

УДК 634.8:581.14

Влияние состава субстрата на приживаемость микрорастений *Vitis vinifera* L. *in vivo*

Иванова-Ханина Л. В.

Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского
Симферополь, Республика Крым, Россия
lidaivanova-khanina@rambler.ru

Приводятся экспериментальные данные по результатам использования различных по составу субстратов на показатели приживаемости микрорастений *Vitis vinifera* на этапе адаптации к условиям *in vivo*. В эксперименте использовали хорошо развитые микрорастения после 2 недель адаптации к воздушно-газовому режиму. Растения культивировали на стерильных субстратах в условиях светопрозрачного вегетационного бокса. Установлено, что для адаптации микрорастений исследуемых сортов *V. vinifera* наиболее оптимальным субстратом является торф, песок и почва в соотношении 1:1:1. Уровень приживаемости в этом варианте субстрата варьировал от 75,0 до 87,5 % в зависимости от сорта. Для повышения приживаемости растений испытывали действие абсорбента TERAWET. В часть подготовленного для высадки растений субстрата добавляли мелкую фракцию Т-100 TERAWET из расчета 2 г на 1 кг субстрата. В емкости для укоренения первым слоем засыпали субстрат, смешанный с TERAWET (толщина слоя – 5 см), в который заглубляли корневую систему растения, затем досыпали слой субстрата без абсорбента (толщина слоя – 3 см). Это обеспечивало размещение абсорбента в зоне корневой системы растений и в то же время предотвращало его излишний расход. Показано, что использование двухслойного субстрата с добавлением абсорбента TERAWET способствует существенному повышению уровня приживаемости растений (до 95–100 %) на этапе адаптации к условиям *in vivo*, но не оказывает существенного влияния на биометрические показатели растений.

Ключевые слова: *Vitis vinifera*, субстрат, адаптация *in vivo*, абсорбент TERAWET.

ВВЕДЕНИЕ

Адаптация растений, полученных в культуре *in vitro*, к условиям *in vivo* является очень ответственным завершающим этапом микроклонального размножения растений, поскольку в случае массовой гибели регенерантов эффективность всего процесса размножения резко снизится. Сложность перевода пробирочных растений к условиям *in vivo* связана с некоторыми анатомическими и физиологическими особенностями, которые растения приобретают при культивировании *in vitro*. Листовые пластинки пробирочных растений лишены эпикутикулярного слоя воска, который формируется при более низкой влажности и защищает растения от чрезмерной потери влаги, и склонны к быстрому обезвоживанию (Дорошенко, 1999; Зленко, 1991). Пониженная всасывающая способность корней в первый период после пересадки в условия *in vivo* также может являться причиной гибели растений-регенерантов (Яблонская и др., 2016; Yildiz et al., 2010).

Именно поэтому большое внимание уделяется подбору оптимальных субстратов для культивирования, которые должны быть достаточно легкими, рыхлыми, влаго- и воздухопроницаемыми, чтобы обеспечить высокую приживаемость микрорастений и их интенсивный рост и развитие после пересадки в почвенный субстрат. Многие авторы используют в качестве влагоудерживающего компонента торф (Дедюхина и др., 2011), а для улучшения воздушного режима – крупнозернистый песчаник, вермикулит или перлит (Галдина, 2017). Рядом работ показана эффективность использования смесей с перлитом разной степени подготовки и для *Vitis vinifera* L. (Батукаев, 1999; Касимов, 1989).

Кроме того, эффективным технологическим приемом является использование при приготовлении субстратов влагоудерживающих веществ типа TERAWET, LUXSORBTM (Бейбулатов и др., 2009; Кучер, Резник, 2009). Использование этого препарата не только позволяет сохранить влагу и элементы минерального питания в корнеобитаемом слое, но и

способствует лучшей приживаемости растений. В промышленных условиях отмечено повышение приживаемости у многих культур, в том числе получены положительные результаты и у *V. vinifera* (Бейбулатов, 2009). Также получены положительные результаты по использованию TERAWET для адаптации полученных *in vitro* растений *V. vinifera* к стрессовым условиям (Зеленянська, 2008).

