

УДК 631.589:634.23:581.143.6:581.4

Т. А. КРАСИНСКАЯ, Н. В. КУХАРЧИК

## ВЛИЯНИЕ ИОНООБМЕННОГО СУБСТРАТА БИОНА-112 НА МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ РОДА *CERASUS* MILL. НА ЭТАПЕ АДАПТАЦИИ *EX VITRO*

Институт плодоводства НАН Беларуси

(Поступила в редакцию 24.04.2006)

**Введение.** Адаптация *ex vitro* достаточно сложный и стрессовый этап для растений после культуры *in vitro* как в морфологическом, так и в физиологическом плане. Во время адаптации *in vitro* растений к новым для них условиям *ex vitro* погибает значительное количество регенерантов, поэтому применяют различные способы, способствующие повышению количества нормально адаптированных растений в нестерильных условиях: снижение нитратов в питательных средах, использование восков для сбрызгивания листьев после культуры *in vitro* и т. д. Одним из способов улучшения адаптационного этапа является использование усовершенствованных или принципиально новых адаптационных субстратов, таких как ионообменные (ионитные). Они имеют ряд преимуществ перед традиционно используемыми почвами: высокий уровень минерального питания; контролируемый состав и pH; удобство в работе [2]; исключают ожог молодых тканей, который наблюдается при внесении минерального питания в землю с песком, чистый песок, торф, смесь торфа и песка, перлит [3] вследствие поступления питательных веществ из ионитных почв в процессе ионообмена; лучшие условия аэрации корневого пространства.

Применение чистого ионитного субстрата и в смеси с песком, перлитом, торфом существенно повышает приживаемость генетических регенерантов сахарной свеклы [2] и регенерантов картофеля *in vivo* [1], черенков сортов черной смородины Купалинка, Церера, Клуссоновская [5] и винограда [6], черенков декоративных кустарников и цветочных многолетников [3, 4]. Наличие даже остатка ионитного субстрата на корнях микроклонов положительно сказывается на их приживаемости при пересадке на постоянное место в почвенный субстрат [6].

Цель работы – изучение влияния ионообменного субстрата БИОНА-112 на рост и развитие растений р. *Cerasus* Mill., а также влияние генотипа растений на их способность к адаптации и развитию после культуры *in vitro*.

**Объекты и методы исследования.** Исследования проводились в отделе биотехнологии Института плодоводства НАН Беларуси в период с 28.06.2004 по 7.04.2005 г.

Объекты исследования – ионообменный субстрат БИОНА-112 и торфяной субстрат. Исследования проводились на примере клоновых подвоев вишни и черешни: слаборослые – GiSelA 5 (*Cerasus vulgaris* × *C. canescens*), ВСЛ-2 (*C. fruticosa* (Pall.) G. Waron. × *C. lannesiana* Carr.), среднерослый – ОВП-2 (*C. cerasus* × *C. Maakii*); и сортов вишни (*C. vulgaris*) Вянок и Новодворская.

На адаптацию растения высаживались после этапа ризогенеза *in vitro* на следующие субстраты: 1 – торфяной субстрат (контроль, К); 2 – ионообменный субстрат БИОНА-112.

Торфяной субстрат – смесь субстрата «Флорабел-5» и песка речного в соотношении 3:1, проавтоклавируемая при давлении 1,2 атм. в течение 2 ч. По данным производителя, субстрат «Флорабел-5» представляет собой торф, насыщенный следующими элементами, мг/100 г: азот (N) – 130±40, фосфор (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) – 130±40, калий (K<sub>2</sub>O) – 170±50. Данный субстрат рекомендован для выращивания овощных, декоративных культур и рассады. Состав водной вытяжки приготовлен-

Т а б л и ц а 1. Состав водных вытяжек адаптационных субстратов

Субстрат	Концентрация иона, мг-экв/л									
	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Fe <sup>3+</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	H <sub>2</sub> P0 <sub>4</sub> <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Cl <sup>-</sup>
Торфяной (К)	0,697	0,48	3,20	2,8	0,122	0,37	1,28	0	1,254	1,76
БИОНА-112	6,86	1,57	4,4	2,93	0,10	2,61	11,43	1,02	2,43	1,72

ного торфяного субстрата после автоклавирования представлен в табл. 1. Значение pH водной вытяжки из торфяного субстрата – 7,7. Данный субстрат использовался на I и на II этапах адаптации.

