

DOI 10.24419/LHI.2304-3083.2020.2.09
УДК 634.7/57.085.23

Применение аэропоники для адаптации плодово-ягодных культур к условиям *ex vitro*

Е.А. Калашникова

Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева,
профессор, доктор биологических наук, Москва, Российская Федерация,
kalasho407@mail.ru

Д.А. Швец

Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева,
магистр, Москва, Российская Федерация,
darya-shv@mail.ru

Э.В. Навроцкая

Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева,
магистр, Москва, Российская Федерация,
emiliya.navrotskaya@mail.ru

Р.Н. Киракосян

Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева,
доцент, кандидат биологических наук, Москва, Российская Федерация,
tia41291@mail.ru

В статье приведены результаты исследований по усовершенствованию технологии адаптации плодово-ягодных культур – ежевики, малины и винограда – к условиям *ex vitro*. Для адаптации укоренившиеся микроклоны растений переносили в аэропонную установку, а также в контейнеры с почвой. Установлено, что на последнем этапе клонального микроразмножения наиболее эффективна аэропонная технология, которая обеспечивает 100%-ю приживаемость растений, интенсивный рост и значительное увеличение вегетативной биомассы растений.

Ключевые слова: ягодные культуры, малина, ежевика, виноград, адаптация, *in vitro*, *ex vitro*, аэропонная установка

Для ссылок: DOI 10.24419/LHI.2304-3083.2020.2.09.

Применение аэропоники для адаптации плодово-ягодных культур к условиям *ex vitro* / Е.А. Калашникова, Д.А. Швец, Э.В. Навроцкая, Р.Н. Киракосян. – DOI 10.24419/LHI.2304-3083.2020.2.09. – Текст : электронный // Лесхоз. информ. : электронный сетевой журнал. – 2020. – № 2. – С. 109–118. URL: <http://lhi.vniilm.ru/>

Русский лес богат дикорастущими плодовыми и ягодными растениями. Сбор и заготовку плодов и ягод проводят централизованно и для личного потребления. Более 60 видов растений, произрастающих в лесных массивах, на вырубках, гарях и других землях лесного фонда, представляют собой значительные биологические ресурсы [1].

Дикорастущие ягодники – неперенный компонент большинства экосистем. Они являются жизненно важным источником изменчивости, который может быть неоднократно исследован на предмет полезных признаков [2]. Однако такие факторы, как, например, значительное сокращение ягодоносных площадей дикорастущих ягодников и снижение их продуктивности, происходящее в результате трансформаций лесных угодий, привели к резкому сокращению объемов возможных ежегодных заготовок и эксплуатационного запаса ягод [3]. Поэтому поддержание и детальное изучение природного генофонда и биоразнообразия лесных ягодных культур является важным направлением научных исследований.

Для рентабельного выращивания ягодных культур недостаточно осуществлять агротехнические мероприятия по выращиванию и уходу за естественно формирующимися дикими ягодными формами. Прежде всего необходимо создавать и поддерживать высокоурожайные сорта лесных ягодных культур, хорошо адаптированных к климату различных регионов России.

Для успешного культивирования ягодных культур нужно использовать высокоэффективные, экономически выгодные и надежные технологии выращивания высококачественного посадочного материала. Одним из распространенных методов размножения ягодных культур является вегетативное размножение (отводками, черенками и др.). Однако успешное применение этого метода ограничено, поскольку он требует больших площадей, производственных и экономических затрат для выращивания посадочного материала, а также проведения интенсивных мероприятий по контролю за сорняками. Поэтому в последнее время все больше входит в практику

размножение плодово-ягодных культур методом *in vitro* – клональное микроразмножение. Именно благодаря этой технологии гарантируется качество и безопасность продукции по сравнению с традиционным производством.

Однако следует отметить, что для усовершенствования технологии клонального микроразмножения необходимо тщательно проводить исследования по подбору оптимальных условий выращивания на всех этапах. Особо следует отметить этап адаптации клонированных растений к условиям *ex vitro*, на котором нередко можно наблюдать 100%-ю гибель растений-регенерантов. Поэтому подбор эффективных технологий, позволяющих решить существующие проблемы адаптации растений, является актуальным направлением исследований в области биотехнологии растений. К таким инновационным технологиям в последнее время относится аэропоника – метод выращивания растений в воздушной среде без использования почвы, при котором питательные вещества к корням растений доставляются в виде аэрозоля. Аэропонные установки обеспечивают оптимальные режимы выращивания растений, что позволяет полностью реализовать их потенциал, а также способствует росту надземной биомассы и формированию мощной корневой системы [4, 5].

