

УДК 633.791:631.535:631.811.982:631.589.3

## **ВЛИЯНИЕ СУБСТРАТА И КОНЦЕНТРАЦИИ АУКСИНА НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЧЕРЕНКОВАНИЯ ОЗДОРОВЛЕННЫХ IN VITRO РАСТЕНИЙ ХМЕЛЯ НА СТАДИИ АДАПТАЦИИ EX VITRO**

**О.А. Гашенко, М.С. Кастрицкая, Н.В. Кухарчик**

*Институт плодоводства,  
аг. Самохваловичи, Беларусь*

### **ВВЕДЕНИЕ**

В хмелеводстве к посадочному материалу предъявляют особые требования. Изреженность хмельников наблюдается, в основном, в первый год после посадки, частичная причина этого – недоброкачественный посадочный материал. Посадка стандартными саженцами обеспечивает стопроцентную густоту стояния растений, урожайность хмеля в первый же год жизни может достичь до 5–7 ц/га

и при высокой агротехнике возделывания в течение всего периода эксплуатации не снижаться ниже 10 ц/га [1].

Хмель относится к культурам с небольшим коэффициентом размножения. Со стандартного куста хмеля можно заготовить до 4 стеблевых черенков или 12–13 тыс. шт./га, в т.ч. 9 тыс. шт./га – стандартных. Для ускоренного размножения хмеля используют метод выращивания саженцев из зеленых черенков. Суть метода в том, что заготовленные из зеленых побегов черенки укореняются при высокой влажности почвы и воздуха под пленочными укрытиями в течение трех недель. В дальнейшем укорененные черенки растут и развиваются до формирования саженцев в условиях открытого грунта. При таком способе выращивания посадочного материала вегетационный период растений после начала корнеобразования черенков составляет всего лишь 80–85 дней. В этот короткий период жизни саженцы не успевают формироваться до стандарта, у многих саженцев отсутствуют почки возобновления. Саженцы с хорошо развитой корневой системой, но без почек возобновлений при пересадке на хмельники плохо приживаются [1].

Наиболее полно можно реализовать потенциал бесполого размножения хмеля путем микроклонального размножения. Этот метод позволяет в сравнительно короткое время и в ограниченном пространстве получить многочисленное потомство и во много раз увеличить коэффициент размножения. Меристемы помещают в стерильные условия на подобранную для каждого вида растений и его сортов питательную среду, культивируют при высокой интенсивности освещения (2,5–3 тыс. лк) и оптимальной для роста температуре (+21...+23 °С). Этот способ в настоящее время перенесен в производство, что позволяет получать большое количество саженцев от одного растения. Несмотря на то, что метод *in vitro* дорогостоящий, он позволяет получать оздоровленный материал от пораженных вирусными, бактериальными и грибными болезнями растений [2, 3–6], а также возможность получать в больших количествах вегетативное потомство трудно размножаемых в обычных условиях сортов и видов растений [1, 7]. Посадочный материал следует заготавливать от типичных для каждого сорта растений [5].

Перенос выращенных в пробирках растений в нестерильные условия сопровождается интенсивным ростом и это позволяет еще в зимних условиях ускоренно размножать адаптируемые растения зелеными черенками. Однако следует учитывать, что в зимний период процесс корнеобразования заторможен и без применения ауксинов, укореняемость зеленых черенков невысокая. Для стимуляции корнеобразования, черенки можно обработать 3-индолилуксусной кислотой (60 мг/л) в течение 24 ч, при этом укореняемость зеленых черенков в зимних условиях достигает 90 %. Приживаемости зеленых черенков и выходу нормальных саженцев способствует также увеличение продолжительности светового дня (не менее 16 ч) [8].

Цель исследования – оценка влияния типа субстрата (агроперлит, БИОНА-311) и концентрации индолилмасляной кислоты (0, 10, 100 мг/л) на эффективность черенкования оздоровленных *in vitro* растений хмеля на стадии адаптации *ex vitro*.

