

УДК 634.23:581.43:581.143.6

**ОБЩИЕ ТЕНДЕНЦИИ
РИЗОГЕНЕЗА СОРТОВ ВИШНИ
ОБЫКНОВЕННОЙ В УСЛОВИЯХ
IN VITRO**

Коваленко Наталья Николаевна
д-р биол. наук
зав. лабораторией биотехнологии

Поливарова Надежда Васильевна
мл. научный сотрудник
лабораторией биотехнологии

Филиал Крымская опытно-селекционная станция Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова», Крымск, Россия

В работе представлены общие тенденции ризогенеза некоторых сортов вишни обыкновенной в условиях *in vitro*. Опыты проведены в биотехнологической лаборатории Крымской опытно-селекционной станции. Растительный материал пяти сортов вишни (Игрушка, Любская, Тургеневка, Шахразада и Лава) был получен из отдела генресурсов селекции и сортоизучения КОСС. Высаженный в асептических условиях на ранее отобранную агаризированную питательную среду, растительный материал был выставлен в светозал для дальнейшего проведения опытов по их развитию, размножению и укоренению. В результате опытов выделено две модификации питательной среды на основе Мурасиге и Скуга (1962) для успешной элонгации микропобегов исследуемых сортов вишни. В условиях *in vitro* на выделенных питательных средах достигнуто образование хорошо развитых побегов высотой до 2-2,5 см у пяти изучаемых сортов вишни. Подобрана модифицированная

UDC 634.23:581.43:581.143.6

**GENERAL TRENDS
OF RHIZOGENESIS
OF SOUR CHERRY VARIETIES
IN VITRO**

Kovalenko Natalia
Dr. Biol. Sci.
Head of Laboratory of Biotechnology

Polivara Nadezhda
Junior Research Associate
of Laboratory of Biotechnology

Krymsk Experimental Breeding Station, Branch of Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Research Center the N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources", Krymsk, Russia

The article presents the general trends of rhizogenesis of some cherry varieties of sour *in vitro*. The experiments were carried out from 2012 till 2015 in a biotechnological laboratory at the Krymsk Experimental Breeding Station. The plant material of five cherry varieties ('Igrushka', 'Lyubskaya', 'Turgenevka', 'Shakhrazada' and 'Lava') was obtained from the department of genetic resources of breeding and varieties research at the Krymsk Experimental Breeding Station. The plant material was put under the aseptic conditions in a previously selected agarized nutritious medium and after it was placed in a growing room with artificial lighting for further experiments on their development, reproduction and rootage. The experiments resulted in selection of out two modifications of nutritious medium on the basis of Murashige and Skoog medium (1962) for a successful elongation of microshoots of the cherry varieties under study. The five studied varieties of cherry formed the well-developed shoots of 2-2.5 cm in height *in vitro* on these

агаризованная питательная среда (УВ₃) на основе солей среды М-S (1962) для укоренения микрочеренков вишни в условиях *in vitro*. В результате проведенных исследований было выявлено, что наиболее активный процесс ризогенеза и высокий процент укоренения характерен для сортов вишни Игрушка и Любская. Оценено развитие корневой системы с помощью таких показателей как количество корешков на одно растение и их длина. Лучшими средними показателями по сорту, обладают вишни Любская и Игрушка. При этом количество корешков у растений этих сортов в среднем было 5,0 и 4,6 штук при их длине 6,8 и 6,0 см соответственно.

Ключевые слова: ВИШНЯ, РИЗОГЕНЕЗ, ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА, МИКРОПОБЕГИ, КОРНЕВАЯ СИСТЕМА

growth media. For the rootage of cherry microshoots *in vitro* a modified agarized growth medium (UV₃) based on the salts of M-S (1962) was chosen.

The experiments showed that the most active process of rhizogenesis as well as a high percentage of rootage is characteristic of 'Igrushka' and 'Lyubskaya' varieties. We assessed the development of the root system using such parameters as the number of rootlets per plant and their length. 'Lyubskaya' and 'Igrushka' cherries turned out to possess the best average parameters of the variety. At these varieties the number of rootlets was 5 cm and 4.6 cm on average and their length was 6.8 cm and 6 cm respectively.

