

Национальная академия наук Беларуси  
Центральный ботанический сад

# Голубиководство в Беларуси: итоги и перспективы

Материалы Республиканской  
научно-практической конференции

Минск  
2012

УДК 634.734/.737:634.1-15(476)(082)  
ББК 42.358(4Бей)я43  
Г62

Редакционная коллегия  
д-р биол. наук В.В. Титок (ответственный редактор);  
канд. биол. наук Б.Ю. Аношенко; канд. биол. наук А.А. Веевник;  
канд. биол. наук Л.В. Гончарова; канд. биол. наук Н.Б. Павловский.

Иллюстрации предоставлены авторами публикаций

© Центральный ботанический сад  
Национальной академии наук  
Беларуси, 2012

Г62 **«Голубиководство в Беларуси: итоги и перспективы»**; Материалы  
Республиканской научно-практической конференции (17 августа 2012 г.,  
Минск, Беларусь) /Центральный ботанический сад НАН Беларуси, ред-  
коллегия: Титок В.В. / и др. /, Минск, 2012. — 78 с.)

В сборнике представлены материалы Республиканской научно-практической  
конференции «Голубиководство в Беларуси: итоги и перспективы». Обсуждаются  
результаты внедрения новых сортов голубики, применения методов биотехноло-  
гии, защиты растений для решения актуальных вопросов технологии возделыва-  
ния разнообразных форм и сортов голубики.

**УДК 634.734/.737:634.1-15(476)(082)**  
**ББК 42.358(4Бей)я43**

**Адаптация регенерантов интродуцированных сортов голубики высокой и брусники обыкновенной, регенерированных в культуре *in vitro*, к условиям *ex vitro***

Кутас Е.Н.

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Беларусь,  
e-mail: E.Kutas@cbg.org.by

В основе клонального микроразмножения растений лежат два принципиально разных этапа: *in vitro* и *ex vitro*.

На первом из них жизнедеятельность размножаемого материала происходит в стерильном замкнутом пространстве, на питательной среде в строго контролируемых условиях. После переноса регенерантов из условий *in vitro* начинается второй этап жизнедеятельности регенерантов в системе *ex vitro*, то есть в условиях оранжереи и открытого грунта, совершенно отличных от условий *in vitro*. В условиях *ex vitro* растения вынуждены перейти с гетеротрофного типа питания на автотрофный, что сопря-

жено со структурной и функциональной перестройкой организма в новых условиях. Переход растений от условий *in vitro* к условиям *ex vitro* в большинстве случаев является критическим и связан с гибелью растений. С нашей точки зрения, понять причину гибели растений при адаптации и предотвратить ее поможет сравнительный анализ структурно-функциональных особенностей регенерантов в условиях *in vitro* и *ex vitro*.

Исследования, проведенные учеными Brainerd et al. (1) по изучению анатомии листа и водного стресса у растений сливы в условиях *in vitro* и *ex vitro*, показали, что потеря воды происходит в три раза быстрее у растений, полученных в культуре *in vitro* по сравнению с растениями из теплицы. В регенерантах, выращенных в асептических условиях, толщина палисадных клеток была значительно меньше по сравнению с регенерантами из оранжереи и открытого грунта, а работа устьиц несовершенна в силу нарушения механизма в их открывании и закрывании [2–4].

Устьица в условиях *in vitro* обычно находятся в открытом состоянии, чего нельзя сказать об устьицах в условиях *ex vitro*. Такое поведение устьиц в условиях *in vitro*, с нашей точки зрения, вполне оправданно, так как в культуральных сосудах постоянно поддерживается высокий уровень относительной влажности (более 90%), температура и освещенность не подвержены перепадам, поскольку находятся в контролируемых условиях. Однако стоит изменить условия в культуральных сосудах, как последует реакция устьиц на изменения данных условий.

