

УДК 634.1/7:581.1

Л. В. Ташматова, к.с.-х.н.
В. Е. Джафарова, к.с.-х.н.
О. В. Мацнева, н.с.



ФГБНУ ВНИИ селекции плодовых культур, Россия, Орел, info@vniispk.ru

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРИЕМОВ БИОТЕХНОЛОГИИ В САДОВОДСТВЕ

Аннотация

В статье рассмотрено применение биотехнологических приемов в современном садоводстве. Описаны особенности микроразмножения семечковых и ягодных культур в зависимости от генетических особенностей и состава питательных сред. Показана принципиальная возможность применения в селекционном процессе таких приемов как полиплоидизация в условиях *in vitro*, каллусо- и морфогенез, культура зародышей и создание коллекций ценных форм.

Ключевые слова: культура *in vitro*, клональное микроразмножение, микропрививка, элиситоры, полиплоидия, культура зародышей, культура пыльников, депонирование

UDC 634.1/7:581.1

L. V. Tashmatova, candidate of agricultural sciences
V. E. Dzhafarova, candidate of agricultural sciences
O. V. Matzneva, research worker

Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding, Russia, Orel, info@vniispk.ru

BIOTECHNOLOGY METHOD APPLICATION IN HORTICULTURE

Abstract

The application of biotechnological methods in the up-to-date horticulture is under consideration. The peculiarities of the micro propagation of pome and berry crops are described relative to genetic features and nutrient medium composition. Principal possibility of using such methods as polyploidization *in vitro* conditions, callusogenesis and morphogenesis, embryo culture and collection creation of valuable forms is shown.

Key words: *in vitro* culture, clonal micro propagation, micro grafting, elicitors, polyploidy, embryo culture, anther culture, deposition

Последние десятилетия характеризуются бурным развитием биотехнологии растений. Биотехнологические приемы получили широкое применение в садоводстве и питомниководстве, в селекционном процессе и при создании коллекций ценных форм. Преимущества данных приемов давно уже известны и среди них можно выделить следующие:

- получение оздоровленного посадочного материала;
- быстрое получение вегетативного потомства трудноразмножаемых форм;
- получение генетически однородного материала;

- работа в течение всего года;
- получение гибридных семян из зародышей при отдаленной гибридизации;
- работа на полиплоидном уровне;
- длительное хранение материала в условиях *in vitro*.

Клональное микроразмножение является одним из биотехнологических приемов, который в полной мере показывает потенциал растений к размножению [2].

Выделяют несколько моделей клонального микроразмножения:

1. индукция развития пазушных меристем;
2. развитие адвентивных побегов из тканей экспланта;
3. индукция органогенеза или соматического эмбриогенеза из каллуса тканей растений.

Первая модель размножения заслуживает особого внимания, как наиболее распространенной. Она основана на снятии апикального доминирования с помощью препаратов с цитокининовой активностью – БАП, кинетин.

В ходе наших исследований было отмечено, что для ягодных культур требуются низкие концентрации БАП. Так для ежевики с различной формой роста (стелющиеся, пряморослые и промежуточные) повышение концентрации БАП до 2,0 мг/л отрицательно сказалось на развитии микропобегов в целом. Оптимальная концентрация – 1,0 мг/л. Для размножения в культуре тканей земляники садовой оптимальные концентрации цитокинина от 0,5...0,8 мг/л.

У таких многолетних культур, как яблоня и груша напротив лучше использовать повышенные концентрации БАП [7]. У различных сортов груши большие концентрации БАП (2,0...3,0 мг/л) способствуют повышению коэффициента размножения, что очень важно при массовом размножении [11,13], хотя данное количество цитокинина снижает длину побегов, делая их непригодными для укоренения, так как мелкие побеги хуже образуют корни и в дальнейшем плохо переносят адаптацию в нестерильных условиях. Однако, если ставится задача получения длинных побегов для укоренения концентрацию БАП необходимо снизить до 1,0 мг/л.

Для яблони оптимальная для пролиферации концентрация цитокинина – 1,0...3,0 мг/л в зависимости от сорта и этапа культивирования [5].

Одним из важных факторов, который обеспечивает успешное культивирование растений в культуре *in vitro*, является состав питательных сред. Для пассирования плодовых и ягодных культур часто рекомендуют среды Мурасиге-Скуга, Нича, Гамборга, Андерсена, Ллойда-Маккауна и другие.