Kew words: SOUR CHERRY, RHIZOGENESIS, NUTRIENTS MEDIUM, MICROSHOOTS, ROOT SYSTEM

Введение. Постоянное совершенствование сортимента вишни обыкновенной для садов интенсивного типа неразрывно связано с закладкой маточников здоровым посадочным материалом. Получить его в короткие сроки можно, используя методы биотехнологии, в частности культуру изолированных апикальных меристем с последующим ускоренным клональным микроразмножением в условиях *in vitro*. Исследования по клональному микроразмножению растений сортов рода *Cerasus* Mill. в России проводятся, кроме Крымской опытно-селекционной станции ВИР, и в других учреждениях, таких как ВСТИСП (Москва), ВНИИГиСПР (Орел), ВНИИ-ЦиСК (Сочи), ВНИИС (Мичуринск) и др. [1-8].

Для каждого генотипа из рода *Cerasus* Mill. технология клонального микроразмножения имеет свои особенности. Разработанные для одного вида растений условия культивирования *in vitro* нуждаются в определенных, иногда значительных, изменениях, чтобы обеспечить успешное развитие другого вида [1-5, 9-12]. В первую очередь это относится к клони-

руемым регенерантам, так как они чувствительны к минеральному и фитогормональному составу питательных сред [6-8]. Поэтому каждый состав среды необходимо подбирать с учетом специфики размножаемых *in vitro* сортообразцов и этапа клонального микроразмножения.

Одним из наиболее сложных этапов клонального микроразмножения является укоренение микропобегов в условиях *in vitro*. По мнению ряда исследователей [1,2,4,6,9,10], первостепенное значение здесь имеет как минеральный состав питательной среды, так и концентрация ауксина, который вводится в среду вместо цитокинина. Большинство исследователей использовали для укоренения различные варианты питательной среды Мурасиге и Скуга (M-S) (1962), а в качестве индукторов ризогенеза микропобегов такие ауксины, как β -индолилуксусную кислоту (β -ИУК), α -индолилмасляную кислоту (α -ИМК) и ф-нафтилуксусную кислоту (ф-НУК).

В исследованиях И.Н. Прониной (1999) лучшие результаты были получены на среде M-S, разбавленной по концентрации макро- и микроэлементов вдвое с содержанием β -ИУК – 0,3 мг/л. Наилучшая укореняемость отмечена у сорта Апухтинская. У вишни обыкновенной – Молодежная, Десертная Морозовой – процесс ризогенеза лучше протекал на среде с содержанием ИМК – 0,3 мг/л (за три недели укоренились все побеги). Несколько хуже укоренялись регенеранты сорта Гриот мичуринский, их корнеобразование было замедленным. Оптимальным индуктором для данного сорта было содержание ИМК – 0,2 мг/л [13].

По результатам, полученным в опытах Г.П. Атрощенко, С.Ю. Орлова (1998), лучшее укоренение у сортов вишни обыкновенной, таких как Нижнекамская, Щедрая и Уральская рубиновая, было на среде M-S с содержанием ИМК – 3 мг/л [1].

По данным Л.А. Межинской (1990), хорошие результаты получены по укоренению микропобегов вишни и черешни при обработке базальной

части черенков тальковой пудрой с ИМК – 0,25% и последующей их высадке на среду с уменьшенным содержанием солей и сахарозы [10].

В.А. Высоцкий (2006) считает, что присутствие ауксинов положительно сказывается на первых этапах ризогенеза. Он рекомендует кратковременное замачивание базальных участков побегов в водных растворах ауксинов с последующей высадкой их на обедненные среды [2].

Объекты и методы исследований. Исследования по обеззараживанию и размножению различных косточковых культур были выполнены на образцах сортов вишни обыкновенной: Игрушка, Любская, Тургеневка, Шахрада и Лава (2012-2015). При этом в опытах использован основной состав питательной среды Уайта, Мурасиге и Скуга (1962) и ряд ее модифицированных вариантов. Основной состав питательной среды приведен в методике Ю.Г. Попова (1979), которая взята за основу в нашей работе.