## МЕТОДИКА И МАТЕРИАЛЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводили в отделе биотехнологии РУП «Институт плодородства». Материалом для исследований служили черенки адаптированных растений-регенерантов хмеля сортов Рита, Tettnanger, Vor.

*Адаптация в условиях ex vitro.* Процесс адаптации растений-регенерантов после культуры in vitro проводили в два этапа:

1-й этап адаптации ex vitro (длительность 14–20 дней). Растения, укорененные в условиях in vitro, при адаптации высаживали на субстраты БИОНА-112 и агроперлит.

2-й этап адаптации (постадаптация) проводили на торфяном субстрате (длительность 35–45 дней).

В результате проведенной работы был получен посадочный материал хмеля с закрытой корневой системой, который в дальнейшем использовался для зеленого черенкования.

Для укоренения зеленых черенков в условиях ex vitro в качестве субстратов использовали агроперлит и БИОНА–311. Черенки высаживали в мини-парники 450×200×70. На каждый вид субстрата высаживали черенки, не обработанные раствором ИМК (контроль) и предварительно погруженные базальной частью в раствор ИМК в концентрации 10 мг/л (экспозиция 24 часа) и 100 мг/л (экспозиция 10 с). Условия укоренения: освещение – 2,5–3 тыс. лк, температура – +21...+23 °С, фотопериод – 16/8 ч. Длительность укоренения – 6 недель. Повторность опыта трехкратная, количество черенков на повторность – 10 шт.

Влияние типа субстрата и концентрации ИМК на морфологическое развитие черенков хмеля оценивали по следующим показателям: доля укоренившихся черенков (%), длина прироста (см), среднее количество корней (шт.), средняя длина корней (см).

Показатель коэффициент развития корневой системы вычисляли по формуле

$$N_{\text{корней}} \cdot L_{\text{корней}} / 10,$$

где  $N_{\text{корней}}$  – число корней на растение-регенерант;  $L_{\text{корней}}$  – средняя длина корней [9].

Статистическую обработку данных проводили в программе *Statistica 7.0*, используя ANOVA, двухфакторный анализ (первый фактор – тип субстрата, второй фактор – концентрация ИМК), критерий Дункана ( $p < 0,05$ ) для сравнения средних значений ( $n = 3$ ). Построение графиков проводили в программе *Microsoft Excel*.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Сорт Рита.** Получены хорошие результаты в контрольных вариантах опыта по укоренению черенков сорта Рита на обоих типах субстрата без использования ИМК (93,33 % и 96,67 %). Применение ИМК в концентрации 100 мг/л на БИОНА-311 увеличило выход укоренившихся черенков до 100 %. Однако, при использовании ИМК в низкой концентрации 10 мг/л (экспозиция 24 часа) доля укоренившихся черенков на БИОНА-311 была низкой (83,33 %) и достоверно отличалась от всех вариантов опыта. При укоренении на агроперлите влияние ИМК на долю укорененных черенков не выявлено (рис. 1). Вероятно, растения

хмеля сорта Рита обладают высоким уровнем эндогенных ауксинов, что способствует хорошему ризогенезу зеленых черенков без использования экзогенных регуляторов.

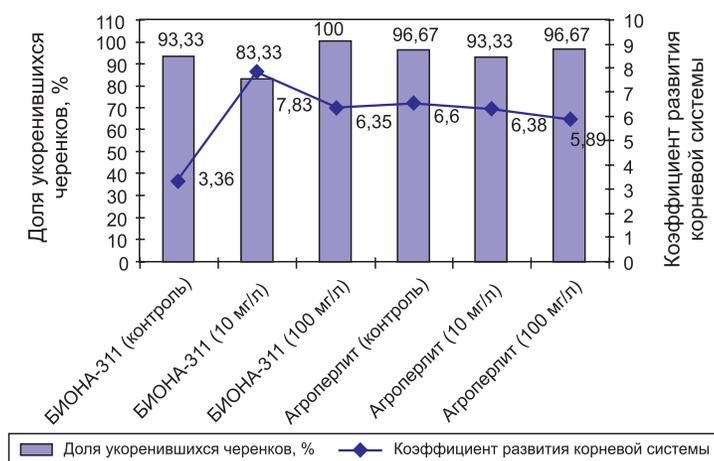


Рис. 1. Эффективность укоренения черенков хмеля сорта Рита

Выявлены отличия в морфологическом развитии черенков данного сорта в разных вариантах опыта. Установлено достоверное влияние типа субстрата ( $p < 0,001$ ,  $p < 0,05$ ), концентрации ИМК ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,001$ ) и двух факторов вместе ( $p < 0,01$ ) на длину прироста черенков и среднее количество корней. Ни один из выше указанных факторов не оказывал влияния на среднюю длину корней.