В связи с тем что исследования по выращиванию плодово-ягодных культур с применением аэропонной технологии ранее не проводились, работа в этом направлении представляет интерес, а полученные результаты имеют как теоретическую, так и практическую значимость.

Цель работы – усовершенствование технологии клонального микроразмножения плодово-ягодных культур за счет применения аэропонных установок.

Объекты и методы исследований

Объектами исследования служили перспективные сорта малины (Оранжевое Чудо), ежевики (Black Satin) и винограда (Muscat Ottonel, Moldova, Monarch). Для адаптации использовали

растения-регенеранты, размноженные на питательной среде, содержащей минеральные соли по прописи Мурасиге-Скуга (МС), 6-бензиламинопурина (6-БАП) – 1 мг/л, индолилуксусную кислоту (ИУК) – 0,5 мг/л, а также сахарозу – 3% и агар-агар – 0,8%.

В ходе исследований применяли 2 варианта адаптации клоновых растений к условиям *ex vitro*: 1) непосредственно в почве, 2) в aeropонной установке. Схема эксперимента приведена на рис. 1.

При первом варианте адаптации микроклоны переносили в торфяные горшочки, заполненные универсальным грунтом фирмы «ФАСКО». В состав грунта входили: верховой торф, низинный торф, песок, известняковая (доломитовая) мука в соотношении 1:1:1:1, комплексное минеральное удобрение с микроэлементами и макроэлементами (азот – 350 мг/кг, фосфор – 400 мг/кг, калий – 500 мг/кг), pH – 6,5 [4].

Во втором варианте в качестве оборудования для адаптации микрорастений использовали

пропагатор X-Stream 120 (рис. 2) – aeropонный клонер на 120 посадочных мест с системой орошения корневой зоны черенков.

Aeropонный аппарат представляет собой емкость для питательного раствора, или пропагатор, объемом 70 л; 8 вертикально направленных форсунок с углом распыления для подачи аэрозоля из емкости к корневой системе; насос, в качестве которого выступала аквариумная помпа для подачи воды мощностью 30 Вт [6].

В состав питательного раствора входили следующие компоненты: 50 л отстоявшейся воды, а также комплексные удобрения Flora Series, макроэлементы Flora Gro, обеспечивающие активный рост растений, микроэлементы Flora Mic, Flora Bloom, необходимые для индуцирования цветения. Для лучшей усвояемости корнями питательных веществ pH раствора поддерживали в пределах 5,8–6,2 [7].

Перед адаптацией корневую систему микроклонов стерилизовали раствором марганцовки, после чего растения помещали

