

СЕКЦИЯ 1. БИОТЕХНОЛОГИИ В ОРГАНИЗАЦИИ ПРОЦЕССОВ ОЗДОРОВЛЕНИЯ И РАЗМНОЖЕНИЯ САДОВЫХ КУЛЬТУР И ВИНОГРАДА

УДК 58.085:634.2

DOI 10.30679/2587-9847-2022-35-9-12

ПОВЕРХНОСТНАЯ ОБРАБОТКА ЭКСПЛАНТОВ КЛОНОВЫХ ПОДВОЕВ ВИШНИ НА ЭТАПЕ ВВЕДЕНИЯ *IN VITRO*

Авакимян А.О., аспирант, Амосова М.А., канд. с.-х. наук

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия» (Краснодар)

Реферат. В работе представлены результаты оценки использования дезинфицирующих средств торговых марок «ОКА-ТАБ» и «Аламинал» в качестве стерилизаторов для поверхностной обработки эксплантов при введении их в культуру *in vitro*. При обработке эксплантов клоновых подвоев вишни АИ 1, АИ 11, АИ 70 и АИ 71 эффективность обработки раствором «ОКА-ТАБ» 0,5 % (7 мин.) составляет 73,4-85 %. Средство «Аламинал» 1 % (5 мин.) рекомендуется только для дезинфекции эксплантов подвоя АИ 11. Его эффективность была на уровне контроля и составляла 77,8 %.

Ключевые слова: клоновые подвои, косточковые культуры, стерилизация, клональное микроразмножение, контаминация, некроз, экспланты

Summary. The research presents the results of evaluation of the use of disinfectants of the commercial remedy "OKA-TAB" and "Alaminol" as sterilizers for surface treatment of explants when they are introduced into the culture *in vitro*. The treatment efficiency of the «OKA-TAB» 0,5 % (7 min.) solution is 73.4-85% on the explants of clone cherry rootstocks AI 1, AI 11, AI 70 and AI 71. «Alaminol», 1 % (5 min.) is recommended only for disinfection of AI 11 rootstock explants. Its effectiveness was at the control level – 77.8%.

Key words: clone rootstocks, stone fruit, sterilization, *in vitro* culture, contamination, necrosis, explants

Введение. Микроразмножение – это современный метод вегетативного размножения растений, который уже давно используется для производства посадочного материала, особенно в производстве подвоев плодовых культур, в том числе вишни и черешни [1, 2]. Поверхностная стерилизация или удаление экзогенных и эндогенных патогенных микроорганизмов растений, является одним из ключевых моментов к успеху в микроразмножении. Основными загрязнителями среди *in vitro*, главным образом являются грибы и бактерии [3]

При стерилизации эксплантов вишни используют препараты различных химических групп: нитрат серебра, гипохлорит кальция, гипохлорит натрия, фунгициды [3-8]. Однако, все средства при обработке работают не одинаково хорошо. Успешность обработки определяется также многими факторами: возрастом растений, местом отбора эксплантов, уровнем инфицированности, этапом органогенеза растений.

Целью исследований являлась оценка эффективности поверхностной обработки эксплантов клоновых подвоев вишни дезинфицирующими средствами торговых марок «ОКА-ТАБ» и «Аламинал».

Объекты и методы исследований. Исследования проводились на базе ЦКП «Исследовательско-селекционная коллекция генетических ресурсов садовых культур» ФГБНУ СКФНЦСВВ в лаборатории вирусологии и селекционно-биотехнологической лаборатории. Объектами исследований являлись 4 клоновых подвоя для мелкокосточковых культур (вишня, черешня) различного происхождения: АИ-1, АИ-11, АИ- 70, АИ-71, селекции ФГБНУ СКФНЦСВВ.

Стерилизацию растительного материала проводили по схеме: часовая промывка проточной водопроводной водой с последующей обработкой по вариантам: стерилизация стерилизующим препаратом 0,5 % р-р «ОКА-ТАБ» 7 мин., 0,1 % р-р «Аламинол», 5 мин. р-р «Белизна» в разведении 1:3, 5 мин. (контроль), 3-х кратная отмычка стерильной водой с экспозицией по 5 минут. Экспланты вычленяли в асептических условиях в ламинарных боксах и высаживали в пробирки с питательной средой.

