

УДК 631.524.85:576.53

## АДАПТАЦИЯ РАСТЕНИЙ, ПОЛУЧЕННЫХ *IN VITRO*, К НЕСТЕРИЛЬНЫМ УСЛОВИЯМ

В.И. ДЕМЕНКО<sup>1</sup>, В.А. ЛЕБЕДЕВ<sup>2</sup>

(\* Кафедра плодоводства РГАУ - МСХА имени КА. Тимирязева,  
<sup>2</sup> Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина  
и Ю.А. Овчинникова РАН)

**В статье приведены данные многолетних опытов по адаптации растений, полученных *in vitro*. Показано влияние условий выращивания растений *in vitro* на их приживаемость в нестерильных условиях и возможность частичной адаптации растений на этапе *in vitro*. Разработаны новые методы (регуляторы роста, структура питательных сред, покрытия культивационных покрытий, условия для адаптации растений на этапе *in vitro*, условия *in vivo*), позволяющие увеличить приживаемость растений.**

*Ключевые слова:* адаптация, *in vitro*, *in vivo*, регуляторы роста, транспирация.

При промышленном микроклональном размножении возникают большие потери растений на этапе пересадки в нестерильные условия (50 и более процентов гибели) [21].

Для того чтобы растения прижились в нестерильных условиях, они должны быть готовы преодолеть стрессы, которым подвергаются в процессе адаптации. Стресс — это результат любого влияния, лимитирующего нормальный рост и развитие [24]. В момент пересадки растения прежде всего подвергаются водному стрессу, что приводит к обезвоживанию тканей и разрушению мембран. Особенно чувствительны растения к иссушению сразу после их удаления из культуральных сосудов, что связано с недостатком кутикулярного воска, нефункционирующими устьицами, сокращением поглощения воды корнями и сильной транспирацией

[17]. Потеря воды пробирочными растениями в основном происходит через устьица, которые не функционируют в течение 10—14 дней после пересадки. Причиной может быть длительное нахождение растений под влиянием цитокининов. Поэтому желательно, чтобы ко времени переноса растений они имели листья с функционирующими устьицами. Не удивительно, что большинство экспериментов были связаны с разработкой способов, способствующих восстановлению работы устьичного аппарата. При этом основное внимание уделялось листьям пробирочных растений. Применение в питательной среде ингибиторов синтеза этилена (аминоизомасляной кислоты, аминокпропана, аминэтоксиванил глицина) частично улучшало качество растений и приживаемость в нестерильных условиях [13].

Развитие механизма закрытия устьица может произойти при относительной влажности воздуха 65% [21]. Однако при такой влажности происходит быстрая гибель растений. Поэтому большинство авторов рекомендуют определенное время поддерживать влажность воздуха в пределах 95-99%, постепенно снижая ее до 50-60%. Высокая влажность воздуха может быть создана с помощью искусственного тумана, влажного тента, индивидуального пластикового покрытия, системы «смог» [22]. Однако искусственный туман способен вымыть питательные вещества из растения, переувлажнить субстрат, что способствует заражению грибными заболеваниями затрудняет контроль температуры и влажности на конкретном этапе. Также пластиковые покрытия единичных растений требуют больших затрат ручного труда.

Система «смог» идеальна для адаптации пробирочных растений, но очень дорогая. Учитывая важность адаптации, промышленные лаборатории идут на создание специальных камер, в которых регулируются все климатические параметры. Адаптация пробирочных растений зависит от вида растений. Растения, отличающиеся интенсивным ростом, приживаются в нестерильных условиях успешно без осуществления контроля за влажностью. Чтобы увеличить процент приживаемости большинства видов растений (особенно древесных), необходимо начинать их готовить к новым условиям еще *in vitro*. Для этого практикуют открывать сосуды за несколько дней до посадки в нестерильные условия. Можно создать влажность воздуха в сосуде 75%, если понизить температуру основания сосуда; использовать тонкий слой стерильной ланолиновой пасты, растительного масла, парафина, полиэтиленгликоля на питательной среде. Однако опытные растения при таких воздействиях отличались слабым ро-

стом [12]. Но не только водный обмен пробирочных растений является причиной их гибели в нестерильных условиях.