Использование ИМК стимулировало закладку корневых зачатков, что отчетливо видно на субстрате БИОНА-311, где при использовании ИМК (10 и 100 мг/л) среднее количество корней на черенок увеличилось на 19,33 и 9,67 шт. соответственно по сравнению с контролем (10 шт.). На агроперлите данная тенденция сохраняется, но достоверной разницы по вариантам опыта уже нет. Средняя длина корней у черенков достоверно не отличалась по вариантам опыта и варьировала от  $2,33 \pm 0,54$  до  $3,53 \pm 0,24$  см (табл. 1). В целом коэффициент развития корневой системы у черенков сорта Рита во всех вариантах опыта, за исключением контрольного варианта на субстрате БИОНА-311 (3,36), был высокий – от 5,89 до 7,83.

Таблица 1

**Влияние концентрации ИМК и типа субстрата на морфологические показатели развития зеленых черенков сорта Рита (сред. знач.  $\pm$  станд. ошибка)**

Субстрат	Концентрация ИМК, мг/л	Длина прироста, см	Среднее количество корней, шт.	Средняя длина корней, см
БИОНА-311	0 (контроль)	$5,33 \pm 0,28$ b	$10,00 \pm 0,58$ d	$3,53 \pm 0,24$ a
	10	$4,90 \pm 0,46$ b	$29,33 \pm 3,28$ c	$2,67 \pm 0,34$ a
	100	$3,73 \pm 0,69$ ab	$19,67 \pm 1,33$ a	$3,27 \pm 0,49$ a
Агроперлит	0 (контроль)	$2,43 \pm 0,47$ a	$20,33 \pm 0,33$ ab	$3,20 \pm 0,25$ a
	10	$0,13 \pm 0,13$ c	$25,67 \pm 2,33$ bc	$2,50 \pm 0,06$ a
	100	$2,70 \pm 0,70$ a	$24,00 \pm 1,00$ abc	$2,33 \pm 0,54$ a

Примечание. Данные с одинаковыми буквами по столбцам статистически не различаются при  $p < 0,05$  (критерий Дункана).

Преимуществом микроукоренения на субстрате БИОНА-311 черенков сорта Рита является интенсивное развитие их наземной части. Так средняя длина прироста черенков на ионообменном субстрате варьировала от  $3,73 \pm 0,69$  до  $5,33 \pm 0,28$  см, тогда как на агроперлите от  $0,13 \pm 0,13$  до  $2,70 \pm 0,70$  см, что можно объяснить высоким содержанием макро- и микроэлементов в ионообменном субстрате по сравнению с «бедным» агроперлитом.

**Сорт Tettnanger.** Процент укоренения черенков сорта Tettnanger на субстратах БИОНА-311 и агроперлит без использования ИМК (контроль) составил 86,67 % и 80,0 %. Использование ИМК в концентрации 10 мг/л (экспозиция 24 часа) вело к снижению доли укоренившихся черенков до 76,67 % на субстрате БИОНА-311 и до 60,0 % на субстрате агроперлит, хотя дальнейшее увеличение концентрации до 100 мг/л увеличивало этот показатель до 96,67 % и 86,67 % соответственно (рис. 2).