Стерилизующее средство «ОКА-ТАБ» в качестве действующего вещества содержит натриевую соль дихлоризоциануровой кислоты (86,8%). Раствор «ОКА-ТАБ» обладает антимикробной активностью в отношении грамотрицательных и грамположительных бактерий, вирусов.

«Аламинол» выпускается в виде концентрата, хорошо смешивается с водой. В качестве действующих веществ в состав входят 5% алкилдиметилбензиламмоний хлорида (ЧАС) и 8 % глиоксала. Раствор Аламинола эффективно воздействует на инфекции бактериальной, вирусной, грибковой этиологии. Данные дезинфицирующие средства используют для поверхностной стерилизации в медучреждениях.

Эффективность стерилизации оценивали по количеству чистых эксплантов, регенерировавших побеги, количеству некротизированных эксплантов (погибшие вследствие действия стерилизующего препарата), количеству эксплантов, зараженных патогенной микрофлорой.

Размер вводимого в культуру *in vitro* апекса – 2-3 мм.

В работе использованы методические рекомендации под редакцией Е.Н. Джигадло (2005) [9].

Культивирование эксплантов на этапе введения проводили в стеклянных пенициллинках, при температуре 24-26 °С и 16-ти часовом освещении с интенсивностью 2500-3000 люкс.

Обсуждение результатов. Для введения использовали экспланты из апикальных почек в фазу активного роста побегов. В ходе работы испытывали действие дезинфицирующих средств «ОКА-ТАБ» и «Аламинол». Средство «ОКА-ТАБ» уже использовали раннее для стерилизации эксплантов других плодовых культур. Препарат показывал хорошую эффективность при санации эксплантов подвоев яблони [10].

Анализ обработки показал, что обработка раствором «ОКА-ТАБ» показывает достаточно высокую эффективность при обработке эксплантов подвоев вишни. Эффективность обеззараживания составляет 73,4 - 85 % (рис. 1). При обработке эксплантов подвоя АИ 71 и АИ 11 процент чистых жизнеспособных эксплантов был выше, чем в контроле на 5 % и 8,4 %, у подвоев АИ 1 и АИ 70 на 8,8 % и 15,1 % ниже, чем в контрольном варианте.

Обработка средством «Аламинол» удалила только 50-60 % патогенной микрофлоры с поверхности эксплантов подвоев АИ 1 и АИ 71, при обработке подвоя АИ 11 средство сработало на уровне контрольного варианта.

Наибольшее фитотоксическое действие (некроз тканей) стерилизаторов проявлялось при обработке эксплантов подвоя АИ 1, причем по всем вариантам опыта: в контрольном варианте некроз эксплантов составлял 11,1 %, при обработке «ОКА-ТАБ» – 19 %, при обработке «Аламинолом» – 28,6 % (рис. 1).

