

ОСОБЕННОСТИ АДАПТАЦИИ РЕМОНТАНТНОЙ МАЛИНЫ В УСЛОВИЯХ EX VITRO

А.П. Рундя

*Институт плодоводства, аг. Самохваловичи,
Минский район, Беларусь*

ВВЕДЕНИЕ

Возможность укоренения плодовых и ягодных культур в условиях ex vitro вызывает большой интерес в области сельскохозяйственной биотехнологии. Он связан с ускорением процесса микроразмножения и снижением затрат при получении оздоровленного посадочного материала. Гибриды сложного межвидового происхождения резко отличаются по реакции на условия культивирования in vitro [1]. Поэтому для новых селекционных форм требуется индивидуальный подбор условий на всех этапах микроклонального размножения.

Процесс размножения растений in vitro состоит из следующих этапов: 1) введение в культуру in vitro; 2) размножение методом культуры тканей в асептических условиях; 3) укоренение растений в условиях in vitro; 4) адаптация растений в условиях ex vitro.

Высадка размноженных растений с последующей адаптацией их к нестерильным условиям является заключительным и наиболее ответственным этапом, который определяет значительную часть успеха размножения растений in vitro [2]. Эффективность адаптации растений в условиях ex vitro в значительной степени определяется правильным выбором питательного субстрата. В связи с рядом особенностей пробирочных растений, такими как слабое функционирование устьичного аппарата, отсутствие кутикулярного слоя и корневых волосков, могут наблюдаться значительные потери высаженного в субстрат материала, поэтому состав субстрата необходимо подбирать для каждого вида и сорта растений [3].

Ремонтантные формы малины – уникальные ягодные растения, способные в отличие от обычных растений малины плодоносить на однолетних побегах. Ряд ремонтантных сортообразцов малины сложного межвидового происхождения отличаются низкими коэффициентами размножения, а отдельные из них и вовсе не образуют корневой поросли. Эта биологическая особенность затрудняет размножение таких генотипов традиционными способами и, таким образом, значительно удлиняет период полевого размножения, и, как следствие, удлиняет процесс перехода элитных форм к сортоиспытанию и препятствует распространению новых перспективных сортов. У трудно размножаемых в обычных условиях видов растений при использовании данного способа размножения имеется реальная возможность производить в больших количествах генетически идентичное вегетативное потомство [4]. Положительное влияние на рост и развитие растений также может оказывать оздоровление полученных in vitro растений. Применительно к сортам ремонтантной малины, характеризующихся низкой порослеобразовательной способностью, это свойство выращивания в условиях in vitro имеет большое значение при закладке маточников этой культуры [5].

Полученные в результате оздоровления и адаптированные к условиям окружающей среды растения ремонтантной малины являются посадочным материалом класса А, предназначенным для закладки суперэлитных маточников, являющихся основой для производства сертифицированного посадочного материала. Однако вопросы адаптации оздоровленных растений как к нестерильным условиям, так и к условиям открытого грунта изучены недостаточно и являются актуальными в настоящее время.

Цель данных исследований – изучить особенности адаптации растений ремонтантной малины *in vitro* к нестерильным условиям на разных субстратах, с целью повышения выживаемости пробирочных растений, увеличения конечного выхода посадочного материала и получения полноценных маточных растений.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектами исследований являлись ремонтантные сорта малины *Poranna Rosa* и *Heritage*.

Heritage – высокоурожайный сорт красноплодной ремонтантной малины американской селекции. Сорт достаточно неприхотлив в уходе и нетребователен к грунту. Обладает невысокой способностью к побегообразованию. Ягоды средних размеров, массой около 3,0–3,7 г, с сочной мякотью, плотные, транспортабельные, имеют универсальное назначение. Проявляет устойчивость к корневой гнили, мучнистой росе и толерантен к ряду вирусных болезней.

Poranna Rosa – ремонтантный сорт польской селекции. Характеризуется низкой побегообразовательной способностью как в полевых условиях, так и при размножении *in vitro*. *Poranna Rosa* – крупноплодный сорт с желто-оранжевыми плодами. Плотные транспортабельные ягоды достигают массы 4,0–8,0 г, плоды способны сохранять товарный вид длительное время, проявляет устойчивость к грибковым заболеваниям садовых культур.

Для культивирования растений малины использовали минеральный состав питательной среды Мурасиге и Скуга (MS) с дополнениями, обеспечивающими размножение и ризогенез эксплантов [6–9].