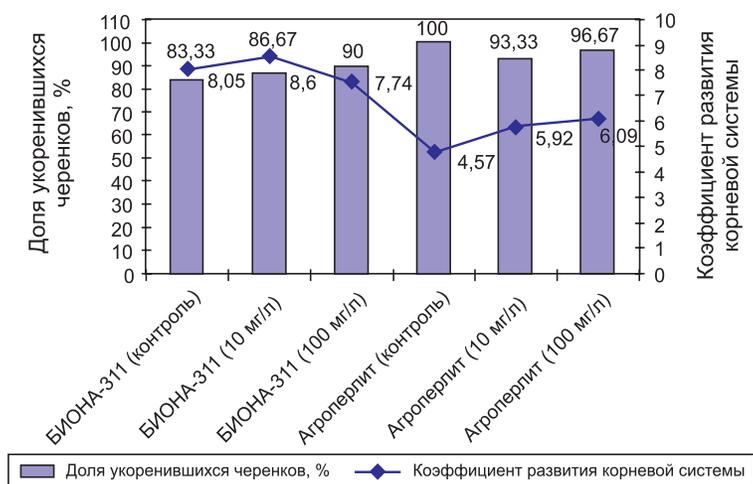


Рис. 2. Эффективность укоренения черенков хмеля сорта Tettnanger

Коэффициент развития корневой системы черенков во всех вариантах опыта был высокий (не менее 4,09) и достоверно не отличался по вариантам опыта (рис. 2). Использование субстрата БИОНА-311 не вело к интенсивному развитию корневой системы черенков (образование большого количества корней и удлинение корневой системы) по сравнению с агроперлитом, хотя в литературе отмечается, что ионообменные субстраты положительно влияют на развитие корневой системы, что связано с труднодоступностью элементов минерального питания, содержащихся в частичках ионита [10]. Но, следует отметить интенсивное развитие наземной части черенков на ионообменном субстрате. Прирост черенков в контрольном варианте составил  $4,97 \pm 0,64$  см и при использовании ИМК в высокой концентрации в качестве корнестимулятора —  $5,80 \pm 0,50$  см, что достоверно превышало прирост черенков в вариантах опыта на агроперлите как в контроле ( $1,93 \pm 0,55$  см), так и с использованием ИМК в двух концентрациях ( $1,33 \pm 0,29$ ;  $1,80 \pm 0,38$ ) (табл. 2).

Таблица 2

**Влияние концентрации ИМК и типа субстрата на морфологические показатели развития зеленых черенков сорта Tettnanger (сред. знач. ± станд. ошибка)**

Субстрат	Концентрация ИМК, мг/л	Длина прироста, см	Среднее количество корней, шт.	Средняя длина корней, см
БИОНА-311	0 (контроль)	4,97±0,64 <sup>b</sup>	12,33±1,86 <sup>a</sup>	3,67±0,29 <sup>a</sup>
	10	2,63±0,37 <sup>a</sup>	22,33±1,76 <sup>b</sup>	2,87±0,26 <sup>a</sup>
	100	5,80±0,50 <sup>b</sup>	15,00±0,58 <sup>a</sup>	4,03±0,41 <sup>a</sup>
Агроперлит	0 (контроль)	1,93±0,55 <sup>a</sup>	12,33±1,33 <sup>a</sup>	3,30±0,36 <sup>a</sup>
	10	1,33±0,29 <sup>a</sup>	16,00±1,53 <sup>a</sup>	3,00±0,52 <sup>a</sup>
	100	1,80±0,38 <sup>a</sup>	12,33±1,20 <sup>a</sup>	3,47±0,18 <sup>a</sup>

Примечание. Данные с одинаковыми буквами по столбцам статистически не различаются при  $p < 0,05$  (критерий Дункана).

**Сорт Вог.** Получены хорошие результаты и по укоренению черенков хмеля сорта Вог. На субстрате БИОНА-311 доля укоренившихся черенков составила от 83,33 % до 90,00 %. Максимальный выход укорененных черенков наблюдали при использовании субстрата агроперлит в сочетании как с обработкой, так и без обработки черенков ИМК (93,33–100 %) (рис. 3).