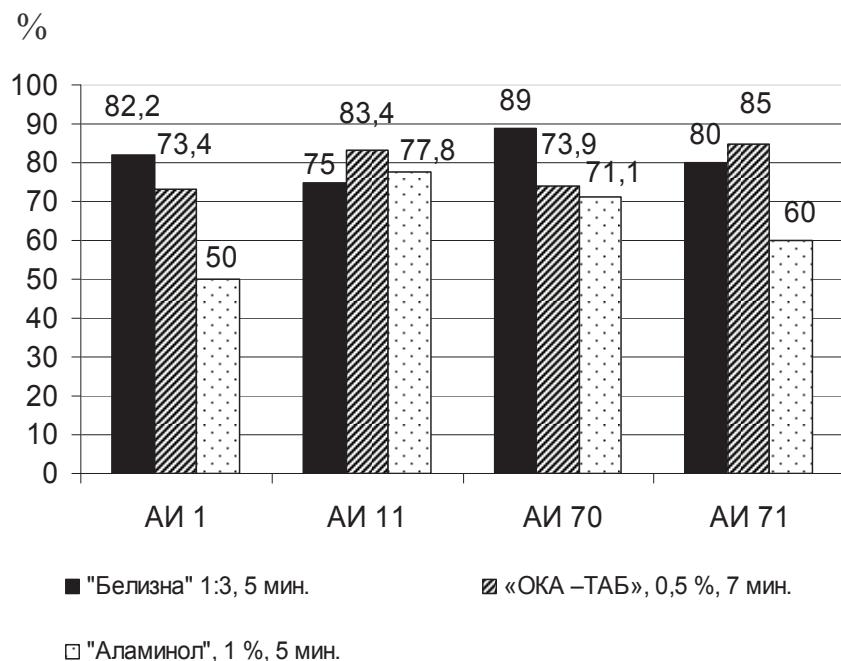


Рис. 1. Выход жизнеспособных эксплантов подвоев вишни после поверхностной стерилизации

Таким образом, подвой АИ 1 проявляет чувствительность к стерилизующим препаратам, содержащим хлор. Уровень некроза у остальных подвоев варьировал в пределах 0-15,6 % (рис. 2).

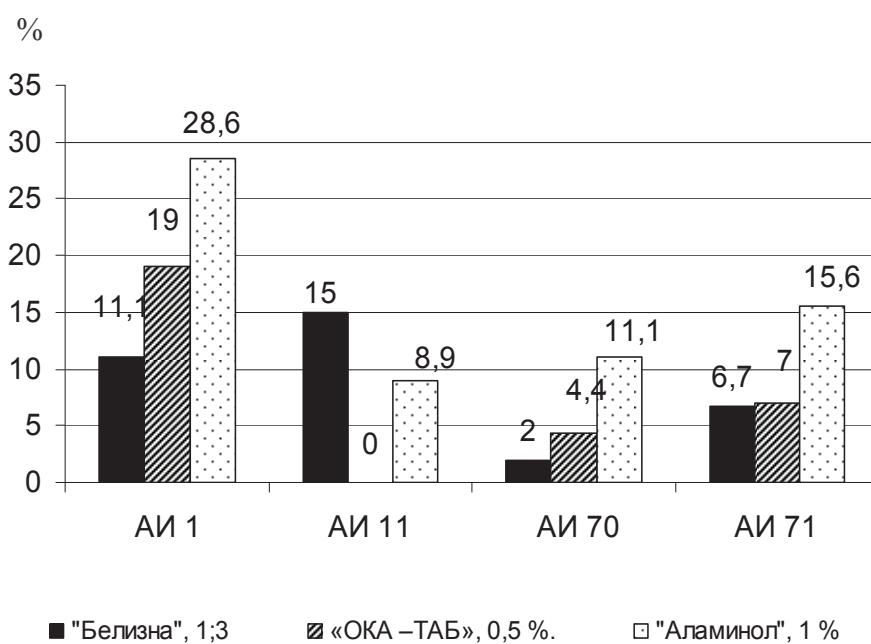


Рис. 2. Процент некроза тканей у эксплантов подвоев вишни после обработки дезинфицирующими средствами

Уровень контаминации эксплантов после обработки дезинфицирующим средством «ОКА-ТАБ» составил 7,6-21,7 %, «Аламинолом» – 13,3-24,4 %, в контрольном варианте при обработке средством «Белизна» – 6,7-10 % (рис. 3).