Стерильные растения вынимали из пробирок пинцетом, проводили обработку 1%-ным раствором марганцевокислого калия и высаживали в наполненные предварительно увлажненным субстратом минипарнички для рассады с прозрачной крышкой. Для сорта *Poranna Rosa* исследовались 2 группы растений-регенерантов: с длиной и стебля и корня при высадке более 1 см (первая группа) и менее 1 см (вторая группа), для сорта *Heritage* исследовались саженцы с длиной побега и корня более 1 см.

Растения высаживались в минитеплички с интервалом не менее 3 см. В качестве субстрата использовались: смесь торфа с перлитом в соотношении 5:1; ионообменный субстрат БИОНА-111; смесь перлита и БИОНА-111 в соотношении 4:1.

Субстрат БИОНА-111 был разработан и получен в Институте физико-органической химии НАН Беларуси и представляет собой ионообменный субстрат в виде гранул оранжевого и желтого цвета размером 0,5–2,5 мм. Основа субстратов БИОНА – синтетические (КУ-2, ЭДЭ-10П, АН-2Ф, волокнистые иониты ФИБАН и др.) и природные (клиноптилолит) иониты, насыщенные биогенными макроэлементами:

K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , NH_4^+ , Fe^{3+} , NO_3^- , SO_4^{2-} , $H_2PO_4^-$, и микроэлементами: Mn^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , MoO_4^{2-} , $B_4O_7^{2-}$, Co_2^+ , Na^+ , Cl^- , pH водной взвеси 6,0–7,0.

Перлит (зернистый) – продукт измельчения и термической обработки горной породы вулканического происхождения. Перлит хорошо удерживает кислород и имеет хорошее продольно-капиллярное распределение влаги, но имеет низкую поглотительную способность, поэтому при выращивании растений на перлите или субстрате, в котором, он доминирует, субстрату необходимо частое увлажнение. Главный недостаток перлита – это его легкость, он смывается водой, и растению тяжело удерживаться корнями.

Торф торговой марки «Флорабел» представляет собой субстрат, насыщенный следующими элементами: азот (N) – 130 ± 40 , фосфор (P_2O_5) – 130 ± 40 , калий (K_2O) – 170 ± 50 мг/100 г. Значение pH водной вытяжки из торфяного субстрата – 7,7.

Адаптация растений производилась в условиях культуральной комнаты при освещенности – 2,5–3 тыс. люкс, температуре – 21–23°C и фотопериоде – 16/8 часов. Ежедневно осуществлялось опрыскивание растений и полив по мере необходимости. Период адаптации составлял 45 дней, после чего адаптированные растения распикировывались в отдельные горшки.

Опыты проводили в 3-кратной повторности. Статистическую обработку проводили, используя ANOVA (однофакторный дисперсионный анализ), критерий Дункана при $p = 0,05$ для сравнения средних величин, в программе *Statistica 6.0*, а также *Microsoft Office Excel*.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате исследований была проведена оценка размножения и адаптации двух ремонтантных сортов малины в отделе биотехнологии РУП «Институт плодородия».

Установлено, что сорт и тип адаптационного субстрата значимо влияли ($p < 0,05$) на длину побега оцениваемых растений (рис. 1). Реакция растений разных сортов на адаптацию с использованием одного типа субстратов значительно отличалась. Так статистически значимых отличий в длине побега при культивировании на выбранных субстратах растений сорта Heritage обнаружено не было (9,21 см – на торфе; 8,34 см – на смеси БИОНА-111 с перлитом и 8,41 см – на торфо-перлитной смеси), в то время как длина побегов сорта Poranna Rosa значимо отличалась как при посадке исходных растений с длиной побега больше 1 см, так и при меньше 1 см.

Такой субстрат, как БИОНА-111 показал худший результат по размеру побегов при адаптации растений сорта Poranna Rosa. При адаптации на ионообменном субстрате ключевым моментом был размер исходного растения. Использование более длинных побегов обеспечивало получение значительно ($p < 0,05$) лучшего результата средних значений длины побега (4,51 и 2,88 см для эксплантов длиной более и менее 1 см соответственно) в конце периода адаптации. Стоит отметить, что при выращивании на смеси торфа с перлитом, на которой были получены самые высокие для данного сорта значения длины стебля, и смеси БИОНА-111 с перлитом после одинакового периода культивирования статистически значимой зависимости длины побега от длины исходного растения сорта Poranna Rosa не выявлено (7,93 и 7,8 см; 7,48 и 6,65 см для эксплантов с исходной длиной побега более и менее 1 см соответственно).