В условиях *in vitro* растения способны в основном только к гетеротрофному питанию, поэтому на всех этапах микроклонального размножения в питательные среды добавляют углеводы. Вместе с тем, было установлено, что хлорофилл растений *in vitro* обладает способностью к фотосинтезу, но эта способность не реализуется из-за низкой концентрации  $\text{CO}_2$  в сосудах и использования в среде сахарозы. Очевидно, что способность к фотоавтотрофии *in vitro* будет зависеть от типа покрытия сосудов, света, концентрации сахарозы. Адаптация растений, способных к фотосинтезу, была более успешной при пересадке в нестерильные условия.

После пересадки в нестерильные условия растения не могут полностью адаптироваться к фотоавтотрофии из-за слабой активности ферментов, фиксирующих углерод [20]. Листья пробирочных растений поглощают в 4-5 раз меньше  $\text{CO}_2$  по сравнению с контрольными растениями, что не перекрывает потребности дыхания в продуктах фотосинтеза [15, 26]. Поэтому перед посадкой в нестерильные условия растения рекомендуют две недели выращивать при освещении 10000 люк. [18]. Разработана специальная установка, в которой растения можно выращивать в открытых сосудах. Новые листья, развившиеся при адаптации, частично способны к активному фотосинтезу [14].

Третий фактор, создающий проблемы при пересадке растений в нестерильные условия, — недостаточно функционирующая корневая система, которая не в состоянии поглотить необходимое количество воды и питательных элементов, чтобы компенсировать транспирацию, обеспечить интенсивный рост. Корни растений, полученные *in vitro* на агаровой среде,

не имеют корневых волосков, часто они развиваются из каллуса.

Процесс корнеобразования, морфология корней зависит от типа и концентрации ауксина и агара. Если побеги удастся укоренить без воздействия ауксином, то они приживаются в нестерильных условиях лучше. Черенки растений, отличающиеся быстрым укоренением, можно укоренять непосредственно в субстрате, но возможна гибель более 40% черенков [23]. Приживаемость в нестерильных условиях зависит от субстрата. Установлено, что для пробирочных растений необходим субстрат с объемом пор 25% [21]. Большую роль в приживаемости растений в нестерильных условиях играет его фитосанитарное состояние. Обогащение субстрата микоризой увеличивало приживаемость и рост растений [11]. Таким образом, растения, которые перемещаются в другие условия, должны либо адаптировать существующий листовой аппарат и корни к новым условиям, либо расти достаточно быстро, чтобы вновь развившиеся были приспособлены к нестерильным условиям. Желательно чтобы эти два процесса происходили одновременно, однако существующие рекомендации не обеспечивают такие условия..

### Методика

Адаптацию растений, полученных *in vitro*, проводили в культивационных сооружениях (теплицах, пленочных тоннелях) в атмосфере искусственного тумана. В качестве субстрата использовали смесь торфа с песком в соотношении 2:1, перлит, смесь торфа с перлитом. В каждом опыте использовали по 15-20 растений в варианте, в 3-кратной повторности. Методики размножения растений *in vitro* описаны ранее [2, 3]. Объекты исследований представлены в процессе изложения результатов исследований.

Часть адаптированных растений высаживали в открытый грунт для изучения последствий выращивания

### Результаты исследований

Наши опыты показывают, что процент прижившихся растений в нестерильных условиях зависит в первую очередь от контроля за потерей и поглощением воды. Растения *in vivo* защищают себя от интенсивной потери воды, уменьшая размер устьичной щели, реагируя на водообеспечение, на содержание водяных паров, освещение и CO<sub>2</sub> воздуха. Когда поглощение воды корнями становится меньше, чем потеря воды при транспирации, усиливается синтез АБК [1]. К сожалению, корневая система растений, полученных *in vitro*, не обеспечивает потребности в воде растения после пересадки в нестерильные условия. Поэтому готовить растения к нестерильным условиям необходимо уже с первого этапа размножения. В первую очередь следует свести к минимуму возникновение стекловидности.