Субстрат БИОНА-112 представляет собой ионообменный субстрат на основе катионита КУ-2 (H<sup>+</sup>) и анионита ЭДЭ-10П (OH<sup>-</sup>) в соотношении 1:2,05, насыщенный различными макро- и микроэлементами в ионообменном виде. Микроэлементы (1 г на 1 кг сухой смеси КУ-2 (H<sup>+</sup>) и ЭДЭ-10П (OH<sup>-</sup>): Mn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> · 4H<sub>2</sub>O – 1,81, CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O – 0,49, ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O – 0,49, CoCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O – 0,06, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> – 0,10, Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub> · 10H<sub>2</sub>O – 1,75. Рабочая емкость анионита составляла 2,8 мг-экв/г. Значение pH водной вытяжки из субстрата БИОНА-112 составляло 6,05. Субстрат для исследования был разработан и получен в Институте физико-органической химии НАН Беларуси.

Адаптация проходила в 2 этапа:

*I этап адаптации.* Корни растений отмывали от остатков среды в слабом растворе перманганата калия и высаживали в кассеты объемом 50 мл, заполненные торфяным или ионообменным субстратом. Кассеты с растениями накрывали полиэтиленовой пленкой, создавая условия повышенной влажности, до тех пор, пока не появятся молодые верхушки. Полив производили дистиллированной водой. Адаптация растений после культуры *in vitro* проводилась в 3-м квартале года. Длительность I этапа адаптации – 14–17 недель.

*II этап (этап постадаптации).* Адаптированные растения пересаживали в горшки с торфяным субстратом объемом 500 мл. Длительность II этапа адаптации – 16 недель. Полив производили водопроводной водой.

Условия адаптации на 2 этапах: освещение 2,5–3 тыс. люкс, температура 20–22°C, фотопериод 16/8 часов.

Влияние и поствлияние адаптационных субстратов оценивали по результатам биометрических измерений следующих морфологических показателей растений в 4-кратной повторности: количество прижившихся растений (%), длина стебля (см), эффективность укоренения (после I этапа).

Показатель «эффективность укоренения» у адаптированных растений высчитывали по формуле  $N_k \times L_k / 10$ , где  $N_k$  – количество корней на растение, шт.;  $L_k$  – средняя длина корней, см [7].

Статистическую обработку проводили в программе Statistica 6.0, используя ANOVA, регрессионный анализ, критерий Дункана для сравнения средних величин.

**Результаты и их обсуждение.** В результате исследования было отмечено, что процесс адаптации и развития растений подвоев и сортов р. *Cerasus* Mill. в условиях *ex vitro* в зависимости от используемого адаптационного субстрата протекал по-разному.

*Подвой вишни и черешни.* Наибольший процент адаптированных к нестерильным условиям форм подвоев р. *Cerasus* Mill. с высокой степенью достоверности ( $p < 0,001$ ) и с результативностью  $85,3 \pm 1,56\%$  наблюдался на торфяном субстрате (табл. 2). Проявилась сортоспецифичная реакция растений на различные адаптационные субстраты: у подвоев GiSelA 5 и ВСЛ-2 на торфяном субстрате адаптировалось больше регенерантов, чем на субстрате БИОНА-112. В свою очередь, на процент адаптации подвоя ОВП-2 адаптационные субстраты не оказали достоверного влияния. Наиболее жизнеспособным при адаптации *ex vitro* из изучаемых форм оказался подвой GiSelA 5 ( $86,0 \pm 2,4\%$ ).