Реальным подтверждением тому являются результаты экспериментальных исследований, полученные Schoch et al. [5] в процессе изучения фотосинтеза и дыхания банана в системе *in vitro*. Авторы приходят к выводу, что при выращивании побегов банана в условиях *in vitro* устьица на листьях функционируют нормально, то есть они реагируют на свет и закрываются при создании водного стресса. Стало быть, устьица реагируют адекватно тем условиям, в которых находится растение. С этой точки зрения становится понятной неудача, постигшая некоторых исследователей, стремившихся искусственно вмешаться в четкую работу устьиц, соответствующую тем условиям, в которых они находятся. Например, использование антитранспирантов при переносе растений из условий *in vitro* в условия *ex vitro* способствовало снижению фотосинтеза, что явилось следствием ухудшения роста растений [6].

Согласно исследованиям некоторых ученых Fabbri and Sutter [7], структура листа земляники, сформированная в культуре *in vitro*, характеризовалась относительно тонкой листовой пластинкой, недоразвитыми палисадными клетками, большими воздухоносными полостями, слабо развитым кутикулярным покровом. В то же время лист земляники, сформиро-

ванный в условиях *ex vitro*, был дифференцирован на столбчатую и губчатую ткань, имел хорошо развитый кутикулярный покров. Аналогичные результаты были получены другими авторами при исследовании листьев малины, рододендронов, регенерированных *in vitro* [8].

Исследования, проведенные нами по изучению внутреннего строения листа в зависимости от условий культивирования, показали, что регенеранты интродуцированных сортов голубики высокой (*Dixi*, *Bluecrop*) и брусники обыкновенной (*Koralle*), выращенные в условиях *in vitro*, не имели четкой дифференциации мезофилла на столбчатую и губчатую ткань, имели тонкую листовую пластинку, слабо развитый кутикулярный покров, недоразвитый устьичный аппарат, что способствовало постоянному открытию устьиц и чрезмерной транспирации.

Листья растений, развивающиеся в условиях оранжереи, имели четкую дифференциацию мезофилла на столбчатую и губчатую паренхиму, кутикулярный покров, развитый устьичный аппарат, что способствовало нормальному обеспечению транспирации.

Листья растений, высаженных в открытый грунт, по общему плану строения не отличались от листьев оранжерейных растений. Они имели четко дифференцированную структуру листа на столбчатую и губчатую паренхиму, хорошо развитый кутикулярный покров, устьичный аппарат. Однако следует отметить, что наблюдалась разница в изменении количественных показателей структуры листа. Так листья из открытого грунта имели более толстую листовую пластинку (400 мкм), больше слоев столбчатой ткани, большую длину клеток, меньший объем межклетников по сравнению с листьями из оранжереи (286 мкм) и асептической культуры (91 мкм), (см. таблицу).

Исследованные нами сорта растений реагировали на условия культивирования изменением как количественных показателей, так и внутреннего строения листа. Условия открытого грунта с повышенной солнечной инсоляцией и относительно низкой влажностью воздуха способствовали увеличению толщины пластинки листа, коэффициента палисадности, длины клеток столбчатой ткани, числа устьиц на 1 мм<sup>2</sup> поверхности листа, а условия оранжереи с пониженной солнечной инсоляцией и относительно высокой влажностью воздуха приводили к уменьшению величины данных показателей.

Условия культивирования *in vitro*, характеризующиеся относительно высокой влажностью воздуха в культуральных сосудах, пониженной освещенностью и гетеротрофным типом питания, способствовали уменьшению толщины листовой пластинки, сокращению числа устьиц на 1 мм<sup>2</sup> поверхности листа, отсутствию дифференциации на столбчатую и губчатую

тую ткань. Структура листа *in vitro* имеет все признаки листа растения, произрастающего в тени (гомогенный мезофилл, состоящий из клеток только губчатой паренхимы, имеющих изодиаметрическую форму; утонченная листовая пластинка; небольшое число устьиц на 1мм<sup>2</sup> поверхности листа; отсутствие кутикулы).

