

## ОПЫТ ДОРАЩИВАНИЯ В КОНТЕЙНЕРАХ ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА, ПОЛУЧЕННОГО МЕТОДОМ КЛОНАЛЬНОГО РАЗМНОЖЕНИЯ *IN VITRO*

кандидат сельскохозяйственных наук **А. Н. Цепляев**<sup>1</sup>

доктор сельскохозяйственных наук, доцент **Э. И. Трещевская**<sup>1</sup>

**Е. Н. Турганова**<sup>1</sup>

1 – ФГБОУ ВО «Воронежский государственный лесотехнический университет имени Г. Ф. Морозова»,  
г. Воронеж, Российская Федерация

В статье рассматриваются опыт доращивания в питомнике растений полученных методом клонального микро размножения *in vitro*. Данный способ размножения имеет множество преимуществ перед другими, но характеризуется высоким отпадом при пересадке пробирочных растений в нестерильные условия. Исследования проводились в производственном питомнике и предусматривали наблюдения за ростом и развитием плодовых и декоративных культур разных групп, полученных *in vitro* и выращиваемых в контейнерах. Были изучены такие показатели как приживаемость и сохранность, прирост по высоте и диаметру, товарность. Результаты исследований показали, что массовый отпад рассматриваемых культур произошел после зимы 2016-2017 г. Ситуация усугубилась наступлением ранней весны с длительными оттепелями и позднее – весенними заморозками (апрель 2017 г.). Наиболее уязвимыми оказались плодовые культуры, среди которых лучшую сохранность показала малина ремонтантная Шапка Мономаха (70 %), а худшую – вишня Молодежная (44 %); у декоративных пород лучшую – чубушник венечный Снежная буря (86 %), а худшую – сирень обыкновенная Фентези (68 %). Прирост по высоте у различных пород был неодинаков, у голубики Норт он составил в среднем 17 см, малины ремонтантной Шапка мономаха – 80 см; смородины черной Дар Смольяновой – 72,5 см; вишни Молодежной – 61 см; у сирени обыкновенной Фентези - 24 см.; чубушника венечного Снежная буря – 66,5 см. Товарность таких пород как смородина, малина соответствовала и превосходила требования ГОСТ Р 53135-2008. Важнейшим условием получения кондиционных саженцев в контейнерах, размноженных методом *in vitro* является ежегодная перевалка посадочного материала в контейнеры большего объема.

**Ключевые слова:** *in vitro*, доращивание, контейнер, питомник, клональное размножение, субстрат, биотехнология.

## EXPERIENCE OF GROWTH IN CONTAINERS OF THE PLANTING MATERIAL RECEIVED BY THE METHOD OF CLONAL PROPAGATION IN VITRO

PhD in Agriculture **A. N. Tseplyaev**<sup>1</sup>

DSc in Agriculture, Associate Professor **E. I. Treshchevskaya**<sup>1</sup>

**E. N. Turtanova**<sup>1</sup>

1 – Federal State Budget Education Institution of Higher Education «Voronezh State University of Forestry and Technologies named after G.F. Morozov», Voronezh, Russian Federation

### Abstract

The article deals with the experience of growing in the nursery plants obtained by clonal micropropagation *in vitro*. This method of reproduction has many advantages over others, but is characterized by a high drop in transplanting test tubes to non-sterile conditions. The studies were carried out in the production nursery and provided for the observation of the growth and development of fruit and ornamental cultures of various groups obtained *in vitro* and grown in containers. The following indicators were studied: survival rate and safety, growth in height and diameter, marketability. The results of the study showed that the mass decay of the crops in question occurred after the winter of 2016 - 2017. The situation was aggravated by the onset of early spring with long thaws and late-spring frosts (April 2017). The most vulnerable were fruit crops, among which the best preserved raspberry salad was the 'Monomakh's Hat' (70 %), and the worst was Cherry Molodyozhnaya (44 %), decorative, the best Chubushnik coronal 'Blizzard' (86 %), the worst lilac woolen 'Fentezi' (68 %). Growth in height in different

breeds was naturally not the same, in blueberries 'North', he averaged 17 cm, raspberry remontant 'Cap monomaha' - 80 cm; Black currant 'Smolyanova's Gift' -72.5 cm; cherry 'Youth' - 61 cm. Lilacs ordinary 'Fentezi' - 24 cm; Chubushnik coronal 'Blizzard' - 66.5 cm. Commodity of such breeds as currants, raspberries corresponded and exceeded the requirements of GOST R 53135-2008. The most important condition for obtaining conditioned seedlings in containers multiplied by in vitro method is the annual transshipment of planting material into a larger container.

