

Исследованы особенности индукции каллусогенеза у тканевых сегментов стебля, листа и черешка хмеля. Установлено, что наиболее интенсивное развитие каллуса происходит на средах, которые содержат БАП и ИУК в равных концентрациях. Приведены данные исследований инициации морфогенеза в каллусной ткани хмеля.

Досліджені особливості індукції калюсогенезу у тканинних сегментів стебла, листа та черешка хмелю. Встановлено, що найбільш інтенсивний розвиток калюсу відбувається на середовищах які містять БАП та ІОК у рівних концентраціях. Приведені данні досліджень ініціації морфогенезу у калюсних тканинах хмелю.

Features of an induction callus from tissues segments of a leaves, shoots and petioles hop plant are investigated. It is established, that the most intensify generate callus mediums which contains BAP and IAA in equal concentrations. A data of researches initiation morphogenesis in callus of hop plant tissues are described.

КУЗНЕЦОВА Н.В., МИТРОФАНОВА О.В.

*Никитский ботанический сад – Национальный научный центр, УААН,
АР Крым, г. Ялта. 98648, e-mail: in_vitro@ukr.net*

ВЛИЯНИЕ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА НА РЕГЕНЕРАЦИОННУЮ СПОСОБНОСТЬ ЧЕТЫРЕХ СОРТОВ ЧЕРЕШНИ (*PRUNUS AVIUM* L.) В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

Исследования в области культуры изолированных органов и тканей некоторых представителей рода *Prunus* были начаты в 70-х годах прошлого столетия [1, 6]. Однако многие проблемы клонального микроразмножения растений, относящихся к роду *Prunus*, до сих пор не решены. Трудности возникают, начиная с получения стерильной культуры первичных эксплантов, заканчивая этапами ризогенеза *in vitro* и адаптации растений – регенерантов к условиям *in vivo* [1, 3].

Одной из главных и наиболее сложных задач клонального микроразмножения является подбор питательных сред для основных этапов культивирования в условиях *in vitro*: индукции развития эксплантов, регенерации микропобегов и ризогенеза. Для каждого из них необходимы питательные среды, содержащие определенные концентрации витаминов и регуляторов роста.

Цель данной работы – выявить зависимость регенерационного потенциала органов и тканей черешни от генотипа, трофических и гормональных факторов.

Материалы и методы

В исследованиях были использованы сорта черешни (Рубиновая Ранняя, Сказка, Талисман и Анонс) разных сроков созревания плодов, произрастающие в коллекционных насаждениях степного отделения НБС-ННЦ (п. Гвардейское, АР Крым) и в опытном хозяйстве «Мелитопольское» Института орошаемого садоводства им. Н.Ф. Сидоренко (г. Мелитополь). В исследованиях применяли как общепринятые методы, так и разработанные в отделе биотехнологии и биохимии растений НБС-ННЦ [2-5]. Опыты проводились в 2006–2007 гг. В качестве первичных эксплантов были отобраны вегетативные почки и верхушечная часть активно растущих побегов. Экспланты помещали на поверхность агаризированной питательной среды в условиях ламинарного бокса Fatran Lf. Культивировали на питательных средах Gamborg и Eveleigh (B5) [7], Quoirin и Lepoivre (QL) [8], PS (в нашей модификации). Для изучения морфогенетических потенций органов и тканей в питательную среду добавляли бензиламинопурин (БАП) и гибберелловую кислоту (ГК₃). Пробирки с эксплантами

помещали в культуральную комнату с заданным режимом интенсивности освещения (1,5-2 клк), 16-ти часовым фотопериодом и температурой $23\pm 1^{\circ}\text{C}$.

Результаты и обсуждение

Для индукции морфогенеза использовали питательные среды В5, QL, PS. Начало развития эксплантов отмечали на 4-5 сутки после введения в условия *in vitro*. Установлено, что развитие верхушечной части активно растущих побегов проходило без существенных морфологических изменений эксплантов таких сортов, как Сказка, Талисман и Анонс. Однако, в дальнейшем, их развитие у сорта Анонс прекращалось. Через 14-16 суток культивирования они теряли тургор, листья бледнели и опадали. В отдельных опытах у сорта Рубиновая Ранняя экспланты темнели. У 33,3% неповрежденных эксплантов данного сорта наблюдали отмирание точки роста. При культивировании верхушек сортов Сказка и Талисман в течение 30-45 суток на среде В5 формировались утолщенные, сидячие розетки с ярко-зелеными листьями длиной 1,5-1,8 см (рис. 1).



