

ПЛОДОВОДСТВО, ЗАЩИТА РАСТЕНИЙ

Известия ТСХА, выпуск 3, 2009 год

УДК 634.7.037 634.711:581.143.6

АДАПТАЦИЯ МИКРОРАСТЕНИЙ МАЛИНЫ (RUBUS L.) И СИРЕНИ (SYRINGA L.) К НЕСТЕРИЛЬНЫМ УСЛОВИЯМ

О.Н. АЛАДИНА, С.В. АКимова, И.С. КОВАЛЕВА,
С.О. ДУБРОВСКАЯ, Е.Р. БАТРАК, С.А. АЛАДИН*

(Лаборатория плодоводства)

На этапе адаптации микрорастений малины, ежевики, малиново-ежевичных гибридов и сирени использовали новый искусственный субстрат, содержащий свежие стабилизированные осадки городских сточных вод (ОГСВ) и нейтрализованный верховой торф (1:4). Благодаря оптимальным физико-химическим, асептическим свойствам и высокой гормональной активности субстрат оказывает положительное влияние на приживаемость микрорастений, их рост и развитие. Применение субстрата позволяет проводить пересадку регенерантов из пробирок в нестерильные условия в более ранние сроки (середина января) и увеличивает выход жизнеспособного посадочного материала ягодных и декоративных кустарников с закрытой корневой системой к началу периода вегетации.

Ключевые слова: малина, ежевика, малиново-ежевичные гибриды, сирень, микроклональное размножение, адаптация, субстраты, торфверховой, обезвоженные осадки городских сточных вод.

Акклиматизация пробирочных растений в нестерильных условиях является одним из наиболее ответственных этапов микроклонального размножения садовых культур. В зависимости от видовых и сортовых особенностей потери микрорастений на этом этапе могут достигать 50% и более. Большое влияние на процессы адаптации регенерантов *ex vitro* оказывают искусственные субстраты.

Известны способы адаптации и доращивания микрорастений в условиях зимних обогреваемых теплиц при повышенной влажности воздуха на искусственных субстратах, состоящих из органической основы (кора хвойных пород, торф, компост, льняная костра, почва, древесные опилки) [16, 19, 21]

и инертных материалов (песок, вермикулит, минеральная вата, перлит, цеолит, глауконит) [5, 12, 24, 25]. Как правило, такие субстраты нуждаются в обеззараживании или обработке горячим паром. Чтобы этого избежать проводят адаптацию пробирочных растений в инертных материалах, таких как цеолит, вермикулит, грубый перлит, минеральная вата [2, 17, 20]. Такие искусственные субстраты не надо стерилизовать, но они не содержат элементов питания, необходимых для роста и развития растений.

В технологии клонального микро-размножения наиболее часто используют смесь перлита и низинного торфа [9, 10], которую обеззараживают 0,1%-м раствором бенлата, зупарена

* ООО «Питомник Флора».

[11, 21], противомикробными растворами с добавлением терразола [21] или обрабатывают горячим паром [18].

Как правило, микрорастения садовых культур для адаптации к нестерильным условиям в марте — апреле переносят в обогреваемые теплицы, где их пересаживают в пикировочные ящики, кассеты, пластиковые контейнеры или пленочные укрытия, заполненные приготовленным заранее искусственным субстратом. В течение периода адаптации в теплицах поддерживается высокая относительная влажность 65-90% и температура воздуха 22—28°C, а также освещенность 2—5 тыс. люкс при фотопериоде 15-18 ч [3, 17, 22].

Недостатками известных способов акклиматизации и доращивания *in vitro* растений являются: необходимость пропаривания или обеззараживания субстрата, поздние сроки пересадки, большие выпады (до 30-40%) *in vitro* растений в нестерильных условиях (переувлажнение, недостаточное содержание питательных веществ), медленный начальный рост после пересадки растений из кассет в контейнеры, слабое развитие надземной части и корневой системы, что не дает возможность вырастить посадочный материал с закрытыми корнями к началу периода вегетации (весенней реализации или закладке многолетних насаждений).

Ранее [1] нами была показана высокая эффективность субстратов, содержащих верховой торф и осадки городских сточных вод (ОГСВ), для укоренения зеленых черенков ягодных и декоративных кустарников. Субстрат, содержащий перечисленные компоненты, оказался весьма перспективным и для адаптации микрорастений к нестерильным условиям.

Методика и материалы

Исследования по адаптации сирени и ягодных кустарников выполняли в лаборатории плодводства РГАУ — МСХА

имени К.А. Тимирязева в 2005—2008 г. Объектами исследования были сорта малины красной (Желтый гигант), малино-ежевичных гибридов (Тайберри), ежевики (Торнфри) и сирени (Лебедушка).

