

УДК 581.143.6: 582.717.7: 634.723.1

DOI: 10.31040/2222-8349-2019-0-1-83-88

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ-РЕГЕНЕРАНТОВ СМОРОДИНЫ ЧЕРНОЙ (*RIBES NIGRUM* L.) СОРТОВ БАШКИРСКОЙ СЕЛЕКЦИИ ПРИ ПЕРЕВОДЕ ИЗ *IN VITRO* В *EX VITRO*

© Л.А. Головина, М.М. Ишмуратова

Представлены результаты исследований по оптимизации условий адаптации к *ex vitro* растений-регенерантов смородины черной (*Ribes nigrum* L.) сортов башкирской селекции Караидель и Чишма, полученных в результате клонального микроразмножения *in vitro*. В качестве контроля использован сорт Сеянец Голубки. Для стимуляции ростовых процессов и повышения приживаемости в период адаптации у растений-регенерантов смородины черной (*Ribes nigrum* L.) с низкой жизненностью (длина побега менее 2.0 см) была проведена дополнительная предпосадочная обработка растворами регуляторов роста растений Корневин и Корнерост. Установлено, что растения-регенеранты низкой и высокой жизненности могут эффективно адаптироваться к условиям *ex vitro*. Достигнута 100.0% приживаемость растений-регенерантов с низкими показателями жизненности на фоне применения регуляторов роста. В контроле приживаемость составила 71.4–80.0%. Предпосадочная обработка растений-регенерантов оказала положительное влияние на рост побегов смородины черной, на 21-е сутки адаптационного периода максимальная длина побегов растений-регенерантов отмечена в варианте Корневин у всех исследуемых нами сортов: Сеянец Голубки 2.7±0.2 см, Чишма 2.0±0.1 см, Караидель 2.7±0.3 см. Растения-регенеранты смородины черной (*Ribes nigrum* L.) с высокими показателями жизненности (длина побега более 2.0 см) были высажены в почвенные субстраты, состоящие из комбинации торфа, перлита и вермикулита. На 21-е сутки адаптационного периода отмечена 100.0% приживаемость у всех исследуемых сортов в варианте торф+перлит. При применении лишь торфа (контроль) приживаемость растений-регенерантов составила 80.0%. Показано, что морфометрические показатели растений-регенерантов в зависимости от сорта смородины черной были выше в вариантах субстрата с использованием комбинации торф+перлит и торф+вермикулит. Максимальная длина побегов отмечена в варианте торф+перлит у сортов Сеянец Голубки (4.7±0.2 см) и Караидель (3.3±0.1 см), а у сорта Чишма – в варианте торф+вермикулит (4.2±0.4 см).

Ключевые слова: растения-регенеранты, *ex vitro*, черная смородина, стимуляторы корнеобразования, адаптация растений.

Введение. Заключительным этапом клонального микроразмножения смородины черной (*Ribes nigrum* L.) является адаптация растений-регенерантов к условиям *ex vitro*. Особенностью данного периода является создание оптимальных условий для сохранения жизнеспособности растений при переводе из условий *in vitro* в естественные или *ex vitro*. Одним из критериев успешной адаптации растений являются календарные сроки и физиологическое состояние растений на момент перевода в условия *ex vitro*, подбор субстрата, создание повышенной влажности.

Показано, что для адаптации пробирочных растений необходимы высокая влажность

воздуха 80–100%, оптимальная температура 20–22°C и освещенность 2.5–3 тыс. люкс, фотопериод 16/8 часов [1–5].

Готовность растений к переводу в условия *ex vitro* как правило, определяют [1, 6–9] по морфометрическим показателям – это хорошо развитые растения не менее 2 см с тремя-четырьмя листьями и наличием корней. В качестве субстрата используют различные комбинации торфа, песка и почвы [10]. Кроме этого, используют различные наполнители, такие как вермикулит, перлит. Для предотвращения заражения грибковой инфекцией субстрат предварительно стерилизуют в течение 1–2 ч при температуре 85–90°C [1, 6, 7].

