

**ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ КЛОНАЛЬНОГО МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ
РЕМОНТАНТНОЙ МАЛИНЫ**

М. Г. Маркова, научный сотрудник
Е. Н. Сомова, старший научный сотрудник
Удмуртский НИИ сельского хозяйства
E-mail: ugniish-nauka@yandex.ru

Ключевые слова: малина ремонтантная, клональное микроразмножение, питательная среда, спектральный состав света, облучатели светодиодные, регуляторы роста

Реферат. Показана эффективность использования модифицированной питательной среды, спектрального состава света на основе светодиодных облучателей, а также регуляторов роста в клональном микроразмножении малины ремонтантной сорта Геракл. Использование модифицированной питательной среды Кворина-Лепорье при культивировании малины ремонтантной обеспечивает больший выход пригодных для укоренения микрочеренков (88,2%) и лучшую их укореняемость (80,5%) в сравнении со средой Мурасиге-Скуга (82,7 и 67,8% соответственно). Также на этапе микроразмножения в последнем пассаже наиболее эффективен светодиодный облучатель с соотношением в спектре красного, синего и белого света 1:1:1, а на этапе укоренения – 2:1:1 соответственно. Коэффициент размножения пригодных для укоренения микрочеренков в варианте 1К:1С:1Б составил 2,6, что существенно выше, чем в контрольном варианте (люминесцентный облучатель) – 2,2. Укореняемость микрочеренков в варианте 2К:1С:1Б составила 89,5%, что существенно (на 22,5%) выше, чем в контрольном варианте. Совместное применение в составе питательных сред цитокинина и ауксина, цитокинина и гиббереллиновой кислоты, а также цитокинина, ауксина и гиббереллиновой кислоты обеспечило достоверное увеличение коэффициента размножения пригодных для укоренения микрочеренков, их выживаемости, а также способствовало достоверному повышению укореняемости микрочеренков. Совместное применение 6-бензил-аминопурина 1,0 мг/л, индолилмасляной кислоты 0,2 мг/л и гиббереллиновой кислоты 0,5 мг/л позволило высадить 70% микрочеренков на укоренение, минуя этап элонгации (удлинения), тем самым сократив процесс размножения малины в целом на 30 дней.

Малина – скороплодная и урожайная культура. За последние годы научно-исследовательскими учреждениями России создан ряд новых высокопродуктивных сортов малины красной, максимально отвечающих современным требованиям, а также разработано новое направление в селекции малины – создание сортов ремонтантного типа, плодоносящих на однолетних побегах в конце лета – начале осени [1].

Лучшие из современных сортов ремонтантного типа обладают высокой урожайностью, крупноплодностью, экологической адаптивностью, пригодны к низкозатратным технологиям возделывания [2]. Однако биологические особенности ремонтантных форм малины, связанные с их сложным межвидовым происхождением, стали причиной низкой эффективности предлагаемых биотехнологических методов их размножения на некоторых этапах культивирования *in vitro*. В связи с этим возникла необходимость оптимизации

процесса клонального микроразмножения новых ремонтантных форм малины.

Решить проблему ускоренного размножения ценного материала стало возможным благодаря применению метода клонального микроразмножения. По сравнению с традиционными способами размножения малины – корневыми отпрысками, корневыми и зелеными черенками – этот способ имеет целый ряд несомненных преимуществ. Главные из них – это высокий коэффициент размножения, возможность оздоровления посадочного материала от ряда вредоносных микроорганизмов, в том числе и от вирусной инфекции, а также получение генетически однородных корнесобственных растений. Исследователей и практиков привлекают широкие возможности клонального микроразмножения по сравнению с традиционными методами, но следует отметить, что данный метод сопряжен со многими трудностями, ограничивающими сферу его применения. Не разработаны оптимальные питательные среды

и условия культивирования, способствующие реализации морфогенетического потенциала тканей и регенерации растений [3].

По результатам исследований, проведенных в Удмуртском НИИСХ в 2001–2007 гг. по совершенствованию технологических приемов микроклонального размножения малины, была установлена возможность повышения эффективности (увеличения коэффициента размножения, активации ризогенеза) ее культивирования путем совместного использования цитокининов 6-БАП и кинетина в условиях *in vitro* [4].

Исследования предыдущих лет показали также, что, моделируя состав питательных сред, используя особенности искусственного облучения в закрытых помещениях, можно добиться более эффективного использования факторов внешней среды и создать оптимальные фитоценозы, отличающиеся высокой продуктивностью, и существенно повысить эффективность микроклонального размножения [5, 6].