При микроразмножении представителей рода *RUBUS* для инициации культур использовали верхушечные меристемы размером 0,3-0,4 мм. Экспланты культивировали на питательной среде Мурасиге - Скуга (MS), содержащей основные макро-, микроэлементы и следующие вещества (мг/л): В₁, В₆, РР (по 0,5), мезоинозитол (100), глицин (2), 6-БАП (0,7), ИМК (0,1), сахарозу (30000) и агар (7000). Культуры инкубировали в условиях световой комнаты при интенсивности света 2000 лк, температуре 22°C и 16-часовом фотопериоде. Через 2 мес культивирования сформировавшиеся конгломераты микроробегов делили на отдельные субъединицы и пересаживали в сосуды емкостью 200 мл на свежую среду того же состава для размножения. Концентрация 6-БАП варьировала в зависимости от сортовых, видовых особенностей и количества пассажиров (1-2 мг/л). При размножении малины и ежевики содержание хелата железа увеличивали в 1,5 раза. Для укоренения отбирали побеги длиной не менее 1,5 см, среда укоренения содержала 1/2 концентрацию макросолей, витамины, микросоли, хелат железа по прописи, ИМК 1-2 мг/л в зависимости от видовых особенностей.

Базовая среда для инициации и размножения сирени *in vitro* — MS (макро-, микросоли, хелат железа, сахароза, агар), витамины В₁, В₆, РР (по 0,5 мг/л), глицин (2 мг/л) и 2iP (2 мг/л). Микроробегов укореняли на разбавленной вдвое основной среде MS, содержащей ИМК (2 мг/л).

В разные сроки начиная с первой половины января микрорастения переносили в обогреваемые зимние теплицы и пересаживали из пробирок в пластиковые кассеты с ячейками неболь-

шого объема ($d = 4$ см, $V = 10$ см³) на искусственные субстраты, состоящие из смеси обезвоженных стабилизированных осадков городских сточных вод (ОГСВ), не более одного года хранения, и нейтрализованного (рН 6-6,5) верхового торфа (производитель — торфопредприятие «Пельгорское-М») в следующем соотношении: 1:20, 1:9, 1:4, 1:3, 2:3 с долей осадков в субстрате соответственно 5, 10, 20, 30, 40%.

Опытные субстраты готовили простым перемешиванием компонентов, предварительно не обеззараживали и не пропаривали. Контрольный субстрат (торф низинный и перлит в равном соотношении) перед посадкой микрорастений обрабатывали 1%-м раствором зуларена.

Первые две недели после пересадки микрорастения содержали в кассетах под герметичными пленочными укрытиями на стеллажах с насыпным слоем керамзита (2-3 см) при температуре 22-26°C и досвечивании с начала января до конца февраля (освещенность 2000 лк, 16 ч). В начале апреля микрорастения с неповрежденным корневым комом пересаживали из ячеек в контейнеры объемом 1,6 л ($d = 11$ см). Через 3,5-4 мес после пересадки у меристемных растений определяли интенсивность роста надземной части

и корневой системы по общепринятой методике. Повторность опыта 3-кратная, в повторности 40-50 растений. Интенсивность фотосинтеза и дыхания определяли газометрически на ИК-газоанализаторе, содержание хлорофилла в листьях — по Д.Н. Викторову.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили методом дисперсионного анализа по Б.А. Доспехову на ПЭВМ с применением программ Statistica 5.5, Statgraphics Plus 5.0.

Результаты исследований

Установлено значительное влияние состава искусственных субстратов на сроки пересадки и приживаемость регенерантов, их биометрические показатели и выход качественного посадочного материала с закрытой корневой системой с единицы площади культивационных сооружений (табл. 1).

Лучшими для адаптации и доращивания микрорастений сирени (сорт Лебедушка) в нестерильных условиях оказались субстраты, содержащие торф верховой и ОГСВ (20-30%). На таких субстратах отмечены самый высокий выход жизнеспособных регенерантов, лучшее развитие надземной части и корневой системы: в 2,3 раза увели-

Т а б л и ц а 1

Развитие микрорастений сирени (сорт Лебедушка) при их адаптации в нестерильных условиях на субстратах, содержащих ОГСВ, 2005 г.

Вид субстрата	Соотношение компонентов	Доля ОГСВ в субстрате, %	Средняя длина побегов, см	Суммарная длина корней, см	Общая площадь листьев, см ²
Контроль Тн П	1:1	—	6,2	15,4	74,2
О	-	100	8,7	16,3	308,1
О П	1:1	50	10,2	34,1	296,6
О П	1:3	30	9,9	76,4	305,5
О П	1:4	20	7,4	30,2	215,1
О Тв	1:1	50	9,2	104,4	347,5
О Тв	1:3	30	12,2	145,1	416,8
О Тв	1:4	20	14,4	168,9	496,9
О ТвП	2:1:1	50	8,1	52,6	112,1
О ТвП	1:1:1	30	7,5	77,2	254,3
О ТвП	1:2:2	20	10,3	63,8	142,1
НСР ₀₅			2,2	20,8	62,1



Рис. 1. Влияние состава субстрата на силу роста регенерантов сирени (сорт Лебедушка). А — ТнП (контроль); В — ОТв (доля осадков 20%)

чивается длина побегов, в 11 раз — общая площадь листьев, в 6,7 раза — суммарная длина корней (рис. 1).

