

УДК 581.14.6:634.738

Е. Н. КУТАС, М. В. ГАРАНИНОВА, А. А. ГОРЕЦКАЯ, И. Н. МАЛАХОВА

РЕГЕНЕРАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ РОДОДЕНДРОНА ЖЕЛТОГО, ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ СОРТОВ ГОЛУБИКИ ВЫСОКОЙ, БРУСНИКИ ОБЫКНОВЕННОЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СОДЕРЖАНИЯ ГОРМОНАЛЬНЫХ ДОБАВОК В ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, e-mail:vinogradova-kira@tut.by

(Поступила в редакцию 25.07.2013)

Введение. Регенерация растений является узловым моментом во всей методологии культуры клеток и тканей. Без регенерации лишаются смысла исследования в культуре *in vitro*, потому что завершающим этапом этих работ в конечном итоге является регенерация растений. Вот почему этой проблеме посвящено огромное количество публикаций в которых излагаются результаты исследований авторов, полученные при изучении факторов, оказывающих влияние на этот процесс.

Вопросу зависимости регенерации банана от соотношения гормонов в питательной среде, а также о влиянии генотипа на этот процесс посвящена работа N. Banerjee и A. K. Sharma [1]. Авторы приходят к выводу, что добавление в питательную среду 0,2 мг/л ИУК (индолилуксусной кислоты) и 0,2 мг/л бензиламинопурина (БАП) способствует регенерации побегов банана, в то время как замена БАП кинетином снизила скорость регенерации.

Влиянию гормональных добавок на процесс регенерации сахарной свеклы в культуре *in vitro* посвящена публикация А. Casas и J. M. Lasa [2]. Показано, что наилучший рост эксплантов наблюдали на среде Мурасиге-Скуга, содержащей 4,4 мкМ БА (бензиладенин), 0,5 мкМ НУК и 0,3 мкМ ГА₃ (гибберелловой кислоты).

Обстоятельное исследование по изучению регенерации лесных пород (сосна обыкновенная, с. Жеффрея, с. Веймутова, дугласова пихта, робиния лжеакация) было проведено Magdalena Bara [3]. Эксплантами служили верхушки и срединные части 5–7-недельных проростков. По утверждению автора, активное побегообразование происходило на среде, содержащей бензиладенин в концентрации 2–2,5 мг/л, 2-γ-диметиламинопурин – 0,5–0,9 мг/л, нафтилуксусную кислоту – 0,02 – 0,04 мг/л.

А. И. Сорока изучала процессы регенерации двух гибридных генотипов льна масличного на питательных средах N₆ и LMA-1 при различных концентрациях БАП. Ею показано, что рост и развитие каллуса лучше происходят при концентрации в среде БАП 2 мг/л в сравнении с 4 и 6 мг/л. Регенерация побегов и корней наблюдалась лишь у генотипа F₁ 6–8-гнездный × M22 и не зависела от концентрации БАП в среде и от самой среды [4].

Л. А. Курениной и др. [5] проведены исследования процесса регенерации клевера лугового *Trifolium pratense* L. с целью получения растений-регенерантов. Авторами установлено, что оптимальными комбинациями фитогормонов в процессе регенерации оказались (мг/л): БАП – 4,0; НУК – 0,1; кинетин – 2,0 и БАП – 4,0; НУК – 0,05; кинетин – 1,0 для ряда сортов (ВИК-7, Ранний-2, Arlington, Алтын, К7-11, РП150).

Вопросу регенерации растений в культуре клеток и тканей посвящена обширная литература [6–15]. Однако для каждого вида или сорта растений этот вопрос решается экспериментальным путем.

Исходя из этого, нами были проведены исследования, направленные на изучение регенерационного потенциала интродуцированных сортов голубики высокой, брусники обыкновенной, рододендрона желтого в зависимости от содержания гормональных добавок в питательной среде.

