

РИЗОГЕНЕЗ *IN VITRO* ПОДВОЕВ КОСТОЧКОВЫХ КУЛЬТУР

Х. И. БОБОДЖАНОВА, Ш. К. ЯСАУЛОВА, И. САБРИНАИ

, 734025, e-mail: bobojankh_7@bk.ru

Н. В. КУХАРЧИК

e-mail: nkykhartchyk@gmail.com

(27.01.2025)

29С.

Ключевые слова:

This article presents the results of studies conducted in the period 2022–2024 to assess the efficiency of *in vitro* rhizogenesis of stone fruit rootstocks after cold storage depending on the concentrations of indolebutyric acid (IBA) and cultivation conditions. The studies were conducted at the laboratories of the Biotechnology Center of the Tajik National University.

The objects of research were the Colt and Myrobalan 29C rootstocks from the collection site of the Branch of the Michurin Institute of Horticulture and Vegetable Growing of the Tajik Academy of Agricultural Sciences, Sughd region, B. Gafurov district, Ovchi Kalacha jamoat, Michurin town.

At the stage of *in vitro* rhizogenesis, plants of two rootstock forms were obtained, the efficiency of *in vitro* rhizogenesis varies from 9.09 % to 26.32 % of micro-shoots of the Colt rootstock. A slightly higher efficiency of rhizogenesis was noted for the Myrobalan 29C rootstock (from 5.26 % to 58.82 %).

An increase in the IBA concentration from 0.25 to 0.50 mg/l slightly increased the efficiency of rhizogenesis for the Colt rootstock (from 16 % to 20 %), and significantly reduced rhizogenesis for the Myrobalan 29C rootstock (from 32 % to 14 %).

Preliminary cultivation in the dark did not affect the efficiency of rhizogenesis for the Colt rootstock and significantly increased it for the Myrobalan 29C rootstock (from 11 % to 35 %).

An increase in the IBA concentration from 0.25 to 0.50 mg/l leads to accelerated root formation, at the same time, in all variants, by the 40th day of cultivation, the difference is leveled out.

The obtained results show the necessity of further optimization of rhizogenesis of Colt and Myrobalan 29C rootstocks.

Key words: rootstocks of stone fruit crops, rhizogenesis, *in vitro*, indole-butyric acid.

Введение

Для корнеобразования применяют различные методы и способы: добавление регуляторов роста ауксиновой природы в питательные среды, снижение концентрации сахарозы, получение фотоавтотрофных культур, укоренение растений в условиях *ex vitro*, исключая этап ризогенеза в условиях *in vitro* [1]. Успешность этапа ризогенеза зависит от многих факторов: генотипа сорта, гормонального состава питательной среды, количества пассажей и других условий проведения эксперимента [2, 3]. Количество и длина корней, образующихся на этапе ризогенеза, зависит от формы железа и концентрации ИМК [4].

На этапе ризогенеза часто практикуют использование питательных сред меньшей концентрации – разбавленная среда Мурасиге и Скуга, минеральная основа среды Уайта. В качестве индуктора ризогенеза используют индолилмасляную (ИМК), индолилуксусную (ИУК), нафтилуксусную (НУК) кислоты. Однако НУК менее пригодна из-за обильного каллусообразования, которое затрудняет рост

корней [6]. По мнению авторов [7, 8], лучшей средой для корнеобразования являются среды с макроэлементами по Хеллеру с добавлением витаминов и разбавленная вдвое среда МС с пониженным содержанием сахарозы 15 мг/л и с исключением мезоинозита, способствующего образованию каллусной ткани. Большое значение имеет способ применения индукторов корнеобразования. Традиционный способ состоит в непосредственном введении ауксинов в питательные среды. Другим способом применения ауксинов можно назвать их кратковременное введение в питательные среды в высоких концентрациях [9].

Особая роль в размножении растений и изучении процессов морфогенеза *in vitro* принадлежит физическим факторам культивирования, таким как интенсивность освещения, спектральный состав света, фотопериод, температура и рН питательной среды [10, 11]. Ряд авторов отмечают сложную зависимость укоренения от светового режима, регуляторов роста, рН среды [2]. Положительное действие этиоляции на этапе пролиферации побегов на дальнейший процесс ризогенеза зависит от сорта. По мнению Р. М. Пугачева, культивирование микрорастений в темноте в течение 2 недель увеличивает эффективность укоренения [5]. В тоже время имеется информация, что применение ауксинов и темноты на последней неделе пролиферации побегов М27 уменьшало укореняемость на 65 % [2]. Макаровым С.С. с коллегами выявлено, что лучшая укореняемость микропобегов *P. cerasus* в культуре *in vitro* в течение 2 недель при нормальной освещенности (1500–2000 лк) и пониженной температуре воздуха (15 °С) [12].

