

УДК 581.14.6:634.738

Е. Н. КУТАС, М. В. ГАРАНИНОВА

**ВЛИЯНИЕ СЕЗОНА ГОДА ДЛЯ ОТБОРА ЭКСПЛАНТОВ РОДОДЕНДРОНОВ
(RHODODENDRON) НА ИХ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ В СТЕРИЛЬНОЙ КУЛЬТУРЕ**

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

(Поступила в редакцию 03.10.2013)

Введение. Время года, в которое был вычленен эксплант, играет огромную роль в процессе клонального микроразмножения растений. Связь между физиологическим состоянием экспланта и временем года, в которое он был вычленен, характерна для многих видов растений. Так, на основании результатов экспериментальных исследований, касающихся клонального микроразмножения эвкалипта, Т. Das и G. Mitra [1] пришли к выводу, что оптимальный период сбора послеубежных побегов для вычленения эксплантов (аксилярных почек) приходится на июль-сентябрь.

Исследовав влияние сезона отбора эксплантов с целью микроразмножения хризантем, R. Prasad и Н. С. Chaturvedi [2, 12] определили, что наиболее благоприятное время для отбора эксплантов – март-апрель. Так, экспланты, взятые в январе-феврале и в мае-декабре, оказались не способными к пролиферации в результате образования каллуса у основания экспланта, который темнел и тормозил формирование побегов, чего не наблюдалось у эксплантов, отобранных в марте-апреле, они быстро регенерировали побеги без образования каллуса.

Благодаря исследованиям, проведенным В. П. Путенихиным [3] по культуре почек листовенницы Сукачева, изолированных в разное время года, определен оптимальный период для отбора эксплантов листовенницы Сукачева (ноябрь-апрель).

Согласно результатам экспериментальных исследований по клональному микроразмножению араукарий, полученных L. Sehgal et al. [4], оптимальное время года для отбора эксплантов приходится на апрель–ноябрь. При изучении клонального микроразмножения граната A. Z. Bondok et al. [5] доказали, что оптимальное время года для вычленения эксплантов приходится на март, так как самый высокий процент выживания культур был отмечен для эксплантов, изолированных в марте.

По данным С. Панделиева и др. [6], наибольшей регенерационной способностью обладают экспланты винограда, отобранные в июне-июле, т. е. в фазе активного роста побегов. К аналогичному выводу пришли О. А. Леонтьев-Орлов и др. [7] в отношении изолированных апексов яблони при культивировании их *in vitro*. Как отмечают авторы, лучший срок введения меристематических верхушек в культуру – фаза активного роста побегов.

Обстоятельное изучение регенерационной способности дуба черешчатого В. Civinova и Z. Sladky [8] дало основание авторам утверждать, что клональное размножение взрослых деревьев дуба можно эффективно осуществлять с помощью боковых побегов, собранных в мае-июне.

Зависимость поведения эксплантов от времени года наблюдали у *Lilium spesiosum* Thunb. [9] и у других листовенных растений [10]. Однако, согласно данным R. N. Prasad et al. [11], верхушки побегов некоторых сортов хризантем не реагировали на этот фактор. Тем не менее по глубокому убеждению Н. С. Chaturvedi [12] в определенных случаях влияние времени отбора эксплантов более важно, чем выбор подходящих эксплантов и питательной среды при клональном микроразмножении.

Особое значение приобретает этот фактор (отбор эксплантов) по отношению к интродуцированным видам рододендронов, так как они принадлежат к семейству Вересковые, для которого характерно повышенное содержание фенольных соединений.

Как известно, при вычленении экспланта происходит механическое повреждение тканей, сопровождаемое резким усилением биосинтеза фенольных соединений. При выходе фенолов из вакуолей, в которых они локализованы, в протоплазму из-за поранения ткани во время вычленения экспланта они неизбежно подвергаются ферментативному окислению, при котором образуются токсические соединения – хиноны, вызывающие некроз и гибель экспланта.

Несмотря на то что некротическая реакция рассматривается как защитная сверхчувствительная функция, осуществляемая при помощи полифенольных соединений, так как продукты окисления фенолов создают на пути распространения инфекции хинонные барьеры, в результате которых возникают защитные некрозы [13]. Такие некрозы крайне нежелательны при введении экспланта в стерильную культуру.