Объекты и методы исследования. Объектами исследования служили интродуцированные сорта голубики высокой Elizabeth, брусники обыкновенной Ammerland, Red Pearl, рододендрон желтый (*Rhododendron luteum* Sweet). Эксперименты были поставлены на двух питательных средах – Андерсена [16] и WPM [17] – с различным соотношением гормональных добавок в них. В качестве эксплантов использовали стерильные микрочеренки, интродуцированных сортов голубики высокой, брусники обыкновенной рододендрона желтого, введенных в стерильную культуру. Экспланты в количестве 20 шт. для каждого сорта и вида растения высаживали на агаризованные среды, содержащие ИУК и изопентениладенин (ИУК : 2-иП) в следующих соотношениях: 1 : 5, 2 : 4, 4 : 15 (мг/л). Колбы с высаженными эксплантами помещали на стеллажи в культуральной комнате, где освещенность равна 4000 лк, температура 24 °С, фотопериод 16 ч. Учет количества регенерантов на эксплант (регенерационный потенциал), морфометрические показатели регенерантов (высота побега, см; длина листа, мм) проводили спустя 2 мес с момента постановки опыта. Экспериментальный материал обработан статистически и представлен в таблице. Цифры в таблице являются средними арифметическими с их стандартными ошибками.

Регенерационный потенциал и морфометрические показатели рододендрона желтого, интродуцированных сортов брусники обыкновенной, голубики высокой в зависимости от содержания гормональных добавок в питательной среде

Вид, сорт	Среда	Гормоны, мг/г		Количество побегов на 1 эксплант, шт	Высота побега, см	Длина листа, мм
		ИУК	2-иП			
<i>Rhododendron luteum</i>	А	1	5	2,75±1,19	2,03±0,16	4,00±0,52
		2	4	3,06±1,11	2,10±0,20	2,72±0,41
		4	15	5,00±1,50	1,49±0,19	2,60±0,38
	WPM	1	5	3,15±1,05	6,00±0,09	8,00±0,45
		2	4	2,70±1,19	5,10±0,17	5,21±0,18
		4	15	4,50±1,21	3,29±0,11	4,37±0,13
Red Pearl	А	1	5	3,50±1,10	1,10±0,14	2,82±0,14
		2	4	3,10±1,12	1,41±0,13	2,47±0,23
		4	15	7,70±1,15	1,05±0,03	1,97±0,21
	WPM	1	5	3,00±1,17	1,95±0,13	3,95±0,17
		2	4	3,90±1,06	2,00±0,11	3,51±0,29
		4	15	6,30±1,29	1,95±0,17	2,71±0,17
Ammerland	А	1	5	1,20±0,07	1,20±0,24	3,44±0,61
		2	4	1,39±0,21	1,25±0,12	4,83±0,59
		4	15	3,90±1,14	0,69±0,07	2,91±0,43
	WPM	1	5	1,30±0,12	5,00±0,28	6,50±0,25
		2	4	1,49±0,20	4,11±0,61	6,22±0,34
		4	15	1,80±1,16	3,90±0,30	4,76±0,21
Elizabeth	А	1	5	1,80±0,60	2,00±0,13	2,33±0,16
		2	4	1,95±0,50	2,10±0,15	2,90±0,27
		4	15	3,80±1,09	1,75±0,15	2,54±0,19
	WPM	1	5	1,40±0,10	2,50±0,29	4,90±0,52
		2	4	1,60±0,25	3,05±0,12	4,30±0,46
		4	15	3,05±1,11	1,98±0,16	3,01±0,31

Результаты и их обсуждение. Как следует из таблицы, у *Rhododendron luteum* максимальное количество побегов 5 шт. на один эксплант было регенерировано на среде Андерсена, содержащей 4 мг/л ИУК и 15 мг/л 2-иП. На среде WPM, содержащей такое же количество гормонов, у данного вида (*Rhododendron luteum*) этот показатель ниже (4,50 шт.), но на незначительную величину. У брусники обыкновенной сорт Red Pearl максимальное количество регенерантов

на эксплант отмечено на среде Андерсена и WPM, содержащих 4 и 15 мг/л ИУК и 2-иП соответственно, и составило 7,70 и 6,30 шт. Аналогичная картина характерна для сорта Ammerland (брусника обыкновенная) и сорта Elizabeth (голубика высокая). У сорта Ammerland количество побегов на эксплант составило 3,90 на среде Андерсена и 1,80 на среде WPM, у сорта Elizabeth – 3,80 и 3,05 соответственно при соотношении ИУК:2-иП=4:15.