**Key words:** in vitro, growing, container, nursery, clonal micropropagation, substrate, biotechnology.

### Введение

Метод клонального микроразмножения растений имеет существенные преимущества перед традиционными технологиями размножения растений. Он отличается высокой скоростью и эффективностью размножения, а также возможностью получения однородного безвирусного посадочного материала. К преимуществам данного способа следует также отнести возможность длительного хранения растительного материала в асептических условиях, а также экономию площади под маточными садами, а также затрат труда для их содержания [1, 2, 7, 8, 12, 13, 14].

В настоящий момент многие виды растений успешно размножаются в культуре *in vitro*, особенно этот метод актуален для хвойных и лиственных пород, трудно размножаемых традиционными способами [2, 3, 4, 8, 10, 11, 12].

Несмотря на все преимущества описываемого метода, существуют также недостатки основным, из которых следует считать проблему пересадки пробирочных растений в нестерильные условия, именно после посадки в почву или субстрат происходит массовая гибель растений [5, 6, 9]. После пересадки *ex vitro* корни таких растений практически не развиты и плохо поглощают воду и минеральные вещества.

Именно низкий процент приживаемости на этапе акклиматизации и слабый рост микрорастений после высадки в открытый грунт считается главной проблемой при промышленном выращивании посадочного материала [2]. Подбор оптимальных условий для доращивания посадочного материала, полученного *in vitro*, в питомниках является важнейшей проблемой, требующей всестороннего изучения. В последние десятилетия особую популярность в нашей стране набирает производство посадочного материала в пластиковых контейнерах различного объема. Объединение технологических процессов по клональному

микроразмножению с последующим доращиванием посадочного материала в контролируемых условиях посадочных горшков в различных климатических зонах представляет особый научно-практический интерес.

### Методика исследований

Работа выполнена в рамках темы: «Разработка технологии клонального микроразмножения устойчивых декоративных видов и сортов растений для создания маточников в питомниках и получения высококачественного посадочного материала» (договор №141215 между ГБС РАН и ООО «Объединенные питомники»). Исследования проведены в производственном отделении ООО «Объединённые питомники» (Воронежская область, Семилукский район).

В рамках эксперимента были исследованы такие важные параметры как: приживаемость, сохранность, скорость роста растений при переводе их из стерильных условий в естественные, с дальнейшей акклиматизацией в контейнерной культуре.

В эксперименте изучался рост и развитие следующих культур:

- плодовые: *Ribes nigrum* Dar Smolyaninoy (смородина черная Дар Смольяновой); *Vaccinium uliginosum* North Country (голубика Норт Кантри); *Rubus everbearing* (малина ремонтантная Шапка Мономаха); *Cerasus Molodezhnaya* (вишня Молодежная).

- декоративные: *Syringa vulgaris* Fantasy (сирень обыкновенная Фентези); *Philadelphus coronarius* Snezhnaja Burja (чубушник венечный «Снежная буря»).

После размножения, пересадки и адаптации в теплицах лаборатории ГБС РАН (февраль-март 2016 года) материал полученный *in vitro* был привезен для проведения опыта на территорию питомника (12.04.2016 г), растения находились в кассетах и горшках объемом 0,5 л. Субстрат представлял собой смесь верхового торф с песком. После доставки посадочного материала в питомник, его поместили в лет-

ние парники, где он находился до 13.06.2016 г. Первый замер основных биометрических показателей был проведен 16.04.2017 г.

Для дальнейшего проведения эксперимента была подготовлена площадка с притеночными конструкциями и системой полива для размещения контейнерных растений, на которой 13.06.2016 г. были выставлены растения из парников. Для предотвращения стресса при перемещении растений из парников на открытую площадь было использовано притенение специальной сеткой со 50 % светопропускающей способностью.