Цель работы – изучение влияния сезона отбора эксплантов рододендронов на их жизнеспособность в условиях стерильной культуры.

Объекты и методы исследования. Донорами эксплантов служили пять вечнозеленых видов рододендронов: короткоплодный (*Rhododendron brachycarpum* D. Don. ex C. Don. Syn. *Azalea brachycarpa* (D. Don.), понтийский (*Rhododendron ponticum* L.), разноцветный (*Rhododendron discolor* Franch. Syn. *Rh. kirkii* Hort. ex. Millais, *Rh. mandarinorum* Diels.), кэтевбинский (*Rhododendron catawbiense* Michx.), Смирнова (*Rhododendron smirnovii* Trautv.) и два листопадных вида: рододендрон японский (*Rhododendron japonicum* (A. Gray) Suring.) и рододендрон желтый (*Rhododendron luteum* Sweet). В качестве эксплантов использовали почки, вычлененные в разное время года, из молодых побегов перечисленных видов.

Почки стерилизовали в 0,1% -ном растворе диацета в течение 8 мин с предварительным погружением их в 70-градусный этанол на 5 с. Промывали материал в трех порциях стерильной дистиллированной воды (по 15 мин в каждой).

Стерильные почки высаживали на модифицированную среду Андерсена [14], содержащую 4 мг/л ИУК и 15 мг/л 2-иП. Культуры были помещены под флуоресцентное освещение с фото-периодом 16 ч, освещенностью 4000 лк, при температуре 25 °С и влажности воздуха 76 %. Экспериментальные данные представлены в таблице.

Влияние сезона отбора эксплантов рододендронов на их жизнеспособность в культуре *in vitro*
(данные из 20 эксплантов на повторность для каждого вида)

Время отбора эксплантов	Вид рододендрона													
	короткоплодный		понтийский		разноцветный		кэтевбинский		Смирнова		желтый		японский	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Январь-февраль	25	75	30	70	10	90	85	15	40	60	80	20	85	15
Март-апрель	45	55	55	45	35	65	95	5	65	35	90	10	95	5
Май-июнь	35	65	40	60	20	80	50	50	50	50	45	55	50	50
Июль-август	30	70	35	65	15	85	40	60	30	70	35	65	40	60
Сентябрь-октябрь	15	85	10	90	5	95	60	40	20	80	5565	45	60	40
Ноябрь-декабрь	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100	35	70

Примечание. 1 – процент жизнеспособных эксплантов, 2 – процент окисленных эксплантов.

Результаты и их обсуждение. Из таблицы видно, что процент жизнеспособных и окисленных эксплантов находится в зависимости от времени года, в которое они были вычленены, а также от видовой принадлежности растения. Самый высокий процент жизнеспособных эксплантов получен при вычленении их в марте-апреле и мае-июне для 5 вечнозеленых видов рододендронов (короткоплодного, понтийского, разноцветного, кэтевбинского, Смирнова), самый низкий – в ноябре-декабре для этих же видов. Для листопадных видов рододендронов (японского и желтого), наоборот, в мае-июне и июле-августе характерен низкий выход жизнеспособных эксплантов (50 и 40 % соответственно) по сравнению с другими месяцами (январь-февраль – 85 %, март-апрель – 95 %, сентябрь-октябрь – 60%, ноябрь-декабрь – 70 %).

Следовательно, оптимальным временем отбора эксплантов для 5 вечнозеленых видов рододендронов (короткоплодного, понтийского, разноцветного, кэтевбинского, Смирнова) следует считать весенне-летний период с марта по август. Вероятно, в это время происходит снижение уровня фенольных ингибиторов роста, накопившихся в почках осенью и зимой и обеспечивающих им состояние относительного покоя, так как эти виды рододендронов принадлежат к вечнозеленым кустарникам. Не исключено, что в весенне-летнее время природные ауксины и цитокинины переходят в активную форму, что способствует сохранению жизнеспособности эксплантов и регенерации в дальнейшем из них побегов.

На наш взгляд, отсутствие регенерации как таковой у эксплантов, отобранных в ноябре-декабре, вероятно, обусловлено накоплением в почках фенольных ингибиторов роста, что в свою очередь может привести к резкому снижению эндогенных ауксинов и цитокининов и переходу их в неактивную форму.