При переводе растений-регенерантов из пробирочных условий в естественные, следует учитывать так же и биологические особенности культуры [12]. Известно [13], что смородина черная является влаголюбивой культурой, требующей стабильной увлажненности почвы, что объясняется формированием корневой системы в верхних горизонтах почвы [14]. Поэтому пересыхание верхнего слоя почвы на данном этапе может вызвать гибель растений-регенерантов смородины черной.

Цель исследования: оптимизация условий адаптации к условиям *ex vitro* растений-регенерантов различной жизнестойкости сортов смородины черной башкирской селекции.

Материалы и методы исследований.

Объектами исследования являлись растения-регенеранты полученные нами ранее в результате клонального микроразмножения *in vitro* [15].

Исследуемые сорта смородины черной: селекции Башкирского НИИСХ [11, 13] – Караидель и Чишма; Сеянец Голубки (выведен в НИИ Сибири им. М.А. Лисавенко), который был взят в качестве контроля.

Полученные в результате клонального микроразмножения *in vitro* растения-регенеранты смородины черной различной жизнестойкости были подготовлены к переводу в почвенный субстрат.

В эксперименте использовали растения-регенеранты высокой жизнестойкости – высота побега от 2.0 см, с не менее тремя-четырьмя листьями и корнями, и растения-регенеранты низкой жизнестойкости – высота побега менее 2.0 см с зачатками корневой системы и/или без нее.

Растения-регенеранты смородины черной вынимали из пробирок, промывали дистиллированной водой для удаления остатков питательной среды.

Для стимуляции развития корневой системы у растений-регенерантов с низкой жизнестойкостью была проведена дополнительная предпосадочная обработка растворами регуляторов роста:

1. Обработка раствором препарата Корневин (4-(индолил-3-ил) масляная кислота 5 г/кг) в разведении 5 г на 100 мл воды с экспозицией 60 мин (концентрация по действующему веществу указана на упаковке препарата).

2. Обработка раствором препарата Корнерост (индолил-3 уксусной кислоты 950 г/кг) в

разведении 5 г на 100 мл воды с экспозицией 60 мин (концентрация по действующему веществу указана на упаковке препарата).

В качестве контроля использовали дистиллированную воду, которой выдерживали растения-регенеранты в течение 60 мин.

После предпосадочной обработки растения-регенеранты высаживали в почвенный субстрат, состоящий из торфа, в стаканчики объемом 0.25 л. В качестве почвенного субстрата для растений-регенерантов с высокой жизнестойкостью использовали несколько комбинации субстрата: 1) торф+перлит в соотношении 3:1; 2) торф+вермикулит в соотношении 3:1; 3) торф (контроль). Далее каждый стаканчик с растением смородины черной помещали в стеклянную банку и накрывали полиэтиленовой крышкой. Температура окружающего воздуха на момент адаптации растений была 22–25°C, освещенность регулировалась при необходимости путем притенения растений. Для поддержания влажности субстрата и воздуха стаканчики с растениями ежедневно поливали обычной водой в течение 14 дней, затем через день.

По прошествии 14 дней после перевода растений-регенерантов в условия *ex vitro*, крышку у банок на время открывали, сначала на 30 мин, затем на 1 час, далее – по возрастающей. Через 21 день полностью снимали крышки с банок, влажность субстрата поддерживали умеренным поливом через день, а влажность воздуха – орошениями из пульверизатора. Начало роста побеговой системы адаптируемых растений-регенерантов свидетельствовало о завершении периода адаптации. После этого стаканчики с растениями-регенерантами извлекали из стеклянных банок.

Результаты и их обсуждение. Согласно ГОСТ Р 54051–2010, максимально допустимая длительность периода адаптации растений ягодных кустарников составляет 30 суток [3]. У растений-регенерантов в условиях *ex vitro* начало роста побегов также свидетельствовало о завершении периода адаптации. У исследуемых нами растений-регенерантов сортов черной смородины через 21 день после перевода из условий *in vitro* в *ex vitro* отмечено начало роста побеговой системы. По истечению периода адаптации проведен анализ состояния растений-регенерантов черной смородины. Внешний вид растений-регенерантов после завершения периода адаптации соответствовал требованиям

ГОСТ Р 54051–2010 [3] – все адаптированные растения смородины черной имели нормальный тургор листьев, без поражения болезнями и вредителями.