В период 17.06. 2016 - 20.06.2016 г. была произведена перевалка растений из контейнеров и кассет в двухлитровые пластиковые горшки, и одновременно был проведен повторный замер биометрических показателей. Аналогичные замеры в дальнейшем проводились ежемесячно до 16.10.2016 г. Субстрат был приготовлен на основе низинного торфа ( $pH_{KCl}=4,4$ ,  $pH_{H_2O}=4,6$ ,  $N-NO_3=54,0$  мг/кг,  $P_2O_5=27$  мг/кг,  $K_2O=72$  мг/кг).

В течение вегетативного периода в контейнерный субстрат вносилось минеральное удобрение Нитроаммофоска NPK 16:16:16 (04.07.2016 г. и 09.08.2016 г); растения обрабатывались фунгицидами: «Чистецвет» (дифеноконазол, содержание дв. 250 г/л) 03.08.2016; 29.08.2016 и «Абига-пик» (хлорокись меди дв 400 г/л) (22.09.2016 г). Во второй половине лета было внесено удобрение «Осень» PKCaMgS 5:18:8:2,5:12. В зиму посадочный материал хранился на полигоне доращивания. Контейнеры были плотно составлены друг к другу, с боков были укрыты слоем соломы толщиной 30-40 см, сверху был положен соломенный слой - 15-20 см.

В апреле следующего года (10.04.2017 г.) солома была убрана, и замеры были возобновлены до 22.10.2017 г. В июне 2017 года (28-30.06.2017 г) была проведена повторная перевалка из двухлитрового контейнера в семилитровый с использованием аналогичного субстрата. К указанному моменту корневая система растений полностью заполнила субстрат контейнера. Подкормки минеральными удобрениями и обработки фунгицидами проводились по схеме 2016 г.

Статистическая обработка была проведена с использованием статистического пакета программно-го Стадия 8.0 и Excel 13.0.

### Результаты и обсуждение

Изучение двухгодичного цикла доращивания в контейнерах растений, полученных в культуре *in vitro*, показали, что по итогам первого вегетативного периода приживаемость плодовых растений была достаточно высокой и варьировала в пределах 72-94 %. Сирень и чубушник также имели высокую приживаемость (84 % и 94% соответственно).

Массовая гибель рассматриваемых культур произошла после зимы 2016-2017 г. Вероятно, основным неблагоприятным фактором, повлиявшим на сохранность растений, стало наступление ранней весны с пролонгированной оттепелью с последующим резким понижением температуры до  $-8^{\circ}C$  и снегопадами (апрель 2017 г.). Наиболее уязвимыми в данной ситуации оказались плодовые культуры, среди которых лучшую сохранность показала малина ремонтантная Шапка Мономаха (70 %), а худшую – вишня Молодежная (44 %) (рис. 1). У декоративных пород, лучшую сохранность продемонстрировал чубушник венечный Снежная буря (86 %), худшую – сирень обыкновенная Фэнтези (68 %) (рис.2). Необходимо отметить, что при вегетативном размножении чубушники формируют более развитую корневую систему, по сравнению с различными видами сирени. Данное обстоятельство, возможно сыграло роль при зимовке растений на полигоне доращивания.

В процессе эксперимента оценивались также такие важные показатели как прирост по высоте и диаметру растений, количество побегов первого порядка (рис. 3, 4, табл. 1).

Прирост по высоте у различных пород был закономерно неодинаков, так у голубики Норт, он составил в среднем 17 см, у малины ремонтантной Шапка мономаха – 80 см, смородины черной Дар Смольяновой – 72,5 см, вишни Молодежной – 61 см, а также у сирени обыкновенной Фэнтези – 24 см, чубушника венечного Снежная буря – 66,5 см.

Побегообразование не очень активное в первый год выращивания к концу второго сезона соответствовало норме, количество ветвей у таких пород как смородина, малина превосходило норматив установленный ГОСТ Р 53135-2008. Для формирования товарных саженцев потребовалось два сезона, что необходимо учитывать при организации работ по доращиванию растений, полученных *in vitro*.