Цель работы – выявить оптимальный состав субстрата для перевода растений-регенерантов *Vitis vinifera* в условия *in vivo*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для адаптации к условиям *in vivo* выбирали хорошо развитые растения *V. vinifera*, в течение 2 недель их выдерживали с приоткрытой на 1/3 пробкой для постепенной адаптации к воздушно-газовому режиму (Батукаев, 1999; Медведева и др., 2008). Для предотвращения появления плесеней на поверхности питательной среды производили увлажнение дистиллированной водой, излишек воды сливали, переворачивая пробирки. Отобранные и подготовленные таким образом растения высаживали в емкости объемом 200 мл со стерильными субстратами различного состава. Стерилизация субстрата проводилась горячим сухим воздухом (88 ± 1 °C) по 6 часов в течение 3 дней. Высаженные растения культивировали в условиях светопрозрачного вегетационного бокса для обеспечения оптимального микроклимата. При этом поддерживалась температура 24–25 °C, влажность 70–75 %, освещенность 3–4 тыс. лк и 16-часовой фотопериод. Высокую влажность поддерживали периодическим мелкокапельным опрыскиванием в течение одной недели, затем влажность воздуха в вегетационном боксе снижали до 60 %. Подкормку растений элементами минерального питания (раствором Кноппа) проводили сразу после высадки растений в субстрат и через каждые 10 дней. Растения, прошедшие адаптацию, пересаживали и культивировали в условиях защищенного грунта (в пленочных теплицах).

Для статистической обработки экспериментальных данных использовали пакет прикладных программ Excel 7.0 для Windows 97.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Высадку микрорастений *V. vinifera* в субстрат проводили в лабораторных условиях, при этом емкости с пересаженными растениями сразу помещались в вегетационный бокс. В период культивирования растений в вегетационном боксе периодически проводили проветривание приоткрыванием крышки каждые 3 часа: сначала на 10–15 минут, затем постепенно время проветривания увеличивали до 1 часа через каждые 3 часа. Через 10 суток после высадки крышку с вегетационного бокса снимали полностью и культивировали растения в лабораторных условиях еще в течение 30 суток.

В результате эксперимента выявлено, что на приживаемость и развитие растений *V. vinifera* в условиях *in vivo* значительное влияние оказывал состав субстрата (табл. 1).

Анализ полученных данных показал, что лучше всего проходила адаптация микрорастений при высадке на субстрат «торф : песок : почва» в соотношении 1:1:1. При этом отмечен наиболее высокий уровень приживаемости у всех исследуемых сортов – 75,0–87,5 %. Сходные результаты были получены рядом авторов и на других сортах *V. vinifera* (Дорошенко, 1999; Медведева, 2008).

На остальных вариантах состава субстрата показатели приживаемости растений были существенно ниже и варьировали в пределах 62,5–80 %. При этом различия уровня приживаемости растений *V. vinifera* между вариантами «торф : песок : перлит» и «торф : песок : перлит : почва» были незначительными. Возможно, низкая эффективность субстратов с перлитом обусловлена его качественными особенностями, поскольку во многих работах показана хорошая приживаемость некоторых сортов винограда на перлите разной степени подготовки (Батукаев, 1999) и субстратах с добавлением перлита (Касимов, 1989).

Таблица 1

Приживаемость адаптированных к условиям *in vivo* микрорастений
Vitis vinifera на различных субстратах

Субстрат		Приживаемость, % $\bar{x} \pm S_x^*$				
Компоненты	Соотношение	‘Молдова’	‘Суручен-ский белый’	‘Шевченко’	‘Фрумоаса албэ’	‘Каберне Совиньон’
Торф : песок : перлит	1:1:1	77,5±5,0	80,0±3,3	75,0±10,0	62,5±7,5	72,5±7,5
Торф : песок : почва	1:1:1	87,5±5,0	85,0±2,5	83,7±4,6	75,0±2,5	75,0±5,0
Торф : песок : перлит : почва	1:1:1:1	80,0±3,5	74,6±7,3	72,5±7,5	-	75,0±0,0

Примечание к таблице: * – среднее значение ± стандартное отклонение.

Для повышения приживаемости растений в условиях *in vivo* мы использовали абсорбент TERAWET, добавив его к подобранному нами субстрату.

В эксперименте мы использовали следующий вариант субстрата: торф, песок, почва в соотношении 1:1:1 (субстрат 1) смешивались в равных пропорциях и делились на две равные части, в одну из которых добавляли мелкую фракцию T-100 TERAWET из расчета 2 г на 1 кг приготовленного субстрата (субстрат 2). В емкости для укоренения засыпали субстрат, смешанный с TERAWET (толщина слоя – 5 см), в который заглубляли корневую систему растения, при этом базальная часть черенка располагалась на его поверхности. Затем аккуратно, чтобы не повредить растение, досыпали слой субстрата без гидроабсорбента (толщина слоя – 3 см). Такая методика послойной подготовки субстрата обеспечивала размещение абсорбента в зоне корневой системы растений и в то же время позволяла избежать излишнего расхода этого вещества. В качестве контроля использовали субстрат 1 (без добавления TERAWET).

В результате проведенных исследований выявлено, что добавление TERAWET в субстрат для культивирования растений *in vivo* обеспечивает более высокий уровень приживаемости у всех исследуемых сортов (табл. 2).