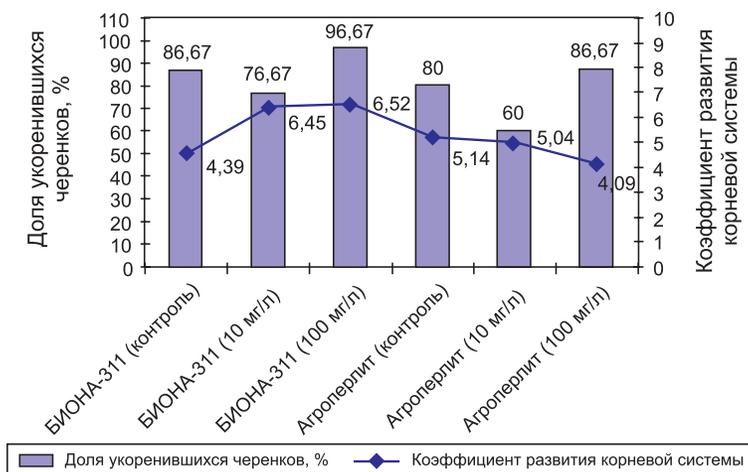


Рис. 3. Эффективность укоренения черенков хмеля сорта Вог

Установлено достоверное влияние типа субстрата ( $p < 0,001$ ) на длину прироста и среднюю длину корней черенков сорта Вог, а также достоверное влияние оказал тип субстрата ( $p < 0,001$ ), концентрация ИМК ( $p < 0,001$ ) и совместное действие двух факторов ( $p < 0,05$ ) на количество корней черенков сорта Вог.

У хмеля сорта Вог, как и у сортов Рита и Tettnanger, наблюдается интенсивное развитие наземной части черенков при укоренении на субстрате БИОНА-311 (прирост черенков составил от  $4,10 \pm 0,61$  до  $4,97 \pm 0,79$  см). Прирост черенков на агроперлите был достоверно ниже, чем на ионообменном субстрате, всего  $0,07 \pm 0,07 - 0,43 \pm 0,03$  см в зависимости от варианта опыта. У сорта Вог ионообменный субстрат положительно влиял на рост корневой системы (средняя длина корней в 2 раза больше, чем на агроперлите), что в целом вылилось в высокие

показатели коэффициента развития корневой системы черенков на данном типе субстрата (от 7,74 до 8,60). Коэффициент развития корневой системы черенков на агроперлите не превысил 6,09 (табл. 3).

Таблица 3

**Влияние концентрации ИМК и типа субстрата на морфологические показатели развития зеленых черенков сорта Вог (сред. знач.±станд. ошибка)**

Субстрат	Концентрация ИМК, мг/л	Длина прироста, см	Среднее количество корней, шт.	Средняя длина корней, см
БИОНА-311	0 (контроль)	4,97±0,39 <sup>b</sup>	18,67±0,67 <sup>ab</sup>	4,03±0,09 <sup>b</sup>
	10	4,10±0,61 <sup>b</sup>	20,33±1,20 <sup>b</sup>	4,33±0,49 <sup>b</sup>
	100	4,97±0,79 <sup>b</sup>	15,67±1,45 <sup>a</sup>	4,77±0,64 <sup>b</sup>
Агроперлит	0 (контроль)	0,13±0,13 <sup>a</sup>	17,33±1,20 <sup>ab</sup>	2,67±0,12 <sup>a</sup>
	10	0,07±0,07 <sup>a</sup>	28,00±1,53 <sup>c</sup>	2,13±0,22 <sup>a</sup>
	100	0,43±0,03 <sup>a</sup>	24,67±1,20 <sup>c</sup>	2,43±0,38 <sup>a</sup>

*Примечание.* Данные с одинаковыми буквами по столбцам статистически не различаются при  $p < 0,05$  (критерий Дункана).

Проведена оценка стоимости укорененных черенков хмеля, полученных с оздоровленных в культуре *in vitro* и адаптированных растений, при использовании ионообменного субстрата БИОНА-311 и агроперлита (табл. 4). В расчете учитывалась эффективность черенкования оздоровленных *in vitro* растений хмеля на стадии адаптации *ex vitro* составляющая, в среднем по субстратам, 90,19 %, а также стоимость адаптированного растения и количество получаемых с него черенков, установленные в предыдущих исследованиях.

