

Опыт адаптации растений-регенерантов к условиям *ex vitro* некоторых декоративных и плодово-ягодных культур в Учебно-научном центре «Ботанический сад» Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского

Adaptation experience of some ornamental and fruit-berry plantlets to *ex vitro* conditions in the training and science center “Botanical garden” of Saratov State University n. a. N. G. Chernyshevsky

Шакина Т. Н.

Shakina T. N.

Саратовский государственный университет им. Н. Г. Чернышевского УНЦ «Ботанический сад», г. Саратов, Россия.
E-mail: shakinatn@mail.ru

The Educational Centre "Botanical Garden" of Saratov State university n. a. N. G. Shernyshevsky, Saratov, Russia

Реферат. Одним из быстрых способов вегетативного размножения растений является микроклонирование. Получение высоких результатов при данном способе размножения в значительной степени лимитируется одним из самых ответственных этапов – адаптацией растений-регенерантов к выращиванию в условиях *ex vitro*, которое завершает весь процесс размножения *in vitro*. На сегодняшний день не существует универсальных технологий адаптации полученных микрорастений к нестерильным условиям, которые подходили бы ко всем культурам, определяли оптимальные условия влажности воздуха, субстрата, температуры и освещения. В статье представлены предварительные результаты изучения адаптивного потенциала микрорастений ряда декоративных и плодово-ягодных культур в нестерильных условиях. В качестве объектов исследования использованы некоторые декоративные и плодово-ягодные культуры: скумпия кожаная 'Royal Purple', сирень обыкновенная 'M-me Casimir Perier', 'А. Громов', 'Sensation', лапчатка кустарниковая, вейгела гибридная 'Eva Rathke', 'Candida', рябина обыкновенная 'Гранатная', 11 сортов смородины черной: 'Черный жемчуг', 'Багира', 'Элвеста', 'Маленький принц', 'Чудное мгновение', 'Чаровница', 'Зуша', 'Тамерлан', 'Дачница', 'Десертная Ольхиной', 'Загадка', четыре сорта жимолости съедобной: 'Гжелка', 'Камчадалка', 'Лазурная', 'Московская'.

Ключевые слова. Адаптация к условиям *ex vitro*, декоративные растения, культура тканей, плодово-ягодные культуры, субстрат.

Summary. One of the quickways of vegetative plant reproduction is micropropagation. Receiving high results using this method is significantly limited by one of the most important stages – adaptation of plantlets to growing under *ex vitro* conditions, which completes the whole process of reproduction *in vitro*. To date, there are no universal technologies for adaptation plantlets to non-sterile conditions, which would suit all crops, determine the optimal humidity conditions, substrate, temperature and lighting. The article presents preliminary results of the study of the plantlets adaptive potential for a number of ornamental and fruit-berry crops in non-sterile conditions. The objects of the study were: *Cotinus coggygia* 'Royal Purple'; *Syringa vulgaris* 'M-me Casimir Perier', 'A. Gromov', 'Sensation'; *Pentaphylloides fruticosa* L.; *Weigela hybrida* 'Eva Rathke', 'Candida'; *Sorbus aucuparia* 'Granatnaya'; *Ribes nigrum* 'Black Pearl', 'Bagheera', 'Elvesta', 'Little Prince', 'Wonderful moment', 'Charovnica', 'Zusha', 'Tamerlan', 'Dachnica', 'Dessertnay Olkhina', 'Zagadka'; *Lonicera edulis* 'Gzhelka', 'Kamchadalka', 'Lazurnay', 'Moscowskay'.

Key words. Adaptation to *ex vitro* conditions, fruit and berry crops, tissue culture, ornamental plants, substrate.

Возможность воспроизведения растений, которые относятся к трудноразмножаемым, является одним из главных достижений современной биотехнологии. На сегодняшний день широкий спектр растительных гормонов роста и физиологически активных веществ позволяют свободно управлять процессами, протекающими в растительных тканях в искусственных условиях. Технология культиви-

рования *in vitro* с успехом используется в генной инженерии, для биохимических и физиологических исследований и во многих других областях науки. Клональное микроразмножение является одним из быстрых способов вегетативного размножения (Аладина и др., 2009; Молканова и др., 2010). Применение размножения в культуре *in vitro* позволяет быстро получить необходимое количество экземпляров необходимого вида или сорта. Растения, полученные данным способом, обладают рядом признаков, из-за которых их использование более предпочтительно, чем размноженных традиционными способами (Митина, Ханбабаева, 2014). Неоспоримым преимуществом микроразмноженных растений является их генетическая однородность, более высокая физиологическая выравненность, высокий коэффициент размножения; ускорение перехода растений к репродуктивной фазе развития; отсутствие сезонности при производстве; возможность автоматизации процесса выращивания и др. В результате микроклонаирования получают корнесобственные растения, которые не дают корневой поросли, что упрощает уход за ними. Кроме того, они более декоративны, так как превосходят привитые растения по продуктивности цветения. Однако получение высоких результатов при клональном микроразмножении в значительной степени лимитируется одним из самых ответственных этапов – адаптацией растений-регенерантов к выращиванию в условиях *ex vitro*, которое завершает весь процесс размножения *in vitro*. Вместе с тем это и наиболее трудоемкая стадия культивирования пробирочных растений.