Приживаемость и состояние растений-регенерантов сортов смородины черной с применением предпосадочной обработки при переводе из условий *in vitro* в *ex vitro* представлены в табл. 1.

Применение предпосадочной обработки растений-регенерантов растворами регуляторов роста оказало положительное влияние на все исследуемые нами сорта смородины черной.

Приживаемость растений-регенерантов черной смородины в условиях *ex vitro* в зависимости от сорта и варианта опыта составила 71.4–100.0%. При использовании регуляторов роста приживаемость растений-регенерантов смородины черной составила 100.0% у всех исследуемых сортов. В контроле приживаемость растений-регенерантов ниже: Сеянец Голубки 80.0%, Чишма 75.0% и Караидель 71.4%. Доля адаптированных растений-регенерантов, возобновивших вегетацию, зависела от сортовых особенностей культуры.

Т а б л и ц а 1

Приживаемость и морфометрическая характеристика растений-регенерантов смородины черной с низкой жизненностью с использованием предпосадочной обработки регуляторами роста растений на 21-е сутки адаптационного периода

Сорт/Вариант опыта	Приживаемость, %	Длина побега, см		Число нормально развитых листьев, шт.	
		до адаптации	после адаптации	до адаптации	после адаптации
Сеянец Голубки					
Контроль	80.0	1.2±0.1	2.2±0.1	4.7±0.5	5.3±0.5
Корневин	100.0	1.7±0.3	2.7±0.2	4.0±0.5	6.5±0.4
Корнерост	100.0	1.8±0.2	2.7±0.3	4.3±0.9	5.7±0.2
Чишма					
Контроль	75.0	1.6±0.1	2.6±0.2	4.2±0.6	6.2±0.5
Корневин	100.0	1.5±0.1	2.0±0.1	4.8±0.8	6.8±0.8
Корнерост	100.0	1.2±0.1	2.5±0.2	3.7±0.7	5.7±0.6
Караидель					
Контроль	71.4	1.4±0.2	2.6±0.2	4.8±0.3	6.3±0.5
Корневин	100.0	1.6±0.2	2.7±0.3	6.2±0.6	7.2±0.4
Корнерост	100.0	1.2±0.2	2.7±0.2	5.5±0.7	6.0±0.9

Т а б л и ц а 2

Приживаемость и морфометрическая характеристика растений-регенерантов смородины черной с высокой жизненностью на 21-е сутки адаптационного периода

Сорт/Вариант	Приживаемость, %	Длина побега, см		Число нормально развитых листьев, шт.	
		до адаптации	после адаптации	до адаптации	после адаптации
Сеянец Голубки					
торф+перлит	100.0	3.0±0.2	4.7±0.2	10.3±0.7	11.5±0.5
торф+вермикулит	90.0	3.0±0.3	4.2±0.5	10.2±0.5	10.8±0.3
торф (контроль)	80.0	3.2±0.1	3.9±0.2	10.5±0.6	11.3±0.6
Чишма					
торф+перлит	100.0	2.0±0.2	3.7±0.3	8.0±0.4	9.8±0.4
торф+вермикулит	85.7	2.5±0.2	4.2±0.4	12.0±0.6	12.2±0.5
торф (контроль)	80.0	2.1±0.2	3.6±0.4	8.8±0.5	9.2±0.4
Караидель					
торф+перлит	100.0	2.2±0.1	3.3±0.1	9.0±0.6	10.5±0.7
торф+вермикулит	80.0	2.4±0.3	2.9±0.2	8.0±0.6	10.5±0.5
торф (контроль)	80.0	2.6±0.2	3.3±0.2	9.7±0.5	10.2±0.8

Растения-регенеранты с низкой жизненностью, а именно – с высотой побега менее 2.0 см, с неразвитой корневой системой или ее отсутствием часто погибают в период адаптации. Использование предпосадочной обработки растений-регенерантов растворами регуляторов роста было направлено на укоренение растений-регенерантов в условиях *ex vitro*. Вариант с использованием препарата Корневин: получены лучшие результаты на всех исследуемых нами сортах. На 21-е сутки адаптационного периода максимальная длина побегов растений-регенерантов отмечена в варианте с применением препарата Корневин у всех исследуемых нами сортов смородины черной: Сеянец Голубки 2.7±0.2 см, Чишма 2.0±0.1 см, Караидель 2.7±0.3 см. Адаптированные растения-регенеранты смородины имели достаточный жизненный потенциал для дальнейшего развития.