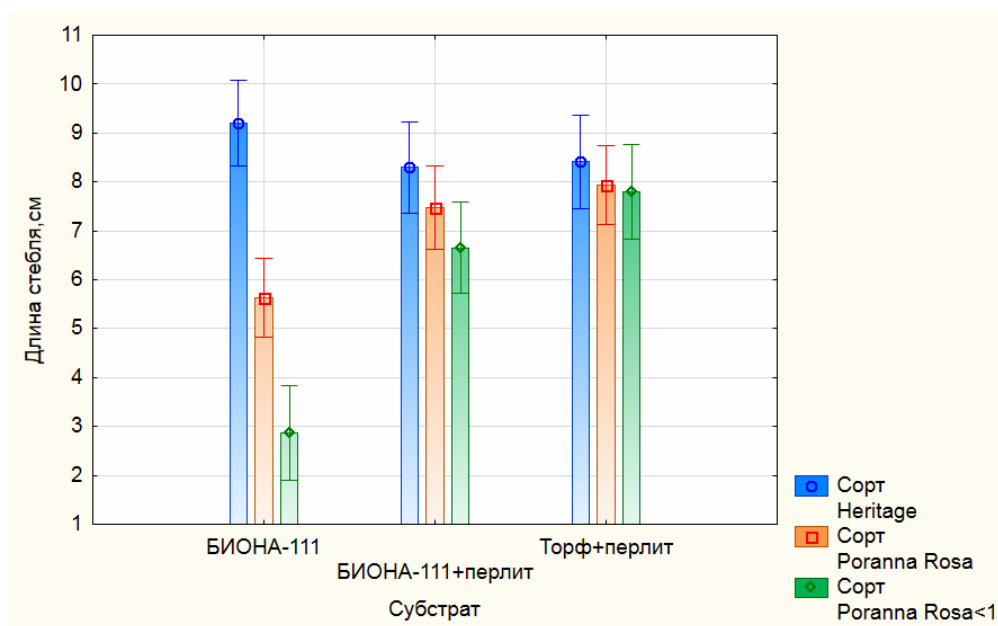


Рис. 1. Средняя длина побега в зависимости от сорта и питательного субстрата

Также отмечено статистически значимое влияние ($p < 0,05$) как сорта, так и типа адаптационного субстрата на развитие корневой системы исследуемых растений (рис. 2).