В наших исследованиях для культивирования груши были использованы среды Мурасиге-Скуга, Гамборга, Ли и де Фоссарда и Ллойда-Маккауна. Активная регенерация эксплантов груши происходила на средах Мурасиге-Скуга и Ли и де Фоссарда [11]. На последней отмечали очень быстрое развитие микропобегов и культивирование на ней более трех недель часто вызывало витрификацию. Но быстрая пересадка побегов на свежую среду или на среду Мурасиге-Скуга исключала их возможную гибель.

Для пролиферации сортов яблони с геном устойчивости к парше было испытано две среды – Мурасиге-Скуга и Фардзиновой модифицированной для груши. Использование последней среды способствовало увеличению коэффициента размножения до 7 [5].

Считается, что среда МС является универсальной для многих культур или сортов, однако эксперимент показал, что для увеличения коэффициента размножения у ежевики не зависимо от формы роста лучше использовать среду Ли и де Фоссарда [14]. Данная среда обеспечивала и образование большего числа почек и побегов и способствовала росту побегов.

Таким образом, мы видим, что состав используемой среды специфичен для каждой отдельной культуры.

На этапе укоренения у многих культур, особенно у семечковых, возникают трудности, связанные с формированием полноценной корневой системы, обеспечивающей приживаемость микрорастений на этапе адаптации.

В лаборатории в ходе исследований были испытаны различные стимуляторы корнеобразования: ИМК, НУК и ИУК и различные способы аппликации.

У сортов груши хорошие результаты укоренения показало применение НУК (1,0 мг/л), НУК+ИУК (по 0,5 мг/л) при введении в состав среды, а также замачивание в растворе ИМК (50 мг/л) в течение 10 секунд [12].

Для яблони сорта Болотовское лучшие результаты укоренения показало добавление в питательную среду ИМК в концентрации 5,0 мг/л [5].

У сортов ежевики с различной формой роста при введении в питательную среду ИМК в концентрации 0,5...1,0 мг/л укоренение достигало 90...100%.

Для увеличения выхода растений трудноукореняющихся форм можно использовать метод микропрививки привоя из *in vitro* на семенной подвой. Для лучшего срастания привоя и подвоя на срез последнего капали раствором аскорбиновой кислоты. Это увеличивало приживаемость до 90% [9].

Еще одним сложным вопросом, особенно для семечковых культур остается процесс адаптации микрорастений к нестерильным условиям. Одним из способов повышения приживаемости микрорастений является применение элиситоров, которые обладают иммуномоделирующим свойством и вызывают системную устойчивость растений к неблагоприятным факторам [1]. Использование препаратов Эль-1 и Экост 1/3 повышает приживаемость микрорастений сортов груши до 69%.

По мнению ряда авторов перспективным направлением в биотехнологии является каллусо- и морфогенез в культуре пыльников *in vitro* [8]. В лаборатории был отработан каллусогенез у четырех сортов яблони. Исследования показали, что частота этого процесс определяется генотипом. Наибольшим этот показатель был у сортов Свежесть и Юбилей Москвы [3].

Одним из приемов биотехнологии является культура изолированных зародышей, позволяющий устранить негативные последствия отдаленной гибридизации. С помощью данного приема в лаборатории проведены исследования по культивированию апомиктических зародышей *Pyrus communis* × *Chaenomeles japonica*. Основные усилия в работе были направлены на подробное изучение всех этапов развития зародышей от несостоявшегося скрещивания груши с хеномелесом японским. В результате этих исследований была отработана методика получения с помощью методов *in vitro* апомиктических растений (гаплоидов), представляющих определенный интерес для дальнейшей селекционной работы с грушей [4].

Большой интерес представляет вопрос полиплоидизации. Среди полиплоидов яблони наибольшей популярностью пользуются триплоиды, поскольку они отличаются хорошим вкусом плодов, регулярным плодоношением и высокой адаптивностью. Исходными формами для получения триплоидов являются тетраплоиды, набор которых ограничен. Успехи в получении полиплоидов овощных и декоративных культур в культуре *in vitro* [6] показывают возможность получения таковых и у плодовых растений. Материалом для полиплоидизации служат апикальные и адвентивные почки, на которые воздействовали раствором колхицина [5].