Такой эффект можно объяснить положительным влиянием обезвоженных стабилизированных осадков городских сточных вод (ОГСВ), полученных путем механической и биологической очистки. Осадки могут быть использованы в качестве органического удобрения в садоводстве и питомниководстве [4, 13], поскольку они обладают благоприятными физическими свойствами, отличаются высоким содержанием макро- и микроэлементов, заметной физиологической активностью и по своему составу соответствуют санитарным нормам (СанПиН 2.1.7.573-96) [14].

Благодаря деятельности термофильных бактерий, которые активны

при высоких температурах, свежие осадки практически стерильны, что сводит к минимуму воздействие патогенной микрофлоры на микрорастения. При температуре 55-65°C преобладают термофильные микроорганизмы и протекает процесс биофизического обеззараживания компоста. При повышении температуры в компосте до 65—80°C и выше начинается его термическая дезинфекция [23]. Как показали наши исследования, положительное действие ОГСВ на рост и развитие садовых растений связано также с наличием гормональной активности субстрата благодаря наличию продуктов жизнедеятельности тридцати систематических групп микроорганизмов, которые участвуют в микробиологической очистке сточных вод и накапливаются в осадке [1].

Свежие осадки после фильтр-прессов отличаются самым высоким содержанием ауксинов (ИУК), цитокининов (ЦК) и гиббереллинов (ГК), гормонов, стимулирующих рост делением и растяжением и контролирующими морфогенез в целом. При хранении осадков на полигонах более одного года в 1,5 раза снижается содержание ЦК, в 3 раза — ИУК, однако высокие значения отношения суммы ЦК+ИУК к АБК и заметная активность гиббереллинов оказывают положительное влияние на формирование придаточной корневой системы и ассимиляционной поверхности. После более длительного выдерживания ОГСВ на иловых площадках содержание гормонов в образцах существенно снижается, субстрат вновь заселяется патогенной микрофлорой, ухудшается его структура.

Высокая питательная ценность субстратов, содержащих свежие ОГСВ, наличие в среде гормонов, низкий уровень патогенной микрофлоры обеспечивают высокую ценность смесей для адаптации и дорастивания регенерантов.

Другой компонент опытного субстрата, нейтрализованный верховой

сфагновый торф (торф верхового типа моховой группы, рН 5,5-6,5), как нельзя лучше подходит для пробирочных растений. Он характеризуется высоким содержанием сфагновых мхов (более 80%), органических веществ (96—97,7%), отсутствием тяжелых металлов, хорошими физическими свойствами: однородностью, рыхлостью, сыпучестью, небольшой насыпной плотностью (130—180 кг/м³), длинной волокнистой однородной структурой с минимальной долей пылевой фракции, высокой газо- и водопоглотительной способностью, теплоизоляционными свойствами. Сфагновый торф обладает значительной буферностью и высокой сорбционной и ионообменной способностью.

Высокие пористость (90-95%) и влагоемкость выгодно отличают верховой торф от низинного и переходного. Даже при обильном поливе верховой торф содержит в порах до 20% воздуха, поэтому переувлажнения не происходит. Это является важным условием успешной адаптации *in vitro* растений, т.к. избыток влаги может вызвать корневые гнили, подпревание стеблей и отмирание корней.

Оптимальные физические свойства, благоприятный водно-воздушный режим, высокая водоудерживающая и поглотительная способность создают уникальные условия в корнеобитаемой

среде для успешной приживаемости, роста и развития *in vitro* растений. Кроме того, сфагновый торф продуцирует углекислый газ, необходимый для нормального развития регенерантов в ограниченном замкнутом объеме и в условиях теплиц [6, 7, 15]. Верховой торф содержит также природные гуминовые кислоты, оказывающие положительное влияние на растение и микоризу, а также аминокислоты, необходимые для перевода элементов питания в доступную форму.

Добавление в субстрат верхового торфа не только улучшает его физические свойства, но также подавляет деятельность патогенной микрофлоры *Streptomyces* spp., *Penicillium* spp., *Mortierella* spp., *Trichoderma viride* spp, *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Pythium* spp., *Alternaria* spp. и *Botrytis* spp.

Верховой торф обладает асептическими бактерицидными свойствами благодаря высокой кислотности среды и наличию фенольных соединений [8], не содержит технических загрязнений, вредителей и семян сорных растений.

