

## ПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ СОРТА ЯБЛОНИ (*MALUS DOMESTICA* BORKH.) БОЛОТОВСКОЕ В СВЯЗИ С ВОПРОСАМИ ПОЛИПЛОИДИИ

**В. Е. ДЖАФАРОВА**, кандидат с.-х. наук, старший научный сотрудник

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский НИИ селекции плодовых культур» (ВНИИСПК), Россия, 302530 Орловская обл., Орловский р-н, п/о Жилино, e-mail: saida.89@mail.ru

*Проведено изучение влияния среды Мурасиге-Скуга (МС) и И.М. Фардзиновой (Ф) на пролиферативную активность сорта яблони Болотовское, иммунного к парше, в условиях in vitro. Установлено, что конгломераты этого сорта активнее развиваются на второй из названных сред в разных ее модификациях. Наибольший коэффициент размножения обеспечивает среда Ф-4. В процессе исследований преобладала пролиферация почек над побегами, независимо от модификации среды Ф. Её использование позволяет интенсифицировать этап собственно микро-размножения и увеличить выход почек. Целесообразно включать названную среду в технологию микро-размножения изучаемого сорта.*

**Ключевые слова:** яблоня, *in vitro*, микро-размножение, сорта, коэффициент размножения, почки, побеги, триплоид.

**Актуальность исследований.** На современном этапе развития садоводства яблоня была и остается одной из ведущих среди многолетних плодовых культур. В настоящее время существует огромное количество её сортов, большинство из которых диплоиды. Однако наибольший хозяйственный и коммерческий интерес, как доказано практикой, представляют те из них, которые обладают триплоидным набором хромосом ( $2n=51$ ).

По совокупности хозяйственно полезных признаков, а также по массе [5, 8, 13] и содержанию аскорбиновой кислоты в плодах [1, 5, 7, 8] триплоидные сорта превосходят диплоидные и характеризуются следующими преимуществами: высокой и регулярной урожайностью по годам [1, 7, 12], отсутствием резко выраженной периодичности плодоношения [5], более высокой продуктивностью [4], большей самоплодностью [15], повышенной устойчивостью к болезням [8, 11].

Совершенствуя сортовой состав яблони, селекционеры прибегают к использованию актуальных методов, одним из которых является полиплоидия.

Вовлечение полиплоидов в селекционный процесс способствует чрезвычайно сильному возрастанию изменчивости среди полового потомства полиплоидных растений, что, в свою очередь, определяет возрастание возможностей данного направления в селекции яблони, так

как исследователь получает для отбора большой объем материала с широким спектром генетического разнообразия [9].

Основой массового получения триплоидных сортов являются интервалентные скрещивания, то есть диплоидов с тетраплоидами. В этом процессе не возникает вопрос о количестве диплоидов для скрещиваний. Здесь важно иметь в достаточном объеме исходные формы-доноры диплоидных гамет (тетраплоиды), которые сегодня представлены небольшим количеством. Существенным недостатком имеющейся коллекции их доноров в настоящее время является отсутствие среди них форм, иммунных к парше [10]. Получить такие формы можно было бы путем колхицинирования меристем диплоидных иммунных сортов в культуре *in vitro*.

Известно, что используя метод микроклонального размножения, меристематические ткани можно культивировать в большом объеме в течение круглого года. Однако это касается не всех генотипов. При клональном микроразмножении индивидуальная реакция генотипов проявляется значительно сильнее, чем при традиционных способах размножения. А условия микроразмножения, разработанные для одних генотипов, не всегда могут быть использованы для размножения других. Отсюда целью наших исследований явилось изучение пролиферативных возможностей сорта яблони Болотовское, иммунного к парше.

**Методика исследований.** Собственно микроразмножение проводили с учетом рекомендаций Ф.Л. Калинина, В.В. Сарнацкой, В.Е. Полишук, 1980 [6].