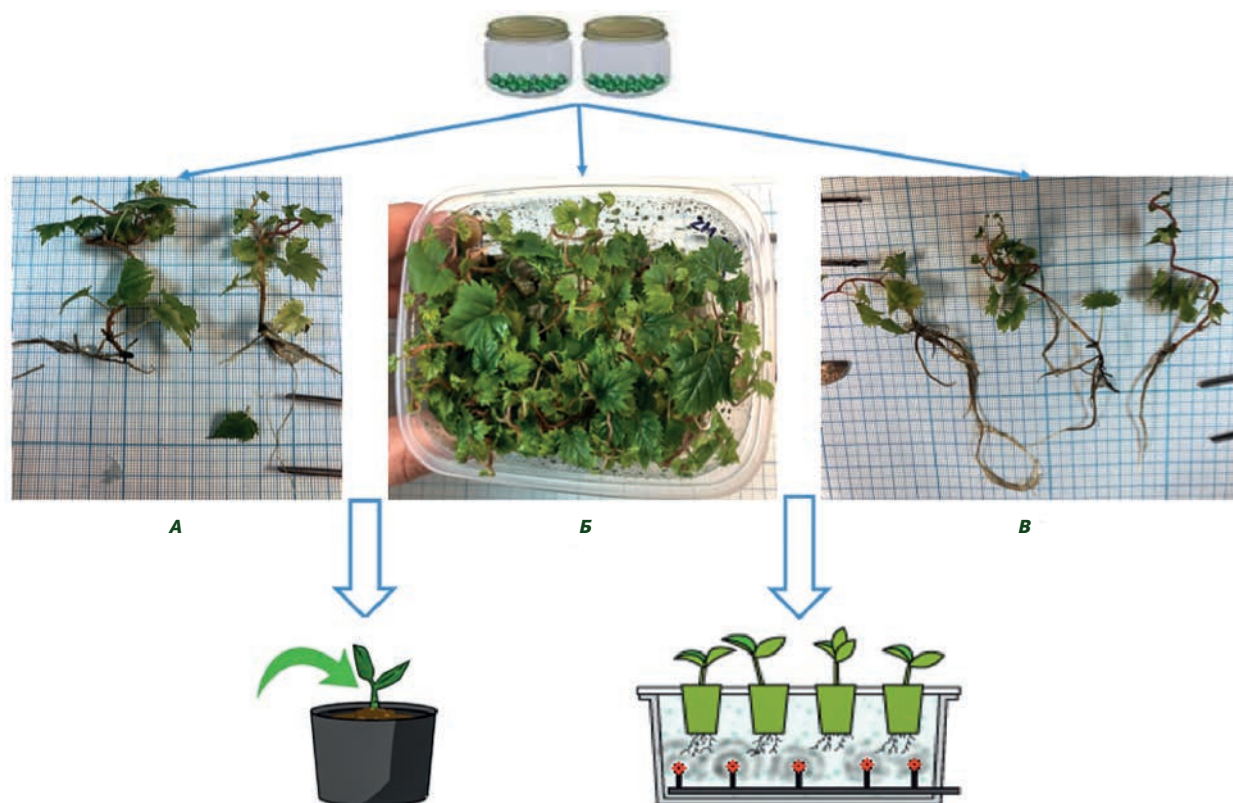


Рис. 1. АДАПТАЦИЯ РАСТЕНИЙ К УСЛОВИЯМ *EX VITRO*
(А, Б, В – ПОБЕГИ РАСТЕНИЙ, ПОЛУЧЕННЫЕ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*)



Рис. 2. Аэропонный клонер (фирма «GROWPLANT»)

в шайбы-держатели диаметром 40 мм, изготовленные из неопрена, и переносили в пропaгатор (рис. 3). Сверху растения накрывали прозрачной крышкой с вентиляционными заслонками, которые обеспечивали соблюдение температурного и влажностного режима.

В качестве показателей адаптации растений к условиям *ex vitro* учитывали прирост надземной части растений и корневой системы (см), а также приживаемость растений (%) *ex vitro*.



Результаты исследований

В результате исследований установлено, что при культивировании в почвенных условиях на 14-е сут отмечалась 100%-я гибель растений винограда из-за образования некрозов на листьях и побегах. На листовых пластинках малины и ежевики развитие плесени спустя 2 нед. наблюдалось у 17% высаженных на адаптацию микрорастений. Вероятно, это связано с недостаточной аэрацией и нарушением водного режима. Прирост вегетативной массы растений малины и ежевики происходил медленно. Средний прирост побегов за 2 мес. адаптации составил 1,5–2 см. Рост главного и боковых корней у малины и ежевики происходил медленно, формирования корневых волосков не было отмечено; средний прирост корневой системы составил 2,3 и 2,8 см соответственно.

При выращивании в аэропонной установке микроклонов плодово-ягодных культур отмечалась 100%-я приживаемость растений, листья были ярко-зеленого цвета без признаков некроза. Благодаря постоянной подаче питательных веществ, кислорода и воды, у растений быстро развивалась корневая система и интенсивно формировалась вегетативная биомасса. На 40-е сут адаптации растений-регенерантов винограда в аэропонной установке средняя длина главного побега достигла 12 см, а боковых побегов, образовавшихся из пазушных почек, – 20 см (рис. 4).



Рис. 3. Адаптация микрорастений в аэропонной установке

Кроме того, у микроклонов винограда сформировалась мощная корневая система, что в дальнейшем оказало положительное влияние на рост растений в почвенных условиях. Интенсивный рост вегетативной биомассы и корневой системы в аэропонной установке был характерен для всех изучаемых сортов винограда.

