

О. Н. Аладина, гнс, д. с.-х. н., профессор,
С. В. Акимова, внс, к. с.-х. н., доцент,
И. Н. Буянов, асп.
ФГБОУ РГАУ-МСХА им. К. А. Тимирязева, г. Москва
alberry7@yandex.ru

УДК 634.725:631.589

ОСОБЕННОСТИ ВВЕДЕНИЯ В СТЕРИЛЬНУЮ КУЛЬТУРУ НОВЫХ СОРТОВ КРЫЖОВНИКА

Резюме. Этиоляция, обработка маточных растений в защищенном грунте цитокининами («Цитодеф» 40 мг/л) и внесение осадков городских сточных вод (ОГСВ) в субстрат оказывают положительное влияние на введение новых сортов крыжовника *in vitro* и выход жизнеспособных регенерантов. Для снижения уровня контаминации маточники в открытом грунте следует предварительно обрабатывать системными фунгицидами и бактерицидными препаратами.

Ключевые слова: крыжовник, подготовка маточных растений, цитокинины, клональное микроразмножение.

Summary. Etiolation, treatment of mother plants in protected ground with cytokinins (cytodeph 40 mg/l) and addition of urban sewage sludge to substrate have a positive effect on the introduction of new gooseberry varieties *in vitro* and yield of viable regenerants. Mother plants in the open field should be pre-treated with systemic fungicides and bactericidal preparations to reduce the level of contamination.

Key words: gooseberry, preparation of mother plants, cytokinins, micropropagation.

Введение в стерильную культуру — один из ответственных этапов клонального микроразмножения крыжовника. Успех инициации зависит не только от сортовых особенностей, но также от физиологического и фитосанитарного состояния маточных растений. Ранее нами было показано, что предварительная обработка маточников ретардантами положительно сказывается на укореняемости стеблевых черенков, качестве корней у вегетативного потомства, его жизнеспособности, а также успешной регенерации *in vitro* [1]. Не менее перспективными, на наш взгляд, являются препараты с цитокининовой активностью [2]. Известна также роль этиоляции растений-доноров в активизации регенерационных процессов.

Цель исследований: оценить эффективность способов подготовки маточных растений новых сортов крыжовника к клональному микроразмножению.

Исследования проводились в лаборатории плодородства РГАУ-МСХА имени К. А. Тимирязева в 2014–2016 гг. Объекты исследования — перспективные сорта крыжовника селекции лаборатории плодородства (Дачный, Летнее утро, Аладдин, Сердолик) с разной регенерационной способностью. Для

отбора эксплантов использовали маточные растения в защищенном и открытом грунте. Экспланты — верхушечные меристемы (50–100 мкм) и узлы (фрагменты стебля длиной около 1 см с латеральными почками). В защищенном грунте проводили следующую подготовку маточных растений:

- в течение двух недель этиолировали под светонепроницаемой пленкой;
- после окончания периода покоя в контейнеры поверхностно вносили органическое удобрение «Куддек», полученное на основе осадков городских сточных вод (ОГСВ) (10% по объему);
- за 5–7 дней до введения эксплантов обрабатывали регуляторами роста с цитокининовой активностью: «Цитодеф» (20–40 мг/л), 6-бензиламинопурин (6-БАП) (10–50 мг/л).

В открытом грунте исходные растения предварительно этиолировали или обрабатывали цитокининами. Питательная среда — Мурасиге-Скуга, 6-БАП 2,0 мг/л, рН 5,6. Оценивали жизнеспособность эксплантов, их контаминацию, пролиферацию пазушных почек и рост микропобегов. Повторность опыта — трехкратная, в повторности — 40 эксплантов.

Использование в качестве эксплантов отрезков стебля с латеральными почками имеет свои преимущества в том случае, если не стоит задача оздоровления крыжовника: из пазушных почек раньше появляются микропобеги, и первый этап клонального микроразмножения сокращается почти на три-четыре недели, а сами микропобеги отличаются хорошим развитием, что важно для их последующего успешного укоренения. Кроме того, снижается риск расхимеривания и учащения соматоклональной изменчивости в культуре ткани, что свойственно слабошиповатым сортам. Нашей задачей было получить как можно больше регенерантов крыжовника для последующих опытов по их адаптации.