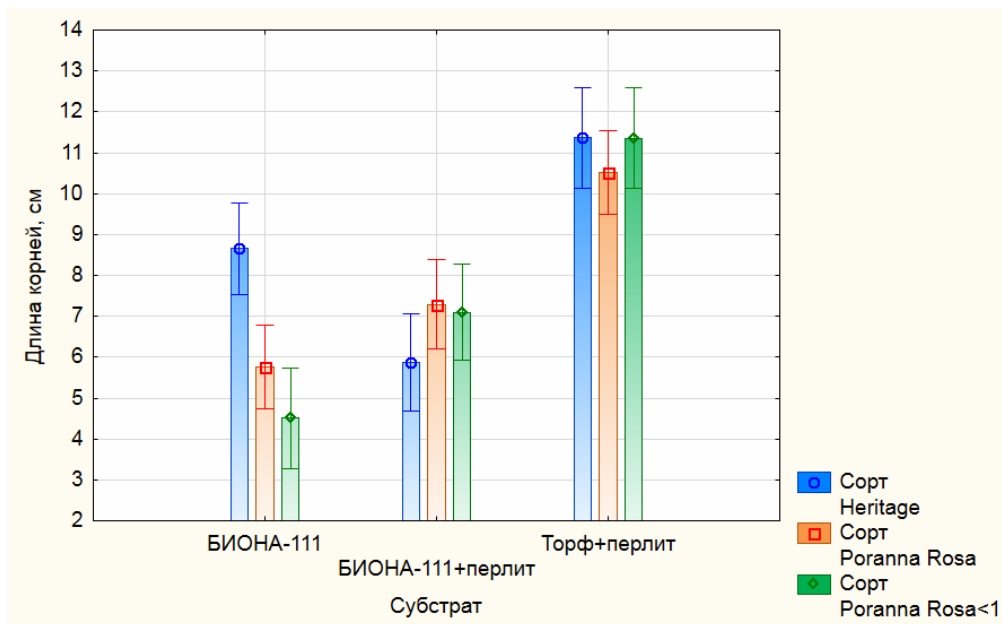


Рис. 2. Средняя длина корней в зависимости от сорта и питательного субстрата

Длина корневой системы растений сорта Heritage значительно отличалась ($p < 0,05$) во всех вариантах в зависимости от используемого субстрата. Наибольшая длина корневой системы отмечена при использовании в качестве субстрата смеси торфа с перлитом (11,37 см). Такой субстрат, как смесь БИОНА-111 с перлитом, обеспечивавший хорошие результаты развития побегов, показал низкий результат в развитии корней (5,88 см). Выращивание на чистом ионообменном субстрате БИОНА-111 показало средний результат (8,65 см) по такому показателю как длина корней саженцев.

Растения сорта Poranna Rosa статистически значительно отличались ($p < 0,05$) по развитию корневой системы на апробируемых субстратах. Самые высокие результаты получены при использовании смеси торфа с перлитом (10,53 и 11,36 см для растений с исходной длиной корней более 1 см и менее 1 см соответственно), самые низкие – при использовании БИОНА-111 (5,76 и 4,51 см для растений с исходной длиной корней более 1 см и менее 1 см соответственно).

Следует отметить, что длина корней исходных растений сорта Poranna Rosa значительно не влияла на развитие корневой системы при использовании разных типов адаптационных субстратов. Полученные значения длины корневой системы зависели только от типа используемого субстрата (5,76 и 4,51 см на БИОНА-111; 7,3 и 7,1 см на смеси БИОНА-111 и перлита; 10,53 и 11,36 см на смеси торфа с перлитом для растений с исходной длиной корней более 1 см и менее 1 см соответственно).

На этапе адаптации растений ремонтантной малины после укоренения *in vitro* было отмечено, что все исследуемые адаптационные субстраты обеспечивали высокую приживаемость растений в нестерильных условиях (рис. 3).

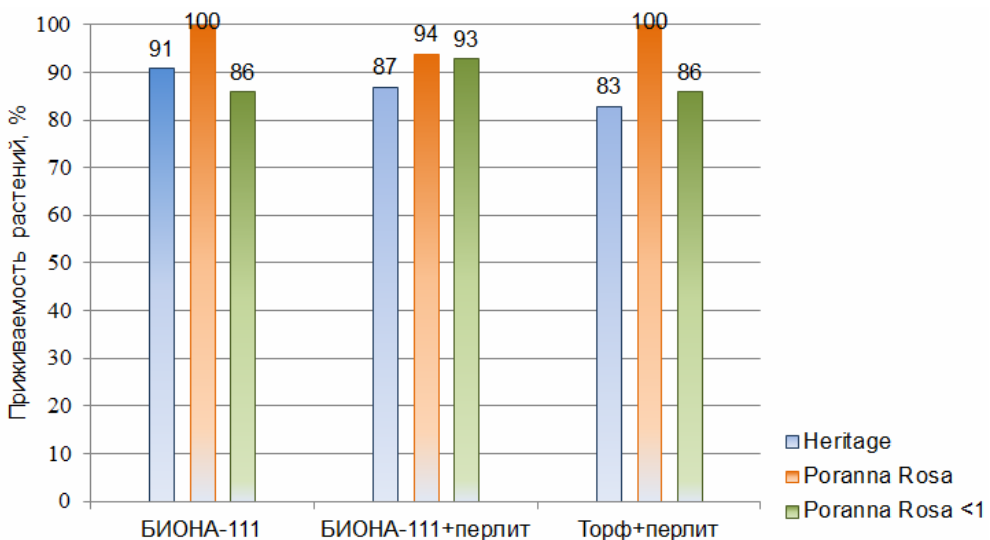


Рис. 3. Приживаемость (%) на разных субстратах при адаптации растений ремонтантной малины после укоренения *in vitro*

Максимальное количество прижившихся растений ремонтантной малины сорта Heritage (91,05) было получено на ионообменном субстрате БИОНА-111, такие

субстраты, как смесь БИОНА-111 с перлитом и смесь торфа с перлитом, показали чуть меньший результат (87,05 и 83,05 соответственно). Для растений сорта Poranna Rosa максимальный результат (100,05) был получен для исходных саженцев с длиной побега и корней более 1 см на ионообменном субстрате БИОНА-111 и торфо-перлитной смеси. Для данного сорта растений более низкий уровень приживаемости (94,05) получен при использовании ионно-перлитной смеси. В то время как для исходных растений с длиной побега и корней менее 1 см максимальное количество прижившихся растений (93,05) было отмечено при адаптации на смеси БИОНА-111 с перлитом, приживаемость растений при использовании БИОНА-111 или торфа составила 86,05.