Культивирование микроклонов малины и ежевики в аэропонной установке также протекало более успешно, чем в почвенных условиях (рис. 5, 6). Так, на 40-е сут с начала адаптации высота главного побега малины и ежевики составила 4,8 см и 5,9 см, а длина корневой системы – 8,8 см и 8,7 см соответственно.

В ходе исследований установлено, что на величину прироста надземной биомассы и корневой системы в условиях аэропонной установки существенное влияние оказывает размер исходного микроклона. Так, например, для растений малины наилучшие результаты были получены

при использовании растений-регенерантов высотой 2–3 см. Длина побегов этих растений за 2 мес. выращивания увеличилась в 3,7 раза, а длина корневой системы – в 14–15 раз. Для микроклонов ежевики наибольший прирост биомассы отмечен при использовании для адаптации растений-регенерантов высотой 3–4 см. При этом длина побегов увеличилась более чем в 3 раза, а длина корней – в 22,5 раза.

Спустя 2 мес. после всех вышеизложенных операций сформировавшиеся в аэропонной установке растения винограда, малины и ежевики исследуемых сортов были перенесены в почвенные условия для дальнейшего доращивания. В качестве субстрата использовали смесь из земли и вермикулита в соотношении 1 : 3, помещенную на керамзитную основу. Полив и опрыскивание осуществляли по мере необходимости.

В почвенных условиях наблюдался дальнейший рост побегов и продолжалось формирование



Рис. 4. РАСТЕНИЯ ВИНОГРАДА, КУЛЬТИВИРУЕМЫЕ В АЭРОПОННОЙ УСТАНОВКЕ
(А – *MUSCAT OTTONEL*, Б – *MOLDOVA*, В – *MONARCH*)



Рис. 5. Микроклоны малины (сорт Оранжевое чудо), культивированные в аэропонной установке: А – 1-е СУТ; Б – 7-е СУТ; В – 21-е СУТ; Г – 35-е СУТ

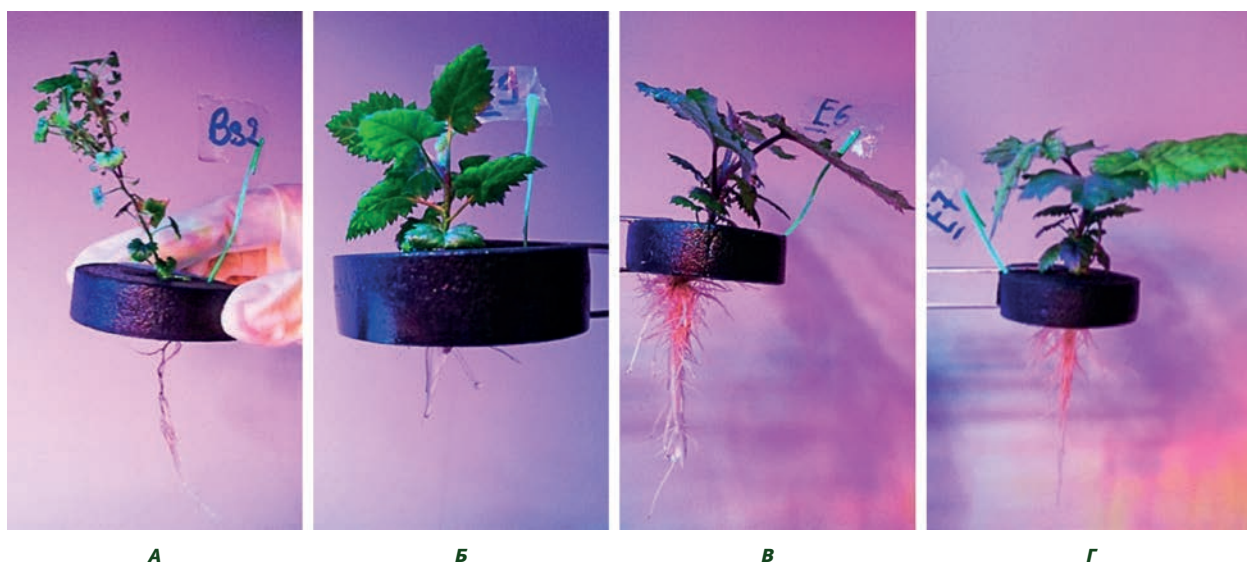


Рис. 6. Микроклоны ежевики (сорт Black Satin) в аэропонной установке: А – 1-е СУТ; Б – 7-е СУТ; В – 21-е СУТ; Г – 35-е СУТ

корневой системы, что не было отмечено при переносе микроклонов в почву сразу из пробирки (рис. 7–9). Таким образом, аэропонные установки позволяют растениям легче преодолевать стресс при переводе их из условий *in vitro* в *ex vitro*.