Растения земляники сорта Ред-гонтлит с признаками стекловидности в наших опытах не удалось адаптировать к нестерильным условиям. Они необратимо теряли тургор через 30 мин. Создание повышенной влажности воздуха в нестерильных условиях часто не обеспечивает достаточный процент приживаемости. В наших опытах часть растений груши и вишни погибали только через 10-15 дней после пересадки в нестерильные условия. У погибших растений отмечали гибель в первую очередь корневой системы. Поэтому при размножении растений *in vitro* необходимо создавать условия для развития функциональной корневой системы. Поглощение воды корневой системой зависит от ее анатомического строения, которое, в свою очередь,

зависит от применяемых для укоренения регуляторов роста. В качестве индуктора корнеобразования используют ауксины. Однако концентрации ауксина, при которых наблюдается корнеобразование, стимулируют интенсивное выделение этилена [16]. В опытах на средах с ИМК нами часто отмечалось развитие винтообразной корневой системы, причиной которой является интенсивный синтез этилена. Корневая система растений *in vitro* очень долго находится под воздействием ауксина, что приводит к ее быстрому старению, т.е. ослаблению меристематической активности клеток кончика корня [10]. Небольшие конгломераты земляники, укорененные на среде с ИМК, приживались в нестерильных условиях без разделения на отдельные побеги (70%). Через месяц после пересадки боковые побеги достигали достаточной длины (2-2,5 см), необходимой для их разделения и укоренения непосредственно в искусственном тумане без обработки оснований ИМК. Приживаемость пробирочных растений зависела от времени пересадки в нестерильные условия. Посадка в феврале - марте в теплицу укорененных растений, хранившихся год при пониженных температурах, дала отрицательный результат. Перевод растений земляники в нестерильные условия в конце весны — начале лета было более успешным (табл. 1).

Т а б л и ц а 1

**Влияние сроков пересадки  
в нестерильные условия  
на их приживаемость**

(среда 1/2 М.С., ИМК 0,2 мг/л, среднее  
по сортам Редгонтлит, Фестивальная,  
Заря, №172, №188, №37)

Срок пересадки	Приживаемость, %
7 апреля	51,7
25 апреля	83,3
4 мая	92,5
12 июня	97,5

Существенные различия в приживаемости между сортами отмечено только при пересадке в ранние сроки.

Приживаемость укорененных растений земляники определяется не только сроками посадки, но и составом питательной среды, на которой происходило развитие корней. Данные, представленные в таблице 2, позволяют утверждать, что приживаемость растений зависит как от биометрических показателей растений на момент пересадки, так и от используемых регуляторов роста.

Несмотря на отсутствие существенных различий в развитии корней между контролем и вариантом с ИМК [3], часть контрольных растений прижилась в нестерильных условиях, в варианте с ИМК все растения погибли. В опытах Драйнерда [27] было доказано влияние регуляторов роста на ана-

Т а б л и ц а 2

**Влияние регуляторов роста  
на приживаемость земляники  
в нестерильных условиях**  
(среда 1/2 М.С., сорт Редгонтлит,  
пересадка 20 апреля)

Регуляторы роста на этапе укоренения, мг/л	Приживаемость в нестерильных условиях, %
Контроль	37,8
ИМК 0,2	0
Культар 0,2	12,5
КЭП 0,5	62,5
КЭП 2	37,5
КЭП 5	12,5
Мивал 0,5	4,2
Мивал 2	100
Мивал 5	12,5
Крезацин 0,5	75
Крезацин 2	79
КЭП 2 +ИМК 0,2	50
Мивал 2+ ИМК 0,2	0
Крезацин 2+ ИМК 0,2	0
Культар 0,2 +ИМК 0,2	54
Кэп 2 + Культар 0,2	0
Мивал 2 + Культар 0,2	0
Крезацин 2 + Культар 0,2	4,2