Рис. 1. Развитие верхушечной части активно растущих микропобегов черешни сорта Талисман

Выявлена зависимость морфологических реакций тканей и органов черешни в условиях *in vitro* от генотипа исходного растения. В одних и тех же условиях культивирования экспланты проявляли различную способность к регенерации микропобегов. Апикальное доминирование снимали введением в питательную среду БАП в концентрации 2,22-8,90 мкМ. Так, на среде В5, дополненной БАП в концентрации 2,22 мкМ для эксплантов исследуемых сортов черешни, введенных в условия *in vitro*, характерно вытягивание и утолщение стебля. Длина микропобега составляла 0,6-1,4 см и многочисленные полураскрытые листья были собраны в розетку. На среде QL, содержащей БАП в концентрации 4,40 мкМ, процент слабо развившихся микропобегов увеличивался до 25-40%. На средах с БАП 6,60-8,90 мкМ у эксплантов отмечали появление хлоротичных листьев и оводнение верхушек микропобегов. При этом происходило удлинение листовой пластинки (2,5-3,5 см) и сильное закручивание (рис. 2).

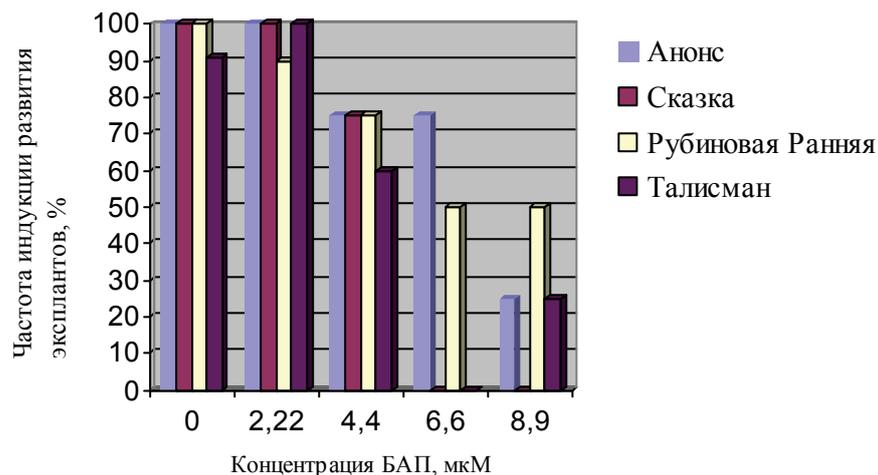


Рис. 2. Влияние БАП на индукцию развития эксплантов (меристем) черешни сортов Анонс, Сказка, Рубиновая Ранняя, Талисман

Для удлинения микропобегов и индукции развития пазушных почек в питательную среду PS добавляли 2,22-4,40 мкМ БАП и ГК₃ в концентрации 0,73-2,89 мкМ. Установлено, что ГК₃ оказывало существенное влияние на развитие первичных эксплантов. Так, у микропобегов сорта Сказка, на питательной среде PS, содержащей БАП и 1,44-2,16 мкМ ГК₃, активно развивались новые зеленые листья, длина листовых пластинок составила 0,8-1,0 см. При этом показано, что у 40% эксплантов исследуемого сорта происходило формирование дополнительных почек (рис. 3).