Цель работы – определить степень ризогенеза *in vitro* клоновых подвоев косточковых культур после хладохранения в зависимости от концентраций индолилмасляной кислоты (ИМК) и условий культивирования.

Основная часть

Объектами исследований являлись подвой из коллекционного участка Филиала института садоводства и овощеводства им. Мичурина Таджикской академии сельскохозяйственных наук, Согдийская область, район Б.Гафурова, джамоат Овчи Калача, городок Мичурина.

Colt (*Prunus avium* x *Prunus pseudocerasus*) – слаборослый подвой, выведен в Англии Тайдеманом Х. М. Получен от опыления черешни (*Cerasus avium*) вишней ненастоящей (*Cerasus pseudocerasus*). Совместим со всеми сортами черешни и вишни. У деревьев вишни, привитых на Колте, размеры крон на 20–45 % меньше, чем на сильнорослом подвое. Деревья рано вступают в плодоношение и дают обильные, регулярные урожаи. Способствует увеличению размера плодов. Маточные кусты пирамидальные, средних размеров. Побегов в кусте среднее количество, они обычно не имеют боковых разветвлений. Легко размножается одревесневшими черенками. Однолетние приросты, нарезанные сразу после листопада, можно высаживать для укоренения без предварительной тепловой обработки и воздействия на них стимуляторами корнеобразования. Колт не получил распространения из-за очень низкой даже для южной зоны морозостойкости корней и сильной подверженности заболеванию корневым раком [13]. По другим источникам по силе роста, компактности крон, урожайности и срокам вступления деревьев в плодоношение от сеянцев горькой черешни *Prunus avium* не отличается [14].

Myrobalan 29C является одним из видов американской алычи (*Prunus cerasifera* Ehrh.). Рекомендован как среднерослый подвой для алычи, сливы и абрикоса, хорошо приспосабливается к разным типам почв и климату, распространён во многих садоводческих районах Европы. Обеспечивает хорошую приживаемость саженцев, устойчив к содержанию активных известняков и к асфиксии корней, размножается отводками, зелёными и одревесневшими черенками. В Республику Таджикистан подвой завезен в 2012 г. В качестве вегетативного подвоя для сливы и абрикоса в США, Италии, Франции, Хорватии, Англии, Румынии, Германии и других странах используется □, который хорошо растёт на песчаных почвах, особенно там, где близко залегают грунтовые соленосные воды [15]. Работа проводилась в Центре биотехнологии ТНУ в период с 2022 по 2024 гг.

Микропобеги образцов высотой не более 1,5 см пересаживали на питательную среду для укоренения, содержащую ½ концентрации макро- и микросолей по MS, витаминами В₁, В₆, РР, С – 0,5 мг/л и сахарозой – 20 г/л [16]. Концентрация ИМК в питательной среде в 2-х вариантах – 0,25 и 0,5 мг/л. Питательная среда без добавления ИМК служила контрольной. За образованием корней наблюдали в течение 40 дней.

Этап ризогенеза проводили после: 6 пассажей культивирования (среда для микроразмножения – Мура сига-Скуга [17], дополненная витаминами: В₁, В₆ и РР по 0,5 мг/л, С – 1 мг/л; и цитокинином 6-БА (0,5 мг/л) [18].); далее хладохранения (температуры +5...+8 °С, питательная среда для микроразмножения с пониженным (1/2) содержанием макро- и микросолей) в течении 78 дней; двух пассажей куль-

тивирования на среде микроразмножения (Мурасига-Скуга [17], дополненная витаминами: В₁, В₆ и РР по 0,5 мг/л, С – 1 мг/л; и цитокинином 6-БА (0,5мг/л) [18]).

Условия культивирования на этапе ризогенеза:

1-й вариант – в светокультуральной комнате при температуре +22 ... +24 °С, влажности воздуха 70–80 %, фотопериоде 16/8ч., освещенности 2,5–3 тыс. люкс.

2-ой вариант – первые 15 дней в полной темноте при температуре +22 ... +24 °С, влажности воздуха 70–80 %. Дальнейшее культивирование при обычных условиях (1-й вариант), т.е. в светокультуральной комнате при температуре +22 ... +24 °С, влажности воздуха 70–80 %, фотопериоде 16/8ч., освещенности 2,5–3 тыс. люкс.

Статистическую обработку полученных данных проводили по Б. А. Доспехову [19].

Депонирование, проведенное для оценки возможности создания коллекции *in vitro*, показало разное количество образцов выдержавших условия хранения, что вероятно связано с индивидуальными характеристиками подвоев. Ранее показана низкая (29,4 %–26,7 %) сохранность регенерантов подвоев и *Colt* в результате депонирования, и достаточно высокие коэффициенты размножения (3,3–8,0), что позволяет получать в дальнейшем посадочный материал [20].