Таблица 2

Влияние абсорбента TERAWET на приживаемость меристемных растений
Vitis vinifera в условиях *in vivo*

Вариант		Приживаемость, % $\bar{x} \pm S_x^*$				
		‘Молдова’	‘Суручен-ский белый’	‘Шевченко’	‘Фрумоаса албэ’	‘Каберне Совиньон’
1	Субстрат 1 (контроль)	87,5±5,0	85,0±2,5	83,7±4,6	75,0±2,5	75,0±5,0
2	Субстрат 1 (3 см) + Субстрат 2 (5 см)	95,0±0,0	100,0	97,5±2,5	95,0±3,3	100,0

Примечание к таблице: * – среднее значение ± стандартное отклонение.

Отмечено, что добавление абсорбента TERAWET достоверно способствовало повышению уровня приживаемости растений до 95–100 %. Наиболее высокое значение показателя приживаемости отмечено у сортов ‘Сурученский белый’ и ‘Каберне Совиньон’ (100 %).

Следует отметить, что интенсивность роста растений после высадки на исследуемые субстраты варьировала незначительно. Во всех вариантах отмечался рост одного основного побега, при этом растения, высаженные на субстрат с добавлением TERAWET, характеризовались несколько более высокими биометрическими показателями, но разница между вариантами была несущественной (табл. 3). Следует отметить, что в обоих вариантах за период культивирования формировалось 1–3 узла, а значительное изменение высоты побегов вызвано делением клеток интеркалярной меристемы, способствующей удлинению междоузлий побега.

Таблица 3

Рост и развитие меристемных растений *Vitis vinifera* в условиях in vivo
(40 суток культивирования)

Сорт	Вариант субстрата	Биометрические показатели $\bar{x} \pm S_x^*$			
		Высота побега, см	Количество узлов, шт.	Количество корней, шт.	Средняя длина корней, см
‘Молдова’	Субстрат 1 (контроль)	10,6±1,2	7,3±0,6	7,1±1,3	10,3±1,6
	Субстрат 1 + субстрат 2	11,2±0,8	7,1±0,5	8,4±0,8	10,5±1,2
‘Сурученский белый’	Субстрат 1 (контроль)	11,3±1,6	7,7±0,5	8,0±0,9	11,8±1,7
	Субстрат 1 + субстрат 2	12,1±1,0	7,5±0,8	9,2±0,6	12,4±0,9
‘Шевченко’	Субстрат 1 (контроль)	9,2±1,5	6,0±0,5	9,6±1,1	8,2±1,3
	Субстрат 1 + субстрат 2	10,4±1,3	6,2±0,4	10,5±0,7	8,0±1,5
‘Фрумоаса албэ’	Субстрат 1 (контроль)	8,7±1,1	5,8±1,1	8,3±0,5	9,5±0,8
	Субстрат 1 + субстрат 2	9,0±0,7	6,0±0,8	9,0±1,0	9,5±1,2
‘Каберне Совиньон’	Субстрат 1 (контроль)	11,8±1,2	8,1±0,7	8,6±0,7	10,7±1,1
	Субстрат 1 + субстрат 2	12,4±0,6	8,2±1,1	9,5±1,5	11,3±0,8

Примечание к таблице: * – среднее значение ± стандартное отклонение.

Таким образом, в результате исследований показано, что добавление в субстрат абсорбента TERAWET способствовало повышению приживаемости микрорастений *V. vinifera* in vivo и не оказывало существенного влияния на показатели роста растений. Очевидно, положительное воздействие TERAWET на прирост побегов в промышленных условиях при пониженной влажности почвы и воздуха, показанное в работах (Бейбулатов, 2009), нивелируется в контролируемых условиях вегетационного бокса.

Высадку адаптированных растений винограда в пленочные теплицы производили во 2 – 3-й декаде апреля в подготовленные гряды с комом субстрата, чтобы не повредить корневую систему. Приживаемость высаженных после адаптации меристемных растений всех исследуемых сортов винограда в теплице составляла 95–100 %.

ВЫВОДЫ

1. Для адаптации микрорастений *Vitis vinifera* L. сортов ‘Молдова’, ‘Шевченко’, ‘Сурученский белый’, ‘Фрумоаса албэ’ и ‘Каберне Совиньон’ оптимальным является субстрат «торф : песок : почва» в соотношении 1:1:1. Уровень приживаемости в данном варианте субстрата в зависимости от сорта составил 75,0–87,5 %.

2. Использование двухслойного субстрата с добавлением абсорбента TERAWET способствует существенному повышению уровня приживаемости растений на этапе адаптации к условиям in vivo (до 95–100 %).

3. Увеличение биометрических показателей при адаптации микрорастений *Vitis vinifera* L. к условиям in vivo при использовании субстрата с добавлением абсорбента TERAWET было несущественным в контролируемых условиях вегетационного бокса.