Полученные данные параметров развития растений при адаптации к условиям *ex vitro* на разных питательных субстратах показали, что наиболее подходящим субстратом для развития побегов и корневой системы растений исследуемых ремонтантных сортов малины при любых размерах исходных растений является смесь торфа с перлитом.

ВЫВОДЫ

В результате проведенных исследований было установлено статистически значимое влияние генотипа (на примере двух сортов ремонтантной малины Heritage и Poranna Rosa) и типа адаптационного субстрата (БИОНА-111, смесь БИОНА-111 с перлитом и смесь торфа с перлитом) на эффективность адаптации растений после культивирования и укоренения *in vitro*.

Все три вида исследованных субстратов обеспечили высокую приживаемость (83–100%) у предварительно укорененных *in vitro* растений-регенерантов. Сравнительный анализ результатов развития корней и побегов растений при адаптации к условиям *ex vitro* на разных субстратах показал, что оптимальным субстратом для адаптации растений исследуемых ремонтантных сортов малины является смесь торфа с перлитом, при использовании которого длина стебля и корней для сорта Heritage составила 9,21 и 11,37 см соответственно, для сорта Poranna Rosa и Poranna Rosa <1 составила 7,93 и 10,57 см и 7,8 и 11,36 см соответственно. При этом на длину корней и побегов значимо влиял как сорт, так и тип субстрата для адаптации.

При исследовании биометрических особенностей растений сорта Poranna Rosa выявлены закономерности развития и адаптации на исследованных субстратах в зависимости от размера, исходного предварительно укорененного растения-регенеранта. Использование при адаптации на ионообменном субстрате БИОНА-111 более длинных исходных побегов обеспечивало получение значительно лучшего результата средних значений длины побега (4,51 и 2,88 см для эксплантов длиной более и менее 1 см соответственно).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Казаков, И.В. Малина ремонтантная / И.В. Казаков, С.Н. Евдокименко. – М.: ГНУ ВСТИСП, 2007. – 288 с.

2. Turk, B.A. Adventitious shoot regeneration in vitro—cultured leaves of *Rubus* genotypes / B.A. Turk, H.J. Swartz, R.H. Zimmerman // *Plant Cell. Tiss. Org. Cult.* – 1994. – Vol. 38. – P. 11–17.
3. Pierik, R.L.M. In vitro culture of higher plants / R.L.M. Pierik. – Dordrecht etc., Martinus Nijhoff Publishers, 1987. – 344 p.
4. Plant Breeding Reviews / H. Hall [et al.] // *Raspberry Breeding and Genetics.* – 2009. – Vol. 32. – P. 39–382.
5. Адаптация регенерантов ex vitro / Н.В. Кухарчик [и др.] // *Плодоводство: науч. тр. / Ин-т плодоводства; редкол.: В.А. Матвеев (гл. ред.) [и др.].* – Самохваловичи, 2006. – Т. 18, ч. 2. – С. 174–181.
6. Размножение ежевики (*Rubus fruticosus* L.) в культуре in vitro / Н.В. Кухарчик [и др.] // *Плодоводство: науч. тр. / Ин-т плодоводства Нац. акад. наук Беларуси; редкол.: В.А. Самусь (гл. ред.) [и др.].* – Самохваловичи, 2002. – Т. 14. – С. 95–98.
7. Litz, R.E. Regeneration of Fruit and Ornamental Trees via Cell and Tissue Culture / R.E. Litz // *Encyclopedia of Applied Plant Sciences* / ed. B. Thomas, D.J. Murphy, B.G. Murray. – Amsterdam, 2003. – Vol. 3. – P. 1408–1417.
8. Казаков, И.В. Оптимизация метода клонального микроразмножения для ускоренной селекции ремонтантных форм малины / И.В. Казаков, В.В. Заякин, И.Я. Нам // *Использование биотехнологических методов для решения генетико-селекционных проблем: сб. докл. и сообщ. XVIII Мичурин. чтений, 27–29 окт. 1997 г. / Всерос. науч.-исслед. ин-т генетики и селекции плодовых растений им. И.В. Мичурина; редкол.: Н.И. Савельев (гл. ред.) [и др.].* – Мичуринск, 1998. – С. 16–19.
9. Рундя, А.П. Особенности размножения малины в культуре in vitro / А.П. Рундя, Н.Н. Волосевич // *Теория и практика современного ягодоводства: от сорта до продукта: матер. междунар. науч. конф., аг. Самохваловичи, 16–18 июля 2014 г. / РУП «Ин-т плодоводства»; редкол.: В.А. Самусь (гл. ред.) [и др.].* – Самохваловичи, 2014. – С. 123–127.