Новые сорта отличались разной способностью к клональному микроразмножению. При введении в культуру апикальной меристемы регенерационная способность сортов Дачный и Летнее утро (31,6–39,7%) выше по сравнению с сортами Аладдин и Сердолик (10,1–15,6%). Приживаемость же узловых эксплантов у всех сортов из защищенного грунта достаточно высокая (44,2–51,2%). В последнем случае выход жизнеспособных эксплантов мог быть еще выше, если бы не значительная контаминация эксплантов (до 30–42%). Возбудитель заражения — эндофитная бактерия *Stenotrophomonas maltophilia*. Обработки маточных растений бактерицидными препаратами «Мирамистин» и «Цефтриаксон» перед введением эксплантов в культуру не дали положительного результата.

Этиоляция растений-доноров в течение двух недель перед введением узловых эксплантов в культуру позволила существенно повысить их регенерационную способность: у более легко размножаемых сортов (Летнее утро, Дачный) — в 1,4–1,7, у трудноразмножаемых (Аладдин) — в 2,8 раза (табл. 1).

Через 7–8 недель культивирования у сорта Летнее утро было отмечено достоверное увеличение числа микропобегов и их высоты.

Весьма перспективным способом подготовки маточных растений крыжовника в защищенном грунте являлась их обработка препаратами с цитокининовой активностью за 5–7 дней до начала клонального микроразмножения. Применение 6-БАП (10 мг/л) обеспечивало сопоставимые результаты с этиоляцией, но лучшая приживаемость по сравнению с контролем и затенением растений отмечена в варианте с обработкой сортов крыжовника «Цитодефом» (40 мг/л) (табл. 1).

Таблица 1.

Влияние способов подготовки маточных растений новых сортов крыжовника на регенерационную способность *in vitro*

Сорт	Варианты	Концентрация препарата, мг/л	Приживаемость узловых эксплантов, %	Среднее число микропобегов, шт.	Высота микропобегов, см
Дачный	контроль	—	44,2	0,8	0,6
	Э*	—	55,7	1,0	0,8
	6-БАП	10	52,9	2,0	1,5
		50	28,4	1,0	0,6
	цитодеф	20	50,7	1,2	1,5
		40	69,6	1,5	1,5
	ОГСВ	—	75,2	3,1	0,9
ОГСВ+Э	—	63,1	2,4	1,0	
Летнее утро	контроль	—	21,3	0,8	0,5
	Э	—	42,7	1,2	1,1
	6-БАП	10	49,3	1,2	1,1
		50	14,6	0,7	0,5
	цитодеф	20	51,3	0,9	0,8
		40	54,8	1,2	0,9
	ОГСВ	—	45,7	2,0	0,8
ОГСВ+Э	—	69,4	2,5	1,2	

Окончание табл. 1.

Сорт	Варианты	Концентрация препарата, мг/л	Приживаемость узловых эксплантов, %	Среднее число микропобегов, шт.	Высота микропобегов, см
Аладдин	контроль	—	10,5	0,6	0,4
	Э	—	30,2	1,0	0,5
	6-БАП	10	36,7	1,0	1,0
		50	8,2	0,7	0,5
	цитодеф	20	28,9	1,0	1,0
		40	41,1	1,2	1,2
	ОГСВ	—	35,8	1,8	0,6
	ОГСВ+Э	—	45,4	1,3	0,9
НСР ₀₅ для частных различий			15,6**	0,7	0,5

Э* — этиоляция; ** — проведен дисперсионный анализ преобразованных значений.

Приживаемость эксплантов сорта Дачный увеличивалась в 1,6 раза, трудноразмножаемого сорта Аладдин — почти в 4,0. В этом варианте и в вариантах с 6-БАП (10 мг/л) и «Цитодефом» (20 мг/л) активнее пролиферация и рост микропобегов.