Цель исследований – изучить влияние питательных сред, спектрального состава света и регуляторов роста на клональное микроразмножение ремонтантной малины.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектами исследований являлись микрочеренки малины ремонтантной сорта Геракл. Исследования проведены согласно «Технологии производства безвирусного посадочного материала плодовых, ягодных культур и винограда» [7] и «Технологии микроклонального размножения растений» [8]. Повторность вариантов в лабораторном опыте четырехкратная, количество микрочеренков малины в каждом варианте 10 шт.

На этапах микроразмножения и укоренения малины ремонтантной изучено влияние питательных сред с минеральной основой Мурасиге-Скуга (контроль) и Кворина-Лепорье, обе среды модифицированные.

Также были проведены исследования по изучению влияния спектрального состава света на пролиферацию и ризогенез микрочеренков. Для сравнения взято три светодиодных облучателя с соотношением в спектре красного, синего и белого света 2:1:1, 1:1:1 и красного и синего света 1:2 соответственно. За контроль принят облучатель люминесцентный ЛПО 17–30, излучающий белый свет.

Изучено совместное влияние цитокининов (6-бензиламинопурина и кинетина); цитокинина (6-БАП) и ауксина (индолмасляная кислота); цитокинина (6-БАП) и гиббереллиновой кислоты (ГК); цитокинина (6-БАП), ауксина (ИМК) и гиббереллиновой кислоты (ГК) в составе питательных сред на этапе микроразмножения и в последствии на этапе укоренения.

Размножение проводилось в светоконной лаборатории при освещенности 2,2 тыс. лк, температуре 22–25°C, относительной влажности воздуха 70–75% и 16-часовом световом дне. В качестве облучателей использовали светодиодные установки (изготовитель ООО «Сервис-Групп», Удмуртская Республика), обеспечившие в сравнении с люминесцентными облучателями ЛПО 30–17 в исследованиях предыдущих лет наибольший коэффициент размножения. На этапе микроразмножения применялись облучатели с соотношением в спектре красного, синего и белого света 1:1:1, а на этапе укоренения – 2:1:1 соответственно. Особенность данных облучателей состоит в том, что спектральный состав их световых потоков в наибольшей степени соответствует фотосинтетической активности растений (ФАР). При использовании облучателей из светодиодов растения развиваются в несколько раз быстрее, чем те, которые освещались обычными традиционными люминесцентными лампами [9]. Статистическая обработка экспериментальных данных проводилась в программе Microsoft Excel 97 по алгоритмам дисперсионного анализа, изложенного Б.А. Доспеховым [10].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

На этапе микроразмножения начало пролиферации микрочеренков отмечено через неделю после посадки на обеих изучаемых питательных средах. Пролиферация длилась 30 дней, учет проводился каждые 10 дней. По итогам первых двух десятидневков пролифериовавших микрочеренков было больше на контрольной питательной среде Мурасиге-Скуга, но не существенно. К концу пассажа количество пролифериовавших микрочеренков практически выравнивалось и составило 60,0% на среде Мурасиге-Скуга и 57,0% на среде Кворина-Лепорье. Таким образом, изучаемая питательная среда Кворина-Лепорье оказалась пригодной для пролиферации микрочеренков малины ремонтантной сорта Геракл.

Этап укоренения на обеих питательных средах длился 50 дней. По всем срокам наблюдений укореняемость микрочеренков малины на изучаемой питательной среде была выше, чем в контроле. К концу этапа укореняемость микрочеренков составила 80,5%, что существенно (на 12,7%) выше, чем на контрольной питательной среде (табл. 1).

Для дальнейшего культивирования ремонтантного сорта Геракл использовалась питательная среда Кворина-Лепорье, обеспечивающая больший выход пригодных для укоренения микрочеренков (88,2%) и лучшую их укореняемость (80,5%) в сравнении со средой Мурасиге-Скуга (82,7 и 67,8% соответственно).

Таблица 1

Влияние питательных сред на биометрические показатели микрочеренков малины сорта Геракл в условиях in vitro

Питательная среда	Коэффициент размножения, шт/микрочеренок	Выход микрочеренков, %	Длина микрочеренка, см	Выживших микрочеренков, %	Укореняемость, %	Оценка корневой системы, баллов
	Этап микроразмножения				Этап укоренения	
Мурасиге-Скуга (контроль)	2,6	82,7	0,8	96,7	67,8	1,7
Кворина-Лепорье	2,8	88,2	0,9	96,7	80,5	1,8
НСР ₀₅	1,3	9,2	0,2		8,6	

Во всех изучаемых вариантах облучения пролиферация микрочеренков началась через 7 дней после посадки. Под люминесцентными лампами пролиферировало 25,0% микрочеренков, под светодиодными облучателями с соотношением в спектре красного, синего и белого света 2:1:1 и 1:1:1 соответственно 25,0 и 34,3%, в варианте с соотношением красного и синего света 1:2 26,7%. Высокая пролиферация микрочеренков в конце пассажа отмечена как в контрольном варианте (58,6%), так и в изучаемых вариантах облучения с соотношением в спектре красного, синего и белого света 1:1:1 (77,8%), красного и синего света 1:2 (81,5%). В варианте с соотношени-

ем в спектре красного, синего и белого света 2:1:1 пролиферация микрочеренков составила 50,0%.

