

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ МОДИФИКАЦИЙ ПРЕПАРАТА СУПЕРСТИМ В МАЛЫХ ДОЗАХ НА ЭТАПЕ ИНДУКЦИИ РИЗОГЕНЕЗА РАСТЕНИЙ РОДА *RUBUS* L. С УЧЕТОМ ПОСЛЕДЕЙСТВИЯ НА ЭТАПЕ АДАПТАЦИИ

С.В. АКИМОВА^{1,2}, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент (e-mail: asvl1@yandex.ru)

О.Н. АЛАДИНА¹, профессор, доктор сельскохозяйственных наук, главный научный сотрудник

В.В. КИРКАЧ¹, соискатель, агроном

А.Н. ВИКУЛИНА¹, соискатель, старший преподаватель

А.П. ГЛИНУШКИН², доктор сельскохозяйственных наук, директор

¹Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, ул. Тимирязевская, 49, Москва, 127550, Российская Федерация

²Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии, ул. Институт, вл. 5, р.п. Большие Вяземы, Одинцовский р-н, Московская обл., 143050, Российская Федерация

Резюме. Опыты проводили в 2013-2015 гг. в лаборатории клонального микроразмножения садовых растений ФГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева. Цель исследования – выявление целесообразности добавления препаратов Суперстим 1 и Суперстим 2 в малых дозах в питательную среду на этапе ризогенеза микрорастений рода *Rubus* L. Суперстим 1 – высокоэффективный природный стимулятор, полученный из меристематических тканей апексов картофеля, регулирующий синтез собственных гормонов в обработанных растениях, Суперстим 2 дополнительно содержит диатомовые водоросли. Для ризогенеза использовали питательную среду Мурасиге и Скуга (MS), содержащую 1/2 макро- и микроэлементов, витамины тиамин-гидрохлорид, пиридоксин-гидрохлорид, никотинамид по 0,5 мг/л, сахарозу – 15000 мг/л, агар-агар – 6000 мг/л. Препараты Суперстим 1 и Суперстим 2 добавляли в концентрациях 1×10^{-2} – 1×10^{-9} %, контроль – 1/2 MS без синтетических гормонов и 1/2 MS с индолилмасляной кислотой (0,5 мг/л). Повторность трехкратная по 10 растений. Растения, готовые к пересадке последовательно переносили в условия *ex vitro*, где выявляли последствие препаратов. На этапе ризогенеза эффективно добавлять в состав питательной среды: препарат Суперстим 1 для сорта малины ремонтантной Пингвин – в концентрации 1×10^{-5} % (длительность субкультивирования сокращалась на 36 дней, приживаемость этапе адаптации составляла 90,0 против 83,3 % в контроле); для ежевично-малинового гибрида Логанберри – 1×10^{-8} % (длительность субкультивирования сокращалась на 21 день, приживаемость соответствовала контролю – 96,7 %); Суперстим 2 для сорта малины ремонтантной Пингвин – в концентрации 1×10^{-6} % (длительность субкультивирования сокращалась на 21 день, приживаемость составила 93,3 против 83,3 % в контроле); для ежевично-малинового гибрида Логанберри при концентрации 1×10^{-2} , 1×10^{-8} , 1×10^{-9} % – 36 дней (20 против 56 дней в контроле). Однако на этапе адаптации растения ежемалины на фоне последствие Суперстима 2 отличались невысокими показателями приживаемости и развития.

Ключевые слова: клональное микроразмножение, малина ремонтантная, ежемалина, субкультивирование, укоренение, адаптация.

Для цитирования: Эффективность применения модификаций препарата Суперстим в малых дозах на этапе индукции ризогенеза растений рода *Rubus* L. с учетом последствие на этапе адаптации / С.В. Акимова, О.Н. Аладина, В.В. Киркач, А.Н. Викулина, А.П. Глинушкин // Достижения науки и техники АПК. 2017. Т. 31. № 2. С. 39–44.

Клональное микроразмножение – современный интенсивный способ массового бесполого размножения растений в культуре тканей и клеток, при котором полученные растения генетически идентичны исходному экземпляру [1]. При его использовании происходит освобождение тканей микропобегов от возбудителей многих

заболеваний, снижающих урожайность до 30-80 % [2], а реовенилизация организма после культуры *in vitro* [3] усиливает способность к вегетативному размножению.

Эффективность клонального микроразмножения растений рода *Rubus* L. во многом зависит от генотипических факторов, влияние которых проявляется в способности к росту меристем, размножению и укоренению [4, 5]. Для укоренения микропобегов *in vitro* используют питательную среду Мурасиге и Скуга, содержащую 1/2 макро- и микроэлементов [6], двойную концентрацию хелата железа и 15-20 г/л сахарозы [7].

Для индукции ризогенеза традиционно используют ауксины – индолилмасляную (ИМК), индолилуксусную (ИУК) и реже нафтилуксусную (НУК) кислоты [8, 9]. В зависимости от генотипа растений ризогенез может продолжаться от 30 до 70 дней. Длительное воздействие ауксина при этом стимулирует формирование корневых зачатков, но впоследствии ингибирует рост корней и способствует развитию каллуса [10, 11]. Отсутствие корневых волосков при культивировании *in vitro* также связано с недостатком кислорода, что ухудшает поглощение воды и минеральных солей и впоследствии негативно сказывается на адаптации микрорастений к нестерильным условиям [12]. Поэтому сейчас большое внимание при совершенствовании технологии клонального микроразмножения уделяют изучению влияния новых биологически активных веществ на ризогенез *in vitro*.

Одно из направлений увеличения производства экологически безопасной продукции – использование биологически активных веществ нового поколения с высокой степенью распада за короткий период [13]. В середине 80-х гг. прошлого века в работах ряда исследователей были получены неожиданные результаты при изучении закономерностей проявления биологических эффектов, возникших при использовании физиологически активных веществ в малых и сверхмалых дозах (СМД) с массовой концентрацией в интервале 10^{-5} – 10^{-17} М и менее. При ее уменьшении на 1-2 порядка эффект закономерно снижался, затем наступала «зона молчания» (эффект не наблюдали), а при дальнейшем уменьшении массовой доли на 4-6 порядков от первоначальной эффект возникал снова. Это явление получило название эффекта сверхмалых доз [14, 15, 16].