Совокупность перечисленных свойств ОГСВ и верхового торфа дает возможность создать благоприятные условия для адаптации и дорастивания микрорастений *ex vitro*.

Т а б л и ц а 2

Приживаемость, рост и развитие микрорастений ежевики (сорт Торнфри) при адаптации на субстратах, содержащих торф верховой и ОГСВ (2006-2007 гг.)

Соотношение компонентов	Доля ОГСВ в субстрате, %	Приживаемость, %	Доля хорошо развитых <i>in vitro</i> растений, %	Высота растений, см	Число побегов, шт.	Суммарная площадь листовой поверхности одного растения, см ²	Диаметр условной корневой шейки, мм	Суммарная длина корней, см
ТНП 1:1 (контроль)	—	60,2	44,8	69,5	1,0	980,2	3,5	289,4
ОТв:								
1:20	5	79,1	79,1	62,5	1,3	800,4	3,0	194,1
1:9	10	100	100	80,4	1,5	1280,0	5,2	518,8
1:4	20	100	100	130,7	1,5	1736,5	6,1	663,1
1:3	30	95,4	100	81,6	1,5	1292,3	3,5	497,3
2:3	40	98,3	80,3	68,2	1,0	852,4	3,7	334,8
НСР ₀₅		16,9	20,1	9,9	0,3	86,7	0,8	38,6

Содержание ОГСВ в субстрате 20—30% оптимально для акклиматизации сирени. При более низком или более высоком содержании осадков в субстрате эффект менее значительный.

В последующих опытах с представителями рода *Rubus* необходимо было уточнить оптимальное содержание осадков в искусственных субстратах (табл. 2-4).

Отмечена высокая (95-100%) приживаемость пробирочных растений ежевики (сорт Торнфри) в нестерильных условиях на субстратах, содержащих 10-30% ОГСВ (ОГСВ:Тв = 1:9, 1:4, 1:3). Микрорастения отличались высокой жизнеспособностью и выровненностью; существенно (в 1,7—2,5 раза) возросла длина побегов, их облиственность и суммарная длина корней. Лучшие результаты получены при соотношении ОГСВ и верхового торфа 1:4 (доля осадков 20%) (рис. 2).

Эффект от использования субстратов, содержащих ОГСВ и торф верховой в этом соотношении подтверждается на желтой малине (сорт Желтый гигант) и на малино-ежевичном гибриде (сорт Тайберри) (см. табл. 3, 4).

При содержании ОГСВ в субстрате 10-30% микрорастения приживаются полностью, отмечается максимально высокий выход жизнеспособных растений, регенеранты отличаются более мощной, чем в контроле и остальных вариантах, листовой поверхностью,



Рис. 2. Развитие микрорастений ежевики (сорт Торнфри) в зависимости от состава субстрата. А — ТнП (контроль), В — ОТв (доля осадков 20%)

хорошим утолщением основания растений (рис. 3). У ежевики и малино-ежевичного гибрида высота микрорастений превышает контрольные значения в 2-3,5 раза, суммарная длина корней — в 1,7-2,6 раза. Малина Желтый гигант характеризуется более сдержанным ростом при доращивании в нестерильных условиях, но на опытных субстратах отличается увеличением числа междоузлий, значительной суммарной площадью листьев и более высокой, чем в контроле, корнеобразовательной способностью. Суммарная

Таблица 3

Приживаемость, рост и развитие микрорастений малины (сорт Желтый гигант) при адаптации на субстратах, содержащих торф верховой и ОГСВ (2006-2007 гг.)

Соотношение компонентов	Доля ОГСВ в субстрате, %	Приживаемость, %	Доля хорошо развитых in vitro растений, %	Высота растений, см	Число побегов, шт.	Суммарная площадь листовой поверхности одного растения, см ²	Диаметр условной корневой шейки, мм	Суммарная длина корней, см
ТнП 1:1 (контроль)	—	75,4	79,3	26,1	1,0	997,5	4,0	241,8
ОТв:								
1:20	5	98,1	90,5	35,4	2,0	909,5	4,8	217,0
1:9	10	100	100	40,2	2,0	2688,0	7,0	495,3
1:4	20	100	100	49,8	2,8	3211,0	6,5	670,8
1:3	30	100	100	44,1	1,6	2548,0	6,0	400,3
2:3	40	95,7	100	33,8	2,0	1020,3	5,0	221,9
НСР ₀₅		14,7	11,3	7,4	0,9	98,6	1,0	45,3

Приживаемость, рост и развитие микрорастений малино-ежевичного гибрида (сорт Тайберри) при адаптации на субстратах, содержащих торф верховой и ОГСВ (2006-2007 гг.)