На этапе микроразмножения в последнем пассаже по сорту Геракл прослеживается тенденция к увеличению коэффициента размножения под всеми светодиодными установками в сравнении с контролем. В варианте 1К:1С:1Б коэффициент размножения пригодных для укоренения микрочеренков составил 2,6, что существенно выше, чем в контрольном варианте (2,2), при НСР₀₅, равной 0,3 (табл. 2). Выход микрочеренков (82,4–92,3%) несущественно отличался от контрольного показателя (86,4%), т.е. почти не зависел от источника облучения.

Таблица 2

Влияние спектрального состава света на биометрические показатели микрочеренков малины сорта Геракл в условиях in vitro

Спектральный состав света	Коэффициент размножения шт/микрочеренок	Выход микрочеренков, %	Средняя длина микрочеренка, см	Выживаемость микрочеренков, %	Укореняемость, %	Оценка корневой системы, баллов
	Этап микроразмножения				Этап укоренения	
Белый свет (контроль)	2,2	86,4	1,0	100,0	67,0	1,3
2К:1С:1Б	2,2	92,3	1,1	100,0	89,5	2,2
1К:1С:1Б	2,6	82,4	1,1	100,0	79,0	1,4
1К:2С	2,4	87,0	1,1	100,0	74,0	1,8
НСР ₀₅	0,3	18,5	0,05		14,2	

Укоренение микрочеренков под всеми облучателями началось на 20-й день после посадки, время укоренения составило 50 дней. Под всеми светодиодными установками укореняемость микрочеренков оказалась выше, чем под люми-

несцентными лампами. В варианте 2К:1С:1Б укореняемость составила 89,5%, что существенно (на 22,5%) выше, чем в контрольном варианте (67,0%). Корневая система была лучше развита в вариантах 2К:1С:1Б и 1К:2С (2,2 и 1,8 соответ-

ственно) по сравнению с контролем. Таким образом, для культивирования микрочеренков малины ремонтантного сорта Геракл на этапе микроразмножения наиболее эффективен светодиодный облучатель с соотношением в спектре красного, синего и белого света 1:1:1, а на этапе укоренения – 2:1:1 соответственно.

В ходе изучения влияния синтетических регуляторов роста на пролиферацию микрочеренков в последнем пассаже, а также их последствия на ризогенез на этапе укоренения выявлено, что при внесении в питательную среду регуляторов роста пролиферация микрочеренков началась на первой неделе после посадки. Количество пролиферирующих микрочеренков малины ни в одном из исследуемых вариантов в течение пассажа (30 дней) не превышало данный показатель в контроле (6-БАП 1,0). Но к концу пассажа доля пролиферирующих микрочеренков в вариантах 6-БАП+ИМК

и 6-БАП+ИМК+ГК (80,0%) приблизилась к контрольному показателю (85,7%).

Добавление регуляторов роста в питательную среду не оказало существенного влияния на увеличение коэффициента размножения в целом, но достоверно увеличило выход пригодных для укоренения микрочеренков – от 3,1 до 4,1 шт. в сравнении с контрольным вариантом (2,6) при НСР₀₅ 0,2 (табл. 3).

Выход пригодных для укоренения микрочеренков варьировал от 86,1 до 94,6%, что существенно выше (на 12,0%) в сравнении с контролем.

Средняя длина микрочеренка (1,0–3,0 см) также достоверно выше во всех исследуемых вариантах в сравнении с контрольным (0,8 см). В варианте БАП+ИМК+ГК средняя длина одного микрочеренка составила 3,0 см, что не только существенно (на 2,2 см) выше, чем в контроле, но и позволило высадить 70% микрочеренков на укоренение, минуя этап элонгации (удлинения).