В институте биохимической физики РАН с 1987 г. исследовали возможности использования малых и сверхмалых доз биологически активных веществ (БАВ). Было установлено, что в области традиционных «физиологических» концентраций 10^{-4} – 10^{-9} М молекулы БАВ, встраиваясь в мембрану и взаимодействуя с окружающими молекулами фосфолипидов, влияют на белково-липидный комплекс [13]. Такой эффект СМД наблюдали при изучении разнообразных химических агентов: регуляторов роста растений, противоопухолевых препаратов, нейропептидов и гормонов, иммуномодуляторов, антиоксидантов и других как белковых, так и небелковых соединений. Использование сверхмалых доз БАВ в сельском хозяйстве пока не получило такого развития, как в медицине [17].

Определение четких критериев действия препаратов сокращает сроки проведения работ, улучшает качество

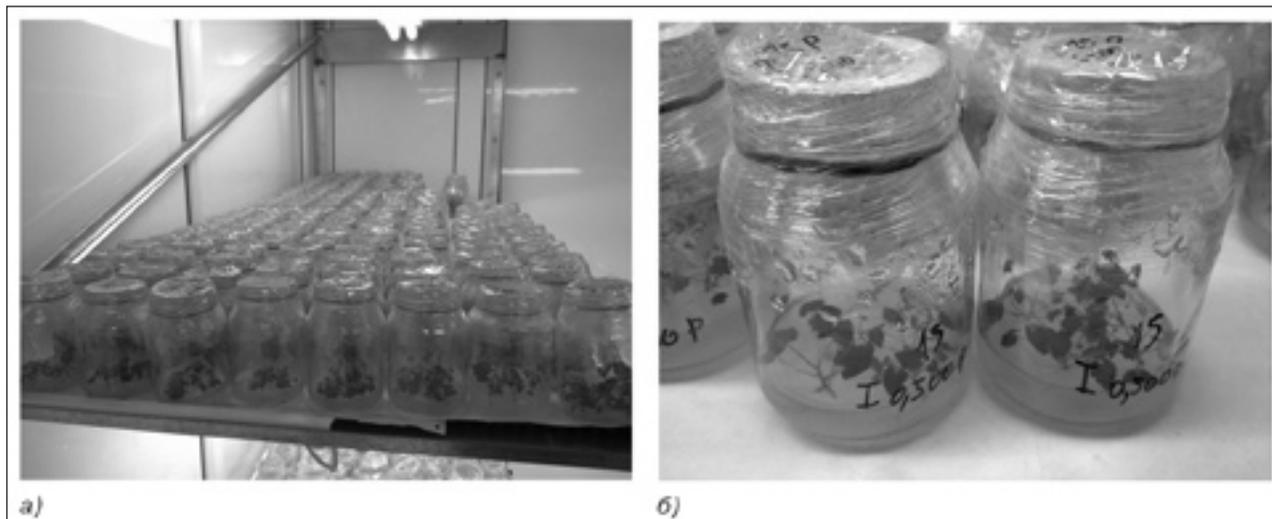


Рисунок. Внешний вид образцов в световой комнате.

адаптации к нестерильным условиям [18, 19], позволяя использовать различные варианты повышения устойчивости растений к поражению возбудителями болезней.

Цель исследований – выявление эффективности включения препаратов нового поколения Суперстим 1 и Суперстим 2 в малых дозах в состав питательной среды для сокращения длительности этапа ризогенеза микрорастений рода *Rubus* L. с учетом последействия на процессы развития растений *ex vitro* на этапе адаптации.

Условия, материалы и методы. Опыты проводили в 2013-2015 гг. в лаборатории клонального микроразмножения садовых растений лаборатории плодородства РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, анализ результатов – в отделе резистентологии ВНИИФ.

Несмотря на большие успехи в разработке основных этапов клонального микроразмножения, наиболее сложным остается адаптация регенерантов к нестерильным условиям, так как потери на этом этапе могут составлять от 50 до 100 %. Приживаемость и успешное развитие микрорастений при адаптации зависят от комплекса таких факторов, как тип субстрата, освещенность, температура и влажность воздуха, инфекционная нагрузка и др. [11, 20, 21]. Для этого этапа характерны медленный начальный рост, слабое развитие надземной части и корневой системы, что не ограничивает возможности выращивания качественного посадочного материала с закрытой корневой системой [22]. Кроме того, один из приемов, используемых при пересадке микрорастений в нестерильные условия – пролив субстрата фунгицидами за 12 ч до высадки. Наши исследования показали, что в этом случае часто ингибируется рост и развитие адаптируемых растений [23].

Известно положительное действие препарата Суперстим против комплекса болезней, например, его применение для предпосевной обработки семян капусты снижало их поражение патогенной микрофлорой, повышало лабораторную всхожесть и энергию прорастания [24].

В схему опыта были включены две модификации препарата Суперстим. Суперстим 1 (оригинатор ННПП «НЭСТ М») – высокоэффективный природный стимулятор, представляющий собой комплекс физиологически активных веществ из ростков картофеля, регулирующий в обработанных растениях синтез собственных гормонов и повышающий их урожайность и устойчивость к болезням [25]. В состав Суперстима 2 дополнительно включены диатомовые водоросли.

Рекомендуемые нормы расхода – 0,1 г/га для зерновых и 1 г/га для овощных, для плодовых растений еще не уста-

новлены. В клональном микроразмножении Суперстим впервые применили в 2012 г. на культуре картофеля [26].

Объекты исследований – ежевично-малиновый гибрид Логанберри, малина ремонтантная сорта Пингвин. Для ризогенеза использовали питательную среду Мура-сиге и Скуга (MS), содержащую 1/2 макро- и микросолей [6, 27], витамины тиамин-гидрохлорид, пиридоксин-гидрохлорид, никотинамид по 0,5 мг/л, сахарозу – 15000 мг/л, агар-агар – 6000 мг/л. Согласно схеме опыта препарат Суперстим 1 и Суперстим 2 добавляли в концентрациях (1×10^{-2} - 1×10^{-9} %). В качестве контроля использовали растения, высаженные для ризогенеза на среду 1/2 MS без гормонов и с добавлением 0,5 мг/л ИМК.