В процессе адаптации регенеранты, имеющие ряд анатомических и физиологических особенностей, испытывают состояние стресса, вызванное изменившимися параметрами среды (изменением температуры, освещения, влажности воздуха, действием патогенной микрофлоры и др.), что приводит к гибели части растений. Так, из-за отсутствия корневых волосков и несовершенной проводящей системы, они не в состоянии обеспечить поглощение необходимого количества воды и элементов питания, чтобы компенсировать транспирацию и обеспечить дальнейший рост. Кроме того, растения не способны к эффективному фотосинтезу. Нередко после высаживания микрорастений в субстрат наблюдаются остановка их в росте, обезвоживание и опадение листьев (Митина, Ханбабаева, 2014). Следовательно, главными условиями успешной акклиматизации являются: создание высокой влажности для наземной части растений с последующим ее понижением; оптимальная интенсивность света, температура и состав субстрата. Для успешного решения названных проблем регенеранты необходимо пересаживать в условия с контролируемыми параметрами и в субстрат с оптимальными качествами. Важно также контролировать патогены, поскольку микрорастения на данном этапе могут инфицироваться бактериями, грибами, вирусами (Аладина и др., 2009; Молканова и др., 2010). На сегодняшний день не существует универсальных технологий адаптации полученных микрорастений к нестерильным условиям, которые подходили бы ко всем растениям, определяли оптимальные условия влажности воздуха, субстрата, температуры и освещения. Разработка технологий укоренения *ex vitro*, то есть одновременного образования корней и адаптации в нестерильных условиях, позволит свести к минимуму потери растений – регенерантов, сократить сроки получения посадочного материала и повысить его качество. Исходя из этого, исследования по изучению особенностей роста и развития регенерантов в нестерильных условиях весьма актуальны и имеют как теоретическое, так и практическое значение.

Целью данной работы являлось изучение особенностей адаптации растений, полученных в культуре *in vitro*, после перевода их в условия *ex vitro*. В качестве объектов исследования использованы некоторые декоративные и плодово-ягодные культуры: скупия кожевенная 'Royal Purple', сирень обыкновенная 'M-me Casimir Perier', 'А. Громов', 'Sensation', лапчатка кустарниковая, вейгела гибридная 'Eva Rathke', 'Candida', рябина обыкновенная 'Гранатная', 11 сортов смородины черной: 'Черный жемчуг', 'Багира', 'Элвеста', 'Маленький принц', 'Чудное мгновение', 'Чаровница', 'Зуша', 'Тамерлан', 'Дачница', 'Десертная Ольхиной', 'Загадка', четыре сорта жимолости съедобной: 'Гжелка', 'Камчадалка', 'Лазурная', 'Московская'.

Регенеранты, полученные в лаборатории микроклонального размножения Учебно-научного центра «Ботанический сад» Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского (г. Саратов), представляли собой готовые растения, которые можно адаптировать в нестерильных условиях. Считается, что наиболее благоприятное время для пересадки пробирочных растений — весна или начало лета (Сергейчук, Стрелец, 2007). Учитывая это, микрорастения высаживали по 30 шт. в первой декаде каждого месяца весной (март – апрель – май), летом (июнь, август), осенью (октябрь).

