

Влияние стерилизующих соединений на выход жизнеспособных эксплантов интродуцированных сортов хризантемы корейской (*Chrysanthemum coreanum* Nakai ex T. Mori) и жимолости съедобной (*Lonicera edulis* Turcz. ex Freyn)

Кутас Е. Н., Грибок Н. А., Веевник А. А., Павловский Н. Б.

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Беларусь, E. Kutas@cbg.org.by

Резюме. В статье представлены исследования по изучению влияния стерилизующих соединений на выход жизнеспособных эксплантов у пяти интродуцированных сортов хризантемы корейской: 'Натали', 'Интервал', 'Гранатовый браслет', 'Мишаль', 'Злато скифов'; двух сортов жимолости съедобной: 'Зойка', 'Войтек'.

Показано, что для предотвращения от инфицирования интродуцированных сортов хризантемы корейской и жимолости съедобной при введении их в культуру *in vitro* следует проводить стерилизацию эксплантов хризантемы корейской в 0,1% растворе сулемы, азотнокислого серебра или диацида, а жимолости съедобной — в 0,1%-ном растворе диацида.

The influence of sterilizing compounds on the yield of the viable explants of introduced varieties of chrysanthemum korean (*Chrysanthemum coreanum* Nakai ex T. Mori) and honeysuckle edible (*Lonicera edulis* Turcz. ex Freyn). Kutas E. N., Gribok N. A., Veyevnik A. A., Pavlovsky N. B. **Summary.** The article presents studies on the effect of sterilizing compounds on the yield of viable explants in five introduced chrysanthemum korean varieties: 'Nataly', 'Interval', 'Garnet Bracelet', 'Mishal', 'Gold of Scythians'; two varieties of honeysuckle edible: 'Zoyka', 'Voitek'. It is shown, that for prevention from infection of varieties of chrysanthemum korean and honeysuckle edible, when it is introduced into culture *in vitro*, sterilization of chrysanthemum korean explants should be carried out in 0,1% solution of mercuric, silver nitrate or diacid, and honeysuckle edible — in 0,1% solution of diacid.

Общеизвестно, что процесс клонального микроразмножения начинается с выбора растения, изолирования экспланта, его стерилизации и посадки на питательную среду. Одна из основополагающих ролей 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.

Необходимо отметить, что для каждого вида растения оптимальный режим стерилизации, способствующий высокому выходу жизнеспособных эксплантов, определяется экспериментальным путем.

Как показал анализ литературных данных и собственных исследований, касающихся стерилизации растительного материала при введении его в культуру *in vitro*, для стерилизации используют различные стерилизующие соединения с разной концентрацией и временем экспозиции [1–9].

К сожалению, в доступной нам литературе не обнаружено сведений об исследованиях, касающихся влияния стерилизующих соединений на выход жизнеспособных эксплантов у интродуцированных сортов хризантемы корейской и жимолости съедобной. В этой связи нами были проведены экспериментальные исследования, затрагивающие этот вопрос.

Объектами исследования служили пять интродуцированных сортов хризантемы корейской: 'Натали', 'Интервал', 'Гранатовый браслет', 'Мишаль', 'Злато скифов' и два сорта жимолости съедобной: 'Зойка' и 'Войтек'.

В качестве стерилизующих соединений для перечисленных сортов испытывали 0,1%-ные растворы сулемы, азотнокислого серебра и диацида в сочетании с обработкой 70⁰-ным этанолом. Время экспозиции для этанола составило 5 сек, диацида, сулемы и азотнокислого серебра — 6 мин. Принимая во внимание, что вводили в стерильную культуру сорта хризантемы корейской и жимолости съедобной, а не виды, в качестве эксплантов использовали почки молодых побегов, исключив семена (таблица). После стерилизации материал промывали в трех сменах стерильной бидистиллированной воды по 15 мин в каждой, затем высаживали на модифицированную агаризованную среду MS. Пробирки с высаженными эксплантами помещали на стеллажи, где температура воздуха составляла 24°C, освещенность — 4000 лк, относительная влажность воздуха — 70%, фотопериод — 16 часов. Учет инфицированных, окисленных и жизнеспособных эксплантов проводили ежедневно в течение 2 недель. Экспериментальные данные приведены в таблице.

Цифры в таблице свидетельствуют о зависимости выхода жизнеспособных почек от типа стерилизующего соединения, сортовой и видовой принадлежности растения.

Высокий выход (100%) жизнеспособных почек отмечен у двух интродуцированных сортов хризантемы корейской: 'Натали' и 'Злато скифов' независимо от типа стерилизующего соединения.

Несколько ниже этот показатель у сорта 'Интервал' (85%), 'Гранатовый браслет' (90%), 'Мишаль' (95%).

Для интродуцированных сортов жимолости съедобной высокий выход жизнеспособных эксплантов отмечен при стерилизации их 0,1% раствором диацида. Для сорта 'Зойка' этот показатель составил 60%, для — 'Войтек' — 70.