Технология приготовления экспериментальных растворов изучаемых препаратов предусматривала последовательное разведение исходного маточного раствора. Для приготовления раствора с концентрацией 1×10^{-2} % Суперстим в количестве 100 мг растворяли в 1000 мл готовой питательной среды. Далее 100 мл раствора с концентрацией 1×10^{-2} % доводили питательной средой до 1000 мл и получали раствор 1×10^{-3} %. Аналогичным образом последовательно проводили разведение до более низких концентраций.

Питательную среду, предварительно разлитую в культуральные сосуды (по 30 мл в стеклянных банках объемом 100 мл), стерилизовали в автоклаве 20 мин при давлении пара 1 атм. В ламинарном боксе в каждый сосуд помещали по 10 микрочеренков длиной в 2-3 узла. Далее культуры инкубировали в световой комнате при интенсивности освещения 2500 люкс, 16-и часовом фотопериоде и температуре 20-22 °С. Повторность опыта трехкратная, по 10 растений в каждой повторности (см. рисунок).

Показатели роста и развития определяли на 20 и 35 день субкультивирования, учитывая при этом долю укоренившихся растений, количество корней и их длину. В опытных вариантах длительность этапа ризогенеза была различной, поэтому после укоренения на 21, 35 и 56 день, готовые к пересадке растения тщательно отмывали от питательной среды и высаживали на адаптацию в кассеты, наполненные смесью обогащенного торфа «Пельгорское-М» с перлитом

Таблица 1. Группировка микрорастений по степени развития

| Степень развития | Длина побегов, см | Площадь листовой поверхности, см ² |
|------------------|-------------------|---|
| Сильная | 10-12 | 100-150 |
| Средняя | 5-9 | 40-99 |
| Слабая | 2-4 | 10-39 |

Таблица 2. Динамика укореняемости *in vitro* микрорастений при добавлении препаратов Суперстим 1 и Суперстим 2 в питательную среду в качестве индукторов ризогенеза

| Вариант | Укореняемость, % | Среднее количество корней, шт. | Средняя длина корней, см | Укореняемость, % | Среднее количество корней, шт. | Средняя длина корней, см |
|---|------------------|--------------------------------|--------------------------|------------------|--------------------------------|--------------------------|
| | Суперстим 1 | | | Суперстим 2 | | |
| Малина ремонтная сорта Пингвин 20 день субкультивирования | | | | | | |
| Контроль: | | | | | | |
| с ИМК | 13,3 | 3,7 | 3,6 | 13,3 | 3,7 | 3,6 |
| без гормонов | 20,0 | 2,7 | 4,2 | 20,0 | 2,7 | 4,2 |
| Препараты в концентрации: | | | | | | |
| 1×10 ⁻² % | 33,3 | 6,7 | 5,4 | 40,0 | 6,3 | 5,9 |
| 1×10 ⁻³ % | 40,0 | 8,0 | 4,6 | 20,0 | 3,3 | 2,8 |
| 1×10 ⁻⁴ % | 46,7 | 9,0 | 4,6 | 13,3 | 1,5 | 3,0 |
| 1×10 ⁻⁵ % | 53,3 | 11,3 | 7,7 | 13,3 | 3,0 | 2,6 |
| 1×10 ⁻⁶ % | 50,0 | 7,0 | 5,6 | 33,3 | 4,7 | 4,4 |
| 1×10 ⁻⁷ % | 30,0 | 4,5 | 2,7 | 13,3 | 3,5 | 2,3 |
| 1×10 ⁻⁸ % | 50,0 | 10,0 | 7,8 | 13,3 | 4,5 | 4,8 |
| 1×10 ⁻⁹ % | 33,3 | 5,3 | 4,9 | 10,0 | 4,0 | 3,3 |
| 35 день субкультивирования | | | | | | |
| Контроль: | | | | | | |
| с ИМК | 40,0 | 6,3 | 10,1 | 40 | 6,3 | 10,1 |
| без гормонов | 53,3 | 8,7 | 5,6 | 30,0 | 4,3 | 4,8 |
| Препараты в концентрации: | | | | | | |
| 1×10 ⁻² % | 46,7 | 13,0 | 15,3 | 43,3 | 7,7 | 12,8 |
| 1×10 ⁻³ % | 50,0 | 9,7 | 10,7 | 46,7 | 9,0 | 12,5 |
| 1×10 ⁻⁴ % | 50,0 | 12,0 | 9,2 | 46,7 | 5,7 | 10,3 |
| 1×10 ⁻⁵ % | | высажены | | 36,7 | 5,3 | 7,6 |
| 1×10 ⁻⁶ % | | высажены | | 53,3 | 9,3 | 14,0 |
| 1×10 ⁻⁷ % | 40,0 | 5,3 | 4,9 | 36,7 | 10,5 | 14,1 |
| 1×10 ⁻⁸ % | | высажены | | 26,7 | 8,0 | 12,4 |
| 1×10 ⁻⁹ % | 46,7 | 10,0 | 9,1 | 20 | 4,5 | 6,3 |
| НСР ₀₅ * | 4,41 | 7,52 | 8,82 | Fф < Fт | Fф < Fт | Fф < Fт |
| Ежевично-малинный гибрид Логанбери 20 день субкультивирования | | | | | | |
| Контроль: | | | | | | |
| с ИМК | 18,3 | 5,5 | 2,15 | 13,3 | 5,5 | 2,15 |
| без гормонов | 17,7 | 5,3 | 4,9 | 36,7 | 5,7 | 5,7 |
| Препараты в концентрации: | | | | | | |
| 1×10 ⁻² % | 40,0 | 7,7 | 8,9 | 63,3 | 9,0 | 8,5 |
| 1×10 ⁻³ % | 36,7 | 5,0 | 4,8 | 43,3 | 6,7 | 8,9 |
| 1×10 ⁻⁴ % | 43,3 | 6,0 | 6,1 | 46,7 | 7,3 | 7,7 |
| 1×10 ⁻⁵ % | 40,0 | 5,7 | 6,8 | 13,3 | 3,0 | 3,2 |
| 1×10 ⁻⁶ % | 53,3 | 9,0 | 10,1 | 10,0 | 3,5 | 4,0 |
| 1×10 ⁻⁷ % | 63,3 | 14,3 | 18,5 | 40,0 | 5,3 | 4,6 |
| 1×10 ⁻⁸ % | 43,3 | 6,0 | 7,9 | 50,0 | 6,0 | 6,7 |
| 1×10 ⁻⁹ % | 53,3 | 8,7 | 14,8 | 60,0 | 9,7 | 9,4 |
| 35 день субкультивирования | | | | | | |
| Контроль: | | | | | | |
| с ИМК | 36,7 | 6,3 | 3,7 | 36,7 | 6,3 | 3,7 |
| без гормонов | 36,7 | 7,0 | 10,4 | 43,3 | 6,7 | 10,4 |
| Препараты в концентрации: | | | | | | |
| 1×10 ⁻² % | 40,0 | 7,0 | 14,1 | | высажены | |
| 1×10 ⁻³ % | 53,3 | 6,3 | 11,9 | 50,0 | 7,7 | 14,5 |
| 1×10 ⁻⁴ % | 40,0 | 5,7 | 11,1 | 50,0 | 8,0 | 14,9 |
| 1×10 ⁻⁵ % | 43,3 | 7,0 | 13,6 | 26,7 | 5,0 | 8,4 |
| 1×10 ⁻⁶ % | | высажены | | 16,7 | 4,0 | 6,1 |
| 1×10 ⁻⁷ % | | высажены | | 46,7 | 6,3 | 9,4 |
| 1×10 ⁻⁸ % | 50,0 | 7,3 | 14,9 | | высажены | |
| 1×10 ⁻⁹ % | | высажены | | | высажены | |
| НСР ₀₅ * | 9,67 | Fф < Fт | Fф < Fт | 4,20 | 3,7 | Fф < Fт |