Еще одним перспективным приемом биотехнологии является создание коллекций ценных форм растений. Наиболее широко используют способ хранения в условиях замедленного роста (депонирование). Исследования проведенные в

лаборатории показали, что при замене сахарозы на манит в концентрации 5 г/л и сокращении в 4 раза содержания в питательной среде Мурасиге-Скуга макро- и микросолей позволяло сохранить жизнеспособность микропобегов груши до 14...16 месяцев. Депонирование проводили в условиях холодильной камеры при температуре 2...3°C. И после пересадки на новую среду и перемещения в светокomнату микропобеги возобновляли рост и образование дополнительных побегов и почек [9].

Таким образом, использование биотехнологических приемов при создании, размножении и оздоровлении ценных генотипов растений, сохранении генетических коллекций позволяет повысить эффективность науки и производства, что ведет к решению одной из задач сельскохозяйственной науки – получению высококачественного посадочного материала.

Литература

1. Белякова, Л. В. Применение элиситоров при клональном микроразмножении земляники / Л. В. Белякова, В. А. Высоцкий, Л. В. Алексеенко // Плодоводство и ягодоводство России. – 2011. – Т. XXVI. – С. 194-200.
2. Высоцкий, В. А. Биотехнологические приемы в современном садоводстве / В. А. Высоцкий // Садоводство и виноградарство. – 2011. – №2. – С.2-3.
3. Джафарова, В. Е. Биотехнологические методы в селекции плодовых культур ГНУ ВНИИСПК / В. Е. Джафарова, Л. В. Ташматова // Совершенствование сортимента и технологий возделывания плодовых культур: сб. науч. тр. – Орел: ВНИИСПК, 2010. – С.70-72.
4. Джафарова, В. Е. Некоторые особенности апомиктических растений *Rugus communis* × *Chaenomeles japonica* в условиях *in vitro* [Электронный ресурс] / В. Е. Джафарова, Л. В. Голышкин, Е. А. Долматов, Л. В. Ташматова // Современное садоводство – Contemporary horticulture. – 2013, – №1. – С.53-59. URL: <http://vniispk.ru/news/zhurnal/2013/003.pdf>
5. Джафарова, В. Е. Оценка микроразмножения и индуцирования полиплоидных меристем и форм яблони (*Malus Domestica* Borkh) [Электронный ресурс] / В.Е. Джафарова // Современное садоводство – Contemporary horticulture. – 2015. – №1. URL: <http://vniispk.ru/news/zhurnal/2015/1/13.pdf>
6. Марьяхина, И. Я. Биотехнология получения фертильных форм межвидовых гибридов лука на основе полиплоидизации *in vitro* / И.Я. Марьяхина, И.В. Полумордвинова, В.А. Кокорева, Е.И. Луконина // Состояние и перспективы развития с.-х. биотехнологии. – Москва, 1986. – С. 86-91.
7. Матушкина, О.В. Технология клонального микроразмножения яблони и груши (методические рекомендации) / О. В. Матушкина, И. Н. Пронина. – Мичуринск-научкоград РФ. – 2008. – 32 с.
8. Савельев, Н. И. Каллусо-и морфогенез в культуре пыльников *in vitro* плодовых растений / Н.И. Савельев, О.Я. Олейникова, Н.Ю. Ван-Ункан // Плодоводство и ягодоводство России. – М., 2011. – Т. XXVI. – С. 262 - 268.
9. Ташматова, Л. В. Способ прививки груши микропобегами *in vitro* / Л.В. Ташматова, В.Е. Джафарова // Совершенствование сортимента и технологий возделывания плодовых культур: сб. науч. тр. – Орел: ВНИИСПК, 2010. – С.228-229.
10. Ташматова, Л. В. Длительное сохранение пробирочных растений груши / Л. В. Ташматова // Садівництво. – Київ.: СЕРЖ, 2011 – Вип. 64.
11. Ташматова, Л. В. Размножение и депонирование груши в условиях *in vitro* / Л.В. Ташматова // Плодоводство и ягодоводство России : сб. науч. тр. – М.: ВСТИСП, 2011. – Т. XXVI. – С. 130-137.
12. Ташматова Л. В. Укоренение и адаптация груши в условиях *in vitro* [Электронный ресурс] / Л.В. Ташматова // Современное садоводство – Contemporary horticulture. – 2013. – №1. URL: <http://vniispk.ru/news/zhurnal/2013/003.pdf>

13. Ташматова Л. В. Оптимизация этапов клонального микроразмножения груши / Л. В. Ташматова // Селекция, генетика и сортовая агротехника плодовых культур: сб. науч. статей. – Орел: ВНИИСПК, 2013.