Похожим способом подготовки тепличных маточных растений к введению в культуру может быть добавление в субстрат свежих обезвоженных осадков городских сточных вод (ОГСВ, удобрение «Куддек»), которые характеризуются высокой цитокининовой активностью водной вытяжки, благодаря деятельности многочисленных микроорганизмов, участвующих в биологической очистке воды.

Добавление небольшого количества ОГСВ (не более 10% по объему) на поверхность субстрата сразу после зимнего хранения горшечных растений имитировало обработку маточных растений цитокининами, причем выход чистых жизнеспособных эксплантов был выше, чем в лучших вариантах предыдущего опыта (табл. 1). Сорт Дачный оказался наиболее отзывчивым на применение ОГСВ: приживаемость эксплантов в 1,7 раза выше, чем в контроле и в 1,4 — по сравнению с этиоляцией и обработкой растений 6-БАП (10 мг/л). В вариантах с цитокининами и ОГСВ раньше началась пролиферация, увеличилось среднее число микропобегов в конгломерате

с 0,8 до 2–3,1 на среде размножения уже в первом пассаже, благодаря свойству цитокининов снимать апикальное доминирование. На фоне ОГСВ увеличивалась эффективность этиоляции маточных растений таких сортов, как Летнее утро и Аладдин.

При выращивании растений-доноров в открытом грунте ответная реакция сортов на способы подготовки сходная, но из-за более сильного, чем в защищенном грунте заражения эндофитными бактериями и грибными патогенами, необходима предварительная обработка маточников фунгицидами системного действия «Свитч» (0,26% по д. в.) или «Квадрис» (0,05% по д. в.) в сочетании с эффективным антибактериальным препаратом «Тефлекс» (0,015% по д. в.). Такие обработки практически полностью освобождали от грибной микрофлоры и снижали бактериальное заражение эксплантов с 87–96 до 11–18%, увеличивая выход чистых жизнеспособных регенерантов у всех сортов крыжовника.

Выводы

1. Новые сорта крыжовника отличаются достаточно высокой (Дачный), средней (Летнее утро) и низкой (Аладдин, Сердолик) регенерационной способностью *in vitro*.

2. Подготовка маточных растений крыжовника к клональному микроразмножению, как в открытом, так и в защищенном грунте оказала положительное влияние на приживаемость узловых эксплантов, пролиферацию пазушных почек и рост микропобегов.

3. Наиболее эффективный способ подготовки — обработка исходных растений цитокининами (цитодеф 40 мг/л) за неделю до введения эксплантов в культуру.

4. Альтернативным способом в защищенном грунте явилось поверхностное внесение свежих осадков городских сточных вод (ОГСВ, 10% по объему) в контейнеры после зимнего хранения крыжовника, особенно легкоукореняемых сортов (Дачный).

5. При введении в культуру сортов Летнее утро, Аладдин и Сердолик внесение ОГСВ лучше сочетать с этиоляцией. Высокая приживаемость эксплантов сопровождается более ранним пробуждением пазушных почек и быстрым начальным ростом микропобегов.

6. Для снижения контаминации эксплантов подготовке маточника в открытом грунте должна предшествовать его обработка системными фунгицидами свитч (0,26%) или квадрис (0,05%) в сочетании с эффективными бактерицидными средствами (тефлекс 0,015%).

Список использованной литературы

1. Аладина О. Н. Влияние обработки маточных растений ретардантами на эффективность размножения красной смородины и крыжовника *in vitro* // Известия ТСХА, 2004. — Вып. 1. — С. 1–14.

2. А. с.№ 1639534 ССР. Способ размножения вишни *in vitro* /Агафонов Н. В., Аладина О. Н., Матушкин А. Г., Жаркова И. В., Фаустов В. В. // Бюлл., 1991. — № 13. — С. 2.



O. N.Aladina, S. V. Akimova, I. N.Buyanov

Russian State Agrarian University — Moscow Timiryazev Agricultural Academy,
Moscow

**PECULIARITIES OF INTRODUCTION OF NEW GOOSEBERRY VARIETIES
INTO THE STERILE CULTURE**