Таблица 3

Влияние регуляторов роста на выход микрочеренков малины ремонтантной сорта Геракл

Регуляторы роста, мг/л	Коэффициент раз- множения, шт/ микрочеренок	Выход микроче- ренков, %	Длина микроче- ренка, см	Выживаемость микрочеренков, %	Укореняемость, %	Количество кор- ней, шт/ растение	Средняя длина корней, см	Оценка корневой ситемы, баллов
	Этап микроразмножения				Этап укоренения			
6-БАП 1,0 (контроль)	2,6	60,4	0,8	92,0	73,0	2,1	2,0	1
6-БАП1,0+ ИМК 0,2	4,0	86,9	1,4	100,0	93,0	3,6	2,6	3
6-БАП 1,0+ ГК 0,5	3,5	94,6	1,2	100,0	100,0	4,4	2,1	3
6-БАП 1,0 +ИМК 0,2+ ГК 0,5	4,1	93,2	3,0	100,0	96,0	4,3	2,4	3
6-БАП 1,0+ кинетин 0,5	3,1	86,1	1,0	100,0	52,0	2,0	2,2	2
НСР ₀₅	0,2	12,0	0,2	4,0	9,3	0,2	2,1	

Отмечено также, что во всех изучаемых вариантах выживаемость микрочеренков 100%-я, что существенно выше в сравнении с контрольным (92%).

В последствии существенное увеличение укореняемости микрочеренков отмечено в вариантах с добавлением в питательную среду БАП+ИМК, БАП+ГК и БАП+ИМК + ГК – 93, 100 и 96% соответственно при НСР₀₅ 9,3% в сравнении с контролем (73%). Добавление в питательную среду кинетина не улучшило укореняемость микрочеренков.

Регуляторы роста в последствии существенно увеличили количество корней, но не оказали положительного влияния на их среднюю длину. Достоверный положительный эффект обеспечили варианты БАП+ИМК, БАП+ГК, БАП+ИМК+ГК.

Данные исследования показали, что оптимально выбранные концентрации регуляторов роста в последнем пассаже пролиферации активизируют ризогенез и развитие микрорастений в последствии, т.е. на стадии укоренения.

ВЫВОДЫ

1. В последнем пассаже клонального микроразмножения ремонтантной малины можно использовать как питательную среду Мурасиге-Скуга, так и Кворина-Лепорье, а для укоренения микрочеренков лучше применять питательную среду Кворина-Лепорье.

2. На этапе микроразмножения в последнем пассаже наиболее эффективен светодиодный об-

лучатель с соотношением в спектре красного, синего и белого света 1:1:1, на этапе укоренения – 2:1:1 соответственно.

3. На этапе микроразмножения совместное применение цитокинина и ауксина; цитокинина и гиббереллиновой кислоты; цитокинина, ауксина и гиббереллиновой кислоты обеспечило достоверное увеличение коэффициента размножения

пригодных для укоренения микрочеренков и их выживаемости.