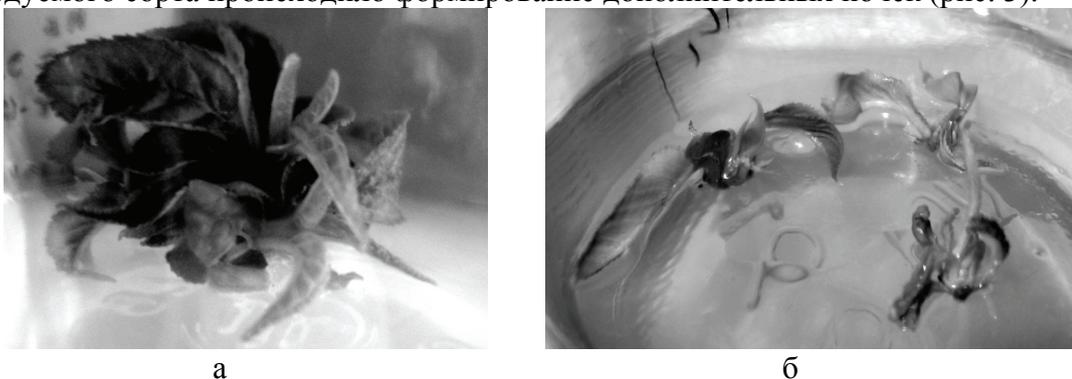


Рис. 3. Образование дополнительных почек сорта Сказка на среде PS с ГК₃:
 а – конгломерат неразделенных микропобегов
 б – отдельные адвентивные микропобеги

Наряду с этим у 8% эксплантов сорта Рубиновая Ранняя адвентивные микропобеги регенерировали на среде, дополненной 0,73-1,44 мкМ ГК₃. Увеличение концентрации ГК₃ (2,16-2,89 мкМ) способствовала оводнению тканей у эксплантов сортов Анонс и Талисман. На данном этапе дополнительные почки у этих сортов не формировались (рис. 4).

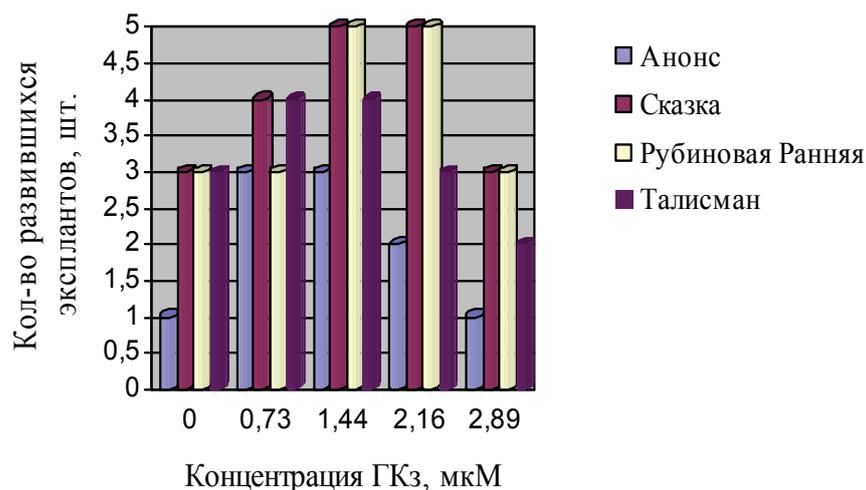


Рис. 4. Влияние ГК₃ на развитие эксплантов черешни в условиях *in vitro*

Таким образом, сравнение морфогенетического потенциала вегетативных почек и апикальной части активно растущих побегов и меристематических тканей четырех сортов черешни в условиях *in vitro* показало зависимость развития экспланта от генотипа исходного растения, регуляторов роста и их концентраций в питательной среде. Установлено влияние БАП и ГК₃ на процессы регенерации микропобегов черешни в условиях *in vitro*. Добавление БАП в питательную среду для индукции морфогенеза в концентрации 2,22 мкМ вызывало формирование микропобегов. Концентрация ГК₃ 1,44-2,16 мкМ стимулировала регенерацию микропобегов и удлинение листовой пластинки у сортов Сказка и Рубиновая Ранняя. Выявлено, что для развития меристематических тканей сортов черешни Анонс и Талисман достаточна более низкая концентрация ГК₃ (0,73-1,44 мкМ).

Литература

1. Бленда А.В. Мікроклональне розмноження *in vitro* представників підродини *Prunoideae* // Физиология и биохимия культурных растений. – 2000. – Т 32, №5. – С. 428-434.
2. Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений. – М.: Наука. – 1964. – 272 с.
3. Калинин Ф.Л., Кушнир Г.П., Сарнацкая В.В. Технология микроклонального размножения растений. – Киев: Наукова думка. – 1992. – 232 с.
4. Митрофанова О.В., Митрофанова И.В., Смыков А.В., Лесникова Н.П. Методы биотехнологии в селекции и размножении субтропических и косточковых плодовых культур // Труды Никит. ботан. сада. – 1999. – Т.118. – С.189-199.
5. Митрофанова О.В., Славгородская-Куприева Л.Е., Митрофанова И.В., Лукичева Л.А. Диагностика вирусных болезней и биотехнологические приемы получения безвирусного посадочного материала косточковых плодовых культур. – Ялта: Крымпресс, 2000. – 45 с.
6. Voxus Ph., Quorin M. La culture de meristems apicaux de Quelques especes de *Prunus* // Bull. Soc. Rog. Bot. Belgique. – 1974. – V. 107, №1. – P. 91-101.
7. Gamborg O.L., Eveleigh D.E. Culture methods and detection of glucanases in cultures of wheat and barley // Can. J. Biochem. – 1968. – V. 46, №5. – P. 417-421.
8. Quoirin M., Lepoivre Ph. Etude de milieux adaptés aux cultures *in vitro* de *Prunus* // Acta Hort. – 1977. – Vol. 78. – P. 437-442.

