

УДК 546.17:577.8

ВЛИЯНИЕ СТЕРИЛИЗУЮЩИХ СОЕДИНЕНИЙ НА ВЫХОД ЖИЗНЕСПОСОБНЫХ ЭКСПЛАНТОВ АДОНИСА ВЕСЕННЕГО (ADONIS VERNALIS L.)

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

The influence of sterilizing compounds on the yield of viable explants of the *Adonis vernalis* L.

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

In this work we present the research of the experimental investigations concerning the influence of sterilizing compounds on the yield of viable explants of the *Adonis vernalis* in vitro culture.

Введение. Процесс микроразмножения начинается с изолирования экспланта, его стерилизации и посадки на питательную среду. основополагающая роль в этом процессе принадлежит подбору стерилизующих соединений, эффективности их концентраций и продолжительности времени обработки с целью освобождения материала от инфекции и получения высокого выхода жизнеспособных эксплантов.

Анализ литературных данных, касающихся стерилизации растительного материала при введении его в культуру *in vitro*, показал, что для стерилизации используют различные стерилизующие соединения с разной концентрацией и временем экспозиции [1,7].

Стерилизующие соединения по степени их дезинфицирующего действия условно можно разделить на несколько групп:

1. соединения, обладающие сильным дезинфицирующим действием;
2. соединения, обладающие средним дезинфицирующим действием;
3. соединения, обладающие слабым дезинфицирующим действием.

Наименее выраженным токсическим действием обладают хлорамин и перекись водорода с присущими им окислительными свойствами. Соединения, содержащие ртуть, серебро, используют в случае неэффективного действия растворов, содержащих хлор.

Следует сказать, что для каждого вида растения оптимальный режим стерилизации, способствующий высокому выходу жизнеспособных эксплантов, устанавливается экспериментальным путем. Так для сахарной свеклы, по данным Ахмедовой [2], из испытанных концентраций различных стерилизующих соединений (нитрат серебра, хлорамин, перекись водорода) 0,1% раствор нитрата серебра обеспечил высокий выход жизнеспособных эксплантов (80-100%). Аналогичные исследования были проведены для черной смородины [3], аконита [4], гибридов тополя [5], георгин [6], ячменя [7] и других растений. К сожалению в доступной нам литературе не обнаружено сведений об исследованиях, касающихся влияния стерилизующих соединений на выход жизнеспособных

эксплантов у интродуцента адониса весеннего. В этой связи нами были проведены экспериментальные исследования, затрагивающие этот вопрос.

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

В качестве эксплантов использовали свежесобранные семена, почки возобновления и придаточные почки адониса весеннего.

Обработка эксплантов проведена 0,1% раствором диацета, 0,1% раствором сулемы, 0,08% раствором азотнокислого серебра, 0,04% раствором азотнокислой ртути, 6% раствором гипохлорида Са в сочетании с обработкой 70 %-ным этанолом. Для каждого стерилизующего соединения испытана экспозиция 5, 10 и 15 минут. После стерилизации материал промывали в трех сменах стерильной бидистиллированной воды по 15 мин в каждой, затем высаживали на агаризованную среду. Пробирки с высаженными эксплантами помещали на стеллажи, где температура воздуха составляла 24С, освещенность - 4000 лк, относительная влажность воздуха - 70%. Повторность опыта трехкратная. Учет окисленных, инфицированных и жизнеспособных эксплантов проводился ежедневно в течение 2 недель. Статистическая обработка данных проведена исходя из 20 эксплантов на повторность для семян и 10 - для почек.

Экспериментальные данные сведены в таблицу.

Результаты и их обсуждение. Цифры в таблице свидетельствуют о наибольшем выходе жизнеспособных семян (90%) у адониса весеннего при стерилизации их 0,08% раствором азотнокислого серебра и 0,04% раствором азотнокислой ртути. Для почек возобновления наибольший выход жизнеспособного материала (90%) наблюдался при стерилизации 0,08% раствором азотнокислого серебра, а для придаточных почек максимальный выход жизнеспособного материала составил 90% при стерилизации 6% раствором гипохлорида кальция.

Следовательно, из всех испытанных нами стерилизующих соединений, высокий выход стерильных эксплантов получен при использовании трех видов стерилизующих соединений: азотнокислого серебра и азотнокислой ртути в концентрации 0,08 и 0,04% соответственно, а также гипохлорида кальция в концентрации 6%. Стало быть, эти концентрации можно использовать для стерилизации эксплантов адониса весеннего (семян, почек возобновления, придаточных почек) при введении их в стерильную культуру.

Вывод. С целью предотвращения эксплантов интродуцента адониса весеннего от инфицирования при введении их в культуру *in vitro* следует проводить стерилизацию семян в 0,08% растворе азотнокислого серебра и 0,04% растворе азотнокислой ртути; почек возобновления и придаточных почек в 0,08% растворе азотнокислого серебра и 6% растворе гипохлорида кальция соответственно в течение 5 минут.

В заключение считаем приятным долгом выразить благодарность заведующей лабораторией Кухаревой Л.В., м.н.с. Тычине И.Н. за предоставленную возможность использовать интродуцированный ими адонис весенний для введения в стерильную культуру.

Таблица - Жизнеспособность эксплантов интродуцированного вида адониса весеннего (*Adonis vernalis* L.)

Примечания

- 1 И - инфицированные, О - окисленные Ж - жизнеспособные экспланты.
- 2 в числителе количество эксплантов, шт., в знаменателе - %.
- 3.* - при экспозиции 10 и 15 мин все экспланты окислились.

Список литературы

1. Труханов В.А., Шаламай А.С., Билека А.М. Роль глиацила в повышении жизнеспособности вводимых в культуру растительных тканей // Пробл. теор. и прикл. генет. в Казахстане. Алма-Ата: 1990. С. 113 (Тез. докл. научн. конф.).
2. Ахмедова Ж.В. Введение тканей сахарной свеклы в культуру *in vitro* в целях микроклонального размножения // Пробл. теор. и прикл. генет. в Казахстане. Алма-Ата: 1990. С.117-118 (Тез. докл. научн. конф.).
3. Атрощенко Г.П., Гусева Г.Г., Черепанова М.А. Клональное микроразмножение черной смородины // Конф. мол. ученых и студ. ЛСХИ. Л.:1990. С. 43-44 (Тез. докл. научн. конф.).
4. Лукичева И.А., Мигринова И.Г. Каллусная ткань, полученная из зрелых зародышей *Aconitum septentrionale* Koelle - перспективный источник алкалоида лаппаконитин // Вестник Башкирского университета. 2001. № 2 (II). С. 94-95.
- 5 Мельничук М.Д., Пінчук А.П., Маурер В.М. Процеси калусоутворення і органогенезу в культурі *in vitro* гібриду тополі // Біологія. Біотехнологія. 2004. Т. 5, № 1. С. 25-30.
6. Шумихин С.А. Оптимизация отдельных этапов микроклонального размножения георгины культурной: стерилизация эксплантов// Вестник Перм. ун-та. Биология. Пермь: Изд-во Перм. ун-та, 2004. Вып. 2 С. 61-63.
7. Рокитянская Л.С. Поиск эффективных методов стерилизации зрелых зародышей ячменя // Биология - наука XXI века. Пушино: 2005. С. 190. (Тез. докл. научн. конф.).