Для эксплантов листопадных видов рододендронов (японского и желтого) оптимальным временем отбора следует считать зимне-весенние месяцы с января по апрель, так как в это время окисление эксплантов минимально (5 и 15 % соответственно). Наблюдая за ростом почек листопадных видов рододендронов, мы заметили, что рост листа предшествует росту пазушной почки и происходит главным образом в мае-июне. К июлю рост листьев и побега в длину заканчивается и начинают наиболее активно расти почки. Наибольшая активность роста почек наблюдается в июле-августе. В период с сентября по ноябрь рост почек резко замедляется. Вероятно, в это время (сентябрь) для рододендрона желтого и рододендрона японского характерно наступление состояния относительного покоя, так как у большинства листопадных древесных и кустарниковых пород начальное состояние эндогенного покоя приходится на август-сентябрь и прекращается в большинстве случаев в конце декабря-начале января [15].

Принято считать, что начало эндогенного покоя связано с резким понижением регенерации в стерильной культуре [15]. Можно предположить, что повышение жизнеспособности эксплантов листопадных видов рододендронов (желтого и японского), отобранных в январе-феврале, связано с выходом растений из состояния эндогенного покоя. Резкое снижение жизнеспособности эксплантов этих же видов, отобранных в летние месяцы, вызвано сильным фенольным окислением почек, так как во время их активного роста (июль-август) они накапливают фенолы, выступающие в качестве стимуляторов роста.

Заключение. Результаты экспериментальных исследований, полученные в процессе изучения влияния сезона отбора эксплантов на их жизнеспособность в условиях стерильной культуры, позволили установить, что для того чтобы предотвратить экспланты вечнозеленых и листопадных видов рододендронов от фенольного окисления и получения в дальнейшем из них регенерантов, необходимо отбирать материал для введения в культуру *in vitro* в период минимального окисления почек.

Литература

1. Das T., Mitra G. // Plant Cell, Tissue and Organ Cult. 1990. Vol. 22, № 2. P. 95–103.
2. Prasad R. // Biol. Plant. 1989. Vol. 30, № 1. P. 20–24.
3. Путенихин В. П. // Биология культивируемых клеток и биотехнология растений. АН СССР. М., 1990. С. 224–227.
4. Sehgal L., Sehgal O. P., Khosla P. K. // Ann. Sci. Forest. 1989. Vol. 46. P. 158–160.
5. Bondok A. Z., El-Agamy S. Z., Gabr M. F. // Egypt. J. Hort. 1986. Vol. 13, № 2. P. 103–108.
6. Панделиев С., Русева Р., Георгиева П. // Растениевед. науки. 1990. Vol. 27, № 7. С. 79–83.
7. Леонтьев-Орлов О. А., Трушечкин В. Г., Высоцкий В. А. // Плодоводство в нечернозем. полосе. М., 1988. С. 21–30.
8. Civinova B., Sladky Z. // Ser. fas. sci. natur. 1987. Vol. 17, № 3. P. 103–110.
9. Robb S. M. // J. exp. Bot. 1957. № 8. P. 348–352.
10. Miller L. R., Murashige T. // In vitro. 1976. № 12. P. 797–813.
11. Prasad R. N., Sharma A. K., Chaturvedi H. C. // Bangladesh J. Bot. 1983. № 12. P. 96–102.
12. Chaturvedi H. C. // Proc. Natl. Symp. On Applied Biotechnology of Medicinal, Aromatic and Timber Yielding Plants. Calcutta, 1984. P. 179–188.
13. Запрометов М. Н. // Фенольные соединения. Распространение, метаболизм и функции в растениях. М., 1993.
14. Anderson W. C. // Proc. Intern. Plant Prop. Soc. 1975. Vol. 25. P. 1929–1935.
15. Sebanek I., Sladky Z. // Acta Univ. agr. B. Brno. 1987. Vol. 2, № 1. P. 159–180.

E. N. KUTAS, M. V. GARANINOVA

**EFFECT OF THE SEASON FOR SELECTION EXPLANTS RHODODENDRON (*RHODODENDRON*)
ON THEIR VIABILITY IN STERILE CULTURE**

Summary

The effect of the season explants selection of evergreen and deciduous species of rhododendrons on their viability in a sterile culture are studied. The best time of year for the selection of explants of two deciduous and five evergreen species of rhododendrons are determined.