Резюме

Представлены результаты регенерации эксплантов 4-х сортов черешни (Рубиновая Ранняя, Сказка, Талисман, Анонс) в условиях *in vitro*. Установлена

зависимость индукции развития микропобегов от различных концентраций БАП и ГК₃ в питательной среде.

Викладено результати регенерації експлантів чотирьох сортів черешні (Рубінова Ранняя, Казка, Талісман, Анонс) в умовах *in vitro*. Встановлено залежність індукції розвитку мікропагонів від різних концентрацій БАП та ГК₃ у живильному середовищі.

Results of explants regeneration of four sweet cherry cultivars (Rubinovaya Rannaya, Skazka, Talisman, Anons) in conditions *in vitro* have been submitted. Dependence of an induction of microshoots development from various BAP and GA concentrations in culture medium has been revealed.

ЛОБАНОВА Е.И.¹, ИГНАТОВА С.А.¹, ШЕСТОПАЛ О.Л.¹, НАРГАН Т.П.²

¹Южный биотехнологический центр в растениеводстве УААН,
Украина, 65036, г. Одесса, Овидиопольская дор., 3, e-mail: lobanovakatyia@mail.ru

²Селекционно-генетический институт – Национальный центр семеноведения и сортоизучения УААН, Украина, 65036, г. Одесса, Овидиопольская дор., 3.

РЕГЕНЕРАЦИЯ В КУЛЬТУРЕ ПЫЛЬНИКОВ ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ У ГЕНОТИПОВ С РАЗНОЙ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬЮ ПЕРИОДА «ВСХОДЫ-КОЛОШЕНИЕ»

Одним из методов получения удвоенных гаплоидов пшеницы и других злаков в современной биотехнологии является культура пыльников. Полученный на этой основе линейный материал использовался для ускорения различных этапов в селекции мягкой пшеницы [1-4]. Важным показателем его эффективности является уровень регенерации растений, чем фактически определяется результативность метода при использовании его для целей селекции. Поэтому в плане совершенствования данной биотехнологии поиск путей повышения регенерации растений в культуре пыльников на селекционном материале озимой мягкой пшеницы является актуальным.

В настоящее время в селекции озимой мягкой пшеницы на юге Украины большое внимание уделяется созданию высокопродуктивных скороспелых сортов с непродолжительным периодом «всходы колошение». По мнению исследователей, создание такого материала может быть определяющим фактором в поддержании генотипом оптимального физиологического состояния для эффективной реализации адаптивного потенциала [5-8]. В работах ряда авторов [9-10] было показано, что именно физиологическое состояние донорного материала являются факторами, определяющими результативность метода. Связь между продолжительностью вегетационного периода и показателями андрогенеза *in vitro* была показана на рисе [11], тритикале [12], ячмене [13]. Это обуславливает необходимость проведения исследований, направленных на изучение связи между продолжительностью отдельных фаз онтогенеза и показателями андрогенеза *in vitro* на озимой мягкой пшенице. Целью нашей работы было изучение уровня связи между физиологическим признаком «продолжительность периода всходы – колошение» и показателями андрогенеза *in vitro* и, в частности регенерации растений, у различных гибридов и сортов озимой мягкой пшеницы.

Материалы и методы

В качестве донорного материала для культуры пыльников использовали генотипы озимой мягкой пшеницы, характеризующиеся разной продолжительностью периода «всходы – колошение», сутки: линия Лютеценс 155 (182), сорта – Фантазия одесская (186), Одесская красноколосая (187), Чайка (192), Мерсиа (193), гибриды F₂ –