Соотношение компонентов	Доля ОГСВ в субстрате, %	Приживаемость, %	Доля хорошо развитых in vitro растений, %	Высота растений, см	Число побегов, шт.	Суммарная площадь листовой поверхности одного растения, см ²	Диаметр условной корневой шейки, мм	Суммарная длина корней, см
ТнП 1:1 (контроль)	—	60,7	100	23,2	1,0	424,5	3,1	100,0
ОТв:								
1:20	5	95,9	100	40,6	1,5	725,6	3,2	131,1
1:9	10	100	100	108,2	2,2	1392,6	3,6	226,2
1:4	20	100	100	140,4	2,1	2835,8	3,9	311,9
1:3	30	100	100	120,3	2,1	1700,2	3,8	267,4
2:3	40	100	100	60,7	2,0	752,6	3,0	135,0
НСП ₀₅		19,2	—	10,4	0,5	91,3	0,6	34,9

длина корней в лучших вариантах превышает контроль в 2,8 раза (рис. 4).

При более низкой доле ОГСВ в субстрате (10%) ниже все показатели, характеризующие качество регенерантов, их рост и развитие. При размножении малины, ежевики и малино-ежевичных гибридов увеличение доли осадков до 40% и более препятствует росту корней из-за высокого содержания ауксинов в корнеобитаемой среде и значительной гиббереллиновой активности субстрата.



А **В**

Рис. 3. Развитие микрорастений малино-ежевичного гибрида (сорт Тайберри) в зависимости от состава субстрата. А — ТнП (контроль), В — ОТв — (доля осадков 10%)

Следующей задачей было определение оптимальных сроков пересадки in vitro растений на лучшие опытные субстраты (ОГСВ : торф верховой = 1:4).

Использование в составе субстратов ОГСВ (20%) имеет еще одно важное преимущество — становится возможной пересадка регенерантов в нестерильные условия в более ранние сроки: не в середине марта, как это обычно



А **В**

Рис. 4. Влияние состава субстрата на силу роста микрорастений малины (сорт Желтый гигант). А — ТнП (контроль), В — ОТв (доля осадков 10%), С — ОТв (доля осадков 20%)

принято, а в начале января, т.е. на 2-2,5 мес раньше (табл. 5, 6, 8).

При пересадке в январе приживаемость и доля хорошо развитых *in vitro* растений несколько ниже, чем в лучших вариантах опыта (конец февраля, начало марта), но по развитию надземной части и корневой системы растения во всех опытных вариантах одинаковые, различия между вариантами в пределах ошибки опыта.

Преимущество субстратов с осадками проявляется в первую очередь в развитии корней, особенно у малины и ежевики, что очень важно для сохранения регенерантов и для их быстрого начального роста. Пробирочные растения, адаптированные в течение шести недель на субстратах с ОГСВ, отличаются также более высоким содержанием зеленых пигментов и значительной интенсивностью фотосинтеза (табл. 7).

Следует отметить, что у опытных растений с увеличением надземной

массы и общей ассимиляционной поверхности возрастают затраты пластических веществ на дыхание, однако коэффициент полезного действия у них в 1,2 раза выше, чем в контроле, независимо от наследственных особенностей объектов исследований.

При ранних сроках пересадки некоторые потери микрорастений (до 20%) компенсируются существенным сокращением сроков выращивания посадочного материала с закрытой корневой системой. Из-за наличия в среде гиббереллинов регенеранты при коротком дне активно растут и развиваются. Забег в росте и развитии дает возможность в середине марта пересаживать меристемные растения из ячеек в контейнеры и к началу периода вегетации (первая половина мая) получать качественный посадочный материал с закрытой корневой системой.

Потери исходного материала на начальных этапах при очень ранних сроках пересадки более заметны при

Таблица 5

Приживаемость, рост и развитие микрорастений ежевики (сорт Торнфри) на субстратах, содержащих торф верховой и ОГСВ в зависимости от сроков пересадки в нестерильные условия (2007-2008 гг.)

Срок пересадки на адаптацию	Приживаемость, %	Доля хорошо развитых <i>in vitro</i> растений, %	Высота растений, см	Число листьев, шт.	Число побегов, шт.	Суммарная площадь листовой поверхности одного растения, см ²	Диаметр корневой шейки, мм	Суммарная длина корней, см
<i>Контроль — Тн П 1:1</i>								
1 января	49,5	20,2	42,5	12,2	1,0	800,3	2,5	194,4
15 января	52,8	22,3	43,1	12,1	1,0	850,4	3	200,0
1 февраля	59,6	25,4	46,8	13,3	1,0	982,8	3,4	198,2
15 февраля	69,9	35,5	52,0	12,5	1,0	996,5	4,0	220,3
28 февраля	79,6	65,2	69,5	12,1	1,0	980,2	4,0	240,3
1 марта	96,4	78,4	80,0	18,5	1,5	1214,0	3,5	238,5
15 марта	100	92,2	75,3	13,5	1,0	1129,0	3,5	250,2
<i>Опытный субстрат — О: Тв 1:4</i>								
1 января	88,8	80,0	82,8	19,0	1,0	1280,0	3,5	421,2
15 января	92,2	83,0	85,4	18,0	1,2	1295,4	3,5	430,5
1 февраля	87,6	82,1	88,4	19,0	1,2	1300,0	3,3	450,4
15 февраля	88,8	100	89,9	21,0	1,5	1295,5	3,5	470,4
28 февраля	100	100	102,4	19,0	2,0	1250,0	4,0	480,2
1 марта	100	100	99,6	18,0	2,0	1280,0	4,0	479,5
15 марта	100	100	83,2	18,5	1,0	1230,5	3,5	452,9
НСР	12,8	14,7	11,3	1,1	0,4	78,3	0,5	24,2