томическое строение сосудистой связи между корнем и стеблем. Биометрические показатели корневой системы, развившейся на средах с культаром, КЭП и мивалом, существенно не отличались. Однако разница в приживаемости в нестерильных условиях достигала 87,5%. Совместное применение культара с ИМК способствовало увеличению приживаемости на 41,5-54%, а с крезацином — уменьшению на 8,3-74,9% по сравнению с отдельным применением [3]. При пересадке в мае температура в теплице в этот период колеблется от 15 до 40°C. В таких условиях выжили только растения, укорененные на среде с культаром. В варианте с ИМК отмечали скручивание листьев и частичную их гибель. Положительное свойство культара увеличивать жизнеспособность растений объясняется его способностью уменьшать транспирацию и усиливать фотосинтез [19].

Значительные различия в газовом составе и влажности воздуха *in vitro* и *in vivo* создают стрессовые условия для приживаемости растений в нестерильных условиях. В связи с этим растения *in vitro* необходимо подвергать воздушной закалке. Она предусматривает постепенное снижение влажности воздуха в сосудах. На практике это достигается созданием неболь-

шого отверстия в покрытии либо покрытие снимается полностью. Оба эти способа не гарантируют длительного сохранения стерильности, особенно в последнем случае. В наших опытах в сосудах с земляникой, яблоней через 7-10 дней развивалась инфекция, и растения погибали. Инфицированность поверхности среды при нарушении герметичности зависела от типа сосуда, способа защиты от инфекции и степени нарушения герметичности. Использование композиционной среды при укоренении побегов позволило медленно изменять влажность воздуха в сосуде. Развитие инфекции после прожигания отверстия наступало на 10-15 дней позже, при этом она не захватывала корни и листья. Очевидно, сказывалось защитное свойство активированного угля (табл. 3). Добавление на поверхность контрольной среды раствора бенлата (50-80 мг/л) или гипохлорида натрия (0,01%) способствовало задержке развития инфекции, но вызывало опадение листьев. При укоренении растений в пробирках, особенно земляники, через месяц после прокалывания покрытия иглой инфицированность не отмечалась. В сосудах объемом 100-250 мл инфицированность наступала на 7-10-й день. Если покрытие удаляли полностью, то инфекция

Т а б л и ц а 3

**Влияние композиционной среды на развитие инфекции и приживаемость яблони, земляники (среда М.С., 4/5 азота, авторское свидетельство №1564752) [4]**

Показатель	Стандартная		Композиционная	
	земляника	яблоня	земляника	яблоня
Развитие инфекции после нарушения герметичности, %:				
на 9-й день	73	80	20	
на 14-й день	87	93	27	73
на 20-й день	100	100	33	87
Приживаемость в нестерильных условиях:				
контроль — без снятия покрытия	68	12	79	56
снятие покрытия, посадка через 10 дней	гибель растения	гибель растения	85	74

развивалась быстро, независимо от типа сосуда и укореняемой культуры. При таких условиях и композиционная среда не обеспечивала стерильность.

Для того чтобы на поверхности среды не развивалась инфекция, в качестве защитного слоя использовали стерильный перлит. Перлит насыпали в стеклянные поддоны (3 см), смачивали водой и автоклавировали. После посадки побегов в пробирки

верхнюю ее часть погружали в перлит. Влажность перлита не позволяла ему рассыпаться. Пробирки закрывали термоусадочной пленкой, которую снимали после начала корнеобразования (табл. 4). В дальнейшем перлит осыпался на поверхность среды, защищая ее от инфекции в течение месяца. Использование такой методики при укоренении груши, роз способствовало образованию дополнительных корней.