В то же время субстрат БИОНА-112 способствовал интенсификации ростовых процессов надземной и корневой части подвоев. В результате чего длина стеблей и показатель развития корне-

Т а б л и ц а 2. Влияние субстратов на развитие подвоев на I этапе адаптации ( $n = 4$ )

Сорт (фактор А)	Показатель	Адаптационный субстрат (фактор В)		Среднее по фактору А
		торфяной субстрат (К)	БИОНА-112	
GiSelA 5	приживаемость, %	92,0±0,00	80,0±1,73 с	86±2,4
	длина стебля, см	3,5±0,39	7,0±1,15 а	5,3±0,87
	эффективность укоренения	1,54±0,06	2,13±0,27 а	1,83±0,17
ВСЛ-2	приживаемость, %	83,3±0,75	73,5±0,50 с	78,4±1,89 с
	длина стебля, см	8,9±0,85	15,4±2,08 с	12,2±1,61 с
	эффективность укоренения	1,06±0,08	2,88±0,30 с	1,97±0,37 -
ОВП-2	приживаемость, %	80,5±1,50	82,3±0,25 -	81,4±0,78 cb
	длина стебля, см	3,4±0,17	6,7±0,44 -	5,1±0,66 -c
	эффективность укоренения	1,26±0,03	1,77±0,17 -	1,51±0,13 -a
Среднее по фактору В				
приживаемость, %		85,3±1,56	78,6±1,25 с	
длина стебля, см		5,3±0,82	9,7±1,42 с	
эффективность размножения		1,29±0,07	2,26±0,19 с	

П р и м е ч а н и е: «а, b, с, -» – достоверность между средними, где «а» –  $p < 0,05$ , «b» – при  $p < 0,01$ , «с» –  $p < 0,001$ , «-» – разница незначима. То же для табл. 3–5.

вой системы «эффективность укоренения» были почти в 2 раза выше, чем на торфяном субстрате. Эти закономерности в первую очередь были характерны для подвоев GiSelA 5 и ВСЛ-2, которые характеризовались более значимой зависимостью морфометрических показателей от адаптационного субстрата, чем подвой ОВП-2.

Хорошее развитие корневой системы на ионообменном субстрате можно объяснить труднодоступностью элементов минерального питания, содержащихся в частицах ионита. Питание происходит в основном обменным путем при непосредственном контакте корней с частичками ионитного субстрата. Это стимулирует образование большого количества боковых и придаточных корешков и удлинение корневой системы, что приводит к постоянному перемещению зоны всасывания и позволяет вовлекать для всасывания все новые и новые слои субстратов. А это, в свою очередь, и способствует хорошему развитию надземной части растения. В 1978 г. на примере гвоздики ремонтантной В. С. Солдатов отметил, что черенки в период укоренения нуждаются в азоте и кальции [3]. В большем количестве эти элементы обнаружены в субстрате БИОНА-112 (табл. 1), на котором и отмечено интенсивное развитие корневой системы как у подвоев, так и у сортов. Интенсивный рост стеблей растений на ионообменном субстрате также может быть объяснен высоким содержанием макро- и микроэлементов, необходимых для роста (особенно азота, содержание которого в БИОНА-112 в 9 раз выше, чем в торфяном субстрате).

Рассматривая влияние генотипа подвоев на способность к росту надземных органов, необходимо отметить, что подвои GiSelA 5 и ОВП-2, полученные от межвидового скрещивания и материнской формой которых является *C. vulgaris*, имели одинаково длину стебля (5,3±0,87 см у подвоя GiSelA 5 и 5,1±0,66 см у ОВП-2). В то же время длина стебля подвоя ВСЛ-2, материнской формой которого служил вид *C. fruticosa*, была в 2 раза выше.