05 для частных различий

Таблица 6

Приживаемость, рост и развитие микрорастений малины (сорт Желтый гигант) при адаптации в субстратах, содержащих торф верховой и ОГСВ в зависимости от сроков пересадки в нестерильные условия (2007-2008 гг.)

Срок пересадки на адаптацию	Приживаемость, %	Доля хорошо развитых in vitro растений, %	Высота растений, см	Число листьев, шт.	Число побегов, шт.	Суммарная площадь листовой поверхности одного растения, см ²	Диаметр корневой шейки, мм	Суммарная длина корней, см
<i>Контроль — Тн П 1:1</i>								
1 января	20,5	55,5	25,0	7,2	1,0	750,2	3,5	212,4
15 января	39,8	55,4	25,5	7,4	1,0	820,3	3,5	215,5
1 февраля	41,8	60,2	25,5	8,1	1,0	825,4	3,5	214,6
15 февраля	59,6	79,7	31,8	9,5	1,0	850,3	3,8	220,4
28 февраля	69,2	68,8	30,2	9,2	1,0	873,5	3,8	230,5
1 марта	74,0	78,1	31,5	10,0	1,0	950,3	4,1	241,8
15 марта	94,9	80,9	35,0	10,5	1,0	998,2	4,3	215,4
<i>Опытный субстрат — О: Тв 1:4</i>								
1 января	81,8	80,1	45,8	13,4	1,5	2512,4	5,5	416,5
15 января	80,0	74,9	46,4	12,1	1,5	2530,5	5,8	430,8
1 февраля	81,6	77,8	47,1	14,0	1,5	2548,2	6,4	452,3
15 февраля	90,6	85,4	47,2	15,4	1,5	2550,0	6,6	480,4
28 февраля	100	100	48,4	14,5	1,5	2555,5	6,1	470,2
1 марта	100	100	55,4	16,2	2,1	2548,6	6,3	460,2
15 марта	100	100	50,2	14,9	1,7	2540,2	6,2	430,5
НСР ₀₅ для частных различий	14,3	12,4	6,1	1,8	0,5	61,3	0,7	40,2

Таблица 7

Влияние состава субстрата на содержание хлорофилла и интенсивность газообмена в листьях пробирочных растений малины и малино-ежевичных гибридов (через 6 нед после пересадки)

Состав субстрата	Содержание хлорофилла, мг/г сухого вещества	Интенсивность дыхания, мг CO ₂ /растение в час	Интенсивность фотосинтеза, мг CO ₂ /растение в час
<i>Малина Желтый гигант</i>			
ТнП 1:1 (контроль)	12,6 ± 2,1	34,29 ± 2,7	41,23 ± 4,1
ОТв 1:4	20,9 ± 2,7	56,38 ± 3,1	82,12 ± 3,8
<i>Малино-ежевичный гибрид Тайберри</i>			
ТнП 1:1 (контроль)	18,2 ± 1,7	42,04 ± 3,2	54,66 ± 5,2
ОТв 1:4	24,3 ± 1,9	68,82 ± 4,0	107,74 ± 4,4

адаптации малино-ежевичных гибридов (до 25%). Такие большие потери вряд ли оправданы, несмотря на хорошее развитие регенерантов, поэтому гибриды лучше переносить в нестерильные условия в более поздние

сроки, начиная с середины февраля. В этом случае растения начнут адаптироваться и возобновят рост на месяц раньше по сравнению с традиционными сроками, что также дает свои положительные результаты.

Таблица 8

Приживаемость, рост и развитие микрорастений мапино-ежевичного гибрида (сорт Тайберри) при адаптации в субстратах, содержащих торф верховой и ОГСВ в зависимости от сроков пересадки в нестерильные условия (2007-2008 гг.)