Всего в опыте было использовали по 180 микроклонов каждого образца. Для адаптации и дорастивания высаженных образцов использовали специальное помещение со стабильными условиями: относительная влажность воздуха 80–85 %, освещенность осуществлялась фитолампами и составила 2,5 клк, температура воздуха – 22...+25 °С, фотопериод – 12 часов. Регенеранты извлекали из сосудов, отмывали корни от питательной среды и высаживали в контейнеры 0,2 л, наполненные адаптационным субстратом. В технологии клонального микроразмножения на этапе адаптации наиболее часто используют субстраты, состоящие из следующих компонентов в различных соотношениях: перлит; торф; торф и песок (2:1); перлит и торф (1:1; 1:2; 1:3); сфагновый мох, сфагновый мох и вермикулит; торф, песок и хвойная земля (1:1:1); керамзит (Деменко, Лебедев, 2011; Плаксина, 2011; Эрст и др., 2012); кроме того, использовалось сочетание торфа и осадков городских сточных вод (ОГСВ) (Аладина и др., 2009); последовательно в два этапа – стерильный кварцевый песок, затем смесь песок : торф : дерновая земля (1:2:1) (Набиева, 2011); ионитный субстрат Бион 112 (Вайновская и др., 2010). В наших экспериментах в качестве субстрата мы использовали: смесь торф : земля : вермикулит в соотношении 1:3:3 и смесь из земли и вермикулита (1:1). Опытные субстраты получали путем простого перемешивания компонентов. Кроме того, для скумпии кожевенной был опробован вариант субстрата, состоящий из дерновой земли со слоем вермикулита сверху. После посадки микрорастений в стаканы почвенную смесь проливали фитоспорином, каждый контейнер упаковывали в полиэтиленовый пакет. Через два дня на пакете делали надрез, на 10-й день частично открывали для закаливания, постепенно увеличивая его время. Полностью снимали пакеты, когда листья растений переставали увядать, приблизительно на 20-й день. Полив контейнеров производили по мере подсыхания субстрата, первый полив – примерно на 5–6-й день после посадки. После того, как регенеранты трогались в рост, и появлялась одна пара новых листьев, проводили подкормку минеральными удобрениями. В среднем период акклиматизации составил 4–5 недель. Через 40 дней после посадки микрорастения изучаемых сортов пересаживали в стаканы большего объема и переносили на дальнейшее дорастивание в открытый грунт. Учет растений-регенерантов, не прошедших адаптацию, проводили каждые десять дней.

Проведенное исследование показало, что все изученные виды и сорта показали разный адаптивный потенциал к нестерильным условиям, который определяется, прежде всего, биологическими особенностями культур. Кроме того, акклиматизация регенерантов зависела от сроков их переноса в условия *ex vitro*. Результаты адаптации микрорастений декоративных и плодово-ягодных культур в зависимости от сроков посадки представлены в таблице 1. Из таблицы видно, что процент выпавших растений в период с марта по июнь был меньше, чем в августе и октябре. Из всех культур наименьший процент приживаемости показали скумпия кожевенная, лапчатка кустарниковая и вейгела гибридная сорт 'Candida'. Также невысокой приживаемостью характеризовались сорт черной смородины 'Загадка' и сорт жимолости съедобной 'Московская'.

Таблица 1

Результаты адаптации растений-регенерантов декоративных и плодово-ягодных культур в зависимости от сроков посадки

Название культуры	% выпавших растений		
	март-апрель-май-июнь	август-октябрь	за весь период
Скумпия кожевенная 'Royal Purple'	30	46	76
Сирень обыкновенная 'M-me Casimir Perier'	10	15	25
Сирень обыкновенная 'А. Громов'	8	12	20
Сирень обыкновенная 'Sensation'	16	20	36
Лапчатка кустарниковая	22	40	62
Вейгела гибридная 'Eva Rathke'	7	18	25
Вейгела гибридная 'Candida'	19	50	69

Таблица 1 (окончание)

Название культуры	% выпавших растений		
	март-апрель-май-июнь	август-октябрь	за весь период
Рябина обыкновенная 'Гранатная'	3	7	10
Смородина черная 'Черный жемчуг'	9	12	21
Смородина черная 'Багира'	11	15	26
Смородина черная 'Элвеста'	7	11	18
Смородина черная 'Маленький принц'	9	14	23
Смородина черная 'Чудное мгновение'	6	10	16
Смородина черная 'Чаровница'	8	11	19
Смородина черная 'Зуша'	3	7	10
Смородина черная 'Тамерлан'	6	12	18
Смородина черная 'Дачница'	18	23	41
Смородина черная 'Десертная Ольхиной'	9	11	20
Смородина черная 'Загадка'	16	20	36
Жимолость съедобная 'Гжелка'	13	23	36
Жимолость съедобная 'Камчадалка'	15	19	34
Жимолость съедобная 'Лазурная'	12	26	38
Жимолость съедобная 'Московская'	19	28	47

Растения-регенеранты одинаково хорошо адаптировались на обоих вариантах субстрата: торф : земля : вермикулит (1:3:3) и земля : вермикулит (1:1) (табл. 2). Однако отмечено, что при использовании почвогрунта, состоящего из смеси земли и вермикулита в соотношении 1:1, выход успешно адаптированных растений был немного выше. Вместе с тем, регенеранты скупии кожевеной имели низкий процент приживаемости на обоих почвогрунтах. При использовании субстрата, содержащего землю и вермикулит в качестве верхнего слоя, процент акклиматизированных микрорастений скупии кожевеной был несколько выше.