4. На этапе укоренения все вышеперечисленные варианты способствовали достоверному увеличению укореняемости микрочеренков, а применение БАП+ИМК+ГК позволило высадить 70 % микрочеренков на укоренение, минуя этап элонгации (удлинения), тем самым сократив процесс размножения в целом на 30 дней.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Ильин В. С. Земляника, малина и ежевика. – Челябинск: Юж.-Урал. кн. изд-во, 2007. – 344 с.
2. Казаков И. В., Сидельников А. И., Степанов В. В. Ремонтантная малина в России. – М., 2007. – 142 с.
3. Шипунова А. А., Высоцкий В. А. Влияние некоторых факторов культивирования на клональное микроразмножение плодовых и ягодных растений // Плодоводство и ягодоводство России. – 2002. – № 9. – С. 193–200.
4. Панькова О. А., Несмелова Н. П. Совершенствование приемов клонального микроразмножения ягодных кустарников // Аграр. наука Евро-Северо-Востока. – 2008. – № 11. – С. 72–76.
5. Маркова М. Г., Сомова Е. Н. Приемы ускоренного размножения малины в культуре in vitro // Селекция, семеноводство и технология плодово-ягодных культур и картофеля: сб. науч. тр. [сост.: Т. В. Лебедева, О. В. Гордеев, А. А. Васильев]. – Челябинск: ФГБНУ «Юж.-Урал. НИИ садоводства и картофелеводства», 2015. – Т. 17. – С. 159–167.
6. Маркова М. Г., Несмелова Н. П., Сомова Е. Н. Использование светодиодных облучательных установок в клональном микроразмножении ягодных кустарников // Инновационные технологии возделывания сельскохозяйственных культур – основа ведения растениеводства в современных условиях: материалы Всерос. науч.-практ. конф. – Ижевск: ФГБОУ ВПО Ижев. ГСХА, 2014. – С. 141–145.
7. Технология производства безвирусного посадочного материала плодовых, ягодных культур и винограда / Гос. произв. объединение по производству посад. материала ГПО, Союзпитомник. – М., 1989. – 169 с.
8. Калинин Ф. Л., Кушнир Г. П., Сарнацкая В. В. Технология микроклонального размножения растений. – Киев: Наук. думка, 1992. – 232 с.
9. Кондратьева Н. П., Козырева Е. А. Инженерное обеспечение комбинированного режима облучения растений. Анализ существующих способов облучений // Тр. науч.-практ. конф. молодых ученых и специалистов, посвящ. 450-летию вхождения Удмуртии в состав России. – Ижевск: ИжГСХА, 2006. – С. 15.
10. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. – М.: Колос, 1985. – 416 с.
1. Il'in V.S. Zemlyanika, malina i ezhevika [Strawberries, raspberries and blackberries]. Chelyabinsk: Yuzh. – Ural. kn. izd-vo, 2007. 344 p.
2. Kazakov I. V., Sidel'nikov A. I., Stepanov V. V. Remontantnaya malina v Rossii [Remontant raspberries in Russia], 2007. 142 p.
3. Shipunova A. A., Vysotskiy V. A. Plodovodstvo i yagodovodstvo Rossii [Pomiculture and small fruits culture in Russia], no. 9 (2002): 193–200.
4. Pan'kova O. A., Nesmelova N. P. Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka [Agricultural science Euro-North-East], no. 11 (2008): 72–76.
5. Markova M. G., Somova E. N. Seleksiya, semenovodstvo i tekhnologiya plodovo-yagodnykh kul'tur i kartofelya [Breeding, seed production and technology of fruit crops and potatoes]. Chelyabinsk: FGBNU «Yuzh. – Ural. NII sadovodstva i kartofelevodstva», T. 17 (2015): 159–167.
6. Markova M. G., Nesmelova N. P., Somova E. N. Innovatsionnye tekhnologii vozdel'yvaniya sel'skokhozyaystvennykh kul'tur – osnova vedeniya rastenievodstva v sovremennykh usloviyakh [Materials of conference]. Izhevsk: FGBOU VPO Izhev. GSKhA, 2014: 141–145.

7. *Tekhnologiya proizvodstva bezvirusnogo posadochnogo materiala plodovykh, yagodnykh kul'tur i vinnograda* [Production technology of virus-free planting material of fruit, berry cultures and grapes]. Moscow, 1989. 169 p.
8. Kalinin F.L., Kushnir G.P., Sarnatskaya V.V. *Tekhnologiya mikroklonal'nogo razmnzheniya rasteniy* [The technology of micropropagation of plants]. Kiev: Nauk. Dumka, 1992. 232 p.
9. Kondrat'eva N.P., Kozyreva E.A. *Inzhenernoe obespechenie kombinirovannogo rezhima oblucheniya rasteniy. Analiz sushchestvuyushchikh sposobov oblucheniya* [Materials of conference]. Izhevsk: IzhGSKhA, 2006. pp. 15.
10. Dospekhov B.A. *Metodika polevogo opyta* [Methods of field experience]. Moscow: Kolos, 1985. 416 p.

EFFICIENCY OF CLONE MICROREPRODUCTION OF EVERBEARING RASPBERRY

Markova M.G., Somova E.N.

Key words: everbearing raspberry, cloned micro-propagation, growing medium, light spectral structure, photodiode irradiator, growth regulators.

Abstract. *The article shows efficiency of application of modified growing system, light spectral structure on the basis of photodiode irradiators and growth regulators in cloned micro-propagation of Herakl everbearing raspberry. Modified growing medium Quorin-Lepoivre provides higher number of micropropagula (88.2 %) and their rooting ability (80.5 %) compared with Murashige and Skoog medium (82.7 and 67.8% correspondently). The authors found out that photodiode irradiator with 1:1:1 correlation of red, blue and white is the most efficient at the latest stage of micro-propagation and 2:1:1 correlation at the stage of rooting. The coefficient of micropropagula propagation 1K:1C:1B was 2.6, that is significantly higher than in the control variant (luminous irradiator) – 2.2. The rooting ability of micropropagula in 2K:1C:1B variant was 89.5% that is 22.5 % higher than in the control variant. The complex application of cytokinin and auxin, cytokinin and gibberllic acid as well as cytokinin, auxin and gibberllic acid in the growing medium increases coefficient of micropropagula propagation, their livability and contributes to stronger rooting ability of micropropagula. The complex application of 1.0 mg/l 6-benzylaminopurine, 0.2 mg/l indole buritic acid and 0.5 mg/l gibberllic acid contributed to 70 % rooting of cutting skipping the stage of elongation and reducing the raspberry propagation on 30 days.*