Таблица 4

**Расчет себестоимости черенкования оздоровленных *in vitro* растений хмеля на стадии адаптации *ex vitro* (за 2016 г.)**

Статья затрат	Единицы измерения	Количество	Стоимость единицы, руб.	Итого, руб.
Зар. плата мл. науч. сотрудника (с начислениями)	месяцев	1,5	341,58	512,37
Электроэнергия (на 1000 растений)	кВт	315	0,22223	70,00245
Амортизационные отчисления	месяцев	1,5	15,0	22,5
Водоснабжение, водоотведение	куб. м	4	1,2804	5,1216
	куб. м	4	1,0932	4,3728
Стоимость 1-го адаптированного растения	шт.	150	3,0	450,00
Стоимость субстратов для черенкования на 1000 черенков	кг	14 БИОНА-311	39,0	546,00
	л	30 Агроперлит	1,25	37,50
Расходные материалы				200,00
Стоимость укоренения 1000 черенков хмеля при 90,19 % приживаемости (в среднем по субстратам)			БИОНА-311	1987,96
			Агроперлит	1429,58
Накладные расходы 40%			БИОНА-311	795,18
			Агроперлит	571,83
Стоимость 1 растения			БИОНА-311	2,78
			Агроперлит	2,00

Таким образом, в ходе проведенных исследований видно, что стоимость адаптированного растения (использованного для черенкования) составляет 3,0 белорусских рубля, а на укоренение 1 черенка было затрачено 2,78 белорусских рублей (на субстрате БИОНА-311) и 2,0 рубля (на агроперлите). Следовательно, стоимость 1 черенка укорененного на субстрате БИОНА-311 уменьшается на 7,3 %, а на агроперлите – 33,3 %. Следует отметить, что субстрат БИОНА-311 является дорогостоящим по сравнению с агроперлитом, и использование последнего является экономически обоснованным. Эффективность черенкования такой культуры как хмель, после размножения в культуре *in vitro*, позволяет ускорить процесс получения оздоровленного посадочного материала и снизить его стоимость при сохранении фитосанитарного состояния.

## ВЫВОДЫ

1. Показана высокая укореняемость зеленых черенков хмеля, полученных от растений, выращенных в культуре *in vitro*, сортов Рита, Tettnanger, Бог на субстратах БИОНА-311 и агроперлит (от 60 % до 100 %). Укоренение зеленых черенков хмеля у всех сортов без применения ИМК, в качестве стимулятора ризогенеза, было не ниже 80 %, что может свидетельствовать о высоком уровне эндогенных ауксинов у растений хмеля этих сортов.

2. Преимуществом использования субстрата БИОНА-311 при укоренении зеленых черенков хмеля сортов Рита, Tettnanger, Бог, по сравнению с агроперлитом, является интенсивное развитие наземной части черенков. Однозначного влияния ионообменного субстрата на развитие корневой системы черенков, по сравнению с агроперлитом, не наблюдалось.

3. Использование субстрата агроперлит для черенкования адаптированных растений хмеля позволяет ускорить процесс получения оздоровленного посадочного материала и снизить его стоимость.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Гаврилова, С.Е.* Эффективность применения биопрепаратов при выращивании посадочного материала хмеля / С.Е. Гаврилова // Актуальные вопросы развития аграрной науки в современных экономических условиях: материалы IV–й Междунар. научно-практич. конф., Волгоград, 22–23 мая 2015 г. / ФГБОУ высшего профессионального образования «Волгоградский государственный аграрный университет»; редкол.: В.П. Зволинский (гл. ред.) [и др.]. – Волгоград, 2015. – С. 82–85.

2. *Высоцкий, В.А.* Использование биотехнологических методов при оздоровлении посадочного материала / В.А. Высоцкий // Актуальные вопросы теории и практики защиты плодовых и ягодных культур от вредных организмов в условиях многоукладности сельского хозяйства: тезисы докладов Всероссийского совещания, Москва, Загорье, 3–6 мар. 1998 г. / Рос. Акад. сельскохозяйственных наук, ВСТИСиП; редкол.: В.И. Кашин [и др.]. – М., 1998. – С. 74–76.