*Сорта вишни.* Как для подвоев, так и для сортов торфяной субстрат способствовал наибольшему проценту приживаемости регенерантов в нестерильных условиях (табл. 3). Влияние адаптационных субстратов на развитие растений было неоднозначно. Длина стеблей сортов достоверно не отличалась на обоих адаптационных субстратах и достигала 11,6±1,29 см на субстрате БИОНА-112, 8,9±0,38 см на торфяном субстрате. Корневая система сортов на ионообменном субстрате характеризовалась как наиболее развитая. Однако следует отметить, что развитие растений на субстратах для адаптации в целом зависело от генотипа. Так, ионообменный субстрат

Т а б л и ц а 3. Влияние субстратов на развитие сортов на I этапе адаптации ( $n = 4$ )

Сорт (фактор А)	Показатель	Адаптационный субстрат (фактор В)		Среднее по фактору А
		торфяной субстрат (К)	БИОНА-112	
Вянок	приживаемость, %	91,5±4,9	59,3±0,75 с	75,4±6,51
	длина стебля, см	8,9±0,75	13,3±0,74 а	11,1±0,96
	эффективность укоренения	1,19±0,17	2,28±0,24 с	1,74±0,25
Новодворская	приживаемость, %	71,3±3,07	50,0±0,00 с	60,6±4,26 с
	длина стебля, см	8,8±0,31	9,9±2,31 -	9,4±1,11 -
	эффективность укоренения	0,79±0,09	0,94±0,14 -	0,87±0,08 с
Среднее по фактору В				
приживаемость, %		81,4±4,67	54,6±1,78 с	
длина стебля, см		8,9±0,38	11,6±1,29 -	
эффективность укоренения		0,99±0,12	1,61±0,28 b	

способствовал интенсивному росту стебля и развитию корневой системы сорта Вянок. В то же время развитие растений сорта Новодворская не зависело от адаптационного субстрата и все морфометрические показатели были ниже, чем у сорта Вянок.

*Сравнительный анализ подвоев и сортов.* Показатели приживаемости подвоев в условиях *ex vitro* и развития их корневой системы были выше таковых у сортов. Следует отметить, что для сортов и в традиционных условиях произрастания характерно слабое корнеобразование и, как следствие этого, низкая или крайне низкая приживаемость в питомнике.

При адаптации *ex vitro* у сортов и подвоев наблюдалась достоверно положительная, но слабая корреляционная зависимость между эффективностью укоренения и длиной стебля, что подтверждают полученные результаты статистической обработки: коэффициент детерминации  $R^2 = 0,49$ ,  $p < 0,001$  для подвоев и  $R^2 = 0,38$ ,  $p < 0,05$  для сортов. Рассматривая влияние отдельно каждого адаптационного субстрата на эту зависимость, следует отметить, что субстрат БИОНА-112 с высокой степенью достоверности способствует гармоничному развитию надземной части и корневой системы подвоев ( $r = 0,86$ ,  $R^2 = 0,73$ ,  $p < 0,001$ ), у сортов отмеченная прямая корреляция характеризовалась низкой степенью зависимости ( $R^2 = 0,32$ ). На торфяном субстрате у подвоев отмечалась отрицательная корреляция между эффективностью размножения и длиной стебля с низкой степенью зависимости ( $r = -0,5$ ,  $R^2 = 0,25$ ,  $p < 0,01$ ), а у сортов было отмечено независимое варьирование данных показателей.

Развитие подвоев и сортов на ионообменном субстрате объединяется общей тенденцией гармоничного развития при адаптации *ex vitro*. Только у подвоев эта тенденция выражена достоверно сильнее, чем у сортов. На торфяном субстрате общую закономерность развития подвоев и сортов определить невозможно в силу его слабого и неоднозначного влияния на общее развитие растений.