Список литературы

- Батукаев А. А. Совершенствование технологии ускоренного размножения винограда методом *in vitro* и применение регуляторов роста в условиях *in vitro* и *in vivo*: автореф. дисс. ... д-ра с.-х. наук: 06.01.08 / А. А. Батукаев. – М., 1999. – 60 с.
- Бейбулатов М. Р., Игнатов А. П., Тихомирова Н. А., Ярошук И. Э. Применение влагосберегающего компонента в корнеобитаемом слое при возделывании сельскохозяйственных культур // Виноград. – 2009. – № 3 (14). – С. 54–56.
- Галдина Т. Е. Совершенствование технологии доращивания растений, полученных в культуре ткани *in vitro* // Успехи современной науки и образования. – 2017. – Т. 7, № 2. – С. 174–177.
- Дедюхина О. Н., Константинова А. С., Баранова О. Г. Адаптация растений-регенерантов *Eremogone saxatilis* (L.) Икопн. к почвенным условиям // Вестник Удмуртского университета. – 2011. – Вып. 3. – С. 31–35.
- Дорошенко Н. П. Биотехнологические методы ускоренного размножения и оздоровления, селекции бессемянных сортов и создания коллекций генофонда винограда: автореф. дисс. ... д-ра с.-х. наук: 06.01.08 / Н. П. Дорошенко – Всерос. НИИ виноградарства и виноделия им. Потапенко. – Новочеркасск, 1999. – 59 с.
- Зеленяньска Н. Н. Застосування флуоресцентних методів досліджень у виноградному розсадництві Криму // Науковий вісник Національного аграрного університету. – 2008. – № 126. – С. 157–162.
- Зленко В. А. Диагностика хозяйственно ценных признаков и клональное микроразмножение винограда *in vitro*: автореф. дисс. ... канд. с.-х. наук: 06.01.08, 03.00.12 / В. А. Зленко – Ялта, 1991. – 22 с.
- Касимов А. З. Совершенствование способов адаптации растений винограда в условиях *in vivo*, размноженных методом *in vitro*: автореф. дисс. ... канд. с.-х. наук: 06.01.08 / А. З. Касимов. – Ялта, 1989. – 28 с.
- Кучер Г. М., Резник М. А. Применение влагонакапливающих гидрогелей LUXSORB™ при выращивании винограда // Виноград. – 2009. – № 3 (14). – С. 36–41.
- Медведева Н. И., Поливара Н. В., Трошин Л. П. Особенности микрклонального размножения интродуцентов и клонов винограда // Научный журнал КубГАУ. – 2008. – № 40 (6). – Режим доступа к журн.: <http://ej.kubagro.ru/2008/06/pdf/18.pdf>.
- Яблонская М. И., Гинс М. С., Молчанова М. А. Биотизация растений *in vitro* // Вестник РУДН. Агронимия и животноводство. – 2016. – № 1. – С. 15–20.
- Yildiz A., Cagdas A., Aslihan A., Yesim Y., Sedat S., Ibrahim O. The effect of mycorrhiza in nutrient uptake and biomass of cherry rootstocks during acclimatization // Romanian Biotechnological Letters. – 2010. – Vol. 15, N 3. – P. 5246–5252.

Ivanova-Khanina L. V. Influence the composition of substrate on survival rate of microplants of *Vitis vinifera* L. *in vivo* // Ekosystemy. 2018. Iss. 13 (43). P. 84–88.

Experimental data results of influence different soil substrate on survival rate of micro-plants of *Vitis vinifera* on the stage of adaptation to *in vivo* conditions presented. Well-developed microplants after 2 weeks of adaptation to the aerial and gaseous conditions were used for experiment. The plants were cultivated on sterile substrates in translucent vegetative box conditions. The best substrate for adaptation of microplants for the most studied kinds of the *V. vinifera* is proportion of peat: sand: soil is 1:1:1. In this variant of the substrate, the survival rate for different kinds of grape varied from 75.0 to 87.5 %. Absorbent TERAWET was tested to improve plant survival. A small fraction of T-100 TERAWET (2 g per 1 kg of substrate) was added to the part of the planting substrate. First layer of the rooting tank was substrate mixed with TERAWET (layer thickness – 5 cm), where the plants' root system was deepened; second layer was the substrate without absorbent (the thickness of the layer is 3 cm). This method provides roots placement in the absorbent layer and prevents its overspend at the same time. Shown, the usage of a two-layer substrate with adding absorbent TERAWET significantly increase the level of plant survival during the adaptation stage to *in vivo* conditions (up to 95–100 %), but does not affect biometric indices of plants.

Key words: *Vitis vinifera*, soil substrate, *in vivo* adaptation, absorbent TERAWET.

Поступила в редакцию 22.02.18