Культивирование на этапе ризогенеза показало, что процент укоренившихся микропобегов подвоя *Colt* во всех вариантах опыта варьирует от 9,09 %, при концентрации ИМК в питательной среде 0,25 мг/л, до 26,32 – при концентрации ИМК в питательной среде 0,25 мг/л в 1-ом варианте культивирования. На питательной среде с концентрацией ИМК 0,5 мг/л в первом и втором варианте культивирования равен 26,32 и 14,29 % соответственно. Во всех вариантах опыта значительное количество составляют растения с хорошо развитой листовой массой, однако развитие корневой системы в них не отмечено. Имеют место и случаи некроза микропобегов подвоя *Colt* в контрольном варианте при 1-ом варианте культивирования и во всех трех вариантах питательной среды 2-й вариант культивирования (таблица).

Морфологические показатели растений-регенерантов *in vitro* при разных условиях культивирования

Тип подвоя	Показатели	1-й вариант			2-й вариант		
		концентрация ИМК в питательной среде (мг/л)					
		Контроль	0,25	0,5	контроль	0,25	0,5
<i>Colt</i>	Посажено, шт	25	22	19	25	18	21
	Жизнеспособные, шт / %	21/84,0	22/100	19/100	18/72,0	17/94,44	18/85,71
	Укоренились, шт / %	3/12,0	2/9,09	5/26,32	3/12,0	4/22,22	3/14,29
	Некротизированные, шт / %	4/16,0	–	–	7/28,0	1/5,56	3/14,29
	Длина корня, см	2,77±0,39	2,30±0,40	1,44±0,27	1,50±0,29	1,97±0,16	3,00±0,00
	Количество корней, шт	2,33±0,33	3,50±0,50	1,60±0,40	4,00±1,53	3,50±0,64	1,67±0,33
	Длина побега, см	0,47±0,09	0,48±0,05	0,46±0,05	1,03±0,18	1,39±0,17	1,57±0,23
	Количество листьев, шт	6,33±0,88	8,50±0,50	12,80±0,86	5,00±0,58	6,00±1,22	9,33±0,33
Myrobalan 29C	Посажено, шт	19	19	18	19	17	19
	Жизнеспособные, шт / %	19/100	18/94,74	18/100	16/84,21	17/100	19/100
	Укоренились, шт/%	–	1/5,26	3/16,67	3/15,79	10/58,82	2/10,53
	Некротизированные, шт / %	–	1/5,26	–	3/15,79	–	–
	Длина корня, см	–	3,40	3,33±0,52	2,27±0,50	2,45±0,32	4,00±0,29
	Количество корней, шт	–	4,00	1,67±0,33	2,00±0,58	2,00±0,36	1,50±0,50
	Длина побега, см	0,62±0,08	0,80	1,37±0,09	1,67±0,17	1,65±0,18	2,10±0,20
	Количество листьев, шт	7,31±0,95	8,00	6,67±1,20	7,00±1,00	5,60±0,48	7,50±1,50

Процент укоренившихся микропобегов подвоя варьирует от 5,26 % при 1-м варианте культивирования до 58,82 % во втором варианте культивирования на питательной среде с концентрацией ИМК 0,25 мг/л. На питательной среде с концентрацией ИМК 0,5 мг/л в первом и втором варианте культивирования равен 16,67 и 10,53 % соответственно. Случаи некроза отмечены на питательной среде с концентрацией ИМК 0,25 мг/л (1-е условия культивирования) и контрольном варианте (2-й вариант культивирования). Также как и для подвоя *Colt* для подвоя во всех вариантах опыта значительное количество составляют растения с хорошо развитой листовой массой, однако развитие корневой системы в них не отмечено.

В 1-м варианте культивирования появление корневой системы регенерантов клонового подвоя *Colt* отмечено на 20-й день развития при концентрации ИМК – 0,5 мг/л и на 30-й день – при концентрации ИМК – 0,25 мг/л (рис. 1).