На основании проведенных исследований можно сделать вывод, что на последнем этапе

клонального микроразмножения для адаптации плодово-ягодных культур *ex vitro* целесообразно применять аэропонные технологии, которые позволяют получать высококачественный оздоровленный посадочный материал, востребованный для восполнения биологических ресурсов в лесном хозяйстве.



Рис. 7. Микроклоны винограда в почвенных условиях после применения аэропоники (А – MUSCAT OTTONEL, Б – MOLDOVA, В – MONARH)



А



Б

Рис. 8. РАСТЕНИЯ МАЛИНЫ, ПЕРЕСАЖЕННЫЕ В ГРУНТ ПОСЛЕ АДАПТАЦИИ: В АЭРОПОННОЙ УСТАНОВКЕ (А), НЕПОСРЕДСТВЕННО В ГРУНТЕ (Б)



А



Б

Рис. 9. РАСТЕНИЯ ЕЖЕВИКИ, ПЕРЕСАЖЕННЫЕ В ГРУНТ ПОСЛЕ АДАПТАЦИИ: В АЭРОПОННОЙ УСТАНОВКЕ (А), НЕПОСРЕДСТВЕННО В ГРУНТЕ (Б)

Список использованных источников

1. Кощев, А.К. Лесные ягоды: Справочник / А.К. Кощев, Ю.И. Смирняков. – М. : Экология, 1992. – 273 с.
2. Marshall, B. Spatial trends of phenotypic diversity between colonies of wild raspberry *Rubus idaeus* / B. Marshall // *New Phytologist*. – 2001. – Т. 151. – № 3. – С. 671–682.
3. Чиркова, Н.Ю. Оценка возможностей введения в культуру и перспективы культивирования хозяйственно ценных видов дикорастущих ягодников Кировской области / Н.Ю. Чиркова, В.Н. Сулейманова // *Вестник Оренбургского государственного университета*. – 2010. – № 5 (111). – С. 115–119.
4. Гушчин, А.В. Применение аэропонной установки для адаптации клонированных растений / А.В. Гушчин, Д.А. Швец, Э.В. Навроцкая. – LAP LAMBERT Academic Publishing, 2019. – 80 с.
5. Калашникова, Е.А. Клеточная инженерия растений / Е.А. Калашникова. – М. : РГАУ-МСХА, 2012. – 347 с.
6. Технология адаптации микроклонов *Vitis vinifera* к условиям *ex vitro* / Е.А. Калашникова, Р.Н. Киракосян, И.С. Чуксин, Э.В. Навроцкая, О.Н. Аладина // *Проблемы развития АПК региона*. – 2019. – № 3 (39). – С. 69–74.
7. Швец, Д.А. Применение аэропонной системы для адаптации микроклонов рода *Rubus* / Д.А. Швец, Е.А. Калашникова, И.С. Чуксин // *Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии* : сб. тр. XIX Всеросс. науч. конф. молодых ученых (15–16.04.2019, Москва). – М., 2019. – С. 29–31.

