

УДК 634.72:631.533.3:581.143.6

ВЛИЯНИЕ МАТЕРИНСКОГО РАСТЕНИЯ НА МОРФОГЕНЕТИЧЕСКУЮ СПОСОБНОСТЬ ЭКСПЛАНТОВ НЕКОТОРЫХ ЯГОДНЫХ КУЛЬТУР IN VITRO

Е.В. Колбанова

РУП «Институт плодородства»,

ул. Ковалева, 2, пос. Самохваловичи, Минский район, 223013, Беларусь,

e-mail: belhort@it.org.by

РЕЗЮМЕ

Экспланты, взятые для введения в культуру *in vitro* с оздоровленных маточников (ССЭ класса А) смородины чёрной и красной, обладают высоким морфогенетическим потенциалом. Количество жизнеспособных эксплантов почти у всех сортов смородины чёрной составило 100%, за исключением сортов Белорусская сладкая и Память Вавилова, у которых 4,76% приходится на инфицированные экспланты. Процент регенерировавших растений у сортов смородины красной также был высокий: от 86,67% (сорт Йонкер ван Тетс) до 100% (сорта Рондом и Фертоди).

При введении в культуру *in vitro* эксплантов смородины чёрной, привезённых с коллекционного участка МСХА им. К.А. Тимирязева, и эксплантов крыжовника с маточника (класс В) РУП «Институт плодородства» процент регенерировавших растений зависел от сортовых особенностей растений. Значительное количество инфицированных эксплантов может быть обусловлено как заражённостью маточных растений грибными и бактериальными инфекциями на месте произрастания, так и возможностью возрастания уровня инфекции в ходе длительного хранения до введения в культуру. Количество некротировавших эксплантов, вероятнее всего, зависит от заражённости маточного растения системными патогенами.

Ключевые слова: смородина чёрная, смородина красная, крыжовник, ССЭ класса А, маточник класса В, эксплант, культура *in vitro*, Беларусь.

ВВЕДЕНИЕ

Реализация морфогенетических потенциалов высаженных эксплантов зависит от многих факторов:

- 1) условий культивирования: освещения, фотопериода, температуры;
- 2) размера экспланта: чем меньше эксплант, тем ниже его регенерационная способность;
- 3) положения экспланта на материнском растении: апексы, вычлененные из терминальных почек, обладают большим морфогенетическим потенциалом, чем апексы латеральных почек, что можно объяснить более высоким содержанием ауксиноподобных веществ в терминальных почках;
- 4) сроков изоляции экспланта: ткани, выделенные весной, дают наибольший процент регенерировавших растений;

5) сортовых особенностей растений, которые заключаются в различном содержании эндогенных регуляторов роста в тканях;

6) состава питательной среды [1, 2].

Цель исследования – изучить влияние материнского растения на морфогенетическую способность эксплантов смородины чёрной, смородины красной и крыжовника.

УСЛОВИЯ, ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводили в отделе биотехнологии РУП «Институт плодородства» в 2008-2009 гг.

Объекты исследований: сорта смородины чёрной, привезённые с коллекционного участка Московской сельскохозяйственной академии им. К.А. Тимирязева (МСХА им. К.А. Тимирязева): Атлант, Алтайская поздняя, Гармония, Геркулес, Глобус, Дачница, Журавушка, Забава, Наташа, Нестер Козин, Ника, Подарок Кузиору, Сокровище, Чёрный аист, Ядрёная; сорта смородины чёрной с оздоровленного маточника (ССЭ класса А) отдела биотехнологии РУП «Институт плодородства»: Белорусская сладкая, Голубичка, Загадка, Изюмная, Катюша, Клуссоновская, Нара, Память Вавилова, Селеченская-2, Титания, Церера; сорта смородины красной с оздоровленного маточника (ССЭ класса А) отдела биотехнологии РУП «Институт плодородства»: Йонкер ван Тетс, Ненаглядная, Рондом, Фертоди; сорта крыжовника с маточника (класс В) отдела ягодных культур РУП «Институт плодородства»: Куршу дзинтарс, Малахит, Машека, Раволт, Северный капитан. Эксплантами служили верхушечные и пазушные почки однолетних одревесневших побегов. Введение в культуру *in vitro* сортов смородины чёрной проводили в фазу вынужденного покоя (конец февраля 2009 г.), смородины красной – в фазу окончания вегетации (середина сентября 2008 г.) и крыжовника – в фазу полного покоя (середина октября 2009 г.). Стерилизацию почек проводили по следующей схеме:

- 1) 45 минут 0,5%-ный оксихом;
- 2) 1 минута 70%-ный этанол;
- 3) 10 минут 33%-ная перекись водорода;
- 4) 5 минут промывка стерильной дистиллированной водой.