Минимальное количество побегов на эксплант образовано у *Rhododendron luteum* на среде Андерсена, содержащей 1 и 5 мг/л (ИУК:2-иП) и среде WPM с 2 и 4 мг/л (ИУК:2-иП) и составило 2,75 и 2,70 регенеранта на один эксплант соответственно. У сорта брусники обыкновенной Red Pearl минимальное количество побегов на эксплант (3,50 шт.) регенерировано на среде Андерсена при соотношении ИУК:2-иП=1:5 мг/л и на среде WPM (3,00) при том же соотношении гормонов.

Для брусники обыкновенной (сорт Ammerland) и голубики высокой (сорт Elizabeth) минимальное количество регенерантов на эксплант 1,20; 1,30 и 1,80; 1,40 соответственно отмечено на обоих типах питательных сред (Андерсена и WPM) при содержании гормональных добавок в соотношении 1:5 мг/л.

Как показал анализ цифрового материала, представленного в таблице, наибольший регенерационный потенциал для исследованного сорта голубики высокой, двух сортов брусники обыкновенной и рододендрона желтого отмечен на обеих питательных средах (WPM и Андерсена), содержащих 4 мг/л ИУК и 15 мг/л 2-иП, наименьший – на этих же средах, содержащих 1 мг/л ИУК и 5 мг/л 2-иП.

На регенерационном потенциале исследованных растений сказалось не только количество гормональных добавок, содержащихся в питательной среде, но и генотип растения оказал влияние на этот показатель. Так, максимальным регенерационным потенциалом обладает сорт брусники обыкновенной Red Pearl (7,70 побегов на эксплант), минимальным – сорт голубики высокой Elizabeth и сорт брусники обыкновенной Ammerland при содержании в обеих средах одинакового количества гормонов (4 мг/л ИУК и 15 мг/л 2-иП) (см. таблицу).

Дальнейший анализ цифрового материала, представленного в таблице, позволил прийти к выводу о существовании различий не только в отношении регенерационной способности исследованных растений, но и в отношении морфометрических показателей: высоты побега и длины листа. Максимальная высота побега (6 см) отмечена у *Rhododendron luteum* на среде WPM, содержащей 1 мг/л ИУК и 5 мг/л 2-иП, несколько ниже этот показатель (5 см) у брусники обыкновенной сорт Ammerland, значительно ниже у голубики высокой сорт Elizabeth – 2,5 см и брусники обыкновенной сорт Red Pearl – 1,95 см. Обращает на себя внимание тот факт, что у брусники обыкновенной сорт Red Pearl, регенерировавшего наибольшее количество побегов на эксплант (7,70 среда Андерсена, ИУК:2-иП=4:15), высота побега минимальна (1,05 см). Логично предположить, что при меньшем количестве побегов на эксплант высота побега была бы больше. Например, у сорта Ammerland (брусника обыкновенная) количество побегов на эксплант составило 1,80 при высоте побега 3,90 см. Вероятно, это можно объяснить пропорциональным израсходом питательных веществ, что выражается, с одной стороны, в увеличении количества побегов на эксплант и уменьшении их высоты, а с другой, в уменьшении количества побегов и увеличении их высоты.