Культивирование эксплантов проводили на агаризованных средах в стеклянных пробирках размером 20 × 140 мм, при температуре $+23 \pm 1$ °С, в светозале с 16-часовым фотопериодом с интенсивностью освещения в 2,5 люкс.

Повторность при проведении опытов 4-кратная (10 пробирок на 1 повторность). В ходе исследований испытывали различные концентрации макро- и микроэлементов, витаминов, фитогормонов ауксинов: β -индолилуксусной кислоты, α -нафтилуксусной кислоты.

Обсуждение результатов. По данным ряда исследований, для успешного укоренения микропобегов *in vitro* необходимо, чтобы их высота в среднем была 2 см [3, 6, 7]. С целью успешного формирования пробирочного растения из микропобега полученные в ходе клонального размножения конгломераты сортов вишни, начиная с третьего пассажа, разрезали на несколько частей и высаживали для элонгации (или «вытягивания») побегов на различные варианты модифицированной питательной среды Му-

расиге и Скуга (1962). В результате опытов нами выделены два варианта из их числа: В₁₆ и В₂₆. Их состав приведен в табл. 1.

Таблица 1 – Состав модифицированной питательной среды M-S для элонгации микропобегов сортов вишни

Вариант	Компоненты питательной среды, мг/л	
	В ₁₆	В ₂₆
Основной состав	макроэлементы без NH ₄ NO ₃ микроэлементы Fe-хелат по прописи	¼ маточного состава макро-, микроэлементов, Fe-хелат
Витамины	В ₁ -0,1; В ₆ -0,1; PP-0,1; С-0,5	В ₁ -0,5; В ₆ -0,5; PP-0,5; С-1,0
Фитогормоны	ГК-0,1; 6БАП-0,001	ГК-1,0

Следует отметить, что на питательных средах В₁₆ и В₂₆ у всех сортов вишни наблюдалось образование хорошо развитых побегов высотой до 2-2,5 см. В дальнейшем был проведен ряд опытов по определению оптимального состава среды для укоренения микропобегов сортов вишни обыкновенной и выявлены три модифицированных варианта питательной среды Мурасиге и Скуга (табл. 2).

Таблица 2 – Состав модифицированной питательной среды M-S для укоренения микропобегов вишни обыкновенной *in vitro*

Вариант	Компоненты питательной среды, мг/л		
	УВ ₁	УВ ₂	УВ ₃
Основной состав	по прописи	½ основного состава	по прописи
Витамины	В ₁ -0,5; В ₆ -0,5; PP-0,5; С-1 инозит-100	В ₁ -0,1; В ₆ -0,1; PP-0,1; С-1 инозит-100	В ₁ -0,4; В ₆ -0,4; PP-0,2; С-1 инозит-100
Аминокислоты			глицин-2,0
Фитогормоны	β-ИУК-0,2	α-НУК-0,5	β-ИУК-0,2

На данные питательные среды были высажены растения-регенеранты исследуемых сортов вишни обыкновенной. Результаты испытаний выявили различное влияние их состава на ход процесса укоренения микропобегов вишни.

Анализ полученных данных показывает, что оптимальным для укоренения микропобегов сортов вишни обыкновенной является состав питательной среды УВ₃, поскольку у всех сортов укореняемость растений была выше, с разницей от 10 до 30 % от количества укоренившихся на других вариантах питательных сред (табл. 3).

Таблица 3 – Процент укоренения микропобегов вишни в зависимости от состава модифицированной питательной среды М-S

Сорт	Количество укоренившихся растений, %		
	Питательная среда		
	УВ ₁	УВ ₂	УВ ₃
Игрушка	85,0	75,0	100,0
Любская	70,0	65,0	99,8
Тургеневка	75,0	60,0	86,9
Шахрезада	65,0	55,0	75,2
Лава	-	-	75,0

Самый низкий процент укоренения был при посадке регенерантов на среду УВ₂. На этой среде в ходе опыта отмечено интенсивное образование каллуса на базальной части микрочеренка, что препятствовало корнеобразованию.

Результаты опыта также свидетельствуют и о том, что способность регенерантов сортов вишни к укоренению в условиях *in vitro* неодинакова: наиболее активный процесс ризогенеза наблюдался у микропобегов сортов Игрушка и Любская, процент укоренения их черенков достигал, практически, 100 %.