## Природопользование

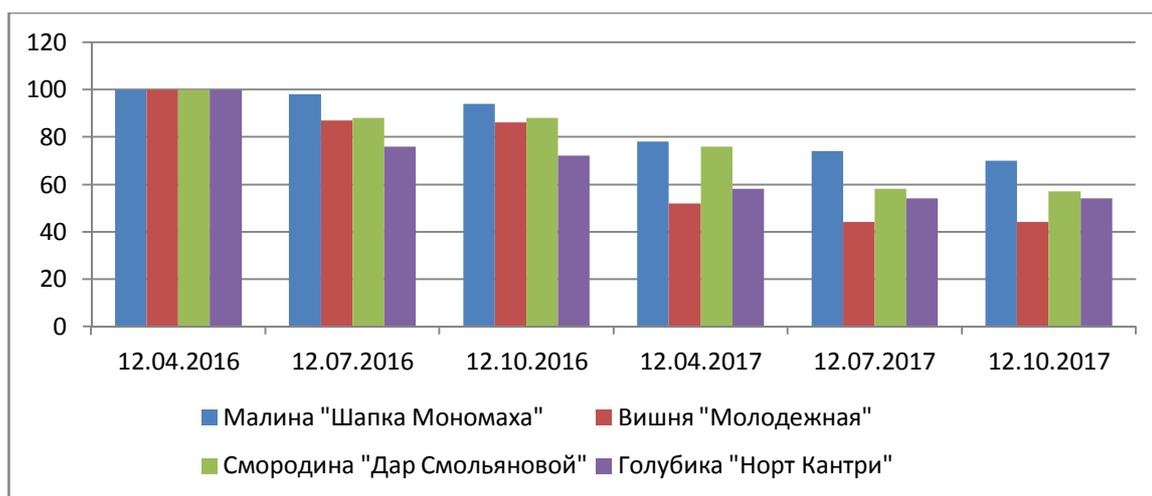


Рис. 1. Динамика отпада плодовых пород (культура *in vitro*) в период с апреля 2016 г. по октябрь 2017 г.

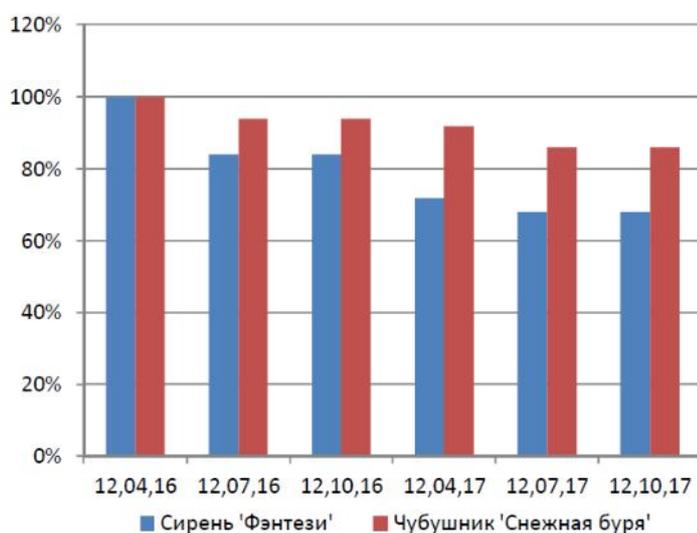


Рис. 2. Динамика отпада декоративных культур полученных *in vitro* в период с апреля 2016 г. по октябрь 2017 г.