*НСР₀₅ рассчитана по данным на 35-й день субкультивирования

в соотношении 3:1. В условиях теплицы для адаптации микрорастениям в течение 2 недель обеспечивали высокую влажность (80-90 %). При этом постепенно увеличивали продолжительность ежедневного кратковременного проветривания, температуру поддерживали в интервале 20-25 °С. Учет роста и развития растений проводили 2 раза с ин-

тервалом в 14 дней, при этом определяли такие параметры, как приживаемость, суммарная и средняя длина побегов, среднее число побегов и площадь листовой поверхности. Для лучшей наглядности при учетах приживаемости и развития растений мы провели их группировку по степени развития: сильное, среднее и слабое (табл. 1).

Площадь листьев определяли методом калибровочных решеток. Для этого использовали прозрачные пластиковые пластинки размером 10×10 см, на одной из которых были нанесены квадратики площадью 0,5 см². Листья, не отделяя от растений, вставляли между пластинками и определяли их площадь.

Статистическую обработку результатов проводили по Б.А. Доспехову с использованием программы Microsoft Office Excel 2007 и методических материалов [28, 29].

Результаты и обсуждение. На этапе индукции корнеобразования малины ремонтантной сорта Пингвин длительность укоренения по вариантам колебалась в пределах 20-56 дней. При добавлении в состав питательной среды препарата Суперстим 1 в концентрациях 1×10⁻⁵, 1×10⁻⁶, 1×10⁻⁸ % через 20 дней субкультивирования укореняемость микрочеренков находилась на уровне или превышала 50,0 %, и растения были готовы к пересадке в нестерильные условия. Тогда как в контроле без гормонов и в опытных вариантах с концентрацией 1×10⁻³, 1×10⁻⁴ % это происходило на 35 день субкультивирования, в остальных вариантах растения высаживали на 56 день.

Добавление в состав питательной среды Суперстим 2 не оказало ожидаемого действия и не сократило период субкультивирования на этапе ризогенеза, который во всех опытных вариантах составил 56 дней, за исклю-

чением дозы 1×10⁻⁶ %, где уже через 35 дней субкультивирования укореняемость достигла 53,3 %, и растения высадили на адаптацию к условиям *ex vitro* (табл. 2).

Длительность этапа ризогенеза ежевично-малинового гибрида Логанбери в опытных вариантах также колебалась в пределах 20-56 дней. Препарат Суперстим 1 оказал по-

Таблица 3. Динамика приживаемости микрорастений малины ремонтантной сорта Пингвин при изучении последствий добавления препаратов Суперстим 1 и Суперстим 2 в состав питательной среды на этапе ризогенеза