Т а б л и ц а 4

**Влияние способа закрытия пробирок на развитие инфекции и приживаемость земляники, груши, розы в нестерильных условиях**  
(сорт груши Лада, земляники Золушка, розы Фламинго, авторское свидетельство №200702) [5]

Способ закрытия пробирки	Количество, %				
	инфицированных		прижившихся в нестерильных условиях		
	земляника	груша	земляника	груша	роза
Термоусадочная пленка	0	0	34 а	6 а	5 а
Термоусадочная пленка, отверстие 2 мм	0	0	71,8 б	50 б	26,6 б
Перлитовая пробка	0	0	87,0 в	76 в	63,3 в

Использование больших сосудов более эффективно для укоренения растений. Однако адаптация в них затруднена из-за развития инфекции после нарушения герметичности покрытия сосудов. В связи с этим авторами проведены испытания различных покрытий, которые способны снижать влажность воздуха в сосудах с сохранением стерильности. Газоразделительные мембраны наклеивали на отверстия в крышках банок, после стерилизации они сохраняли свои свойства. В банки были высажены побеги подвоя 62-396. Часть банок закрывали целлофаном. Снижение влажности в процессе укоренения происходило с разной интенсивностью (табл. 5). Быстрое уменьшение содержания воды в среде при использовании газоразделительных мембран и целлофана существенно уменьшило укореняемость подвоя 62-396. Это

связано с тем, что в этих вариантах уже с первых дней после посадки побегов на укоренение отмечали повреждение листового аппарата. После посадки опытных растений в нестерильные условия они не проявляли признаков потери тургора, но в дальнейшем листья высыхали и растения погибали.

Оценка результатов опыта с мембранами и целлофаном показала непригодность методики быстрого снижения влажности воздуха в сосудах с первых дней укоренения. Сильный водный стресс и увеличение плотности среды на этапах индукции и инициации ризогенеза отрицательно влияет на укоренение. Таким образом, необходимо создавать условия, благоприятные для укоренения и одновременной адаптации корневой и наземной системы *in vitro*. Производительность труда при посад-

**Влияние покрытия на снижение влажности и укоренение боковых побегов подвоя 62-396 *in vitro*** (среда М.С., 4/5 азота ИМК 2 мг/л, авторское свидетельство № 1400557) [6]

Способ покрытия	Потеря массы среды (числитель), % и укоренение (знаменатель), %			
	на 4-й день	на 10-й день	на 20-й день	на 30-й день
Термоусадочная пленка	0	0	0	0
	0	0	32	54
Мембрана 4-5 мм	5.1	14.6	25.9	41.8
	0	0	12	21
Мембрана 5-6 мм	6.1	17.3	30.3	49.8
	0	0	0	0
Мембраны 10 мм	10.0	26.3	45.6	74.3
	0	0	0	0
Целлофан	14.5	19.9	34.8	57.9
	0	0	0	0

ке боковых побегов на укоренение в пробирки меньше по сравнению с использованием колб и особенно банок объемом 100-250 мл. Однако снятие с них покрытия не обеспечивает того эффекта, который получен в опытах с пробирками. Культуры быстро перезаражаются, а растения необратимо теряют тургор. Авторами разработан способ, который решает эту проблему. Создать условия постепенного снижения влажности воздуха в сосудах и при этом сохранить стерильность можно, используя двойное покрытие (патент № 2279219) [7]. Внутренний слой из вискозной пленки, не препятствующей испарению воды, и внешний — из термоусадочной пленки. После начала укоренения побегов термоусадочную пленку удаляли полностью или частично (табл. 6). На протяжении наблюдений инфицированность культур не отмечали.

Если использовали питательную среду, содержащую 4 г агара, то адаптация проходила лучше. Приживаемость растений в нестерильных условиях зависит не только от используемых регуляторов роста на этапе укоренения, но и от структу-

Таблица 6

**Влияние различных уровней влажности на сохранность груши *in vitro* (сорт Лада, укоренение в сосудах 100 мл)**

Закрытие поверхности сосудов термоусадочной пленкой, %	Количество погибших растений, %	
	через 10 дней	через 15 дней
100	0	0
80	0	0
50	100	100
0	100	100