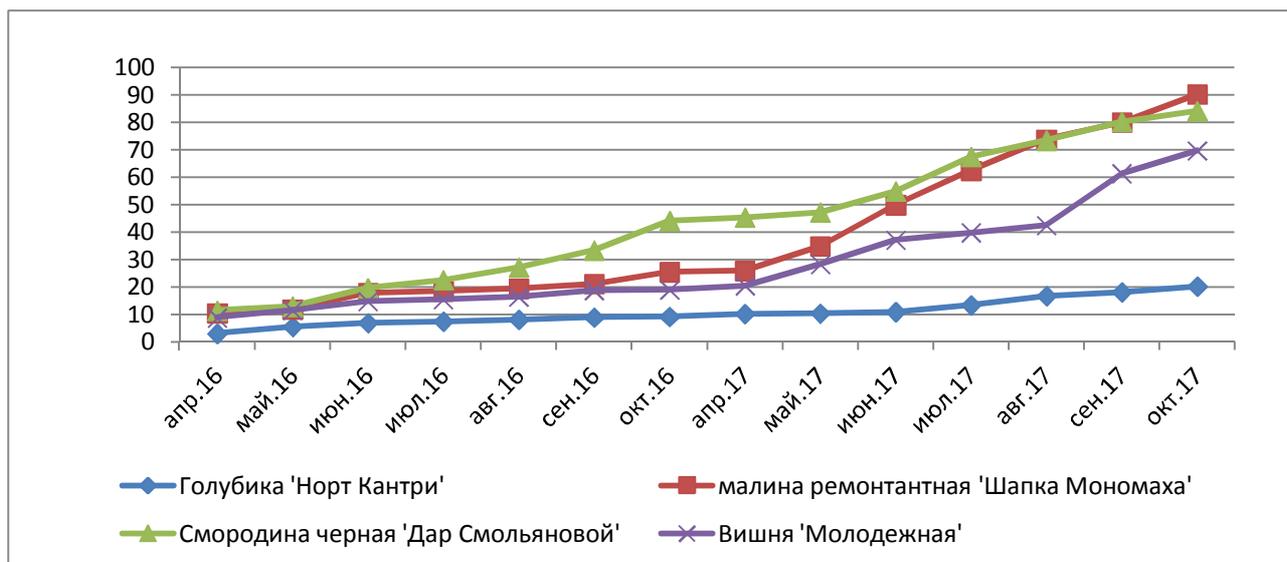


Рис. 3. Динамика роста в высоту плодовых культур в период апрель 2016- октябрь 2017 гг.



Рис. 4. Динамика роста в высоту декоративных пород в период с апреля 2016 г. по октябрь 2017 г.

Таблица 1

Биометрические показатели исследуемых пород, размноженных в культуре *in vitro*

Наименование породы	Высота, см		Диаметр корневой шейки, мм		Количество побегов
	M+m <sub>m</sub>	Cv, %	M+m <sub>m</sub>	Cv, %	
2016 год					
Голубика «Норткантри»	9,3±1,2	10,4	1,5±0,1	13,2	5,5
Малина ремонтантная «Шапка Мономаха»	21,1±1,4	12,8	1,2±0,2	14,2	1,4
Смородина «Дар Смольяниновой»	33,5±4,3	11,7	2,3±0,4	13,3	1,3
Вишня «Молодежная»	19±1,5	10,1	2,1±0,3	9,8	1
Сирень обыкновенная «Фантези»	15,6±1,3	12,3	1,2±0,3	11,5	1,8
Чубушник венечный «Снежная Буря»	26,9±1,8	15,6	2,1±0,4	16,2	1,7
2017 год					
Голубика «Норткантри»	20,3±3,2	14,8	2,3±0,1	13,7	13,3
Малина ремонтантная «Шапка Мономаха»	90,3±6,7	17,9	3,2±0,6	16,3	6,5
Смородина «Дар Смольяниновой»	84,2±5,6	14,5	5,1±0,4	13,8	4,7
Вишня «Молодежная»	69,8±5,9	12,3	8±0,5	11,2	3,5
Сирень обыкновенная «Фантези»	33±4,7	13,5	4,2±0,4	12,7	2
Чубушник венечный «Снежная Буря»	76,5±4,8	15,6	5,4±0,5	14,3	4,5

Важнейшим условием непрерывного роста в течение вегетативного периода являются подкормки минеральными удобрениями, т.к. при постоянных поливах происходит выщелачивание необходимых

питательных элементов с водой. Теряется в первую очередь азот в минеральных формах, а так же микроэлементы, что существенно тормозит рост и развитие растений.

Также важным условием получения кондиционных саженцев в контейнерах размноженных методом *in vitro* является ежегодная перевалка посадочного материала в контейнер большего объема. Данная операция позволяет не только увеличить площадь питания растения, но и предотвратить такое явление как закручивание корней, особенно у быстрорастущих древесных пород.

### Выводы

Результаты двухлетних полевых опытов, позволяют сделать следующие предварительные выводы:

При доращивании плодовых растений полученных по технологии *in vitro* в контейнерах различного объема приживаемость была различной и варьировала в пределах 72-94 %. У декоративных культур

данный показатель был выше (84-94 %).

Сохранность, определяемая на второй год выращивания, была различной. Лучшие показатели продемонстрировали культуры, хорошо размножаемые вегетативно, такие как малина (70 %), смородина (58 %), чубушник (86 %). Вишня и голубика уступают указанным культурам (44 % и 54 % соответственно).

Наибольший отпад, пересаженных растений произошел после зимовки растений.

