоновые подвои.