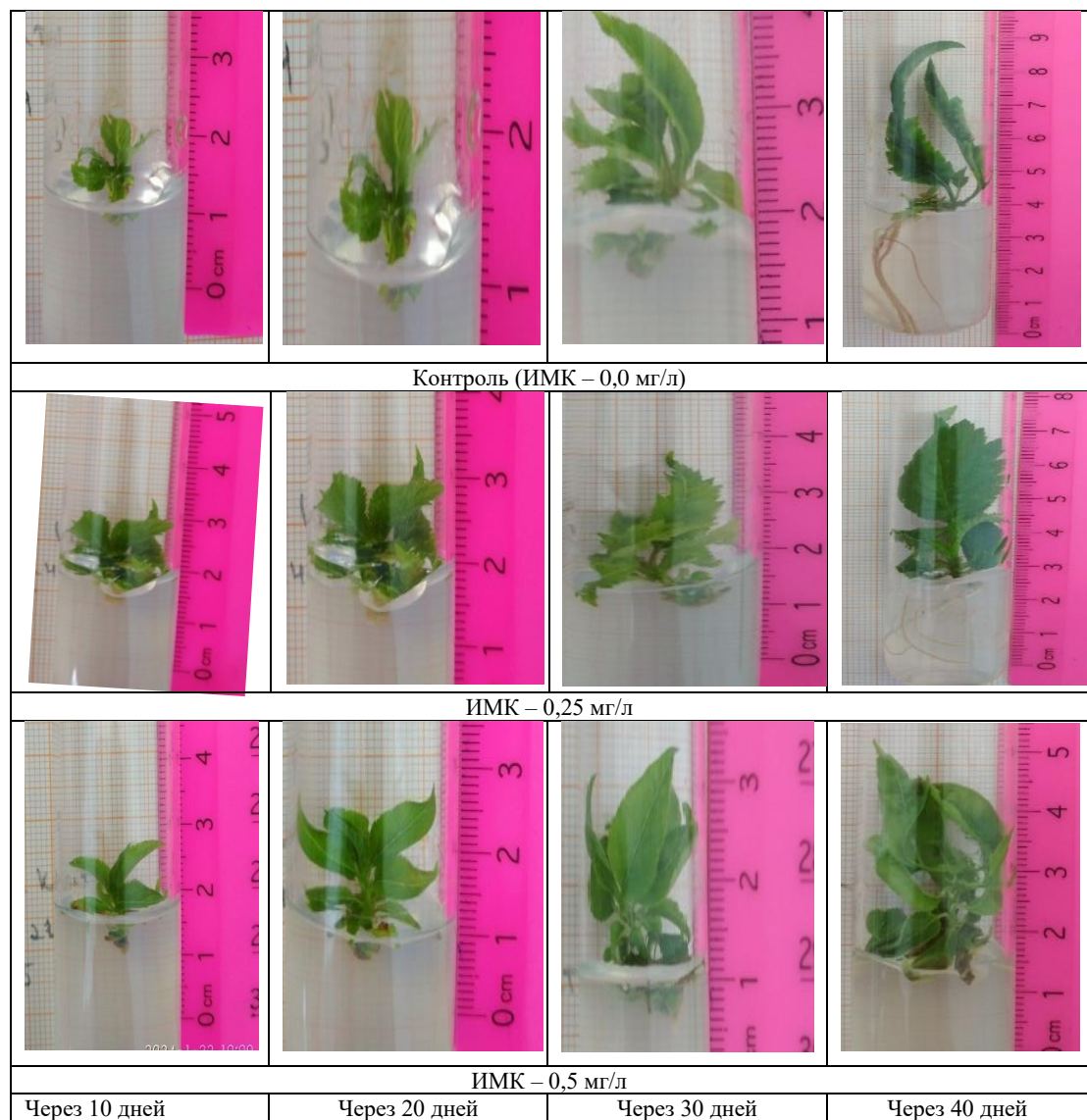
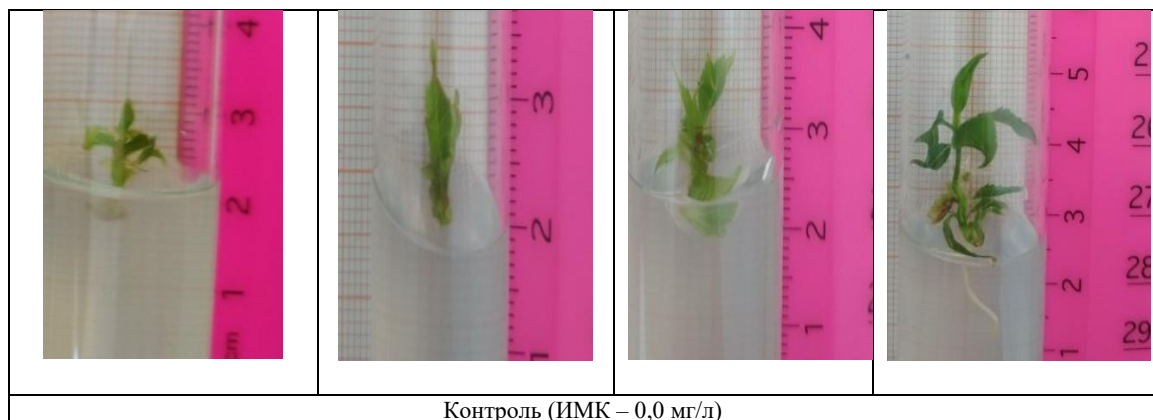


Рис. 1. Ризогенез клонового подвоя *Colt* на разных концентрациях ИМК в питательной среде, в течение 40 дней. Условия культивирования: 1-й вариант

Во втором варианте культивирования, когда первые 10 дней развития образцы были помещены в условия полного отсутствия освещения, появление корней отмечено на 20 день развития при концентрации ИМК 0,25 мг/л (рис. 2). И к 40-му дню микроболеги подвоя *Colt* имели хорошо развитую корневую систему во всех вариантах питательной среды.