Таким образом, применение регуляторов роста ауксиновой природы при переводе растений-регенерантов из условий *in vitro* в *ex vitro* целесообразно и оказывает позитивное влияние на растения.

Оценка состояния растений-регенерантов с высокой жизненностью сортов смородины черной в условиях *ex vitro* представлена в табл. 2.

В целом можно отметить, что адаптация растений-регенерантов черной смородины прошла успешно, приживаемость растений-регенерантов черной смородины с высокой жизненностью в условиях *ex vitro* была довольно высокой и составила 80.0–100.0%.

Максимальные показатели приживаемости 100.0% отмечены в варианте торф+перлит у всех исследуемых нами сортов. В варианте опыта торф+вермикулит приживаемость растений-регенерантов смородины черной была максимальной у сорта Сеянец Голубки 90.0%.

Наименьший показатель приживаемости у растений-регенерантов черной смородины наблюдался в контроле – 80.0%.

Растения-регенеранты смородины черной с высокой жизненностью были адаптированы к условиям *ex vitro* с применением различных вариантов почвенного субстрата. Рост побегов наблюдался во всех вариантах опыта. При этом на 21-е сутки адаптационного периода у сорта Сеянец Голубки отмечен в варианте торф+перлит наибольший прирост побегов – 4.7±0.2 см, число листьев – 11.5±0.5 шт. У сорта Чишма наибольшие показатели получены в варианте торф+вермикулит: высота побега

4.2±0.4 см, при максимальном числе листьев 12.2±0.5 шт. У сорта Караидель длина побега была максимальной в варианте торф+перлит, а число листьев было примерно одинаково во всех вариантах опыта.

Выводы. 1. Для повышения приживаемости и стимуляции ростовых процессов и в период адаптации у растений-регенерантов смородины черной (*Ribes nigrum* L.) с низкой жизненностью эффективной является дополнительная предпосадочная обработка раствором препарата Корневин. Достигнута 100.0% приживаемость растений-регенерантов. По истечению адаптационного периода максимальная длина побегов растений-регенерантов у всех исследуемых нами сортов смородины черной составила: у сорта Сеянец Голубки – 2.7±0.2 см, у сорта Чишма – 2.0±0.1 см, у сорта Караидель – 2.7±0.3 см.

2. Растения-регенеранты смородины черной (*Ribes nigrum* L.) с показателями высокой жизненности лучше приживались в субстрате торф+перлит. Морфометрические показатели растений-регенерантов смородины черной в зависимости от сорта выше в вариантах с использованием комбинации торф+перлит и торф+вермикулит. Максимальная длина побегов отмечена в варианте торф+перлит у сортов Сеянец Голубки 4.7±0.2 см и Караидель 3.3±0.1 см, у сорта Чишма в варианте торф+вермикулит 4.2±0.4 см.

3. Установлено, что растения-регенеранты смородины черной (*Ribes nigrum* L.) низкой и высокой жизненности возможно эффективно адаптировать к условиям *ex vitro*.

Литература

1. Калинин Ф.Л., Кушнир Г.П., Сарнацкая В.В., Лобов В.П. Технология микроклонального размножения растений. Киев: Наукова думка, 1992. 232 с.
2. Колбанова Е.В., Кухарчик Н.В. Клональное микроразмножение смородины черной сорта Санюта // Плодоводство и ягодоводство России. 2011. Т. 26. С. 222–229.
3. ГОСТ Р 54051-2010 Плодовые и ягодные культуры. Стерильные культуры и адаптированные микрорастения. Технические условия. М.: Стандартинформ. 2011. С. 4–5.
4. Круглова Н.Н., Сельдиминова О.А., Зайцев Д.Ю., Галин И.Р., Зинатуллина А.Е., Анохина Н.С. Развитие андроклинных регенерантов пшеницы в лабораторных условиях *in vitro* и *ex vitro* // Известия Уфимского научного центра РАН. 2017. № 3. С. 21–25.

5. Высоцкий В.А. Биотехнологические приемы в современном садоводстве // Садоводство и виноградарство. 2011. № 2. С. 2–3.