Что касается длины листа регенерантов, то она находится в зависимости от состава питательной среды и таксономической принадлежности растения. Наибольшую длину имели листья *Rhododendron luteum* (8 мм) на среде WPM, содержащей 1 мг/л ИУК и 5 мг/л 2-иП, наименьшую (1,97 мм) – листья брусники обыкновенной сорт Red Pearl на среде Андерсена, содержащей 4 мг/л ИУК и 15 мг/л 2-иП.

Заключение. Регенерационная способность исследованных интродуцированных сортов голубики высокой, брусники обыкновенной, рододендрона желтого и их морфометрические показатели находятся в тесной зависимости от содержания гормональных добавок в питательной среде и связаны с генотипом растения. Максимальным регенерационным потенциалом (7,70 побегов на эксплант) обладает сорт Red Pearl (брусники обыкновенной) на среде Андерсена, содер-

жащей 4 мг/л ИУК и 15 мг/л 2-иП; минимальным – сорт голубики высокой Elizabeth и сорт брусники обыкновенной Ammerland при содержании в обеих средах одинакового количества гормонов (4 мг/л ИУК и 15 мг/л 2-иП).

Литература

1. *Banerjee N., Sharma A. K.* // Theor. And Appl. Genet. 1988. Vol. 76, №5. P. 733–736.
2. *Cacas A., Lasa J. M.* // Ann. Estac. Exp. Aula Dei. 1987. Vol. 18, №3–4. P. 147–154.
3. *Vara Magdalena* // Rev. padur. Silvicult si exploit. Padur. 1986. Vol. 101, №2. P. 63–66.
4. *Сорока А. И.* // Цитология и генетика. 2004. Т. 38, №2. С. 20–25.
5. *Куренина Л. А., Солодкая Л. И., Лапотьшикина В. В.* // Биотехнология. 2001. №6. С. 19–24.
6. *Смирнов В. А., Латыпов С. А., Перчуляк Л. П.* // Культура клеток раст. и биотехнол. М., 1986. С. 128–132.
7. *Tuskan G. A.* // Plant Cell Tissue and Organ Cult. 1990. Vol. 20, №1. P. 47–52.
8. *Каляева Н. М., Захарченко Н. С., Бурьянов Я. И.* // Биотехнология. 2000. Т. 6. С. 34–40.
9. *Seetharam Y. N.* // Indian Journal of Biotechnology. 2002. Vol. 1, №4. P. 401–404.
10. *Ghanti K.* // Indian Journal of Biotechnology. 2004. Vol. 3, №4. P. 594–598.
11. *Sharad T., Shanker P., Tripathi M.* // Indian Journal of Biotechnology. 2004. Vol. 3, №3. P. 441–444.
12. *Лемеш В. А.* // Докл. НАН Беларуси. 2006. Т. 50, №6. С. 81–83.
13. *Duong Tan Nhut* // Propagation of Ornamental Plants. 2007. Vol. 7, №1. P. 16–22.
14. *Gajdosova A.* // Propagation of Ornamental Plants. 2007. №5. P. 109–114.
15. *Орловская О. А.* // Докл. НАН Беларуси. 2008. Т. 52, №1. С. 88–91.
16. *Anderson W. C.* // Proc. Intern. Plant Prop. Soc. 1975. Vol. 25. P. 1929–1935.
17. *Lloyd G. and McCown* // Proc. Intern. Plant Prop. Soc. 1981. Vol. 30. P. 421–427.

E. N. KUTAS, M. B. GARANINOVA, A. A. GORETSKAY, I. N. MALACHOVA

THE INFLUENCE OF HORMONAL SUPPLEMENTS ON THE REGENERATIVE POTENTIAL OF INTRODUCED SPECIES OF BLUEBERRY HIGH BILBERRY PINE, RHODODENDRON YELLOW IN STERILE CULTURE

Summary

It was presents the results of the regenerative capacity of introduced species of blueberry high, cowberry, yellow rhododendron. The dependence of the investigated plant regeneration capacity of the hormonal content of additives in the nutrient medium and the plant genotype was shown.