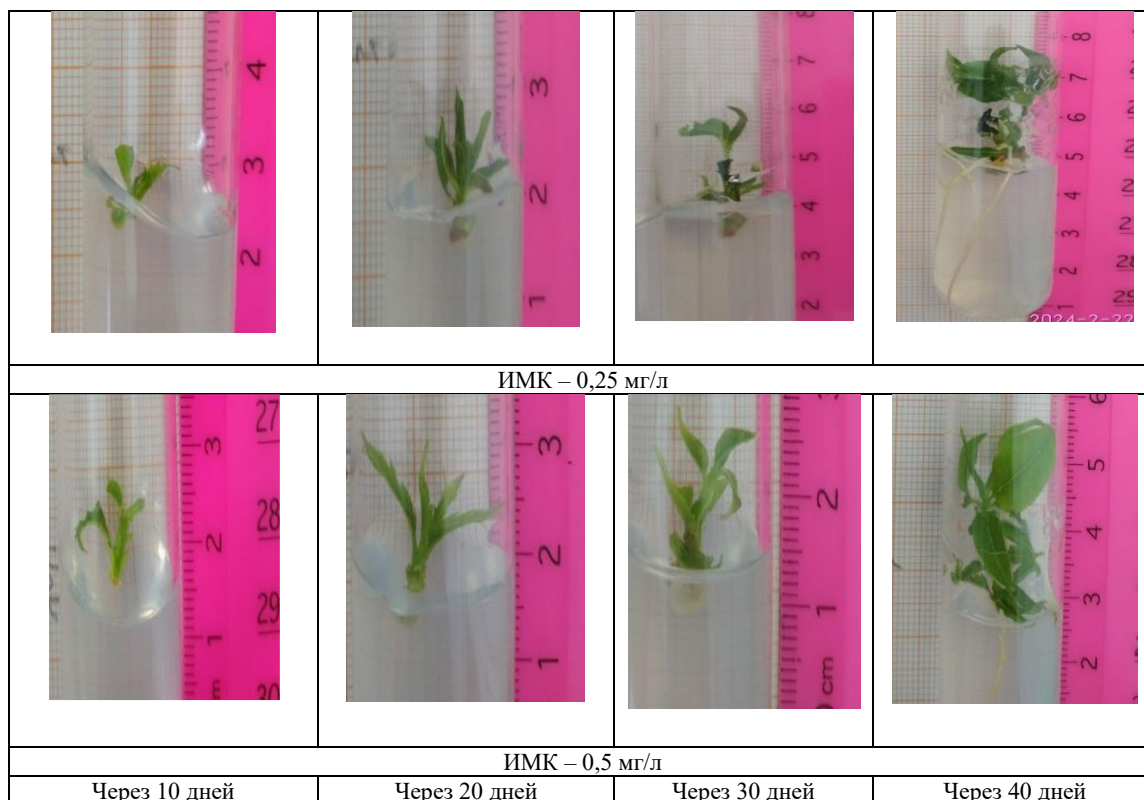