6. Оразбаева Г.К., Хасанов В.Т., Исаков А.Р., Швидченко В.К. Клональное размножение растений черной смородины (*Ribes nigrum* L.) *in vitro* // Вест. науки КазАТУ им. С. Сейфуллина. 2012. № 1. С. 115–124.

7. Калашникова Е.А. Получение посадочного материала древесных, цветочных и травянистых растений с использованием методов клеточной и генной инженерии. М., МГУЛ, 2001. 73 с.

8. Ružić D., Lazić T. Micropropagation as Means of Rapid Multiplication of Newly Developed Blackberry and Black currant cultivars // Agriculturae Conspectus Scientificus. 2006. Vol. 71. № 4. P. 149–153.

9. Шорников Д.Г., Брюхина С.А., Муратова С.А., Янковская М.Б., Папихин Р.В. Оптимизация условий культивирования *in vitro* ягодных и декоративных культур // Вестник Тамбовского университета. Серия: естественные и технические науки. 2010. Т. 15, №2. С. 640–645.

10. Ишмуратова М.М. Родиола иремельская на Южном Урале. М.: Наука, 2006. 252 с.

11. Абдеева М. Г., Демина Т. Г., Шафиков Р.А., Фазлиахметов Х.Н., Майстренко Н.В., Зарипова В.М. Плодово-ягодный сад в Уральском регионе МСХ РФ, РАСХН, МСХ РБ, БНИИСХ. 2008. 123 с.

12. Билалова Э.Г., Ишмуратова М.М., Садыкова Ф.В. Особенности развития прегенеративных растений лимонов и цитронов в культуре *in vitro* // Известия Уфимского научного центра РАН. 2018. № 3(1). С. 41–47.

13. Абдеева М.Г., Демина Т.Г., Шафиков Р.А., Фазлиахметов Х.Н., Майстренко Н.В., Зарипова В.М. Садоводство в Башкортостане. Уфа: Мир печати, 2006. 140 с.

14. Бурмистров А.Д. Ягодные культуры. Л., Колос, 1972. 383 с.

15. Ишмуратова М.М., Головина Л.А. Размножение смородины черной (*Ribes nigrum* L.) башкирской селекции в культуре *in vitro* // Вестник Удмуртского университета. Серия Биология. Науки о Земле. Удмуртский государственный университет. 2017. Т. 27, № 4. С. 455–461.

References

1. Kalinin F.L., Kushnir G.P., Sarnatskaya V.V., Lobov V.P. Technology of microclonal propagation of plants. Kyiv: Naukova Dumka, 1992. 232 p.

2. Kabanova E.V., Kucharczyk N.V. Clonal micropropagation of black currant varieties Sanita. Fruit and berry growing in Russia. 2011. Т. 26. P. 222-229.

3. GOST R 54051-2010 "Fruit and berry crops. Sterile cultures and adapted micro-plants. Technical conditions». М.: Standardinform 2011. P. 4-5.

4. Kruglova N.N., Saldimirova O.A., Zaitsev D.Y., Galin I.R., Zinatullina A.E., Anokhina N.S. Development androconia regenerants of wheat in laboratory conditions *in vitro* and *ex vitro* // proceedings of the Ufa scientific centre of RAS. 2017. № 3. P. 21-25.

5. Vysotsky V.A. Biotechnological techniques in modern gardening / Vysotsky V.A // Gardening and viticulture. 2011. № 2. С. 2-3.

6. Orazbayeva G.K., Khasanov V.T., Isakov A.R., Shvidchenko V.K. Clonal reproduction of blackcurrant plants (*Ribes nigrum* L.) *in vitro* // Vest. science KazATU them. S. Seifullin. 2012. № 1. P. 115-124.

7. Kalashnikova E. A. production of planting material of woody, floral and herbaceous plants using methods of cell and genetic engineering. М., MSU, 2001. 73 p.

8. Ružić D., Lazić T. Micropropagation as Means of Rapid Multiplication of Newly Developed Blackberry and Black Currant cultivars // Agriculturae Conspectus Scientificus. 2006. Vol. 71. № 4. P 149-153.

