

УДК 581.14.6:634.738

Е. Н. КУТАС, А. А. ГОРЕЦКАЯ

ВЛИЯНИЕ РЕТАРДАНТОВ НА СНИЖЕНИЕ СКОРОСТИ РОСТА И СОХРАНЕНИЕ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ СТЕРИЛЬНЫХ КУЛЬТУР

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

(Поступила в редакцию 31.01.2013)

Введение. В мировой практике в течение многих лет для поддержания коллекции стерильных культур использовали постоянное выращивание их при оптимальных условиях для данных растений. Однако оказалось, что такое выращивание имеет ряд существенных недостатков: во-первых, возможность появления соматклональной изменчивости (из-за нарушения генетической стабильности часто пересаживаемого материала); во-вторых, опасность загрязнения чужеродным генетическим материалом и случайной утерей собственного генетического материала; в-третьих, трудоемкость процессов (необходимость регулярной пересадки на свежую питательную среду); в-четвертых, высокая стоимость компонентов питательной среды, требуемых для частых пересадок.

Основным препятствием в хранении регенерантов интродуцированных сортов брусники, голубики, рододендронов является их быстрое старение, ведущее в конечном счете к гибели растений. Чтобы предотвратить этот процесс необходимо регулярно, через каждые 2–3 недели, пересаживать регенеранты на свежие питательные среды.

На наш взгляд, одним из путей решения проблемы является замедление роста регенерантов с помощью ретардантов.

Как показал обзор литературы, сведения, касающиеся влияния ретардантов на жизнеспособность регенерантов в культуре *in vitro*, единичны [1–4]. Для интродуцированных сортов голубики высокой, брусники обыкновенной они отсутствуют вообще.

Целью исследований явилось изучение влияния различных концентраций хлорхолинхлорида (ХХХ) и абсцизовой кислоты (АБК) на жизнеспособность интродуцированных сортов голубики высокой и брусники обыкновенной в культуре *in vitro*.

Объекты и методы исследования. В качестве объектов исследования использовали шесть интродуцированных сортов *Vaccinium corymbosum* L. голубики высокой (Bluecrop, Blueray, Dixi, Herbert, Rancocas, Scammel) и три интродуцированных сорта *Vaccinium vitis-idaea* L. брусники обыкновенной (Koralle, Masovia, Erntedank), регенерированных в культуре *in vitro* методом активации пазушных меристем. Опыты проводили с ХХХ (концентрация 2 мг/л) и АБК (концентрация 8, 10 мг/л) на питательной среде WPM [4] при фотопериоде 16 ч, освещенности 4000 лк, температуре 25 °С.

В ходе экспериментов растения культивировали без пересадки на свежую питательную среду на протяжении 12 мес. Жизнеспособность (термин «жизнеспособность» использован нами как понятие, характеризующее потенциальную продолжительность жизни растений в стерильной культуре при длительном культивировании их без обновления питательных сред) материала оценивали по разработанному нами методу, включающему пятибалльную шкалу, согласно которой 0 баллов – гибель растения, 1–3 – промежуточное состояние, 4 – максимальная жизнеспособность, а также учитывали активацию меристем и скорость роста побегов. Показания снимали по истечении 2, 4 и 12 мес культивирования. Экспериментальные данные приведены в табл. 1, 2. Цифры в таблицах являются средними арифметическими значениями для 10 растений каждого сорта.

Т а б л и ц а 1. Влияние содержания хлорхолинхлорида (XXX) и абсцизовой кислоты (АБК) на рост и жизнеспособность (Ж) сортов *Vaccinium corymbosum* L. и *Vaccinium vitis-idaea* L. в культуре *in vitro*