Срок пересадки на адаптацию	Приживаемость, %	Доля хорошо развитых in vitro растений, %	Высота растений, см	Число листьев, шт.	Число побегов, шт.	Суммарная площадь листовой поверхности одного растения, см ²	Диаметр корневой шейки, мм	Суммарная длина корней, см
<i>Контроль — Тн П 1:1</i>								
1 января	30,6	29,8	25,1	5,1	1,0	35,8	2,8	75,4
15 января	34,8	30,1	30,8	7,4	1,0	350,6	2,8	88,5
1 февраля	59,9	35,2	28,4	7,0	1,0	349,5	2,9	92,3
15 февраля	66,2	40,1	30,2	8,5	1,5	380,5	2,8	93,5
28 февраля	87,6	55,4	38,6	8,1	1,0	400,6	3,1	96,2
1 марта	85,4	55,2	45,2	11,2	1,0	415,4	3,0	106,4
15 марта	90,2	65,4	55,1	13,0	1,5	410,2	3,4	121,5
<i>Опытный субстрат — Отв 1:4</i>								
1 января	75,2	87,4	100,3	23,2	1,5	1350,0	3,5	215,4
15 января	73,7	88,3	104,5	25,6	1,5	1355,4	3,5	216,8
1 февраля	80,5	99,4	108,5	26,1	1,5	1352,6	3,5	219,5
15 февраля	100	98,9	115,4	25,3	2,0	1368,2	4,2	230,8
28 февраля	100	100	120,3	30,8	2,0	1370,6	4,3	250,8
1 марта	100	100	119,4	28,4	2,2	1385,4	4,1	248,5
15 марта	100	100	108,5	25,1	2,2	1356,2	4,0	230,4
НСР ₀₅ для частных различий	16,1	10,9	9,2	2,3	0,8	89,8	0,6	31,4

Выводы

1. Использование субстратов, содержащих нейтрализованный верховой торф и свежие стабилизированные обезвоженные осадки городских сточных вод ОГСВ (доля в субстрате 20-30%), на этапе адаптации пробирочных растений обеспечивают высокую приживаемость (до 95-100%) и сохраняемость in vitro растений сирени, малины, ежевики, мапино-ежевичных гибридов в нестерильных условиях.

2. Применение субстратов с ОГСВ позволяет на 1-2,5 мес раньше пересаживать пробирочные растения в искусственные субстраты для адаптации и доращивания.

3. При использовании в составе субстратов ОГСВ микрорастения отличаются высокими темпами начального роста, большим приростом, значительной листовой поверхностью, что наряду с более мощным развитием корневой системы

(число и масса корней, их суммарная длина) делает возможным пересадку in vitro растений с закрытой корневой системой на постоянное место без доращивания в питомнике.

4. Благодаря асептическим свойствам верхового торфа и отсутствию патогенной микрофлоры в свежих ОГСВ нет необходимости в предварительном обеззараживании субстрата, что экономит затраты ручного труда, средств и предотвращает загрязнение окружающей среды;

5. Благодаря оптимальным физико-химическим свойствам и наличию гормональной активности субстратов с ОГСВ сокращается период от введения эксплантов в стерильную культуру до пересадки растений на постоянное место, в 1,5—1,8 раза увеличивается общий выход жизнеспособных in vitro растений, повышается эффективность использования дорогостоящего защищенного грунта.