9. Shornikov D.G., Bruhin S.A., Muratova S.A., Yankovskaya M. B., Papain R. V. Optimization of conditions for *in vitro* cultivation of berry and ornamental crops // Bulletin of Tambov University. Series: natural and technical Sciences. 2010. Vol. 15. № 2. С. 640-645.

10. Ishmuratova M. M. Rhodiola of Iremel in the southern Urals. М.: Science, 2006. 252 p.

11. Abdeeva M.G., Demina T.G., Shafikov R.A., Fazlioglu H.N., Maistrenko N.V. Zariyova V.M., under the General editorship of Cand. of agricultural Sciences A.A. Sakhibgareeva. Fruit and berry garden in the Urals region of the Ministry of agriculture, Academy of agricultural Sciences, the Ministry of agriculture RB, BNIISKH. 2008. 123p.

12. Bilalova, E.G., Ishmuratova M.M., Sadykova V.F. Peculiarities of development of preregenerative plants of lemons and citron in the culture *in vitro* // Proceedings of the Ufa scientific centre of RAS. 2018. № 3 (1). P. 41-47.

13. Abdeeva M. G., Demina T.G., Shafikov R.A., Fazlioglu H.N., Maistrenko N.V. Zariyova V. M. Gardening in Bashkortostan. Ufa: world press, 2006. 140 p.

14. Burmistrov D. A. Berry. Leningrad: Kolos, 1972. 383 p.

15. Ishmuratova M.M., Golovina L.A. The breeding of black currants (*Ribes nigrum* L.) in the culture of Bashkir selection *in vitro*. Series Biology. Earth science. Udmurt state University. 2017. Vol. 27. № 4. P. 455-461.



**OPTIMIZATION OF THE CONDITIONS OF ADAPTATION OF REGENERATED PLANTS
OF BLACK CURRANTS (*RIBES NIGRUM* L.) VARIETIES BASHKIR BREEDING
IN THE TRANSLATION FROM *IN VITRO* TO *EX VITRO***

© L.A. Golovina^{1,2}, M.M. Ishmuratova²

¹Bashkir Research Institute of Agriculture – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre
of the Russian Academy of Sciences,
19, ulitsa Rikharda Zorge, 450059, Ufa, Russian Federation

²Bashkir state University,
32, ulitsa Zaki Validi, 450076, Ufa, Russian Federation

The article presents the results of studies on the optimization of adaptation conditions to *ex vitro* plants-regenerants of black currant (*Ribes nigrum* L.) varieties of Bashkir selection Karaidel and Chishma, obtained as a result of clonal micropropagation *in vitro*. As a control used grade a Seedling Lovebirds. To stimulate growth and increase survival rate during the period of adaptation in plants-regenerants with a low vitality (the length of the shoot is less than 2.0 cm) were additional pre-treatment with solutions of plant growth regulators Kornevin and Kornerost.

It is established that regenerative plants of low and high vitality can effectively adapt to *ex vitro* conditions. Achieved 100.0% of the survival rate of regenerated plants with low levels of vitality on the background of the application of growth regulators. In the control survival rate was 71.4–80.0%. Preplant treatment of regenerated plants had a positive effect on the growth of black currant shoots, on the 21st day of the adaptation period, the maximum length of shoots of regenerated plants was noted in the variant of Roots in all studied varieties: Seedling Lovebirds 2.7±0.2 cm, Chishma 2.0±0.1 cm, Karaidel 2.7±0.3 cm.

Plants-regenerants of black currant with high rates of vitality (length of escape more than 2.0 cm) were planted in soil substrates consisting of a combination of peat, perlite and vermiculite. On the 21st day of the adaptation period, 100.0% survival rate was observed in all studied varieties in the peat+perlite variant. When using only peat (control) survival rate of regenerated plants was 80.0%. It is shown that the morphometric parameters of regenerative plants depending on the black currant variety were higher in variants using a combination of peat+perlite and peat+vermiculite. The maximum length of shoots was noted in the variant of peat+perlite in varieties of Seedling Lovebirds (4.7±0.2 cm) and Karaidel (3.3±0.1 cm), and in the variety Chishma – in the variant of peat+vermiculite (4.2±0.4 cm).

Key words: regenerants *ex vitro*, black currant (*Ribes nigrum* L.), rooting stimulants, adaptation of plants.