Сорт	2 мес культивирования					
	среда № 1 (XXX, 2 мг/л)		среда № 2 (АБК, 8 мг/л)		среда № 3 (АБК, 10 мг/л)	
	длина побегов на 1 растение, см	Ж, балл	длина побегов на 1 растение, см	Ж, балл	длина побегов на 1 растение, см	Ж, балл
<i>Vaccinium corymbosum</i>						
Bluecrop	0,39±0,17	4,00±0,00	0,24±0,03	4,00±0,00	0,45±0,27	4,00±0,00
Blueray	0,47±0,11	4,00±0,00	0,41±0,21	4,00±0,00	0,56±0,29	4,00±0,00
Dixi	0,34±0,19	4,00±0,00	0,31±0,17	4,00±0,00	0,41±0,21	4,00±0,00
Herbert	0,41±0,21	4,00±0,00	0,36±0,16	4,00±0,00	0,39±0,17	4,00±0,00
Rancocas	0,46±0,24	4,00±0,00	0,42±0,24	4,00±0,00	0,63±0,31	4,00±0,00
Scammel	0,39±0,07	4,00±0,00	0,37±0,19	4,00±0,00	0,49±0,16	4,00±0,00
<i>Vaccinium vitis-idaea</i>						
Koralle	1,01±0,36	4,00±0,00	0,96±0,27	4,00±0,00	1,17±0,41	4,00±0,00
Erntedank	1,19±0,74	4,00±0,00	1,01±0,21	4,00±0,00	1,29±0,38	4,00±0,00
Masovia	1,24±0,39	4,00±0,00	1,03±0,53	4,00±0,00	1,37±0,31	4,00±0,00
Сорт	4 мес культивирования					
	среда № 1 (XXX, 2 мг/л)		среда № 2 (АБК, 8 мг/л)		среда № 3 (АБК, 10 мг/л)	
	длина побегов на 1 растение, см	Ж, балл	длина побегов на 1 растение, см	Ж, балл	длина побегов на 1 растение, см	Ж, балл
<i>Vaccinium corymbosum</i>						
Bluecrop	1,07±0,51	3,47±0,51	1,01±0,30	3,41±0,29	1,24±0,25	3,51±0,29
Blueray	1,29±0,54	3,49±0,65	1,17±0,29	3,37±0,16	1,37±0,39	3,29±0,31
Dixi	1,34±0,36	3,41±0,57	1,26±0,35	3,64±0,51	1,51±0,57	3,44±0,67
Herbert	1,37±0,44	3,29±0,56	1,29±0,35	3,59±0,63	1,44±0,65	3,47±0,86
Rancocas	1,53±0,47	3,50±0,05	1,41±0,47	3,71±0,66	1,66±0,64	3,81±0,51
Scammel	1,35±0,57	3,95±0,07	1,35±0,29	3,39±0,44	1,43±0,66	3,55±0,55
<i>Vaccinium vitis-idaea</i>						
Koralle	1,89±0,27	3,97±0,91	1,74±0,37	3,85±0,45	2,01±0,55	3,91±0,84
Erntedank	1,94±0,71	3,84±0,67	1,81±0,44	3,74±0,17	2,17±0,57	3,80±0,31
Masovia	1,93±0,58	3,89±0,56	1,88±0,65	3,71±0,75	2,21±0,79	3,85±0,26

Т а б л и ц а 2. Жизнеспособность интродуцированных сортов *Vaccinium corymbosum* L. и *Vaccinium vitis-idaea* L. на различных питательных средах спустя 12 мес культивирования

Сорт	среда № 1 (XXX, 2 мг/л)		среда № 2 (АБК, 8 мг/л)		среда № 3 (АБК, 10 мг/л)	
	длина побегов на 1 растение, см	Ж, балл	длина побегов на 1 растение, см	Ж, балл	длина побегов на 1 растение, см	Ж, балл
<i>Vaccinium corymbosum</i>						
Bluecrop	3,15±0,51	1,15±0,29	3,01±0,28	1,24±0,25	3,27±0,28	1,22±0,51
Blueray	3,74±0,63	1,21±0,30	3,52±0,19	1,35±0,38	3,91±0,33	1,37±0,57
Dixi	2,97±0,52	1,19±0,37	2,01±0,10	1,19±0,54	3,41±0,56	1,39±0,36
Herbert	3,08±0,56	1,26±0,40	2,84±0,15	1,39±0,34	3,94±0,50	1,45±0,51
Rancocas	3,51±0,50	1,34±0,46	3,45±0,66	1,47±0,40	3,51±0,47	1,51±0,60
Scammel	3,24±0,40	1,51±0,57	3,15±0,51	1,91±0,52	3,75±0,56	1,84±0,63
<i>Vaccinium vitis-idaea</i>						
Koralle	4,29±0,84	3,15±0,50	4,15±0,71	3,21±0,57	4,81±0,87	2,98±0,45
Erntedank	4,75±0,67	2,74±0,44	4,63±0,63	3,16±0,50	4,29±0,75	2,84±0,31
Masovia	4,79±0,70	3,01±0,60	4,81±0,72	3,07±0,49	4,67±0,79	3,18±0,38

Результаты и их обсуждение. Как показал анализ материала, представленного в табл. 1, в течение первых 2 мес культивирования регенерантов на питательной среде, содержащей в одном случае 2 мг/л XXX (среда № 1), в другом – 8 мг/л АБК (среда № 2), в третьем – 10 мг/л АБК (среда № 3), жизнеспособность всех сортов, без исключения, была высокой и составила 4 балла на всех средах.

На среде, содержащей XXX, растения имели интенсивную зеленую окраску листьев и укороченные междоузлия по сравнению с растениями контроля, которые выращивались на среде, не содержащей

XXX и АБК. К концу первого месяца культивирования у них завершился рост, а к концу четвертого – они погибли (контрольные растения), потому что не были пересажены на свежую питательную среду.