Для размножения указанного сорта использовали среду Мурасиге-Скуга (МС), 1962 [16], а в качестве испытуемой – И.М. Фардзиновой (Ф), 1999 [14].

Основные параметры культивирования эксплантов яблони, необходимые для культуры *in vitro*, общепринятые.

**Результаты исследований.** Наиболее универсальной для большинства плодово-ягодных культур и в частности для яблони до настоящего времени считается питательная среда Мурасиге - Скуга. Однако используют некоторые модификации её питательной основы в зависимости не только от видовой специфики, но и от генотипа растения.

Наши ранние исследования [2] свидетельствуют о том, что среда МС (по прописи) не обеспечивает массовое размножение сортов яблони, иммунных к парше, поскольку, как оказалось, их регенерационная способность довольно мала (коэффициент размножения составлял 1,0-1,2). Но при концентрации цитокинина (БАП) 1 мг/л данный показатель повысился до 1,4-1,7, а при 2 и 3 мг/л он существенно не различался и находился в пределах 2,0-2,7 в зависимости от сорта [3]. Таким образом, модифицированный нами вариант изучаемой среды позволил повысить эффективность развития сортов.

На этом этапе указанный вариант для пролиферации почек и побегов в оптимальном виде содержал двойной объем хелата железа, РР – 0,5 мг/л, В<sub>6</sub> – 0,1, В<sub>1</sub> – 0,4, С – 1,5, глицин – 2, инозит – 0, фитогормон 6-БАП – 2 мг/л.

У эксплантов на данной среде было отмечено хорошее развитие конгломератов. Но для массового пролиферирования меристем, а точнее адвентивных почек использование модифицированного варианта среды оказалось не приемлемо. Было установлено, что из 40 пробирок от конгломератов можно было отобрать всего лишь до 80 почек. Этот объем не позволяет в полной мере (с учетом методической выдержанности) провести исследования по колхицинированию, а в большом объеме – тем более.

Изучая практический опыт по культивированию многолетних плодовых культур *in vitro*, было обращено внимание на исследования по груше, проведенные И.М. Фардзиновой [14]. Предлагаемая ею питательная среда позволяет от единичного побега получить конгломераты из почек и побегов, количество которых достигает 40-45 единиц на один конгломерат.

Учитывая подобную результативность и необходимость повысить количественный уровень пролиферации почек, мы изучили пролиферативную активность сорта яблони Болотовское на средах Мурасиге-Скуга и И.М. Фардзиновой. Исследования показали, что развитие конгломератов данного сорта с большей активностью проходит на среде Ф (таблица).

Коэффициент размножения Болотовского, который создавала среда МС, не отличался ни высоким значением, ни стабильным изменением в сторону увеличения. Зато развитие конгломератов на среде Ф в разных ее модификациях способствовало более интенсивному пролиферированию сорта. При использовании сред Ф<sub>2</sub> и Ф<sub>3</sub> хотя и не наблюдалось постепенного увеличения коэффициента размножения от первого пассажа к четвертому, тем не менее этот показатель был выше, чем на МС. Проллиферация почек увеличилась от 0,8-1,9 в расчете на пробирку до 0,9-2,5.

Степень пролиферации яблони на средах Ф-4 и Ф-5 была выше, чем на четырех предыдущих. Коэффициент размножения на первой из названных уже в третьем пассаже достигал 7, где соотношение почек и побегов на конгломерат составило 6 : 1. Среда Ф-5 отличалась стабильным увеличением количества почек на протяжении первых трех пассажей.

Независимо от концентрации цитокинина на среде Ф в четырех ее модификациях преобладала пролиферация почек над побегами. Следует отметить, что на всех модификациях этой среды и по всем пассажам конгломераты почек и побегов имели здоровый вид и интенсивно зеленую окраску. Отсутствовали витрификация и некроз тканей, которые можно было наблюдать на МС.