Для подготовки кондиционного посадочного материала путем доращивания растений *in vitro* в контейнерах различного объема необходимо уделять внимание зимнему хранению и предотвращению повреждений поздними весенними заморозками.

### Библиографический список

1. Высоцкий, В. А. Биотехнологические приёмы в современном садоводстве [Текст] / В. А. Высоцкий // Плодоводство и ягодоводство России : сб. науч. работ. – М. : 2011. – Т. XXVI. – С. 3-10.
2. Жигунов, А. В. Применение биотехнологий в лесном хозяйстве России [Текст] / А. В. Жигунов // Лесной журнал. – 2013. – № 2. – С. 27-35.
3. Ягодные культуры в Центральном регионе России [Текст] / И. В. Казаков [и др.] – М. : ФГБНУ ВСТИСП, 2016. – 233 с.
4. Выращивание декоративных цветочных растений в культуре *in vitro* с использованием субстратов из органических отходов [Текст] / Е. М. Романов [и др.] // Вестник МарГТУ. – 2011. – № 3. – С. 72-81.
5. Сельскохозяйственная биотехнология [Текст] / В. С. Шевелуха [и др.]. – М. : Высш. шк., 1998. – 416 с.
6. Шестибратов, К. А. Перспективы использования технологии клонального микроразмножения в лесном хозяйстве для массового производства посадочного материала ценных генотипов древесных растений [Текст] / К. А. Шестибратов, А. И. Мирошников // Интеграл. – 2007. – № 1. – С. 74-75.
7. Яблонская, М. И. Биотизация Растений *in vitro* [Текст] / М. И. Яблонская, М. А. Молчанова, М. С. Гинс // Вестник РУДН, серия Агротомия и животноводство. – 2016. – № 1. – С. 15-20.
8. Engelmann, F. Technologies and strategies for ex situ conservation [Text] / F. Engelmann, J. Engels // Managing Plant genetic Diversity. Rome, 2002. – P. 89-104.
9. Innovational Mechanisms of Biotechnologies Support in Forest Sector for Providing Economic Security of the State Asian Social Science [Text] / S. S. Morkovina, M. V. Drapalyuk, P. M. Evlakov, N. A. Safonova // Asian Social Science. – 2015. – Vol. 11. – No. 20. – P. 41-48.
10. Rubos, A. C. Morphogenesis in embryonic tissue cultures of apple [Text] / A. C. Rubos, A. Pryke // Hort. Sci., 1984. – 59. – № 4. – P. 469-475.
11. Smaranda, V. In vitro multiplication of chrysanthemum morifolium Ramat [Text] / V. Smaranda // Analele științifice ale Universității “Al.I. Cuza” Iași Tomul LI, s. II a. – Biologievegetala, 2005. – P. 75-79.
12. Yasodha, R. Micropropagation for quality propagule production in plantation forestry [Text] / R. Yasodha, R. Sumathi, K. Gurumuthi // Indian J Biotechnol. – 2004. – Vol. 3. – P. 159-170.
13. Maurizio, M. Micropropagation and encapsulation: useful combination for nurseries [Text] / M. Maurizio, A. Standardi // AgroLife Scientific Journal, 2015. – Vol. 4. – No. 1. – P. 97-100.

### References

1. Vysotsky V. A. *Biotehnologicheskie prijomy v sovremennom sadovodstve* [Biotechnological methods in modern gardening] *Plodovodstvo i jagodovodstvo Rossii* [Fruit growing and gourd cultivation of Russia] Moscow, 2011, Vol. 36, pp. 3-10. (In Russian).