| Вариант | Приживаемость, % | Доля растений с сильным и средним развитием, % | Суммарная длина побегов, см | Среднее число побегов | Средняя длина побегов, см | Средняя площадь листовой поверхности, см ² |
|--|------------------|--|-----------------------------|-----------------------|---------------------------|---|
| Суперстим 1 учет через 14 дней | | | | | | |
| Контроль: с ИМК | 80,0 | 29,0 | 19,3 | 3,0 | 1,6 | 15,5 |
| без гормонов | 86,7 | 38,5 | 28,9 | 1,0 | 2,9 | 15,8 |
| Препараты в концентрации: | | | | | | |
| 1×10 ⁻² % | 96,7 | 75,9 | 63,9 | 1,0 | 2,9 | 22,6 |
| 1×10 ⁻³ % | 86,7 | 69,2 | 51,6 | 2,0 | 2,9 | 21,1 |
| 1×10 ⁻⁴ % | 100,0 | 85,0 | 53,4 | 3,0 | 3,1 | 15,6 |
| 1×10 ⁻⁵ % | 100,0 | 60,0 | 61,4 | 2,0 | 3,4 | 12,2 |
| 1×10 ⁻⁶ % | 100,0 | 70,0 | 37,3 | 4,0 | 2,7 | 23,5 |
| 1×10 ⁻⁷ % | 83,3 | 80,0 | 59,7 | 5,0 | 3,0 | 19,8 |
| 1×10 ⁻⁸ % | 100,0 | 50,0 | 51,2 | 3,0 | 3,4 | 11,2 |
| 1×10 ⁻⁹ % | 96,7 | 69,0 | 61,7 | 6,0 | 3,1 | 18,0 |
| учет через 30 дней | | | | | | |
| Контроль: с ИМК | 83,3 | 32,0 | 77,1 | 1,0 | 9,6 | 184,0 |
| без гормонов | 83,3 | 80,0 | 168,2 | 1,0 | 8,4 | 265,9 |
| Препараты в концентрации: | | | | | | |
| 1×10 ⁻² % | 96,7 | 72,4 | 175,0 | 1,0 | 8,3 | 275,0 |
| 1×10 ⁻³ % | 83,3 | 64,0 | 131,8 | 2,0 | 8,2 | 283,4 |
| 1×10 ⁻⁴ % | 66,7 | 70,0 | 100,2 | 3,0 | 7,2 | 901,0 |
| 1×10 ⁻⁵ % | 90,0 | 77,8 | 197,5 | 2,0 | 9,4 | 198,8 |
| 1×10 ⁻⁶ % | 66,7 | 70,0 | 95,7 | 4,0 | 6,8 | 57,0 |
| 1×10 ⁻⁷ % | 80,0 | 79,2 | 152,3 | 5,0 | 8,0 | 320,6 |
| 1×10 ⁻⁸ % | 53,3 | 81,3 | 124,8 | 3,0 | 9,6 | 187,6 |
| 1×10 ⁻⁹ % | 93,3 | 71,4 | 177,2 | 6,0 | 8,9 | 227,7 |
| НСР ₀₅ | Fф < Fт | Fф < Fт | Fф < Fт | Fф < Fт | Fф < Fт | Fф < Fт |
| Суперстим 2 учет через 14 дней | | | | | | |
| Контроль: с ИМК | 83,3 | 36,0 | 28,7 | 1,0 | 3,2 | 11,3 |
| без гормонов | 83,3 | 64,0 | 45,4 | 1,0 | 2,8 | 20,4 |
| Препараты в концентрации: | | | | | | |
| 1×10 ⁻² % | 86,7 | 61,5 | 47,4 | 1,0 | 3,0 | 18,0 |
| 1×10 ⁻³ % | 80,0 | 83,3 | 57,7 | 1,0 | 2,9 | 21,8 |
| 1×10 ⁻⁴ % | 70,0 | 76,2 | 55,2 | 1,0 | 3,5 | 11,0 |
| 1×10 ⁻⁵ % | 80,0 | 62,5 | 28,9 | 1,0 | 2,9 | 15,8 |
| 1×10 ⁻⁶ % | 96,7 | 62,1 | 55,5 | 1,0 | 3,1 | 17,0 |
| 1×10 ⁻⁷ % | 55,0 | 81,8 | 28,7 | 1,0 | 3,2 | 11,3 |
| 1×10 ⁻⁸ % | 60,0 | 75,0 | 24,8 | 1,0 | 2,8 | 17,7 |
| 1×10 ⁻⁹ % | 71,4 | 40,0 | 8,1 | 1,0 | 4,1 | 4,3 |
| учет через 30 дней | | | | | | |
| Контроль: с ИМК | 83,3 | 32,0 | 77,1 | 1,0 | 9,6 | 184,0 |
| без гормонов | 83,3 | 80,0 | 168,2 | 1,0 | 8,4 | 265,9 |
| Препараты в концентрации: | | | | | | |
| 1×10 ⁻² % | 86,7 | 76,9 | 163,7 | 2,0 | 8,2 | 294,0 |
| 1×10 ⁻³ % | 80,0 | 75,0 | 159,0 | 3,0 | 8,8 | 228,3 |
| 1×10 ⁻⁴ % | 73,3 | 86,4 | 161,3 | 4,0 | 8,5 | 256,7 |
| 1×10 ⁻⁵ % | 55,0 | 72,7 | 72,7 | 5,0 | 9,1 | 208,0 |
| 1×10 ⁻⁶ % | 93,3 | 75,0 | 184,0 | 6,0 | 8,8 | 235,0 |
| 1×10 ⁻⁷ % | 55,0 | 90,9 | 90,8 | 7,0 | 9,1 | 209,0 |
| 1×10 ⁻⁸ % | 60,0 | 75,0 | 75,0 | 8,0 | 8,3 | 267,0 |
| 1×10 ⁻⁹ % | 71,4 | 100,0 | 47,7 | 9,0 | 9,5 | 187,0 |
| НСР ₀₅ | Fф < Fт | Fф < Fт | Fф < Fт | Fф < Fт | 4,39 | 72,24 |

*НСР₀₅ рассчитана по данным на 30 день этапа адаптации

ложительное влияние на ускорение периода ризогенеза в вариантах 1×10⁻⁶, 1×10⁻⁷, 1×10⁻⁹%, в которых на 20 день субкультивирования укореняемость микрочеренков составляла 53,3-63,3% и они были высажены на адаптацию. В вариантах с концентрациями 1×10⁻³, 1×10⁻⁸% длительность ризогенеза составила 35 дней, в контроле и остальных вариантах пересадку осуществляли на 56 день.

При добавлении препарата Суперстим 2 в концентрациях 1×10⁻², 1×10⁻⁸, 1×10⁻⁹% длительность ризогенеза

составила 20 дней; 1×10⁻³, 1×10⁻⁴% – 35 дней, в контроле и остальных вариантах – 56 дней (см. табл. 2).

По результатам изучения динамики приживаемости в нестерильных условиях микрорастений малины ремонтантной сорта Пингвин на 30 день адаптации выпадения в среднем составили 6,7-46,7%. В вариантах с последствием препарата Суперстим 1 выявлено преимущество концентраций 1×10⁻², 1×10⁻⁵, 1×10⁻⁹%, при использовании которых приживаемость составила 90,0-96,7%, по сравнению с 83,3% в контроле, доля растений с сильным и средним развитием – 71,4-77,8%, против 32,0% в контроле (табл. 3).

Приживаемость растений, предварительно укорененных на питательной среде с препаратом Суперстим 2, на 30 день адаптации превосходила показатели контроля только в варианте 1×10⁻⁶% (93,3% против 83,3% в контроле), доля растений с сильным и средним развитием – 75,0% против 32,0% в контроле (см. табл. 3).

На 30 день адаптации микрорастений ежемалины Логанберри к условиям *ex vitro* выпадения составили 0-20,0%. При укоренении на питательной среде с добавлением Суперстим 1 приживаемость в варианте 1×10⁻⁴% составляла 100%, в варианте 1×10⁻⁸% была равна контролю (96,7%), в остальных случаях – ниже, чем в контроле. Однако доля растений с сильным и средним развитием при использовании этого препарата на этапе ризогенеза в концентрации 1×10⁻⁵, 1×10⁻⁷, 1×10⁻⁸% составила 85,7-88,0% против 48,3% в контроле с ИМК (табл. 4).

