

УДК 546.17:577.8

ВЛИЯНИЕ СТЕРИЛИЗУЮЩИХ СОЕДИНЕНИЙ НА ВЫХОД ЖИЗНЕСПОСОБНЫХ ЭКСПЛАНТОВ СЕЛЕКЦИОННЫХ ГИБРИДОВ (СЕМ. VACCINIACEAE S.F.GRAY)

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 selection hybrids (Vacciniaceae S.F.Gray)

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 selection hybrids in vitro culture.

Введение. Процесс клонального микроразмножения начинается с изолирования экспланта, его стерилизации и посадки на питательную среду. Немаловажная 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 стерильную культуру, показал, что для стерилизации используют различные стерилизующие соединения с разной концентрацией и временем экспозиции [1 - 6].

В доступной нам литературе не обнаружено информации об исследованиях, касающихся влияния стерилизующих соединений на выход жизнеспособных эксплантов у селекционных гибридов, представителей семейства Vacciniaceae S.F.Gray. В этой связи нами были проведены специальные экспериментальные исследования, направленные на отработку режима стерилизации селекционных гибридов.

Методика и объекты исследования. Объектами исследования служили семена гибридов четырех комбинаций: 1) *Vaccinium vitis-idaea* x *Oxycoccus palustris*, 2) *V. vitis-idaea* x *O. macrocarpus* (var. *Stivens*), 3) *V. vitis-idaea* x *V. palustris*, 4) *V. vitis-idaea* x *V. uliginosum*.

Следует сказать, что гибриды перечисленных комбинаций дали небольшое количество ягод и полноценных семян. Например, в комбинации *Vaccinium vitis-idaea* x *Oxycoccus palustris* из 13 ягод у 9 ягод было по одному семени, у 4 ягод по 3, 3, 8 и 7 семян соответственно. В этой связи, чтобы снять риск потери гибридных семян при стерилизации, предварительно были проведены экспериментальные исследования на обычных (негибридных) семенах брусники обыкновенной по подбору стерилизующих соединений, времени их экспозиций с целью освобождения материала от инфекции.

Для определения оптимального стерилизующего соединения, способствующего высокому выходу жизнеспособных семян брусники обыкновенной испытывали 0,1% раствор диацида,

0,1% раствор сулемы, 0,8% раствор азотнокислого серебра, 0,04% раствор азотнокислой ртути, 6% раствор гипохлорида кальция в качестве стерилизующих соединений. Обработку семян проводили перечисленными стерилизующими соединениями в сочетании с обработкой 70 %-ным этанолом. Для каждого стерилизующего соединения была использована экспозиция 5 и 10 и 15 минут. После стерилизации материал промывали в трех сменах стерильной бидистиллированной воды по 15 мин в каждой, затем высаживали на агаризованную среду Андерсона. Пробирки с высаженными эксплантами помещали на стеллажи, где температура воздуха составляла 240С, освещенность - 4000 лк, относительная влажность воздуха - 70%.

Повторность опытов трехкратная. Учет окисленных, инфицированных и жизнеспособных семян проводили ежедневно в течение 2 недель. Статистическая обработка данных проведена исходя из 40 семян на повторность.

Экспериментальные данные сведены в таблицу 1.

Результаты и их обсуждение. Цифры в таблице 1 свидетельствуют о высоком выходе жизнеспособных семян (100 и 95%) у брусники обыкновенной при стерилизации их 6% раствором гипохлорида Са и 0,8% раствором азотнокислого серебра соответственно в течение 15 минут. При стерилизации 0,04% раствором азотнокислой ртути, 0,1% раствором диацета и сулемы в течение 15 мин жизнеспособность семян снизилась и составила 75, 65 и 70% соответственно. Наибольший процент инфицированных семян брусники обыкновенной отмечен при стерилизации их 0,1% раствором диацета и сулемы в течение 10 мин.

Дальнейшие исследования были направлены на подбор стерилизующих соединений, их концентраций, времени экспозиций для семян гибридов четырех комбинаций: 1) *Vaccinium vitis-idaea* x *Oxycoccus palustris*, 2) *V. vitis-idaea* x *O. macrocarpus* (var. *Stivens*), 3) *V. vitis-idaea* x *V. palustris*, 4) *V. vitis-idaea* x *V. uliginosum*, представителей семейства *Vacciniaceae* S.F.Gray. Для стерилизации гибридов были использованы растворы гипохлорида кальция и азотнокислого серебра, дающие высокий выход жизнеспособных семян брусники обыкновенной (схема опыта таже, что и для семян брусники обыкновенной). Статистическую обработку данных проводили исходя из 20 семян для каждого гибрида.

Как показали результаты экспериментальных исследований, представленные в таблице 2, выход жизнеспособных семян (100 и 95%) у гибридов перечисленных комбинаций наблюдался при стерилизации их 6% раствором гипохлорида Са и 0,8% раствором азотнокислого серебра соответственно в течение 15 минут.

Выводы. 1. В качестве стерилизующих соединений для семян исследованных комбинаций гибридов следует использовать 6 % раствор гипохлорида Са или 0,8% раствор азотнокислого серебра при экспозиции 15 минут.

2. Отработан режим стерилизации семян селекционных гибридов, позволяющий ввести их в стерильную культуру и продолжить исследования, направленные на определение экспланта, обладающего высокой регенерационной способностью.

ЛИТЕРАТУРА

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 Кожухметов М.К., Алимгазинова Б.Ш. Проллиферация каллуса из эксплантов сахарной свеклы для микроклонирования *in vitro* //Пробл. теор. и прикл. генет. в Казахстане. Алма-Ата: 1990. С. 116-117. (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 Рокитянская Л.С. Поиск эффективных методов стерилизации зрелых зародышей ячменя // Биология - наука XXI века. Пушино: 2005. С. 190. (Тез. докл. научн. конф.).