Таблица. Количественные показатели анатомической структуры листьев *Vaccinium corymbosum*, *V. vitis-idaea* L. в условиях асептической культуры, оранжереи, открытого грунта\*

Показатели анатомической структуры	Сорт		
	<i>Vaccinium corymbosum</i>		<i>V. vitis-idaea</i>
	Bluecrop	Dixi	Koralle
Асептическая культура (in vitro) 4000 лк			
толщина листа, мкм	76±2	85±3	91±4
число устьиц на 1 мм <sup>2</sup>	16±1	16±1	19±1
размер устьиц (длина x ширина), мкм	15x11	15x12	16x10
Оранжерея >10000 лк			
толщина листа, мкм	154±16	173±13	286±9
коэффициент палисадности	0,75	0,71	0,68
отношение длина:ширина клеток столбчатой ткани	1,8:1	1,9:1	2,6:1
число устьиц на 1 мм <sup>2</sup>	251±11	250±9	410±20
размер устьиц (длина x ширина), мкм	25x17	26x16	24x15
Открытый грунт > 40000 лк			
толщина листа, мкм	210±11	221±12	450±19
коэффициент палисадности	0,87	0,9	0,86
отношение длина:ширина клеток столбчатой ткани	2,5:1	2,7:1	3,31:1
число устьиц на 1 мм <sup>2</sup>	260±12	265±10	430±23
размер устьиц (длина x ширина), мкм	23x16	24x15	21x14

\*В таблице отсутствуют показатели коэффициента палисадности и клеток столбчатой ткани у листьев растений, выращенных в асептической культуре, так как мезофилл листа не дифференцирован на столбчатую и губчатую паренхиму.

Следует сказать, что различия в структуре листа сопряжены с их функциональными различиями. Примером тому может служить обстоятельное исследование, касающееся сравнительной анатомии и физиологии березы азиатской, выращенной в асептической культуре и в теплице, проведенное Smith et al. [9]. Авторы приходят к выводу о слабом развитии васкулярной системы в условиях *in vitro* и, как следствие, о повышенной чувствительности таких растений к водному стрессу, характерному для условий *ex vitro*. Ими была обнаружена низкая интенсивность фотосинтеза при очень низком уровне освещенности, что сопряжено с отсутствием четкой дифференциации листа на столбчатую и губчатую ткань в культуре *in vitro*.

После переноса растений в условия *ex vitro* (в теплицу) исследователи наблюдали увеличение интенсивности фотосинтеза и изменения в анатомии листа. По их мнению, растения, выращенные в асептических условиях, в значительной мере изменяют свои анатомические и физиологические свойства по сравнению со своими двойниками, культивируемыми в условиях *ex vitro*. Различия эти в основном являются результатом воздействия специфической среды в асептической культуре и исчезают после переноса растений в условия *ex vitro* благодаря быстрому восстановлению метаболизма как следствия нормального развития растений.

Таким образом, на основании сравнительного анализа структурно-функциональных особенностей регенерантов в условиях *in vitro* и *ex vitro*, базирующегося на литературных данных и материалах собственных исследований, мы пришли к выводу, что условия культивирования *in vitro* и *ex vitro*, накладывая отпечаток на структуру и функцию регенерантов — это во-первых; во-вторых, структурно-функциональная организация регенерантов — мобильная система, и она может перестраиваться в соответствии с изменившимися условиями окружающей среды. Это значит, что различия в строении и функции листьев растений, выращенных в асептической культуре, в условиях оранжереи и в открытом грунте, свидетельствуют о пластичности листа — органа, способного перестраивать свою структуру и функцию адекватно условиям культивирования, что теоретически является гарантом успешной адаптации растений при переносе их из условий *in vitro* в условия *ex vitro*.

На практике, как показали наши наблюдения за процессом адаптации интродуцированных сортов голубики высокой (*Dixi*, *Bluecrop*, *Herbert*, *Rancocas*, *Covill*, *Earlyblue*) и брусники обыкновенной (*Koralle*, *Masovia*, *Erntedank*) при переносе их из условий *in vitro* в условия *ex vitro*, нам удалось избежать потерь материала в критический для него момент благодаря соблюдению технических приемов, базирующихся на выводах, под-

твержденных результатами экспериментальных исследований.