References

1. Koshcheev, A.K. Lesnye yagody: Spravochnik / A.K. Koshcheev, Yu. I. Smirnyakov. – M. : Ekologiya, 1992. – 273 s.
2. Marshall, B. Spatial trends of phenotypic diversity between colonies of wild raspberry *Rubus idaeus* / B. Marshall // *New Phytologist*. – 2001. – Т. 151. – № 3. – S. 671–682.
3. Chirkova, N.Yu. Ocenka vozmozhnostej vvedeniya v kul'turu i perspektivy kul'tivirovaniya hozyajstvenno cennykh vidov dikorastushchih yagodnikov Kirovskoj oblasti / N.Yu. Chirkova, V.N. Sulejmanova // *Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta*. – 2010. – № 5 (111). – S. 115–119.
4. Gushchin, A.V. Primenenie aeroponnoj ustanovki dlya adaptacii klonirovannykh rastenij / A.V. Gushchin, D.A. Shvec, E.V. Navrockaya. – LAP LAMBERT Academic Publishing, 2019. – 80 s.
5. Kalashnikova, E.A. Kletochnaya inzheneriya rastenij / E.A. Kalashnikova. – M. : RGAU-MSKHA, 2012. – 347 s.
6. Tekhnologiya adaptacii mikroklonov *Vitis vinifera* k usloviyam *ex vitro* / E.A. Kalashnikova, R.N. Kirakosyan, I.S. Chuksin, E.V. Navrockaya, O.N. Aladina // *Problemy razvitiya APK regiona*. – 2019. – №3 (39). – S. 69–74.
7. Shvec, D.A. Primenenie aeroponnoj sistemy dlya adaptacii mikroklonov roda *Rubus* / D.A. Shvec, E.A. Kalashnikova, I. S. Chuksin // *Biotehnologiya v rastenievodstve, zhivotnovodstve i sel'skohozyajstvennoj mikrobiologii* : sb. tr. XIX Vseross. nauch. konf. molodykh uchenykh (15–16.04.2019, Moskva). – M., 2019. – S. 29–31.

Application of Aeroponics for Adaptation of Fruit and Berry Crops to *ex vitro* Conditions

E. Kalashnikova

Russian State Agrarian University named after K.A. Timiryazev, Professor, Doctor of Biological Sciences, Moscow, Russian Federation, kalasho407@mail.ru

D. Shvets

Russian State Agrarian University named after K.A. Timiryazev, Master's Degree, Moscow, Russian Federation, darya-shv@mail.ru

E. Navrotskaya

Russian State Agrarian University named after K.A. Timiryazev, Master's Degree, Moscow, Russian Federation, emiliya.navrotskaya@mail.ru

R. Kirakosyan

Russian State Agrarian University named after K.A. Timiryazev, Associate Professor, Candidate of Biological Sciences, Moscow, Russian Federation, mia41291@mail.ru

Keywords: berry crops, raspberries, blackberries, grapes, adaptation, *in vitro*, *ex vitro*, aeroponic installation

The paper considers the results of research on improving the technology of adaptation of fruit and berry crops, i.e. blackberries, raspberries and grapes, to *ex vitro* conditions. We used previously propagated *in vitro* material of raspberry (Oranzhevoye Chudo), blackberry (Black Satin), and grape (Muscat Ottonel, Moldova, Monarch). The authors highlight the point that the phase of microclone adaptation to *ex vitro* conditions is one of the important components of the technology, since the death of regenerating plants is often observed. Therefore, selecting efficient technologies to solve the existing problems of plant adaptation is a promising line of research in plant cell biotechnology. One of those modern innovative technologies is aeroponics. Aeroponics creates optimal growing conditions for plants to fully unlock their potential, helping them to grow aboveground biomass and form a powerful root system [1, 2]. Two options were used to adapt microclones to *ex vitro* conditions: 1) adaptation directly in the soil, and 2) adaptation in aeroponics environment. In the first adaptation option, microclones were transferred to peat pots filled with FASCO universal soil. In the second option, the aeroponic clone propagator X-Stream 120 for 120 plants with a system of irrigation of the root zone of cuttings was used for the adaptation of microplants. The conducted studies showed that the adaptation of regenerant plants directly in soil resulted in the death of 80–100% of microclones, whereas aeroponic technologies resulted in 100% survival of plants. Moreover, intensive growth and a substantial increase in vegetative biomass of these plants were also noted. It was demonstrated

that the size of the initial microclone has a significant impact on the gain in growth of the aboveground biomass and root system. For example, the maximum biometric values obtained for the raspberry plants when using regenerant plants was 2–3 cm in height, while for blackberry plants it was 3–4 cm. Thus, it has been established that it makes sense to use aeroponic technologies during the last phase of clonal micropropagation for the adaptation of berry crops to *ex vitro* conditions.

References

1. Gushchin, A.V. *The use of an aeroponic plant for the adaptation of cloned plants* / A.V. Gushchin, D.A. Shvets, E.V. Navrotskaya. – LAP LAMBERT Academic Publishing, 2019. – 80 p.
2. Kalashnikova, E.A. *Cellular engineering of plants* / E.A. Kalashnikova. – M. : Russian state agrarian University-Moscow agricultural Academy, 2012. – 347 p.