3. Микроклональное размножение и производство посадочного материала плодовых и ягодных культур высших категорий качества / М.И. Джигадло [и др.]. // *The Biology of Plant Cells In Vitro and Biotechnology: 8<sup>th</sup> Int. Conf.*, Saratov,

Russia, 9–13 Sept. 2003 / Российская Академия наук, Ин-т физиологии растений им. К.А. Тимирязева, Ин-т биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, саратовский гос. ун-т, Об-во физиологов растений России; редкол.: А.М. Носов, О.И. Соколов, А.В. Носов. – Саратов, 2003. – С. 108–109.

4. *Кашин, В.И.* Перспективы использования биотехнологических приемов в создании новых высокоадаптивных форм плодовых и ягодных растений / В.И. Кашин, В.А. Высоцкий // Использование биотехнологических методов для решения генетико-селекционных проблем: сборник докладов и сообщений XVIII Мичуринских чтений, Мичуринск, 27–29 окт. 1997г. / Росс. акад. наук, Всерос. науч.-исслед. ин-т генетики и селекции плод. раст. им. И.В. Мичурина; редкол.: Н.И. Савельев (гл. ред.) [и др.]. – Мичуринск, 1998. – С. 8–14.

5. *Милоста, Г.М.* Агробиологические основы выращивания хмеля в Республике Беларусь: монография / Г.М. Милоста, В.В. Лапа. – Гродно: ГГАУ, 2010. – 286 с.

6. *Тюленев, В.М.* Состояние и перспективы применения биотехнологических методов в селекции плодовых растений / В.М. Тюленев // Использование биотехнологических методов для решения генетико-селекционных проблем: сборник докладов и сообщений XVIII Мичуринских чтений, Мичуринск, 27–29 окт. 1997г. / Росс. акад. наук, Всерос. науч.-исслед. ин-т генетики и селекции плод. раст. им. И.В. Мичурина; редкол.: Савельев Н.И. (гл. ред.) [и др.]. – Мичуринск, 1998. – С. 3–8.

7. Клеточная технология в сельскохозяйственной науке / Г.С. Муромцев [и др.]. // Основы сельскохозяйственной биологии. – М.: Агропромиздат, 1990. – Гл. 2. – С. 154–235.

8. *Либацкий, Е.П.* Хмелеводство / Е.П. Либацкий // Учебники и учеб. пособия для подгот. сельхоз. кадров массовых профессий; под ред. Е.В. Колесникова. – М.: Колос, 1984. – 287 с.

9. *Hujun, J.* The study of meristem–tip culture of peach (*Prunuspersica*L.) / J. Hujun, P. Jishu, M. Xinfu // ActaAgr.Univ. Pekin. – 1993. – Vol. 19, № 1. – P. 49–52.

10. *Солдатов, В.С.* Ионитные почвы / В.С. Солдатов, Н.Г. Перышкина, Р.П. Хорошко. – Минск: Наука и техника, 1978. – 172 с.

## INFLUENCE OF SUBSTRATE AND AUXIN CONCENTRATION ON CUTTING EFFICIENCY OF IN VITRO DERIVED VIRUS-FREE HOP PLANTS AT EX VITRO ADAPTATION STAGE

O.A. Hashenko, M.S. Kastrytskaya, N.V. Kukharchyk

### Summary

The research purpose was to estimate the influence of substrate (agroperlite, BIONA-311) and indolylbutyric acid concentration (IBA 0, 10, 100 mg/l) on cutting efficiency of in vitro derived virus-free hop plants at ex vitro adaptation stage. The comparative analysis of cutting rooting of three hop cultivars on perlite and BIONA-311 has shown that amount of rooted cuttings on the studied substrates had varied from 60 % to 100 %. The best substrates and type of auxin treatment were chosen for three cultivars using the complex of parameters (percent of cutting rooting, quantity of roots, length of roots and stems, technological effectiveness of process).

Поступила 16.03.2017