В целом на основании сравнения результатов культивирования сорта на разных средах можно заключить, что для более успешного пролиферирования его почек целесообразнее ис-

пользовать Ф, а ее модификации применять в зависимости от практической потребности в материале или направленности изучения.

#### Пролиферативная активность сорта яблони Болотовское

Искусственная питательная среда		МС-1*	МС - 2	Ф - 2	Ф - 3	Ф - 4	Ф - 5
I пассаж	Коэффициент размножения	2,0±0,5	2,2±0,5	3,3±0,7	2,4±0,6	3,8±0,5	4,5±0,6
	Соотношение почек и побегов	1,1:0,9	1,2:1,0	2,5:0,8	1,6:0,8	2,8:1,0	3,6:0,9
	Средняя высота побега, мм	8,1±2,8	7,1±3,0	6,6±2,2	6,6±2,0	7,3±3,0	6,7±2,1
II пассаж	Коэффициент размножения	1,7±0,2	1,8±0,1	1,8±0,2	2,1±0,4	4,9±1,2	4,6±1,0
	Соотношение почек и побегов	0,8:0,9	0,9:0,9	0,9:0,9	1,1:1,0	4,1:0,8	3,8:0,8
	Средняя высота побега, мм	8,1±1,2	6,7±1,3	6,7±1,8	7,4±1,0	7,2±1,2	6,5±0,8
III пассаж	Коэффициент размножения	1,7±0,1	2,4±0,3	2,7±0,3	2,6±0,2	7,0±1,0	4,5±0,5
	Соотношение почек и побегов	1,1:0,6	1,9:0,5	1,8:0,9	1,4:1,2	6,0:1,0	3,8:0,7
	Средняя высота побега, мм	7,7±1,6	7,4±0,6	6,9±1,3	7,5±1,2	6,7±1,1	6,3±1,2
IV пассаж	Коэффициент размножения	1,8±0,1	2,4±0,3	3,5±0,2	2,5±0,3	5,4±1,0	3,9±0,2
	Соотношение почек и побегов	0,9:0,9	1,8:0,6	2,1:1,4	1,2:1,3	4,6:0,8	3,6:0,3
	Средняя высота побега, мм	7,0±1,7	7,5±1,6	7,0±1,0	9,2±2,8	5,9±1,1	5,3±0,7

\* МС-1 – среда МС + 1 мг/л БАП;

МС-2 – среда МС + 2 мг/л БАП;

Ф-2 – среда Ф с крайним наименьшим значением компонентов + 1 мг/л БАП;

Ф-3 – среда Ф с крайним наибольшим значением компонентов + 1 мг/л БАП;

Ф-4 – среда Ф с крайним наименьшим значением компонентов + 2 мг/л БАП;

Ф-5 – среда Ф с крайним наибольшим значением компонентов + 2 мг/л БАП.

**Выводы.** Проведенные исследования свидетельствуют о целесообразности включения среды Ф в технологию микроразмножения сорта яблони Болотовское. Её использование позволяет интенсифицировать этап собственно микроразмножения, повысить коэффициент размножения и увеличить выход почек.

#### Список использованной литературы

1. Вартапетян, В.В. Наследование содержания витамина С в плодах при скрещивании сортов яблони разной плоидности / В.В. Вартапетян, Т.В. Кошечкова // Селекция яблони на улучшение качества плодов. – Орел, 1985. – С. 186-190.