Дальнейшие наблюдения за растениями, культивируемыми на среде, содержащей ретарданты, показали, что спустя 4 мес культивирования рост у регенерантов не прекратился, так как увеличилась длина побегов, несколько снизился показатель жизнеспособности (в среднем на 0,5 балла). Максимальную жизнеспособность сохранили 2 сорта голубики (Blueray – 3,49 балла, Scammel – 3,95) и все сорта брусники (табл. 1) на среде № 1, содержащей 2 мг/л XXX; 2 сорта голубики (Dixi – 3,64 балла, Herbert – 3,59) на среде № 2, содержащей 8 мг/л АБК, и 2 сорта голубики (Bluecrop – 3,51, Rancocas – 3,81) на среде № 3, содержащей 10 мг/л АБК.

Спустя 12 мес культивирования показатель жизнеспособности значительно снизился. Однако растения не погибли, они имели промежуточный показатель жизнеспособности 1,15–3,21 балла.

Относительно высокий бал жизнеспособности в цифровом выражении для сортов Bluecrop (1,24 балла), Scammel (1,91) и для 2 сортов брусники (Koralle – 3,21 и Erntedank – 3,16 баллов) наблюдали на среде № 2, содержащей 8 мг/л АБК, а для остальных сортов (Blueray – 1,37, Dixi – 1,39, Herbert – 1,45, Rancocas – 1,51, Masovia – 3,18 балла) – на среде № 3, содержащей 10 мг/л АБК (табл. 2).

Самая высокая жизнеспособность в результате беспересадочного культивирования материала на свежие питательные среды в течение 12 мес отмечена для сорта брусники Koralle (3,21 балла) на среде № 2, содержащей 8 мг/л АБК (табл. 2), самая низкая (1,15 балла) для сорта голубики Bluecrop на среде № 1, содержащей 2 мг/л XXX. Остальные сорта заняли промежуточное положение по данному показателю. Это является свидетельством зависимости жизнеспособности как от сортовой принадлежности материала, так и от ингибитора, содержащегося в питательной среде.

Оптимальным вариантом для длительного культивирования в течение 12 мес исследованных сортов голубики высокой (Bluecrop, Blueray, Dixi, Herbert, Rancocas, Scammel) следует считать среды № 2 и 3, содержащие АБК (8 и 10 мг/л). В данном случае АБК оказала тормозящее действие на скорость роста голубики высокой, тем самым предотвратив старение, что выразилось в высоком показателе жизнеспособности. Для длительного культивирования исследованных сортов брусники обыкновенной оптимальными являются среды № 1–3, содержащие XXX (2 г/л) и АБК (8 и 10 мг/л) (табл. 2). Сравнительный анализ жизнеспособности сортов голубики высокой и брусники обыкновенной показал, что она выше у сортов брусники независимо от ингибитора, присутствующего в питательной среде. Вероятно, это связано с функциональными особенностями, присущими вечнозеленым кустарничкам, к которым принадлежит брусника.

Заключение. Результаты экспериментальных исследований позволяют заключить, что добавление в питательную среду ингибиторов роста (хлорхолинхлорида и абсцизовой кислоты) способствует снижению скорости роста, предотвращению старения и обеспечению жизнеспособности исследованных интродуцированных сортов голубики высокой (Bluecrop, Blueray, Dixi, Herbert, Rancocas, Scammel) и интродуцированных сортов брусники обыкновенной (Koralle, Masovia, Erntedank) на протяжении 12 мес без пересадок их на свежую питательную среду. При этом необходимо учитывать сортовую и видовую специфику исследованных растений, четко проявляющуюся при действии ингибиторов, а также избирательное действие самих ингибиторов.

Литература

1. Высоцкая О. Н. // Физиол. растен. 1994. Т. 41, № 6. С. 935–931.
2. Салматова И. С., Дунаева С. Е., Шарова Е. И. и др. // Раст. ресурсы. 2009. Т. 45, № 4. С. 1–12.
3. San José M. C., Janeiro L. V., Corredoira E. // Spanish Journal of Rural Development. 2010. Vol. 1, N 3. P. 31–38.
4. Lloyd G. and McCown. // Proc. Intern. Plant Prop. Soc. 1981. N 30. P. 421–427.

E. N. KUTAS, A. A. GORETSKAYA

EFFECT OF RETARDANTS ON REDUCE THE RATE OF GROWTH AND THE CONTINUED VIABILITY OF STERILE CULTURES

Summary

The paper presents the results of experimental studies on the effects of different concentrations of chlorcholinchlorid and abscisic acid on the activation of meristems, growth rate and viability of regenerated sterile cultures 6 varieties of *Vaccinium corymbosum* L. and 3 varieties *Vaccinium vitis-idaea* L. Shown that the investigated parameters depend on retardants contained in the culture medium, their concentration and varietal identity of plants.