Меристематические верхушки размером 1-1,5 мм вычленили под бинокулярным микроскопом Olympus-SZ61 и высаживали в пробирки одинакового объёма (по 3 мл среды в каждой) на питательную среду Мурасиге и Скуга (MS) (таблица 1) [3].

Экспланты культивировали в климатической комнате при температуре $21 \pm 2^\circ\text{C}$, освещённости 2500 лк и фотопериоде 16 часов. Длительность субкультивирования 4 недели.

Статистическую обработку проводили, используя ANOVA, однофакторный дисперсионный анализ, критерий Дункана при $p=0,05$ для сравнения средних величин в программе Statistica 6.0.

Таблица 1 – Состав модифицированных питательных сред, используемых при введении в культуру *in vitro* смородины чёрной, красной и крыжовника

Компонент питательной среды		Концентрация в средах по прописи, мг/л		
		для смородины чёрной	для смородины красной	для крыжовника
Макросоли	NH ₄ NO ₃	1650	1650	550
	KNO ₃	1900	1900	633
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	370	370	370
	KH ₂ PO ₄	170	170	170
	CaCl ₂ ·2H ₂ O	440	440	440
Хелат железа	FeSO ₄ ·7H ₂ O	27,8	27,8	27,8
	Na ₂ ЭДТА	37,3	37,3	37,3
Микросоли	MnSO ₄ ·4H ₂ O	22,3	22,3	22,3
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8,6	8,6	8,6
	H ₃ BO ₃	6,2	6,2	6,2
	KJ	0,83	0,83	0,83
	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,25	0,25	0,25
	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,025	0,025	0,025
	CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,025	0,025	0,025
Витамины	Тиамин гидрохлорид (B ₁)	0,5	0,1	0,1
	Пиридоксин гидрохлорид (B ₆)	0,5	0,5	0,5
	Никотиновая кислота (PP)	0,5	0,5	0,5
	Аскорбиновая кислота (C)	1,0	10,0	1,0
	Глицин	2,0	2,0	2,0
	Мезоинозит	100	100	100
Регуляторы роста	Индолилмасляная кислота (ИМК)	-	-	0,02
	Бензиладенин (6-БА)	0,5	0,2	0,3
	Глюкоза, г/л	-	-	20
	Сахароза, г/л	30	30	-
	Агар, г/л	4,6	4,6	4,6
	pH	5,6-5,7	5,6-5,7	5,6-5,7

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследований было установлено, что экспланты, взятые для введения в культуру *in vitro* с оздоровленного маточника смородины чёрной в РУП «Институт плодоводства», обладали высоким морфогенетическим потенциалом. Количество жизнеспособных эксплантов почти у всех сортов составило 100%, за исключением сортов Белорусская сладкая и Память Вавилова, у которых 4,76% приходится на инфицированные экспланты (таблица 2).

Таблица 2 – Результаты введения в культуру *in vitro* сортов смородины чёрной, взятых с оздоровленного маточника (ССЭ класса А) отдела биотехнологии РУП «Институт плодоводства»

Сорт	Некроз, %	Инфекция, %	Жизнеспособные экспланты, %
Белорусская сладкая	0	4,76 ^{a*}	95,24 ^a
Голубичка	0	0 ^a	100 ^a
Загадка	0	0 ^a	100 ^a
Изюмная	0	0 ^a	100 ^a
Катюша	0	0 ^a	100 ^a
Клуссоновская	0	0 ^a	100 ^a
Нара	0	0 ^a	100 ^a
Память Вавилова	0	4,76 ^a	95,24 ^a
Селеченская-2	0	0 ^a	100 ^a
Титания	0	0 ^a	100 ^a
Церера	0	0 ^a	100 ^a

Примечание. * – данные с одинаковыми буквами по столбцам статистически не различаются при $p < 0,05$ (критерий Дункана).