**Примечание.** Верхний слой покрытия на рушали после начала укоренения побегов.

ры среды (табл. 7). Применение структурной среды (перлит, агар) положительно влияло на приживаемость растений в нестерильных условиях [8]. В варианте со структурной средой нивелировались практически все колебания приживаемости, связанные с гормональным составом среды. Это дает основание считать, что структура среды влияет на качество корневой системы больше, чем регуляторы роста. Однако крезацин в составе структурной среды в большей мере

Таблица 7

**Влияние регуляторов роста и структуры среды на укоренение и приживаемость земляники в нестерильных условиях**  
(среда М.С., сорт Фестивальная, май)

Регулятор роста, мг/л	Количество корней, шт.	Количество прижившихся растений в нестерильных условиях, %
<i>Агаризованная среда</i>		
ИМК 0,3	4,9	34
ИМК 0,3+ крезацин 0,3	5,2	72,3 б
Мивал 0,3+ крезацин 0,3	4,6	66,7 б
2,4 Д 0,1	5,8	84,7 б
2,4Д 0,1+ крезацин 0,3	4,9	91,3 в
НУК 0,3+ крезацин 0,3	5,9	80,7 в
<i>Структурная среда [8]</i>		
ИМК 0,3		67,3 а
ИМК 0,3+ крезацин 0,3		91,0 а
Мивал 0,3+ крезацин 0,3		77,3 а
2,4 Д 0,1		80,3 а
2,4 Д 0,1+ крезацин 0,3		90,3 а
НУК 0,3 + крезацин 0,3		87,7 а

способствовал адаптации растений к нестерильным условиям.

Различия в строении корневой системы растений *in vitro* и *in vivo* способствуют созданию дефицита в элементах питания, что можно считать также стрессом, которому подвергаются растения в нестерильных условиях. Это подтверждают наши опыты с внекорневыми подкормками растений земляники азотнокислым калием и использованием различных субстратов (табл. 8).

Очевидно, доступность элементов питания и содержание кислорода в варианте с перлитом были оптимальными для функционирования корневой системы. Перевод растений зем-

Таблица 8

**Влияние субстратов и внекорневых подкормок на приживаемость растений земляники в нестерильных условиях**  
(сорт Редгонтлит, субстраты пролиты раствором питательной среды Фоссарда, июнь)

Субстрат	Количество прижившихся, %	
	без подкормок	KN03 0,1%
Торф : песок 1 : 1	58,6	76,2
Перлит	80	82

Fф&gt;Fт

Fф&lt;Fт

ляники в июне - июле в нестерильных условиях с питательной средой обеспечивал 100%-ю приживаемость, если корневую систему обрабатывали 0,2%-м раствором бенлата. Таким образом, результаты наших опытов и опытов других исследователей дают основание утверждать, что в первую очередь необходимо создать условия для получения функционирующей корневой системы. Эти условия должны обеспечить не только приживаемость, но и последующий рост и развитие *in vivo*. Такие условия создаются при пересадке растений в проточную культуру. При влажности воздуха 47-50% проточная культура в опытах обеспечила 100%-ю приживаемость в марте земляники, роз, сирени. Растения земляники, пересаженные в искусственный туман за этот период, не приступили к образованию розеток, масса сирени увеличилась всего на 220 мг, роз — на 150 мг. В искусственном тумане через 30 дней отмечали гибель 70-75% листьев, развившихся *in vitro*. Сохранившиеся листья имели хлоротичный вид. В проточной культуре все листья были живы и имели зеленый цвет. Продолжительность жизни листьев во многом определяется способностью корневой системы синтезировать цитокинины.



Разные этапы корнеобразования требуют различных условий для их успешного прохождения. В то же время при микроклональном размножении они проходят при меняющихся условиях (длительное воздействие ауксина), а часто меняющихся в худшую сторону (газонный состав). Пересадка побегов, у которых прошел этап индукции на другие среды, нетехнологична, и трудно определить оптимальное время пересадки. В существующей литературе методы, способные решить данную проблему, отсутствуют. Нами была разработана методика, учитывающая потребность этапов укоренения в различных факторах, что позволило повысить приживаемость растений в нестерильных условиях. Решение данной проблемы достигается тем, что этап индукции, инициации и роста корней проис-