На основании анализа результатов экспериментальных исследований, полученных по изучению влияния стерилизующих соединений на выход жизнеспособных эксплантов у интродуцированных сортов хризантемы корейской и жимолости съедобной, можно констатировать, что выход жизнеспособных эксплантов зависит как от типа стерилизующего соединения, так от сортовой и видовой принадлежности растения. Оптимальным стерилизующим соединением для почек двух интродуцированных сортов хризантемы корейской: 'Натали' и 'Злато скифов' следует считать 0,1%-ный раствор азотнокислого серебра, сулемы и диацида при экспозиции 6 мин, для почек двух других сортов — 'Интервал', 'Гранатовый браслет' — 0,1%-ный раствор сулемы при такой же экспозиции, для почек сорта 'Мишаль' — 0,1%-ный раствор сулемы и диацида; для почек интродуцированных сортов жимолости съедобной: 'Зойка' и 'Войтек' — 0,1%-ный раствор диацида.

Следовательно, с целью предотвращения от инфицирования интродуцированных сортов хризантемы корейской при введении их в культуру *in vitro* следует проводить стерилизацию эксплантов в 0,1% растворе сулемы, азотнокислого серебра и диацида. Экспланты интродуцированных сортов жимолости съедобной необходимо стерилизовать в 0,1%-ном растворе диацида.

Из всех испытанных нами стерилизующих соединений, высокий выход жизнеспособных эксплантов интродуцированных сортов хризантемы корейской получен при использовании трех видов стерилизующих соединений: сулемы, азотнокислого серебра и диацида в концентрации 0,1%; для интродуцированных сортов жимолости съедобной высокий выход жизнеспособных эксплантов характерен при использовании диацида в аналогичной концентрации. Время экспозиции составило 6 минут для всех соединений.

Жизнеспособность эксплантов интродуцированных сортов хризантемы корейской и жимолости съедобной в зависимости от стерилизующих соединений

Вид, сорт	Экс-плант	Концентрация раствора стерилизующего соединения, %								
		Сулема — 0,1			Азотнокислое серебро — 0,1			Диацид — 0,1		
		Время экспозиции, мин								
		6			6			6		
		И	О	Ж	И	О	Ж	И	О	Ж
Хризантема корейская:										
'Натали'	почки	0/0	0/0	20/100	0/0	0/0	20/100	0/0	0/0	20/100
'Интервал'	почки	0/0	0/0	20/100	0/0	3/15	17/85	0/0	0/0	20/100
'Гранатовый браслет'	почки	0/0	0/0	20/100	0/0	2/10	18/90	0/0	3/15	17/85
'Мишаль'	почки	0/0	0/0	20/100	0/0	1/5	19/95	0/0	0/0	20/100
'Злато скифов'	почки	0/0	0/0	20/100	0/0	0/0	20/100	0/0	0/0	20/100
Жимолость съедобная:										
'Зойка'	почки	10/50	0/0	10/50	13/65	0/0	7/35	8/40	0/0	12/60
'Войтек'	почки	12/60	0/0	8/40	15/75	0/0	5/25	6/30	0/0	14/70

Примечание: И — инфицированные, О — окисленные Ж — жизнеспособные экспланты; в числителе количество эксплантов, шт., в знаменателе — %. Расчет производили исходя из 20 эксплантов для каждого сорта.

Список литературы

1. Шумихин С. А. Оптимизация отдельных этапов микроклонального размножения георгины культурной: стерилизация эксплантов. Вестник Пермского университета. 2004, № 2. С. 61–63.
2. Рокитянская Л. С. Поиск эффективных методов стерилизации зрелых зародышей ячменя. Биология — наука XXI века: материалы 9-ой Международной Пушчинской школы-конференции молодых ученых. Пушино, 2005. С. 190.
3. Нескородов Я. Б., Мишуткина Я. В., Гапоненко А. К., Скрябин К. Г. Метод регенерации in vitro побегов подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) из асептических семян, как эксплантов для генетической трансформации. Биотехнология. 2007, № 6. С. 27–33.
4. Badoni A., Chauhan J. S. In vitro sterilization protocol for micropropagation of *Solanum tuberosum* cv. 'Kufri Himalini'. Academia Arena. 2010, Vol. 2, N 4. P. 24–27.
5. Mihaljević Ines et al. In vitro sterilization procedures for micropropagation of 'Oblačinska' sour cherry. Journal of Agricultural Sciences. 2013, Vol. 58, N 2. P. 117–126.
6. Zuraida A. R. et al. Effect of growth regulators on in vitro germination of Coconut matag 2 Zygotic Embryos in liquid and solid culture media. American Journal of Research Communication. 2014, Vol 2, N 7. P. 1–9.
7. Wegayehu F., Firew M., Belayneh A. Optimization of explants surface sterilization condition for field grown peach (*Prunus persica* L. Batsch. cv. 'Garnem') intended for in vitro culture. African Journal of Biotechnology. 2015, Vol. 14, N 8. P. 657–660.
8. Кутас Е. Н., Гаранинова М. В. Влияние стерилизующих соединений на выход жизнеспособных эксплантов рододендронов (*Rhododendron* L.) при введении в культуру in vitro. Вестні НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2015, № 2. С. 13–17.
9. Karule P. et al. A commercial Micropropagation protocol for virupakshi (AAB) banana via apical meristem. African Journal of Biotechnology. 2016, Vol. 15, N 11. P. 401–407.