В целях предотвращения гибели материала от чрезмерной транспирации (это касается не только голубики и брусники), которая происходит по известным нам причинам: 1) из-за резкого снижения влажности в условиях *ex vitro* и 2) из-за несовершенной структурно-функциональной организации листа с точки зрения условий *ex vitro*, в первую очередь необходимо поднять тургор регенерантов до максимальной величины. Обеспечивается это погружением материала в сосуд с дистиллированной водой на 5–6 часов.

Вторым неперемнным условием является создание высокой влажности в оранжерее (не ниже 90%) и устранение сильных потоков воздуха.

В первые 2–3 недели культивирования регенерантов (до образования корней) в оранжерее необходимо создать условия, идентичные условиям *in vitro*. Это значит: поддерживать влажность, температуру, аналогичную той, при которой культивировались растения в условиях *in vitro*, и относительно низкую интенсивность освещения (500 лк).

Таким образом, высокая влажность воздуха не будет способствовать интенсивной транспирации, что сохранит растение от увядания. Высокая температура и низкая интенсивность освещения (500 лк) являются благоприятными условиями для низкой интенсивности фотосинтеза и приостановки роста регенеранта. Запас имеющихся в регенеранте метаболитов пойдет на образование корней.

После образования корней необходимо постепенно снижать влажность воздуха вокруг регенерантов и увеличивать интенсивность освещения. Это позволит завершить структурную перестройку листа: появится кутикулярный слой, изменят свою форму клетки эпидермиса, произойдут изменения в строении мезофилла листа. Лист приобретет черты ксероморфной структуры, и растению уже не страшны низкая влажность воздуха и даже сильный ветер, характерный для условий открытого грунта.

Перечисленные процедуры, строго выполняемые нами при переносе растений интродуцированных сортов голубики высокой и брусники обыкновенной из условий *in vitro* в условия *ex vitro*, позволили сохранить жизнеспособность растениям и обеспечить 100%-ное их выживание и адаптацию [10].

#### Список литературы:

1. Brainder K.E., Fuchigamy L.H., Kwiatkowski S., Clark C.S. Leaf Anatomy and Water Stress of Aseptically Cyultured Pixy PlumvGrown under Different Enviroments // Hort Science. 1981. Vol. 16, N 2. P. 173–175.
2. Bunning E., Sagromsky H. Die Bildung des Spaltöffnungs-musters in der Blattepidermis // Z. Naturf. 1948. Vol. 36. S. 203–216.



3. O'Leary J.W., Knecht G.N. Elevated CO<sub>2</sub> concentration increases stomata numbers in *Phaseolus vulgaris* leaves // *Bot. Gaz.* 1981. Vol. 124, N 4. P. 438–441.
4. Penfound W.T. Plant anatomy as conditioned by light intensity and soil moisture // *Am. J. Bot.* 1931. Vol. 18. P. 558–572.
5. Schoch P., Lefevre B., Tession C., Gengy J. Photosynthese et respiration de bananier in vitro // *Photosynthetica.* 1989. Vol. 23, N 1. P. 113–118.
6. Danies W.J., Kozlowski T. Short- and long-term effects antitranspirants en water relations and photosynthesis of woody plants // *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 1974. Vol. 99, N 4. P. 207–304.
7. Fabbri A., Sutter E. Anatomical changes in persistent leaves of tissue cultured strawberry plants after removal from culture // *Scientia Hort.* 1986. Vol. 28. P. 331–337.
8. Waldenmaier S., Schmidt G. Histologische Unterschiede zwischen in-vitro und ex-vitro-Blättern bei der Abhartung von *Rhododendron* // *Gartenbauwissenschaft.* 1990. Bd 55, n 2. S. 49--54.
9. Smith M.A., Palta J.P., McCown B.H. Comparative Anatomy and Physiology of Microcultured, Seedling and Greenhouse-grown Asian White Birch // *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 1986. Vol. 111, N 3. P. 437–442.
10. Сидорович Е.А., Кутас Е.Н. Клональное микроразмножение новых плодово-ягодных растений. Мн.: Наука и техника, 1996. С. 246.