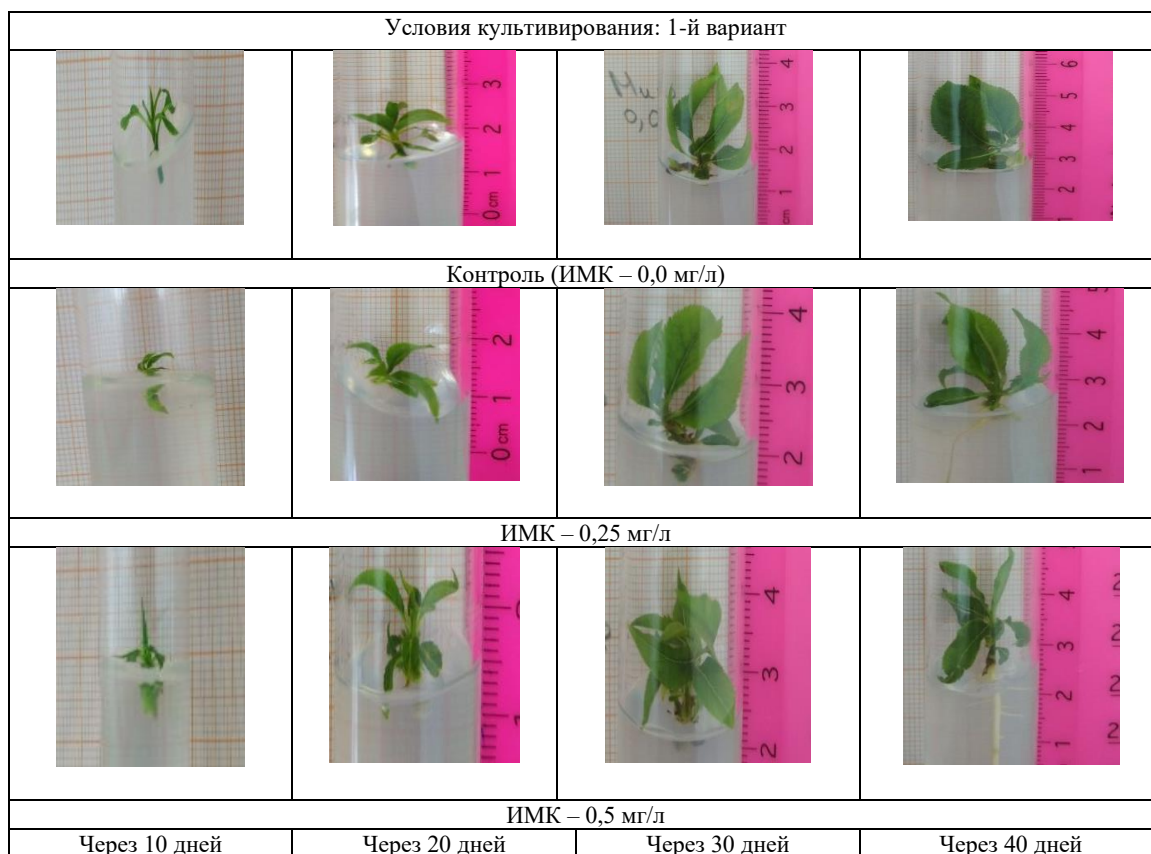