При введении в культуру *in vitro* эксплантов, привезённых с коллекционного участка МСХА им. К.А. Тимирязева, процент регенерировавших растений зависел от сортовых особенностей растений. Высоким морфогенетическим потенциалом характеризовались сорта Алтайская поздняя (93,33% жизнеспособных эксплантов), Нестер Козин (85,0% жизнеспособных эксплантов), Журавушка (79,36% жизнеспособных эксплантов), Геркулес (76,19% жизнеспособных эксплантов), Гармония (75,56% жизнеспособных эксплантов), Чёрный аист (72,22% жизнеспособных эксплантов). В то время как сорта Сокровище, Ника и Наташа отличались низким морфогенетическим потенциалом: 25,0%, 33,33% и 47,62% жизнеспособных эксплантов соответственно. У сортов Подарок Кузиору, Атлант, Забава, Ядрёная, Дачница, Глобус процент жизнеспособных эксплантов колебался от 58,33% (сорт Подарок Кузиору) до 69,45% (сорт Глобус). Значительное количество инфицированных эксплантов у сортов Ника (33,33%), Атлант (28,89%), Подарок Кузиору (25,0%), Ядрёная (20,0%), Забава (13,33%) может быть обусловлено как большой степенью зараженности маточных растений грибными и бактериальными инфекциями на месте произрастания, так и возможностью возрастания уровня инфекции в ходе длительного хранения (перевозки) эксплантов до введения в культуру. У сортов Гармония, Глобус, Дачница, Наташа, Нестер Козин инфицированные экспланты хотя и отсутствовали, но количество некротировавших эксплантов колебалось от 15,0% (сорт Нестер Козин) до 52,38% (сорт Наташа). Большой процент некротировавших эксплантов (66,67%) отмечен у сорта Сокровище. Только у сорта

Алтайская поздняя инфицированные экспланты отсутствовали и количество некротизированных эксплантов было минимальным (6,67%), что можно связать с отсутствием грибных, бактериальных и системных патогенов у маточного растения, с которого брались экспланты (таблица 3).

Таблица 3 – Результаты введения в культуру *in vitro* сортов смородины чёрной, привезённых с коллекционного участка МСХА им. К.А. Тимирязева

Сорт	Некроз, %	Инфекция, %	Жизнеспособные экспланты, %
Атлант	12,22 ^{ab*}	28,89 ^d	58,89 ^{cd}
Алтайская поздняя	6,67 ^a	0 ^a	93,33 ^f
Гармония	24,44 ^{abc}	0 ^a	75,56 ^{def}
Геркулес	14,29 ^{abc}	9,52 ^{ab}	76,19 ^{def}
Глобус	30,55 ^{bc}	0 ^a	69,45 ^{de}
Дачница	33,33 ^c	0 ^a	66,67 ^{cde}
Журавушка	15,88 ^{abc}	4,76 ^a	79,36 ^{def}
Забава	26,67 ^{abc}	13,33 ^{abc}	60,0 ^{cd}
Наташа	52,38 ^d	0 ^a	47,62 ^{bc}
Нестер Козин	15,0 ^{abc}	0 ^a	85,0 ^{ef}
Ника	33,34 ^c	33,33 ^d	33,33 ^{ab}
Подарок Кузиору	16,67 ^{abc}	25,0 ^{cd}	58,33 ^{cd}
Сокровище	66,67 ^d	8,33 ^{ab}	25,0 ^a
Чёрный аист	19,44 ^{abc}	8,33 ^{ab}	72,22 ^{de}
Ядрёная	13,33 ^{abc}	20,0 ^{bcd}	66,67 ^{cde}

Примечание. * – данные с одинаковыми буквами по столбцам статистически не различаются при $p < 0,05$ (критерий Дункана).

При введении в культуру *in vitro* эксплантов сортов смородины красной, взятых с оздоровленного маточника в РУП «Институт плодородства», процент регенерировавшихся растений был высоким. У сортов Рондом и Фертоди – по 100%, у сортов Йонкер ван Тетс и Ненаглядная – по 86,67% и 87,78% соответственно. Количество некротизированных эксплантов было небольшим: 12,22% и 13,33% у сортов Ненаглядная и Йонкер ван Тетс соответственно, инфицированные экспланты отсутствовали (таблица 4).

Таблица 4 – Результаты введения в культуру *in vitro* сортов смородины красной, взятых с оздоровленного маточника (ССЭ класса А) отдела биотехнологии РУП «Институт плодородства»

Сорт	Некроз, %	Инфекция, %	Жизнеспособные экспланты, %
Йонкер ван Тетс	13,33 ^{a*}	0	86,67 ^a
Ненаглядная	12,22 ^a	0	87,78 ^a
Рондом	0 ^a	0	100 ^a
Фертоди	0 ^a	0	100 ^a

Примечание. * – данные с одинаковыми буквами по столбцам статистически не различаются при $p < 0,05$ (критерий Дункана).

