

УДК 546.17:577.8

ВЛИЯНИЕ СЕЗОНА ОТБОРА ЭКСПЛАНТОВ АДОНИСА ВЕСЕННЕГО (*ADONIS VERNALIS* L.) НА ИХ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Кутас Е.Н., Малахова И.Н., Горецкая А.А., Тычина И.Н.
Центральный ботанический сад НАН Беларуси,
Республика Беларусь, г. Минск, ул.Сурганова, 2в, cbg@it.org.by

The influence of the explants selection season of the *Adonis vernalis* L. on their viable in the culture in vitro

Kutas E.N., Malachova I.N., Goretskay A.A., Tychina I.N.
Central Botanical Garden of the NAS of Belarus,
Minsk, Republic of Belarus, Surganova, 2v, cbg@it.org.by

The paper present the results of the authors experimental studies concerning the influence of the explants selection season of the *Adonis vernalis* on their viable in vitro.

Введение. Одним из факторов, играющим огромную роль в процессе клонального микроразмножения, является время года, в которое был вычленен эксплант. Связь между физиологическим состоянием экспланта и временем года характерна для многих видов растений. Согласно результатам экспериментальных исследований по клональному микроразмножению араукарии, полученных Sehgal et al. [1], оптимальное время года для отбора эксплантов приходится на апрель и ноябрь. При изучении клонального микроразмножения граната Bond et al. [2] 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 Панделиева и др. [3] наибольшей регенерационной способностью обладают экспланты винограда, отобранные в июне-июле, т.е. в фазе активного роста побегов. К аналогичному выводу пришли Леонтьев-Орлов и др. [4] в отношении изолированных апексов яблони при культивировании их *in vitro*. Зависимость поведения эксплантов от времени года наблюдали у *Lilium spesiosum* [5], *Vaccinium corymbosum* L. и *Vaccinium vitis idaea* L. [6] и других видов [7].

Особую остроту приобретает этот вопрос при введении экспланта адониса весеннего в стерильную культуру. Как известно при вычленении экспланта происходит механическое повреждение тканей, сопровождаемое резким усилением интенсивности биосинтеза фенольных соединений. При выходе фенолов из вакуолей (в которых они локализованы) в протоплазму в результате поранения ткани, во время вычленения экспланта, они неизбежно подвергаются ферментативному окислению, в результате которого образуются токсические соединения - хиноны, вызывающие некроз и гибель экспланта [8]. Вообще 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 возникают защитные некрозы [8-9]. Однако, такие некрозы крайне нежелательны при введении экспланта в стерильную культуру. В этой связи возникла необходимость в проведении исследований, на основании результатов которых будет определено наиболее благоприятное время года для отбора эксплантов адониса весеннего в течение которого некроз их будет минимальным.

Методика и объекты исследования. Объект исследования - интродуцированный вид адонис весенний.

Для определения наиболее благоприятного времени года для отбора эксплантов были использованы почки возобновления интродуцента адониса весеннего, вычлененные в разное время года: весна (март), лето (июль), осень (ноябрь). Стерилизацию материала проводили 0,08% раствором азотнокислого серебра в течение 5 мин с предварительным погружением его в 70% этанол на 5 с (на основании результатов экспериментальных исследований, полученных нами в 2006 году, по стерилизации адониса весеннего). Почки высаживали на питательную среду и помещали под флюоресцентное освещение с фотопериодом 16 ч, освещенностью 4000 лк при температуре 240 С и влажности воздуха 70%. Повторность опытов трехкратная. Учитывали количество окисленных эксплантов и жизнеспособных, регенерировавших побеги, спустя 45 дней с момента высадки эксплантов на питательную среду. Статистическая обработка данных проведена исходя из 10 эксплантов на повторность.

Результаты и их обсуждение. Анализ экспериментального материала, представленного в таблице, показал, что почки интродуцента адониса весеннего, вычлененные в марте в весеннее время года, были способны к пролиферации, то есть к образованию побегов. В процентном выражении они составили 90%. У них наблюдалась интенсивная регенерация побегов. Остальные 10% почек оказались окисленными (бурыми) неспособными к пролиферации.

Почки, вычлененные в летнее время года в июле, оказались окисленными (бурыми) неспособными к пролиферации. В процентном выражении они составили 100%. Регенерация побегов у них отсутствовала.

У почек, вычлененных осенью в ноябре, способность к пролиферации, то есть к образованию побегов была ниже по отношению к почкам, вычлененным в марте. Этот показатель составил 70%. Регенерация побегов была медленной. Остальные 30% почек оказались окисленными (бурыми) неспособными к пролиферации.

Сравнительный анализ материала, полученного в весенне, летнее и осеннее время года, позволил прийти к выводу, что почки, вычлененные в марте, то есть, в весеннее время года обладают наибольшей пролиферационной способностью. Так как от общего числа почек, высаженных в это время года, 90 % из них регенерировали побеги. Отсутствие регенерационной способности характерно для почек, вычлененных в летнее время года. Почки, вычлененные в осеннее время года, заняли промежуточное положение по данному показателю.