ходит в одном сосуде на средах, отличающихся по составу и структуре. Для того чтобы не пересаживать растения с зачатками корней на среду без регуляторов роста, а этап индукции и инициации корней проходил на среде, содержащей агар, индуктор корнеобразования и сахарозу, было предложено использовать капиллярные трубки длиной 1,5 см и диаметром 1 см. Эти трубки помещали в большие сосуды, заливали расплавленной средой для индукции корнеобразования, автоклавировали. В банки 100-250 мл насыпали перлит слоем 1,5-2 см, который пропитывали соевым составом среды Фоссарда с добавлением 0,01 мг/л 6БАП и автоклавировали. Боковые побеги земляники, подвоя 62-396, груши сажали в капиллярные трубки и помещали в банки с перлитом (табл. 9).

Т а б л и ц а 9

**Влияние способа укоренения растений *in vitro* на их приживаемость в нестерильных условиях** (земляника Зенга-Зенгана, подвой 62-396, груша Лада, 1991 патент № 2277773) [9]

Способ укоренения и адаптации	Количество прижившихся растений, %		
	земляника	62-396	груша
Укоренение <i>in vitro</i> , искусственный туман	75	20	44
Подготовка растений к нестерильным условиям, посадка в теплицу	100	95	93

Сосуды закрывали двойным покрытием. После того, как корни достигали слоя перлита, нарушали герметичность верхнего слоя покрытия. Такая методика позволяет получать разветвленную корневую систему, способную к активному поглощению элементов питания, а листовой аппарат — к активному фотосинтезу, регулируемому транспирацию, что повышает приживаемость растений в 1,3-4,8 раза. Характер закрытия сосудов в процессе культивирования растений влияет на способность их к фотосинтезу. Данные Серет М. [25] показывают, что покрытие, которое

препятствует газообмену, ингибирует развитие фотоавтотрофии. Таким образом, более сильное развитие функциональной корневой системы, кутикулярного воска, вместе с хорошо функциональными устьицами у растений с положительным фотосинтезом является залогом приживаемости растений в нестерильных условиях.

### Заключение

Адаптация растений к нестерильным условиям зависит от культуры, регуляторов роста, времени перевода *in vivo*, структуры среды, способа укоренения, способности адаптировать

существующие листья и корни и развивать новые. Использование крезацина, мивала, культиара, структурной среды, капиллярных трубок и двойного по-

крытия сосудов обеспечивает частичную адаптацию *in vitro*, повышая жизнеспособность растений в нестерильных условиях.