THE PECULIARITIES OF PRIMOCANE RASPBERRY ADAPTATION UNDER EX VITRO CONDITIONS

A.P. Ryndya

Summary

The aim of the present investigation was to study the peculiarities of primocane raspberry plants adaptation to non-sterile conditions in different substrates.

For ex vitro adaptation of two varieties of primocane raspberry (Poranna Rosa and Heritage) the following substrates were used: a mixture of peat and perlite (5:1); ion-exchange substrate BIONA-111; a mixture of perlite and BIONA-111 (4:1). Due to special characteristics of the plant variety Poranna Rosa 2 groups of seedlings were studied.

The results of the study allowed identifying patterns of plants development and adaptation at the investigated substrates that depend on the size of the original pre-rooted plantlets of the variety Poranna Rosa.

It was found that all three types of investigated substrates provide high survival rate of regenerated plants of both varieties, as well as good development of seedlings during adaption to non-sterile conditions. At the same time the length of the roots and shoots significantly affect both the variety and type of substrate for adaptation.

The mixture of peat with perlite is recommended as the most optimized substrate for adaptation of primocane raspberry varieties.

Поступила 12.01.15

УДК 631.879

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СБРОЖЕННОГО ОТХОДА БИОГАЗОВОЙ УСТАНОВКИ В КАЧЕСТВЕ ОРГАНИЧЕСКОГО УДОБРЕНИЯ (АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР)

Л.Н. Иовик

*Полесский аграрно-экологический институт НАН Беларуси,
г. Брест, Беларусь*

Биогазовые технологии являются относительным новшеством для Беларуси. В их основе лежит процесс анаэробного биоразложения органического вещества с образованием биогаза и сброженного осадка (отхода производства). При сжигании биогаза получают тепловую и электрическую энергию, а осадок используют как органическое удобрение [1, 2].

В настоящее время в республике функционируют 6 биогазовых установок (БГУ) по утилизации сельскохозяйственных отходов: на КСУП СГЦ «Западный» (Брестский район), РУП ППЗ «Белорусский» (Минский район), ОАО «Гомельская птицефабрика», СПК «Агрокомбинат «Снов» ОАО «Лань-Несвиж» (Несвижский район), СПК «Рассвет» (Кировский район).

В БГУ, расположенной на территории РУП «Селекционно-гибридный центр «Западный» Брестского района брожению подвергаются 4 вида отходов: навозные стоки (30%), твердая фракция отсепарированных на дуговых ситах навозных стоков с примесью отходов бойни (30%), отходы рыбного производства (20%), зерноотходы (10%) и жидкие ферментированные отходы (10%).

Следует отметить, что общепринятого единого названия у сброженного осадка нет. В отечественной и зарубежной литературе его обозначают различными терминами: эффлюент [3, 4], биоудобрение [5, 6], дигестат [7, 8], биогазовый осадок [9, 10], бишлам [11] и др.

При сепарировании эффлюента образуются твердая (шлам) и жидкая (фугат) фракции. Жидкая фракция содержит менее 5% сухого вещества и основное количество азота и калия [7]. Ее разбрызгивают на полях, либо отправляют на повторную загрузку анаэробного реактора, смешав с твердым сырьем [12]. Твердую фракцию компостируют с другими органическими отходами [7] либо смешивают с сорбентами: торфом, древесными опилками, землей и т.п. [5]. В таком виде шлам более удобен для хранения и транспортировки. После предварительного обезвоживания на центрифугах твердый отход применяют для разрыхления и мульчирования почвы, а также для приготовления почвогрунтов.