Таким образом, наблюдается отличие в способности к пролиферации у почек адониса весеннего, вычлененных в разное время года.

Как показали результаты экспериментальных исследований, способность к пролиферации выше у почек, вычлененных весной, в сравнении с почками, вычлененными летом и осенью. Отсутствие способности эксплантов к пролиферации, отобранных в летнее время (июль), вызвано сильным фенольным окислением почек, так как в это время происходит накопление фенолов в листьях и почках, выступающих в качестве стимуляторов роста.

Этот факт следует учитывать в дальнейшем при разработке технологии клонального микроразмножения адониса весеннего.

Наблюдая за ростом и развитием адониса весеннего, нами замечено, что из почек возобновления формируются побеги, несущие листья и цветковые почки. Рост цветковых почек предшествует росту листьев и происходит в марте-апреле. Согласно исследованиям Пошкурлат [10] рост корней происходит весной, раньше роста надземных побегов, и после летнего перерыва - в августе. В июле развиваются все зачатки однолетнего побега. В ноябре их рост прекращается до конца января-февраля.

Наибольшая активность роста почек возобновления наблюдается в июле-августе. В период с сентября по ноябрь рост почек резко замедляется. Вероятно в это время (ноябрь) для адониса весеннего характерно наступление начала состояния относительного покоя, так как у большинства многолетних травянистых растений начальное состояние эндогенного покоя приходится на ноябрь и прекращается в большинстве случаев в конце января-начале февраля [11].

Можно предположить, что повышение жизнеспособности эксплантов интродуцента адониса весеннего, отобранных в ноябре, связано с меньшим синтезом и окислением фенолов в почках возобновления.

Резкое снижение жизнеспособности эксплантов, отобранных в летние месяцы, вызвано сильным фенольным окислением почек, так как во время их активного роста (июль) они накапливают фенолы, выступающие в качестве стимуляторов роста.

Таким образом, отбор материала для введения в культуру *in vitro* в период минимального содержания фенолов в почке (ноябрь, март) позволил получить высокий процент жизнеспособных эксплантов (70, 90%), которые регенерировали побеги.

Вывод. С целью предотвращения эксплантов интродуцента адониса весеннего от фенольного окисления и их гибели в дальнейшем, необходимо отбирать материал для введения в культуру *in vitro* в ноябре, марте в период минимального содержания фенолов в почках возобновления.

Список литературы

1. Sehgal L., Sehgal O.P., Khosla P.K. Micropropagation of *Araucaria columnaris* Hook //Ann. Sci. Forest. 1989. Vol. 46. P. 158 - 160.
2. Bondok A.Z., El-Agamy S. Z., Gabr M.F et al. In vitro micropropagation of Wardi Red promegranate (*Punica granatum* L.) //Egypt.J.Hort. 1986. Vol. 13, N 2. P. 103-108.
3. Панделиев Слдавчо, Русева Руска М., Георгиева Пенка. Степен на развитие на лозовите растения в *in vitro* условия в зависимости от биологията на исходния експлант //Растениевъд. науки. 1990. Vol. 27, N 7. С. 79-83.
4. Леонтьев-Орлов О.А., Трушечкин В.Г., Высоцкий В.Я. Особенности культивирования изолированных апексов яблони *in vitro* //Плодовод. в нечернозем. полосе. М.: Наука, 1988. С. 21-30.
5. Robb S.M. The culture of excised tissue from bulb scales of *Lilium spesiosum* Thun //J.exp. Bot. 1957. N 8. P. 348-352.

6. Сидорович Е.А., Кутас Е.Н. Влияние сезона отбора эксплантов на регенерацию *Vaccinium corymbosum* L. и *Vaccinium vitis-idaea* L. в культуре *in vitro* // Второй съезд белорусского общества физиологов растений. Минск, 1995. С.35-36. (Тез. докл. научн. конф.).
7. Carlo Mascarello, Grazia Cucchiara, Barbara Ruffoni. Effect of season and rooting agents on the rhizogenesis of *Olearia scilloniensis* cutting // Propagation of Ornamental Plants. 2003. Vol.3, N 1. P. 47-49.
8. Запрометов М.Н. Фенольные соединения. Распространение, метаболизм и функции в растениях. М.: Наука, 1993. 272 с.
9. Барабой В.А. Биологическое действие растительных фенольных соединений. Киев, 1976. 260 с.
10. Пошкурлат А.П. Род Горлицев - *Adonis* L. Систематика, распространение, биология. М.: Наука, 2000. 199 с.
11. Sebanek Jiri, Sladky Zdenek. Regenerace jako obnova integrity rostlin *in vivo* a *in vitro* // Acta Univ. agr. B. Brno. 1987. Vol. 2, N 1. P. 159-180.