Последствие добавления в питательную среду Суперстим 2, также обеспе-

чивало достаточно высокую приживаемость микрочеренков, которая составила в среднем по вариантам 83,3-100% против 96,7% в контроле. Однако доля растений с сильным и средним развитием в среднем по вариантам составила 8,0-46,4%, за исключением использования препарата в концентрации 1×10⁻⁸%, после которого величина этого показателя составила 72,0% против 48,3% в контроле, однако в этом варианте приживаемость уступала показателям контроля (83,3 против 96,7%).

Таблица 4. Динамика приживаемости микрорастений ежевично-малинового гибрида Логанберри при изучении последствий добавления препарата Суперстим 1 и Суперстим 2 в состав питательной среды на этапе ризогенеза

| Вариант | Приживаемость, % | Доля растений с сильным и средним развитием, % | Суммарная длина побегов, см | Среднее число побегов | Средняя длина побегов, см | Средняя площадь листовой поверхности, см ² |
|---------------------------|------------------|--|-----------------------------|-----------------------|---------------------------|---|
| Суперстим 1 | | | | | | |
| учет через 14 дней | | | | | | |
| Контроль: с ИМК | 96,7 | 75,9 | 63,9 | 1,0 | 2,9 | 22,6 |
| без гормонов | 100,0 | 36,7 | 31,0 | 1,0 | 2,8 | 17,8 |
| Препараты в концентрации: | | | | | | |
| 1×10 ⁻² % | 86,7 | 65,4 | 37,7 | 1,0 | 2,2 | 79,0 |
| 1×10 ⁻³ % | 86,7 | 76,9 | 55,8 | 1,0 | 2,8 | 24,1 |
| 1×10 ⁻⁴ % | 100,0 | 70,0 | 55,9 | 1,0 | 2,7 | 28,5 |
| 1×10 ⁻⁵ % | 93,3 | 67,9 | 55,6 | 1,0 | 2,9 | 20,4 |
| 1×10 ⁻⁶ % | 80,0 | 33,3 | 20,7 | 1,0 | 2,6 | 21,3 |
| 1×10 ⁻⁷ % | 86,7 | 34,6 | 26,8 | 1,0 | 3,0 | 13,9 |
| 1×10 ⁻⁸ % | 96,7 | 62,1 | 57,5 | 1,0 | 3,2 | 15,3 |
| 1×10 ⁻⁹ % | 90,0 | 70,4 | 59,6 | 1,0 | 3,1 | 16,6 |
| учет через 30 дней | | | | | | |
| Контроль: с ИМК | 96,7 | 48,3 | 158,7 | 1,0 | 11,3 | 147,0 |
| без гормонов | 83,3 | 28,0 | 79,3 | 1,0 | 11,3 | 147,0 |
| Препараты в концентрации: | | | | | | |
| 1×10 ⁻² % | 86,7 | 76,9 | 168,2 | 1,0 | 8,4 | 265,9 |
| 1×10 ⁻³ % | 86,7 | 69,2 | 154,5 | 1,0 | 8,6 | 247,6 |
| 1×10 ⁻⁴ % | 100,0 | 70,0 | 170,5 | 1,0 | 8,1 | 304,5 |
| 1×10 ⁻⁵ % | 93,3 | 85,7 | 204,5 | 1,0 | 8,5 | 257,0 |
| 1×10 ⁻⁶ % | 83,3 | 72,0 | 136,5 | 1,0 | 7,6 | 447,0 |
| 1×10 ⁻⁷ % | 83,3 | 88,0 | 172,8 | 1,0 | 7,9 | 357,8 |
| 1×10 ⁻⁸ % | 96,7 | 86,2 | 220,3 | 1,0 | 8,8 | 233,5 |
| 1×10 ⁻⁹ % | 80,0 | 70,8 | 138,7 | 1,0 | 8,2 | 295,8 |
| НСР ₀₅ * | Fф < Fт | Fф < Fт | Fф < Fт | Fф < Fт | Fф < Fт | 24,47 |
| Суперстим 2 | | | | | | |
| учет через 14 дней | | | | | | |
| Контроль: с ИМК | 96,7 | 75,9 | 63,9 | 1,0 | 2,9 | 22,6 |
| без гормонов | 100,0 | 36,7 | 31,0 | 1,0 | 2,8 | 17,8 |
| Препараты в концентрации: | | | | | | |
| 1×10 ⁻² % | 100,0 | 36,7 | 38,8 | 1,0 | 3,5 | 8,7 |
| 1×10 ⁻³ % | 100,0 | 43,3 | 35,2 | 1,0 | 2,7 | 21,6 |
| 1×10 ⁻⁴ % | 100,0 | 30,0 | 26,8 | 1,0 | 3,0 | 13,9 |
| 1×10 ⁻⁵ % | 100,0 | 30,0 | 22,0 | 1,0 | 2,5 | 12,6 |
| 1×10 ⁻⁶ % | 90,0 | 22,2 | 4,2 | 1,0 | 2,1 | 3,7 |
| 1×10 ⁻⁷ % | 83,3 | 12,0 | 8,3 | 1,0 | 2,8 | 13,7 |
| 1×10 ⁻⁸ % | 93,3 | 25,0 | 18,6 | 1,0 | 2,7 | 18,5 |
| 1×10 ⁻⁹ % | 96,7 | 44,8 | 43,0 | 1,0 | 3,3 | 11,6 |
| учет через 30 дней | | | | | | |
| Контроль: с ИМК | 96,7 | 48,3 | 158,7 | 1,0 | 11,3 | 147,0 |
| без гормонов | 83,3 | 28,0 | 79,3 | 1,0 | 11,3 | 147,0 |
| Препараты в концентрации: | | | | | | |
| 1×10 ⁻² % | 100,0 | 43,3 | 115,8 | 1,0 | 8,9 | 220,5 |
| 1×10 ⁻³ % | 100,0 | 43,3 | 106,8 | 1,0 | 8,2 | 284,3 |
| 1×10 ⁻⁴ % | 100,0 | 30,0 | 79,5 | 1,0 | 8,8 | 223,3 |
| 1×10 ⁻⁵ % | 100,0 | 30,0 | 69,2 | 1,0 | 9,0 | 220,2 |
| 1×10 ⁻⁶ % | 90,0 | 22,2 | 22,7 | 1,0 | 11,3 | 147,0 |
| 1×10 ⁻⁷ % | 83,3 | 8,0 | 22,7 | 1,0 | 11,3 | 147,0 |
| 1×10 ⁻⁸ % | 83,3 | 72,0 | 123,0 | 1,0 | 6,8 | 57,0 |
| 1×10 ⁻⁹ % | 93,3 | 46,4 | 102,3 | 2,0 | 7,9 | 347,0 |
| НСР ₀₅ * | Fф < Fт | Fф < Fт | Fф < Fт | Fф < Fт | Fф < Fт | 15,98 |

* НСР₀₅ рассчитана по данным на 30 день этапа адаптации

Литература.