### Библиографический список

1. Губвин Т. Введение в биохимию растений /Э. Мерсер/ М.: Мир, 1986.
2. Деменко В.И. Проблемы и возможности микроклонального размножения садовых растений // Известия ТСХА, 2005. Вып. 2. С. 48-58.
3. Деменко В.И., Шестибратов К.А., Лебедев В.Г. Укоренение — ключевой этап размножения растений *in vitro* // Известия ТСХА, 2010. Вып. 1.
4. Деменко В.И. Способ выращивания плодовых и ягодных культур *in vitro* // Авторское свидетельство № 1564752, 1988.
5. Деменко В.И. Способ получения посадочного материала в культуре ткани // 2007072, 1994.
6. Деменко В.И. Способ выращивания растений *in vitro* // Авторское свидетельство № 1400557, 1988.
7. Деменко В.И. Способ размножения растений *in vitro* // Патент №2273212, 2006г.
8. Деменко В.И. Способ выращивания растений земляники *in vitro* // Авторское свидетельство №1683582, 1991.
9. Деменко В.И. Способ размножения растений *in vitro* //Патент № 22777732, 2006.
10. Смирнов А.М. Рост и метаболизм изолированных корней в стерильной культуре. М.: Наука, 1970.
11. Чекурова Г.В. Размножение клюквы крупноплодной в культуре *in vitro* // Бюлл. Г БС, 1990. Вып. 157. С. 90-95.
12. Baolin Z., Stoltz L.P. Acclimatization systems for *Euphorbia fulgens* microcuttings // Hort. Sci., 1989. Vol. 24. № 6. P. 1025-1026.
13. Bengtson C. Water stress, transpiration, kinetin and ABA.// *Physiol Plant.*, 1979. Vol. 45. P. 183-188.
14. Bowden A. Transferring tissue — cultured plants in particular grevilleas to nursery environment // *Comb. Proc. Inter. Plant. Propagator's Soc.*, 1985. Vol. 34. P. 76-78.
15. Dam Thi Thanh Giang. Photoautotrophic micropropagation, using disposable gas permea // *Propagation of Ornamental Plants.* 4(2). 41-47. 2004
16. David W. The response of different genotypes of *fragaria ann.* and their seedlingprogenies to *in vitro* micropropagation and effects of varying the concentration of BAP in proliferation medium // *PlantCell Tissue and organ Cult*, 1989. Vol. 17.-17. № 3. P. 225-234.
17. Fuchigami L.H., Cheng T.V. Abaxial Transpiration and Water Loss in Aseptically cultured plum // *J. Am. Soc. Hort. Sic.*, 1981. Vol. 106. № 4. P. 519-522.
18. Gront B.W.W. Photosynthesis of regenerated plantlets *in vitro* and the stresses of transplantins// *Acta. Horticul*, 1988. Vol. 230. P. 129-135.
19. James H. Growth retardant effects on evopotranspiration and Growth of drought-stressed chrysanthemum // *Hort. Sci.*, 1986. Vol. 21. № 3.
20. Jennifer Crane. Medium overlages for Improved Hardening of Micropropagated Potatou // *Hort. Sci.*, 1990. Vol. 27. № 7. P. 794-795.
21. Kim K. Wetal. Effect of ABA and agar in preventing verticitation of carnation plantlets cultured *in vitro* // *J. of Korean Soc. for Hort. Sci.*, 1988. Vol. 29. № 3. P. 208-215.

22. *Mehers O., Meireson L. et. al.* Ethylene production inhibitors can improve in vitro propagation of roses // Meded. Fac. Landbouwensch. Rijksuniv. Gent., 1984. Vol. 49. № 36. P. 1139-1144.
23. *Pierik R.L.M., Steegmans H.H.M.* Freesia plantlets from flower-buds cultivated *in vitro* // Neth J. Agric. Sci.. 1975. Vol. 23. № 4. P. 334-337.
24. *Schuyler Suley.* Hormonal Transudation of Environmental stresses // Hort. Sci., 1990. Vol. 25. № 11. P. 1303-1365.
25. *Serret M.D.* The effect of different closure types, light and sucrose concentrations on carbon isotope composition and growth of *Gardenia Jasminoides* plantlets during micropropagation and subsequent acclimation *ex vitro* // Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1997. Vol. 47. P. 217-230.
26. *Xiao Y., Kozai T.* Comparison of Micropropagation Costs by Photoautotrophic and photomixotrophic Systems // Agricell Report., 2004. P. 5-7.
27. *Drainerd E.* Acclimatization of Aseptically cultured Apple Plants to Low Relative Humidity // J. Am. Soc. Hort. Sci., 1981. V. 106. N 4. P. 515-518.

#### SUMMARY

Data on long-term experiments on adaptation of plants, obtained *in vitro*, are provided in the article. The importance of plant growing conditions *in vitro*, establishment of plants under unsterile conditions and possibility of partial plant adaptation at the stage of *in vitro*, has been stressed. New methods (growth regulators, structure of nutrient media, coating of cultivating surfaces, plant adaptation conditions at the stage of *in vitro*, *in vivo* conditions, allowing to raise establishment rate in crops, are worked out.

*Key words:* adaptation, *in vitro*, *in vivo*, growth regulators, transpiration.

**Деменко Василий Иванович** — д. с.-х. н. Тел. (499) 976-21-98. Эл. почта: [Plodovod2009@gmail.com](mailto:Plodovod2009@gmail.com)

**Лебедев Вадим Григорьевич** — к. б. н.