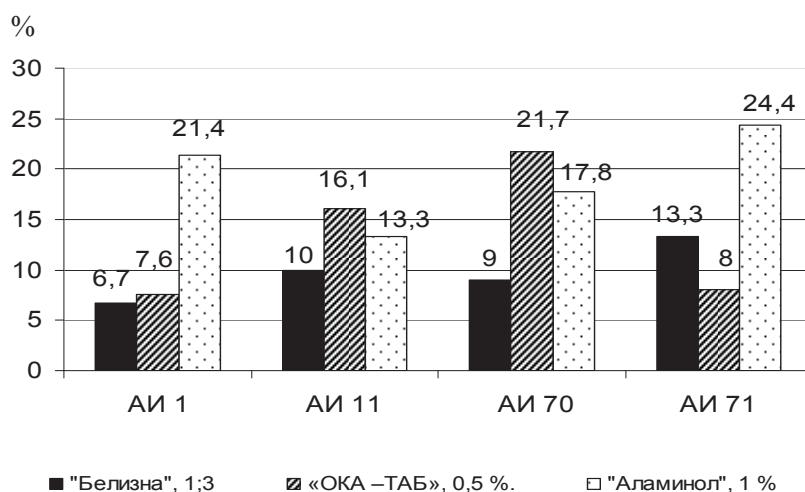


Рис. 3. Уровень контаминации эксплантов подвоев вишни после обработки стерилизаторами

Выходы. Для поверхностной обработки эксплантов клоновых подвоев вишни от патогенной микрофлоры в период активного роста побегов (май-июнь) можно использовать 0,5 % растворов дезинфицирующих таблеток «ОКА-ТАБ» с экспозицией 7 минут. Эффективность санации составляет 73,4-85 % в зависимости от генотипа растений. Средство «Аламинол», 1 % р-р в экспозиции 5 минут можно применять для обработки подвоя АИ 11. Эффективность обработки составляет 77,8 %.

Литература

- Godoy S., Tapia E., Seit P. et al. Temporary immersion systems for the masspropagation of sweet cherry cultivars and cherry rootstocks: development of a micropagation procedure and effect of culture conditions on plant quality // In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant. 2017. №53. P. 494-504.
- Tsafouros A., Roussos P. First Report of Krymsk® 5 (cv. VSL 2) Cherry Rootstock In Vitro Propagation: Studying the Effect of Cytokinins, Auxins and Endogenous Sugars // Not Bot Horti Agrobo. 2019. № 47(1). P. 152-161.
- Ghasheem N. AL., Stănică F., Petrică A. G., Venat O. In vitro effect of various sterilization techniques on peach (*Prunus persica* (L.) Batsch) explants // Scientific Papers. Series B, Horticulture. 2018. Vol. LXII. P. 227-234.
- Bošnjaković D., Ognjanov V., Barać G. et. al. Micropagation selekcija slabobujnih pologa za višnju i trešnju // Voćarstvo. 2013. Vol. 47 (183-184). P. 121-128.
- Mihaljević, I. Dugalic K., Tomas V. et al. In vitro sterilization procedures for micropropagation of «Oblacin-ska» sour cherry // Journal of Agricultural Sciences. 2013. Vol. 58. №2. P. 117-126.
- Fallahpour M., Miri S. M., N. Bouzari *In vitro* propagation of "Gisela 5" rootstock as affected by mineral composition of media and plant growth regulators // Journal of Horticultural Research. 2015. Vol. 23(1). P. 57-64.
- Stanislavljević A., Bošnjak D., Štolfa I. et al. Sterilization of different explant types in micropagation of CAB-6P and Gisela 6 cherry rootstock // POLJOPRIVREDA. 2017. Vol. 2:23. P. 31-37.
- Рахмангулов Р. С., Маляровская В.И., Самарина Л.С., Конинская И.Г. К вопросу стерилизации эксплантов древесных и плодовых культур при введении в условия *in vitro* // Субтропическое и декоративное садоводство. 2018. №64. С. 116-120.
- Методические рекомендации по использованию биотехнологических методов в работе с плодовыми, ягодными и декоративными культурами / Под ред. Е.Н. Джигадло. Орёл: ГНУ ВНИИСПК, 2005. 50 с.
- Винтер М.А., Лободина А.В., Токмаков С.В, Беседина Е.Н. Карпушина М.В. Санация эксплантов подвоев яблони при введении в культуру *in vitro* // Плодоводство и виноградарство Юга России. 2019. №60 (6). С. 84-90.