Библиографический список

1. Аладина О.Н., Акимова С.В., Чернова С.Ю., Полянская А. Е., Скоробогатова И.В., Никиточкин Д.Н. Роль субстратов и внекорневых обработок в укоренении зеленых черенков крыжовника в пластиковых ячейках // Известия ТСХА, 2008. №1. С. 1-12.
2. Батукаев А.А., Садаева М.А. Использование цеолита при адаптации и доращивании растений винограда *in vitro* в условиях *in vivo*. Пути интенсификации и кооперации в селекции садовых культур и винограда. Краснодар, 2002. С. 212-215.
3. Бьядовский И.А. Оптимизация условий роста косточковых культур после микроразмножения. Автореф. канд. дис. М., 2007.
4. Воробьева Р.П., Додолина В.Т., Мерзлая Г.Е. Экологически безопасные методы использования отходов. Барнаул: Изд-во МСХ РФ, 2000.
5. Дженеев С.Ю., Литвак А.И., Солдатов В.С., Насимов А.З. Использование искусственной ионитной почвы БИОНАпри адаптации растений винограда, клонированных *in vitro*. Ялта; 1990. Рукопись деп. во ВНИИТЭИагропром 31.10 1990.
6. Кузнецова Л.М., Галактионов А.А. Торфяные грунты. Ял. Труды ВНИИТП. Вып. 55. С. 99-108.
7. Кузнецова Л.М., Булганин В.Н., Симонова Г.П., Щербаков В.А. Обоснование параметров торфяного сырья, используемого в растениеводстве. Переработка и использование торфа. Ял. Сб. научных трудов ВНИИТП. Вып. 59. С. 5-12).
8. Кузнецова Л.М. Использование торфа в защищенном грунте. Торф в сельском хозяйстве Нечерноземной зоны: справочник / В.Н. Ефимов, И.Н. Донских, Л.М. Кузнецова и др. Сост. В.Н. Ефимов. Ял.: Агропромиздат. Ленингр. отд-ние, 1987. С. 109-130.
9. Леонтьев-Орлов О.А. Получение посадочного материала яблони методом культуры тканей. М., 1986.
10. Мирзаев М.М. Эффективные способы выращивания меристемных растений гвоздики в почвенных субстратах. Тр. НИИ садоводства, виноградарства и виноделия им. Шредера, 1988. Т. 50. С. 31-34.
11. Михальчик Л.С., Деменко В.И. Размножение яблони и вишни методом *in vitro*. Тр. научной конференции молодых ученых 14-17 июня 1988 г., 1988. С. 649-657. Рукопись деп. во ВНИИТЭИагропром 05.01 1989;
12. Ребров А.Н. Адаптация растений винограда *in vitro* к условиям нестерильной среды. Автореф. канд. дис. Краснодар, 2007.
13. Романов Е.М. Экологические аспекты утилизации осадков сточных вод в лесных питомниках // Проблемы охраны окружающей среды от промышленных, бытовых, биологических и медицинских отходов, осадков сточных вод. Международ. науч.-практ. конф. Пенза, 1997. С. 147-150.
14. Седых Э.М., Аджиев В.Е., Старшинова Н.П., Банных Л.Н., Тацкий Ю.Г., Гулько Н.И. Анализ осадков городских стоков // РИА Стандарты и качество. Партнеры и конкуренты, 2001. № 1. С. 16-20.
15. Столяренко С.Б. Особенности питательных субстратов на основе верхового сфагнового торфа / Теплицы России, 2006. № 2. С. 62—63;
16. Цветков И., Кръстанова С. Адаптация на хризантема, получена в различии виде субстрати// Растениеведни науки, 1991. Т. 28. № 3-6. С. 44~49.
17. Einset J.W., Alexander J.H. Multiplication of Syringa species and cultivars in tissue culture / Comb. Proc. // Intern. Plant Propagators Soc, 1985. Т. 34. P. 628-636.
18. Orlikowska T. Propagation of quince S 1 (Cydonia blonga Mill.) *in vitro* / Fruit Sc. Rep. Skierniewice, 1988. Т. 15. N 4. P. 157-165.
19. Orlikowska T. Rozmnazanie pigwy S 1 w kulturach *in vitro* / Ogronictwo, 1988. Т. 25. N 4. S. 6-8.

20. *Pierik R.L.M., H.H.M. Steagmans P.F.* Sprenkels Micropropagation of Lilac (*Syringa vulgaris* L.) // Biotechnology and Forestry, 1992. V. 20. P. 407-426.

21. *Pocock S.* Procedures and problems associated with the transfer of tissue-cultured plants /Comb. Proc. // Intern. Plant Propagators Soc, 1984. T. 33. P. 316—320.

22. *Refouvelet E., Le Nours S., Talon C., Daguin F.* A new method for in vitro propagation of lilac: regrowth and storage conditions for axillary buds encapsulated in alginate beads, development of a pre - acclimatization stage // Scientia Horticulturae, 1998, 74. P. 233-241.

23. *Strauch D.* Gesetzliche hygienische Anfordeungen an Komposte aus Abfallstoffen /VDLUFA-Schriftenreihe — Verbandt Dt. Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten, Darmstadt, 1988. T. 23. S. 983-1002).

24. *Wainwright H., Scrace J.* Influence of in vitro preconditioning with carbohydrates during the rooting of microcuttings on in vivo establishment // Sc. hortic, 1989. T. 38. № 3/4. P. 261-267.

25. *Youn Y., Ishil K., Saito A., Ohba K.* In vitro plantlet regeneration from axillary buds of mature trees of *Tilia cordata* // J. Japan. Forestry Soc, 1988. T. 70. № 7. P. 315-317.

SUMMARY

New artificial substrate, containing fresh stabilized urban sewage water sediment and neutralized upper peat (1:4) has been used in the adaptation stage of raspberries, blackberries, raspberry-blackberry hybrids, lilac microplants. The substrate due to its optimal physical-chemical aseptic properties and also its high hormonal activity has a positive influence on micro-plants' acclimation rate, their growth and development. The use of substrate allows to transplant regenerants from test-tubes under unsterile conditions at an earlier time (in the middle of January), increases output of viable planting stock of berry and decorative bushes having closed root system by the beginning of vegetation period.

Key words: raspberries, blackberries, raspberry-blackberry hybrids, lilac, microclonal reproduction, adaptation, substrates, upper peat, dehydrated urban sewage water sediment.