Рис. 2. Ризогенез клонового подвоя *Colt* на разных концентрациях ИМК в питательной среде, в течение 45 дней. Условия культивирования: 2-й вариант

На рис. 3 и 4 показана динамика развития корневой системы микропобегов подвоя на питательных средах с разной концентрацией ИМК в двух условиях культивирования.

Во втором варианте культивирования микропобегов подвоя корнеобразование выявлено на всех трех вариантах питательной среды к 40-му дню развития.



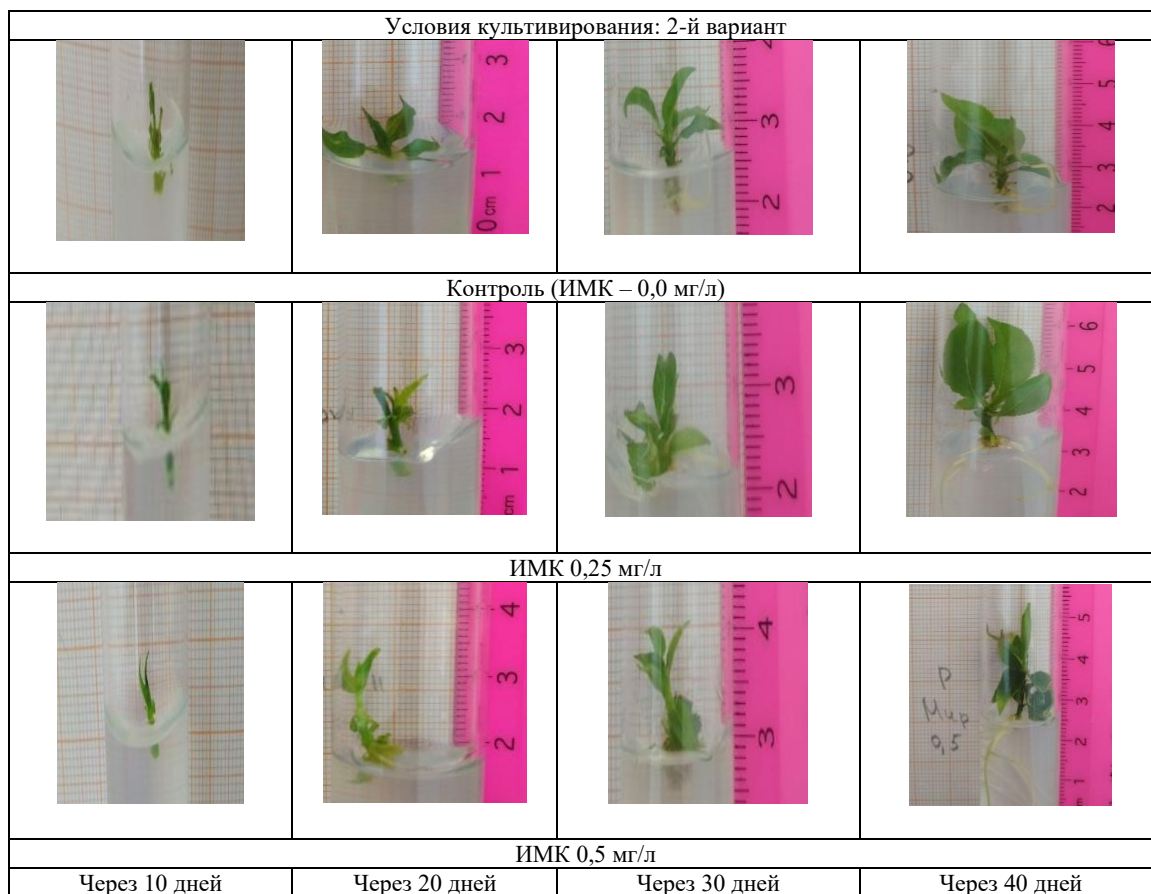


Рис. 3. Ризогенез клонового подвоя на разных концентрациях ИМК в питательной среде, в течение 40 дней

Также оценивали качество укорененных микропобегов клоновых подвоев *Colt* и по следующим параметрам: длина корня, длина побега, число корней и число листьев (таблице).

Показано, что длина корня подвоя *Colt* на питательной среде с концентрацией ИМК 0,5 мг/л равна 1,44 см в 1-м варианте культивирования и 3,00 см – во втором варианте культивирования. Количество корней в указанных выше вариантах практически не отличается.

На питательной среде с концентрацией ИМК 0,25 мг/л количество корней не отличается в обоих вариантах культивирования. Длина корней на данной среде составляет 2,30 см и 1,97 см в 1-м и 2-м вариантах культивирования соответственно.

Образование корней не наблюдается в контрольном варианте питательной среды. К 40-му дню развития показано образование корневой системы при концентрации ИМК 0,25 и 0,5 мг/л в питательной среде.

Длина корней микропобегов подвоя на питательной среде с концентрацией ИМК 0,5 мг/л составила 3,33 см в 1-м варианте культивирования и 4,00 см – во втором варианте культивирования. Количество корней в указанных выше вариантах практически не отличается (1,67 и 1,5 в 1-м и 2-м вариантах культивирования соответственно).

Заключение

Процент укоренившихся микропобегов подвоя *Colt* невысокий во всех вариантах опыта и варьирует от 9,09 % до 26,32 %; несколько выше результативность ризогенеза отмечена для подвоя (от 5,26 % до 58,82 %).

Увеличение концентрации ИМК с 0,25 до 0,50 мг/л незначительно повысило результативность ризогенеза подвоя *Colt* (с 16 % до 20 %) и значительно уменьшило ризогенез у подвоя (с 32 % до 14 %).

Предварительное культивирование в темноте не оказало влияния на эффективность ризогенеза у подвоя *Colt* и значительно увеличило ее для подвоя (с 11 % до 35 %).

Увеличение концентрации ИМК с 0,25 до 0,50 мг/л приводит к ускоренному корнеобразованию, в тоже время, во всех вариантах к 40 дню культивирования разница нивелируется.

Полученные результаты показывают необходимость дальнейшей оптимизации ризореза подвоев *Col* и □ .