14. Ташматова, Л. В. Особенности клонального микроразмножения ежевики с различной формой роста [Электронный ресурс] / Л.В. Ташматова, Л.А. Грюнер, О.В. Мацнева // Современное садоводство – Contemporary horticulture. – 2014. – №4. – С. 60-63. URL:<http://vniispk.ru/news/zhurnal/2014/4/58.pdf>

References

1. Belyakova L.V., Vysotskiy V.A., Alekseenko L.V. (2011): Elicitors application in clonal micropropagation of strawberry. *Plodovodstvo i yagodovodstvo Rossii (Pomiculture and small fruits culture in Russia)*, **26**: 194-200. (in Russian).

2. Vysotskiy V.A. (2011): Biotechnological methods in up-to-date gardening. *Sadovodstvo i vinogradarstvo (Horticulture and viticulture)*, **26**: 3-10. (in Russian).

3. Dzhafarova V.E., Tashmatova L.V. (2010): Biotechnological methods in fruit breeding of VNIISPК. In: Improvement of assortment and cultivation technologies of fruit crops. Orel, VNIISPК: 70-72. (in Russian).

4. Dzhafarova V.E., Golyshkin L.V., Dolmatov E.A., Tashmatova L.V. (2013): Some features of apomictic plants *Pyrus communis* × *Chaenomeles japonica* *in vitro* conditions. *Sovremennoe sadovodstvo – Contemporary horticulture*, **1**. Available at: <http://journal.vniispk.ru/pdf/2013/1/56.pdf>. (in Russian).

5. Dzhafarova V.E. (2015): Estimation of propagation and inducing of polyploidy meristem and selections of *Malus domestica* Borkh. *Sovremennoe sadovodstvo – Contemporary horticulture*, **1**: 93-99. Available at: <http://journal.vniispk.ru/pdf/2015/1/13.pdf>. (in Russian).

6. Mariyakhina I.Ya., Polumordvinova I.V., Kokoreva V.A., Lukonina E.I. (1986): Biotechnology of obtaining fertile forms of interspecific onion hybrids on the basis of polyploidization *in vitro*. In: State and prospects of the development of agricultural biotechnology. Moscow: 86-91. (in Russian).

7. Matushkina O.V., Pronina I.N. (2008): Technology of clonal apple and pear micropropagation (methodical recommendations). Michurinsk-naukograd RF, VSTISP. (in Russian).

8. Savelev N.I., Oleynikova O.Ya., Van-Unkan N.Yu. (2011): Callogenesis and morphogenesis in fruit plant anthers *in vitro*. *Plodovodstvo i yagodovodstvo Rossii (Pomiculture and small fruits culture in Russia)*, **26**: 262 - 268. (in Russian).

9. Tashmatova L.V., Dzhafarova V.E. (2010): A method of pear grafting with microshoots *in vitro*. In: Improvement of assortment and cultivation technologies of fruit crops. Orel, VNIISPК: 228-229. (in Russian).

10. Tashmatova L.V. (2011): Continuous conservation of test-tubed plants of pear. *Садівництво (Horticulture)*, **64**. (in Russian).

11. Tashmatova L.V. Pear propagation and deposition *in vitro*. *Plodovodstvo i yagodovodstvo Rossii (Pomiculture and small fruits culture in Russia)*, **26**: 130-137. (in Russian).

12. Tashmatova L.V. (2013): Pear rooting and adaptation in culture *in vitro*. *Sovremennoe sadovodstvo – Contemporary horticulture*, **1**. Available at: <http://journal.vniispk.ru/pdf/2013/1/60.pdf>. (in Russian).

13. Tashmatova L.V. (2013): Optimization of stages of pear clonal micropropagation. In: Selection, genetics and variety agrotechnics of fruit crop. Orel, VNIISPК: 53-60. (in Russian).

14. Tashmatova L.V., Gruner L.A., Matzneva O.V. (2014): Features of micro propagation of blackberries having different types of growth. *Sovremennoe sadovodstvo – Contemporary horticulture*, **4**. Available at: <http://journal.vniispk.ru/pdf/2014/4/58.pdf>. (in Russian).