2. Zhigunov A. V. *Primenenie biotekhnologij v lesnom hozjajstve Rossii* [Application of biotechnologies in the forestry of Russia] *Lesnoj zhurnal* [Forest Journal] 2013, no. 2, pp. 27-35. (In Russian).
3. Kazakov I. V. [et al.]. *Jagodnye kultury v Central'nom regione Rossii* [Berry cultures in the Central region of Russia]. Moscow, 2016, 233 p. (In Russian).
4. Romanov E. M. [et al.]. *Vyrashhivanie dekorativnykh cvetochnykh rastenij v kul'ture invitro s ispol'zovaniem substratov iz organicheskikh othodov* [Growing decorative flower plants in an in vitro culture using substrates from organic waste] *Vestnik MarGTU*, 2011, no. 3, pp. 72. -81. (In Russian).
5. Shevelukha V. S. [et al.]. *Sel'skohozjajstvennaja biotekhnologija* [Agricultural Biotechnology] Moscow, 1998, 416 p. (In Russian).
6. Shestibratov K. A., Miroshnikov A. I. *Perspektivy ispol'zovaniya tehnologii klonal'nogo mikrorazmnozhenija v lesnom hozjajstve dlja massovogo proizvodstva posadochnogo materiala cennykh genotipov drevesnykh rastenij* [Perspectives of the use of clonal micropropagation technology in forestry for mass production of planting stock of valuable genotypes of woody plants] *Integral*, 2007, no. 1, pp. 74-75. (In Russian).
7. Yablonskaya M. A., Molchanova M. I., Gins M. S. *Biotizacija Rastenij in vitro* [Plant Biotisation in Vitro] *Vestnik RUDN, serija Agronomija i zhivotnovodstvo* [Bulletin of the Peoples' Friendship University of Russia, series Agronomy and Livestock]. 2016, no. 1, pp. 15-20. (In Russian).
8. Engelmann F., Engels J. *Technologies and strategies for ex situ conservation. Managing Plant genetic Diversity*. Rome, 2002, pp. 89-104.
9. Morkovina S. S. [et al.]. *Innovational Mechanisms of Biotechnologies Support in Forest Sector for Providing Economic Security of the State* *Asian Social Science*, 2015, Vol. 11, no. 20, pp. 41-48.
10. Rubos A. C., Pryke A. *Morphogenesis in embryonic tissue cultures of apple*. *Hort. Sci.*, 1984, 59, no. 4, pp. 469-475.
11. Smaranda V. *In vitro multiplication of chrysanthemum morifolium Ramat*. *Analele stiintifice ale Universitatii "A.I. Cuza" Iasi Tomul LI, s. II a. Biologievegetala*, 2005, pp.75-79.
12. Yasodha R. [et al.]. *Micropropagation for quality propagule production in plantation forestry*. *Indian J Biotechnol*, 2004, Vol. 3, pp.159-170.
13. Maurizio M., Standardi A. *Micropropagation and encapsulation: useful combination for nurseries*. *AgroLife Scientific Journal*, 2015, Vol. 4, no. 1, pp. 97-100.

### Сведения об авторах

*Трещевская Элла Игоревна* – профессор кафедры лесных культур, селекции и лесомелиорации ФГБОУ ВО «Воронежский государственный лесотехнический университет имени Г.Ф. Морозова», доктор сельскохозяйственных наук, доцент, г. Воронеж, Российская Федерация; e-mail: lesomel@yandex.ru.

*Цепляев Алексей Николаевич* – докторант кафедры лесных культур, селекции и лесомелиорации ФГБОУ ВО «Воронежский государственный лесотехнический университет имени Г.Ф. Морозова», кандидат сельскохозяйственных наук, г. Воронеж, Российская Федерация; e-mail: abies@mail.ru.

*Туртанова Елена Николаевна* – студентка ФГБОУ ВО «Воронежский государственный лесотехнический университет имени Г.Ф. Морозова», 4 курс, направление «Ландшафтная архитектура», г. Воронеж, Российская Федерация; e-mail: turtanova2017@yandex.ru

### Information about authors

*Treshchevskaya Ella Igorevna* – Associate Professor of Forest Crops, Selection and Afforestation Department of Federal State Budget Education Institution of Higher Education «Voronezh State University of Forestry and Technologies named after G.F. Morozov», PhD in Agriculture, Associate Professor, Voronezh, Russian Federation; e-mail: lesomel@yandex.ru.

*Tseplyaev Alexey Nikolaevich* – Doctoral candidate of the Department of Forest Crops, Selection and Forest Federal State Budget Education Institution of Higher Education «Voronezh State University of Forestry and Technologies named after G.F. Morozov», PhD in Agriculture, Voronezh, Russian Federation; e-mail: abies@mail.ru.

*Turtanova Elena Nikolaevna* – student of Federal State Budget Education Institution of Higher Education «Voronezh State University of Forestry and Technologies named after G.F. Morozov», Voronezh, Russian Federation; e-mail: turtanova2017@yandex.ru.