Такой показатель, как развитие корневой системы, также был неодинаков у испытуемых сортов вишни. Так, на выделенной среде (УВ₃) наиболее активный рост корней наблюдался у сортов Любская и Игрушка. При этом количество корешков у одного растения в среднем составляло 5,0 и 4,6 шт., а их длина 6,8 и 6,0 см, соответственно. У сортов Тургеневка, Шахрезада среднее количество корешков у одного растения было 3,4 и 3,1 шт., а их длина при этом: 4,4 и 4,3 см, в то время как у сорта Лава было, в среднем, 3,0 шт. корешков длиной – 2,0 см.

Выводы. Для успешной элонгации микропобегов сортов вишни в результате опытов выделено две модификации питательной среды на основе М-S (1962). В условиях *in vitro* на выделенных питательных средах достигнуто образование хорошо развитых побегов высотой до 2-2,5 см пяти сортов вишни.

Выделена оптимальная питательная среда (УВ₃) на основе среды М-S (1962) для укоренения микропобегов вишни обыкновенной в условиях *in vitro*. Наиболее активный процесс ризогенеза, как и процент укоренения (100 %), свойственен сортам Игрушка и Любская.

Оценено развитие корневой системы с помощью таких показателей, как количество корешков на одно растение и их длина. Лучшими средними показателями обладают сорта Любская (5,0 штук при длине 6,8 см) и Игрушка (4,6 штук – длиной 6,0 см).

Литература

1. Атрощенко, Г.П. Особенности клонального микроразмножения сортов вишни для выращивания на Северо-Западе РФ / Г.П. Атрощенко, С.Ю. Орлова // Совершенствование сортимента и технологии возделывания косточковых культур: тез. докл. и выступ. на науч.– Метод. конф.; Орел, 14-17 июня 1998 г.– Орел, 1998. – С. 12-14.
2. Высоцкий, В.А. Биотехнологические приемы в современном садоводстве / В.А. Высоцкий // Садоводство и виноградарство.– 2006.– №2.– С. 2-3.
3. Jones O.P., Hopgood M.E. O'Farrel D. Propagation *in vitro* of fruit trees // Prep. East. Mallng Res. Sta. – 1976, - P.76.
4. Красинская, Т.А. Микроразмножение различных форм *Cerasus Mill in vitro* / Т.А. Красинская, Н.В. Кухарчик // Плодоводство / ИП НАН Беларуси.– Самохваловичи, 2004.– Т. 16.– С. 26-31.
5. Jones O.P., Hopgood M.E. The successful propagation *in vitro* of two rootstocks of *Prunus*: the plum rootstock Pixy (*P.insititia*) and the cherry rootstock 12/1 (*P. avium*) // J. Hort. Sci. 1979.-№54. P. 63-66.
6. Джигадло, Е.Н. Микроклональное размножение сортов и подвоев вишни / Е.Н. Джигадло, М.И. Джигадло // Плодоводство / ИП НАН Беларуси.– Самохваловичи, 2005. Т. 17, ч. 2.– С. 200-204.
7. Олешко, Е.В. Особенности размножения вишни *in vitro* / Е.В. Олешко // Культура клеток растений и биотехнология.– М, 1987.– 117-120.
8. Hammershlag F. Factors infuency *in vitro* multiplication and rooting of the plum rootstock Myrobalan // J.Am. Soc. Hort. Sci. - 1982. V.102, №1. P.44-47.
9. Кухарчик, Н.В. Некоторые особенности микроразмножения гибридов черешни / Н.В. Кухарчик // Плодоводство.– ИП НАН Беларуси.– Самохваловичи, 2005.– Т. 17, ч. 1.– С. 77-80.

10. Межинская, Л.А. Микрклональное размножение вишни и черешни / Л.А. Межинская // Пробл. интенсификац. современ. садоводства. – Мичуринск, 1990.– С. 163-165.

11. Кузнецова, А.П. Методы биотехнологии при создании устойчивых к коккомикозу форм вишни и черешни / А.П. Кузнецова, А.А. Воронов, М.С. Ленивецова // Агро XXI.– 2010.– № 10-12.– С. 15-17.