Таким образом, максимальный процент прижившихся растений при адаптации для подвоев и сортов отмечался на торфяном субстрате. Ионообменный субстрат стимулировал более интенсивное развитие надземной части и корневой системы у подвоев, а корневой системы только у сортов. У сорта Новодворская и подвоя ОВП-2 наблюдалось независимое от адаптационного субстрата варьирование морфометрических показателей. В результате установлено, что подвои лучше адаптировались и развивались после культуры *in vitro*, чем сорта.

Поствлияние адаптационных субстратов на дальнейшее развитие растений оценивали по интенсивности роста надземной части растений.

*Подвои вишни и черешни.* После II этапа адаптации отмечено поствлияние адаптационных субстратов на дальнейшее развитие подвоев. У них сохранилась тенденция к интенсивному росту стебля растений, первоначально адаптированных на субстрате БИОНА-112. В результате интенсификации ростовых процессов после ионообменного субстрата и остановки роста после тор-

Т а б л и ц а 4. Интенсивность роста подвоев после двух этапов адаптации (n = 4)

Сорт (фактор А)	Показатель	Адаптационный субстрат		Среднее по фактору А
		торфяной субстрат (К)	БИОНА-112	
Gisela 5	<u>Длина стебля</u> , см	<u>0,73±0,51</u>	<u>0,7±0,69-</u>	<u>0,71±0,40</u>
	длина стебля	4,3±0,64	7,7±1,59-	6,0±1,03
ВСЛ-2	<u>Длина стебля</u> , см	<u>-1,8±0,68</u>	<u>10,2±3,71с</u>	<u>4,16±2,86-</u>
	длина стебля	7,1±0,59	25,6±2,38с	16,4±3,67 с
ОВП-2	<u>Длина стебля</u> , см	<u>1,38±0,14</u>	<u>2,5±1,18-</u>	<u>1,94±0,59--</u>
	длина стебля	4,8±0,29	9,2±0,82а	6,9±0,93 -с
Среднее по фактору В				
<u>Длина стебля</u> , см		<u>0,10±0,49</u>	<u>4,47±1,72b</u>	
длина стебля		5,4±0,46	14,2±2,60с	

П р и м е ч а н и е: Длина стебля – разница длины стебля растений между II и I этапом адаптации. То же для табл. 5.

Т а б л и ц а 5. Интенсивность роста сортов после двух этапов адаптации (n = 4)

Сорт (фактор А)	Показатель	Адаптационный субстрат		Среднее по фактору А
		торфяной субстрат (К)	БИОНА-112	
Вянок	<u>Длина стебля</u> , см	<u>-0,63±1,22</u>	<u>-1,84±0,68-</u>	<u>-1,2±0,69</u>
	длина стебля	8,3±1,24	11,5±0,35-	9,9±0,85
Новодворская	<u>Длина стебля</u> , см	<u>0,73±1,16</u>	<u>-0,45±3,86-</u>	<u>0,14±1,88-</u>
	длина стебля	9,5±0,99	9,5±1,75-	9,5±0,93 -
Среднее по фактору В				
<u>Длина стебля</u> , см		<u>0,05±0,82</u>	<u>-1,15±1,83-</u>	
длина стебля		8,9±0,77	10,5±0,91-	

фяного длина надземной части растений, адаптированных на субстрате БИОНА-112, превосходила таковую у растений, адаптированных на торфяном субстрате, в 2,6 раз. Данная закономерность была характерна в первую очередь для подвоя ВСЛ-2, сохранившего тенденцию к наибольшему росту по сравнению с остальными подвоями (табл. 4). На торфяном субстрате дальнейший рост растений вышеуказанного подвоя был приостановлен, и внешний вид их был неудовлетворительным. Интенсивность роста подвоев GiSelA 5 и ОВП-2 не зависела от адаптационного субстрата, но подвой ОВП-2 к концу II периода адаптации имел длину стебля на субстрате БИОНА-112 почти 2 раза выше, чем на торфяном субстрате.