Таблица 2

Результаты адаптации растений-регенерантов декоративных и плодово-ягодных культур в зависимости от состава субстрата

Название культуры	приживаемость растений-регенерантов, %		
	торф : земля : вермикулит (1:3:3)	земля : вермикулит (1:1)	слой вермикулита + дерновая земля
Скупия кожевеной 'Royal Purple'	10	16	24
Сирень обыкновенная 'M-me Casimir Perier'	71	75	-
Сирень обыкновенная 'А. Громов'	82	90	-
Сирень обыкновенная 'Sensation'	65	71	-
Лапчатка кустарниковая	29	38	-
Вейгела гибридная 'Eva Rathke'	70	76	-
Вейгела гибридная 'Candida'	22	30	-

Таблица 2 (окончание)

Название культуры	приживаемость растений-регенерантов, %		
	торф : земля : вермикулит (1:3:3)	земля : вермикулит (1:1)	слой вермикулита + дерновая земля
Рябина обыкновенная 'Гранатная'	89	91	-
Смородина черная 'Черный жемчуг'	69	78	-
Смородина черная 'Багира'	71	75	-
Смородина черная 'Элвеста'	77	81	-
Смородина черная 'Маленький принц'	68	74	-
Смородина черная 'Чудное мгновение'	76	80	-
Смородина черная 'Чаровница'	78	81	-
Смородина черная 'Зуша'	85	90	-
Смородина черная 'Тамерлан'	74	82	-
Смородина черная 'Дачница'	49	56	-
Смородина черная 'Десертная Ольхиной'	72	79	-
Смородина черная 'Загадка'	56	62	-
Жимолость съедобная 'Желка'	54	63	-
Жимолость съедобная 'Камчадалка'	57	67	-
Жимолость съедобная 'Лазурная'	59	62	-
Жимолость съедобная 'Московская'	48	55	-

Результаты исследования носят предварительный характер и предполагают дальнейший поиск оптимальных условий, которые обеспечивали бы адаптацию и повышение жизнеспособности регенерантов изученных культур при переносе их в условиях *ex vitro*.

ЛИТЕРАТУРА

Аладина О. Н., Акимова С. В., Ковалева Н. С., Дубровская С. О., Батрак Е. Р., Аладин С. А. Адаптация микрорастений малины (*Rubus* L.) и сирени (*Syringa* L.) к нестерильным условиям // Плодоводство, защита растений. Известия ТСХА. – М.: РГАУ-МСХА им. К. А. Тимирязева, 2009. – Вып. 3. – С. 98–109.

Вайновская И. Ф., Чумакова И. М., Глушакова Н. М., Фоменко Т. И. Микрклональное размножение в культуре *in vitro* и адаптация герберы (*Gerbera hybrida*) // Биотехнология как инструмент сохранения биоразнообразия растительного мира: Сб. ст. по материалам III Всерос. науч.-практ. конф. (4–6 августа 2010 г., Волгоград) – Волгоград: Изд-во AVATARS, 2010. – С. 183–188.

Деменко В. И., Лебедев В. А. Адаптация растений, полученных *in vitro*, к нестерильным условиям // Известия ТСХА. – М.: РГАУ-МСХА им. К. А. Тимирязева, 2011. – Вып. 1. – С. 60–70.

Митина А. А., Ханбабаева О. Е. Изучение развития и вопросов адаптации сортов сирени обыкновенной, полученных *in vitro*, в нестерильных условиях // Вестник ландшафтной архитектуры. – М.: Довганюк Александр Иванович, 2014. – Вып. 4. – С. 75–78.

Молканова О. И., Зинина Ю. М., Македонская Н. В., Брель Н. Г., Фоменко Т. И., Спиридович Е. В. Разработка биотехнологических приемов размножения сирени обыкновенной // Физиология и биохимия культурных растений. – Киев: Наукова Думка, 2010. – Т. 42, № 2. – С. 117–124.

Набиева Ю. А. Биотехнологические приемы клонального микроразмножения перспективных сортов *Syringa vulgaris* L. для Западной Сибири // Вестник ИРГСХА. – Молодежный: Изд-во ИГАУ им. А. А. Ежовского, 2011. – № 44(4). – С. 69–76.

Плакшина Т. В. Приемы адаптации растений-регенерантов к условиям *ex vitro* // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. Садоводство. – Краснообск: Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН, 2011. – № 2 (218). – С. 43–48.

Сергейчук А. Г., Стрелец В. Д. Особенности доразвивания растений сирени обыкновенной, полученных методом микроразмножения // Краткие сообщения. Известия ТСХА. – М.: РГАУ-МСХА им. К. А. Тимирязева, 2007. – Вып. 3. – С. 113–117.

Эрт А. А., Новикова Т. И., Каракулов В. И., Зайцева Ю. Г. Адаптация регенерантов *Rhododendron hybridum* к условиям *ex vitro* // Научные ведомости БГУ. Серия естественные науки. – Белгород: БГНИУ, 2012. – Вып. 19, № 9(128). – С. 44–48.