Экспланты, взятые для введения в культуру *in vitro* с маточного насаждения класса В крыжовника в РУП «Институт плодородства», обладали различным морфогенетическим потенциалом в зависимости от сортовых особенностей растений. Большим морфогенетическим потенциалом обладал сорт Северный капитан (92,59% регенерировавших растений), количество инфицированных и некротировавших эксплантов было минимальным (по 3,70%), а также сорт Малахит – 83,33% регенерировавших растений, при небольшом количестве некротировавших эксплантов – 16,67%. У сортов Куршу дзинтарс и Раволт количество жизнеспособных эксплантов составило 60,47% и 65,56% соответственно. Низкий морфогенетический потенциал проявил сорт Машека (41,67% жизнеспособных эксплантов), у которого было большое количество инфицированных эксплантов (58,33%), что может быть связано с высокой степенью поражения маточного растения этого сорта грибной и бактериальной инфекциями. Большая доля инфицированных эксплантов зафиксирована и у сорта Куршу дзинтарс (39,53%), что также может быть связано с высокой степенью поражения маточного растения этого сорта грибной и бактериальной инфекциями (таблица 5).

Таблица 5 – Результаты введения в культуру *in vitro* сортов крыжовника, взятых с маточника (класс В) отдела ягодных культур РУП «Институт плодородства»

Сорт	Некроз, %	Инфекция, %	Жизнеспособные экспланты, %
Куршу дзинтарс	0 ^{a*}	39,53 ^b	60,47 ^b
Малахит	16,67 ^b	0 ^a	83,33^c
Машека	0 ^a	58,33 ^c	41,67 ^a
Раволт	34,44 ^c	0 ^a	65,56 ^b
Северный капитан	3,70 ^{ab}	3,70 ^a	92,59^c

Примечание. * – данные с одинаковыми буквами по столбцам статистически не различаются при $p < 0,05$ (критерий Дункана).

ВЫВОДЫ

Экспланты, взятые для введения в культуру *in vitro* с оздоровленных маточников (ССЭ класса А) смородины чёрной и красной, обладают высоким морфогенетическим потенциалом. Количество жизнеспособных эксплантов почти у всех сортов смородины чёрной составило 100%, за исключением сортов Белорусская сладкая и Память Вавилова, у которых 4,76% приходится на инфицированные экспланты. Процент регенерировавших растений у сортов смородины красной также был высокий: от 86,67% (сорт Йонкер ван Тетс) до 100% (сорта Рондом и Фертоди).

При введения в культуру *in vitro* эксплантов смородины чёрной, привезённых с коллекционного участка МСХА им. К.А. Тимирязева, и эксплантов крыжовника с маточника (класс В) РУП «Институт плодородства», процент регенерировавших растений зависел от сортовых особенностей растений. Значительное количество инфицированных эксплантов может быть обусловлено как заражённостью маточных растений грибными и бактериальными инфекциями на месте произрастания, так и возможностью возрастания уровня инфекции в ходе длительного хранения (перевозки) до введения в культуру. Количество некротировавших эксплантов, вероятнее всего, зависит от заражённости маточного растения системными патогенами.

Литература

1. Высоцкий, В.А. Клональное микроразмножение растений / В.А. Высоцкий // Культура клеток растений и биотехнология: сб. ст. / АН СССР, Ин-т физиологии растений им. К.А. Тимирязева; редкол.: Р.Г. Бутенко (отв. ред.) [и др.]. – М.: Наука, 1986. – С. 91-102.
2. Калинин, Ф.Л. Технология микрклонального размножения растений / Ф.Л. Калинин, Г.П. Кушнир, В.В. Сарнацкая. – Киев: Наук. думка, 1992. – 232 с.
3. Murashige, T. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // *Physiol. Plantar.* – 1962. – Vol. 15. – P. 473-497.

INFLUENCE OF MOTHER PLANT ON EXPLANT MORPHOGENETIC ABILITY FOR SOME SMALL FRUITS IN IN VITRO

E.V. Kolbanova

ABSTRACT

Explants for initiation of in vitro culture from virus free mother plantations (super super elite class A) of black and red currants have a high morphogenetic potential. The number of viable explants in almost all cultivars of black currant was 100%, except the cultivar 'Byelorusskaya sladkaya' and 'Pamyati Vavilova' in which 4.76% of explants were infected. Percentage of regenerated plant of cultivars of red currant was also high: from 86.67% (cv. 'Jonkheer Van Tets') to 100% (cv. 'Ronda' and 'Fertodi').

In initiation of in vitro culture of black currants from seed-trial ground of Timiryazev Moscow Agricultural Academy and in vitro culture of gooseberry from mother plantation (class B) of the Institute for Fruit Growing, the percentage of regenerated plants depended on characters of cultivars. A significant number of infected explants may be due to contamination of mother plants by fungal and bacterial infections in their habitat and the possibility of increasing the level of infection during prolonged storage before the initiation in vitro culture. The number of necrotic explants depends likely on infection of mother plant by systemic pathogens.

Key words: black currant, red currant, gooseberries, super super elite class A, class B mother plantation, explant, in vitro culture, Belarus.

Дата поступления статьи в редакцию 28.03.2011