2. Джафарова, В.Е. Особенности микроклонального развития сортов яблони с геном Vf в связи с вопросами полиплоидии / В.Е. Джафарова // Селекция и сорторазведение садовых культур. – Орел : ВНИИСПК, 2007. – С. 80-85.
3. Джафарова, В.Е. Клональное микроразмножение яблони (*Malus domestica* Borkh.) с геном Vf и возможности индуцирования полиплоидных меристем в условиях *in vitro* / В.Е. Джафарова // Садівництво. – 2014. – Вип. 68. – С. 191-199.
4. Исаев, С.И. Селекционная эффективность семей гибридов от различных типов скрещивания яблони / С.И. Исаев // Биология и селекция яблони. – М.: Изд-во МГУ, 1976. – С. 5-53.
5. Исаев, С.И. Использование полиплоидии в селекции яблони / С.И. Исаев, И.И. Домрачева // Селекция яблони в СССР. – Орел, 1981. – С. 179-185.
6. Калинин, Ф.Л. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии / Ф.Л. Калинин, В.В. Сарнацкая, В.Е. Полищук. – Киев, 1980. – 240 с.
7. Лозицкий, А.Я. Биологическая и хозяйственная характеристика полиплоидных сортов яблони и груши: Автореферат дисс... на соискание ученой степени канд. биол. наук. — Л., 1970. – 20 с.
8. Пономаренко, В.В. Полиплоидия видов рода *Malus* Mill. / В.В. Пономаренко // Селекция яблони на улучшение качества плодов. – Орел : ВАСХНИЛ, 1985. – С. 163-168.
9. Седышева, Г.А. Оценка полиплоидных форм яблони в качестве исходного материала для получения триплоидного потомства / Г.А. Седышева, Е.Н. Седов // Проблемы оценки исходного материала и подбора родительских пар в селекции плодовых растений. – Мичуринск, 1996. – С. 18-22.
10. Седышева, Г.А. Эффективность использования полиплоидии в создании адаптивных сортов яблони / Г.А. Седышева, Е.Н. Седов // Роль сортов и новых технологий в интенсивном садоводстве. – Орел : Изд-во ГНУ ВНИИСПК, 2003. – С. 323-326.
11. Седов, Е.Н. Состояние и перспективы селекции яблони на полиплоидном уровне / Е.Н. Седов, Г.А. Седышева, В.В. Жданов // Селекция яблони на улучшение качества плодов. – Орел, 1985. – С. 169-178.
12. Туз, А.С. Полиплоидия у плодовых культур / А.С. Туз // Вестник с.-х. науки. – 1965. – №6. – С. 17-21.
13. Туз, А.С. Полиплоидия у яблони и груши / А.С. Туз, А.А. Лозицкий // Цитологические методы в селекции плодовых и ягодных культур. – М.: Колос, 1973. – С. 106-109.
14. Фардзинова, И.М. Питательная среда для микроклонального размножения груши / И.М. Фардзинова // Патент РФ, №2141524, от 20.11.1999.
15. Haskell, G. Man, poliploidy and fruit tree growing in Britain / G. Haskell // Evolution, N.J. – 1955. – P. 291-301.
16. Murashige, T. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // Physiologia plantarum. V. 15 – 1962. – №13. – P. 473-497.

## **PROLIFERATION ACTIVITY OF THE APPLE (*MALUS DOMESTICA BORKH.*) CULTIVAR BOLOTOVSKOYE CONCERNING POLYPLOIDY**

**V.E. DZHAFAROVA**, Cand Agr Sci, Senior Research Worker

Federal State Budget Scientific Institution “All Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding” (VNIISPK), Orel, Russia, e-mail: saida.89@mail.ru

*The influence of the Murashige-Skoog (MS) and I.M. Fardzinova (F) media on the proliferation activity of the scab immune apple cultivar Bolotovskoye has been studied in the condition of in vitro. The conglomerate of this cultivar has appeared to*

*develop more active on the F medium in its different modifications. The F-4 medium provides the highest coefficient of the propagation. In the process of the researches the proliferation of buds predominated over shoots irrespective of the F medium modification. The application of this medium enables to intensify the stage of the micropropagation itself and to increase the bud yield. It is expedient to involve the mentioned medium to the technology of the investigated cultivar micropropagation.*

**Key words:** apple, *in vitro*, micropropagation, cultivars, propagation coefficient, buds, shoots, triploid.

Одержано редколлегією 08.01.15