1. Кильчевский, А. В. Генетические основы селекции растений. В 4 т. Т. 3. Биотехнология в селекции растений. Клеточная инженерия / А. В. Кильчевский, Л. В. Хотылева – Минск: Беларус. навука, 2012. – 489 с.
2. Деменко, В. И. Укоренение – ключевой этап размножения растений *in vitro* / В. И. Деменко, К. А. Шестибратов, В. Г. Лебедев // Журнал Известия ТСХА. – 2010. – № 1. – С. 73–85.
3. Поух, Е. В. Влияние различных спектров на развитие корневой системы подвоев сливы на этапе укоренения INVITRO / Е. В. Поух, О. С. Иванова, Т. П. Кобринец // Современные технологии сельскохозяйственного производства: сборник научных статей по материалам XXV Международной научно-практической конференции (Гродно, 23 марта 2022 года) / Министерство сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, Учреждение образования «Гродненский государственный аграрный университет». – Гродно: ГГАУ, 2022. – [Вып.] Агрономия. Защита растений. – С. 134–136.
4. Супрун И. И., Амосова М. А., Федорович С. В., Лободина Е. В., Авакимян А. О., Аль-Накиб Е. А. Эффективность размножения *in vitro* клонового подвоя косточковых культур ПК СК 1. Плодоводство и ягодоводство России. 2023; 72:16–23. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://doi.org/10.31676/2073-4948-2023-72-16-23>. Дата доступа: 6.01.2025 г.
5. Пугачев Р. М. – Особенности размножения растений рода *Prunus* L. В культуре IN VITRO: автореферат дисс. на соискание уч. ст. канд с.-х. наук. / Горки, 2003. – 18 с.
6. Матушнина, О. В. Технология клонового микроразмножения яблони и груши / О. В. Матушнина, И. Н. Пронина / Методические рекомендации. – Мичуринск-наукоград РФ, 2008. – 32 с.
7. Методические рекомендации по использованию биотехнологических методов в работе с плодовыми, ягодными и декоративными культурами / Под ред. Е. Н. Джигадло. Орел, 2005. – 50 с.
8. Ruzic D., Saric M., Cerovic R., Culafic I. Relationship between the concentration of macroelements, their uptake and multiplication of cherry rootstock Gisela 5 *in vitro* // Plant Cell Tissue Organ Cult. 2000. Vol. 63. P. 9–14.
9. Коваленко Н. Н., Поливара Н. В. Культура апикальных меристем отдаленных гибридов *Cerasus* Mill // Биотехнология в плодоводстве. Материалы научной конференции, Самохваловичи, 13–17 июня 2016, г. Минск, С.147–150.
10. Yaacob. I S., Mahmud N. Taha R. M., Mohamed N., Yusoff A.I.M., Saleh A. Optimization of culture condition (sucrose, pH, and photoperiod) for *in vitro* regeneration and early detection of somaclonal variation in ginger lime (*Citrus assamensis*) 11 The Scientific Word Journal. – 2014 – Vol. 2014. Article III 262710, 9 pp. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/262710>. Дата доступа: 6.01.2025г.
11. Mitrofanova I. V., Ivanova N. N., Paliy A. E., Paliy I. N., Mitrofanova O. V. Influence of the temperature factor on regeneration features of *Silene Jailsensis* N.I. Rubtzov and *Crepis Purpurea* (Willd.) M. Bieb. and the content of phenolic substances *in vitro* //Bull. of the State Nikita Botan. Gard. – 2020. – № 135. – P. 87–96.
12. Макаров С. С., Кузнецова И. Б., Шарафутдинов Х. В., Чудецкий А. И., Ахметова Л. Р., Кульчицкий А. Н. Оценка влияния различных факторов на укоренение *in vitro* и адаптацию *ex vitro* российских сортов PRUNUS CERASUS L. Вестник КрасГАУ. 2023. № 11. С. 121–129. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <file:///C:/Users/Admin/Downloads/otsenka-vliyaniya-razlichnyh-faktorov-na-ukorenenie-in-vitro-i-adaptatsiyu-ex-vitro-rossiyskih-sortov-prunus-cerasus-l.pdf>. Дата доступа: 16.12.2024 г.
13. Клоновые подвои черешни и вишни [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://studfile.net/preview/8902695/page:5>. – Дата доступа: 6.09.2024 г.
14. Мындра В. Г., Чернец А. М., Кожохаренко В. Т., Куку Г. А., Калашян Ю. А. Совершенствование подвоев черешни – путь интенсификации культуры [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://ibn.idsi.md/sites/default/files/imag_file/31-34_26.pdf. – Дата доступа: 7.09.2024 г.
15. Охунджонов А. Х., Янгибаев Д., Фелалиев А. С. Засухоустойчивость подвоев абрикоса в условиях Северного Таджикистана. Доклады АН РТ. 2017, том 60, №5-6, с. 269–274.
16. Кухарчик, Н. В. Технология получения оздоровленных клоновых подвоев сливы / Н. В. Кухарчик, М. С. Кастрицкая, О. В. Соловей // Плодоводство: науч. тр./ РУП «Ин-т плодоводства»; редкол.: В. А. Самусь (гл. ред.) [и др.]. – Самохваловичи, 2010. – Т. 22. – С.126–134.
17. Murashige, T. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // Physiology Plantarum. – 1962. – Vol. 15, iss. 3. – P. 473–497.
18. Размножение плодовых, ягодных растений, винограда и хмеля в культуре *in vitro*. / Кухарчик Н.В. [и др.]; под общ. ред. Н. В. Кухарчик. – Минск: Колоград, 2021. – 400 с.
19. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). – 5-е изд., доп. и перераб. – М.: АГРОПромиздат, 1985. – 351 с.
20. Бободжанова Х. И. Микроразмножение и депонирование подвоев косточковых культур / Х. И. Бободжанова, Н. В. Кухарчик // Вестн. Белорус. гос. с.-х. акад. – 2024. – № 4. – С. 45–50.