*Сорта вишни.* При пересадке сортов с обоих адаптационных субстратов на торфяной субстрат их рост в длину остановился (табл. 5). Можно предположить, что растения испытали повторный стресс в результате пересадки с одного вида субстрата на другой, а также в результате пересадки с торфяного субстрата на торфяной субстрат в большей емкости.

Таким образом, положительное поствлияние ионообменного субстрата на рост стебля достоверно отмечалось только у подвоев.

**Заключение.** Адаптация растений р. *Cerasus* Mill. и их морфологическое развитие были достоверно обусловлены адаптационными субстратами и генотипом растений.

Торфяной адаптационный субстрат обеспечивал больший процент прижившихся регенерантов, изученных подвоев и сортов. Ионообменный субстрат БИОНА-112 способствовал гармоничному и интенсивному развитию надземной части и корневой системы подвоев и развитию корневой системы сортов. Отмечалась сортовая специфичность подвоев и сортов в развитии на адаптационных субстратах: морфологическое развитие сорта Новодворская и подвоя ОВП-2 не зависело от вида адаптационного субстрата, в то время как у подвоев GiSelA 5 и ВСЛ-2, сорта Вянок лучшие показатели развития наблюдались на субстрате БИОНА-112.

На этапе постадаптации достоверно отмечено положительное влияние ионообменного субстрата на дальнейший рост надземной части подвоев. Сорта на этом этапе испытывали повторный стресс, проявившийся в остановке роста растений.

## Літэратура

1. Матусевич В. В., Семенова З. А., Хирсанова И. Ф. // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 1995. № 2. С. 53–57.
2. Свіршчэўская Г. М., Матусевич В. В., Барзьяк В. С., Борматаў У. Я. // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 1995. № 4. С. 36–39.
3. Солдатов В. С., Перышкина Н. Г., Хорошко Р. П. Ионитные почвы. Мн., 1978. С. 200–221.
4. Судейная С. В., Тимофеева В. А. // Изучение биоразнообразия флоры Беларуси и обогащение генофонда культурных растений: Материалы Межвузовского семинара ботанических кафедр по проблемам биоразнообразия флоры и селекции культурных растений. Минск, 24–26 апреля 2002 года. Мн., 2003. С. 80–83.
5. Судейная С. В., Утыро Л. Б. // Обогащение и сохранение генофонда на основе повышения биологического потенциала растительных ресурсов: Сб. науч. тр. Мн., 2000. С. 89–92.
6. Гуалева М. И., Стыцко С. А., Белякова З. Н. и др. // Садоводство и виноградарство. 1990. № 9. С. 14–16.
7. Jiang Hujun, Pan Jishu, Men Xinfu // Acta Agr. Univ. Pekin, 1993. Vol. 19. N 1. P. 49–52.

T. A. KRASINSKAYA, N. V. KOUKHARTCHYK

### EFFECT OF ION EXCHANGE SUBSTRATE BIONA-112 ON *CESARUS MILL.* PLANTS MORPHOLOGICAL DEVELOPMENT DURING *EX VITRO* ADAPTATION

#### Summary

The influence of adaptation substrates (peat and ion exchange – BIONA-112) on the processes of adaptation, growth and development of rootstocks (GiSelA 5, OVP-2, VSL-2) and cultivars (Vyanok and Novodvorskaya) of *Cerasus Mill.* at *ex vitro* adaptation was studied. It was established that the adaptation substrates and *Cerasus Mill.* plant genotypes much affected the quantity of survived plants and their morphological development at *ex vitro* adaptation. The after-effect of ion-exchange adaptation substrate upon the plant morphological development was observed during further plant cultivation on traditional substrate.

The positive after-effect of ion exchange substrate upon a further growth of the above-ground part of rootstocks was established on a significant high level. At the post-adaptation stage, the cultivars underwent repeated stress, resulting in the plant growth inhibition.