1. Катаева Н.В. Клональное микроразмножение растений. М.: Наука, 1983. 96 с.
2. Hedtrich T. Gewebekulturs Reistrauchbeerenobst und Resultate in der Praxis an Wendung // Rheinische Monatsachenrif. 1983. V. 71. № 2. Pp. 52–54.
3. Pliego-Alfaro F.J. Development of in vitro rooting bioassay using juvenile stem cuttings of Persea americana Mill // Hort Sci. 1988. V. 63. № 2. Pp. 295–301.
4. Райков И.А. Совершенствование клонального микроразмножения межвидовых форм смородины чёрной и малины ремонтантного типа: дисс. ... канд. с.-х. наук: 06.01.05. Брянск, 2011. 132 с.
5. Сковородников Д.Н. Особенности клонального микроразмножения in vitro и ускорение селекции новых ремонтантных форм малины: автореф. дисс. ... канд. с.-х.: 06.01.05, 03.00.12. Брянск, 2004. 20 с.

Выводы. В качестве индуктора корнеобразования при клональном микроразмножении растений рода *Rubus* L. эффективно введение в состав питательной среды препарата Суперстим 1: для сорта малины ремонтантной Пингвин в концентрации 1×10⁻⁵ % (длительность субкультивирования сокращалась до 20 дней против 56 дней в контроле), приживаемость на этапе адаптации возрастала до 90 % против 83,3 % в контроле, доля растений с сильным и средним развитием составляла 77,8 против 32,0 % в контроле); для ежевично-малинового гибрида Логанберри – 1×10⁻⁸ % (длительность субкультивирования сокращалась до 35 дней против 56 дней в контроле, приживаемость на этапе адаптации была равна контролю – 96,7 %, доля растений с сильным и средним развитием достигала 86,2 % против 48,3 % в контроле).

Препарат Суперстим 2 обеспечил наилучшие результаты на малине ремонтантной Пингвин при концентрации 1×10⁻⁶ %: длительность субкультивирования сокращалась на 21 день (35 против 56 дней в контроле), приживаемость на этапе адаптации составила 93,3 % против 83,3 % в контроле, доля растений с сильным и средним развитием – 75 % против 32 % в контроле. Для ежевично-малинового гибрида Логанберри при концентрации Суперстима 2 1×10⁻², 1×10⁻⁸, 1×10⁻⁹ % длительность субкультивирования сокращалась на 36 дней (20 против 56 дней в контроле), однако на этапе адаптации эти растения отличались невысокими показателями приживаемости и развития. Поэтому применять препарат Суперстим 2 в качестве индуктора корнеобразования на этапе ризогенеза микрорастений ежемалины Логанберри нецелесообразно.

6. Туровская Н.И., Стрыгина О.В. Микроклональное размножение малины // Садоводство и виноградарство. 1992. № 8. С. 26–29 с.
7. Высоцкий В.А. Усовершенствование способов получения растений малины из изолированных меристематических верхушек // Ягодководство в нечерноземье: сб. научных трудов ВСТИСП. М.: НИЗИСНП, 1984. С. 3–8.
8. Уладышев М.Т. Клональное микроразмножение некоторых нетрадиционных культур рода *Rubus* // Ягодководство в Не-черноземье. М.: ВСТИСП, 1993. С. 10–18.
9. Уладышев М.Т., Высоцкий В.А. Размножение ежевики и малины чёрной методом культуры тканей // Садоводство и виноградарство. 1991. № 6. С. 24–27.
10. Nicholas I.R. The use of fluorescence microscopy to monitor root development in micropropagated explant // J. of Hort. Sci. 1986. V. 61. № 4. Pp. 417–421.
11. Деменко В.И., Лебедев В.Г., Шестибратов К.А. Адаптация растений, полученных *in vitro*, к нестерильным условиям // Известия ТСХА. 2010. Вып. 1. С. 73–85.
12. Gresshoff P. Syndicate. Methods employed in planting aut Tissue culture. The horizons of tissue culture propagation // A seminar directed by Dr. R.A. de Fossard for the N.S.W. association of Nurserymen Ltd. At the University of Sydney. 3-4 Desember. Sydney (Australia):University of Sydney, 1977. Pp. 106–108.
13. Романенко Е.С., Брыкалов А.В. Перспективы исследования биорегуляторов роста нового поколения в виноградарстве (обработка черенков винограда водным экстрактом биогумуса и растворами лигногуматов) // Проблемы экологии и защиты растений в сельском хозяйстве. Ставрополь: Ставропольский госуд. агр. ун-т., 2004. С. 15–17.
14. Блюменфельд Л.А. Понятие конструкции в биологической физике. К вопросу о механизме действия сверхмалых доз // Рос. хим. журн. 1999. Т. XLIII. № 5. С. 15–20.
15. Бурлакова Е.Б. Особенности действия сверхмалых доз биологически активных веществ и физических факторов низкой интенсивности // Рос. хим. журн. 1999. Т. XLIII. № 5. С. 3–11.
16. Верещагин А.Л., Цой Т.Л., Кропоткина В.В. Применение стимуляторов роста в сверхмалых (гомеопатических) дозах в сельском хозяйстве // Производные хитозана и стимуляторы роста в сельском хозяйстве. Барнаул: Ползуновский вестник, 2006. С. 343–348.
17. Горбатенко И.Ю. Сверхмалые дозы биологически активных веществ и перспективы их использования // Изв. РАН, серия биологическая. 1997. № 1. С. 107–110.
18. Неорганические факторы управления патогенными бактериями / А.П. Глинушкин, С.Г. Безрядин, О.П. Айсувакова, Е.А. Батманова // Russian Agricultural Science Review. 2014. Т. 3. № 3. С. 44–48.
19. Совершенствование способов подготовки микрорастений малины к адаптации / С.В. Акимова, А.Н. Викулина, И.Н. Буянов, А.П. Глинушкин // Плодоводство и ягодководство России. 2014. Т. 39. С. 16–19.
20. Шорников Д.Г., Янковская М.Б., Муратова С.А. Укоренение *in vitro* и адаптация нетрадиционных садовых культур // VIII Международная научно-методическая конференция «Интродукция нетрадиционных и редких растений». Воронеж: Кварта. 2008. Т. 1. С. 335–337.
21. Сковородников Д.Н., Райков И.А., Челяев Д.Н. Адаптация полученных *in vitro* растений малины к нестерильным условиям // Вестник Орловского государственного аграрного университета. 2012. Т. 35. № 2. С. 70–72.
22. Деменко В.И. Микроклональное размножение плодовых и ягодных культур: методические указания к практическим занятиям по плодоводству. М.: Изд-во РГАУ МСХА, 1997. С. 48–50.
23. Викулина А.Н. Адаптация растений рода *Rubus* L., размноженных *in vitro*, и оценка их последующего развития: автореф. дисс. ... на соискание ученой степени кандидата с.-х. наук. М., 2016. 26 с.
24. Семенов А.М., Глинушкин А.П., Соколов М.С. Органическое земледелие и здоровье почвенной экосистемы // Достижения науки и техники АПК. 2016. Т. 30. № 8. С. 5–8.
25. Разумова Т.Н. Эффективность применения регуляторов роста на картофеле // Вопросы картофелеводства: материалы школы молод. учен. ВНИИХ. М., 2004. С. 162–167.
26. Тектониди И.П., Башкардин В.И., Михалин С.Е. Влияние Фумара и Суперстима в семеноводстве картофеля и результаты грунтоконтроля элиты в 2012 году // Картофелеводство: материалы V научно-практической конференции «Состояние и перспективы инновационного развития современной индустрии картофеля». М.: ВНИИХ. - 2012. С. 152–157 с.
27. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plantarum. 1962. V 3. № 15 (3). Pp. 473–497.
28. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. М.: Колос, 1968. 253 с.
29. Исачкин А.В., Крючкова В.А. Основы научных исследований в садоводстве: рабочая тетрадь. 3-е изд., исправл. и доп. М.: Изд-во РГАУ-МСХА, 2015. 94 с.