12. Денисенко, Ю.А. Размножение форм подвоев косточковых культур *in vitro* / Ю.А. Денисенко, А.П. Кузнецова, Л.Л. Бунцевич // Основные итоги научных исследований СКЗНИИСиВ за 2004 год.– Краснодар, 2005.– С. 94-97.

13. Пронина, И.Н. Микроразмножение перспективных сортов вишни / И.Н. Пронина // Науч. основы устойчивого садоводства в России (докл. конф. 11-12 марта 1999 г.).– Мичуринск, 1999.– С. 370-372.

References

1. Atroshhenko, G.P. Osobennosti klonal'nogo mikrorazmnozhenija sortov vishni dlja vyrashhivaniya na Severo-Zapade RF / G.P. Atroshhenko, S.Ju. Orlova // Sovershenstvovanie sortimenta i tehnologii vozdeleyvaniya kostochkov. kul'tur: tez. dokl. i vystup. na nauch.– Metod. konf.; Orel, 14-17 iyunja 1998 g.– Orel, 1998. – S. 12-14.

2. Vysockij, V.A. Biotehnologicheskie priemy v sovremennom sadovodstve / V.A. Vysockij // Sadovodstvo i vinogradarstvo.– 2006.– №2.– S. 2-3.

3. Jones O.P., Hopgood M.E. O'Farrel D. Propagation *in vitro* of fruit trees // Prep. East. Mallng Res. Sta. – 1976, - P.76.

4. Krasinskaja, T.A. Mikrorazmnozhenie razlichnyh form Cerasus Mill *in vitro* / T.A. Krasinskaja, N.V. Kuharchik // Plodovodstvo / IP NAN Belarusi.– Samohvalovichi, 2004.– T. 16.– S. 26-31.

5. Jones O.P., Hopgood M.E. The successful propagation *in vitro* of two rootstocks of Prunus: the plum rootstock Pixy (*P.insititia*) and the cherry rootstock 12/1 (*P. avium*) // J. Hort. Ssi. 1979.–№54. P. 63-66.

6. Dzhigadlo, E.N. Mikroklonal'noe razmnozhenie sortov i podvoev vishni / E.N. Dzhigadlo, M.I. Dzhigadlo // Plodovodstvo / IP NAN Belarusi.– Samohvalovichi, 2005. T. 17, ch. 2.– S. 200-204.

7. Oleshko, E.V. Osobennosti razmnozhenija vishni *in vitro* / E.V. Oleshko // Kul'tura kletok rastenij i biotehnologija.– M, 1987.– 117-120.

8. Hammershlag F. Factors infuency *in vitro* multiplication and rooting of the plum rootstock Myrobalan // J.Am. Soc. Hort. Sci. - 1982. V.102, №1. P.44-47.

9. Kuharchik, N.V. Nekotorye osobennosti mikrorazmnozhenija gibridov chereszni / N.V. Kuharchik // Plodovodstvo.– IP NAN Belarusi.– Samohvalovichi, 2005.– T. 17, ch. 1.– S. 77-80.

10. Mezhinskaja, L.A. Mikroklonal'noe razmnozhenie vishni i chereszni / L.A. Mezhinskaja // Probl. intensifikac. современ. sadovodstva. – Michurinsk, 1990.– S. 163-165.

11. Kuznecova, A.P. Metody biotehnologii pri sozdanii ustojchivyh k kokkomikozu form vishni i chereszni / A.P. Kuznecova, A.A. Voronov, M.S. Lenivceva // Агро XXI.– 2010.– № 10-12.– S. 15-17.

12. Denisenko, Ju.A. Razmnozhenie form podvoev kostochkovykh kul'tur *in vitro* / Ju.A. Denisenko, A.P. Kuznecova, L.L. Buncevich // Osnovnye itogi nauchnyh issledovanij SKZNIISiV za 2004 god.– Krasnodar, 2005.– S. 94-97.

13. Pronina, I.N. Mikrorazmnozhenie perspektivnyh sortov vishni / I.N. Pronina // Nauch. osnovy ustojchivogo sadovodstva v Rossii (dokl. konf. 11-12 marta 1999 g.).– Michurinsk, 1999.– S. 370-372.