EFFICIENCY OF SUPERSTIM MODIFICATIONS IN SMALL DOSES DURING RHIZOGENESIS INDUCTION OF RUBUS L. PLANTS TAKING INTO ACCOUNT THE AFTER-EFFECT DURING ADAPTATION

S.V. Akimova^{1,2}, O.N. Aladina¹, V.V. Kirkach¹, A.N. Vikulina¹, A.P. Glinushkin²

¹Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, ul. Timiryazevskaya, 49, Moskva, 127550, Russian Federation

²All-Russian Research Institute of Phytopathology, ul. Institut, vl. 5, r.p. Bol'shie Vyazemy, Odintsovskii r-n, Moskovskaya obl., 143050, Russian Federation

Abstract. Experiments were carried out in 2013-2015 in the laboratory of clonal micropropagation of garden plants of fruit growing laboratory of Russian State Agrarian University - Moscow Timiryazev Agricultural Academy. The purpose of the research was to identify the effectiveness of Superstim 1 and Superstim 2 in small doses in the nutritional medium during *Rubus* L. rhizogenesis. Superstim 1 is a highly effective natural stimulant derived from meristem tissues of potato apex, which regulates the synthesis of own hormones in treated plants; Superstim-2, in addition, contains diatoms. For rhizogenesis we used the Murashige and Skoog nutritional medium (MS), contained 1/2 macro- and micro-salts, vitamins thiamin-hydrochloride (0.5 mg/l), pyridoxine-hydrochloride (0.5 mg/l), nicotinamide (0.5 mg/l), sucrose (15000 mg/l), agar-agar (6000 mg/l). Superstim 1 and Superstim 2 were added at concentrations from 1x10E-2 to 1x10E-9 %. The control was 1/2 MS without synthetic hormones and 1/2 MS with indolebutyric acid (0.5 mg/l). The replication was three-fold; 10 plants in each replication. Plants, prepared for relocation, were consecutively transferred under *ex vitro* conditions, where the after-effect of the preparation was studied. At the rhizogenesis stage it is effective to add the studied preparations for different varieties and hybrids at different concentrations. Superstim 1 is recommended for remontant raspberry 'Pingvin' at the concentration of 1x10E-5 % (the duration of subculturing reduced by 36 days; the survival ability at the adaptation stage was 90.0 % against 83.3 % in the control). It is also recommended for blackberry-raspberry hybrid Loganberry at the concentration of 1x10E-8 % (the duration of subculturing reduced by 21 days; the survival ability was equal to the control – 96.7 %). Superstim 2 is recommended for remontant raspberry 'Pingvin' at the concentration of 1x10E-6 % (the duration of subculturing reduced by 21 days; the survival ability was 93.3 % against 83.3 % in the control). It is also recommended for blackberry-raspberry hybrid Loganberry at the concentrations of 1x10E-2 %, 1x10E-8 %, 1x10E-9 % (the duration of subculturing reduced by 36 days). However, at the adaptation stage the plants were characterized by low survival ability and development.

Keywords: clonal micropropagation, remontant raspberry, tayberry, subculturing, rooting, adaptation.

Author Details: S.V. Akimova, Cand. Sc. (Agr.), assoc. prof. (e-mail: asvl1@yandex.ru); O.N. Aladina, D. Sc. (Agr.), prof., chief research fellow; V.V. Kirkach, applicant, agronomist; A.N. Vikulina, applicant, senior lecturer; A.P. Glinushkin, D. Sc. (Agr.), director.

For citation: Akimova S.V., Aladina O.N., Kirkach V.V., Vikulina A.N., Glinushkin A.P. Efficiency of Superstim Modifications in Small Doses during Rhizogenesis Induction of *Rubus* L. Plants Taking into Account the After-Effect during Adaptation. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK*. 2017. V. 31. No.2. Pp. 39-44 (in Russ.).